استخدام تقانة زراعة الأنسجة النباتية في اختبار استجابة بعض أصول العنب الأمريكية والمقاومة للفوليكسرا لمعاملات الإجهاد الجفافي

وسيم محسن[1]* وخزامة القنطار[1] وميساء عامر[1]

(1) شعبة التقانات الحيوية، مركز البحوث العلمية الزراعية في السويداء، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، سورية.

(* للمراسلة: م. خزامة القنطار، البريد الإلكتروني: wasimmo6@yahoo.com)

الملخص

نفذ هذا البحث في مركز بحوث السويداء خلال الفترة 2016–2019 بهدف تقويم استجابة 7 أصول من العنب الأمريكية والمقاومة لحشرة الفوليكسرا وهي: 775 P VGVA12، 140 Ruggeri، 1103 Paulsen UBA01،157 11C UBA01،161 49 VGVA5،UBA05، Kober5BB BA01، 779 PUBA04. لتحمل مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي مخبرياً، تمت زراعة أجزاء نباتية تحمل ورقتين وبطول 2–3سم على الوسط المغذي السائل (WPM + 1mg/L Kin + 0.2 mg/L IBA + 0.2 mg/L GA3) المدعم بالجسور الورقية والمضاف له بولي إيثيلين غليكول PEG_{6000} بخمس تراكيز: 0،2،4،6،8%، سجلت القراءات بعد 60 يوم من الزراعة لكل من نسبة النباتات الحية، طول النبات، عدد التفرعات، عدد الأوراق، طول الجذور وعددها، والآثار الظاهرية للأضرار الناجمة عن الجفاف. تمت بعدها عملية أقلمة للنباتات المقاومة للإجهاد الجفافي. أظهرت النتائج تباين استجابة الأصول المدروسة والنامية تحت ظروف الإجهاد الجفافي، حيث سبب إضافة مركب PEG_{6000} انخفاض في جميع المؤشرات المدروسة مقارنة مع الشاهد، اذ سجل الأصل Kober 5BB اعلى متوسط في طول النبات وبلغ 6.78 سم على المعاملة2% بعد الشاهد، كما سجل متوسط عدد الأوراق 7.2 ورقة على المعاملة 2% ايضاً، في حين لم يكن الفرق بينه وبين الشاهد معنويا بالنسبة لعدد التفرعات. وسجل كذلك اعلى متوسط في طول الجذور وبلغ 9.7 سم على المعاملة 2% ولم يكن الفرق معنوي مع الشاهد، اما الأصل 140Ruggeri لم يسجل فرق معنوي بينه وبين الشاهد بالنسبة لعدد الجذور الا على المعاملة 8% وبلغ متوسط عدد الجذور عندها 1.01 جذر، تباينت درجة الضرر على النباتات حسب الأصل و تركيز PEG_{6000} وسجلت أكبر نسبة تماوت للأجزاء النباتية في المعاملة 8% PEG_{6000} حيث سجل الأصل 49 161 أعلى معدل لدرجة الضرر وبلغت 1.8 و سجل الأصل Kober 5BB أقل معدل لدرجة الضرر وبلغت 1.3. وقد تم الاستفادة من استخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية كطريقة سريعة وفعالة في معرفة التباين والاختلاف بين الأصول المدروسة وقدرتها على تحمل الإجهاد الجفافي.

الكلمات المفتاحية: أصول العنب الأمريكية، الإجهاد الجفافي، زراعة الأنسجة النباتية.

المقدمة:

يعد العنب أحد أهم محاصيل الفاكهة التي تزرع على نطاق واسع في العديد من دول العالم ويرجع أصل هذه الفاكهة إلى حوض البحر الأبيض المتوسط ووسط أوروبا وجنوب غرب أسيا وتعود زراعته في سوريا إلى نحو خمسة آلاف سنة. وتأتي سوريا الرابعة في إنتاج العنب عربيا بعد مصر والجزائر والمغرب وبلغت المساحة المزروعة بالكرمة في سوريا نحو 44.4 ألف هكتار في عام 2020 توزع اغلبها في حمص حيث بلغت المساحة المزروعة 19007 ألف هكتار تلتها السويداء بمساحة 9996 ألف هكتار واحتلت حلب وريف دمشق المرتبة الثالثة بمساحة تقارب 3745 ألف هكتار (إحصائية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2021). وتأتي زراعة الكرمة في المرتبة الرابعة من حيث المساحة بين أنواع الشجار المثمرة بعد الزيتون والفستق الحلبي واللوز. عند البدء في زراعة كروم العنب يجب أن تأخذ بعين الاعتبار الكثير من الأمور منها مقاومتها لحشرة الفوليكسرا وكذلك قدرتها على تحمل الظروف البيئية السائدة من جفاف وملوحة وغيرها (Sommer *et al*, 2010) بالإضافة الى نوعية التربة، ويعتبر الجفاف من أكثر الاجهادات البيئية المؤذية للنباتات والتي تؤدي لمشاكل الكبيرة وخاصة مع تتالي فترات الجفاف (Osmolovskaya *et al*.,2018) ويؤثر الجفاف على جميع العمليات الفيزيولوجية داخل النبات مثل التركيب الضوئي والتنفس بالإضافة الى امتصاص المعادن وبالتالي على انقسام الخلايا ونمو الساق والاوراق (Osmolovskaya *et al*.,2018). تعاني حاليا الكثير من المحاصيل والأشجار ومنها الكرمة المزروعة في المناطق الجافة وشبه الجافة من اثار الاجهاد الجفافي وبالتالي منع تحقيق الإنتاج الزراعي المستدام. يؤثر الجفاف بشكل ملحوظ في العمليات الاستقلابية في نبات الكرمة كما في العديد من النباتات ويحصل ذلك من خلال الخلل الذي يحدثه في نشاط الانزيمات واستقلاب الأحماض الأمينية والدهنية والكاروتينات وحمض الأبسيسك والبرولين كما يؤثر في عملية الاصطناع الضوئي والتنفس والتبادل الغازي ويزيد من تراكم البرولين (مختار أبو جادالله., 2019). ويعتبر النبات المتكيف هو ذلك الذي يحتمل أو يقاوم عجزا مائيا معينا ويستطيع الإنتاج بمستوى مقبول مقارنة مع نبات آخر غير متكيف مع الجفاف. كما أن توقف النمو في نبات ما بسبب الإجهاد الجفافي يدل على أن النبات لم بعد قادرا على التكيف وانتقل إلى مرحلة المحاولة في البقاء على قيد الحياة. وتعتبر الأصول النباتية أكثر مقاومة للجفاف من الأصناف النباتية وهذا يتفق مع (Pavlousek.,2011) حيث وجد أن قدرة النبات على البقاء حياً يعني قدرته على امتصاص الماء والتي تعتبر من المؤشرات الهامة في أصول العنب، كما يمكن للنباتات أن تخفض الجهد المائي لأنسجتها وذلك حتى تتمكن من امتصاص المزيد من الماء (مختار أبو جادالله., 2019). يؤدي الجفاف إلى انخفاض في عدد التفرعات نتيجة لضعف الانقسام الخلوي حيث يكون التأثير عليها كبير وتعتبر أكثر حساسية من الجذور (Pavlousek.,2011) كما يمكن اعتبارها كمؤشر على الحساسية تجاه الجفاف (Lovisolo *et al*,2010)، (Sivritepe and Eris,1999) وهذا مشابه لما حصل عليه (Sommer *et al*,2010) في دراسة حقلية على 9 أصول للعنب وتحملها للجفاف حيث ظهر التأثير الأكبر للجفاف كان على تشكيل الفروع النباتية ونموها. إن القدرة على امتصاص الماء في ظل ظروف الإجهاد الجفافي مرتبطة بشكل كبير بتطور الجهاز الجذري فالجذور هي العضو الذي يزود النبات بالماء وكلما زاد طول الجذور وتشكلت عليها الشعيرات الجذرية كلما كانت القدرة على امتصاص الماء أكبر (مختار أبو جادالله., 2019). كما أبرزت العديد من الدراسات أن استجابة جذور العنب للجفاف كانت ايجابية وساهمت بشكل كبير في امتصاص الماء (Lovisolo., 2016) (Prinsi *et al*,2018)، كما وجد كل من ((Cardone *et al*,2019(1)) و(Lovisolo *et al*,2010) أن نبات العنب من النباتات المتحملة للجفاف وتوصل ((Cardone *et al*,2019(2)) إلى أن جذور الأصول في العنب تكون أقوى وأكثر قدرة على التحمل من الجذور الناشئة عن أصناف العنب

تعد تقانة زراعة الأنسجة من التقانات الحديثة المهمة في عمليات التحسين الوراثي وتوسعت تطبيقاتها خلال الفترة الماضية على العديد من النباتات وأصبحت من أهم الطرائق المستخدمة لمربي النبات وأمكن من خلالها الحصول على أصناف وسلالات جديدة متحملة أو مقاومة لبعض الإجهادات الإحيائية وغير الإحيائية كالجفاف وأدرجت ضمن برامج التحسين الوراثي. حيث أن عملية الانتخاب تحت الظروف الحقلية تحتاج إلى وقت طويل وتواجه الكثير من الصعوبات والمشاكل بالإضافة إلى حاجتها لمساحات حقلية واسعة كما انه لا يمكن التحكم بالظروف البيئية وبالتالي تقل كفاءة عملية الانتخاب، لذا إن الاختبارات تحت الظروف المخبرية تعتبر أفضل ويمكن التحكم بها بشكل أكبر بالإضافة إلى أن عمليات الانتخاب تتم تحت شروط معقمة وتحاكي البيئة الخارجية تقريباً وهذا ما عملت على تحقيقه تقنية زراعه الأنسجة النباتية. ان الحصول على الاجهاد الجفافي باستخدام PEG من خلال زراعة الانسجة النباتية له العديد من الفوائد بالمقارنة مع النماذج المدروسة بالتربة او الزراعات المائية، حيث انه من خلال زراعة الانسجة تحصل العينات النباتية على اجهاد متساوي خلال فترة الاختبار بالمقارنة مع العينات النباتية المزروعة بالتربة تحت ظروف الجفاف، وذلك لان الاجهاد الجفافي في التربة يتغير بشكل مستمر وإمكانية التحكم به صعب بالإضافة الى ان إمكانية تحقيق تداخل الجذور مع محلول PEG بشكل متساوي وخصوصي عند استخدام التراكيز المرتفعة من PEG يعتبر من الأمور الصعبة (Osmolovskaya *et al.*,2018)، ويتم حاليا استخدام البولي اثيلين غليكول PEG_{6000} من قبل مربي النبات كعامل مجهد يحاكي ظروف الجفاف في الطبيعة وذلك في ظروف الزراعة النسيجية حيث حصل (Marssaro *et al.*, 2017) على استمرار في نمو صنفين استوائيين من نبات الموز (Prata Anã و BRS) وذلك على أوساط MS تحوي 15 غ/ل PEG_{6000} خلال شهر من الزراعة وذلك في تجربة على اختبار الأصناف المتحملة للإجهاد الجفافي، كما توصل (Florido *et al.*, 2018) في دراسة على تأثير الجفاف على بذور 27 سلالة مختلفة من البندورة باستخدام الـ PEG_{6000} كعامل مجهد يحاكي الجفاف في الطبيعة الى الحصول على أربعة سلالات مقاومة للجفاف ويمكن استخدامهما في عملية التربية وهي: Ciapan-31-5, Rilia, Mex-121 A, Rojo Veracruz, LA-2128, LA-1255 ، وتوصل (Muscolo *et al.*, 2014) الى ان استخدام الـ PEG6000 كعامل مجهد قد اثر على كل من نسبة الانبات وطول الجذور بالإضافة الى نمو البادرات في كل من أصناف العدس (Castelluccio, Eston, Pantelleria, Ustica) وكان كل من Eston و Castelluccio اكثر قدرة على تحمل الاجهاد الجفافي من الصنفين الاخرين ومن الممكن استخدامهما في برامج التربية.

الهدف من البحث:

تقييم مدى استجابة سبعة أصول من العنب المقاومة لحشرة الفلوكسيرا للنمو في ظروف الإجهاد الجفافي باستخدام سكر بولي إيثيلين غليكول PEG_{6000} مخبريا وذلك لمحاكاة ظروف الجفاف عن طريق الاعتماد على بعض المؤشرات المورفولوجية.

مواد البحث وطرائقه:

نفذ البحث في مختبرات الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية – مركز بحوث السويداء– مخبر زراعة الأنسجة النباتية خلال الفترة 2016–2019.

المادة النباتية:

أجريت الدراسة على سبعة من أصول كرمة مستوردة من ايطاليا وتتميز بمقاومتها لحشرة الفوليكسرا وهي:

1–12 VGVA 775P: مقاوم جيد للفوليكسرا متوسط المقاومة للنيماتودا – جيد التحمل للجفاف – متوسط التحمل للترب الغدقة والترب المالحة والطينية.

2- 140Ruggeri UBA05: أصل جيد لتحميل الجفاف – مقاوم للفوليكسرا – متوسط لحساس للنيماتودا – حساس للترب الغدقة – متوسط الى جيد التحمل للترب المالحة.

3- VGVA5 49 161: عالي التحمل ومقاوم للفوليكسرا – متوسط لجيد التحمل للجفاف – متوسط التحمل للنيماتودا – متوسط التحمل للترب الكلسية – حساس للترب الطينية الثقيلة.

4- 157 11C UBA01: مقاوم جيد للفوليكسرا – مقاوم جيد للنيماتودا – حساس للجفاف – متحمل لكل من الترب الغدقة والمالحة.

5- 1103P UBA01(1103 Paulsen): مقاوم جيد للفوليكسرا – جيد التحمل للجفاف متوسط التحمل للترب الغدقة – قوي النمو – حساس للصقيع الربيعي

6- Kober 5BB UBA01: مقاوم جيد للفوليكسرا – متوسط المقاومة للنيماتودا – يفضل استخدامه في الترب الرطبة والكلسية قليل التحمل للترب الغدقة – قوي النمو

7- 779P UBA04: مقاوم جيد للفوليكسرا – جيد التحمل للجفاف – قوي النمو – متوسط التحمل للترب الغدقة والترب المالحة.

تمت زراعة هذه الأصول في مركز بحوث السويداء موقع عين العرب كما زرعت في حمص في محطة جوسية الخراب حيث اخذت منها الطرود الفتية بطول 10 سم وقسمت إلى عدة قطع (explant) بطول 2-3 سم يحمل كل منها عقدة نباتية تحوي برعم واحد(برعم جانبي) إضافة للجزء الحامل للقمة النامية(برعم قمي)، وضعت الأجزاء النباتية تحت الماء الجاري لمدة 15 دقيقة، ثم عقمت لمدة 15 دقيقة بمبيد فطري (أوكبسين 0.5 غ/ل) تلاها غمر بالكحول 70% لمدة دقيقة واحدة ثم النقع مع التحريك بمحلول معقم هيبوكلوريت الصوديوم أو الكلوراكس بتركيز 50% (المادة الفعالة فيه 5.25%) لمدة 10 دقائق مع نقطة توين 20 لكل 100 مل من محلول التعقيم خارج جهاز العزل، ثم تمت عملية تعقيم ثانية تحت جهاز العزل باستخدام الكلوراكس بتركيز 50% (المادة الفعالة فيه 5.25%) لمدة 10 دقائق، تلاها غسيل بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات مع فاصل زمني قدره خمس دقائق بين كل عملية غسيل، وزرعت القمم النامية والبراعم الجانبية في أنابيب اختبار تحتوي على 10مل من الوسط الغذائي WPM(Lioyd & McCown 1981) الخالي من الهرمونات وحفظت لمدة 3-2 أسابيع في غرفة النمو نقلت بعدها النموات الخضرية السليمة الناتجة عن مرحلة الزراعة الأولية بطول 2–3 سم إلى أنابيب اختبار حاوية 15 مل من أوساط الإكثار وسجلت المعاملة WPM+(1mg/L Kin + 0.2 mg/L IBA + 0.2 mg/L GA3) أفضل نتائج في الاكثار حيث تم استخدامها في هذه التجربة

أخذت النموات الخضرية الناتجة عن عملية الإكثار بعد (4–6) أسابيع من الزراعة (Osmolovskaya *et al.*,2018) حيث بلغ طول الخزعات النباتية المأخوذة 2–3 سم في كل منها ورقتين بدون جذور (Zhong *et al.*, 2018) وزرعت في أنابيب اختبار حاوية 15 مل من معاملات الإجهاد الجفافي باستخدام مركب (بولي ايثلين غليكول) PEG_{6000} والذي يعمل على حجز جزيئات الماء الموجودة في الوسط وذلك لمحاكاة ظروف الجفاف في الطبيعة (Florido *et al.*, 2018)، وتمت إضافته بتراكيز مختلفة (0،2،4،6،8) % إلى الوسط الغذائي WPM، (Lloyd & McCown (1981 المعدل بإضافة منظمات النمو النباتية التالية: WPM + 1mg/L Kin + 0.2 mg/L IBA + 0.2 mg/L GA3 عدلت حموضة الوسط إلى 5.8 قبل التعقيم بالأوتوكلاف وزّعت الأوساط الغذائية ضمن أنابيب اختبار، وتمت عمليه تعقيم لها ضمن الأوتوكلاف وذلك على درجه حرارة 120 درجة مئوية لمدة 20 دقيقه، تمت زراعة للخزعات النباتية المأخوذة من الأصول المدروسة على هذه الأوساط، حضنت الزراعات في غرفة النمو

Growth Room ضمن شروط خاصة حيث كانت درجة الحرارة 25± 2 مْ وفترة الإضاءة 16 ساعة وفترة الظلام 8 ساعات و شدة الإضاءة حوالي 3000 لوكس.

أخذت النتائج بعد 60 يوم من الإجهاد الجفافي وثم تمت عملية التقسية للنباتات المقاومة.

المؤشرات المدروسة:

تمت دراسة كل من المؤشرات التالية:

نسبة النباتات الحية بعد عملية استئناف النمو، طول النباتات، عدد الأوراق، عدد التفرعات، طول الجذور، عدد الجذور، درجة الضرر على الأجزاء النباتية حيث تم تحديد وتسجيل الآثار الناجمة عن معاملات الإجهاد الجفافي وذلك على الخزعات النباتية المزروعة حيث اختلف حجم الضرر تبعا لاختلاف الأصول المدروسة ومعاملات الإجهاد المختلفة، وتم تقدير كمية الضرر الناجمة عن تعرض النباتات للإجهاد عن طريق إعطاء درجات لقياس شدة الضرر الناتجة عن هذا الإجهاد الجفافي وفق التالي: الدرجة (0) لا يوجد ضرر على النبات، الدرجة (1) الضرر على القمة النامية فقط، الدرجة (2) الضرر على كامل النبات، الدرجة (3) موت النبات.

التحليل الإحصائي:

صممت التجربة وفق التصميم العشوائي البسيط في التجربة العاملية باستخدام عشر مكررات لكل معاملة ثم اخضعت المعطيات في التجارب الى تحليل التباين (ANOVA) وحللت النتائج باستخدام برنامج GenStat وقورنت المتوسطات بحساب اقل فرق معنوي LSD عند مستوى 0.01.

النتائج والمناقشة:

1- نسبة النباتات الحية:

بعد عملية الزراعة دخلت الخزعات المزروعة بحالة سكون استمرت حوالي ثلاثة أسابيع ولم يظهر عليها أي مؤشر من مؤشرات النمو وبدأت الأوراق بالابيضاض كحالة من التقليل من آثار الإجهاد الجفافي واعتباراً من الأسبوع الثالث ظهرت انتفاخات وتدرنات على أغلب الخزعات النباتية المزروعة استمرت هذه الحالة حتى الأسبوع الرابع من الزراعة بدأت بعدها الجذور بالتشكل وفي نهاية الأسبوع الثامن كانت معظم الخزعات المزروعة قد عاودت النمو تدريجياً ويوضح الشكل رقم (1) النسبة المئوية للنباتات التي استمرت بالنمو تحت ظروف الإجهاد الجفافي ونلاحظ من الشكل أن كل من الأصل 779P والأصل 140 Ruggeri سجلا أعلى نسبة في نمو الخزعات النباتية وبلغت 87% و90% على التوالي، في حين ان اقل نسبة مئوية للنباتات الحية كانت على الأصل 775 P وبلغت 60%.

الشكل رقم (1): النسبة المئوية للخزعات النباتية المزروعة التي استعادت عملية النمو

2-تأثير الإجهاد الجفافي في متوسط طول النبات (سم):

لوحظ انخفاض واضح في طول النبات مع ازدياد النسبة المئوية للبولي إيثيلين غليكول PEG_{6000} الجدول (1)، سجل الأصل Kober 5BB أفضل متوسط في طول النبات بعد معاملة الشاهد وبلغ 6.78 سم وذلك عند تركيز 2% من الـ PEG_{6000} ولم يكن هناك دلالة معنوية بين المعاملات والأصول المدروسة. ابدى الأصل 49 161 والأصل 775 P حساسية لإضافة الـ PEG_{6000} الى أوساط الزراعة وسجل مع الأصل 775 P اقل متوسط في طول النبات على جميع المعاملات.

يعزى هذا الانخفاض الواضح في طول النبات إلى عملية احتجاز جزيئات الماء من قبل البولي إيثيلين غليكول PEG_{6000} وعدم قدرة خلايا الجذور على امتصاص الماء من الوسط، وهذا يحاكي ظروف الجفاف في الطبيعة هذه النتائج تتفق مع (عبيد وزملاؤه.,2012) في دراسة على أصول التفاح حيث انخفض معدل نمو وطول النبات مع زيادة تركيز PEG_{6000} إذ أن فقدان الماء يؤدي إلى انكماش البروتوبلازم وبالتالي ارتفاع تركيز الأملاح داخل الخلايا مما ينتج عنه انخفاض على المستويين البنيوي والاستقلابي كما ينتج عنه انخفاض في معدل التركيب الضوئي (يوسف.,2016).

الجدول رقم (1) تأثير معاملات الإجهاد الجفافي على متوسط طول النبات للأصول المدروسة القيم هي متوسطات 10 عينات نباتية ± الخطأ المعياري SE).

الأصول المدروسة	متوسط طول النبات(سم)				
	معاملات الـ PEG %				
	0	2	4	6	8
775 P	12.87±1.21c	3.43±0.18 h	3.44±0.28 h	3.69±0.33 gh	4.02±0.24 fgh
140 Ruggeri	13.88±0.67 bc	4.96±0.39 efgh	5.32±0.34 efgh	5.1±0.83 efgh	4.36±0.25 fgh
161 49	13.23±0.7 c	3.53±0.32 h	4.13±0.2 fgh	3.7±0.42 gh	3.56±0.15 h
157 11C	8.48±1.03 d	4.27±0.23 fgh	4.83±0.36 efgh	5.91±0.55 efg	4.31±0.29 fgh
1103 Paulsen	15.45±0.81 b	5.98±0.32 ef	4.92±0.4 efgh	4.82±0.3 efgh	4.04±0.24 fgh
Kober 5BB	17.74±0.84 a	6.78±0.7 de	6.15±0.5 ef	5.66±0.34 efgh	5.82±0.36 efg
779 P	17.86±0.34 a	4.3±0.27 fgh	5.21±0.26 efgh	4.86±0.24 efgh	4.87±0.29 efgh
$LSD_{0.01}$	0.7004				

3- تأثير الإجهاد الجفافي في متوسط عدد التفرعات:

أظهرت النتائج ان الأصل Kober 5BB لم يسجل وجود فرق معنوي بينه وبين الشاهد في متوسط عدد التفرعات وعلى جميع المعاملات الجدول رقم (2) وهذا يعني انه استطاع مقاومة الاجهاد ومحاكاه الشاهد، في حين سجل الأصل 140 Ruggeri أعلى متوسط بعدد التفرعات وبلغ 1.7 عند التركيز 4% من PEG_{6000} كما سجل الأصل 49 161 اقل عدد من التفرعات وذلك عند التركيز 6% و8% من الـ PEG_{6000} وبلغ المتوسط (0.92، 1.1) تفرعاً على التوالي، يعود هذا الانخفاض في عدد التفرعات عند اضافة العامل المجهد PEG_{6000} بسبب الاجهاد الحاصل في النبات وبالتالي انخفاض وضعف عمليات الانقسام الخلوي وهذا يتفق مع ما توصل اليه (Pavlousek.,2011) في دراسة على تحمل الجفاف لهجن جديدة من أصول العنب، كما تتفق مع ما توصل اليه (Sommer *et al*., 2010) حيث انخفضت لديه عدد التفرعات في أصل العنب سلطانة وفي جميع المعاملات عند التعرض للإجهاد

الجدول رقم (2): تأثير معاملات الإجهاد الجفافي على متوسط عدد التفرعات للأصول المدروسة القيم هي متوسطات 10 مكررات ± الخطأ المعياري SE).

الأصول المدروسة	متوسط عدد التفرعات				
	معاملات الـ PEG %				
	0	2	4	6	8
775 P	1.9±0.27 bcde	0.93±0.22 f	1.31±0.2 ef	1.51±0.22 def	1.3±0.21 ef
140 Ruggeri	2.7±0.3 ab	1.4±0.16 def	1.7±0.21 cdef	1.2±0.13 ef	1.01±0.14 ef
161 49	2.2±0.32 bcd	1.3±0.15 ef	1.3±0.15 ef	0.92±0.16 f	1.1±0.1 ef
157 11C	1.3±0.15 ef	0.91±0.09 f	1.6 ±0.22 cdef	1.6±0.16 cdef	1.4±0.22 def
1103 Paulsen	2.4±0.34 bc	1.5±0.26 def	1.3±0.15 ef	1.1±0.1 ef	1.2±0.1 ef
Kober 5BB	1.9±0.18 bcde	1.5±0.22 def	1.3±0.3 ef	1.2±0.13 ef	1.2±0.13 ef
779 P	3.2±0.38 a	1.1±0.1 ef	1.4±0.16 def	1.3±0.15 ef	1.2±0.13 ef
$LSD_{0.01}$	0.2835				

4- تأثير الإجهاد الجفافي في متوسط عدد الأوراق:

يظهر متوسط عدد الأوراق (جدول رقم 3) عدم وجود فروق معنوية بين الأصول المدروسة ولكن كان الفرق معنويا بينها وبين الوسط الشاهد حيث انخفض عدد الأوراق بشكل كبير عن الوسط الشاهد وسجل الأصل kober 5BB متوسط لعدد الأوراق بلغ 7.2 ورقة وابدى الأصل 1103 P حساسية تجاه العامل المجهد وذلك عند كل من التركيز 6%و8% لـ PEG_{6000} وسجل اخفض متوسط لعدد الأوراق عند التركيز 8% وبلغ المتوسط 2.5 ورقة، كما سجل الأصل 775 P أقل متوسط في عدد الأوراق على المعاملة 2%، واورد (Sivritepe and Eris,1999) ان عدد الأوراق انخفض على بعض أصناف العنب مع ارتفاع مستويات الإجهاد للملوحة، وفي دراسة أخرى لـ (Zhuo *et al*,2019) على بعض أصول العنب كذلك انخفض عدد الأوراق بعد التعرض للإجهاد الجفافي.

الجدول رقم (3): تأثير معاملات الإجهاد الجفافي على متوسط عدد الأوراق للأصول المدروسة (القيم هي متوسطات 10 مكررات ± الخطأ المعياري SE).

الأصول المدروسة	متوسط عدد الاوراق				
	معاملات الـ PEG %				
	0	2	4	6	8
775 P	9.3±1.04 de	2.2±0.2 i	4.5±0.58 fghi	4.8±0.66 fghi	4.5±0.68 fghi
140 Ruggeri	17.3±1.28 a	5.5±0.83 fghi	5.5±0.95 fghi	5.2±0.85 fghi	4.2±0.35 fghi
161 49	15.2±1.5 ab	4.3±0.51 fghi	4.9±0.37 fghi	3.7±0.47 ghi	4±0.33 ghi
157 11C	7.8±0.82 ef	2.9±0.27 hi	6±0.94 fgh	5.3±0.47 fghi	4.3±0.49 hi
1103 Paulsen	12.5±1.82 bc	5.9±0.65 fghi	4.8±0.53 fghi	3.4±0.34 hi	2.5±0.26 hi
Kober 5BB	11.1±0.98 cd	7.2 ±0.91 efg	5.1±1.15 fghi	4.2±0.57 fghi	3.6±0.58 ghi
779 P	15.7±1.66 a	4.1±0.45 fghi	5.1±0.5 fghi	5.2±0.77 fghi	5.7±0.84 fghi
$LSD_{0.01}$	1.154				

ويعود الانخفاض في عدد الأوراق إلى انخفاض كمية الماء المتاح للنبات (Shivakrishna *et al*,2018) وبالتالي انخفاض نسبة الماء الموجود داخل الخلايا النباتية ومما يؤدي إلى انخفاض عملية الانقسام الخلوي كذلك تعتبر الأوراق حساسة للجفاف (يوسف,2016)، تحت ظروف الجفاف تبدي الأوراق تغيرات كبيرة على المستوى الفيزيولوجي والمورفولوجي والتي تعمل على إغلاق المسام وبالتالي التقليل من عملية التركيب الضوئي وبالتالي الانخفاض في معدل النمو وإنتاج أوراق جديدة، كما وجد

(Hatmi *et al*,2015) انه في أصناف العنب المقاومة للجفاف يكون الفقد في محتوى الورقة المائي أقل وبالتالي تكون عملية التركيب الضوئي أكثر فعالية وكفاءة.

5- تأثير الإجهاد الجفافي في متوسط عدد الجذور:

يظهر الجدول رقم (4) متوسط عدد الجذور لكل من الأصول المدروسة بالمقارنة مع الشاهد اذ ازداد عدد الجذور في اغلب الأصول المدروسة مع ارتفاع تركيز PEG_{6000} وذلك للحصول على أكبر قدر ممكن الماء لم يكن هناك فرق معنوي بين الشاهد والأصل 140Ruggeri بالنسبة لعدد الجذور الا في المعاملة 8% وبلغ متوسط عدد الجذور عندها 1.01 جذر، كما لم يبدي الأصل 779 P فروقاً بين المعاملات بالنسبة لمتوسط عدد الجذور، في حين بلغ اقل متوسط لعدد الجذور 0.57 جذر وذلك للأصل161 49 على المعاملة 8%، اما الأصل 157 11C أعطى عدد جذور قليل بالمقارنة مع الشاهد وابدى حساسية لمعاملات الاجهاد الجفافي. وتوصل كل من (Sivritepe and Eris,1999)، (Lovisolo *et al*,2010) في دراسة على تحمل ظروف الملوحة والجفاف على بعض أصناف وأصول العنب الى نتيجة مشابهة حيث أدى ازدياد الاجهاد الجفافي الى ازدياد في تكوين المجموع الجذري. مع انخفاض في تشكل المجموع الخضري وذلك لتمكين النبات من الحصول على أكبر كمية من الماء.

الجدول رقم (4): تأثير معاملات الإجهاد الجفافي على متوسط عدد الجذور للأصول المدروسة (القيم هي متوسطات 10 مكررات ± الخطأ المعياري SE).

الأصول المدروسة	متوسط عدد الجذور				
	معاملات الـ PEG %				
	0	2	4	6	8
775 P	3.6±0.42 cd	1.23±0.31 fgh	1.63±0.41 defgh	0.76±0.32 fgh	2.03±0.56 cdefgh
140 Ruggeri	3.3±0.42 cde	2.7±0.49 cdef	2.3±0.3 cdefgh	1.41±0.3 efgh	1.01±0.14 fgh
161 49	2.6±0.54 cdefg	0.75±0.24 fgh	1.33±0.41 efgh	0.84±0.27 fgh	0.57±0.25 gh
157 11C	2.12±0.53 bc	0.47±0.2 h	1.1±0.5 efgh	0.47±0.2 h	0.86±0.34 fgh
1103 Paulsen	3.9±0.67 bc	1.06±0.45 fgh	2.63±0.7 cdef	2.5±0.26 cdefgh	2.4±0.3 cdefgh
Kober 5BB	5.9±0.82 a	2.8±0.62 cdef	2.8±0.35 cdef	1.43±0.35 efgh	0.87±0.42 fgh
779 P	5.4±0.83 ab	2.01±0.44 cdefgh	2.12±0.59 cdefgh	2.41±0.44 cdefgh	2.6±0.4 cdefg
$LSD_{0.01}$	**0.6353**				

6- تأثير الإجهاد الجفافي في متوسط طول الجذور (سم):

يظهر الجدول رقم (5) انخفاض في طول الجذور للمعاملات مقارنة مع الشاهد غير ان الأصل kober 5BB لم يسجل فرقاً معنوياً مع الشاهد عند المعاملة 2% PEG_{6000} وبلغ متوسط طول الجذور لديه عند هذه المعاملة 9.7 سم ولم تكن هناك فروق معنوية بين معاملة 2% وكل من 4% و6% لنفس الأصل kober 5BB ولكن كان الفرق معنويا عند المعاملة 8% وبلغ متوسط طول الجذور فيه 0.96 سم أي حدث انخفاض واضح في متوسط طول الجذر عند التركيز 8%، كذلك ابدى الأصل 140 Ruggeri نموا جيدا للجذور حيث لم يكن هناك فروق معنوية بين كل من المعاملات (2،4،6)% ولكن حصل هناك انخفاض واضح في متوسط طول الجذور عند المعاملة 8% وبلغ المتوسط 2.21 سم في حين انخفض طول الجذور بشكل كبير لكل من الأصل 1103 P والأصل 161 49 بالمقارنة مع الشاهد وبلغ المتوسط للأصل 161 49 0.79 سم عند المعاملة 6% و 1.06% عند المعاملة 8%. ونجد ان الجذور استمرت بالنمو ومقاومة الإجهاد الجفافي ولكن الأثر الجفافي كان واضحا عند

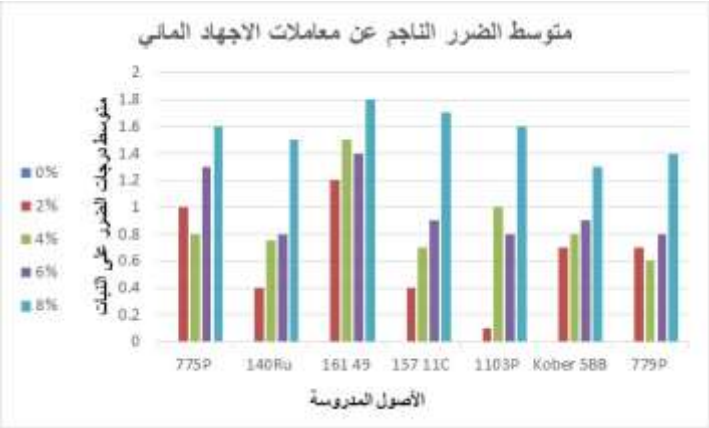
المعاملة 8% لدى جميع الأصول المدروسة وكان كذلك عند 6% لكل من الأصل 49 161 والأصل P 1103، في حين ان كل من الأصل 775P لم تكن الفروق بينه وبين الشاهد معنوية على المعاملة 2% و4% و كذلك الأصل 11C 157 لم تكن الفروق معنوية بينه وبين الشاهد على المعاملات (4،6،8)%، وفي نتائج دراسات مشابهة (Sivritepe and Eris,1999)، (Lovisolo et al,2010)، (Zhuo *et al*,2019) على تحمل ظروف الملوحة والجفاف على بعض أصناف وأصول العنب استمرت الجذور بالنمو بالرغم من معاملات الإجهاد ويعود ذلك الى ان النبات في حالات الإجهاد الجفافي يعزز من نمو الخلايا الميرستمية لدى الجذور ويعمل على تزويدها بالغذاء لحثها على النمو من أجل البحث عن الماء (مختار أبو جادالله., 2019).

الجدول رقم (5): تأثير معاملات الإجهاد الجفافي على متوسط طول الجذور للأصول المدروسة (القيم هي متوسطات 10 مكررات ± الخطأ المعياري SE).

الأصول المدروسة	متوسط طول الجذور(سم)				
	معاملات الـ PEG %				
	0	2	4	6	8
775P	9.95±0.35 de	5.45±0.38 efghij	4.46±0.51 efghij	2.83±0.16 fghij	2.85±0.86 fghij
140 Ruggeri	14.43±0.15 cd	6.59±0.33 efghi	7.42±0.92 efg	7.83±0.5 ef	2.21± 0.7 fghij
161 49	17.07±0.85 bc	3.2± 0.16 fghij	1.56±0.37 ghi	0.79±0.33 ij	1.06±0.56 hij
157 11C	6.87±0.61 efgh	0.28±0.13 j	4.96±0.35 efghij	2.08±0.28 fghij	1.51±0.73 ghi
1103 Paulsen	20.26±0.55 ab	2.59±0.5 fghij	5.39±0.44 efghij	2.93±0.58 fghij	5.91±0.66 efghij
Kober 5BB	13.88±0.72 cd	9.7±0.9 de	8.04±0.5 ef	4.9±0.92 efghij	0.96±0.48 hij
779P	22.62±0.3 a	4.29±0.87 efghij	2.9±0.65 fghij	3.81±0.25 fghij	4.57±0.28 efghij
$LSD_{0.01}$	**1.868**				

7- الأثار الظاهرية للإجهاد المائي على الأصول المدروسة:

لم تسجل أي أضرار على النبات في معاملة الشاهد بالمقارنة مع باقي المعاملات حيث اختلفت الأضرار بين الأصول المدروسة كما هو مبين في الشكل رقم (2)، ونلاحظ زيادة في الضرر على الأجزاء النباتية بارتفاع نسبة PEG_{6000} في المعاملات حيث تم تسجيل أكبر درجة للضرر على النباتات وعلى جميع الأصول المدروسة على المعاملة 8% حيث سجل الأصل 49 161 أعلى معدل للدرجة الضرر وبلغ 1.8، في حين سجل الأصل Kober 5BB أقل معدل لدرجة الضرر وبلغ 1.3. أما المعاملة 2% فقد حققت أقل معدل لدرجة الضرر على النباتات حيث سجل الأصل 1103 Paulsen أقل معدل للضرر وبلغ 0.1، في حين سجل الأصل 15711C أعلى معدل للضرر على المعاملة 2% وبلغت 1 وهذا يتفق مع (Sivritepe and Eris,1999) في دراسة لآثار الملوحة على بعض أصناف العنب حيث زادت الاضرار مع ازدياد تركيز الملوحة . كما نلاحظ أن درجة الضرر على كل من الأصل 140 Ruggeri ، Kober 5BB ، 1103 Paulsen و 779P كانت أقل من باقي الأصول المدروسة، وتوصل (Zhong *et al*., 2018) في دراسة على أصناف من الكيوي ان مؤشر الضرر على النبات ازداد مع ازدياد تركيز PEG في الوسط وبلغ اكبر مؤشر للضرر لديه عند تركيز 20% PEG



الشكل رقم (2): درجة الضرر على الأصول النباتية والناجمة عن معاملات الإجهاد الجفافي

التقسية Acclimatization:

بعد أخذ النتائج تمت عملية أقلمة للنباتات التي قاومت معاملات الإجهاد الجفافي وذلك بزراعتها في أصص تحوي على البيت موس وحضنت بغرف النمو وغطيت بأكياس بلاستيكية شفافة للمحافظة على الرطوبة العالية، وأجريت عملية التقسية تدريجياً بعمل ثقوب صغيرة ثم أكبر فأكبر حتى إزالة الأكياس بشكل نهائي بعد حوالي أسبوعين; نقلت النبتات المقساة إلى ظروف البيت الزجاجي الشكل رقم (3) يوضح نمو النباتات المقاومة خلال عملية الأقلمة.

الشكل رقم (3): نمو النباتات المقاومة خلال عملية الأقلمة

الاستنتاجات:

من أهم الاستنتاجات التي تم التوصل إليها في هذا البحث هي :

- استطاعت الأصول المدروسة التغلب على وضع السكون بعد التعرض لمعاملات الجفاف والبدء بالنمو من جديد خلال أربع أسابيع من الزراعة على الأوساط المجهدة.
- ان كل من الأصل 157/11C والأصل 161/ 49 والأصل 775/Pحساسة لمعاملات الإجهاد الجفافي
- استطاعت الأصول Kober 5BB , 1103 Paulsen, 779/P, 140 Ruggeriالنمو بشكل جيد على المعاملة 2% PEG6000 وأظهروا تحمل أكبر لمعاملات الاجهاد الجفافي الأخرى وكان الأصل Kober 5BB هو افضلها
- أعلى نسبة للتماوت كانت على المعاملة 8% PEG6000

المقترحات والتوصيات

- استعمال تقنية التقييم والغربلة باستخدام تقنية زراعة الأنسجة النباتية نظراً لسهولتها ولقدرتها على اختصار الوقت والجهد.
- دراسة تأثير الجفاف على الأصول المستخدمة حقليا ومقارنة نتائجها مع النتائج المخبرية
- ينصح بالاستفادة من الأصول المتحملة والمتوسطة التحمل للجفاف في برامج التربية والتحسين الوراثي للعنب

- كما ينصح باستخدام هذه الأصول في المناطق التي تعاني من الجفاف

المراجع:

وزارة الزراعة والاصلاح الزراعي (2022). قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتعاون الدولي، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، الجمهورية العربية السورية.

عبيد حسان وعصام فلوح وينس ليون (2012). الاستجابات المورفولوجية والفيزيولوجية لأصلين من التفاح البري (Malus communis) و (Malus trilobata) للإجهاد المائي. مجله جامعة دمشق للعلوم الزراعية. 28(2) :143-159.

مختار أبو جادالله، جابر (2019). فيسيولوجيا وبيولوجيا النبات الجزيئية أثناء الإجهاد المائي. دار المريخ للنشر، مصر. 225 صفحة.

يوسف، ضياء بطرس (2016). دراسات في بيئة وفسلجة وتربية النبات لتحمل الجفاف. دراسة توثيقية مقدمة الى مركز تربية وتحسين النبات، دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، جمهورية العراق

Cardone, M.F.; R. Perniola; C.R. Catacchio; F. Alagna; S. Rotunno, P. Crupi; D. Antonacci1; R. Velasco; M. Ventura; and C. Bergamini. (2019). Grapevine adaptation to drought New candidate genes for the genotype-dependent response Bio Web of Conferences, 15,42nd World Congress of Vine and Wine.

Cardone, M.F.; R. Catacchio; F. Alagna; and M. Ventura. (2019). On grapevine adaptation to drought: new insights into the genotype-dependent responses to water stress. Bio Web of Conferences, 15,42nd World Congress of Vine and Wine.

Florido M.; L. Bao; R. M. Lara; Y. Castro; R. Acosta; and M. Álvarez (2018). Effect of Water Stress Simulated with Peg 6000 On Tomato Seed Germination (Solanum Section Lycopersicon). Cultivos Tropicales. 39(1): 87-92.

Hatmi, S.; C. Gruau; P. Trotel-Aziz; S. Villaume; F. Rabenoelina; F. Baillieul; P.Eullaffroy; C. Clément; A. Ferchichi; and A. Aziz (2015). Drought stress tolerance in grapevine involves activation of polyamine oxidation contributing to improved immune response and low susceptibility to Botrytis cinerea. Journal of Experimental Botany. 66(3): 775–787.

Lioyd, G.; and B. McCown (1981). Commercially- feasible micropropagation of mountain laurel, *Lamia Latifolia*, by use of shoot tip culture. Proc. Inter plant propagation Soc 30: 421-427.

Lovisolo, C.; I. Prrone; A. Carra; A. Ferrandino; J. Flexas; H. Mederano; and A. Shubert (2010). Drought-induced changes in development and function of grapevine (*vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non- hydraulic interactions at the whole-plant level: as physiological and molecular update. Functional plant Biology. 37: 98-116.

Lovisolo, C. (2016). Grapevine adaptation to water stress: new perspectives about soil/plant interactions. Theoretical and experimental Plant Physiology. 28(1): 53-66.

Marssaro A. L.; L. S. Morais-Lino; J. L. Cruz; C. A. Silva Ledo; and J. A. Santos-Serejo (2017). Simulation of in vitro water deficit for selecting drought-tolerant banana genotypes. Pesq. agropec. bras., Brasília. 52(12): 1301-1304.

Osmolovskaya N.; J. Shumilina; A. Kim; A. Didio; T. Grishina; T. Bilova; O. A. Keltsieva; V. Zhukov; I. Tikhonovich; E. Tarakhovskaya; A. Frolov; and L. A. Wessjohann (2018). Methodology of Drought Stress Research: Experimental Setup and Physiological Characterization. International Journal of Molecular Sciences. 19: 4089.

Pavlousek, P. (2011). Evaluation of drought tolerance of new grapevine rootstock hybrids. J.Environ. Biol. 32:543-549.

Shivakrishna, M.; k. Reddy; and M. Rao (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. Saudi J Biol Sci. 25(2): 285–289.

Sivritepe, N.; and A. Eris (1999). Determination of Salt Tolerance in Some Grapevine Cultivars (*Vitis vinifera* L.) Under *in vitro* Conditions. Tr.J.of Biology. 23:473-485.

Sommer, K.; L. Pollock; and F. Hancock (2010). Drought tolerant rootstocks for sultana. Department of Environment and Primary Industries Melbourne, Victoria ISSN 1329-8062.

Zhong, Y. P.; Z. Li; D. F. Bai; X. J. Qi; J. Y. Chen; C. G. Wei; M. M. Lin; and J.-B. Fang (2018). In Vitro Variation of Drought Tolerance in Five Actinidia Species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 143(3):226–234.

Zhuo, M.; L, Runyu; L. Chen; Y. Zhang; Z. Li; M. Liu; Y. Ju; and Y. Fang (2019). Alleviation of drought stress in grapevine by foliar-applied strigolactones. Plant Physiology and Biochemistry. 135: 99–110.

Using the Tissue Culture Technique in studying the Response of some Phylloxera Resistant American Rootstocks to Water Stress

Wasim Mohsen[(1)*] and Khzama AL-kountar[(1)] , and Maysa Amer[(1)]

(1) Department of Biotechnology, Al Suwayda Scientific Agricultural Research Center General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria.

(*Corresponding author: Dr. Wasim Mohsen, E-Mail: wasimmo6@yahoo.com)

Abstract

This study was carried out in the Al-Suwayda research center during the period 2016-2019, seven American rootstocks of grapevine which is resistant to Phylloxera insect have been studied *in vitro* for their response to drought stress treatments, these rootstocks are775P VGVA 12,140Ruggeri UBA05, 161 49 VGVA5, 157 11C UBA01 1103 Paulsen UBA01, Kober 5BB UBA01, 779P UBA04. polyethylene glycol (PEG_{6000}) has been used for drought stress treatments, explants between 2-3 cm with two leaves have been planted in WPM liquid medium with (1mg/L Kin + 0.2 mg/L IBA + 0.2 mg/L GA3) and added to it (PEG_{6000}) in this concentrations 0,2,4,6, and 8%, with paper bridges, used to carry explants, the results were taken 60 days after planting for the rate of survival plants, shoot length, shoots number, leaves number, roots length, roots number and the extent of drought damage, then the resistance plants were acclimated. The results show a difference in rootstocks response to water stress based on the studied parameters. Progressive reduction in the studied parameters occurred as PEG_{6000} concentration increased compared with control. Kober 5BB rootstock record a high level in shoots length reaching 6.78 cm on 2% PEG_{6000}, treatment, it also recorded the average number of leaves was 7.2 leaf on the same one, while it did not register any significant difference between the control 2% PEG_{6000} treatment for shoots number, but for roots length it has recorded an average 9.7 cm. while 140Ruggeri did not register

any significant difference between the control and the treatments for roots number excluding the treatment containing 8% PEG_{6000} which has recorded an average 1.01 root. drought injury varied depending on the rootstock and PEG_{6000} concentration, the deadest plants were observed on 8% PEG_{6000}, the results show that Kober 5BB rootstock has the lowest level of injury degree reaching 1.3, while 161 49 rootstock has the highest level of injury degree reaching 1.8. Using the *in-vitro* screening was an effective technique and a quick method to evaluate the variability between grape rootstocks and its resilience to water stress.

Keywords: American grapevine rootstocks, water stress, *in-vitro* culture.