مجلة الزراعة العراقية (البحثية) مجلد20 عدد1 ص93-101 تموز/2015

بعض التغييرات الكيموحيوية في المزروعات النسيجية لثلاثة أصناف من العنب والمعرضة لملح كلوريد الصوديوم

مسلم عبد علي عبد الحسين* عبد الكاظم جواد موسى**

الملخص

أجري البحث بهدف دراسة بعض التغييرات الكيموحيوية في المزروعات النسيجية لأصناف العنب الأوربي شدة بيضاء وشدة سوداء وكمالي والمعرضة لملح كلوريد الصوديوم خارج الجسم الحي المتمثلـــة في محتوياتها من البرولين الكلايسين بيتايين وفعالية انزيم البيروكسيديز.

نفذ البحث بزراعة العقل الدقيقة ذات العقدتين للأصناف الثلاثة من الفروع المتضاعفة المنتجة خارج الجسم الحي في وسط التضاعف المجهز بتراكيز ملح كلوريد الصوديوم 0 ، 75 ، 100 ، 125 ، 150 ، 175 ، 200 ملي مول. قدر محتوى الافرع المتضاعفة من البرولين والكلايسين بيتايين وفعالية إنزيم البيروكسيديز بعد 4 أسابيع من الزراعة في وسط التضاعف. أظهرت النتائج تأثيراً معنوياً لملح كلوريد الصوديوم في هذه الصفات لاصناف العنب جميعها المدروسة بزيادة تركيز الملح في وسط التضاعف . ارتفع محتوى الأفرع من البرولين و الكلايسين بيتايين وفعالية إنزيم البيروكسيديز عند زيادة تركيز الملح عن 75 ملي مول في الوسط الغذائي . أظهرت النتائج اختلاف استجابة أصناف العنب للإجهاد الناتج عن وجود ملح كلوريد الصوديوم في وسط التضاعف ، إذ أظهرت مزروعات الصنف شدة بيضاء تفوقا ملحوظا في التغييرات الكيموحيوية لأفرعها النامية في اوساط ملحية بارتفاع البرولين والكلايسين بيتايين وزيادة نشاط انزيم البيروكسيديز فيها مقارنة بالصنفين شدة سوداء وكمالي على التوالي.

المقدمة

تعد الأعناب من النباتات المتوسطة الحساسية للملوحة ، وقد أظهرت أصناف العنب والأصول التابعة له تبايناً ملحوظاً فيما بينها في التحمل للمستويات العالية لملح كلوريد الصوديوم عند اختبارها في الحقل (31). وقد اشارت نتائج العديد من الدراسات الى امكان استخدام الزراعة خارج الجسم الحي في اختبارات تقويم تحمل اصناف العنب للملوحة لسرعة الحصول على النتائج والسيطرة الكاملة على ظروف الزراعة فضلا عن الحصول على نتائج مشابهة للاختبارات الحقلية (6،30).

أكدت العديد من الدراسات العلمية إن النبات عند تعرضه للشد الملحي ينتج أحماضا امينية من ضمنها حامض البرولين الذي يزداد تركيزه بشكل اكبر من الأحماض الامينية الأخرى وتتناسب كميته في الأنسجة النباتية مع مقدار الإجهاد ومدة التعرض له (4) وأشارت بعض البحوث والدراسات الى عمل البرولين في تنظيم الازموزية بين السايتوبلازم والفجوات (8). كما أنه يكون عاملاً وقائياً Protective للإنزيمات (29). كما لوحظ تجمع كلايسين بيتايين Glycine betaine (*N,N,N*-trimethylglycine) بمستويات عالية في العديد من الأنواع النباتية المتحملة للملوحة وقد لوحظ ان مستوياته والمواد الأساس لبنائه والإنزيمات الداخلة في البناء ترتفع عند تعرض النبات

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني.

* كلية الزراعة- جامعة الكوفة- النجف ، العراق.

** الهيأة العامة للبحوث الزراعية – وزارة الزراعة –بغداد ،العراق.

تاريخ تسلم البحث:ك2/2014

تاريخ قبول البحث:نيسان/2015

للشد الملحي ، اذ أشار **Zhang** وجماعته (**33**) عند تعريضه لكالس القـــوغ الفراتي ***Populus euphratica*** لملح كلوريد الصوديوم إلى تجمع الكلايسين بيتايين مع زيادة تركيز الملح المستعمل . واقترح بان له اثراً في نقل الصوديوم من السايتوبلازم إلى الفجوة والمحافظة على الأغشية الخلوية (**15**). تقود التأثيرات الرئيسة في الملوحة إلى استحثاث حالة الإجهاد التأكسدي **oxidative stress** خلال تعرض النبات او الخلية للتراكيز العالية للملوحة مسببة إضراراً في لبيدات وبروتين الأغشية الخلوية مؤدية إلى الموت المبرمج للخلية النباتية **programmed cell death** (**16**) الناجم عن تكوين أشكال الأوكسجين الفعالة **Reactive Oxygen Species (ROS)** مثل **hydrogen peroxide** و **hydroxyl radicals** و **superoxide anions** (**32**) الضارة لبقاء الخلية والنبات على قيد الحياة تحت المستويات العالية من الملوحة، إذ تسبب ضرراً على **DNA** والبروتينات والكلوروفيل ووظائف الأغشية السايتوبلازمية (**35**) لذلك فالنباتات المتحملة للملوحة يجب إن تمتلك نظاما دفاعيا بجانب تنظيمها لدخول وحركة الايونات والماء متمثلة بنوعين من الأنظمة الدفاعية للحد من أشكال الأوكسجين الفعالة أحداها أنظمة غير انزيمية والأخرى إنزيمية فالنظام الإنزيمي يشترك بالتقليل من هذه الأشكال في الخلايا.

لاحظ كل من **Sairam** و **Srivastava** (**24**) بان التغيير في فعالية مجاميع إنزيمات البيروكسيديز عند تعرضه للشد الملحي يختلف في الأصناف المتحملة عنه في الأصناف الحساسة للملوحة للنباتات المختلفة. ووجد **Harinasut** وجماعته (**12**) زيادة في فعالية إنزيمات البيروكسيديز في أوراق الأفرع المتضاعفة خارج الجسم الحي للتوت في وسط مجهز بملح **NaCl**. ووجد **Molassiotis** وجماعته (**17**) زيادة فعالية انزيم البيروكسيديز في افرع التفاح **MM106** المتضاعفة في وسط **MS** المجهز بملح **NaCl** خارج الجسم الحي . ولوحظت زيادة الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل **Peroxidase** و **catalase** و **Ascorbate peroxidase** في أفرع أصل الكرز الحلو **Gisela 5** المعرضة لتراكيز **50** و**100** و**150** ملي مول **NaCl** خارج الجسم الحي (**9**). ونظرا لقلة الدراسات ان لم تكن موجودة بصدد مدى تحمل الاصناف المزروعة في العراق في تحملها للشد الملحي والتغييرات الكيموحيوية اثنائه خارج الجسم الحي لذا اجريت الدراسه بهدف دراسة بعض التغييرات الكيموحيوية في ثلاثة أصناف من العنب (شدة بيضاء وشدة سوداء وكمالي) المعرضة لملح كلوريد الصوديوم خارج الجسم الحي باستعمال تقنية زراعة الانسجة.

المواد وطرائق البحث

نفذت التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية التابع لقسم البستنة وهندسة الحدائق –كلية الزراعة –جامعة الكوفة في عامي **2007** و**2008** م.

أخذت عقل دقيقة غضة ذات برعمين **double node microcuttings** على وفق ما ذكره **Singh** وجماعته (**28**) من المزرعة النسيجية لثلاثة اصناف من العنب هي شدة سوداء وشدة بيضاء وكمالي وزرعت في وسط التضاعف **MS** (**19**) المزود بـ **2** ملغم **BA** / لتر + **0.1** ملغم **NAA** / لتر بعد إضافة ملح كلوريد الصوديوم للوسط الغذائي بمستويات (**0 , 75 , 100 , 125 , 150 ,175, 200**ملي مول / لتر) وبواقع **25** عقلة (تكرار) لكل صنف في كل تركيز ملحي ، اذ زرعت عقلة واحدة في أنبوبة اختبار قياس (**24 x 150** ملم) تحتوي على **10** مل من الوسط وحضنت لمدة أربعة أسابيع عند درجة حرارة **25±2**°م وشدة إضاءة **1000** لوكس لمدة **16** ساعة تعقبها **8** ساعات ظلام يومياً. بعد انتهاء مدة التحضين تم قياس بعض التغييرات البايوكيميائية داخل الافرع المعرضة التراكيز كافة باستثناء تركيز **200** ملي مول الذي أستبعد بسبب موت أفرع أصناف العنب جميعها قيد الدراسة.

الصفات المدروسة

تقدير البرولين

قدرت كمية الحامض الاميني برولين في الأفرع المزروعة في الأوساط المجهزة بالـ NaCl بحسب طريقة Bates وجماعته (5) باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند الطول الموجي 520 نانوميتر وبواقع خمسة مكررات لكل معاملة.

تقدير الكلايسين بيتايين

قيس الكلايسين بيتايين بالطريقة الموصوفة من قبل كل من Grieve وGrattan (11)، وقد تمت قراءة كمية الامتصاص مباشرة في جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 365 نانوميتر وبواقع 3 عينات لكل معاملة. وقورنت هذه القراءات مع المنحنى القياسي للكلايسين بيتايين الذي رسم بتحضير تراكيز تراوحت بين 50 و200 مايكروغرام / مل.

تقدير فعالية انزيم البيروكسيديز

قيست بالطريقة الموصوفة من قبل Kim وجماعته (14)، اذ اخذ 150 ملغم وزن طري ، ثم غسل بالماء المقطر الخالي من الايونات ، وأضيف إليه 2.5 مل من محلول التحضين المتكون من المحلول الداريء الفوسفاتي بتركيز 0.05 مولار وبأس هيدروجيني مقداره 6 ثم نبذ بجهاز الطرد المركزي المبرد على 12000 دورة/دقيقة (عند درجة حرارة 4 °م) وأضيف إليه 250 ميكروليتر لكل من صبغة الكوايكول Gauiacol بتركيز 0.5% وبيروكسيد الهيدروجين H2O2 وبتركيز 0.3% (حجم/حجم) و2.5 مل من المحلول الداريء الفوسفاتي . وتمت قراءة كمية الامتصاص مباشرة في جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 470 نانوميتروبواقع 3 عينات لكل معاملة.

حسبت الفعالية الإنزيمية باستعمال المعادلة التالية:

$$\text{الفعالية الانزيمية (وحدة امتصاص/غم أنموذج)} = \frac{\text{قراءة الجهاز}}{\frac{\text{وزن الانموذج}}{\text{حجم الاستخلاص}} \times \text{الحجم المأخوذ للقراءة}}$$

نفذت التجربة بوصفها تجربة عاملية باستخدام التصميم تام التعشية CRD (1) وبعاملين هما الصنف وتراكيز ملح NaCl. تم استخدام نظام التحليل الاحصائي الجاهز (26) تحت نظام تشغيل الحاسوب الآلي Windows لاجراء التحليلات الاحصائية . وتمت مقارنة المتوسطات باستعمال اختبار اقل فرقاً معنوياً عند مستوى احتمال 0.05 لاختبار الفروق المعنوية بين متوسطات الصفات المدروسة.

النتائج والمناقشة

محتوى الفروع من البرولين

أشارت النتائج في جدول (1) الى أن الصنف شدة بيضاء قد حقق زيادة معنوية في محتوى أفرعه من البرولين على الصنفين شدة سوداء وكمالي ،اذ احتوت أفرعه على أعلى مستوى من البرولين بلغ 0.56 ملغم/غم وزن جاف التي اختلفت معنوياً عن مستوياتها في أفرع الشدة سوداء وكمالي اللذان اختلفا معنوياً فيما بينهما أيضاً. لقد أشارت العديد

من الدراسات التي أجريت على المزارع النسيجية للعديد من النباتات الى تباين محتوى هذه المزارع بتباين الأصناف العائدة لها كالبطاطا (34) ونوعين من جنس ***Trigonella*** (20).

جدول1: تأثير تركيز ملح NaCl المضاف إلى الوسط الغذائيMS في محتوى أفرع أصناف العنب من البرولين (ملغم/غم وزن جاف) بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي

تركيز ملح NaCl في الوسط الغذائي (mM)	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	شدة بيضاء	شدة سوداء	كمالي	
0	0.15	0.09	0.07	0.10
75	0.50	0.30	0.21	0.33
100	0.52	0.37	0.27	0.39
125	0.61	0.39	0.30	0.43
150	0.75	0.43	0.32	0.50
175	0.81	0.46	0.00	0.42
معدل الأصناف	0.56	0.34	0.19	

أ. ف .م (0.05)* للتداخل=0.02 للاصناف = 0.007 للتراكيز = 0.01

* أ. ف .م = أقل فرقا معنويا (على مستوى0.05).

يشير جدول (1) إلى أن رفع مستويات كلوريد الصوديوم في الوسط أدى إلى حصول زيادة معنوية في تراكم البرولين في أفرع أصناف العنب المنماة على وسط يحتوي على 150ملي مول ملح NaCl بلغت 0.50 ملغم/غم وزن جاف الذي تفوق على التراكيز الملحية الأخرى كافة في محتوى الأفرع من البرولين وتتفق هذه النتائج مع ما وجده Singh وجماعته (27) في العنب وعبد الحسين (2) وMolassiotis وجماعته (17) في أفرع أصل التفاح MM106 النامية في الوسط الغذائي المجهز بتراكيز مختلفة من NaCl خارج الجسم الحي في حصول زيادة في محتوى الفروع من البرولين عند تعريض مزارعها النسيجية لظروف الشد الملحي.

وبينت نتائج التداخل بين تراكيز الملح وأصناف العنب حصول زيادة معنوية في محتوى الفروع من البرولين في الفروع العائدة للأصناف عند زيادة تركيز ملح NaCl في وسط التضاعف أذ أعطت معاملة التداخل للشدة بيضاء وتركيز175 ملي مول ملح NaCl أعلى مستوى من البرولين بلغ 0.81 ملغم/غم وزن جاف التي تفوقت على التداخلات كافة . وأن تداخلات الأصناف جميعها ضمن التركيز الواحد قد اختلفت فيما بينها معنويا.

إنَّ هذه الزيادة قد تكون ناجمة عن الأختلال في التوازن الأزموزي داخل الخلية، أذ يزداد إنتاج هذا الحامض من قبل الأنسجة المعرضة للشد الملحي لتعديل الأزموزية بين الفجوة والسايتوبلازم (13)، إذ أن مواد بناء البرولين في أنسجة النبات (حامض الكلوتاميك والأرجنين والأورنثين وأستيل حامض الكلوتاميك) يزداد تحولها إلى البرولين تحت ظروف الشد عن طريق زيادة فعاليات الأنزيمات الداخلة في البناء الحيوي للبرولين (15) ويحفز تراكمه تنشيط الانزيمين المهمين بالبناء الحيوي Biosynthatic وهما pyrroline carboxylic acid synthetase و Pyrroline carboxylic acid reductase وهذه العملية مسيطر عليها من قبل جينات تسمى الجينات المنظمة بالازموزية Osmotically regulated gene (25). لقد أقترحت أدوار عديدة للبرولين في التنظيم الأزموزي على المستوى الخلوي لحماية النبات من الشد المؤذي للملوحة أحداها عمل حالة توازن بين الفجوة والسايتوبلازم، اذ يبدأ تراكم البرولين في السايتوبلازم بعد دخول NaCl داخل النسيج وتجمع الأيونات الأحادية التكافؤ (Na^+ ، Cl^-) في الفجوات فكمية البرولين المتراكمة مع بعض المركبات العضوية الأخرى تكفي لعمل توازن أزموزي عبر غشاء الفجوة

(21) وأن تراكم هذا الحامض داخل الخلية يزيد من قابليتها على سحب الماء من الوسط الغذائي الملحي لتخفيف سمية الأيونات المرتبطة بالأضرار الناجمة عن الملوحة العالية ، فضلا عن أثره في وقاية(حماية) الأنزيمات والعضيات الخلوية (18) أو مركب خزني(مصدر) للكاربون والنيتروجين (7).

وقد أفترض في الدراسات الحديثة أن البرولين المتجمع قد يعود إلى سيطرة الجينات المسماة **osmotic tolerance genes** التي تسيطر على انتاج البرولين والبيتايين التي تقوم بحماية الخلية ومحتوياتها أوزموزياً من الفقد الرطوبي وأضرار الملوحة (3) فضلاً عن اثره في الحفاظ على الأغشيه الخلوية والأنزيمات من التأثر في الملوحة .

محتوى الفروع من الكلايسين بيتايين

أظهرت نتائج الدراسة الموضحة في جدول (2) أن الصنف شدة بيضاء قد حقق زيادة معنوية على صنفي العنب شدة سوداء وكمالي في محتوى فروعه من الكلايسين بيتايين فقد بلغ محتواه **67.56** مايكروغرام/غم وزن جاف وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به **Kumar** وجماعته (15) و**Rhodes** و**Hanson** (23) الذين وجدوا بأن تجمع الكلايسين بيتايين تحت الشد الملحي يكون عاليا في الأنواع النباتية والأصناف المتحملة للملوحة بالمقارنة مع الأنواع والأصناف الحساسة للملوحة.

يلاحظ من جدول (2) وجود تأثير معنوي في محتوى الأفرع من الكلايسين بيتايين عند زيادة تركيز **NaCl** في وسط التضاعف ، إذ أعطى التركيز الملحي **150** ملي مول أعلى محتوى للكلايسين بيتايين بلغ **75.09** مايكروغرام/غم وزن جاف مقارنة بالتركيز**0** ملي مول ملح **NaCl** الذي أعطى محتوى بلغ **41.75** مايكروغرام/غم وزن جاف في حين اختلفت التراكيز الملحية فيما بينها معنوياً في محتوى الأفرع من الكلايسين بيتايين (باستثناء التركيزين **100** و **175** اللذان لم يختلفا عن بعضهما معنويا).

وأثر التداخل بين الأصناف وتراكيز ملح **NaCl** في محتوى الأفرع من الكلايسين بيتايين (جدول2) الذي ظهر بأعلى قيمة مقدارها **88.10** ميكروغرام /غم وزن جاف عند معاملة التداخل للشدة بيضاء وتركيز **175** ملي مول بالمقارنة مع أقل قيمة (**0.00** و**40.08** مايكروغرام/غم وزن جاف) أعطتها معاملتي تداخل صنف كمالي مع التركيز **175** ملي مول و شدة سوداء مع تركيز **0** ملي مول على التوالي. وقد أظهرت هذه المعاملة (شدة بيضاء وتركيز **175** ملي مول) تفوقاً معنوياً على التداخلات جميعها في الدراسة. وتبين نتائج الجدول نفسه أن الاختلاف المعنوي لتداخلات الأصناف الثلاثة ضمن التركيز الملحي الواحد بدأ عند التراكيز التي تفوق **100** ملي مول وبتفوق تداخلات الصنف شدة بيضاء مع هذه التراكيز . وتتفق هذه النتائج مع ما جاء به **Zhang** وجماعته (33) من حيث ارتفاع محتوى المزروعات النسيجية للقوغ الفراتي من الكلايسين بيتايين بزيادة تركيز ملح **NaCl** في الوسط الغذائي، أذ أن تجمع الكلايسين بيتايين يكون عالياً تحت ظروف الشد الملحي في العديد من الأنواع النباتية لكي يؤدي عمله في حماية بروتين الأغشية السايتوبلازمية (10) فضلاً عن حمايته للسايتوبلازم من فقدان الماء **dehydration** وحماية الكلوروبلاست من التضرر بفعل الصوديوم (22).

فعالية أنزيم البيروكسديز

أظهرت نتائج التجربة المبينة في جدول (3) الخاص بفعالية أنزيم البيروكسديز أن فروع الصنف شدة بيضاء قد سجلت فعالية أنزيمية مقدارها **43.44** وحدة امتصاص/غم وزن طري أعلى معنوياً من الصنفين شدة سوداء وكمالي (**30.42** و**14.65** وحدة أمتصاص/غم وزن طري) على التوالي . وتنسجم هذه النتائج مع ما وجده **Zhang** وجماعته (34) في مزارع صنفين من البطاطا خارج الجسم الحي من حيث وجود ملح **NaCl** في الوسط الغذائي مزروعات

الصنف **Zihuabai** بتركيز **20** ملي مول قد أدى الى حصول زيادة في فعالية انزيم البيروكسديز أكثر مقارنة بفعالية الأنزيم في الصنف الأقل تحملاً للملوحة **Jingshi-2** .

جدول 2: تأثير تركيز ملح NaCl المضاف إلى الوسط الغذائيMS في محتوى أفرع أصناف العنب من الكلايسين بيتايين (مايكروغرام/غم وزن جاف) بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي

تركيز ملح NaCl في الوسط الغذائي (mM)	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	شدة بيضاء	شدة سوداء	كمالي	
0	45.06	40.08	40.10	41.75
75	53.05	42.05	50.10	48.40
100	61.10	55.04	59.09	58.41
125	78.01	70.06	61.12	69.73
150	80.09	75.10	70.07	75.09
175	88.10	84.04	0.00	57.38
معدل الأصناف	67.56	61.06	46.75	
أ. ف .م (0.05)* للتداخل= 3.638	للاصناف =1.485		للتراكيز=2.101	

أ. ف .م = أقل فرقا معنويا (على مستوى0.05).

ويبين الجدول نفسه وجود فروق معنوية بين التراكيز الملحية المستعملة في الدراسة ، اذ ازدادت فعالية أنزيم البيروكسيديز معنوياً في الفروع المتضاعفة النامية في المستويات الملحية 75 ملي مول فما فوق لتصل الى أعلى قيمه عند المستوى الملحي 150 ملي مول ، فقد بلغت 34.91 وحدة أمتصاص/غم وزن طري الذي أختلف معنوياً عن باقي التراكيز الملحية ثم هبطت عند المستوى 175 ملي مول الذي لم يختلف معنويا عن التركيز 125 ملي مول. وتنسجم هذه النتائج مع ما وجده **Niknam** وجماعته (20) عند تعريض بادرات وكالس نبات ***Trigonella*** لملح **NaCl** قد سبب زيادة في فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة مثل **Peroxidase** والـ **Catalase**. كما وجد **Molassiotis** وجماعته (17) نتيجة مماثلة من حيث زيادة فعالية البيروكسديز في أفرع التفاح المزروعة خارج الجسم الحي في أوساط تضاعف مجهزة بتراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم .

ظهرت فروق معنوية في معاملات التداخل بين الأصناف والتراكيز الملحية (جدول3)، اذ تفوقت تداخلات الصنف شدة بيضاء والتراكيز الملحية معنوياً عن باقي التداخلات بين الصنفين شدة سوداء وكمالي وتراكيز ملح **NaCl** في فعالية أنزيم البيروكسديز ، وقد أعطت معاملة التداخل شدة بيضاء وتركيز 175 ملي مول أعلى معدل لفعالية أنزيم البيروكسديز بلغت 53.32 وحدة أمتصاص/غم وزن طري ، في حين انخفضت فعالية أنزيم البيروكسديز في تداخلات الأصناف وتركيز 0 ملي مول **NaCl** ، ولوحظ وجود فروق معنوية في الفعالية الأنزيمية ضمن المستوى الملحي الواحد لكل صنف.

من خلال النتائج المرتبطة بزيادة فعالية انزيم البيروكسيديز ومحتوى الأفرع من الكلايسين بيتايين والبرولين في فروع المزروعات المعرضة للاجهاد الملحي في الصنف شدة بيضاء الذي أبدى مقدرة عالية للتحمل مقارنة بمحتواها في الأصناف الأقل تحملا في الدراسة ، يمكن الاستنتاج بان لهما اثراً مهماً في حماية الخلية وعضياتها.

جدول3: تأثير تركيز ملح NaCl المضاف إلى الوسط الغذائي MS في فعالية أنزيم البيروكسديز(وحدة أمتصاص/غم وزن طري) في أفرع أصناف العنب بعد أربعة أسابيع من الزراعة خارج الجسم الحي

تركيز ملح NaCl في الوسط الغذائي (mM)	الأصناف			معدل تراكيز الملح
	شـدة بيضاء	شـدة سوداء	كمالي	
0	30.23	22.41	12.18	21.60
75	38.09	27.55	16.23	27.29
100	46.38	29.05	17.31	30.91
125	45.21	30.13	18.06	31.13
150	47.43	33.19	24.13	34.91
175	53.32	40.17	0.00	31.16
معدل الأصناف	43.44	30.42	14.65	
أ. ف .م (0.05)* للتداخل = 0.062 ؛ للاصناف = 0.025 ؛ للتراكيز = 0.036				

المصادر

1- الساهوكي، مدحت و كريمة محمد وهيب (1990). تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد،العراق.

2- عبد الحسين، مسلم عبد علي (2004). توظيف تقنية التطفير خارج الجسم الحي في تحسين تحمل اصلي التفاح 106 MM وعمارة Omara لملح كلوريد الصوديوم. أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد،العراق.

3- Ashraf, M. and A. Orooj (2006). Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* [L.] Sprague). *J. Arid Environ.*, 64: 209–220.

4- Ashraf, M. and M.R. Foolad (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Exp. Bot.*, 59(2): 206-216.

5- Bates, L.S.; R.P. Waldren and I.D. Teare (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.*, 39:205-207.

6- Cavagnaro, J.B.; M.T. Ponce; J. Guzmán and M.A. Cirrincione (2006). Argentinean cultivars of *Vitis vinifera* grow better than European ones when cultured *in vitro* under salinity. *Biocell*, 30(1):1-7.

7- Chinnusamy, V.; A. Jagendorf and J. Zhu. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Sci., 45: 437-448.

8- Delauney, A. and D.Verma (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant, J., 4:215-223.

9- Erturk, U.; N. Sivritepe; C. Yerlikaya; M. Bor; F. Ozdemir and I. Turkan (2007). Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. *Biol. Plant.*, 51 (3): 597-600.

10- Giridara Kumar, S.; K.V. Madhusudhan; N. Sreenivasulu and C. Sudhakar (2000). Stress responses in two genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity, *Indian J. Exp. Biol.*, 38 : 192–195.

11- Grieve, C.M. and S.R. Grattan (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds, *Plant Soil.*, 70: 303–307.

12- Harinasut, P.; S. Srisunak; S. Pitukchaisopol and R. Charoensataporn (2000). Mechanisms of adaptation to increasing salinity of mulberry: proline content and ascorbate peroxidase activity in leaves of multiple shoots. *Sci., Asia*, 26 : 207-211.

13- Kavi Kishore, P.B.; S. Sangam; R.N. Amrutha; P.S. Laxmi; K.R. Naidu; K.R. Rao; S. Rao; K.J. Reddy; P.Theriappan and N. Sreenivasulu (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.*, 88, 424–438.

14- Kim, Y.; T. Chung and W. Choi (1988). Increased regeneration from NaCl tolerant callus in rice. *Euphytica,* 39: 207–212.

15- Kumar, S.; A. M. Reddy and C. Sudhakar (2003). NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) with contrasting salt tolerance. *Plant Sci.*, 165: 1245–1251.

16- Lin, J.; Y. Wang and G. Wang (2006). Salt stress-induced programmed cell death in tobacco protoplasts is mediated by reactive oxygen species and mitochondrial permeability transition pore status. *J. Plant Physiol.,163*: 731-739.

17- Molassiotis, A.N.; T. Sotiropoulos; G. Tanou; G. Kofidis; G. Diamantidis and I. Therios (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biol. Plant.*, 50 (3): 331-338

18- Munns, R. and M. Tester (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant. Biol*., 59: 651–681

19- Murashige, T. and F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.

20- Niknam, V.: N. Razavi: H. Ebrahimzadeh and B. Sharifizadeh (2006). Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents, and antioxidant enzymes in seedlings and calli of two *Trigonella* species. *Biol. Plant.*, 50 (4): 591-596.

21- Parida, A.K. and A.B. Das. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotox. Environ. Safety*, 60: 324–349.

22- Rajasekharan, L.R.; P.E. Kriedemann; D. Aspinall and L.G. Paleg. (1997). Physiological significance of proline and glycinebetaine: maintaining photo-synthesis during NaCl stress in wheat, *Photosynthetica*, 34 357–366.

23- Rhodes, D. and A.D. Hanson (1993). Quaternary ammonium compounds and tertiary sulfonium compounds in higher plants, *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 44: 357–384.

24- Sairam, R. K. and G.C. Srivastava (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Sci.*, 162: 897-904.

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

26- SAS. (2001). SAS/STAT. Users guide for personal computer release 6.12. SAS Institute Inc., NC, USA.

27- Singh, S.K.; H.C. Sharma; A.M. Goswami; S.P. Datta and S.P. Singh .(2000a). *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivars affected by sodium chloride. *Biol. Plant.*, 43(2): 283-286.

28- Singh, S.K.; H.C. Sharma; A.M. Goswami and S.P. Singh. (2000b). *In vitro* screening of some grape genotypes(*Vitis spp*.) for NaCl tolerance. *Physiology and Mol. Biol. Plant,* 6 (2):175-178.

29- Solomen, A.; S. Beer; Y. Waisel; G. Jones and G. Paleg. (1994). Effects of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco from *Tamarix jordanis* in the presence and absence of Proline–related compatible solutes. *Physiol. Plant.*, 90:198-204.

30- Troncoso A.; C. Matte; M. Cantos and S. Lavee. (1999). Evaluation of salt tolerance of *in vitro*-grown grapevine rootstock varieties. *Vitis*, 38(2):

55-60.
31- Walker, R.R.; D.H. Blackmore; P.R. Clingeleffer and C.R. Tarr. (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.
32- Xiong, L.; K.S. Schumaker and J.-K. Zhu. (2002). Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* (Supplement 2002), 165-183.
33- Zhang, F.; Y.L. Yang; W.L. He ; X. Zhao and L.X. Zhang (2004). Effects of salinity on growth and compatible solutes of callus induced from *Populus euphratica. In Vitro Cell. Dev. Biol.- plant,* 40(5): 491-494.
34- Zhang, Z.; B. Mao; H. Li; W. Zhou ; Y. Takeuchi and K. Yoneyama (2005). Effect of salinity on physiological characteristics, yield and quality of microtubers in vitro in potato. *Acta Physiolo. Plant.* (27) 4: 481-489.
35- Zhu, J.K. (2001). Plant salt tolerance. Trends Plant Sci., 6: 66–71.

SOME BIOCHEMICAL CHANGES IN THREE GRAPE CULTIVARS CULTURED IN *Vitro* UNDER NaCl SALT STRESS

M.A. Abdulhussein* **A.J. Musa****

ABSTRACT

This experiment was conducted to study the effects of NaCl in on some biochemical changes in three grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars Shadah Sawdaa, Shadah Baidaa and Kamali. Double-node microcuttings were excised from proliferating cultures and subjected to seven different NaCl concentrations (0, 75, 100, 125, 150, 175 and 200 mM) in MS medium, supplemented with 2 mg BA, 0.1 mg / l (NAA), 3% sucrose and 0.7% agar, for 4 weeks .It was clear from the data that the, shoot contents of proline, glycine betaine and peroxidase activity increased due to the increase in NaCl concentrations up to 75 mM in multiplication medium and a different trend between cultivars were observed. Shadah Baidaa shoots showed highest level of proline, glycine betaine and peroxidase activity under salt stress compared with Shadah Sawdaa and Kamali.

* College of Agric.–Kufa Univ. – Al–Najaf,Iraq.

** Directorate of Agric. Res., Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.