

تأثير الرش بحمض الساليسيليك على نمو نبات الكتان وإنتاجيته (*Linum usitatissimum* L.) تحت ظروف الإجهاد الملحي

قمر صوفان⁽¹⁾* و أحمد صوفي⁽¹⁾

(1). قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية- جامعة تشرين - اللاذقية - سوريا.
(*للمراسلة: د. قمر محمد صوفان، البريد الإلكتروني: 123qamar456@gmail.com،
الهاتف: 00963994870211)

تاريخ القبول: 2024 / 7 / 29

تاريخ الاستلام: 2024 / 4 / 6

الملخص

أجري هذا البحث لمعرفة تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك على النمو الخضري لنبات الكتان تحت ظروف الإجهاد الملحي المصطنع في قرية برج اسلام، اللاذقية، سورية خلال الأعوام 2023-2024م، وذلك في تجربة عاملية استخدم فيها التصميم العشوائي الكامل (R.C.D) بثلاثة مكررات، تكونت المعاملة من ثلاثة مستويات للملوحة (4، 6 و 8) ميلليموز/سم²، وثلاثة تراكيز لحمض الساليسيليك (25، 50 و 75) ملغ/ليتر. تم قياس الصفات: المورفولوجية [ارتفاع النبات (سم) وعدد التفرعات (فرع/نبات)]، البيوكيميائية [محتوى الأوراق من: الكلوروفيل (ميكروغرام/غ) والبرولين (ميكرومول/غ)]، الإنتاجية [عدد الكبسولات على النبات (كبسولة/نبات)]، عدد البذور في الكبسولة (بذرة/كبسولة) ووزن الألف بذرة (غ)]. أظهرت نتائج الدراسة أن مستويات الملوحة وتراكيز الساليسيليك أثرت بشكل معنوي ($P < 0.05$) على الخصائص المدروسة، وبزيادة تراكيز الملوحة انخفضت قيم جميع المؤشرات باستثناء محتوى الأوراق من البرولين، الذي ارتفع بشكل طردي مع زيادة تركيز الملوحة، حيث وصل إلى (1.58) ميكرومول/غ. أشارت نتائج مقارنات المتوسطات إلى تحسن صفات النمو الخضري (ارتفاع النبات 78 سم، عدد التفرعات 5.08 فرع/نبات) والمؤشرات البيوكيميائية (محتوى الأوراق من الكلوروفيل 255 ميكروغرام/غ) والإنتاجية (عدد الكبسولات 169 كبسولة، عدد البذور في الكبسولة 8 بذرة ووزن الألف بذرة 5.96)، وذلك عند المعاملة بالساليسيليك خاصة عند التركيز 25 ملغ/ليتر، وقد أدى التداخل بين الملوحة والساليسيليك بالتركيز المنخفض منهما إلى تحسن نسبي في الخصائص المورفولوجية والبيوكيميائية والإنتاجية للكتان مقارنةً بجميع المعاملات والشاهد، حيث أدت المعاملة بالتأثير المشترك بالتركيز المنخفض للساليسيليك والملوحة إلى تحفيز النمو.

الكلمات المفتاحية: حمض الساليسيليك، الإجهاد الملحي، الكتان، البرولين.

المقدمة:

الكتان نبات عشبي حولي اسمه العلمي (*Linum usitatissimum* L.) وينتمي للفصيلة Linaceae ويصل ارتفاعه إلى حوالي (30 إلى 102) سم، له أهمية كبيرة في الحياة اليومية كون أنسجته تستخدم في صناعة الملابس، إضافةً إلى استخداماته الطبية القديمة في علاج الكسور والجروح (عز الدين، 2022).

يُعد نبات الكتان من المحاصيل الصناعية الهامة، حيث يمكن الاستفادة من بذوره وأليافه معاً، كونه نبات ثنائي الغرض، ويأتي في المرتبة الثانية بالنسبة لمحاصيل الألياف بعد القطن الذي يعد من المحاصيل الهامة في الصناعة (Abd El-Mohsen *et al.*, 2013).

تعد بذور الكتان (*Linum usitatissimum* L.) سادس أكبر محصول للبذور الزيتية في العالم وهي واحدة من أقدم النباتات المزروعة، وهي ذات فوائد صحية عديدة كونها غنية بحمض ألفا لينوليك المفيد لمرضى القلب (Chen *et al.*, 2006).

يعتبر الكتان مصدر للعديد من الصناعات المختلفة، منها: الألياف والزيت، بالإضافة إلى ذلك، لبذور الكتان آثار عديدة في الوقاية والعلاج من بعض أنواع السرطان والاضطرابات العصبية والهرمونية وأمراض القلب والأوعية الدموية (Koçak *et al.*, 2022)، كما يستخدم هذا النبات في إنتاج أعلاف الدواجن، إضافةً إلى استخدامه في صناعة الخشب المضغوط (الحبيبي) (Bakry *et al.*, 2012).

تؤثر الملوحة سلباً في نمو النباتات وتطورها، وتعد إحدى المجهذات البيئية الضارة للنباتات وفق ما ذكر (Sunita *et al.*, 2011)، كما تؤدي إلى انخفاض في إنتاجية المحاصيل (Munns and Tester, 2008).

يعد كلوريد الصوديوم الملح الرئيسي الذي يسبب التملح، كما يؤثر على العمليات المورفولوجية والكيميائية الحيوية والجزيئية، بما في ذلك إنبات البذور ونمو النبات، امتصاص الماء والمغذيات من التربة، والتسمم النباتي للأيونات مثل Na^+ و Cl^- (Kaya *et al.*, 2012)، ويؤدي الإجهاد الملحي عادةً إلى تقليل محتوى الأوراق من الكلوروفيل، وزيادة المحتوى من البرولين (Mervat *et al.*, 2013).

طورت الخلايا النباتية نظاماً معقداً مضاداً للأكسدة وذلك لتقليل تأثير الإجهاد الملحي، يتكون من مضادات أكسدة إضافةً إلى بعض الإنزيمات (Apel and Hirt, 2004)، وإحدى الأساليب المستخدمة لتحفيز تحمل الإجهاد التأكسدي الناتج عن الملوحة هو زيادة المستويات الخلوية من مضادات الأكسدة مثل حمض الساليسيليك الذي يُعد بمثابة جزيء إشارة يعزز توليد أنواع الأكسجين التفاعلية أثناء الإجهاد الملحي وبالتالي يلعب دوراً واضحاً في تحمل الإجهادات الملحية (Horvath *et al.*, 2007).

تتمثل أحد أهم وظائف حمض الساليسيليك الفسيولوجية في تعزيز نمو النباتات المختلفة وتطورها (Belkhadi *et al.*, 2010)، وزيادة محتوى الأوراق من الكلوروفيل (Singh and Usha, 2003)، ورفع نشاط مضادات الأكسدة (Shi *et al.*, 2009)، وتحفيز مقاومة النبات للإجهادات الأحيائية واللاأحيائية مثل الإجهاد الملحي (Idrees *et al.*, 2011).

في دراسة سابقة أيضاً وجد أن الرش بحمض الساليسيليك يزيد من تحمل نبات الكتان للملوحة عن طريق رفع محتوى الأوراق من صبغات عملية التمثيل الضوئي، ومحتوى الماء النسبي، ومحتوى الأوراق من البرولين (Bakry *et al.*, 2012).

يؤثر الإجهاد الملحي بشكل كبير على البنية المورفولوجية للنبات والعمليات الفسيولوجية، مما يؤدي إلى انخفاض نمو النبات وإنتاجيته، لذلك هدف هذا البحث إلى:

1. معرفة تأثير المعاملة بحمض الساليسيليك في تحسين مؤشرات النمو المختلفة والتي تنعكس بالمقابل على إنتاجية هذا المحصول تحت ظروف الإجهاد الملحي.

2. معرفة التأثيرات السلبية للملوحة على الخصائص المختلفة لنبات الكتان: ارتفاع النبات، عدد التفرعات، محتوى الأوراق من الكلوروفيل، البرولين، عدد الكبسولات على النبات، عدد البذور في الكبسولة ووزن الألف بذرة.

مواد البحث وطرقه:

مكان تنفيذ البحث وزمانه:

تم إجراء البحث في الأعوام 2023-2024م في كل من مخبر البحث العلمي التابع لكلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين، وبيت

محمي بقرية برج اسلام - محافظة اللاذقية، كما أُجريت التحاليل الكيميائية في مخبر البحث العلمي التابع للكلية ذاتها.

المادة النباتية المستخدمة:

استخدم بذور صنف الكتان المحلي التابع للنوع العادي المزروع (*Linum usitatissimum* L.) تمّ الحصول عليها من السوق المحلية، ويُعد من أكثر أنواع الكتان انتشاراً وأهميّة، وأهم ما يميز هذا النوع هو عدم تفتح علب البذور.

تمّت زراعة البذور على وسط زراعي (مسكبة)، وُقِلت الشتول لزراعتها في تجربة عاملية باستخدام تصميم العشوائية الكاملة (R.C.D) بثلاث مكررات، وذلك في أكياس بلاستيكية عددها 48 كيس (16 كيس لكل مكرر يتضمن شاهد واحد) ذات أبعاد (30×15) سم بسعة (5-6) كغ تحتوي على تربة تمّ تحضيرها كخليط من الرمل والطين بنسبة (1/2)، أُضيفت الأسمدة الفوسفورية P_2O_5 بمعدل 5 غ لكل كيس على شكل سوبر فوسفات الكالسيوم 46%، وأضيفت الأسمدة البوتاسية K_2O بمعدل 2 غ على شكل سماد عالي البوتاس 40%، وذلك قبل الزراعة، بينما أُضيفت الأسمدة الأزوتية بمعدل 4 غ على شكل سماد اليوريا 46%، لكل كيس خلال موعدين (مرحلة التشتيل وبعد 50 يوماً من الزراعة)، رُشّت النباتات مرتين خلال مرحلة النمو الخضري (بعد 45 و 60 يوم من الزراعة) بمحلول مائي من حمض الساليسيليك، على الشكل التالي:

$$A_0 = 0 \text{ ملغ/لتر، } A_1 = 25 \text{ ملغ/لتر، } A_2 = 50 \text{ ملغ/لتر، } A_3 = 75 \text{ ملغ/لتر.}$$

تمّ الري بمياه مالحة باستخدام محاليل محضرة من ملح كلوريد الصوديوم NaCl بمعدل رية واحدة كل 3 ريات بعد رش حمض الساليسيليك بحيث تقابل الناقلية الكهربائية وفق المعاملات التالية:

$$S_0 = 0 \text{ ميلي موز/سم}^2، S_1 = 4 \text{ ميلي موز/سم}^2، S_2 = 6 \text{ ميلي موز/سم}^2، S_3 = 8 \text{ ميلي موز/سم}^2.$$

المؤشرات المدروسة

• المؤشرات المورفولوجية:

- ارتفاع النبات Plant Height (سم/نبات): تمّ قياس ارتفاع النبات (سم) لجميع النباتات بدءاً من مستوى سطح التربة حتى القمة النامية في بداية مرحلة التزهير (بعد 90 يوماً من الزراعة).
- عدد الأفرع الأولية على النبات (فرع/نبات): وذلك بحساب متوسط عدد الأفرع الأولية المتشكلة على جميع النباتات المدروسة.

• المؤشرات البيوكيميائية:

- محتوى الأوراق من الكلوروفيل Chlorophyll Content (ميكروغرام/غ): وذلك بسحق عينات معروفة الوزن من أوراق الكتان الخضراء في الأسيتون النقي ومن ثم قياس الامتصاص الضوئي للمستخلص باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر على أطوال الموجات 470، 645 و 662 نانومتر ثم من معادلات وفقاً لطريقة الباحث (Lichtenthaler, 1987).
- محتوى الأوراق من البرولين Proline content (ميكرومول/غ): تم تحليل محتوى الأوراق من البرولين وفقاً لطريقة (Bates et al., 1973). حيث تم سحق 100 ملغ من أوراق الكتان الخضراء في 5 مل من المحلول المائي لحمض سلفوساليسيليك (3%). أُؤخذ 2 مل من المستخلص وأضيف له 2 مل من محلول النينهيدرين المنشط للتفاعل (نينهيدرين + حمض الخل الثلجي + حمض أورثوفوسفوريك) و 2 مل من حمض الخل الثلجي. ثم وضعت الأنابيب في حمام مائي ساخن 100 °م لمدة ساعة، وبعد التبريد على الماء المثلج تم وضع 4 مل من التولوين. تم قياس الامتصاص الضوئي على طول موجة 520 نانومتر باستخدام جهاز السبيكتروفوتومتر.

• مؤشرات الغلة:

- أُخذت القراءات التالية بعد 150 يوماً من الزراعة (مرحلة النضج التام)، وهي على الشكل التالي:
- عدد الكبسولات على النبات (كبسولة/نبات): وذلك من خلال تقدير عدد الكبسولات المتشكلة على جميع النباتات وحساب المتوسط لكل معاملة.
- عدد البذور في الكبسولة (بذرة/كبسولة): وذلك من خلال أخذ متوسط عدد البذور ضمن 10 كبسولات متشكلة على النباتات عشوائياً وتقدير متوسط عدد البذور لكل كبسولة.
- وزن الألف بذرة (غ): تمّ تقديره عن طريق حساب وزن 100 بذرة مأخوذة من حصاد النباتات لكل معاملة وضرب الناتج بـ 10.

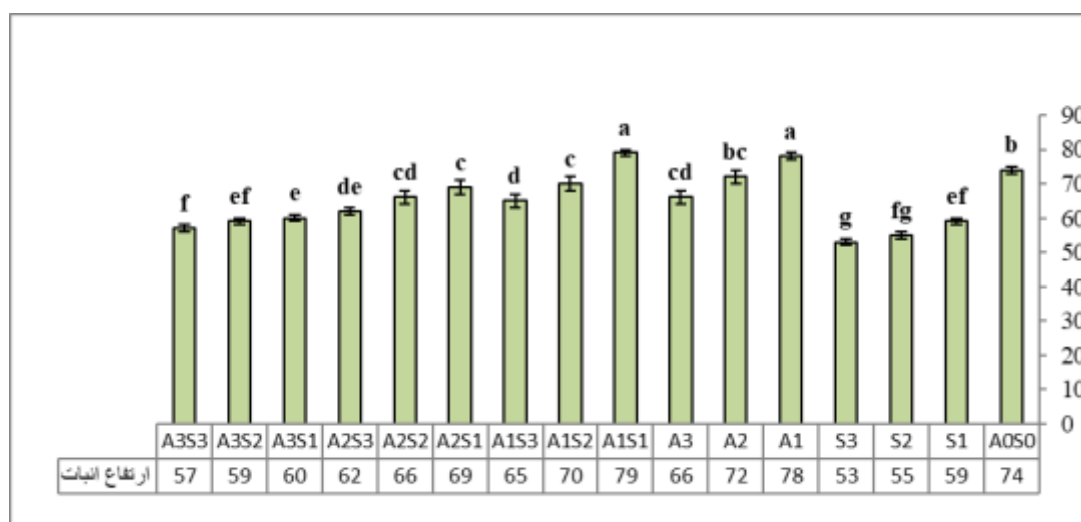
تم إجراء تحليل التباين للبيانات باستخدام البرنامج R statistical software باستخدام الاختبار ANOVA مع Tukey وستعرض النتائج بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ($\text{means} \pm \text{SE}$) والفروقات ذات معنوية عند مستوى الاحتمالية $P < 0.05$.

النتائج والمناقشة:

1. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في ارتفاع نبات الكتان (سم):

يتضح من نتائج الشكل (1) وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة ارتفاع نباتات الكتان (سم). حيث أدت مستويات إجهاد الملوحة المتدرجة إلى انخفاض معنوي في صفة ارتفاع النبات خاصة عند التراكيز المرتفعة منها، وذلك عند المعاملتين S_2 و S_3 (55 و 53) سم على التوالي مقارنةً مع نباتات الشاهد التي وصل ارتفاعها إلى (74) سم.

أدت المعاملة بالمستويات المتدرجة من حمض الساليسيليك لوحدها إلى زيادة معنوية في ارتفاع نباتات الكتان، فقد حققت أعلى ارتفاع عند المعاملة A_1 (78) سم، مقارنةً بالمعاملة A_2 (72) سم، والمعاملة A_3 (66) سم. كما أدت أيضاً معاملة الساليسيليك والملوحة لزيادة في ارتفاع النبات عند التراكيز المنخفضة منهما، حيث تفوقت المعاملة A_1S_1 (79) سم على باقي المعاملات والشاهد.



الشكل (1): ارتفاع نباتات الكتان التي تم معاملةها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ملليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ($\text{means} \pm \text{SE}$)، $n=3$ ، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P < 0.05$, ANOVA-Tukey test).

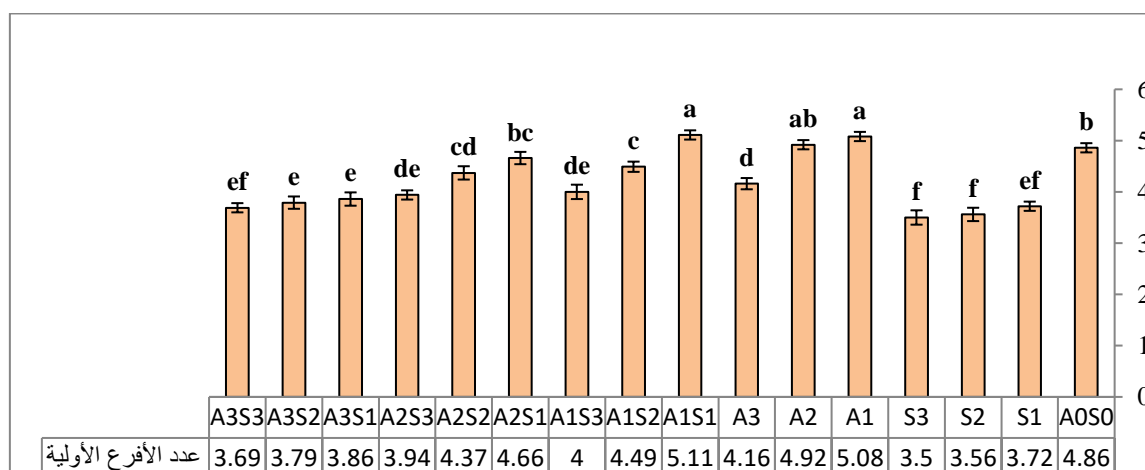
نلاحظ من نتائج دراسات سابقة أنَّ الإجهاد الملحي يثبط نمو العديد من النباتات، بسبب زيادة الضغط الأسموزي وبالتالي منع امتصاص الماء، كانت هذه النتائج مشابهة لما توصلت إليه نتائج أبحاث دراسة (Hasan *et al.*, 2017).

قد يعود التأثير الإيجابي لحمض الساليسيليك على نبات الكتان تحت ظروف الإجهاد الملحي خاصةً عند التأثير المشترك من التركيز المخفف للملح إلى تنشيط مضادات الأكسدة التي تحمي النبات من الجذور الحرة، كما يمكن أن يعزى هذا التأثير إلى دوره كمنظم حيوي لبعض العمليات الفسيولوجية في النباتات مثل استطالة الخلايا وانقسامها، تخليق البروتين وزيادة نشاط عملية التمثيل الضوئي، وبالتالي زيادة النمو الخضري للنبات (El-Tayeb, 2005).

2. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في عدد الأفرع الأولية على النبات (فرع/نبات):

نلاحظ من نتائج الشكل (2) وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة عدد الأفرع الأولية (فرع/نبات)، أدت مستويات إجهاد الملوحة المتدرجة إلى انخفاض معنوي في صفة عدد الأفرع الأولية خاصة عند التراكيز المرتفعة منها، وذلك عند المعاملتين S_2 و S_3 (3.5 و 3.56) فرع/نبات على التوالي مقارنةً مع نباتات الشاهد التي وصل عدد أفرعها الأولية إلى (4.86) فرع/نبات.

أدت المعاملة بالمستويات المتدرجة من حمض الساليسيليك لوحدها إلى زيادة معنوية في عدد الأفرع الأولية لنبات الكتان، فقد تفوقت المعاملة A_1 (5.08) فرع/نبات من حيث هذه الصفة على المعاملة A_2 (4.92) فرع/نبات، والمعاملة A_3 (4.16) فرع/نبات، أدت أيضاً معاملي الساليسيليك والملوحة لزيادة في ارتفاع النبات عند التراكيز المنخفضة منهما، حيث تفوقت المعاملة A_1S_1 (5.11) فرع/نبات على باقي المعاملات والشاهد.



الشكل (2): عدد الأفرع الأولية لنباتات الكتان التي تم معاملةها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ملليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغم/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ($\text{means} \pm \text{SE}$)، $n=3$ ، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P < 0.05$, ANOVA-Tukey test).

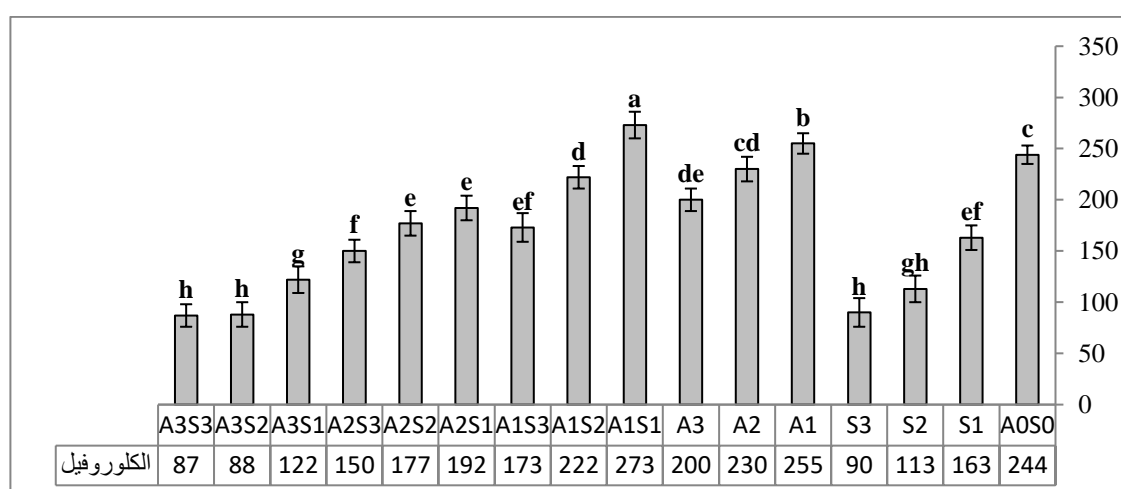
تُعد صفة عدد الأفرع الأولية لكل نبات من الخصائص المورفولوجية المهمة (Vender *et al.*, 1995)، وفي هذا السياق بينت دراسة Mervat and Ebtihal (2013) أنَّ الملوحة تؤثر على الانقسام الخلوي للخلايا النباتية، وبالتالي تنعكس سلباً على صفة عدد الأفرع الأولية على نبات الكتان.

بالنسبة للتأثير الإيجابي لحمض الساليسيليك تحت ظروف الملوحة، بيّنت دراسة صوفي وآخرون (2020) أنَّ المعاملة بحمض الساليسيليك والملح معاً بالتركيز المخفف أدت إلى زيادة عدد الأفرع على نبات الريحان مقارنةً بالشاهد وباقي المعاملات، على النقيض من ذلك فقد أدت التراكيز العالية إلى انخفاض عدد الأفرع على النبات الواحد.

3. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في محتوى الأوراق من الكلوروفيل (ميكروغرام/غ):

تبين نتائج الشكل أدناه (3) وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث محتوى أوراق الكتان من الكلوروفيل (ميكروغرام/غ)، أدى إجهاد الملوحة إلى انخفاض معنوي في صفة محتوى الأوراق من الكلوروفيل خاصة عند التراكيز المرتفعة منه، وكان ذلك واضحاً عند المعاملتين S_2 و S_3 (113 و 90) ميكروغرام/غ على التوالي بالمقارنة مع الشاهد الذي وصل محتوى أوراق نباتاته من الكلوروفيل إلى (244) ميكروغرام/غ.

أدت المعاملة بحمض الساليسيليك لوحدها إلى زيادة معنوية في صفة محتوى الأوراق من الكلوروفيل، حيث كان أعلى محتوى للكلوروفيل في الأوراق عند نباتات A_1 (255) ميكروغرام/غ، مقارنةً بالمعاملة A_2 (230) ميكروغرام/غ، والمعاملة A_3 (200) ميكروغرام/غ، أعطت معاملي الساليسيليك والملوحة معاً عند التراكيز المنخفضة نباتات احتوت أوراقها على أعلى نسبة من الكلوروفيل، إذ تفوقت المعاملة A_1S_1 (273) ميكروغرام/غ على باقي المعاملات والشاهد.



الشكل (3): محتوى أوراق نباتات الكتان من الكلوروفيل التي تم معاملتها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ميلليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ($\text{means} \pm \text{SE}$)، $n=3$ ، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P < 0.05$, ANOVA-Tukey test).

بينت دراسات سابقة أنَّ الإجهاد الملحي أدى إلى انخفاض معنوي في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي، حيث تعمل الملوحة على خفض محتوى الأوراق من صبغات التمثيل الضوئي وفقاً لما توصلت إليه نتائج دراسة (El-Rodeny and El-Okkiah, 2012).

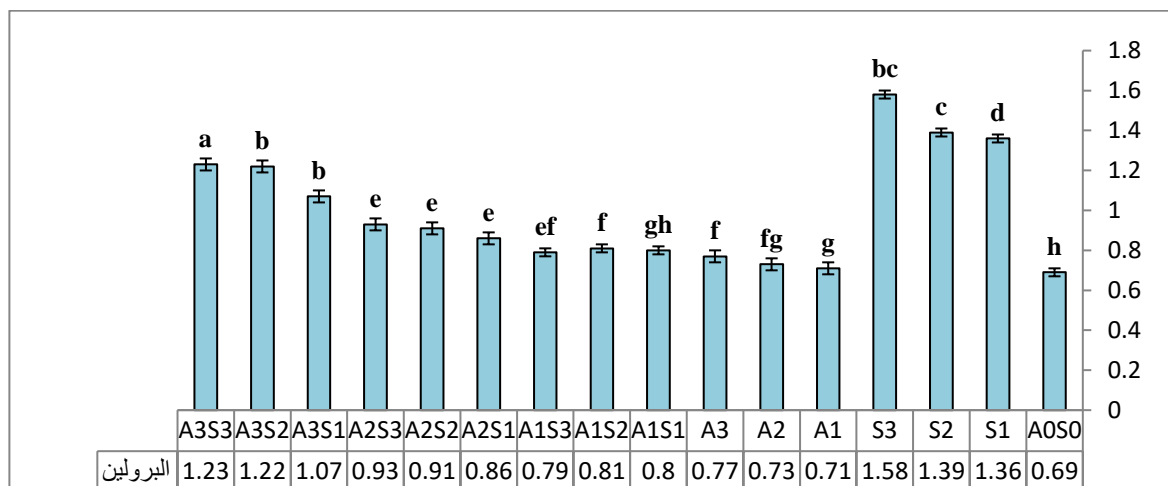
يعمل حمض الساليسيليك على زيادة محتوى الأوراق من صبغات التمثيل الضوئي وذلك وفقاً لدراسة الباحثين Daneshmand *et al.*, (2009)، كما يُعد حمض الساليسيليك من مضادات الأكسدة الموجودة في البلاستيدات الخضراء، ويعمل على حماية جهاز التمثيل الضوئي من الإجهاد الملحي، عن طريق التخلص من أنواع الأكسجين التفاعلية والمعروفة بالجذور الحرة (Kranmer *et al.*, 2002).

4. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في محتوى الأوراق من البرولين (ميكرومول/غ):

نلاحظ من نتائج الشكل (4) وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث محتوى أوراق الكتان من البرولين (ميكرومول/غ)، أدى الإجهاد الملحي إلى زيادة معنوية في محتوى الأوراق من البرولين خاصة عند التراكيز المرتفعة من الملوحة،

حيث وصل محتوى الأوراق من البرولين إلى (1.39 و 1.58) ميكرومول/غ وذلك عند المعاملتين S₂ و S₃ على التوالي مقارنةً مع الشاهد الذي بلغ محتوى أوراق نباتاته من البرولين (0.69) ميكروغرام/غ.

أدت المعاملة بحمض الساليسيليك لوحدها إلى انخفاض معنوي في محتوى الأوراق من البرولين، فقد كان أعلى محتوى للبرولين في الأوراق عند نباتات المعاملة A₁ (0.71) ميكروغرام/غ، مقارنةً بالمعاملة A₂ (0.73) ميكروغرام/غ، والمعاملة A₃ (0.77) ميكروغرام/غ، أعطت معاملي الساليسيليك والملوحة معاً عند التراكيز المنخفضة نباتات احتوت أوراقها على أقل نسبة من البرولين، حيث تفوقت المعاملة A₁S₁ (0.7) ميكروغرام/غ على باقي المعاملات.



الشكل (4): محتوى أوراق نباتات الكتان من البرولين التي تم معاملتها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحه (4، 6 و 8 ملليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P < 0.05$, ANOVA-Tukey test).

تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات (El-Tayeb and Ahmed, 2010; Delavari *et al.*, 2010)، فقد بين الباحثين الوظائف المهمة لتراكم البرولين في الأنسجة النباتية، حيث يشارك البرولين في تعديل الضغط الأسموزي للنباتات المجهد (Gzik, 1996)، ويُعد مركباً مهماً وعاملاً وقائياً للإنزيمات والأغشية الخلوية (Bandurska, 1993).

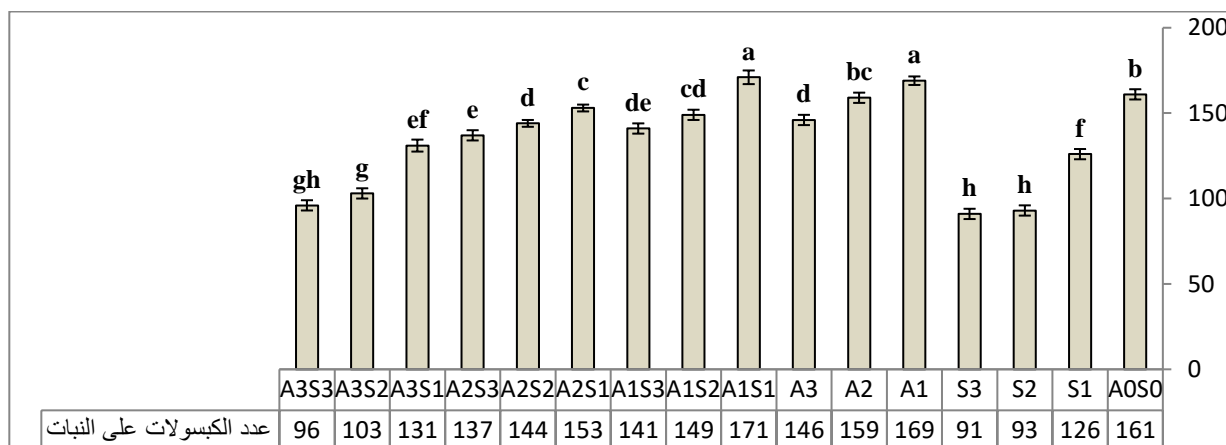
تحافظ النباتات على محتواها المائي ضمن الخلايا وذلك عند تعرضها للإجهاد الملحي من خلال مراكمة العديد من المواد المذابة العضوية، وأهمها البرولين (Harinasut *et al.*, 2000)، حيث يعمل البرولين كعامل مضاد للأكسدة يحمي الخلايا النباتية من الجذور الحرة (Hoque *et al.*, 2007).

نظراً لدور حمض الساليسيليك في مسارات الاستجابة، كونه من المركبات ذات الأثر الهرموني في النبات، ما يمكن أن يفسر الزيادة الملحوظة المطردة في محتوى الأوراق من البرولين عند الرش بحمض الساليسيليك (Cha-Um and Kirdmanee, 2009)، تتفق هذه النتيجة مع دراسة صوفي ومعلا (2021) على نبات التبغ البلدي، حيث بين كلا الباحثين أنَّ المعاملة المشتركة بالتراكيز المخففة من الساليسيليك والملوحة أعطت أقل محتوى من البرولين في أوراق نبات التبغ.

5. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في عدد الكبسولات/النبات (عدد الكبسولات/نبات):

يتضح من نتائج الشكل (5) وجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة عدد الكبسولات/النبات.

أدت مستويات إجهاد الملوحة المتدرجة خاصة عند التراكيز المرتفعة منها إلى انخفاض معنوي في صفة عدد الكبسولات على النبات الواحد، نلاحظ ذلك عند كلا المعاملتين S_2 و S_3 (93 و 91) كبسولة/النبات على التوالي وذلك مقارنةً مع نباتات الشاهد (161) كبسولة/النبات.



الشكل (5): عدد الكبسولات على نباتات الكتان التي تم معاملتها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ملليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means \pm SE)، $n=3$ ، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت المعاملة بالمستويات المتدرجة من حمض الساليسيليك في ظروف الشاهد إلى زيادة معنوية في عدد الكبسولات على النبات، فقد أعطت نباتات المعاملة A_1 أعلى عدد للكبسولات على النبات الواحد وصل إلى (169) كبسولة/النبات، مقارنةً بكلا المعاملتين A_2 و A_3 (159 و 146) كبسولة/النبات.

أدت أيضاً معاملي الساليسيليك والملوحة معاً إلى زيادة في صفة عدد الكبسولات على النبات الواحد، وذلك عند التراكيز المنخفضة منهما، حيث تفوقت المعاملة A_1S_1 (171) كبسولة/النبات على باقي المعاملات المدروسة والشاهد.

يعمل الإجهاد الملحي على خفض معدل النمو النباتي ما ينعكس بشكل سلبي على إنتاجية هذه النباتات، قد يعود الانخفاض في إنتاجية بذور نباتات الكتان تحت ظروف الإجهاد الملحي إلى انخفاض مساحة الأوراق، وقلة محتواها من الصبغات الخضراء، وبالتالي يحدث انخفاض في معدل عملية التمثيل الضوئي للأوراق، لذلك ينخفض المحتوى من العناصر الغذائية المهمة اللازمة للنمو والتي تنعكس على إنتاجية النبات وذلك وفقاً لما توصلت إليه نتائج أبحاث (Taffouo et al., 2009)، حيث أدت الملوحة إلى انخفاض إنتاجية النبات في البداية عن طريق تقليل نمو النبات خلال مرحلة الإجهاد الأسموزي، وزيادة السمية في الأوراق بسبب تراكم الملح فيها.

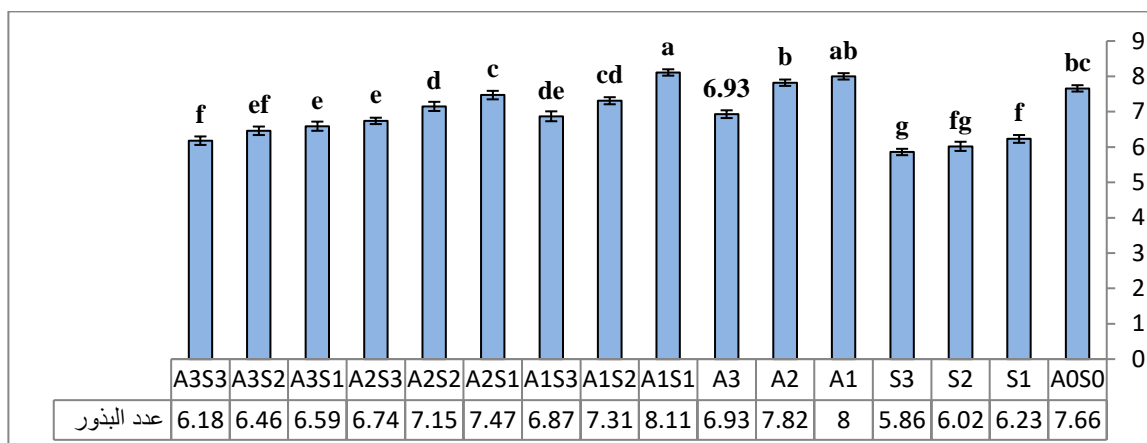
ذكر كلا الباحثين (Grattan and Grieve 1998) في هذا السياق أيضاً أن المستوى العالي من Na^+ يعمل على تثبيط الإنزيمات وحدوث اضطرابات في عملية التمثيل الغذائي.

يعمل حمض الساليسيليك على تحفيز العمليات الفسيولوجية التي تنعكس إيجابياً على النمو الخضري، وبالتالي تحسين عملية التمثيل الضوئي وزيادة العناصر الغذائية الناتجة عنها، ما يؤدي إلى تحسين ورفع إنتاجية المحصول (Khan et al., 2010).

6. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في عدد البذور في الكبسولة (بذرة/كبسولة):

توضّح نتائج الشكل (6) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة عدد البذور في الكبسولة (بذرة/كبسولة).

أدى إجهاد الملوحة إلى انخفاض معنوي في صفة عدد البذور في الكبسولة الواحدة خاصة عند التراكيز المرتفعة من الملوحة، وكان ذلك واضحاً عند المعاملتين S_2 و S_3 (6.02 و 5.86) بذرة/كبسولة على التوالي بالمقارنة مع الشاهد (7.66) بذرة/كبسولة.



الشكل (6): عدد البذور في الكبسولة لنباتات الكتان التي تم معاملتها بحمض الساليسيليك والملوحة.

ملاحظة: تُشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ملليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تُشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ($\text{means} \pm \text{SE}$)، $n=3$ ، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت المعاملة بحمض الساليسيليك لوحدها في ظروف الشاهد إلى زيادة معنوية في صفة عدد البذور في الكبسولة، حيث وصلت إلى (8) بذرة/كبسولة عند نباتات A_1 ، مقارنةً بنباتات المعاملة A_2 (7.82) بذرة/كبسولة، والمعاملة A_3 (6.93) بذرة/كبسولة.

أعطت كلا معاملي الساليسيليك والملوحة معاً عند التراكيز المنخفضة أعلى عدد من البذور ضمن الكبسولة الواحدة، فقد تفوقت المعاملة A_1S_1 (8.11) بذرة/كبسولة على باقي المعاملات المدروسة والشاهد.

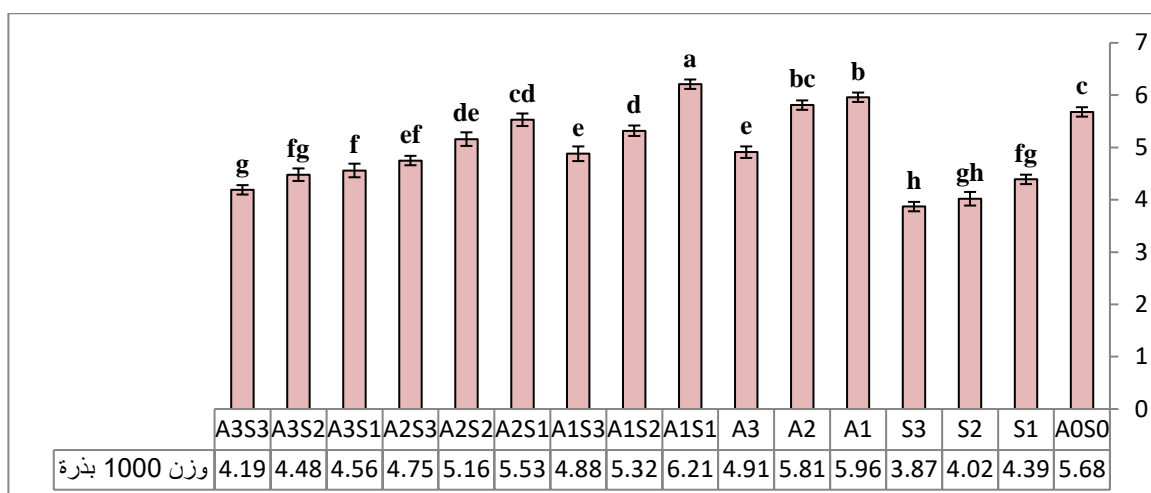
تحفز الظروف المالحة الإجهاد الأسموزي الذي ينتج عن خفض المحتوى المائي في التربة، ما ينتج عنها إجهاد تأكسدي ناتج عن أنواع الأكسجين التفاعلية ROS (Nounjan and Theerakulpisut, 2012)، وبالتالي تعمل على حدوث أضرار تأكسدية كبيرة لبعض الجزيئات الحيوية مثل البروتين والحمض النووي والدهون (Das and Roychoudhury, 2014)، ولحماية النباتات من هذه الإجهادات يتم معاملتها بمركبات مضادة للأكسدة مثل حمض الساليسيليك.

أشارت الدراسات السابقة إلى أنَّ معاملة النباتات بحمض الساليسيليك تزيد من إنتاجية البذور، لدوره في زيادة نشاط عملية التمثيل الضوئي، نمو الخلية النباتية وتطورها (Rahimi et al., 2011)، وحسب ما توصلت إليه نتائج دراسة الباحث Faizanullah et al. (2010)، إلى أن إنتاجية البذور مرتبطة بمكونات النمو المختلفة، حيث ازداد عدد البذور عند نباتات هذه المعاملة بسبب زيادة ارتفاع النبات بشكل معنوي عند نباتات نفس المعاملة.

7. تأثير الرش الورقي بحمض الساليسيليك والملوحة في وزن الألف بذرة (غ):

نلاحظ من نتائج الشكل (7) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث وزن الألف بذرة (غ).

أدى إجهاد الملوحة خاصة عند التراكيز المرتفعة منه إلى انخفاض معنوي في صفة وزن الألف بذرة، وكان ذلك واضحاً عند المعاملتين S_2 و S_3 (4.02 و 3.87) غ على التوالي بالمقارنة مع الشاهد (5.68) غ.



الشكل (7): وزن الألف بذرة لنباتات الكتان التي تم معاملتها بحمض الساليسيليك والملوحة،

ملاحظة: تشير الرموز (S) لمعاملات الري بمياه مالحة (4، 6 و 8 ميلليموز/سم²)، (A) المعاملة بحمض الساليسيليك (25، 50 و 75 ملغ/لتر)، تشير جميع المعطيات إلى المتوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means \pm SE)، n=3، وأحرف مختلفة لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P < 0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت المعاملة بحمض الساليسيليك لوحدها إلى زيادة معنوية في وزن الألف بذرة، حيث وصل إلى (5.96) غ عند نباتات A₁، مقارنةً بنباتات المعاملة A₂ (5.81) غ، والمعاملة A₃ (4.91) غ.

أعطت معاملي الساليسيليك والملوحة معاً عند التراكيز المنخفضة أعلى وزن للألف بذرة عند نباتات المعاملة A₁S₁ (6.21) غ على باقي المعاملات المدروسة والشاهد.

من المعروف أن للإجهاد الملحي تأثيرات سلبية على نمو النباتات المختلفة، من خلال تأثيرها على العديد من وظائف التمثيل الغذائي للنبات مثل تصنيع البروتين والأحماض النووية، والتمثيل الضوئي، ونشاط الإنزيمات والتوازن الهرموني في النبات، كما كان للملوحة تأثيرات سلبية ليس فقط على النمو النباتي، ولكن أيضاً كان له تأثيرات سلبية على العديد من الصفات المورفولوجية، ومنها ارتفاع النبات وعدد الأوراق ونسبة وزن المجموع الخضري إلى المجموع الجذري والإنتاجية، تتشابه هذه النتيجة مع ما توصلت إليه نتائج العديد من الباحثين (Ebtihal and Sadak, 2012; El- Sanafawy *et al*, 2011; Sohrabi *et al.*, 2008)، فقد بيّنوا أن الإجهاد الملحي يقلل من نمو النبات، وزن البذور وعددها، حيث يعمل على انخفاض معدل التمثيل الضوئي، وبالتالي تراكم أقل للمادة الجافة، إذ يؤثر أيضاً على انقسام الخلايا النباتية واستطالتها وعلى العمليات الاستقلابية، مما يؤثر على نمو النبات وبالتالي انخفاض إنتاجية.

الاستنتاجات والمقترحات:

يمكن أن نستنتج أن المعاملة الورقية المسبقة بحمض الساليسيليك لنبات الكتان يمكن أن تخفف من الآثار الضارة لإجهاد الملوحة من خلال تعزيز نظام مضادات الأكسدة وبالتالي تقليل الضرر التأكسدي، حيث أثر الإجهاد الملحي بشكل سلبي على نمو نباتات الكتان وتطورها، بالمقابل أدت المعاملات المشتركة الناتجة عن حمض الساليسيليك بالتركيز المنخفض مع التأثير المخفف من الملح إلى زيادة النمو الخلوي ورفع محتوى صبغات التمثيل الضوئي في الأوراق وبالتالي زيادة مؤشرات الغلة لدى نبات الكتان، بالتالي، تبين النتائج دليلاً على التأثيرات التحفيزية للساليسيليك للحث على تحمل الإجهاد الملحي في نباتات الكتان.

نقترح إجراء المزيد من الدراسات على نبات الكتان في الظروف الحقلية وعلى أنواع أخرى من النباتات لتحسين ورفع الإنتاجية في ظروف الإجهادات المختلفة التي نتعرض لها حالياً.

المراجع:

- صوفي، احمد ومجد درويش ونزار معلا (2020). تأثير الرش بحمض الساليسيليك في تحمل نبات الريحان الحلو (*Ocimum basilicum* L.) للملوحة، المجلة السورية للبحوث الزراعية 8(1): 28-45.
- صوفي، احمد ونزار معلا (2021). تأثير الرش الورقي الأولي بحمض الساليسيليك في بعض الخصائص الإنتاجية والتنوعية لنبات التبغ البلدي (*Nicotiana tabacum* L.) تحت ظروف الإجهاد المائي، مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية، سلسلة العلوم الهندسية المجلد (5) العدد (5).
- عز الدين، أبو طالب خلف (2022). الاستخدامات الطبية لنبات الكتان في مصر القديمة في ضوء نصوص بردية أدون سميث، مجلة أبيدوس، كلية الآثار، جامعة سوهاج، العدد (4)، ص 1-17.
- Abd El-Mohsen, A.A., A.M. Abdallah, and G.O. Mahmoud (2013). Optimizing and describing the influence of planting dates and seeding rates on flax cultivars under Middle Egypt region conditions. *World Essays J*, 1(4), 142-152.
- Apel, K. and H. Hirt (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Tear (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205–207.
- Bakry, A.B., M.S. Sadak, H.T. Moamen and E.M. Abd El Lateef (2013). Influence of humic acid and organic fertilizer on growth, chemical constituents, yield and quality of two flax seed cultivars grown under newly reclaimed sandy soils. *International Journal of Academic Research*, 5(5).
- Bandurska, H. (1993). In vivo and in vitro effect of proline on nitrate reductase activity under osmotic stress in barley.
- Belkhadi, A., H. Hediji, Z. Abbes, I. Nouairi, Z. Barhoumi, M. Zarrouk, W. Chaibi and W. Djebali (2010). Effects of exogenous salicylic acid pre-treatment on cadmium toxicity and leaf lipid content in *Linum usitatissimum* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 1004-1011.
- Cha-Um, S. and C. Kirdmanee (2009). Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pak. J. Bot*, 41(1), 87-98.
- Chen, J., L. Wang and L.U. Thompson (2006). Flaxseed and its components reduce metastasis after surgical excision of solid human breast tumor in nude mice. *Cancer letters*, 234(2), 168-175.
- Daneshmand, F., M.J. Arvin and K.M. Kalantari (2009). Effect of acetylsalicylic acid (Aspirin) on salt and osmotic stress tolerance in *Solanum bulbocastanum* in vitro: enzymatic antioxidants. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 6, 92-99.
- Das, K. and A. Roychoudhury (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in environmental science*, 2, 53.

- Delavari, P. M., A. Baghizadeh, S.H., Enteshari, K.M. Kalantari, A. Yazdanpanah and E.A. Mousavi (2010). The effects of salicylic acid on some of biochemical and morphological characteristic of *Ocimum basilicum* under salinity stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(10), 4832-4845.
- Ebtihal, M.A. and M.S. Sadak (2012). Performance of flax cultivars in response to exogenous application of salicylic acid under salinity stress. *J. Appl. Sci. Res*, 8(10), 5081-5088.
- El Tayeb, M.A. and N.L. Ahmed (2010). Response of wheat cultivars to drought and salicylic acid. *American-Eurasian Journal of Agronomy*, 3(1), 01-07.
- El-Rodeny, W.M. and A.F. EL-Okkiah (2012). Physiological and anatomical changes in *Glycine max* L. Under salinity stress. In *Egypt. J. Bot. Int. Conf* (Vol. 2012, pp. 37-50).
- El-Sanafawy, H. A., A.A. Atwa and I.A.I. El-Saied (2011). Impact of irrigation water salinity levels on some soil chemical properties and some flax varieties. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, 2(12), 1315-1325.
- El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant growth regulation*, 45, 215-224.
- Faizanullah, A., A. Bano and A. Nosheen (2010). Role of plant growth regulators on oil yield and biodiesel production of linseed (*linum usitatissimum* L). *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 78 (1-4), 127-157.
- Grattan, S.R. and C.M. Grieve (1998). Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia horticulturae*, 78(1-4), 127-157.
- Gzik, A. (1996). Accumulation of proline and pattern of α -amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. *Environmental and experimental botany*, 36(1), 29-38.
- 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. *Science Asia*, 26(26), 207-211.
- Hasan, M.K., A. El Sabagh, Md. S. I. Sikdar, Md. J. Alam, D. Ratnasekera, C. Barutcular, Kh. A.A. Abdelaal and M.S. Islam, (2017). Comparative adaptable agronomic traits of Blackgram and mungbean for saline lands, *Plant Archives*, 17(1): 589-593.
- Hoque, M. A., E. Okuma, M. N. A. Banu, Y. Nakamura, Y. Shimoishi and Y. Murata, (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561.
- Idrees, M., M. Naeem, T. Aftab, M. M. A. Khan and F. Moinuddin (2011). Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defence system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 987-999.
- Kaya, M., S. Day, Y. Cikili and N. Arslan (2012). Classification of some linseed (*Linum usitatissimum* L.) genotypes for salinity tolerance using germination, seedling growth, and ion content Clasificación de algunos genotipos de linaza (*Linum usitatissimum* L.) para

- tolerancia a salinidad usando germinación, crecimiento de plántulas y contenido de iones. la salinidad reduce germinación, retrasa. Chilean journal of agricultural research, 72(1).
- Khan, N. A., S. Syeed, A. Masood, R. Nazar and N. Iqbal (2010). Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*, 1(1), e1.
- Koçak, M. Z., M. Göre and O. Kurt (2022). The effect of different salinity levels on germination development of some flax (*Linum usitatissimum* L.) varieties. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 10(4), 657-662.
- Kranner, I., R. P. Beckett, S. Wornik, M. Zorn and H.W. Pfeifhofer (2002). Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. *The Plant Journal*, 31(1), 13-24.
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthesis biomesbranes. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. (eds.). *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, pp. 350–382.
- Mervat, S. S. and M. A. E. Ebtihal (2013). Physiological response of flax cultivars to the effect of salinity and salicylic acid.
- Munns, R. and M. Tester (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- Nounjan, N. and P. Theerakulpisut (2012). Effects of exogenous proline and trehalose on physiological responses in rice seedlings during salt-stress and after recovery.
- Rahimi, M.M., M.A. Zarei and A. Arminian (2011). Selection criteria of flax (*Linum usitatissimum* L.) for seed yield, yield components and biochemical compositions under various planting dates and nitrogen. *African Journal of Agricultural Research*, 6(13), 3167-3175.
- Shi, G.R., Q.S. Cai, Q.Q. Liu and L.Wu (2009) Salicylic acid-mediated alleviation of cadmium toxicity in hemp plants in relation to cadmium uptake, photosynthesis, and antioxidant enzymes. *ActaPhysiol Plant* 31:969–977. doi:10.1007/s11738-009-0312-5
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regul* 39:137–141. Doi:10.1023/a:1022556103536
- Sohrabi, Y., G. Heidari and B. Esmailpoor (2008). Effect of salinity on growth and yield of Desi and Kabuli chickpea cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 11(4), 664-667.
- Taffouo, V.D., J.K. Kouamou, L.T. Ngalangue, B.A.N. Ndjeudji and A.Akoa (2009). Effects of salinity stress on growth, ions partitioning and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars. *International Journal of Botany*, 5(2), 135-143.
- Sunita, D. T., K. Vinay, S. Varsha (2011). Differential response of two scented indica rice (*Oryza sativa*) cultivars under salt stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(4), 387-397.
- Vender, C., L. Ntarelli, C. Maestrini and D. Cremaschi (1995). Effect of husbandry practice on some biological and agronomic characteristics of a linseed cultivar.

The effect of spraying with salicylic acid on growth and productivity of Flax plant (*Linum usitatissimum* L.) under salt stress conditions.

Qamar sufan^{(1)*} Ahmed Soufi⁽¹⁾

(1). Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.

(*Corresponding author: Dr. Qamar Sufan, email: 123qamar456@gmail.com, phone:00963994870211).

Received: 6/4/2024

Accepted: 29/7/2024

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of foliar spraying with salicylic acid on growth of flax plants under salt stress conditions in Burj Islam village, Latakia, Syria in 2023-2024. A factorial trial based on a randomized complete design (R.C.D.) with three replications was used. The treatments consisted of three salinity levels (4, 6 and 8) ml/cm² and three salicylic acid concentrations (25, 50 and 75) mg/liter. Traits such as: morphological (plant height and number of branches), Biochemical (leaf content of chlorophyll, proline) and productivity (number of capsules per plant, number of seeds per capsules and weight of thousand seed) were measured. The results of the study showed that salinity levels and salicylate concentrations significantly affected ($P<0.05$) the studied indicators, and as salinity increased, the properties of all studied indicators decreased except for proline content which reached value (1.58) $\mu\text{M/g}$. Comparisons of averages indicated an improvement in the vegetative growth Characteristics (plant height 78 cm and number of branches 5.08 branch), biochemical indicators (leaf content of chlorophyll 225 $\mu\text{g/g}$), and studied plant productivity (number of capsules per plant 169 capsules, number of seeds per capsules 8 seeds and weight of thousand seed 5.96 seeds) when treated with salicylic acid, especially at a concentration of 25 mg/liter. The interaction between salinity and salicylic acid led to significant effects on the studied indicators. Low concentrations lead to a relative improvement in the studied morphological, biochemical and production characteristics, and the A₁S₁ treatment outperformed all treatments and the control.

Keywords: salicylic acid, salt stress, Flax, proline.