

تأثير الملوحة والتشجيع في إخلاف صنفين من البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) من الكالس خارج الجسم الحي

سعدون عبد الهادي العجيلي⁽¹⁾ وشذى عايد يوسف⁽²⁾ وزينب عبد الجبار حسين الحسيني^{(2)*}

- (1). كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة، الكوفة، العراق.
 (2). دائرة البحوث الزراعية، مركز التقانات الإحيائية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، بغداد، العراق.
 (*للمراسلة: د. زينب الحسيني. البريد الإلكتروني: zainab.goldy@yahoo.com).

تاريخ القبول: 2018/01/24

تاريخ الاستلام: 2017/12/07

الملخص

تُقدّم تجارب لدراسة تأثير التشجيع ومستويات ملحية مختلفة في إخلاف النباتات من كالس صنف البطاطا Burren و Riviera خارج الجسم الحي. أظهرت النتائج فعالية التشجيع في تحفيز إخلاف النباتات من كالس الصنف Riviera النامي في المستوى الملحي (10 dS.m^{-1}) وكالس الصنف Burren النامي في المستويين الملحيين ($8 \text{ and } 12 \text{ dS.m}^{-1}$)، ولغرض التأكد من توريث صفة التحمل للملوحة للسلاسل الخضرية المنتخبة درس سلوك السلاسل الطافرة المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (النامية في الأوساط الملحية $8, 10 \text{ and } 12 \text{ dS.m}^{-1}$) وغير المتحمل للملوحة (التي تم إخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامية في الوسط الملحي 6 dS.m^{-1}) فضلاً عن الصنفين Burren و Riviera عن طريق تعريض النباتات إلى ظروف الإجهاد الملحي، ومقارنتها مع تلك النامية في معاملة المقارنة (6 dS m^{-1}). أظهرت النتائج بأن أقل نسبة مئوية للانخفاض في ارتفاع النبات وعدد العقد على النبات وتكوين الدرنات كانت في السلاسل الطافرة والمستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة. لذلك يمكن اعتماد ارتفاع النبات وعدد العقد/نبات كمعيار انتخابي لصفة التحمل للملوحة خارج الجسم الحي.

الكلمات المفتاحية: البطاطا، التشجيع، الملوحة، الإخلاف، خارج الجسم الحي.

المقدمة:

تعدّ الملوحة من المشاكل الرئيسية التي تقلل من زراعة كثير من المحاصيل الزراعية، فضلاً عن أنها تمثل إحدى العقبات أمام زيادة الإنتاج الزراعي، بسبب تأثيراتها السلبية المباشرة وغير المباشرة. وتوجد خيارات لمعالجة مشكلة الملوحة، منها استصلاح الأراضي المتأثرة بالملوحة أو التعايش معها باستخدام تراكيب وراثية تتحمل الملوحة، عن طريق استحداث تغييرات بالتراكيب الوراثية المزروعة عن طريق المطفرات، أو الاعتماد على تقانة زراعة الأنسجة مع/أو عدم استخدام المطفرات، من خلال الاعتماد على الاختلافات الجسمية Somaclonal variations التي تحدث نتيجة زراعة الكالس الذي يتم تطويره إلى نباتات متغايرة وراثياً عن الأصل. تُعدّ هذه التقانة مصدراً للحصول على سلالات خضرية ذات صفات زراعية مرغوبة ومتحملة للإجهادات البيئية كالملوحة والجفاف (Bairu et al., 2006; Rai et al., 2011). إن اختبار تقييم سلوك النباتات الناتجة من الكالس المتحمل وغير المتحمل من خلال الانتخاب الأولي خارج الجسم الحي Pre-selected *in vitro* تُعدّ ضرورية للتأكد من الانتخاب لصفة التحمل للملوحة للسلاسل المستحدثة (النكريتي، 2002; Saleem et al., 2005). إن عملية إنتاج الدرنات الدقيقة (Microtubers) خارج الجسم تُعدّ ضرورية في تأمين الحصول على نباتات خالية من مسببات المرضية، مع ضمان الحصول على بذار البطاطا فائقة النقاوة خلال مدة زمنية قصيرة. نجح (Ochatt et al., 1999) في إخلاف (تكوين) نباتات من كالس البطاطا المتحمل للملوحة، حيث أظهرت هذه النباتات المستحدثة تحملها للملوحة عند زراعتها في الحقل وسقيها بمياه مالحة (90 ملي مول/ل كلوريد الصوديوم)، ووجد (Sajid 2010) أنّ تكوين النباتات من الكالس غير المعرض للتشد الملحي كان 50 و 55% في الصنفين Desiree و Cardinal على التوالي، ونقل قدرة الكالس على التكوين بزيادة التراكيز الملحية لتصبح 7 و 12% في الكالس الذي كان معرض إلى 60 ملي مول/ل كلوريد الصوديوم في الصنفين Cardinal و Desiree على التوالي. قِيم (Yaycili and Alikamanoglu, 2012) الطفرات الناتجة من تشجيع عقل ساقية لصنف البطاطا Marfona بعدة جرعات إشعاعية من أشعة غاما (5، 10، 15، 20، 30 و 50 غري) لتحمل الملوحة عن طريق زراعتها على أوساط تحوي مستويات مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم (50، 100 و 150 ملي مول/ل).

أظهرت نتائج هذه الدراسة بأنه لم يتم الحصول على أي نباتات متحملة للملوحة عند التشجيع بالجرعات 0، 5، 10 و 25 غري، في حين تم الحصول على طفرات متحملة للملوحة في الجرعات 15 و 20 و 30 غري. إن انتشار مشكلة الملوحة في أراضي واسعة من العراق، مع الحاجة الملحة لتراكيب وراثية متحملة للملوحة، فضلاً عن ندرة الدراسات والبحوث في مجال استحداث تغيرات وراثية لصفة تحمل الملوحة في البطاطا باستخدام تقانة زراعة الأنسجة. كان الهدف الأساسي من هذا البحث هو الحصول على سلالات خضريّة متحملة للملوحة، مع تقييم سلوكها للتأكيد على أنّ صفة التحمل للملوحة قد تمّ توريثها.

مواد البحث وطرقه:

نُفّدت هذه الدراسة في مخابر قسم الهندسة الوراثية العائد لمركز التقانة الحيوية وتكنولوجيا الغذاء، دائرة البحوث الزراعيّة في وزارة العلوم والتكنولوجيا عام 2013. نُقل الكالس المستحدث من زراعة السلاّميات (ما بين العقد، طول 1-1.5 سم) من أفرع العقل الساقية غير المشعّة للصفين Riviera و Burren والمشعّة بالجرعة المثلى 12 و 18 غري على التوالي، خارج الجسم الحي إلى وسط الإخلاف (وسط تكوين الأفرع من الكالس المستحدث) الذي يتكوّن من أملاح MS (Murashige and Skooge, 1962) مضافاً إليه الثيامين - HCl، البايرووكسين، المايونوسيتول، الكلايسين، حامض النيكوتين، البنزل أدنين، الجبرلين وحامض النفتالين اسيتك أسيد، والسكر بمقدار 0.1، 0.5، 100، 2، 0.5، 3، 0.5، 0.03 و 30000 مغ/ل على التوالي، المضاف إليه كلوريد الصوديوم، بحيث تصبح الناقلية الكهربائيّة 8، 10 و 12 ديسي سيمنز/م، فضلاً عن معاملة المقارنة (الوسط الغذائيّ ذو الناقلية الكهربائيّة 6 ديسي سيمنز/م)، بواقع 3 مكررات لكل معاملة وبمعدّل 6 قطع/مكرر. حُصّنت الزروعات في الحاضنة على درجة حرارة 25 ± 2 م° وإضاءة 16 ساعة/يوم، وحُسبت النسبة المئوية للإخلاف وعدد الأفرع الخضريّة المتكوّنة بعد 45 يوماً.

الانتخاب الأولي خارج الجسم الحي:

قيّم سلوك السلالات الطافرة للنباتات الناتجة من الكالس المتحمّل للملوحة (التي تمّ إخلافها من كالس الأفرع المشعّة النامي في الأوساط الملحية ذي الناقلية الكهربائيّة 8 و 10 و 12 ديسي سيمنز/م) وغير المتحمّل للملوحة (التي تمّ إخلافها من كالس الأفرع غير المشعّة والنامي في الوسط الملحي ذي الناقلية الكهربائيّة 6 ديسي سيمنز/م)، ونباتات الأصل المكافحة نسيجياً (غير المشعّة والنامية في الوسط الملحي ذي الناقلية الكهربائيّة 6 ديسي سيمنز/م) من خلال الانتخاب الأولي خارج الجسم الحي *Pre-selected in vitro* بزراعة العقل الساقية (بطول 1-2 سم والحماية على عقدة واحدة) في أنابيب اختبار تحوي 15 مل من الوسط الخاص بالإكثار الخضري، والذي يتكوّن من أملاح MS مضافاً إليه الثيامين، المايونوسيتول، الكلايسين، حامض النيكوتين، الاندول حامض الخليك، والسكر بمقدار 0.4، 100، 2، 1، 2 و 30000 مغ/ل على التوالي، ذات الناقلية الكهربائيّة 8، 10 و 12 ديسي سيمنز/م، بالإضافة إلى معاملة المقارنة (الوسط الغذائيّ ذو الناقلية الكهربائيّة 6 ديسي سيمنز/م). قيس ارتفاع النبات (سم) وعدد العقد/نبات بعد شهر من الزراعة (التكريري، 2002؛ Saleem et al., 2005)، كذلك اختبر تقييم سلوك النباتات الناتجة من الكالس المتحمّل وغير المتحمّل على مستوى تكوين الدرينات الدقيقة، حيث قُطعت النبيتات التي تمّ إخلافها من كالس الأفرع المشعّة وغير المشعّة، والمزروعة في مستويات ملحية مختلفة إلى عقل ساقية (1-2 سم، تحوي عقدة أو عقدين)، ثم زُرعت في أنابيب اختبار تحوي 15 مل من الوسط الغذائيّ الخاص بإنتاج الدرينات الدقيقة (الذي يتكوّن من أملاح MS مضافاً إليه الثيامين، المايونوسيتول، الكلايسين، حامض النيكوتين، الاندول حامض الخليك، الكاينتين، والسكر بمقدار 0.4، 100، 2، 1، 2، 4 و 80000 مغ/ل على التوالي) ذات الناقلية الكهربائيّة 8، 10 و 12 ديسي سيمنز/م بالإضافة إلى معاملة المقارنة (الوسط الغذائيّ ذو الناقلية الكهربائيّة 6 ديسي سيمنز/م). حُصّنت الزروعات تحت درجة حرارة 18 م° وظلام 16 ساعة/يوم لمدة ثلاثة أشهر. أُخذت البيانات عن النسبة المئوية لتكوين الدرينات الدقيقة، عدد الدرينات/عقطة ساقية، أوزانها (غ) وأقطارها (سم). حُسبت النسبة المئوية للانخفاض في النباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة لصفات النمو الخضري، واستحداث الدرينات حسب المعادلة التالية:

$$\text{(معدّل الصّفّة في المستوى الملحي 6 ديسي سيمنز/م - معدّل الصّفّة في المستوى الملحي المدروس)}$$

$$\text{معدّل الصّفّة في المستوى الملحي 6 ديسي سيمنز/م} \times 100$$

طبّقت تجارب عامليّة باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) لجميع المؤشرات المقاسة، ثم حُلّلت البيانات إحصائياً بموجب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنويّة 5% باستخدام البرنامج الإحصائي GenStat V. 12.

النتائج والمناقشة:

تأثير المستويات الملحية والتشجيع في النسبة المئوية لإخلاف النباتات من الكالس:

أظهرت النتائج في الجدول (1) أن للصنفان والتشجيع والمستويات الملحية والتداخل الثنائي بين الصنفين والتشجيع، وبين الصنفين والمستويات الملحية التأثير المعنوي في النسبة المئوية لإخلاف النباتات من الكالس، في حين أثر معنوياً التداخل الثنائي للمستويات الملحية والتشجيع والتداخل الثلاثي بين الصنفين والمستويات الملحية والتشجيع في النسبة المئوية لإخلاف النباتات. لوحظ بالنسبة للتداخل بين المستويات الملحية والتشجيع فشل في تكوين نموات خضرية (النباتات) بوجود التشجيع في حين كانت النسبة المئوية لإخلاف النباتات 5.56% بمعاملة من دون تشجيع للمستوى الملحي 6 دييسي سيمنز/م. لم يتم الحصول على أي نبات في المعاملة من دون تشجيع بالمستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 8 و 10 دييسي سيمنز/م. أثر التداخل الثلاثي معنوياً في نسبة الإخلاف (الجدول 1)، (الشكلين 1، 2). فشل كالس الصنف Burren في المعاملة بدون التشجيع في تكوين النموات في المستويات الملحية ذات الناقلية الكهربائية 8، 10 و 12 دييسي سيمنز/م، ونجح في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م (5.56%)، أما بالنسبة للصنف Riviera فلم يتم الحصول على أي نبات في المستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 8 و 10 دييسي سيمنز/م، في حين نجح بالمستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 6 و 12 دييسي سيمنز/م (5.56%). أما في معاملة التشجيع، فقد حفز التشجيع على إخلاف النباتات في كالس الصنف Riviera النامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 10 دييسي سيمنز/م (5.67%) وكالس الصنف Burren النامي في المستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 8 و 12 دييسي سيمنز/م (5.56%).

الجدول 1. تأثير المستويات الملحية والتشجيع في النسبة المئوية لإخلاف النباتات من كالس الصنفين Riviera و Burren بعد 45 يوم من التحضير

	المستويات الملحية دييسي سيمنز/م				الصنفين	التشجيع
	12	10	8	6		
بدون تشجيع	5.56 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	5.56 ^a	Riviera	
	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	5.56 ^a	Burren	
تشجيع	0.00 ^b	5.67 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	Riviera	
	5.56 ^a	0.00 ^b	5.56 ^a	0.00 ^b	Burren	
متوسط المستويات الملحية	2.78 ^a	1.42 ^a	1.39 ^a	2.78 ^a		
متوسط الصنفين	المستويات الملحية * الصنفين					
2.08 ^a	2.78 ^a	2.83 ^a	0.00 ^a	2.78 ^a	Riviera	
2.10 ^a	2.78 ^a	0.00 ^a	2.78 ^a	2.78 ^a	Burren	
	المستويات الملحية * التشجيع					
	2.78 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	5.56 ^a	بدون تشجيع	
	2.78 ^{ab}	2.83 ^{ab}	2.78 ^{ab}	0.00 ^b	تشجيع	
	الصنفين * التشجيع					
	متوسط التشجيع	الصنفين		التشجيع		
		Burren	Riviera			
	2.08 ^a	1.39 ^a	2.78 ^a	بدون تشجيع		
	2.10 ^a	2.78 ^a	1.42 ^a	تشجيع		

المعدلات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها الثنائية والثلاثية لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود وعلى مستوى احتمال 5%.



الشكل 1. تكوين النموات الخضرية من اليمين للييسار : كآلس الصنف Burren النامي في الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع غير المشععة، كآلس الصنف Riviera النامي في الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع غير المشععة، كآلس الصنف Riviera النامي في الوسط ذو الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع غير المشععة.



الشكل 2. تكوين النموات الخضرية من اليمين للييسار : كآلس الصنف Burren النامي في المستوى الملحي 8 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع المشععة بالجرعة الإشعاعية 12 غري، كآلس الصنف Burren النامي في المستوى الملحي 12 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع المشععة بالجرعة الإشعاعية 12 غري، كآلس الصنف Riviera النامي في المستوى الملحي 10 ديسي سيمنز/م والمستحدث من الأفرع المشععة بالجرعة الإشعاعية 18 غري.

تأثير المستويات الملحية والتشعيع في عدد النباتات من الكآلس:

يُشير الجدول (2) الى عدم اختلاف الصنفان للتشعيع والمستويات الملحية والتداخل الثنائي بين الصنفين والتشعيع والتداخل بين الصنفين والمستويات الملحية معنوياً في معدل عدد النباتات الناتجة من الكآلس، في حين أثر التداخل بين المستويات الملحية والتشعيع في تلك الصفة لوحظ تفوق معنوي لعدد النباتات /كآلس (0.17 نبات /كآلس) في معاملة من دون تشعيع وفي المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م تبعه عدد النباتات في المعاملة ذو الناقلية الكهربائية 10 ديسي سيمنز/م وبوجود التشعيع (0.08 نبات/كآلس)، أما في المعاملات ذات الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م وبدون تشعيع والمستويات الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 8 و12 ديسي سيمنز/م بوجود التشعيع فكان عدد النباتات/كآلس 0.03 نبات. وفيما يخص التداخل الثلاثي يُلاحظ في الصنف Riviera وفي معاملة من دون تشعيع إن الملوحة أثرت على عدد النباتات/كآلس، إذ كان 0.22 و 0.06 في المستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 6 و 12 ديسي سيمنز/م على التوالي في معاملة بدون تشعيع، أما في الصنف Burren وفي معاملي التشعيع وبدون تشعيع فلم يكن للملوحة التأثير المعنوي لعدد النباتات.

الجدول 2. تأثير المستويات الملحية والتشيع في عدد النباتات (نبات/كأس) الناتجة من كأس الصنفين Burren و Riviera بعد 45 يوم من التحضين.

	المستويات الملحية دي سي سيمنز/م				الصنفين	التشيع
	12	10	8	6		
بدون تشيع	0.06 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	0.22 ^a	Riviera	بدون تشيع
	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.11 ^{ab}	Burren	
تشيع	0.00 ^b	0.17 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	Riviera	تشيع
	0.06 ^b	0.00 ^b	0.06 ^{ab}	0.00 ^b	Burren	
متوسط المستويات الملحية						
متوسط الصنفين	المستويات الملحية * الصنفين					
0.06 ^a	0.03 ^a	0.08 ^a	0.00 ^a	0.11 ^a	Riviera	
0.03 ^a	0.03 ^a	0.00 ^a	0.03 ^a	0.06 ^a	Burren	
المستويات الملحية * التشيع						
	0.03 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	0.17 ^a		بدون تشيع
	0.03 ^{ab}	0.08 ^{ab}	0.03 ^{ab}	0.00 ^b		تشيع
الصنفين * التشيع						
	متوسط التشيع	الصنفين		التشيع		
		Burren	Riviera			
	0.05 ^a	0.03 ^a	0.07 ^a		بدون تشيع	
	0.04 ^a	0.03 ^a	0.04 ^a		تشيع	

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها الثنائية والثلاثية لا تختلف عن بعضها معنوياً حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

يتضح من النتائج فشل الحصول على أي نبات من الكأس المزروع في المستويات الملحية المختلفة لكلوريد الصوديوم (باستثناء المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 12 دي سي سيمنز/م المزروع فيه كأس الصنف Riviera وربما يُفسر ذلك بأن زيادة تركيز أيوني الصوديوم وكلوريد في الكأس المزروع في الوسط الملحي قد أحدثت انخفاضاً في قابلية وكفاءة الخلايا على امتصاص العناصر الغذائية التي تحتاجها للنمو والتطور والتي قد تكون سبباً في انخفاض قابليتها على التمايز، أو ربما يعود إلى علاقة الإخلاف بالتوازن بين هرمونات النبات المختلفة (Yoshida *et al.*, 1983) وتحديد الهرمونات الداخلية. جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج العديد من الباحثين (Bekheet *et al.*, 2006؛ الشمري، 2007؛ Azami *et al.*, 2010)، من جانب آخر أظهر الإشعاع تأثيره المتفاوت في تثبيط تكوين النباتات من الكأس النامي في المستوى الملحي 6 دي سي سيمنز/م في حين حفز على تكوين النباتات في الكأس النامي في مستويات ملحية أخرى، وقد يعود ذلك على أساس التغيرات التي يحدثها الإشعاع على المستوى الخلوي أو الجزيئي كالتغيرات الكروموسومية وكسر الإرتباط (Al-Hatab *et al.*, 1992؛ Zapata and Aldemita, 1989) أو من خلال تأثيره في فعالية ونشاط الخلايا.

تأثير المستوى الملحي في الصفات المظهرية لنباتات الصنف Burren:

المستويان الملحيان 6 و 8 دي سي سيمنز/م:

تُشير نتائج الجدول (3) على أن نباتات الأصل اختلفت معنوياً عن النباتات المستحدثة من الكأس المتحمل وغير المتحمل للملح في معدل ارتفاع النبات وعدد العقد معطية أعلى معدل بلغ 7.26 سم و 7.53 عقدة/نبات على التوالي، في حين لم تختلف النباتات المستحدثة من الكأس المتحمل وغير المتحمل للملح فيما بينهما معنوياً في معدل ارتفاع النبات، في حين تفوق معنوياً الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 دي سي سيمنز/م بإعطاء أعلى معدل لتلك الصفتين.

أثر التداخل بين النباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة ونباتات الأصل والمستويين الملحيين معنوياً في الصفات المظهرية، ففي نباتات الأصل أدت الملوحة إلى انخفاض معنوي في ارتفاع النبات، وعدد العقد، في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 8 ديسي سيمنز/م، أما في النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة فقد أدت زيادة المستوى الملحي إلى انخفاض معنوي في صفة ارتفاع النبات فقط. في حين لم تختلف النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل معنوياً في المستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 6 و 8 ديسي سيمنز/م في هاتين الصفتين، وعند دراسة النسبة المئوية للانخفاض بسبب الملوحة فقد كانت عالية في نباتات الأصل (61.71 و 68.24 % لصفتي ارتفاع النبات وعدد العقد على التوالي)، ومنخفضة في النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة.

الجدول 3. تأثير المستويين الملحيين 6 و 8 ديسي سيمنز/م في ارتفاع وعدد العقد لنباتات الصنف Burren المستحدثة من الكالس بعد 30 يوم من التحضين.

% لانخفاض	المتوسط	المستويين الملحيين (ديسي سيمنز/م)		النباتات
		8	6	
ارتفاع النبات (سم)				
61.71	7.26 ^a	4.02 ^d	10.50 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
20.91	4.54 ^b	4.01 ^d	5.07 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
3.20	4.62 ^b	4.54 ^c	4.69 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى ذو الناقلية الكهربائية 8 ديسي سيمنز/م)
		4.20 ^b	6.76 ^a	المتوسط
عدد العقد/نبات				
68.24	7.53 ^a	3.63 ^d	11.43 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
4.13	5.22 ^c	5.11 ^c	5.33 ^c	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
3.54	6.11 ^b	6.00 ^b	6.22 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى ذو الناقلية الكهربائية 8 ديسي سيمنز/م)
		4.91 ^a	7.66 ^a	المتوسط

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

المستويان الملحيان 6 و 12 ديسي سيمنز/م:

تبيّن نتائج الجدول (4) تفوق نباتات الأصل في ارتفاع النبات (6.25 سم) وعدد العقد (7.05 عقدة/نبات) تبعثها النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة، ثم النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة. أدت زيادة الملوحة إلى انخفاض معنوي لكلا الصفتين. أثر التداخل بين النباتات والمستويين الملحيين معنوياً في الصفات المظهرية، إذ أدت الملوحة ذات الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م إلى انخفاض معنوي في ارتفاع النبات، وعدد العقد لجميع نباتات الصنف قيد الدراسة. لوحظ أنّ النسبة المئوية للانخفاض بسبب الملوحة هي الأقل في النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (25.73 و 13.34% في ارتفاع النبات وعدد العقد على التوالي).

الجدول 4. تأثير المستويين الملحيين 6 و 12 ديسي سيمنز/م في ارتفاع وعدد عقد النباتات المستحدثة من الكالس بعد 30 يوم من التحضين للصف Burren

% لانخفاض	المتوسط	المستويين الملحيين (ديسي سيمنز/م)		النباتات
		12	6	
ارتفاع النبات (سم)				
80.95	6.25 ^a	2.00 ^c	10.50 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
82.24	2.99 ^c	0.90 ^f	5.07 ^c	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
25.73	5.11 ^b	4.33 ^d	5.89 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 ديسي سيمنز/م)
		2.41 ^b	7.15 ^a	المتوسط
عدد العقد/نبات				
76.55	7.05 ^a	2.68 ^d	11.43 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
45.78	4.11 ^c	2.89 ^d	5.33 ^c	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
13.34	6.22 ^b	5.78 ^c	6.67 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 ديسي سيمنز/م)
		3.78 ^b	7.81 ^a	المتوسط
المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.				

تأثير المستوى الملحي في الصفات المظهرية لنباتات الصنف Riviera:

المستويان الملحيان 6 و 10 ديسي سيمنز/م:

بيّنت نتائج الجدول (5) تفوقاً معنوياً في ارتفاع النبات في نباتات الأصل (10.98 سم) مقارنةً بالنباتات المستحدثة من الكالس المتحمل وغير المتحمل للملوحة، أما عدد العقد فقد انخفضت معنوياً في النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (4.57 عقدة/نبات) مقارنةً بعدد عقد نباتات الأصل Riviera (8.56 عقدة/نبات)، والنباتات التي تم إخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي بالمستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 10 ديسي سيمنز/م (8.31 عقدة/نبات) واللذان لم يختلفا معنوياً فيما بينهما في تلك الصفة (8.50 و 8.31 عقدة/نبات). تفوق معنوياً الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م في معدل الصفتين مقارنةً بالمستوى ذو الناقلية الكهربائية 10 ديسي سيمنز/م. أما التداخل فقد كان معنوياً في ارتفاع النبات وعدد العقد، إذ كان هناك انخفاضاً معنوياً لهاتين الصفتين بزيادة الملوحة في نباتات الأصل والنباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة، في حين لم تؤدي زيادة الملوحة إلى تأثير معنوي في هاتين الصفتين في النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة، يبدو من الجدول انخفاضاً عالياً في تلك النسبة لنباتات الأصل والنباتات غير المتحملة للملوحة بالمقارنة مع النباتات المتحملة للملوحة.

الجدول 5. تأثير المستويين الملحيين 6 و 10 ديسي سيمنز/م في ارتفاع وعدد العقد للنباتات المستحدثة من الكأس بعد 30 يوم من التحضين لـصنف Riviera

% لانخفاض	المتوسط	المستويين الملحيين (ديسي سيمنز/م)		النباتات
		12	6	
ارتفاع النبات (سم)				
43.37	10.98 ^a	7.94 ^b	14.02 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
59.94	2.68 ^c	1.53 ^c	3.82 ^d	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
11.62	6.16 ^b	5.78 ^c	6.54 ^c	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشعة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		5.08 ^b	8.13 ^a	المتوسط
عدد العقد/نبات				
57.42	8.56 ^a	5.11 ^c	12.00 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
27.74	4.57 ^b	3.83 ^d	5.30 ^c	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
.30	8.31	8.00 ^b	^b 8.63	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشعة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		5.65 ^b	^a 8.64	المتوسط

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

المستويان الملحيان 6 و 12 ديسي سيمنز/م:

تبيّن نتائج الجدول (6) تفاوتاً في استجابة نباتات الأصل (المكثرة نسيجياً) والنباتات التي تمّ إخلافها من كأس الأفرع غير المشعة والنامي بالمستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م (المتحملة للملوحة)، والنباتات المستحدثة من الكأس التي تمّ إخلافها من كأس الأفرع غير المشعة والمزروع في الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م (غير المتحملة للملوحة) للـصنف Riviera في الصفتين المظهريتين المدروستين عند الزراعة في المستويين الملحيين ذي الناقلية الكهربائية 6 و 12 ديسي سيمنز/م. تفوّقت معنوياً نباتات الأصل في ارتفاع النبات وعدد العقد مقارنةً بالنباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة. أمّا بالنسبة لمستوى الملوحة فقد تفوّق معنوياً الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م في ارتفاع النبات وعدد العقد. أثر التداخل معنوياً في ارتفاع النبات وعدد العقد، إذ أدت زيادة الملوحة ذات الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م إلى انخفاض معنوي في جميع النباتات في ارتفاع النبات، إذ كان في نباتات الأصل 14.02 و 5.10 سم والنباتات المستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة 3.82 و 0.93 سم، وفي النباتات المستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة 5.41 و 4.19 سم في المستويين 6 و 12 ديسي سيمنز/م على التوالي. أمّا بالنسبة لعدد العقد، فإنّ زيادة الملوحة أثّرت معنوياً في نباتات الأصل والنباتات المستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة. وعند حساب النسبة المئوية لانخفاض في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 12 ديسي سيمنز/م بالمقارنة مع المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م كانت في ارتفاع النبات 63.62، 75.65 و 22.55%، وفي عدد العقد/نبات 74.00، 41.32 و 3.24% في نباتات الأصل والنباتات غير المتحملة للملوحة على التوالي.

يتضح جلياً من النتائج التباين في الاستجابة للنمو لكل من نباتات الأصل المكافحة نسيجياً والنباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة لكلا الصنفان Burren و Riviera، وقد يُعزى هذا التباين إلى حدوث تغيرات وراثية سواءً عن طريق التشيع أو نتيجة حدوث التغيرات النسيجية الجسمية (Ahloowalia, 1997؛ Lutts et al., 1998). إن التأثير العكسي للملوحة في نمو النباتات مقارنةً بتلك النامية في الوسط ذو الناقلية الكهربائية (6 ديسي سيمنز/م) وتتوافق هذه النتائج مع العامري، (2007)؛ البشارة وآخرون، (2013)؛ الحمداني ومحمد، (2014) و Zaman et al., (2015) الذين أوضحوا علاقة الارتباط العكسي بين ازدياد مستويات الأملاح وارتفاع النبات، حيث تفاوتت النسبة المئوية للانخفاض في الأصناف المختبرة، وكان التأثير كبيراً في نباتات الأصل والنباتات غير المتحملة للملوحة، في حين كان تأثير النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة منخفضاً بزيادة الملوحة، وبذلك فإن هذه التجربة أعطت تصوراً ميدانياً وأولياً عن إمكانية الانتخاب لصفة تحمل الملوحة تحت الظروف المخبرية، وبالتالي يمكن اعتبارها مادة وراثية جاهزة للاختبارات الحقلية المستقبلية، ومن جانب آخر يتضح في أنه يمكن اعتماد ارتفاع النبات وعدد العقد/نبات كمعيار لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي.

الجدول 6. تأثير المستويين الملحيين 6 و 12 ديسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للنباتات المستحدثة من الكالس بعد 30 يوم من التحضين للصف Riviera

النباتات	المستويين الملحيين (ديسي سيمنز/م)		المتوسط	% للانخفاض
	12	6		
ارتفاع النبات (سم)				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع و النامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)	5.10 ^b	14.02 ^a	9.56 ^a	63.62
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)	0.93 ^d	3.82 ^c	2.37 ^c	75.65
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى 12 ديسي سيمنز/م)	4.19 ^c	5.41 ^b	4.81 ^b	22.55
المتوسط	3.41 ^b	7.75 ^a		
عدد العقد/نبات				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع و النامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)	3.12 ^d	12.00 ^a	7.56 ^a	74.00
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)	3.11 ^d	5.30 ^c	4.21 ^c	41.32
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشعة والنامي في المستوى 12 ديسي سيمنز/م)	6.56 ^b	6.78 ^b	6.67 ^b	3.24
المتوسط	4.26 ^b	8.03 ^a		

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

تأثير المستوى الملحي في الصفات المظهرية للدرينات الدقيقة المتكونة في نباتات الصنف Burren: المستويان الملحيان 6 و 8 ديسي سيمنز/م:

تبيّن نتائج الجدول (7) أن النباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة ونباتات الأصل لم تختلف معنوياً فيما بينها في صفة عدد الدرينات، في حين تفوّقت النباتات المتحملة للملوحة في النسبة المئوية لتكوين الدرينات (89%) ووزن الدرينة (0.38 غ)، أما قطر الدرينة فقد كان 0.63، 0.35 و 0.44 سم لنباتات الأصل والنباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة والنباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة على التوالي. كما سببت الملوحة انخفاضاً معنوياً لجميع الصفات المقاسة، وعند دراسة التداخل بين النباتات والملوحة يُلاحظ من النتائج أن زيادة الملوحة أدت إلى انخفاض معنوياً في جميع الصفات بالنسبة لنباتات الأصل، أما في النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة فإن الملوحة أثرت معنوياً فقط في صفة عدد الدرينات، في حين لم تؤثر الملوحة معنوياً في جميع الصفات للنباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة فقد كانت النسبة المئوية لتكوين الدرينات 89 و 89% وعدد الدرينات 0.89 و 1 درينة/عقلة/ساقية وقطر الدرينة 0.45 و 0.42 سم، ووزن الدرينة 0.39 و 0.37 غ في المستويين ذي الناقلية الكهربائية 6 و 8 ديسي سيمنز/م على التوالي.

ويُلاحظ من النتائج أنّ النسبة المئوية للانخفاض بسبب الملوحة لجميع الصفات باستثناء عدد الدرينات كانت الأعلى في نباتات الأصل، تبعها النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة، ومن الجدير بالملاحظة في النباتات المتحملة للملوحة أنّ النسبة المئوية للانخفاض في تكوين الدرينات كانت 0%، في حين كانت النسبة المئوية للانخفاض في صفة عدد الدرينات -12.36% أي حدوث زيادة في هذه الصفة بسبب الملوحة.

الجدول 7. تأثير المستويين الملحيين 6 و8 ديسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للدرينات الدقيقة المتكونة من نباتات الصنف **Burren** بعد 90 يوم من التحضين

النسبة المئوية لانخفاض	المتوسط	المستويين الملحيين (ديسي سيمنز/م)		النباتات
		12	6	
النسبة المئوية لتكوين الدرينات				
44.40	74.40	55.70 ^d	93.30 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
9.74	70.30	67.00 ^{cd}	74.00 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
0	89.00	89.00 ^b	89.00 ^{ab}	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 8 ديسي سيمنز/م)
		70.40 ^b	85.40 ^a	المتوسط
عدد الدرينات/عقلة ساقية				
27.05	1.06 ^a	0.89 ^{bc}	1.22 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
36.19	0.86 ^a	0.67 ^c	1.05 ^{ab}	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
-12.36	0.94 ^a	1.00 ^{ab}	0.89 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 8 ديسي سيمنز/م)
		0.85 ^b	1.06 ^a	المتوسط
قطر الدرينة (سم)				
42.50	0.63 ^a	0.46 ^{bc}	0.80 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
13.51	0.35 ^c	0.32 ^{cd}	0.37 ^d	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
6.67	0.44 ^b	0.42 ^{cd}	0.45 ^c	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 8 ديسي سيمنز/م)
		0.40 ^b	0.54 ^a	المتوسط
وزن الدرينة (غ)				
48.94	0.36 ^a	0.24 ^c	0.47 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
28.13	0.28 ^b	0.23 ^c	0.32 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
5.13	0.38 ^a	0.37 ^b	0.39 ^{ab}	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 8 ديسي سيمنز/م)
		0.28 ^b	0.39 ^a	المتوسط

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

المستويان الملحيان 6 و 12 دييسي سيمنز/م:

تظهر النتائج (الجدول 8) عدم وجود اختلاف معنوي بين النباتات المتحملة وغير المتحملة للملوحة في عدد ووزن الدريبات، في حين تفوقت نباتات الأصل في قطر الدرينة (0.56 سم) مقارنةً بالنباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (0.26 سم) والنباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (0.3 سم) والتي لم تختلف معنوياً فيما بينهما. سببت الملوحة انخفاضاً معنوياً في جميع الصفات المقاسة، وعند دراسة التداخل بين النباتات والملوحة لوحظ أن زيادة الملوحة سببت انخفاضاً معنوياً في جميع التراكيب الوراثية باستثناء عدد الدريبات في النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة في المستويين 6 و 12 دييسي سيمنز/م على التوالي، أما النسبة المئوية للانخفاض في النباتات المتحملة للملوحة فقد كانت أقل بالمقارنة مع النسبة المئوية للانخفاض في النباتات غير المتحملة للملوحة ونباتات الأصل المكاثرة بالأنسجة في جميع الصفات باستثناء قطر الدريبات.

الجدول 8. تأثير المستويين الملحيان 6 و 12 دييسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للدريبات الدقيقة المتكونة من نباتات الصنف Burren بعد 90 يوم من التحضين

النبتات	المستويين الملحيان (دييسي سيمنز/م)		المتوسط	% لانخفاض
	12	6		
% لتكوين الدريبات				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	93.30 ^a	38.70 ^c	66.00 ^a	58.52
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	74.00 ^b	33.00	53.50 ^a	55.40
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)	67.00 ^b	44.30 ^c	55.70 ^a	33.88
المتوسط	78.10 ^a	38.70 ^b		
عدد الدريبات/عقلة ساقية				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	1.22 ^a	0.30 ^c	0.76 ^a	75.41
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	1.05 ^a	0.33 ^c	0.69 ^c	68.57
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)	0.67 ^{bc}	0.44 ^c	0.56 ^c	34.33
المتوسط	0.98 ^a	0.36 ^b		
قطر الدرينة (سم)				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	0.80 ^a	0.31 ^c	0.56 ^a	61.25
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	0.37 ^{bc}	0.15 ^d	0.26 ^b	59.46
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)	0.44 ^b	0.15 ^d	0.30 ^b	65.91
المتوسط	0.54 ^a	0.20 ^b		
وزن الدرينة (غ)				
نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	0.47 ^a	0.11 ^c	0.29 ^a	76.60
نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 دييسي سيمنز/م)	0.32 ^b	0.12 ^c	0.22 ^b	62.5
نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافاها من كالس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)	0.28 ^b	0.16 ^c	0.22 ^b	42.86
المتوسط	0.36 ^a	0.13 ^b		

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

تأثير المستوى الملحي في الصفات المظهرية للدرينات الدقيقة المتكونة في نباتات الصنف Riviera:
المستويان الملحيان 6 و 10 ديسي سيمنز/م:

تُظهر النتائج (الجدول 9) تفوقاً معنوياً لنباتات الأصل بالمقارنة مع النباتات المتحملة للملوحة وغير المتحملة للملوحة في جميع الصفات المقاسة باستثناء وزن الدرينات المتكونة إذ سببت الملوحة انخفاضاً معنوياً في جميع الصفات المقاسة، وعند دراسة التداخل بين الملوحة والتراكيب الوراثية المختبرة فإنه يُلاحظ من النتائج أن الملوحة سببت انخفاضاً معنوياً في جميع الصفات بالنسبة للنباتات الأصل والنباتات المستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة، أما في النباتات المستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة فإنها أثرت معنوياً فقط في عدد ووزن الدرينات. ويبدو من الجدول الانخفاض العالي في تلك النسب لنباتات الأصل والنباتات غير المتحملة للملوحة مقارنة بالنباتات المتحملة للملوحة.

الجدول 9. تأثير المستويين الملحيان 6 و 10 ديسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للدرينات الدقيقة المتكونة من نباتات الصنف Riviera بعد 90 يوم من التحضين

%	المتوسط للاتخفاض	المستويين الملحيان (ديسي سيمنز/م)		النباتات
		10	6	
% لتكوين الدرينات				
44.30	77.80 ^a	55.70 ^b	100.00 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
76.84	58.50 ^b	22.00 ^c	95.00 ^a	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
20.18	50.15 ^b	44.70 ^b	56.00 ^b	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		40.70 ^b	83.70 ^a	المتوسط
عدد الدرينات/عقلة ساقية				
66.47	1.11 ^a	0.56 ^{bc}	1.67 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
85.33	0.86 ^b	0.22 ^d	1.5 ^a	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
26.79	0.48 ^c	0.41 ^{cd}	0.56 ^b	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		0.40 ^b	1.24 ^a	المتوسط
قطر الدرينة (سم)				
39.13	0.56 ^a	0.42 ^b	0.69 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
79.66	0.35 ^b	0.12 ^d	0.59 ^a	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
32.26	0.26 ^b	0.21 ^{cd}	0.31 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		0.25 ^b	0.53 ^a	المتوسط
وزن الدرينة (غ)				
48.78	0.31 ^a	0.21 ^{cd}	0.41 ^b	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
82.69	0.31 ^a	0.09 ^c	0.52 ^a	نباتات مستحدثة من الكأس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م)
34.62	0.22 ^b	0.17 ^d	0.26 ^c	نباتات مستحدثة من الكأس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كأس الأفرع المشععة والنامي في المستوى 10 ديسي سيمنز/م)
		0.16 ^b	0.40 ^a	المتوسط

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

المستويين الملحيين ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 و12 دييسي سيمنز/م:

يُلاحظ من النتائج (الجدول 10) عدم وجود اختلافات معنويّة بين النباتات غير المتحمّلة والمتحمّلة للملوحة ونباتات الأصل للصف 6 و12 دييسي سيمنز/م. أما عدد وقطر الدريّنات فلم تختلف معنويّاً نباتات الأصل بالمقارنة مع النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة، سببت الملوحة انخفاضاً معنويّاً في جميع الصفات المقاسة. كان التداخل بين الملوحة والنباتات معنويّاً، إذ سببت الملوحة انخفاضاً معنويّاً في جميع الصفات في النباتات الأصل وفي النباتات المستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة، في حين لم يكن هناك أي تأثير معنوي للملوحة في النباتات المستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة في جميع الصفات المقاسة، وأنعكس هذا السلوك في كون النسبة المئوية للانخفاض في النباتات المتحملة للملوحة كانت أقل بالمقارنة مع نباتات الأصل والنباتات غير المتحملة للملوحة وفي جميع الصفات المقاسة.

الجدول 10. تأثير المستويين الملحيين 6 و12 دييسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للدريّنات الدقيقة المتكونة من نباتات الصف 6 و12 دييسي سيمنز/م في الصفات المظهرية للدريّنات الدقيقة المتكونة من نباتات الصف 6 و12 دييسي سيمنز/م بعد 90 يوم من التحضين

المستويين الملحيين (دييسي سيمنز/م)	المتوسط	النباتات		% لانخفاض
		12	6	
% لتكوين الدريّنات				
55.60	72.20 ^a	44.30 ^b	100.00 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
76.63	58.60 ^a	22.00 ^b	95.00 ^a	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
20.14	50.00 ^a	44.30 ^b	55.30 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)
		37.00 ^b	83.40 ^a	المتوسط
عدد الدريّنات/عقلة ساقية				
73.65	1.06 ^a	0.44 ^b	1.67 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
85.33	0.86 ^a	0.22 ^b	1.5 ^a	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
21.43	0.50 ^b	0.44 ^b	0.56 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)
		0.37 ^b	1.24 ^a	المتوسط
قطر الدريّة (سم)				
79.71	0.42 ^a	0.14 ^{bc}	0.69 ^a	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
83.05	0.35 ^{ab}	0.10 ^c	0.59 ^a	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
29.03	0.27 ^b	0.22 ^{bc}	0.31 ^b	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)
		0.16 ^b	0.53 ^a	المتوسط
وزن الدريّة (غ)				
87.80	0.23 ^a	0.05 ^d	0.41 ^{ab}	نباتات الأصل المكثرة نسيجياً (غير مشعع والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
86.54	0.30 ^a	0.07 ^d	0.52 ^a	نباتات مستحدثة من الكالس غير المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى الملحي ذو الناقليّة الكهربائيّة 6 دييسي سيمنز/م)
29.63	0.23 ^a	0.19 ^{cd}	0.27 ^{bc}	نباتات مستحدثة من الكالس المتحمل للملوحة (التي تم اخلافها من كالس الأفرع غير المشععة والنامي في المستوى 12 دييسي سيمنز/م)
		0.10 ^b	0.40 ^a	المتوسط

المتوسطات التي تحمل حروفاً متشابهة للعوامل الرئيسية وتداخلاتها ضمن الصفة الواحدة لا تختلف عن بعضها معنوياً وحسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 5%.

يتضح من النتائج تأثير النباتات غير المتحملة للملوحة ونباتات الأصل المكثرة نسيجياً عند نموها في المستويات الملحية ذات الناقلية الكهربائية 8، 10 و 12 ديسي سيمنز/م في كل الصفات المقاسة وقد يعزى السبب إلى عدم قدرة النباتات النامية تحت الاجهاد على إصلاح الإضرار الحاصلة في الخلايا بفعل تكوين الجذور الحرة Free radicals والمسببة هدم للبروتينات أو قد يعود ذلك إلى أنّ الإجهادات المختلفة تسبب تحدث اختلاف في التعبير الجيني (Motallebi-Azar et al., 2013). كذلك أظهرت النتائج الاستجابة الجيدة للنباتات المتحملة للملوحة للصنفين Riviera و Burren عند زراعتها في الوسط ذو الناقلية الكهربائية 6 ديسي سيمنز/م والأوساط الملحية وقد يعود هذا إلى دور التطهير سواء عن طريق الجرع الإشعاعية أو وجود الاختلافات النسيلية الجسمية في أحداث تغيرات وراثية لها صفة التحمل للشدود البيئية (Li et al., 2005; Yaycili and Alikamanoglu, 2012).

المراجع:

- البشارة، سوسن وسهيل حداد وسلام لاوند (2013). دراسة مدى تحمل بعض أصناف البطاطا *Solanum tuberosum* المزروعة محلياً للإجهاد الملحي. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية. 29(3):165-181.
- التكريتي، شذى وعابد يوسف (2002). تقويم وإخلاف نباتات الرز المتحملة للملوحة باستخدام تقانات مختلفة. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.
- الحمداني، صبيح عبد الوهاب وسلمان محمد (2014). تأثير ملوحة مياه الري والرش بالأحماض الامينية (البرولين والارجنين) في نمو وحاصل البطاطا *Solanum tuberosum* L. مجلة ديالى للعلوم الزراعية. 6 (2): 154-163.
- الشمري، إبراهيم عبد الله (2007). تحفيز وتقويم التغيرات الوراثية لتحمل الجفاف في بعض أصناف الحنطة *Triticum aestivum* L. خارج الجسم الحي *in vitro*. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.
- العامري، لمياء وخليفة جواد (2007). تأثير الإجهادات المختلفة في نمو وانتاج الدرنات الدقيقة Microtubers للبطاطا *Solanum tuberosum* L. خارج الجسم الحي. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.
- Ahloowalia, B. S. (1997). In vitro selection of mutants. In: Somaclonal variation and mutagenesis in plant improvement and in vitro selection of mutants. 15th IAEA/FAO Interregional Training Course on Advances in Technologies for Induced Mutation in Crops. Siebersdorf, Vienna, Austria. 1-6.
- Al-Hatab, Z.; W. Quadhy; and D. Al-Ani (1992). Chromosomal changes of irradiated hexaploid wheC at calli. Pp.465- 469. First Arab Conference on The Peaceful Uses of Atomic Energy, 23-rd Feb 1992, Tripoli, Libya.
- Azami, M.A.; M. Torabi; and F. Shekari (2010). Response of some tomato cultivars to sodium chloride stress under *in vitro* culture condition. Afr j Agric Res., 5(18):2589- 2592.
- Bairu, M.W.; C.W. Fennell; and J. Van Staden (2006). The effect of plant growth regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* spp AAA group cv. 'Zelig'). Sci Hort., 108:347-351.
- Bekheet, S.A.; H.S. Taha; and M.E. Solliman (2006). Salt tolerance in tissue culture of onion (*Allium cepa* L.). Arab j Biotech., 9(3):467- 476.
- Li, H.; W. Zhou; Z. Zhang; H. Gu; Y. Takeuchi; and K.Yoneyama (2005). Effect of γ - radiation on development, yield and quality of microtubers in vitro in *Solanum tuberosum* L. Biol Plant. 49(4):625-628.
- Lutts, S.; J. Kinet; and J. Bouharmont (1998). NaCl impact on somaclonal variation exhibited by tissue culture – derived fertile plants of rice (*Oryza sativa* L.). J Plant Physiol., 152:92- 103.
- Motallebi-Azar, A.; S. Kazemiani; and F. Yarmohamadi (2013). Effect of sugar/osmotica levels on in vitro microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). Russian Agricultural Sciences. 39(2): 112- 116.
- Murashige, T.; and T. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant., 15: 473- 479.

- Ochatt, S. J.; P.L. Marconi; S. Radice; P.A. Arnozis; and O.H. Caso (1999). In vitro recurrent selection of potato: production and characterization of salt-tolerant cell lines and plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 55: 1- 8.
- Rai, M.K.; K. Rajwant; B. Kaliaa; R. Singha; P. Manu; C. Gangolaa; and A.K. Dhawana (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection—An overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*. 71: 89–98.
- Sajid, A.S. (2010). Biochemical characterization of in vitro salt tolerant cell lines and regenerated plants of potato *Solanum tuberosum* L. PhD thesis. Department of Botany, University of the Punjab, Lahore, Pakistan.
- Saleem, M.Y.; Z. Mukhtar; A.A. Cheema; and B.M. Atta (2005). Induced mutation and in vitro techniques as a method to induce salt tolerance in Basmati rice (*Oryza sativa* L.). *Int J Environ Sci Tech.*, (2)2: 141- 145.
- Yaycili, O.; and S. Alikamanoglu (2012). Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turk J Biol.*, 36: 405- 412.
- Yoshida, S.; M. Ogawa; K. Suenaga; and H. Ye (1983). Induction and selection of salt tolerant mutant rices by tissue culture-recent progress by IRRI. In: *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement*. P.455. Proceeding Workshop, Academic Sinica and IRRI, Science Press, Beijing, China.
- Zaman, M. S.; G.M. Ali; A. Muhammad; K. Farooq; and I. Hussain.(2015). In vitro screening of salt tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. *Sarhad J. Agri.*, 31(2): 106- 113.
- Zapata, F.; and R. Aldemita (1989). Induction of salt tolerance in high yielding rice varieties through mutagenesis and anther culture. Pp.193- 202. In: *Maluszynski, M. (ed.). Advances in Agricultural Biotechnology/Current Options for Cereal Improvement: Doubled Haploids, Mutants and Heterosis*, Kulwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.

Effect of Salinity and Radiation on Regeneration of Two Potato (*Solanum tuberosum* L.) Genotypes Callus *In vitro*

Saadoon AL-Ajeely⁽¹⁾ Shaza Yousif⁽²⁾ and Zeinab AL-Hussaini^{*(2)}

(1). Faculty of Girl Education, Kufa University, Kufa, Iraq.

(2). Agricultural Research Directorate, Center of Biotechnology, Ministry of Science and Technology, Baghdad, Iraq.

(*Corresponding author: Dr. Zienab Al-Hussaini. E-Mail: zainab.goldy@yahoo.com).

Received: 07/12/2017

Accepted: 24/01/2018

Abstract

Experiments were conducted to study effect of radiation and salt levels on plant regeneration from callus for two cultivars of potato i.e. Riviera and Burren, under *in vitro* condition. Results showed that the efficiency of radiation in induced regeneration from callus in Riviera cultivar at salt level of (10 dS m⁻¹) and Burren cultivar at salt levels (8, 12 dS m⁻¹). For the purpose of making sure inheritance of salinity tolerant, mutant clones (plants induced from salt tolerant calli, which planted at salt levels of 8, 10, 12 dS m⁻¹ and plants induced from non salt tolerant calli, which planted at salt level of 6 dS m⁻¹) and their parental cultivars (Riviera and Burren) by exposing to salt stress conditions and comparing them with control (6 dS m⁻¹). Results revealed that the lowest percentage of reduction in plant height, number of nods per plant and tuberization were observed in salt tolerant mutants. Plant height and number of nodes/plant can be considered as selective morphological markers for *in vitro* salt tolerance .

Key words: Potato, Radiation, Salinity, Regeneration, *in vitro*.