

دراسة مقاومة طفرات من الجيل الثالث من القمح (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) للملوحة

مختار بركات*⁽¹⁾ ومروى حسين⁽²⁾ وألفة عياد سلامة⁽²⁾ ويوسف طريفة⁽²⁾ وهاجر سليم عمارة⁽²⁾ وشاهين كرموس⁽²⁾

- (1). المعهد الوطني للبحوث في الهندسة الريفية والمياه والغابات، تونس.
(2). مخبر الوراثة وتحسين الحبوب، المعهد الوطني للعلوم الفلاحية، تونس.
(*للمراسلة: مختار بركات. البريد الإلكتروني: moktar.baraket@gmail.com).

تاريخ القبول: 2020/05/29

تاريخ الاستلام: 2020/04/10

الملخص

يهدف هذا البحث إلى تنمية طرق جديدة لتكيف وتحمل القمح الصلب للملوحة، لذا تم التركيز على استخدام تقنية الطفرات بواسطة الأشعة غاما لتوسيع القاعدة الوراثية لاثنتين من الأصناف المحسنة الأكثر زراعة في تونس، وهما كريم ورزاق، والتي تغطي 70% من مناطق الحبوب المزروعة في تونس، من أجل تطوير طفرات تكيف بشكل أفضل مع الظروف المجهد، ومتحملة للملوحة، مع المحافظة على إنتاجية الأصناف. أجريت هذه الدراسة في أواني بلاستيكية بثلاثة مكررات، حسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، ضمن بيت مكيف بالمعهد الوطني للفلاحة بتونس، خلال الموسم الزراعي 2012/2011 حتى المرحلة (Z60)، وقد بينت التجربة إمكانية إثبات أن الطفرتين (K20 / 108/5 و R20 / 134/4) يتصرفان بشكل مختلف عن نظائريهما غير المشعة وهما الأنماط الوراثية كريم ورزاق. حيث طور المتحول جينياً بواسطة الأشعة غاما K20 / 108/5 آليات تحمّل للملوحة تتمثل أساساً في الحد من دخول الصوديوم في ظروف الإجهاد الملحي بنسبة 34% مقارنة مع الصنف غير المشع كريم. بينما بدا أن تعديل هيكل الجذر هو أساس التسامح مع الملوحة في الطراز المتحول R20 / 134/4.

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب، الإجهاد الملحي، الأشعة غاما.

المقدمة:

يعد قطاع الحبوب أحد أعمدة الاقتصاد الفلاحي في تونس، حيث أنه يمثل 25% من المساحة الزراعية. ويعتبر القمح الصلب (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) الأكثر زراعة بحوالي (580.000 هكتاراً عام 2017) حيث يزرع المزارعون التونسيون تقليدياً هذا المحصول لإعداد الكسكسي والمقرونة (DGPA, 2018).

يمثل استقرار إنتاج الحبوب في تونس أولوية استراتيجية ضمن الإطار الشامل للأمن الغذائي الوطني، نظراً لنقص الموارد المائية والأمطار غير المنتظمة، التي تميز منطقة البحر الأبيض المتوسط، والتي تمثل عقبة خطيرة أمام استقرار إنتاج الحبوب (Latiri et al., 2010). كما أن استخدام مياه الري، الذي يعتبر وسيلة للتخفيف من هذه المشاكل، غالباً ما يكون محدوداً ليس فقط بسبب عدم كفاية المياه، ولكن أيضاً بجودته

المتوسطة. ولعل امتداد الزراعة المروية في المناطق القاحلة وشبه القاحلة والاستخدام المكثف للموارد المائية، بالإضافة إلى التبخر الشديد، يؤدي حتماً إلى تملح التربة والأجسام المائية في العديد من المناطق شبه القاحلة (Gaaloul *et al.*, 2003). وتتفاقم هذه الحالة بسبب شح موارد المياه العذبة. حيث تشكل المياه المالحة التي تحتوي على 2 إلى 6 غ/لتر من الأملاح، 50٪ من المياه الجوفية في وسط وجنوب تونس (Radhouane, 2008).

تحتوي ملوحة السدود في الزراعات المروية على ملوحة تتراوح بين 2 و-6 غرام في اللتر الواحد، بينما تتراوح ملوحة الآبار بين 4 و-7 غرام في اللتر (Jaleel *et al.*, 2007). ويعتبر تكيف النباتات المزروعة في درجة عالية من الملوحة موضوعاً ملحاً للكثير من الدراسات لفترة طويلة، إلا أن اختيار الأصناف المتحملة للضغوط المناخية هو الحل الأمثل للتغلب على هذه المشكلة. ومع ذلك، يظل اختيار الأصناف بالطرق التقليدية عملية بطيئة نسبياً (Melki, 2006).

وتعتبر الطفرات المستحدثة بواسطة الأشعة غاما من الطرق العصرية في زراعة النباتات، لتحديد المتحولات ذات السمات الجديدة، وذات الاهتمام في خلفية وراثية معينة. وتعتبر هذه الطريقة سريعة ويمكن أن تكون فعالة، ويمكن أن توسع نطاق التنوع المتاح للباحثين (Melki and Dahmane, 1998). وفي هذا الإطار، تم إجراء الدراسة، والهدف منها هو تحديد الطفرة التي تتحمل الملوحة، ولديها إمكانات عالية الإنتاجية. مواد البحث وطرائقه:

تم اختيار الصنفين كريم و رزاق (الجدول 1) الأكثر انتشاراً في الحقول التونسية (DGPA, 2000)، وتم إدخالها ضمن منظومة لتحسين تكيف القمح الصلب مع الملوحة باستعمال الأشعة غاما، بعد أن تم إثبات أن الجرعة 150 غراي هي الجرعة المناسبة لتحسين القمح الصلب. انطلاقاً من الجيل الثاني و باستعمال صفة ديمومة الاخضرار لدى الورقة الأخيرة لنبته القمح تم الحصول على 10 طفرات، من بينهم 6 طفرات للصنف كريم و 4 طفرات للصنف رزاق. تم تأكيد تكيف هذه الطفرات وتحملها للملوحة في الجيل الثالث باستعمال الجرعتين 6 و 12 غ/ل من الملح. مكنت هذه الدراسة بواسطة بعض الصفات الشكلية و البيوكيميائية من الحصول على طفرتين بدت مقاومة بنسبة كبيرة للملوحة. تم دراسة هاتين الطفرتين لفهم تكيفهم مع الملوحة في أواني بلاستيكية تحت ضغط 6 غ/ل.

الجدول 1: نسب الصنفين كريم ورزاق

Genotype	Origin	Reference
Karim	D21563/AA''S''//Fg''S'' CM9799-126M-4Y-0Bj	(5)
Rezzak	AA''S''/3/Lak/Lds390//Ch67: Dmx69-331/Karim D76-296-1Bj-1Bj-3Bj-0Bj	(5)

تجربة الأواني البلاستيكية:

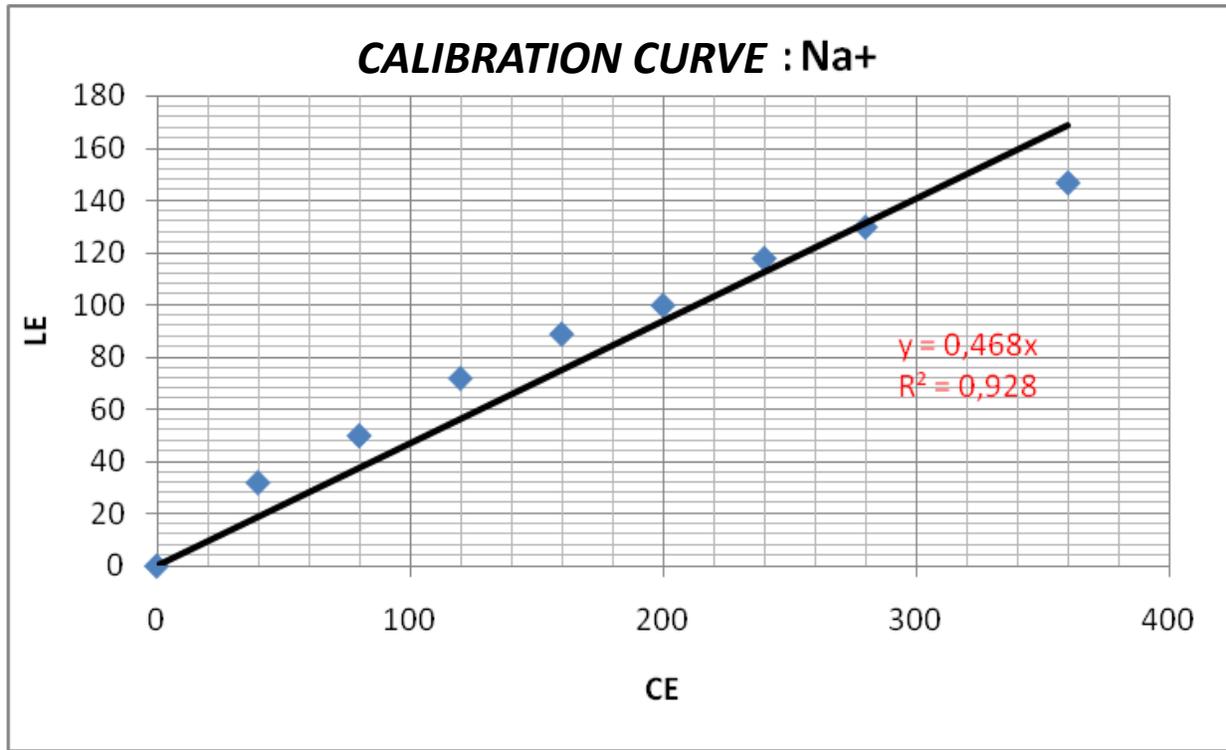
زرعت الطفرات في اسطوانات بلاستيكية قطرها 50 سم، وطولها 120 سم، مملوءة بالرمل عدد 8 حبيبات/وعاء، ووضعت تحت ظروف شبه متحكم بها الحرارة، والرطوبة، والفترة الضوئي، مع المحافظة بعد الإنبات على 5 نباتات في كل اسطوانة. تم تنفيذ الري بمتوسط تكرار مرة كل أربعة أيام، مع تطبيق الإجهاد الملحي باستعمال كلورد الصوديوم 6 غ/ل في مرحلة الورقة الواحدة. تم عملية الغسيل المنتظمة لتجنب تراكم الأملاح في التربة. هذا وتم إجراء تقييم لمحتوى الصوديوم في أجزاء مختلفة من النبتة (الجزر والساق والأوراق). أخذت جميع القياسات على الأجزاء الهوائية والجذرية من النباتات المطفرة.

تحديد الصوديوم في الأوراق:

تم حساب النسب المئوية للصوديوم في العينات النباتية بتطبيق الصيغة:

$$\% \text{Na}^+ = (L_E * C_e / L_c * V / PS 1000) * 100$$

وتمت الاستعانة في عملية التقييم باستعمال منحني معايرة الصوديوم الورقي للعينات النباتية.



الشكل 1. منحني معايرة الصوديوم الورقي للعينات النباتية

التحليل الإحصائي:

زرعت التجربة بثلاثة مكررات حسب تصميم القطاعات العشوائية الكاملة، في بيت مكيف بالمعهد الوطني للفلاحة بتونس، خلال الموسم الزراعي 2012/2011. حيث زرعت الطفرات K20 / 108/5 و R20 / 134/4، والصنفين كريم ورزاق في أنابيب الرمال في وجود أو عدم وجود الإجهاد 6 غرامات في اللتر الواحد حتى نهاية المرحلة (Z60). وفي نهاية الاختبار، تم تحليل النتائج المختلفة.

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام الإصدار 17.0 من برنامج "SPSS" وتم إجراء مقارنة متعددة للمتوسطات باستخدام اختبار دنكان.

النتائج والمناقشة:

الطفرة K20 / 108/5:

تراكم الصوديوم في الجذور والأجزاء الهوائية:

يظهر تحليل التباين آثار كبيرة للملح في الأعضاء الثلاثة، ويظهر الإجهاد الملحي تأثيرات كبيرة على النمط الوراثي في الساق والورقة (الجدول 2).

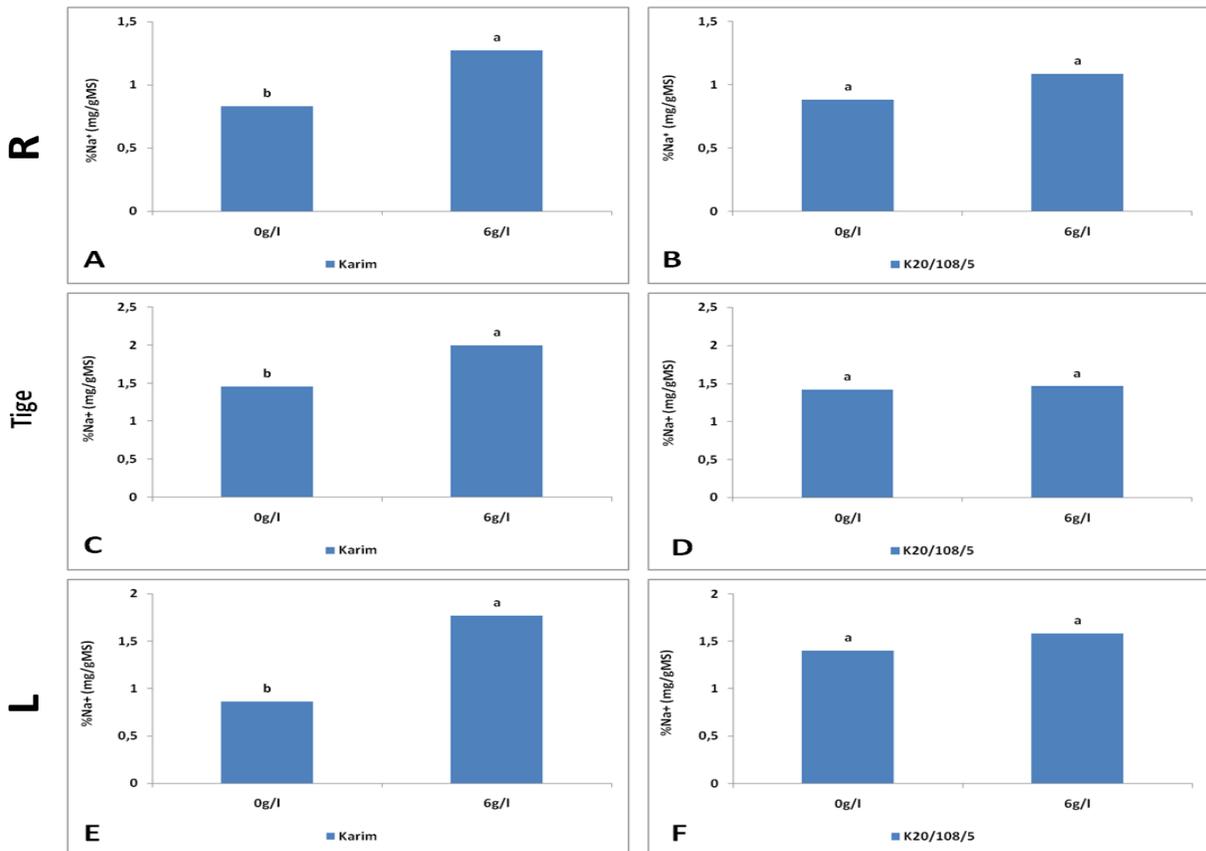
تسبب الإجهاد الملحي في زيادة واضحة و ذا دلالة معنوية في محتوى Na⁺ في صنف كريم للأجزاء الثلاثة. هذه الزيادات تراوحت بين 53 %، و 37.24 % للجذر والساق والأوراق، على التوالي. مما يستدل على أن الصنف كريم حساس للملوحة، ولم ينجح في الحد من دخول

الصوديوم تحت ضغط الملح (الشكل 2)، ولكن بالإضافة إلى ذلك يبدو أن الصوديوم يتركز بشكل خاص في الأنسجة الضوئية خلافاً لذلك أظهرت الطفرة استقراراً في Na⁺ لجميع الأعضاء، حيث تم تسجيل تراجعاً بنسبة 34% مقارنةً مع الصنف كريم. وبالتالي، فإن هذا المتحول متسامحاً مع الملوحة من خلال آلية الحد من دخول الصوديوم (Davenport *et al.*, 2007).

الجدول 2. تحليل التباين لمحتوى الصوديوم في الجذر والأجزاء الهوائية.

Source of variation	df	Na ⁺ Root	Na ⁺ Stem	Na ⁺ Leaf
Genotype	1	0.014 ^{ns}	0.243*	0.426*
Treatment	1	0.314*	0.255*	1.671*
Genotype * treatment	1	0.041 ^{ns}	0.186 ^{ns}	0.080 ^{ns}
R ²		0.489	0.584	0.752

^{ns} غير معنوي، * معنوي عند مستوى ثقة 0.05، ** معنوي عند مستوى ثقة 0.01.



الشكل 2. محتوى الصوديوم في الجذر والجذع والجزء الهوائي للصنف كريم وطفراته K20 / 108/5

لا تختلف المتوسطات التي يتبعها نفس الحرف داخل النمط الوراثي اختلافاً كبيراً عند مستوى 5%. محتوى الصوديوم في الجذر والجذع والجزء الهوائي للصنف الوراثي كريم.

الطفرة: R20 / 134/4:

تراكم الصوديوم في الجذور والأجزاء الهوائية:

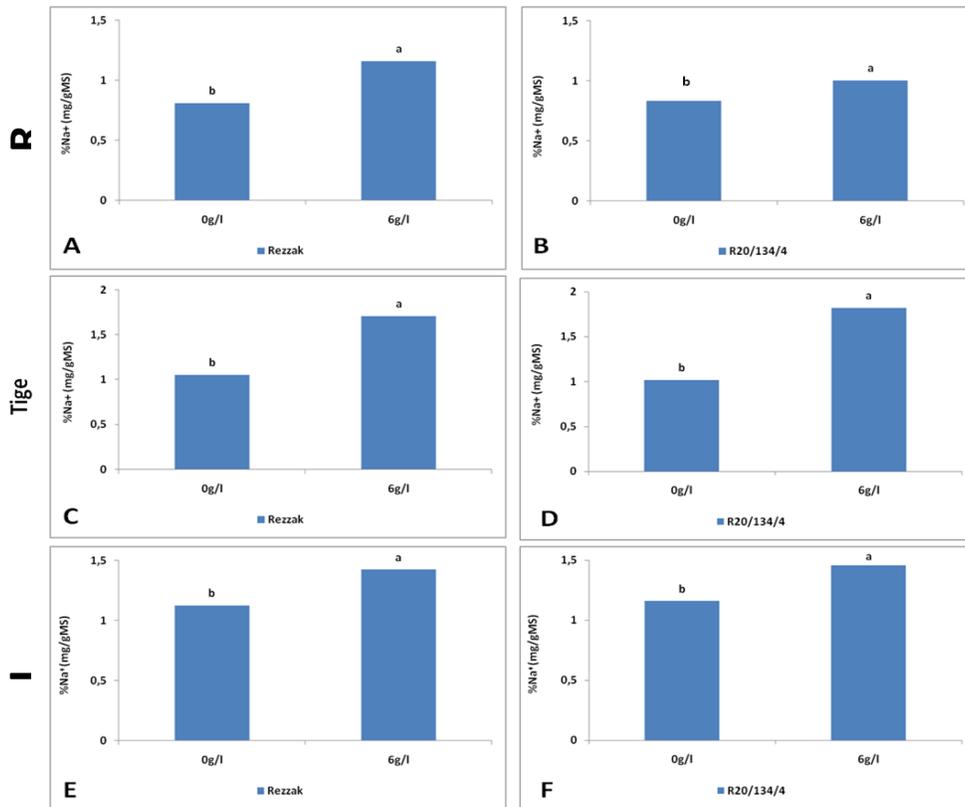
في الأقسام الثلاثة للنبات، يظهر تحليل التباين تأثيرات واضحة ومعنوية بين معاملات التشيع وليست ذات دلالة للتراكيب الوراثية، بالإضافة إلى التفاعل بين الطرز الوراثية * معاملات التشيع (الجدول 3).

الجدول 3. تحليل التباين النسبي لتغير محتوى Na⁺ عند الجزء الجذري والجزء الجذري والجزء الجوي من R20 / 134/4 ، بوعاء الاستزراع تحت ضغط الملح.

Source of variation	ddl	Na ⁺ Root	Na ⁺ Stem	Na ⁺ Leaf
Genotype	1	0.014 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.004 ^{ns}
Treatment	1	0.195*	1.584*	0.267*
Genotype * treatment	1	0.023 ^{ns}	0.016 ^{ns}	8.333 ^{ns}
Error	16	0.260	0.211	0.107
R2		0.472	0.884	0.717

^{ns} غير معنوي، * معنوي عند مستوى ثقة 0.05، ** معنوي عند مستوى ثقة 0.01.

يعتبر تأثير الملوحة مهم. بالنسبة لجميع أجزاء النبات، حيث أدت إلى زيادة محتوى الصوديوم في كل من صنف رزاق والمتحول (الشكل 3). لذا يبدو أن التسامح مع متحول رزاق يرتبط بظواهر أخرى غير استبعاد الصوديوم أو تجزئة الأنسجة الخاصة به. يمكن أن تفسر التحمل الهام للملوحة لدى هذا الطافر. قد يكون نتيجة للتسامح مع التركيبية التناضحية للإجهاد الملحي، أو تحسين تجزئة الصوديوم بشكل مفرط، أو ببساطة نتيجة قوة متحولة مبكرة مقارنة مع الصنف الأصلي رزاق (Schachtman, 1992).



الشكل 3. محتوى الصوديوم في الجذور والأجزاء الهوائية من الطافر R20 / 134/4 و الأصل غير المشع لا تختلف المتوسطات التي يتبعها نفس الحرف داخل النمط الوراثي اختلافاً كبيراً عند مستوى 5٪.

الاستنتاجات:

إن التطوير عن طريق الأشعة غاما هو من بين أكثر التقنيات الواعدة لخلق تقلبات جينية جديدة أو في التطوير المباشر للأصناف. ومع ذلك، فقد استخدمت هذه التقنية على نطاق قليل جداً في تونس في برامج التحسين الوراثي للنباتات.

يمكن أن يؤدي تطوير الطفرات الناتجة من الصنفين رزاق وكريم التي تتحمل الملوحة إلى توسيع نطاق نموها إلى مناطق مالحة، أو تحت الري في إطار مشروعين تعاونيين بين مختبر الوراثة وتحسين الحبوب في المعهد الوطني للعلوم الفلاحية (INAT) والوكالة الدولية للطاقة الذرية (IAEA).

تم من خلال هذا البحث وضع المبادئ التوجيهية الأساسية لتنفيذ برنامج تحسين القمح الصلب عن طريق الطفرات، وإثبات اختلاف سلوك الطفرتين (K20 / 108/5 و R20 / 134/4) عن الصنفين الأصليين. ففي الطفرة K20 / 108/5، يكون التسامح نتيجة استبعاد دخول الصوديوم من محلول التربة. بينما، في الطفرة R20 / 134/4، يمكن ربط التسامح بآليات الاستجابة للعنصر التناضحي للإجهاد الملحي. كما يبدو أن تعديل هيكل الجذر هو أساس التسامح مع الملوحة في هذه الآلية.

التوصيات:

التأكيد على أن استخدام الطفرات المستحدثة بأشعة غاما يمكن أن يكون فعالاً وموثوقاً ويفتح الطريق إلى وجهات نظر جديدة مثيرة للاهتمام كأداة لتحسين أصناف من القمح الصلب مقاومة للملوحة.

المراجع:

- Davenport, R.J.; A. Munoz-Mayor; J. Deepa; P.A. Essah; A. Rus; and M. Tester (2007). The Na⁺ transporter AtHKT1; 1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*. 30: 497–507.
- Deghaïs, M.; M. Kouki; and M. El Felah (2007). Les variétés de céréales cultivées en Tunisie, blé dur, blé tendre, orge et triticale. Pp. 445.
- DGPA (2000). Direction générale de production agricole au sein de ministère de l'Agriculture et des ressources hydrauliques.
- DGPA (2018). Direction Générale de Production Agricole au sein de ministère de l'Agriculture et des ressources hydrauliques.
- Gaaloul, N.; and A.H.D. Cheng (2003). Hydrogeological and Hydrochemical Investigation of Coastal Aquifers in Tunisia: Crisis in Overexploitation and Salinization. Second International Conference on Saltwater Intrusion and Coastal Aquifers Monitoring, Modeling, and Management. Merida, Mexico, March 30-April 2, 2003.
- Jaleel, C.A.; B. Sankar; P. Manivannan; A. Kishorekumar; R. Sridharan; and R. Panneerselvam (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and praline metabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. *South African Journal of Botany*. 73: 190–195.
- Latiri, K.; J.P. Lhomme; M. Annabi; and T.L. Setter (2010). Wheat production in Tunisia: progress, inter-annual variability and relation to rainfall. *European Journal of Agronomy*. 33: 33-42.
- Melki, M.; and A.B.K. Dahmane (1998). Etude de quelques variations phénotypiques de la première génération issue de semences irradiées de quatorze variétés tunisiennes de blé dur (*Triticum durum Desf.*). *Revue de l'INAT*. 14 : 8-17
- Melki, M. (2006). Thèse de doctorat d'état en sciences agronomiques: sélection pour la tolérance à la sécheresse d'idéotypes de blé dur (*Triticum Durum Desf.*) issus de l'irradiation de semences de quatorze variétés Tunisiennes par des rayons gamma de cobalt de différentes intensités. 159p.
- Radhouane, L. (2008). Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains chez quelques écotypes de mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) autochtones de Tunisie. *C R Biologies*. 331 : 278-86.
- Schachtrnan, D.P.; and R. Munns (1992). Sodium accumulation in leaves of *Triticum* species that differ in salt tolerance. *Aust. J. Plant Physiol.*, 19: 331-340.

Study the Tolerance of Durum Wheat (*Triticum turgidum* subsp. durum) Mutations at M3 Generation to Salt Stress

Mokhtar Baraket*⁽¹⁾ Hassine Marwa⁽²⁾ Olfa Ayed Slama⁽²⁾ Trifa Youssef⁽²⁾ Hajer Slim Amara⁽²⁾ and Karmous Chahine⁽²⁾

(1). National Research Institute for Rural Engineering, Water and Forestry, Ariana, Tunisia.

(2). University of Carthage, National Agronomic Institute of Tunisia, LR14AGR01, Laboratory of Genetics and Cereal Breeding, National Agronomic Institute of Tunisia, Avenue Charles Nicolle 43, 1082 Tunis, Tunisia.

(*Corresponding author: Mokhtar Baraket. E-Mail: mokhtar.baraket@gmail.com).

Received: 10/04/2020

Accepted: 29/05/2020

Abstract

The present study aimed to identify new sources of salt stress tolerance in durum wheat (*Triticum turgidum* subsp. durum) through mutations induced by gamma radiation. Therefore, the irradiation of the seeds of the two most widely grown cultivars of Tunisia namely Karim and Rezzak was performed in order, to develop a new tolerant mutant of these two varieties, which are well adapt to stress conditions with the best potential productivity. Two mutants, the first (K20/108/5) was derived from Karim and the second (R20/134/4) was derived from Rezzak using irrigation with NaCl. The plants were grown under controlled conditions using pots. It was observed that the two mutants have different tolerance mechanisms to NaCl, which were summarized by the modification of the root structure of R20/134/4 mutant. However, the mutant K20/108/5 had a distinct tolerance mechanisms that was mainly summarized in mechanisms that limited sodium entry under salt stress conditions by 34% compared to the parent.

Key words: Durum wheat, Salt stress, Gamma irradiation.