

تأثير الإجهاد الملحي (NaCl) في محتوى حمض البرولين واليخضور في البطاطا (*Solanum tuberosum* L.)

وائل متوج*⁽¹⁾ ومازن رجب⁽¹⁾ و حسان خوجة⁽²⁾

(1). شعبة التقانات الحيوية، مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، اللاذقية، سورية.

(2). قسم البساتين - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

(*المراسلة: الدكتور وائل متوج. البريد الإلكتروني kawtharb94@gmail.com)

تاريخ الاستلام: 2020/10/15 تاريخ القبول: 2020/11/9

المخلص

نُفذ البحث في مركز بحوث اللاذقية التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية خلال الموسم 2017/2016 بهدف دراسة استجابة 18 سلالة من البطاطا الطافرة من الصنف مارفونا مع صنف مارقونا وسبونتا للري بمحاليل محضرة بتراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم (0، 50، 100، 150، 200) ميلي مول/لتر. بينت النتائج وجود علاقة ارتباط عكسية بين ازدياد تراكيز الأملاح في الوسط ومحتوى حمض البرولين واليخضور في أوراق النباتات، كما أظهرت النتائج وجود تباين في استجابة السلالات للإجهاد الملحي، وأعطت السلالات 30mM/4hrs/P46، 40mM/2hrs/P31، 40mM/3hrs/P2، 40mM/3hrs/P14، 40mM/3hrs/P42، 40mM/4hrs/P13 أفضل القيم بالنسبة لمحتوى أوراقها من حمض البرولين تراوحت بين (0.266-0.278) ميلليغرام/غرام، وحققت أعلى القيم بالنسبة لمحتوى أوراقها من اليخضور الكلي فتراوحت بين (12.11-12.97) ميكروغرام/ميليتر.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد الملحي، البرولين، اليخضور، البطاطا.

المقدمة:

تُعد البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) من المحاصيل الغذائية الرئيسة في العالم، حيث تحتل المرتبة الرابعة في الأهمية الاقتصادية عالمياً بعد القمح والذرة الصفراء والرز (Ferne and Willmizer, 2001). دخلت زراعة البطاطا سورية في بداية القرن العشرين، وصلت المساحة المزروعة بها إلى 22229 هكتاراً، وإنتاج 562342 طناً حسب المجموعة الإحصائية السورية الصادرة عن وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي لعام 2018. تُعدّ ملوحة التربة والماء من أهم الإجهادات غير الإحيائية الرئيسة التي تؤثر سلباً في نمو وإنتاجية المحاصيل الزراعية، خصوصاً في المناطق الجافة وشبه الجافة، ويعد نبات البطاطا من النباتات الحساسة للملوحة إلى متوسطة الحساسية مقارنةً مع نباتات الخضار الأخرى كالشوندر والسبانخ (Katerji et al., 1999; Glenn et al., 2003). ويسبب ارتفاع نسبة الأملاح في الوسط المغذي للنبات خللاً في التوازن الأيوني والمائي، وتؤثر سلباً في العديد من الصفات المظهرية والفسولوجية والبيوكيميائية؛ وتسبب اضطراباً في التوازن الهورموني وتصنيع البروتينات والأحماض النووية (Alam, 1994; Meloni et al., 2003; Fidalgo et al., 2004). درس Levy وآخرون (1988) تأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (20.5، 34.2، 51.3) ميليمول/ لتر، لفترات مختلفة (37-63) يوماً في استجابة عدة أصناف من البطاطا، وأظهرت نتائجهم أن زيادة الملوحة سببت زيادة محتوى حمض البرولين، ونسبة المادة الجافة ونسبة المواد الصلبة الذوابة في الدرنات وخفضت إنتاجية النبات، وتباينت الأصناف في استجابتها حيث تحمل الصنف Blanka تركيز 20.5 ميليمول، وأبدى تحملاً متوسطاً للملوحة عند التعريض لفترة 37 يوماً، في حين تأثر بسرعة عند زيادة مدة التعريض إلى 63 يوماً، أما الصنف Alpha فقد اعتبر متوسط التحمل للملوحة. أجرى Samy (2015) دراسة لتأثير ري ثلاثة أصناف من البطاطا Diamant و Lady Rosetta و Spunta مزروعة في أصص بلاستيكية بخمسة تراكيز من كلوريد الصوديوم (0، 1.5، 3.0، 4.5، 6.0) ديسيمينز/م فأظهرت النتائج وجود علاقة انبساط عكسية بين زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ومعظم المؤشرات المدروسة (كطول النبات، وعدد النموات/النبات، وعدد الأوراق ووزنها الجاف، ومساحة المسطح الورقي/النبات) والإنتاجية (عدد الدرنات/النبات، ومتوسط وزن الدرنات، ووزن الدرنات/النبات)، كما خلصت النتائج إلى أن صنف البطاطا Diamant كان الأكثر تحملاً للملوحة، تلاه الصنف (Lady Rosetta)، في حين كان الصنف (Spunta) الأكثر حساسية للملوحة. بينت دراسة Roy وآخرون (2017) في بنغلادش حول تأثير أربعة تراكيز من كلوريد الصوديوم (0، 0.5، 1.5، 2.5) غ/كغ على ثلاثة أصناف من البطاطا Granula و Asterix و Lady Rosetta في أصص بلاستيكية، وأظهرت النتائج وجود علاقة سلبية بين زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ومؤشرات النمو المدروسة (وزن الدرنات/النبات، ونسبة المادة الجافة)، كما أظهرت النتائج أن صنف البطاطا Granula قد أعطى أعلى وزن للدرنات عند مستوى ملحي 0.5 غ/كغ تربة، تلاه الصنف Lady Rosetta، بينما سجل الصنف Asterix أقل مؤشرات نمو واعتبر الأكثر حساسية لزيادة مستويات كلوريد الصوديوم في وسط النمو. لاحظ Martinez وآخرون (1996) في دراسة لتأثير خمسة تراكيز من كلوريد الصوديوم (0، 25، 50، 100، 200) ميليمول/ لتر في نمو أربعة أنواع من البطاطا *Solanum tuberosum* L. و *Solanum curtilobum* و *Solantun andigena* و *Solanum juzepczukii* وجود علاقة إيجابية بين محتوى

الأوراق من حمض البرولين وزيادة ملوحة وسط النمو، وتباينت الأنواع المختبرة في استجابتها لظروف الإجهاد الملحي حسب أفضلية محتواها من حمض البرولين في الأوراق. كما تم درس مدى تحمل عشرة أصناف من البطاطا Atlantic و Bzura و CEW و CFL 69-1 و Desiree و Kennebec و K.Jyothi و Mariva و Pirola و Spunta لظروف الإجهاد الملحي اعتماداً على عدة مؤشرات (كطول النبات، والمادة الجافة للجذور والنمو الخضري، وعدد السلامة والفروع، ومحتوى حمض البرولين في الأوراق والسيقان والجذور....الخ) حيث تم زراعة 100 برعم جانبي/ لكل معاملة ملحية على الوسط المغذي لموراشيخ وسكوغ المضاف إليه ستة تراكيز ملحية من ماء البحر (0، 2، 4، 6، 8، 10) غ/ لتر لمدة 4 أسابيع. لوحظ أعلى تراكم لحمض البرولين في السيقان تلاها الأوراق فالجذور، وقد وزعت الأصناف اعتماداً على تراكم البرولين إلى ثلاث مجموعات: عالية التراكم فوق (100) ميكروغرام/ غرام (K. Jyothi و Kennebeck و Desiree)، ومتوسطة بين (50-99) ميكروغرام/ غرام BzuraMariva و CFL ، ومنخفضة أقل من (50) ميكروغرام/ غرام باقي الأصناف، ساعد ذلك في تمييز الأصناف الحساسة والمتحملة لظروف الإجهاد الملحي (Potluri and Prasad, 1994).

كما درس Zhang وآخرون (2005) تحمل طرازين من البطاطا الصينية (2-Jingshi و Zihuabai) لظروف الإجهاد الملحي؛ من خلال زراعة 175 عقلة وحيدة البرعم الإبطي على الوسط المغذي موراشيخ وسكوغ أضافوا إليه خمسة تراكيز من كلوريد الصوديوم (0، 20، 40، 60، 80) ميلليمول، وتم تقييم لتحمل الملوحة باستخدام عدة مؤشرات هامة بعد 60 يوماً من الزراعة (القطر والعدد والوزن الرطب للدرينات، ونشاط أنزيمات الأكسدة كالبيروكسيداز والبولي فينول أوكسيداز، ومحتوى السكريات الكلية الذوابة وحمض البرولين في الدرينات)، حيث تباين الطرازين بقدرتهما على تكوين الدرينات عند كافة التراكيز الملحية المستخدمة؛ باستثناء تركيز 80 ميلليمول الذي تثبط تكوينها في كلا الطرازين، وأظهرت النتائج زيادة تراكم محتوى حمض البرولين في درنات الطرازين بزيادة ملوحة وسط النمو، وبلغ محتواها عند الطراز Zihuabai (50، 75، 110، 175) ميكروغرام/ غرام عند تراكيز كلوريد الصوديوم (0، 20، 40، 60) ميلليمول، وبلغ لدى الطراز 2-Jingshi (150، 175، 200) ميكروغرام/ غرام عند تركيز كلوريد الصوديوم (0، 20، 40) ميلليمول. أشارت معطيات العديد من الباحثين إلى انخفاض محتوى صبغة اليخضور عند العديد من الأنواع النباتية النامية تحت ظروف الإجهاد الملحي (Porra *et al.*, 1989; Munira وآخرون (2015) من (2009) Khan *et al.*, 2005; Ashraf *et al.*, 2000; Harinasut *et al.*،. تمكنت Munira وآخرون (2015) من تقييم استجابة عشرة أصناف من البطاطا Diamant و Provento و Felsina و Granola و Asterix و Cardinal و Sagita و Shilbilati و Lady Rosetta و Al-Pakri للري بتراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0.5، 3.25، 6.95، 8.90) ديسيمينز/م لمدة 30 يوماً، حيث تمت الدراسة اعتماداً على مؤشر بيوكيميائي (صبغة اليخضور)، وأظهرت النتائج وجود علاقة سلبية بين زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ومحتوى الأوراق من صبغة اليخضور، حيث تفوق صنف البطاطا Sagita و Felsina في إعطاء أعلى محتوى من اليخضور الكلي في أوراقهما. تلاهما الأصناف Diamant و Granola و Asterix، بينما سجل الصنفين Shilbilati و Lalpakri أقل القيم وأبديا استجابة منخفضة لتحمل ظروف الإجهاد الملحي.

ميررات والهدف من البحث:

نظراً لأهمية محصول البطاطا وضرورة الاستفادة من المناطق المتأثرة بالملوحة، فقد هدف هذا البحث إلى دراسة استجابة سلالات طافرة من البطاطا من الصنف مارفونا لظروف الإجهاد الملحي اعتماداً على بعض المؤشرات البيوكيميائية.

مواد البحث وطرائقه:

نُفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - مركز بحوث اللاذقية- مخابر شعبية التقانات الحيوية بالتعاون مع مخبر البحث العلمي بجامعة تشرين - كلية الصيدلة في أكياس من البولي إيثيلين. تم تقييم استجابة 18 سلالة بطاطا طافرة من الصنف مارفونا؛ بالإضافة للشاهد صنف البطاطا مارفونا وسبونتا لظروف الإجهاد الملحي خلال العروة الربيعية (20 شباط) (الجدول 1). بلغ عدد السلالات المختبرة (18) سلالة حيث استخدم 3 مكررات لكل سلالة. تم ري النباتات بعد شهر من الزراعة بتركيز مختلفة من NaCl (0، 50، 100، 150، 200) ميليمول تبعاً للمعاملة الملحية، مع استخدام المحلول المغذي المتوازن بروسول (Pro-sol) بتركيز 20:20:20 NPK. جرت عملية غسل لوسط الزراعة ضمن الأكياس بالماء العادي قبل كل عملية سقاية بالمحلول الملحي، واستمر الري لمدة شهر من بداية تطبيق الإجهاد الملحي، وتركت النباتات تنمو تحت ظروف خالية من كلوريد الصوديوم مع الاستمرار في التغذية بمحلول بروسول المغذي إلى مرحلة نضج الدرنا في 10 حزيران.

تم تقدير تركيز حمض البرولين حسب طريقة (Bates et al., 1973) للسلالات وذلك بعد انتهاء الري بالتركيز الملحية والذي توافق بعد شهرين من الزراعة. حيث تم أخذ 0.5غ من عينات الأوراق (الورقة الرابعة/النبات)، طُحنت العينات النباتية بوجود 10 مل من محلول الأستخلاص حمض السلفوساليسليك 3% (Sulphosalicylic acid)، ثم رُشح المزيج باستخدام ورق ترشيح واتمان (Whatman) رقم 2، بعدها أُخذ 2 مل من الراشح، وأُضيف إليه 2 مل محلول مائي من كاشف حمض النينهيندين (Acid ninhydrin) و2 مل من حمض الخل الثلجي 85% (Glacial acetic acid) في أنبوب اختبار. حضن المزيج في حمام مائي على درجة حرارة 100 م° لمدة ساعة بعدها وُضع المزيج مباشرة ضمن الثلاجة ولمدة ربع ساعة، وأُضيف للمزيج 4 مل من مادة التولوين. (Toluene) تم خلط المزيج جيداً لمدة 20 ثانية، وفُصلت طبقة التولوين مع ما تحمله من بروتين وتم قياس تركيز اللون عند طول موجة 520 نانومتر باستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي (Ultrospec 2100 pro-uv/visible Spectrophotometer). وتم تقدير محتوى حمض البرولين في الأوراق وفق المعادلة:

البرولين ملغ/غرام = التركيز جزء بالمليون × حجم محلول الاستخلاص × معامل التخفيف \ 1000 × وزن العينة المستخلصة × حجم محلول العينة المقدر.

تم تقدير محتوى اليخضور الكلي (a+b) في الأوراق حسب طريقة (Porra et al., 1989) في الأوراق للسلالات، حيث أُخذ 250 ميليغرام من الأوراق النباتية الطازجة، وطُحنت بوجود الأزوت السائل بعدها تم إضافة 5 مل من الأسيتون 80%. أُجريت عملية طرد مركزي بسرعة 1500/دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق. أُخذ الراشح وأُكمل الحجم إلى 20 مل باستخدام

الأسيتون 80% بعدها سُجلت الامتصاصية عند طول موجة 664 و 470 نانومتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي وفق المعادلة التالية:

$$Ch_a + Ch_b = 17.76 \times A_{647} + 7.34 \times A_{664}$$

Ch_a: صبغة الكلوروفيل a ، Ch_b: صبغة الكلوروفيل b

A₆₄₇: قراءة الامتصاصية عند طول موجة 647 نانومتر، A₆₆₄: قراءة الامتصاصية عند طول موجة 664 نانومتر.

الجدول 1. سلالات البطاطا المختبرة.

الرقم	رمز السلالة	الرقم	رمز السلالة
1	Sv4	11	40mM/hr3/P2
2	Sv5	12	40mM/hr3/ p6
3	20mM/hr2/ p11	13	40mM/hr3/ p12
4	40mM/hr4/p13	14	40mM/hr3/ p14
5	20mM/hr2/ P55	15	40mM/hr3/ p40
6	40mM/hr4/ P49	16	40mM/hr3/ p42
7	40mM/hr4/ P52	17	40mM/hr4/ p11
8	30mM/hr3/ p35	18	40mM/hr4/ p13
9	30mM/hr4/P46	19	Marfona unmutant
10	40mM/hr2/ p31	20	Spunta unmutant

*ملاحظة: mM/ تركيز المادة المطفرة- hr/ زمن الغمر بالمادة المطفرة- p/ رقم السلالة المختبرة.

التحليل الإحصائي:

نُفذت التجربة وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بثلاثة مكررات. أُخضعت المعطيات لتحليل التباين (ANOVA) باستخدام البرنامج الإحصائي GenStat 12. وُحددت معنوية الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة:

تأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم بمحتوى أوراق نباتات البطاطا من حمض البرولين:

أشارت نتائج الدراسة إلى وجود علاقة ايجابية بين محتوى أوراق السلالات من حمض البرولين وزيادة تركيز كلوريد الصوديوم في وسط النمو، حيث زاد تركيز حمض البرولين وبقروق معنوية من 0.116 ميليغرام/غرام عند تركيز 0 ميليغرام إلى 0.419 ميليغرام/غرام عند التركيز الملحي 200 ميليغرام (الجدول 2). وعند المقارنة بين السلالات وجد أن السلالتين (40mM/3hr/P2, 40mM/3hr/P42) سجلتا عند تراكيز الملوحة كافة أعلى محتوى لحمض البرولين في أوراقها 0.278 ميليغرام/غرام تلتهما السلالات (30mM/4hr/P46, 40mM/2hr/P31, 40mM/3hr/P14, 40mM/4hr/P13) بمحتوى (0.266, 0.271, 0.270, 0.275) ميليغرام/غرام على التوالي، وبدلالة إحصائية معنوية مقارنة مع الشاهد (الجدول 2). ويلاحظ أن كافة السلالات المدروسة تفوقت وبدلالة إحصائية معنوية على الشاهد عند التركيز الملحي 200

ميليمول، وسجلت السلالة (40mM/3hr/P2) أعلى القيم بالنسبة لمحتوى أوراقها من حمض البرولين بلغت (0.446) ميلليغرام/غرام.

الجدول 2. تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في المحتوى من حمض البرولين في الأوراق للسلالات المختبرة.

متوسط السلالات	تراكيز كلوريد الصوديوم/ميللي مول					السلالات
	200	150	100	50	0	
0.250ef	0.423a	0.330fi	0.245mn	0.231n	0.124ry	SVP4
0.246ef	0.434a	0.333fi	0.245mn	0.140ou	0.098y	SVP5
0.245f	0.427a	0.317gi	0.244mn	0.138ov	0.098y	20mM/2hr/P11
0.254df	0.429a	0.332fi	0.254mn	0.138ow	0.118ry	20mM/2hr/P55
0.251ef	0.432a	0.316gi	0.243mn	0.153or	0.111sy	20mM/4hr/P13
0.267ad	0.439a	0.326gi	0.258mn	0.170op	0.134py	20mM/4hr/P49
0.257cf	0.425a	0.307hk	0.268mn	0.154or	0.128qy	20mM/4hr/P52
0.245f	0.424a	0.311hi	0.244mn	0.146os	0.100yx	30mM/2hr/P35
0.275a	0.426a	0.345dh	0.311hi	0.168op	0.140ou	30mM/4hr/P46
0.271ab	0.436a	0.329fi	0.245mn	0.140ou	0.098y	40mM/2hr/P31
0.278a	0.446a	0.364cf	0.272m	0.150os	0.142ot	40mM/3hr/P2
0.249ef	0.421a	0.310hi	0.248mn	0.165oq	0.103ty	40mM/3hr/P6
0.246ef	0.422a	0.306ik	0.246mn	0.152or	0.106ty	40mM/3hr/P12
0.270ac	0.429a	0.340ei	0.272jm	0.170op	0.137px	40mM/3hr/P14
0.250ef	0.422a	0.31hi4	0.235mn	0.148os	0.124ry	40mM/3hr/P40
0.278a	0.412ab	0.374ce	0.308hk	0.172op	0.124ry	40mM/3hr/P42
0.254df	0.428a	0.315hi	0.257mn	0.147os	0.124ry	40mM/4hr/P11
0.266ad	0.415ab	0.378cd	0.246mn	0.150or	0.138ox	40mM/4hr/P13
0.226h	0.352cg	0.304il	0.238mn	0.138ox	0.096y	Marfona unmutant
0.230gh	0.385bc	0.308hk	0.240mn	0.118ry	0.100vy	Spunta unmutant
	0.419a	0.329b	0.254c	0.154d	0.116e	متوسط الملوحة
			التفاعل 0.031	التركيز الملحي 0.006	السلالة 0.014.	Lsd

يُعتبر حمض البرولين من أهم الأحماض الأمينية التي تتراكم في النباتات كمؤشر للإضطرابات الناتجة عن تعرضها للإجهادات غير الإحيائية، حيث يُعتبر تراكمه من المؤشرات البيوكيميائية الهامة التي تستخدم للدلالة على مدى تأثر النباتات بظروف الإجهاد الملحي (Martinez *et al.*, 1996). بينت نتائج الدراسة أن السلالتين (40 mM/3hr/P2, 40 mM/3hr/P42) حققتا أفضل القيم بالنسبة لمحتوى أوراقهما من حمض البرولين مقارنةً مع باقي السلالات المدروسة، وتوافقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي أجريت حول تأثير الإجهاد الملحي في نباتات البطاطا، حيث لوحظ وجود علاقة إيجابية بين محتوى الأوراق من حمض البرولين ومدى تحمل نوعي البطاطا *S. surtilobum* و *S. juzerpczuckii* للملوحة (potluri and Prasad, 1994). كما اتفقت نتائجنا مع دراسة أخرى حول تقييم وانتخاب عشرة أصناف من البطاطا (Atlantic و Bzura و CEW و CFL-69-1 و Desiree و Kennebec و K.Jyothi و Mariva و Pirola و

(Spunta) تحت ظروف الإجهاد الملحي، والتي خلصت إلى أن نباتات البطاطا تراكم حمض البرولين بشكل ايجابي تحت ظروف الإجهاد الملحي، حيث يمكن اعتّماده كمؤشر هام للتمييز بين أصناف البطاطا الحساسة والمتحمّلة للملوحة (Shaterian *et al.*, 2005)، وأيضاً اتفقت مع دراسة (Zhang *et al.*, 2005)، التي أظهرت زيادة محتوى حمض البرولين في صنفى البطاطا Zihuabai و Jingshi النامية تحت ظروف إجهاد ملحي مع زيادة تركيز كلوريد الصوديوم من (20، 60) ميلليمول. انسجمت معطيات دراستنا مع نتائج دراسة أجريت حول تأثير ثلاثة تراكيز ملحية من كلوريد الصوديوم (0، 60، 180) ميلليمول في نمو ستة أصناف من البطاطا Mozart و MonaLisa و Desiree و Russett Burbank و Mozart و Mondial، والتي أظهرت أن زيادة ملوحة التربة ترافق مع زيادة تراكم حمض البرولين في أنسجة أوراق وسيفان نباتات البطاطا (Jaarsma *et al.*, 2013)، وقد يعزى تراكم حمض البرولين في النباتات النامية في ظروف الإجهاد الملحي لزيادة تخليقه من الحمض الأميني الجلوتاميك (Glutamate) أو نقص أكسدته جزئياً بسبب انخفاض نشاط إنزيم proline dehydrogenase (Mohanty *et al.*, 1982). كما يلعب حمض البرولين دوراً مهماً كعامل منظم للضغط الاسموزي في خلايا النبات من خلال كنس الجذور الحرة المؤكسدة عن طريق زيادة إنتاج الإنزيمات المضادة للأكسدة (كالبيروكسيدز والكاتالاز... الخ)، ويساعد في التخلص من السمية بالأمنوميوم الناتجة عن طرق تثبيط إنتاج البروتينات، كما ينظم الضغط الاسموزي بين الفجوات العصارية والسيتوبلازم... الخ، لذا تعد زيادة محتواه ضمن أنسجة النباتات وسيلة دفاعية عند تعرضها للإجهاد الملحي مما ينعكس إيجاباً على نموها وزيادة مدى تحملها (David and Rayapati and Stewart, 1991; Amini and Ehsanpour, 2005; Claussen, 2004; Nilsen, 2000).

تأثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم في محتوى أوراق نباتات البطاطا من اليخضور الكلي:

تشير نتائج الدراسة إلى وجود علاقة ارتباط سلبية بين محتوى اليخضور الكلي (a+b) وزيادة تركيز كلوريد الصوديوم في وسط النمو، حيث لوحظ انخفاض محتوى اليخضور الكلي من (12.71) ميكروغرام/ملييلتر عند تركيز 0 ميلليمول إلى 6.03 ميكروغرام/ملييلتر عند التركيز الملحي 200 ميلليمول (الجدول 3). كما أظهرت النتائج أن السلالة 40mM/3hr/P2 قد أعطت أعلى القيم بالنسبة لمحتوى الأوراق من اليخضور الكلي (12.97) ميكروغرام/ملييلتر تلاها السلالات المنتخبة (30mM/4hr/P46, 40 mM/3hr/P14, 40mM/2hr/P31, 40mM/4hr/P13, 40mM/3hr/P42، إذ بلغت (12.14، 12.18، 12.11، 12.15، 12.13) ميكروغرام/ملييلتر على التوالي، وبدلالة إحصائية معنوية مقارنة مع الشاهد (الجدول 3)، وسجل أقل انخفاض في محتوى اليخضور الكلي لدى السلالات (40 mM/2hr/p31، 40mM/3hr/p2، 40mM/3hr/P40، 40mM/3hr/P12، 40mM/4hr/P11، 30mM/2hr/P35، 40mM/3hr/p42، 40mM/3hr/p14، 40 mM/4hr/p13، 30mM/4hr/P46) عند التركيز الملحي 50 ميلليمول تراوح بين (13.85-14.33) ميكروغرام/ملييلتر، وللسلالة (40mM/3hr/P2) عند التركيز الملحي 100 ميلليمول (13.68) ميكروغرام/ملييلتر مقارنة مع الشاهد، في حين سجل أعلى انخفاض في محتوى اليخضور الكلي لدى نباتات الشاهد عند التركيز الملحي 200 ميلليمول؛ إذ بلغ (3.98) ميكروغرام/ملييلتر مقارنة مع الشاهد (الجدول 3).

الجدول 3. تأثير تراكيز كلوريد الصوديوم في قيم صبغة اليخضور لسلاسل البطاطا المختبرة

متوسط السلاسل	200	150	100	50	0	السلاسل
8.71cd	7.10sz	7.46oy	8.37lv	10.08ip	10.51hm	SVP4
8.29de	6.16vz	7.01tz	8.08lw	9.96ip	10.22hn	SVP5
7.43e	4.29μz	5.83vz	8.10lw	8.95lu	9.88iq	20mM/2hr/P11
9.93b	7.14rz	8.01lw	11.26gl	11.45fl	11.78dk	20mM/2hr/P55
8.52de	5.52wz	8.14lw	8.47lv	9.92ip	10.54hm	20mM/4hr/P13
8.29de	5.52wz	7.43py	8.34lv	9.74is	10.41hm	20mM/4hr/P49
7.67de	4.67μz	5.52wz	7.92lx	9.88iq	10.35hm	20mM/4hr/P52
10.54b	4.54μz	8.18lw	11.42fl	14.21ae	14.33ad	30mM/2hr/P35
12.13a	8.53lv	10.19in	13.40bg	14.17ae	14.37ad	30mM/4hr/P46
12.15a	9.61it	9.67it	11.80dk	14.30ae	15.39ab	40mM/2hr/P31
12.97a	10.21in	12.04ci	13.68ag	14.33ad	14.47ac	40mM/3hr/P2
7.55de	4.54μz	6.85uμ	8.21lw	8.34lv	9.80is	40mM/3hr/P6
10.54b	4.54μz	8.18lw	11.42fl	14.18ae	14.37ad	40mM/3hr/P12
12.11a	9.03lu	9.83iq	11.65el	13.85ag	16.16a	40mM/3hr/P14
10.54b	4.54μz	8.18lw	11.42fl	14.18ae	14.37ad	40mM/3hr/P40
12.18a	9.83iq	9.16ju	12.92bh	14.27ae	14.73ac	40mM/3hr/P42
9.79bc	5.29xz	8.24lv	9.94ip	14.11ae	14.37ad	40mM/4hr/P11
12.14a	7.54nx	10.18in	13.42bg	14.21ae	15.37ab	40mM/4hr/P13
7.38e	3.98z	4.96yz	8.21lw	9.47iu	10.16io	Marfona شاهد/
7.47e	4.64	6.00vz	7.23qz	9.05ku	10.41hm	Spunta
	6.03e	7.93d	10.01c	11.88b	12.71a	متوسط ملوحة
			التفاعل	تركيز ملحي	سلالة	Lsd
			2.71	0.61	1.21	

اتفقت نتائجنا مع العديد من الدراسات التي أجريت على نبات البطاطا حيث بينت وجود علاقة سلبية بين زيادة ملوحة وسط النمو ومحتوى أنسجتها من صبغة اليخضور (Munira *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2014)، ويعزى ذلك لزيادة التركيز الأيوني السمي لكلوريد الصوديوم الذي يعمل على تحطيم البروتينات المسؤولة عن تكوين جزئية اليخضور وتنشيط فعالية إنزيم Chlorophyllase الذي يشترك في تثبيط تكوين جزئية اليخضور وبالتالي تشوه الصانعات الخضراء، وتظهر أعراض السمية الأيونية على شكل بقع صفراء اللون على أوراق النباتات، (Maas and Grattan, 1999; Grattan and Osten, 1993). كما إن الإجهاد الملحي يسبب انخفاضاً في العناصر اللازمة لبناء اليخضور كالماء والعناصر المعدنية لاسيما العناصر Mg, Fe, P والكربوهيدرات التي تسبب ببطء سرعة بناء الصانعات الخضراء واختزال عددها وحجمها (Levitt, 1980 ; Berkowitz, 1998)

الاستنتاجات:

1. تحت ظروف الري بمياه مالحة زاد تركيز حمض البرولين وتراجع محتوى اليخضور الكلي معنوياً مقارنةً بالري بمياه عذبة وذلك عند جميع السلاسل والأصناف المدروسة.

2. تباينت السلالات المدروسة في مدى استجابتها للإجهاد الملحي، مما يشير إلى وجود تباين وراثي يمكن استثماره لاحقاً في دراسة مدى تحمل السلالات للملوحة بعد دراسة العلاقة الارتباطية بين المؤشرات المدروسة والإنتاجية النهائية لهذه السلالات.

المقترحات:

1. حفظ وإكثار السلالات المدروسة، وتقييم صفاتها الكمية والنوعية حقلياً.
2. متابعة تقييم السلالات في الأجيال اللاحقة حقلياً بغية انتخاب المتحملة للملوحة منها واعتمادها كأباء في برامج التربية عندما يكون الهدف زراعتها في بيئات متأثرة بالملوحة.

المراجع:

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي (2018) مديرية الاقتصاد الزراعي، قسم الإحصاء، دمشق سورية

- Alam, S.M. (1994). Nutrients uptake by plants under stress conditions (In Handbook of Plant and Crop Stress). pp. 233-236, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Amini, F. and A.A. Ehsanpour (2005) Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na^+ / K^+ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under *in vitro* salt stress. Am. J. of Biochemistry and Biotechn. 1(4): 204-208.
- Ashraf, M.Y.; K. Akhtar; G. Sarwar and M. Ashraf (2005). Role of rooting system in salt tolerance potential of different guar accessions. Agronomy of Sustainable Development. 25: 243-249.
- Bates, L.S.; R.P. Waldren and I.D. Tear (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
- Berkowitz, G.A. (1998). Water and salt stress In: Photosynthesis. A comprehensive Treatise (Raghavendra, A.S., Ed) .Cambridge Univ. Press. 226-237.
- Claussen, W. (2004). Proline as a measure of stress in tomato plants .Plant science. 168: 241-248.
- David, M.O. and E.T. Nilsen, (2000). The physiology of plant under stress .John Wiley & Sons , Inc.
- Fernie, A. and L. Willmizer (2001). Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. Plant Physiol. 127: 1459-1461.
- Fidalgo, F.; A. Santos; I. Santos and R. Salema (2004). Effects of long-term salt stress on antioxidant defense systems, leaf water relations and chloroplast ultra structure of potato plants. Ann. Appl. Biol. 145: 185-192.
- Glenn, E.P.; J.J. Brown and E. Blumwald (1999). Salt tolerance and crop potential of halophytes. Crit. Rev. Plant Sci. 18: 227-255.
- Grattan, S.R. and J.D. Oster (1993). Water quality guidelines for vegetable and row crops. University of California. Drought tips number. 92-170.
- 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.

- Jaarsma, R.; R.S.M. Vries and A.H. Boer (2013). Effect of Salt Stress on growth, Na⁺ Accumulation and proline metabolism in potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *journal.plos one*. 8(3): 160-183.
- Katerji, N.; J.W. Van Hoorn; A. Hamdy and M. Mastrorilli (2003). Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index. *Agr. Water Manage.* 43: 99–109.
- Khan, M.A.; M.U. Shirazi; M.A. Khan; S.M. Mujtaba; E. Islam; S. Mumtaz; A. Shereen; R.U. Ansari and M.Y. Ashraf (2009). Role of proline, K⁺/Na⁺ ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan J. of Bot.* 41: 633-638.
- Khan, M.S.; D. Ahmad; M. Adnan and M.M. Khan (2014). The effect of somaclonal variation on salt tolerance and glycoalkaloid content of potato tubers. *Australian Journal Crop Science.* 8(12): 1597-1606 .
- Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. Water, Radiation, salt and other stresses. Academic press. Vol. 2. New York.
- Levy, D.; E. Fogelman and Y. Itzhak (1988). The effect of water salinity on potatoes (*Solanum tuberosum* L.): Physiological indices and yielding capacity. *Potato Research.*, 31(4): 601-610.
- Maas, E.V. and S.R. Grattan (1999). Crop yields as affected by salinity. *agron. Monograph.* 38 . ASA, CSSA, SSSA, Madison, W I.
- Martinez, C.A.; M. Maestri and E.G. Lani (1996). *In vitro* salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum spp*) differing in frost resistance. *Plant Sci.* 116: 177-184.
- Meloni, D.A.; M.A. Oliva; C.A. Martinez and J. Cambraia (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49: 69-76.
- Mohanty, L.C.; J.F. Tompson and C.M. Jonson (1982). Metabolism of Glutamic and N- acetylc Glutamic acid in leaf discs and cell-free extracts of higher plants. *Plant physiol.* 1023-1026.
- Munira, S.; M.M. Hossain; M. Zakaria; J.U. Ahmed and M.M. Islam (2015). Evaluation of Potato varieties against salinity stress in bangladesh. *International Journal of Plant and Soil Science.* 6(2): 73-81.
- Porra, R.J.; W.A. Thompson and P.E. Kriedelman (1989). Determination of accurate extraction and simultaneously equation for assaying chlorophyll a and b extracted with difference solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 975: 384-394.
- Potluri, D.P.S. and P.V.D. Prasad (1994). Salinity effects on *in vitro* performance of some cultivars of potato R. *Bras. Fisiol. Veg.* 6: 1-6.
- Rayapati, P.J. and C.R. Stewart (1991). Solubilization of protein dehydrogenase from maize (*Zea mays* L.) mitochondria. *Plant Physiology.* 95: 787-791.

- Roy, T.S.; R. Chakraborty; M.N. Parvez; M. Mostofa; J. Ferdous and S. Ahmed (2017). Yield, dry matter and specific gravity of exportable potato: response to salt. *Universal Journal of Agricultural Research*. 5(2): 98-103.
- Samy, M.M. (2015). Effect of irrigation with saline water on the growth and production of some potato cultivars. *Sci*. 5(4): 1151-1163.
- Shaterian, J.; F. Georges; A. Hussain; D. Waterer; H. De Jong and K.K Tanino. (2005). Root to shoot communication and abscisic acid in calreticulin (CR) gene expression and salt-stress tolerance in grafted diploid potato clones. *Environmental and Experimental Botany*. 53(3): 323-332.
- 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 Physiological Plantarum*. 27(4): 481-489.

Effect of Salt Stress (NaCl) on Proline and Chlorophyll Content of Potato (*solanum tuberosum* L.)

Wael Mtawj *⁽¹⁾, Mazen Rajab⁽¹⁾ and Hassan Khojah⁽²⁾

(1). Biotechnology Dept, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Lattakia, Syria.

(2). Horticulture Dept., Faculty of Agriculture, Tishreen, University, Lattakia, Syria.

(*Corresponding author: Rasha Taowz. E-Mail: kawtharb94@gmail.com).

Received: 15/10/2020

Accepted: 9/11/2020

Abstract

This study was conducted at Lattakia Research Center, General Commission for Scientific Agricultural Research GCSAR, during 2016/2017, In order to study the response of 18 lines of potato Marfona cv. mutagen and unmutagen that were cultured with Spunta Cv. Plants were disposed to salinity stress with different concentrations of NaCl solution (0,50, 100, 150, 200 mM). The results indicated that the existence of a negative correlation between increased concentrations of salts in the solution and leaves tolerance between clones to salinity stress. The results showed the lines 40mM/3hr/P14, 40mM/3hr/P2, 40mM/2hr/P31, 30mM/4hr/P46, 40mM/4hr/P13 and 40mM/3hr/42 were giving the best values for leaf content from proline ranged from 0.266 to 0.278 mg/g, and the highest values for leaf content from chlorophyll ranged between 12.11 to 12.97 µg/ml.

Key words: Salinity stress, Proline, Chlorophyll, Potato.