

التدفق الكمي للماء والسكريات والأحماض العضوية في ثمار العنب المفردة خلال مرحلة النضج

رزق جابر شحوود*⁽¹⁾ وشارل روميو⁽²⁾

(1). مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

(2). INRA، مونبلييه، فرنسا.

(*للمراسلة: د. رزق جابر شحوود، البريد الإلكتروني rezk.sh@hotmail.com).

تاريخ القبول: 2019/06/04

تاريخ الاستلام: 2019/05/10

الملخص

أجريَ هذا البحث بهدف مقارنة تطور ثمرة العنب المفردة مع تلك العينات المتمثلة بمتوسط عدد كبير من الثمار غير المتزامنة في تطورها، لذلك تم دراسة تدفق الماء، والسكريات، وحمض المالك، داخل الثمار المفردة، وتوقيت تطورها الزمني. استخدم الصنفين Pinot Meunier و Syrah في ظروف الحقل التجريبي لمركز سوباغرو، كما استخدم الصنف القزمي ML1 microvine ضمن ظروف متحكم بها في المختبر في مدينة مونبلييه في فرنسا خلال الموسم 2015/2014. تمت الدراسة بطريقتين؛ الطريقة الأولى على ثمار مفردة غير متزامنة فيما بينها (لم يحدد لحظة نضج كل منها)، والطريقة الثانية على ثمار مفردة، حدّد موعد بدء نضج كل منها بشكل دقيق. تشير النتائج إلى أن عدم التزامن في النمو خلال المراحل الأولى لتراكم السكريات، هو السبب الأساسي للتباين بين الثمار المتنافسة. ويبدأ نشاط استيراد السكريات عبر اللحاء اعتباراً من مرحلة التلين ويستمر لمدة 26 يوماً فقط. ويتزامن توقف هذا الاستيراد مع الحجم عندما يصل تركيز السكريات إلى 0.9 مول/ل، والزيادة بعد ذلك في تركيز السكر يحددها انكماش الحجم، نتيجة عمليات النتح والتبخر. يتم تثبيط نمو الحجم خلال الأيام الستة الأولى التي تلي لحظة بداية النضج ليستأنف بعد ذلك. ويعتبر حمض المالك هو العنصر الأساسي للتنفس خلال اللحظات الأولى لمرحلة النضج، حيث تنخفض مساهمته سريعاً ليستنزف تقريباً بعد أسبوعين فقط.

الكلمات المفتاحية: العنب، تطور الثمار، التدفق الاستقلابي، سكريات، حمض المالك.

بعض الاختصارات:

$\mu\text{mol}/\text{min}/\text{Nberry}$: ميكرومول بالدقيقة لثمرة افتراضية تزن 1 كغ عند النضج، PEPCase: أنزيمات Phosphoenolpyruvate

carboxylase، PPCKase: أنزيمات Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase، ALMT: عائلة أنزيمات متخصصة

بنقل حمض المالك، P3A-ATPase: مضخة ناقلة للبروتون موجودة على الجدار الخلوي،

ADHs : أنزيمات *Alcohol dehydrogenases*، DAF: عدد الأيام بعد الإزهار، DAV: عدد الأيام بعد بدء النضج لـ 50% من المحصول، DAS: عدد الأيام بعد تليين الثمرة المفردة (بدء النضج).

المقدمة:

يعد نبات العنب من الفاكهة الأكثر أهمية في العالم بشكل عام، حيث تحتل منتجاتها المركز الأول بين منتجات الأشجار المثمرة في معظم بلدان العالم، وذلك بسبب تنوع استخداماتها كعنب مائدة، أو عنب شراب، أو نبيذ، أو كحولات مختلفة. كما تحتل الصدارة في المساحات التي تشغلها هذه الزراعة، ويتزايد إنتاجها عاماً بعد عام على نطاق واسع في مختلف بلدان العالم التي تزرع العنب. تبلغ المساحة المزروعة عالمياً نحو 8.3 مليون هكتاراً، حيث تحتل فرنسا المرتبة الثالثة عالمياً في زراعته، والمرتبة الثانية من حيث الإنتاج، علماً بأن 97% من إنتاجها يستخدم في صناعة النبيذ. كما تحتل سورية المرتبة الرابعة من حيث الإنتاج على مستوى الوطن العربي. علماً بأن نبات الكرمة يشغل موقعاً متميزاً ضمن أنواع الفاكهة المنتجة محلياً، حيث يأتي في الدرجة الثالثة بالإنتاج (196 ألف طن) بعد الزيتون والتفاح، ويحتل الدرجة الخامسة من حيث المساحة المزروعة (47 ألف هكتاراً).

ساهم علم الجينات في توضيح حقيقة نضج ثمار العنب كفاكهة غير كليماكتيريكية بشكل كبير حتى الآن، لكن التباين الملحوظ في نضج الثمار لا يزال يشكل عائق كبير في فهم الآلية الفيزيولوجية الصحيحة للنضج على مستوى التنظيم الاستقلابي للثمرة المفردة، إذا ما قورنت بالمتوسط المدروس لعدد من الثمار المتباينة جداً في نضجها (Gouthu *et al.*, 2014; Lund *et al.*, 2008).

لا يترافق نضج الثمار بأي انبعاث ناتج عن تحلل الايثيلين، لذلك تنضج ثمرة العنب بالضرورة على النبات الأم بعكس الثمار الكليماكتيريكية كالموز والتفاح. يلاحظ نشاط المسار الخلوي الغشائي Apoplastic pathway عند بداية مرحلة تليين الثمار (Ollat and Gaudillere, 1998)، والذي يترافق مع بدء تراكم السكريات والانتباج الخلوي معاً. تصبح الثمرة فجأة عند بداية النضج شرهة جداً لتراكم السكريات والماء، وخلال النضج يستأنف النمو الحجمي، بينما يقل الضغط الأسموزي للثمرة تدريجياً من 0.9- إلى 3- ميغاباسكال (Matthews *et al.*, 1987)، مما يعزز من قدرة الثمار الناضجة في التغلب على محدودية المياه الشديدة (Keller *et al.*, 2015). تحدث معظم التغيرات في التعبير الجيني خلال فترة التليين السريع للثمار، قبل ظهور أي تغير في حجم الثمار، ونسبة السكريات والأحماض فيها، وتلونها (Rienth *et al.*, 2016; Terrier *et al.*, 2005).

يحفز حمض الماليك المتراكم خلال المرحلة الخضراء داخل الفجوة على الخروج بإعادة تدوير شوارد H^+ عبر الغشاء الفجوي (Terrier *et al.*, 2001)، ليدخل بعد ذلك في عمليات التنفس وتصنيع السكريات (Famiani *et al.*, 2016). على الرغم من معرفة مسار التحول بين السكر وحمض الماليك عن طريق الأنزيمات PEPcase و PPCKase وعائلة ALMT و P3A-ATPase بالإضافة إلى ADHs (Tesnière and Verriès, 2000; Rienth *et al.*, 2016)، فإن استقلاب حمض الماليك (الانهييار العكسي) خلال مرحلة النضج تعتبر عملية غير واضحة حتى الآن.

أظهرت العديد من الدراسات أن ثمار العنب بحاجة إلى فترة نضج تتراوح بين 45 و60 يوماً للوصول إلى تركيز 1.1 مول/ل هكسوز (Rogiers *et al.*, 2006; McCarthy and Coombe, 1999)، والموافق لمعدل تراكم 15-20 $\mu\text{mol hexose}/\text{min}/\text{Nberry}$. وبما أن معدل التنفس يعادل 15-24 $\mu\text{mol O}_2/\text{min}/\text{Nberry}$ حسب (Harris *et al.*, 1971) فإن سرعة مراكمة السكريات تعادل ستة أضعاف سرعة المستهلك منها في عملية التنفس. عند نهاية المرحلة الخضراء يصل محتوى الثمرة من حمض الماليك إلى المستوى

الأعظمي وهو (0.083 mol/Nberry)، بالتالي هذا المحتوى يستطيع أن يدعم التنفس لمدة لا تتجاوز 11 يوماً على أفضل تقدير أو تصنيع قرابة العشرين وحدة من السكريات المراكمة. يتوقع (Famiani *et al.*, 2014) في دراسته أن حمض المالك يمكن أن يمثل الركيزة التنفسية الأساسية في بداية مرحلة النضج بالمقارنة مع مساهمة السكر. يمكن دعم هذه الفكرة من خلال نتائج (Rienth *et al.*, 2016) عند العمل على درجات حرارة منخفضة، حيث لوحظ تأخر استهلاك حمض المالك بالمقارنة مع تراكم السكريات في بداية النضج. هذا يشير إلى إن حمض المالك لا يساهم بالضرورة في تنشيط نقل السكريات أو تصنيعها في ثمار العنب. في هذا الاتجاه، يجب علينا أن ندرك بأن المحتوى البيوكيميائي للثمار يدرس بالاعتماد على عينات متتابعة تمثل ثمار المجتمع الثمري ككل في المنطقة التجريبية، والذي يفترض مسبقاً بأن متوسط تركيبها يمثل نفس النمط الزمني للثمرة الواحدة النموذجية. قام (Coombe, 1984) بانتقاد هذا المفهوم واقترح بأن الثمرة الواحدة قد تتضح اسرع بكثير من تلك العينات التي تمثل متوسط مجموعة من الثمار. عملياً، إن التحيز الإحصائي قد يؤثر على جميع بيانات العمليات البيوكيميائية لتطور الثمرة نتيجة عدم التزامن في نضج الثمار. وللأسف فإن الدراسات على مستوى الثمار المفردة لا تزال نادرة، وإن وجدت فتكون مجزأة أو غير مفسرة كما في دراسات (Lund *et al.*, 2008; Friend *et al.*, 2009; Castellarin *et al.*, 2011) وغيرها من الدراسات، حيث هناك شكوك كبيرة لا تزال قائمة حول السرعة الفعلية لتخزين الماء، وتراكم السكريات، واستهلاك حمض المالك، باعتبار هذه العناصر تمثل الجوانب الأساسية لتطور التدفقات البيوكيميائية في ثمرة العنب.

يهدف هذا البحث إلى توفير أساس كمي ونوعي لآلية نضج العنب على مستوى الثمرة المفردة، مع التركيز بشكل خاص على توقيت بداية النضج، ونشاط النسغ الكامل، وارتباطه الشديد بتدفق الماء، والسكريات، وحمض المالك، للوصول إلى النموذج المثالي لنمو الثمرة.

مواد البحث وطرقه:

المادة النباتية:

تمت التجارب على صنفين *Vitis vinifera* L. Pinot Meunier, Syrah. وهما من أهم الأصناف النيذية المزروعة في فرنسا، حيث تم اختيارهما لأهميتهما الاقتصادية، وكون الأول مبكر بالنضج (Pinot Meunier) والثاني (Syrah) يتأخر بالنضج. تم استخدام الثمار المفردة والعناقيد في الدراسة، وذلك في الحقل التجريبي لمركز سوباغرو في مدينة مونبلييه في فرنسا خلال الموسم 2015/2014. كانت الأصناف مزروعة بنظام Guyot المزدوج بمسافة 2.5 X 1.2 م تحت نظام ري متحكم به. كما تمت دراسة نمو حجم 10 ثمار مفردة للهجين ML1 microvine تحت ظروف بيئية محكمة 25/15 درجة مئوية تماماً كما ذكر في (Torregrosa *et al.*, 1998). علماً بأنه تم اختيار هذا الهجين كونه هجين للصنف Pinot Meunier ويتمك تقريباً نفس مواصفاته البيولوجية.

عينات تحليل الاستقلاب الأولي:

تم قياس وزن الثمار ومحتواها من السكريات والحموض العضوية كالتالي: (1) لهدف تقديم العشوائية الكاملة للعينات تم القطف على شكل مجموعات من 15 ثمرة قطف عشوائياً من العنقود الواحد من صنف Syrah وبما يعادل 14 عنقود في كل قطعة، حيث أزيل ما لا يزيد عن 30% من المحصول الثمري الكامل من النبات خلال كامل التجربة. و(2) كمحاولة لإلغاء التباين في النضج بين الثمار، تم تحديد لحظة التلين كبدية نضج (دقة ± يوم واحد) لـ 500 ثمرة مفردة بشكل عشوائي من صنف Syrah في عام 2015. تم أخذ قراءة

واحدة كل 7 أيام، لكن خلال فترة بداية النضج تم تقصير مدة القراءة بين القطفتين إلى 4-3 أيام. تم وزن الثمار وتخزينها على الدرجة -80 درجة مئوية خلال حد أقصى أربع ساعات بعد القطف.

عينات مراقبة تطور العنقود الثمري:

تم استخدام تقنية الغمر والماء المزاح لمراقبة وقياس تطور النمو لنحو 20 عنقود متصلة بالنبات الأم تم تحديدها بشكل عشوائي من عدة نباتات مختلفة للسنف Pinot meunier. تم أخذ قراءة واحدة أسبوعياً حيث تم غمر العنقود إلى علامة محددة على عنق العنقود، ومن ثم تم قياس حجم الماء المزاح لمعرفة حجم العنقود كما هو متبع في (Lang and Thorpe, 1989). في نهاية التجربة، تم إحصاء عدد الثمار في كل عنقود تجريبي لمعرفة متوسط وزن الثمرة. تم استخدام القانون $V / (V_{max} * Nb)$ لنمذجة متوسط حجم الثمرة، حيث V يمثل حجم العنقود و V_{max} الحجم الاعظمي للعنقود، و Nb عدد الثمار ضمن العنقود. تم تعديل زمن البدء في النضج بسحب جميع قراءات مستوى العنقود لتبدأ جميع العناقيد في النضج في اليوم 55 بعد الإزهار.

تطور الثمرة المفردة:

تم دراسة تطور نمو عشرة ثمار مفردة لنباتات ML1 microvine، وهو هجين مشتق من صنف Pinot meunier (Luchaire *et al.*, 2017) باستخدام تقنية الغمر والماء المزاح تماماً كما ذكر آنفاً لكن على مستوى الثمرة الواحدة.

تحليل محتوى السكريات والحموض العضوية:

تم إزالة البذور من الثمار، ومن ثم تم الغمر بالماء المقطر بما يعادل خمسة أضعاف وزن العينة. ولهدف توفير الوقت اللازم لتحضير العدد الهائل من الثمار، تم وضع العينات في الأتوكلاف على درجة حرارة 120 درجة مئوية لمدة عشرين دقيقة، ومن ثم تم مجانسة العينة عن طريق الهز بقوة باليد لعدة ثوان؛ علماً بأنه تم التحقق من عدم تأثير هذه العملية على المحتوى الكيميائي للعينات. بعدها تم اتباع البروتوكول المذكور في (Rienth *et al.*, 2014). حيث تم تخفيف تركيز العينات عشرة أضعاف بمحلول (0.0125N) H₂SO₄ مع 600 ميكرومول من حمض الاسيتيك. ولهدف منع ترسب حمض الطارطريك كملح ثنائي طارطرات البوتاسيوم، تم التخلص من محتوى العينات من عنصر البوتاسيوم باستخدام 0.18 غرام من Amberlite IR-120 Plus (Sodium form, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) مع واحد ميلتر من العينة المخففة.

تم تعريض العينات للطررد المركزي (10000 g لمدة عشر دقائق، 30 ° مئوية). ليتم بعدها نقل العينات إلى قوارير خاصة بجهاز HPLC. تم الحقن داخل كولون (Aminex HPX87H, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) الذي يحوي على سائل مستمر التدفق بسرعة 0.5 مل/دقيقة والذي يتكون من H₂SO₄ (0.0125N) على الدرجة 60 ° مئوية. بعدها تم الكشف باستخدام كاشف امتصاص مزدوج (Waters Corporation, Milford, MA, USA) وكاشف Kontron 475 RI مصدره (Kontron Instruments, Rosdorf, Germany).

الصلابة والتلون:

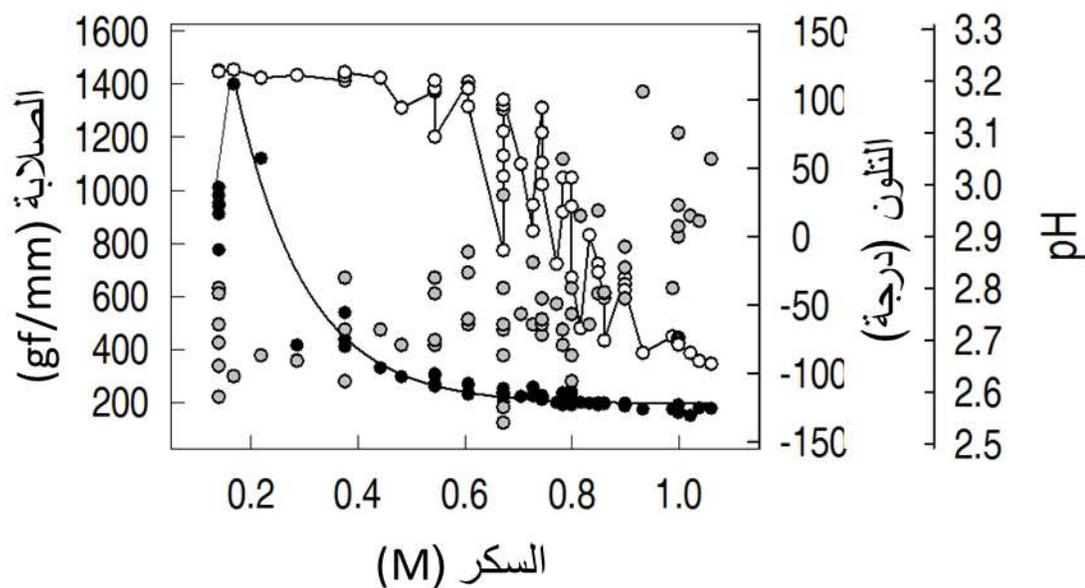
تم استخدام مقياس بيننرومتر رقمي لقياس الصلابة كما هو مذكور في (Robin *et al.*, 1997). بالمقابل تم تحديد لون الثمار باستخدام مقياس Minolta CR200 تماماً كما هو مذكور في (Robin *et al.*, 1996).

النموذج المتبع لمجانسة نمو الثمار:

تشير تدفقات الماء والسكر والحموض العضوية إلى مدى الاختلاف الكمي للجزيئات في وحدة الزمن أو في وحدة الثمرة. هناك مسارات ووسائط نقل متنوعة كثيراً تقوم بالتحكم بهذه التدفقات، وبالتالي فإن العمل على وحدة التركيز يكون معقداً جداً من وجهة نظر ميكانيكية. يعتمد الحجم الأقصى للثمرة في نهاية مرحلة النضج بشكل كبير على النمط الجيني، بالتالي تم مجانسة الحجم بهدف الحصول على كميات تدفق فجوي متماثل وصولاً إلى مسار انتاج في الحجم قابل للمقارنة خلال مرحلة النضج. لذلك تم اختيار وحدة تخيلية لتطور الثمرة لجميع الأصناف المدروسة وهي عدد الثمار اللازمة للوصول إلى 1 كغ عند الوزن الأقصى للثمرة، علماً بأنه كان من الممكن استخدام وحدة تخيلية أخرى كالواحد غرام مثلاً لكن تم تفضيل الكيلو غرام لزيادة دقة البارميترات المدروسة كون تركيزها في الثمرة الواحدة صغير جداً. وللتوضيح أكثر نورد هذا المثال: من أجل ثمرة تزن 1 غرام نحن بحاجة لـ 1000 ثمرة عند كل قراءة، في حين نحن بحاجة إلى 500 فقط من أجل ثمرة تزن 2 غرام. وللتبسيط تم تهميش دور الكثافة باعتبار أن الثمار الخضراء تملك كثافة (1.04) والناضجة (1.09)، وبالتالي فإن الفرق بين الحجم والوزن صغير جداً على مستوى الثمرة.

النتائج:**1. دراسة تطور الثمار المفردة داخل العناقيد عند بداية النضج:**

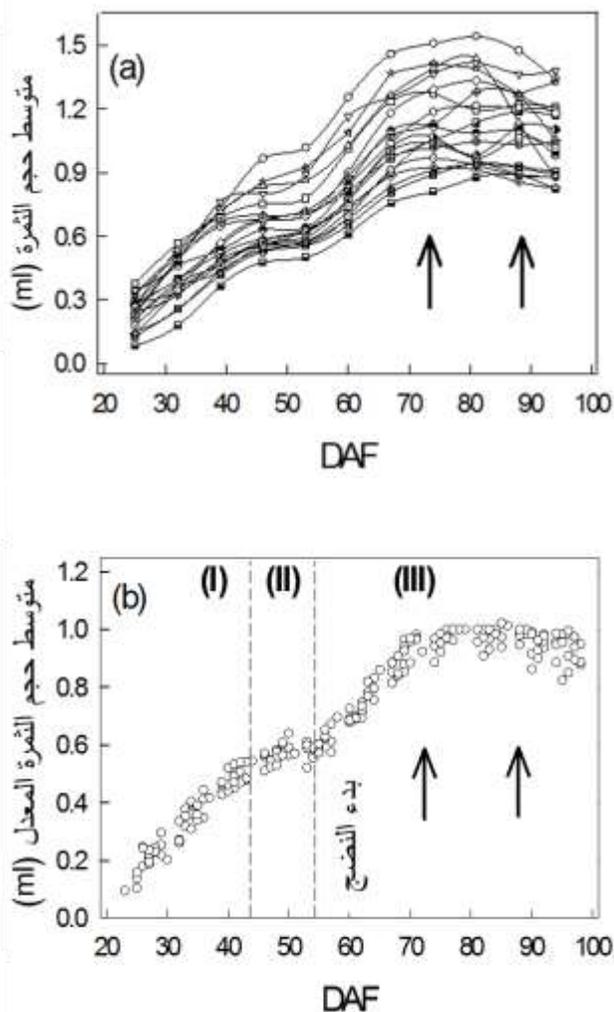
أظهرت قياسات التلون والصلابة والسكريات ودرجة الحموضة على الثمار المفردة المتكونة داخل عنقود واحد من صنف Syrah في بداية النضج (Veraison)، وجود بعض الثمار التي لا تزال خضراء فجّة وصلبة ودرجة حموضتها (pH= 2.7) مترافقة مع ثمار خضراء فقدت صلابتها وجزء من حموضتها وبدأت في مراكمة السكريات، وأخرى حمراء قد تجاوزت مرحلة النضج بتركيز سكريات زاد عن 0.9 مول/ل وبدأت بالانكماش (الشكل 1). تتخفف الصلابة اعتباراً من بداية تراكم السكريات، لكن لا تظهر أي فرق معنوي بعد الوصول إلى تركيز 0.55 مول/ل، حيث يبدأ ظهور أول علائم التلون على القشرة اعتباراً من هذا التركيز. هنا تظهر بعض التناقضات الملحوظة على مستوى تلون الثمار حيث وجد بعض الثمار التي لا تزال خضراء وأخرى ملونة عند نفس تركيز السكر ضمن المجال بين (0.55 و 0.65 مول/ل). لوحظ أيضاً نسبة ضئيلة من الثمار ذات الصلابة بين 500 و 1100 gf/mm، مما يدل على أن تليين الثمار يحدث بشكل سريع جداً.



الشكل 1. تباين نضج الثمار داخل عنقود من صنف Syrah في طور تلون 50% من الثمار لعام 2014. كل نقطة تمثل ثمرة واحدة، درس فيها الصلابة والتلون ودرجة الحموضة pH بالنسبة لكمية السكريات المتراكمة. النقاط السوداء تمثل الصلابة، النقاط الرمادية تمثل pH (درجة الحموضة)، النقاط البيضاء تمثل درجة التلون.

2. النمو الحجمي على مستوى العنقود:

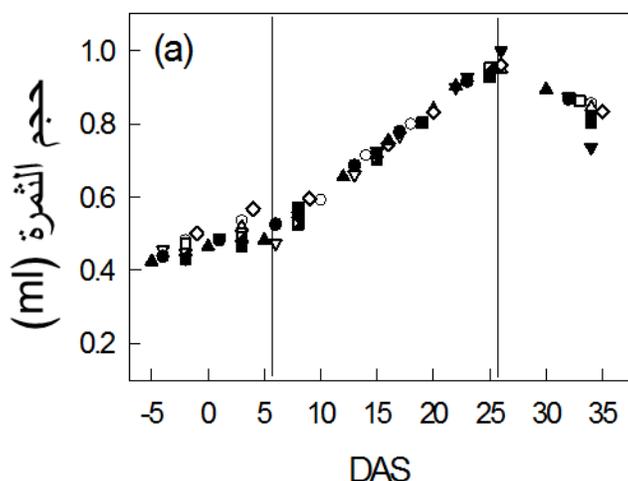
تم اختيار صنف Pinot meunier لهذه التجربة كونه الأصل للهيبن ML1 microvine الذي تم استخدامه كنبات ينمو في ظروف متحكم بها. أظهرت النتائج على عناقيد الصنف Pinot meunier نمط النمو الثنائي الطور، حيث لوحظ بشكل واضح مرحلة النمو الخضراء ومرحلة النمو البطيء ومرحلة النضج (الشكل 2). لم يتجاوز وزن هيكل العنقود عند النضج 0.8 ± 3.6 % من وزن العنقود الكامل، لذلك تم إهماله من الحسابات. تُبين نتائج الدراسة في عام 2014 أن متوسط حجم الثمرة على مستوى العنقود يُظهر تباين واضح بمعدل 1.8 مرة بين العناقيد (الشكل 2a)، بغض النظر عن عدد الثمار في العنقود الواحد. عند القيام بعملية مجانسة متوسط وزن الثمرة (الممثلة للعنقود الواحد) عن طريق تقسيم جميع قراءات تطور نموها على الوزن الأعظمي لمتوسط وزن الثمرة، وسحب منحنى القراءات بحيث تبدأ جميع العناقيد بالنضج في نفس النقطة، أظهرت جميع العناقيد نمواً متماثلاً؛ حيث انحصرت التباين فيما بينها بشكل كبير (الشكل 2b). لوحظ تضاعف حجم متوسط الثمار خلال 2 ± 29 يوم خلال مرحلة النضج. في نهاية مرحلة النضج، وبعد الوصول إلى المستوى الأعظمي للوزن، بدأ الوزن بالتراجع مع تباين واضح بين العناقيد (الشكل 2b).



الشكل 2. متوسط حجم ثمرة صنف Pinot meunier الممثلة للعناقيد. (a) متوسط حجم الثمرة لـ 20 عنقود كل على حدة، (b) متوسط حجم الثمرة المعدل بالنمذجة، بالنسبة إلى عدد الأيام بعد الإزهار (DAF). يمثل كل منحنى بياني في (a) تطور نمو عنقود واحد، بينما (b) يمثل مجموع المنحنيات للعناقيد العشرين بعد اتباع عملية نمذجة معدلة بتقسيم كامل قراءات العنقود الواحد على متوسط الحجم الأعظمي للعنقود ومزامنة توقيت الدخول في طور النضج. الأسهم السوداء يمثلان الزمن الأدنى والأعلى اللازم للوصول العناقيد إلى الحجم الأعظمي. المرحلة (I) الخضراء و (II) مرحلة التباطؤ و (III) مرحلة النضج. تم نمذجة متوسط حجم الثمرة تبعاً للقانون $V/(V_{max} * Nb)$ حيث V حجم العنقود، و V_{max} الحجم الأعظمي للعنقود، و Nb عدد الثمار ضمن العنقود.

3. النمو الحجمي على مستوى الثمرة المفردة:

أظهرت جميع الثمار المفردة المدروسة نمواً حجمياً متماثلاً عند مجانسة الوزن ونقطة بدء النضج كما هو متبع سابقاً، حيث تضاعف وزن الثمار المفردة للصنف القزمي Pinot ML1 خلال 20 يوماً فقط بعد بداية مرحلة النضج (الشكل 3).



الشكل 3. (a) الحجم المعدل بالمنذجة لـ 10 ثمار من الصنف القزمي ML1 بالنسبة إلى عدد الأيام بعد التليين. كل رمز يمثل ثمرة واحدة قيس حجمها خلال مراحل تطورها. تم نمذجة الحجم في (a) بالعلاقة $V/(V_{max})$ حيث V حجم الثمرة و V_{max} الحجم الأعظمي للثمرة. تمثل DAS عدد الأيام بعد التليين.

4. مقارنة تطور السكريات وحمض المالك و الماء داخل الثمار المتباينة وداخل الثمار المتماثلة:

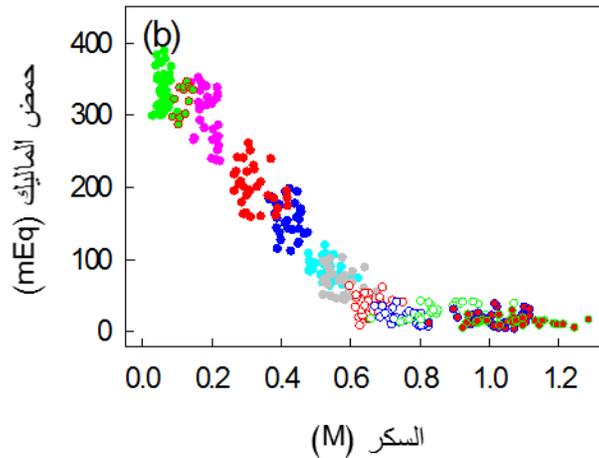
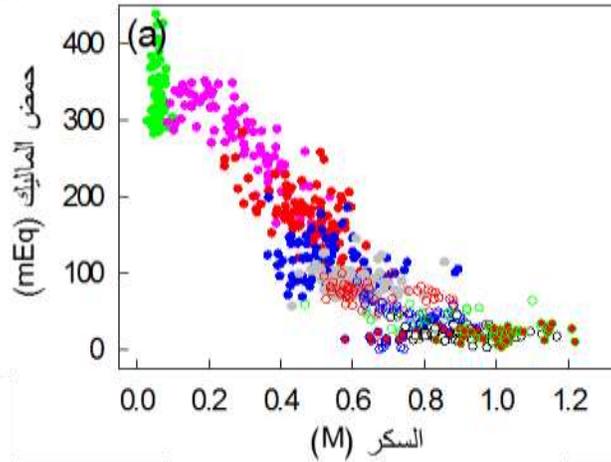
تمت التجربة على ثمار مفردة من صنف Syrah المختارة بشكل عشوائي بمعدل (3 إلى 10 ثمار من العنقود الواحد) ومن نباتات مختلفة تمثل المجتمع المدروس (الحقل) بالكامل (الشكل 4a). أظهرت هذه الثمار الممتلئة للمجتمع الثمري ككل في الحقل التطور التناهي الكلاسيكي، وكان التباين في السكريات وحمض المالك مرتفعاً خصوصاً خلال الفترة التي تلي مرحلة التليين. أظهرت الثمار المتأخرة في تركيز السكريات مستوى أقل من تركيز حمض المالك بالمقارنة مع تلك التي وصلت إلى نفس تركيز السكريات بزمن أقل.

إن تحديد لحظة التليين للثمار المفردة سمح بالحصول على ثمار متجانسة فيما بينها (الشكل 4b)، كما خفض بشكل واضح التباين في مواد الاستقلاب الأولي العظمى عند مختلف الفترات الزمنية المدروسة، عند المقارنة مع تلك التي لا نعلم مسبقاً لحظة تليينها (قارن بين الشكل 4a و 4b). إن عدم السيطرة على لحظة بدء النضج للثمار المفردة قد يكون بالتالي السبب الأكبر في ظهور التباين بين الثمار (الشكل 4).

أظهرت نتائج تحليل الثمار المتزامنة فيما بينها إلى ظهور أربع فترات متتالية خلال مرحلة النضج اعتباراً من لحظة تليين الثمار (الشكل 5 و 6). ففي البداية، يتدفق السكر إلى الفجوة بشكل مفاجئ بسرعة هائلة ($29-43 \mu\text{mol hexose}/\text{min}/\text{Nberry}$) (الشكل 6a) والذي يمثل زيادة بين 50 و 100% عند المقارنة مع سرعة نفس التدفق عند العينات التي تمثل ثمار غير متزامنة فيما بينها والمأخوذة من نفس الحقل وبنفس الفترة ($19 \mu\text{mol hexose}/\text{min}/\text{Nberry}$) (الشكل 6b).

يستأنف النمو في الحجم بعد ستة أيام من لحظة التليين (الشكل 5a و 6a)، يتبعها فترة عشرين يوماً من تراكم السكريات والماء، حتى الوصول إلى كمية سكر ($0.9 \text{ mol hexose}/\text{Nberry}$)، هذه الكمية تعادل التركيز (1 مول/ل) تقريباً. يتوقف استيراد وتخزين السكريات في الثمار عند نهاية مرحلة النضج (الشكل 5c و 6). بعد ذلك، يلاحظ فترة من الثبات النسبي بالمعنى المتوسط (الشكل 6)، إلا إن هذا الثبات غير مؤكد حيث من الممكن أن تدخل الثمار في المرحلة الثالثة مباشرة وهي مرحلة الانكماش نتيجة فقدان الماء من الثمار كما هو ملاحظ في الثمار المصنفة على أساس تركيز مجموع المواد الذائبة العظمى (M+T+S): السكريات وحمض المالك والطارطريك

(الشكل 5a). أظهر التوازن الكمي بين استهلاك حمض المالك وصابني السكريات (الهكسوز) المترابطة في الثمرة تشابهاً نمطياً في تطور العلاقة في التجارب الثلاث المنفذة على صنفى Syrah و Pinot Meunier (بيانات غير معروضة).

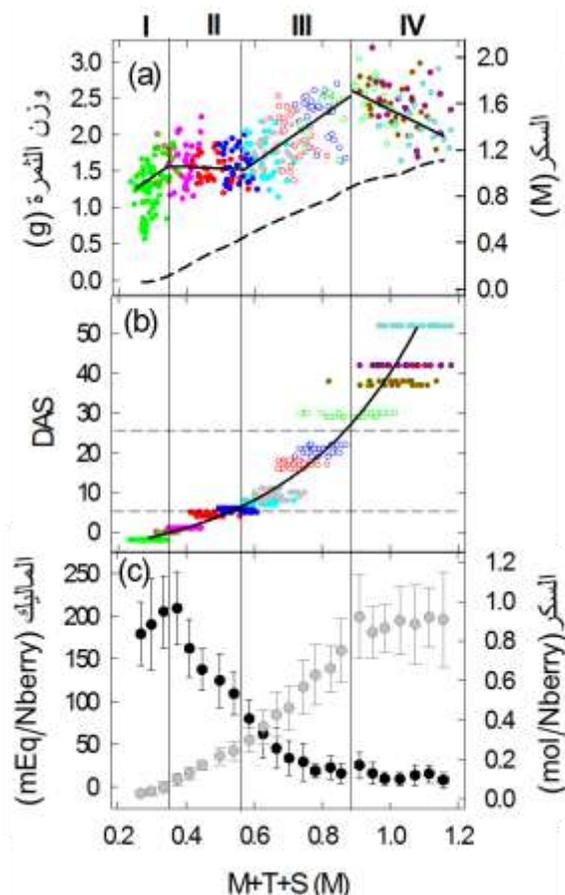


الشكل 4. انحلال حمض المالك خلال مرحلة تراكم السكريات في ثمار المفردة لثمار صنف Syrah. تمثل كل نقطة في (a) ثمرة مفردة قطفت عشوائياً من المجتمع الثمري بالتواريخ التالية: 10 DAV - (الدوائر الخضراء)، 0 DAV (الدوائر الزهرية)، 5 DAV (الدوائر الحمراء)، 8 DAV (الدوائر الزرقاء)، 13 DAV (الدوائر الرمادية)، 18 DAV (الدوائر البيضاء المحاطة بالأحمر)، 25 DAV (الدوائر البيضاء المحاطة بالأزرق)، 32 DAV (الدوائر البيضاء المحاطة بالأخضر)، 39 DAV (الدوائر الحمراء المحاطة بالأزرق)، 46 DAV (الدوائر البيضاء المحاطة بالأسود) و 55 DAV (الدوائر الحمراء المحاطة بالأخضر)، حيث DAV حدد عند تاريخ التلين لـ 50% من المجتمع الثمري ككل. تمثل كل نقطة في (b) ثمرة مفردة تاريخ تليينها معلوم ومحدد، حيث تم القطف بتاريخ: 1 DAS - (الدوائر الخضراء)، 0 DAS (الدوائر الخضراء المحاطة بالزهري)، 1 DAS (الدوائر الزهرية)، 4-5 DAS (الدوائر الحمراء)، 5-6 DAS (الدوائر الزرقاء)، 7-8 DAS (الدوائر السماوية)، 9-11 DAS (الدوائر الرمادية)، 17-18 DAS (الدوائر البيضاء المحاطة بالأخضر)، 21-22 DAS (الدوائر البيضاء المحاطة بالأزرق)، 29-30 DAS (الدوائر البيضاء المحاطة بالأسود) و 37-38 DAS (الدوائر الحمراء المحاطة بالأزرق) و 53-54 DAS (الدوائر الحمراء المحاطة بالأخضر).

المناقشة:

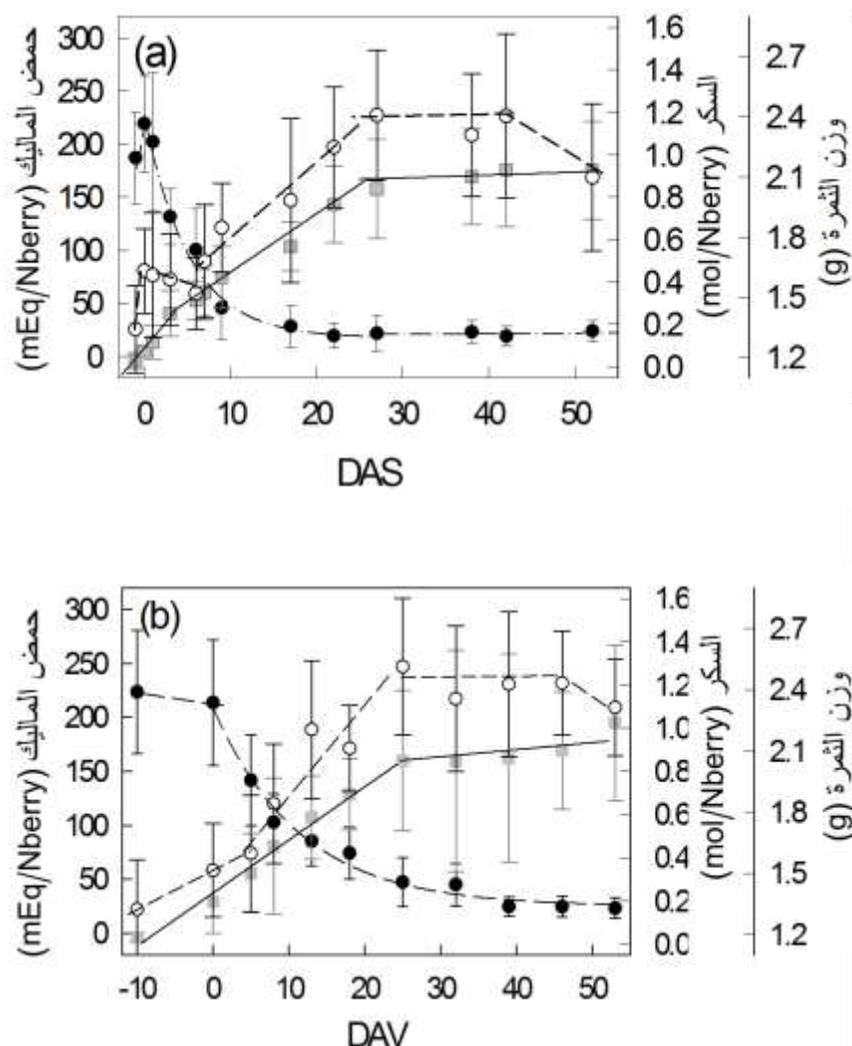
إن هذه الدراسة تطرح مناقشة لنقطتين هامتين حول التزامن بين الثمار عند بدء مرحلة النضج (Coombe, 1992)، والتباين العالي جداً في حجم الثمار، والذي يعتمد على الأحداث المبكرة التي تؤثر على الانقسام الخلوي، وعدد البذور، والمستوى الهرموني المتحكم بالنمو منذ مرحلة الإزهار (Ojeda et al., 1999; Friend et al., 2009; Wong et al., 2016)، ليكونا محددتين لتباين تطور

الثمار داخل العنقود وداخل الحقل كمجتمع ثمري ككل، مما يؤثر بشكل غير مباشر على موعد النضج العام للمحصول وعلى كمية الخدمات الزراعية المقدمة وبالتالي زيادة الكلفة على حساب الإنتاج.



الشكل 5. تطور الثمار المتجانسة لسنف Syrah. وزن الثمرة (a)، عدد الأيام بعد التليين (b)، استهلاك حمض الماليك وتراكم السكريات (c) بالنسبة لمجموع تركيز المواد الذائبة (M+T+S): حمض الماليك والطرطريك والسكريات). كل نقطة في (a) و (b) تمثل ثمرة واحدة وكل لون يمثل موعد قطف الثمار ذات موعد التليين المعلوم كما هو مفصل في الشكل (4b). الخط المتقطع في (a) يمثل تركيز السكريات. الخط الأسود في (b) يمثل المنحنى البياني الآسي للتطور في النمو تبعاً للمعادلة $(y = -6.4 + 2.6e(2.9x), R^2 = 0.993, P \leq 0.0001)$. (c) محتوى الثمرة من حمض الماليك (الأسود) والسكر (الرمادي) المحسوبين من الشكل 4b حيث تم تقسيم العينات كمتوسط تبعاً لتركيز مجموع المواد الذائبة بفواصل 0.05 مول/ل. تم قياس المتوسط وحساب الانحراف المعياري (SD) لكل فاصل لذلك فكل قيمة تعبر عن المتوسط $\pm SD$. عدد الثمار/الفواصل تراوح بين 9 و26 ثمرة وكان متوسط القيمة 16. Nberry: ثمرة تخيلية تزن 1 كغ عند النضج تحسب من خلال عدد الثمار الموجودة في 1 كغ عند النضج.

إن عدم وجود طرق لقياس محتوى الثمار من السكريات والحموض العضوية دون تدمير الثمرة، أدى إلى لجوء الباحثين لاستنتاج حركية النمو انطلاقاً من متوسط لعينات متسلسلة، مفترضين بأن متوسط المجتمع الثمري على مستوى الحقل يمكن أن يعطي رؤية صحيحة لتطور الثمرة النموذجية. حيث لا تزال أحدث الدراسات حول عملية نضج ثمار العنب تعتمد على هذا النموذج (Dai *et al.*, 2016)، لذلك تبقى هذه الاستراتيجية المعتبرة كاستراتيجية مثلى لأخذ العينات لتوفير أفضل تمثيل للتجربة موضع نقاش حقيقي (Higginson *et al.*, 2016). يمكن اعتبار عملية إعادة فرز الثمار اعتماداً على كثافتها (Singleton *et al.*, 1966) ثورة تجريبية حول هذا المفهوم على الرغم من تقديمها كخدعة تجريبية لإعداد عينات من الثمار المتجانسة، مما يدعم إعادة النظر حول مفهوم دراسة حركية نمو الثمار اعتماداً على متوسط عينة ممثلة بعدد كبير من الثمار غير المتزامنة (Friedel *et al.*, 2016).



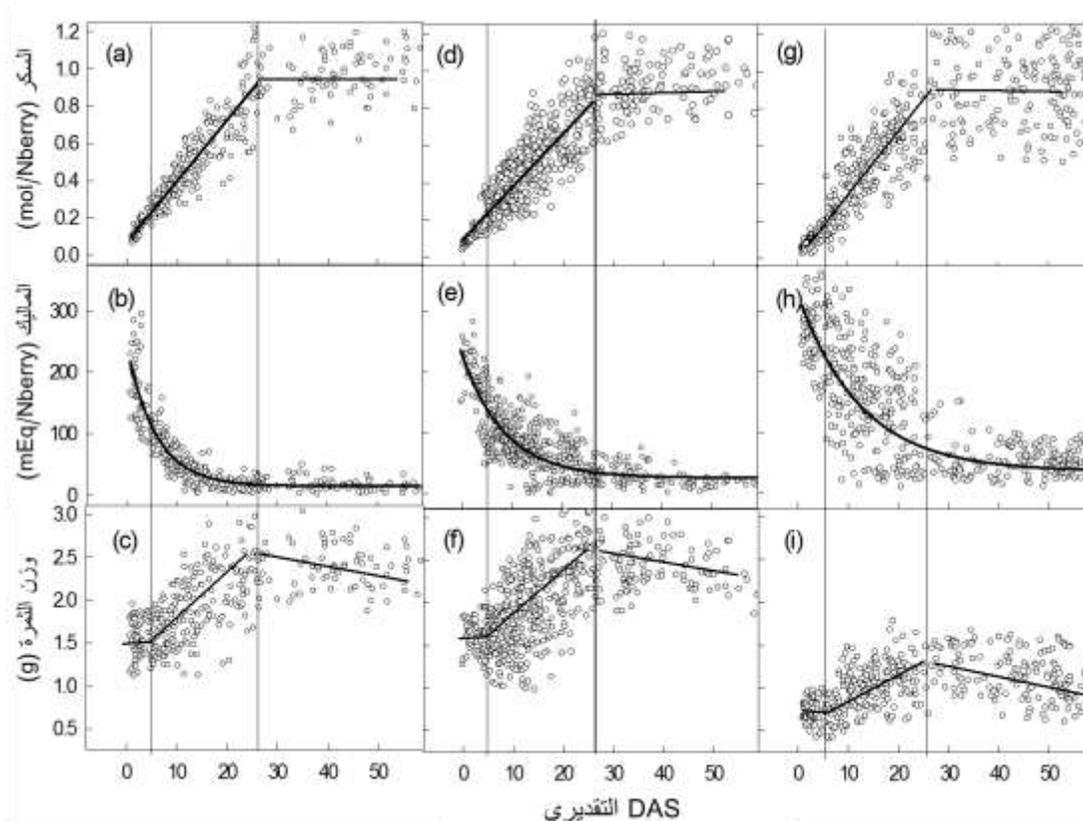
الشكل 6. منحنى استهلاك حمض المالك (الدوائر السوداء)، وتراكم السكريات (المربعات الرمادية) و الوزن (الدوائر البيضاء) لثمار صنف Syrah (المتوسط \pm SD، n = 30 ثمرة في (a) و 40 إلى 90 ثمرة في (b)). يمثل (a) عدد الأيام الحقيقي بعد التليين (DAS) لكل ثمرة بينما يمثل (b) متوسط عدد الأيام بعد بداية النضج لـ 50% من المحصول (DAV).

أظهرت الدراسة أن مرحلة النمو الثانية للثمرة (نمو الحجم خلال مرحلة النضج) تدوم لمدة عشرين يوماً فقط على مستوى الثمرة المفردة، بينما احتاجت 27-31 يوماً كمتوسط على مستوى العنقود، في حين أن الدراسات المرجعية تقول بأننا بحاجة إلى ما قد يزيد عن 39 يوماً كمتوسط على مستوى المجتمع الثمري الممثل للحقل التجريبي (McCarthy, 1999). إن هذا التباين في تطور الثمار يجعل من متوسط العينات المعتاد والممثل لمراحل النمو في أنظمة تطور الثمار غير كاف لفهم البيولوجيا الجزيئية الدقيقة والاستقلاب الغذائي وعمليات الانقسام التي تنظم تطور ثمرة العنب، كما هو مفهوم بالفعل فيما يتعلق بدراسات الحمض النووي الريبوزي (RNA) (Lund *et al.*, 2016; Terrier *et al.*, 2009; Rienth *et al.*, 2008).

لذلك، إن دراسة معالجة تطور الثمرة الفردية يستلزم تغييراً جذرياً فيما يتعلق بالساعة الداخلية للثمرة وتدقاتها العظمى (التسلسل الزمني لتطور بيولوجية الثمرة المفردة): ففي البداية، تم ربط مفتاح النضج بأحداث كان يعتقد سابقاً وبشكل خاطئ بأنها متزامنة ومتتابعة. فقد

أظهر تطور الصلابة والتلون خلال مراحل تركيز السكريات داخل المجتمع الثمري نفس نمط التطور عند الثمار المفردة لصنفي Cabernet Sauvignon و Zinfandel (Castellarin *et al.*, 2016)، ولكن بالمقابل نجد في نتائج هذه الدراسة بعض التناقض والذي تم اهماله، حيث يتأخر تعبير جينات تحلل خلايا الغلاف *VviExp1* و *VviPME* في الغلاف الثمري المرتبطة بشكل مباشر بتليين الثمار، والذي يتوافق مع نتائج بحثنا هذا وخصوصاً فيما يتعلق بتمدد البشرة واستئناف النمو (الأشكال 1 و 5a و 6a) / (Huang and Huang, 2001). أظهرت دراسة أخرى بأنه بمجرد ملاحظة التليين تم الكشف عن تغيرات مكثفة جداً في تعبيرات الترانسكريبتوميك المتحركة بروتينات الجدار الخلوي والناقلات الرئيسية كالناقل الثنائي الجهة *VvHT6* hexose/H⁺ antiporter (Terrier *et al.*, 2005)، وذلك قبل أي تغيير في تطور السكريات والتلون وحمض الماليك (Rienth *et al.*, 2016). هذه النتيجة تؤكد الملاحظة الأساسية والتي تقول بأن التغيير في الصلابة يحدث في نفس الوقت تقريباً مع بداية تخزين السكريات (الشكل 1) / (Coombe, 1992). بشكل أدق، يتراكم ما يزيد عن 0.12 مول/ل هكسوز ببطء شديد، مترافقاً مع 0.25 مول/ل من حمض الماليك في الثمار الصلبة الخضراء قبل مرحلة بداية النضج والنشاط الأعظمي لتفريغ النسغ الكامل في الثمار (الأشكال 5c و 6a) / (Houel *et al.*, 2015). يحدث التغيير في اللون بشكل أكثر تأخراً (0.6 مول/ل هكسوز) عند صنف Syrah (الشكل 1)، تماماً كما حدث في صنف Zinfandel في دراسة (Castellarin *et al.*, 2016). في دراسة أخرى، تتابع الثمار انتباجها قبل 2-3 أيام من بداية تلونها في صنف Cabernet sauvignon، بالمقابل ثمار صنف merlot بدأت بالتلون 1-3 أيام قبل معاودة الانتباج، حيث إن تطور الضغط الأسموزي داخل الثمار الناضجة يجعلها أكثر قابلية لامتصاص الماء في تلك الثمار المجهد (Keller *et al.*, 2006). لذلك يجب رفض الأخذ بمؤشر التلون كمعيار لبداية نضج الثمار والذي لا يزال يستخدم في العديد من الدراسات التجريبية الحديثة مثل (Gouthu *et al.*, 2014; Zhang and Keller, 2017).

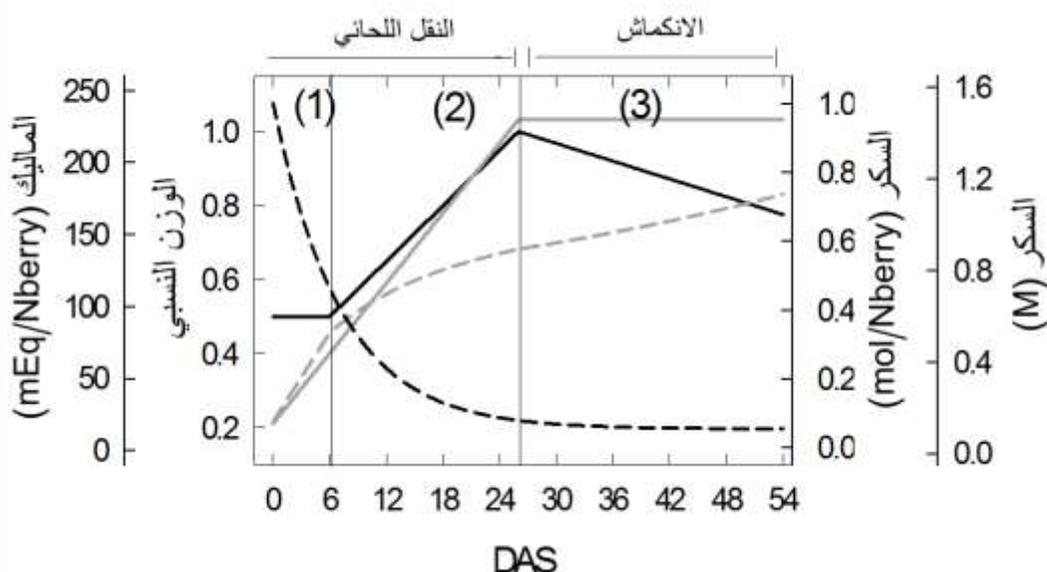
سمح استخدام عينات متزامنة فيما بينها (متجانسة في موعد انطلاق النضج) بإعادة النظر في توقيت استيراد الماء والسكريات وحمض الماليك عبر اللحاء بدقة غير مسبوقة، حيث يظهر بشكل ملحوظ أن هذه المجانسة أدت إلى خفض التباينات في معدلات النمو والتدفقات الاستقلابية التي يمكن حسابها انطلاقاً من هذه البيانات (الشكل 4b). نحن بذلك نثبت أن حجم الثمار يُظهر تطوراً ثابتاً في النمو، بغض النظر عن التباين الواضح في الحجم على مستوى الثمرة الواحدة. لذلك تم مجانسة التدفقات بين الأصناف ذات الحجم الثمري المختلفة بدراسة تطور ثمرة تخيلية تصل إلى 1 كغ عند لحظة الوصول إلى الوزن الأقصى لها وتم الترميز لها ب (Nberry) (للتوضيح أنظر إلى فقرة مواد وطرق العمل/الأسلوب المتبع لمجانسة الثمار). أظهرت النتائج أن سبب التباين الدراماتيكي على مستوى تركيز السكريات وحمض الماليك بين الثمار المفردة المقطوفة معاً هو مواعيد التليين المتأخرة (الشكل 5)، والذي قد يرتبط بدوره بتاريخ الإزهار كسبب مبكر من أسباب الاختلاف. حسن ترتيب الثمار تبعاً لمجموع تراكيز المواد الذائبة العظمى، كممثل يقترب مما يسمى بالضغط الأسموزي للخلية، القوة المحركة للماء (Dai *et al.*, 2009)، من توضيح مرحلة بداية نضج الثمار (pre-veraison) كما خفض من التباين بين المجموعات إذا ما قورنت نتائجها مع درجة البريكس (Brix) خلال مرحلة نضج الثمرة (بيانات غير معروضة). عمليات القياس غير المدمرة (دون القطف) على ثمار مفردة دفعت الباحثين (Coombe and Philips, 1982) إلى اقتراح أن النمو في الحجم لا يستأنف إلا بعد ستة أيام من لحظة التليين (بدء النضج)، والذي يتوافق مع نتائج البحث، حيث لوحظ تأخر تنشيط مسارات الاستيراد اللحائي للماء في الثمار التي بدأت بالنضج (الأشكال 5 و 6a).



الشكل 7. منحى تراكم السكريات (a, d, g)، و استهلاك حمض المالك (b, e, h)، ونمو الثمرة (c, f, i) خلال مرحلة نضج الثمار المفردة بالنسبة لعدد الأيام بعد التليين DAS. حسب DAS ابتداءً من الخط البياني المتشكل من العلاقة بين تركيز المواد الذائبة في الثمرة والعمر الحقيقي لكل ثمرة كما هو مفصل في الشكل 5b. تُمثل المنحنيات (a, b, c) التاريخ الحقيقي لتليين ثمار الصنف Syrah بينما تمثل (d, e, f) التاريخ الحقيقي المتوقع لعينات قطفت كمتوسط (التلون 50%) لثمار غير متجانسة من الصنفين Syrah و Pinot Meunier على التوالي. استخدمت المعادلة الخطية لتمثيل تراكم السكريات والوزن والتمثلة بـ: (a): $(y = 0.07 + 0.034x, r = 0.91)$, (d): $(y = 0.1 + 0.028x, r = 0.85)$, (g): $(y = 0.03 + 0.03x, r = 0.88)$, (c): $(y = 1.4 + 0.04x, r = 0.56)$, (f): $(y = 1.4 + 0.05x, r = 0.49)$, (i): $(y = 0.66 + 0.02x, r = 0.47)$. كما استخدمت المعادلة الانحدار الاسي لتمثيل حمض المالك: (b): $(y = 15 + 226 e^{-0.14x}, r = 0.91)$, (e): $(y = 26 + 204 e^{-0.1x}, r = 0.85)$, (h): $(y = 35 + 291 e^{-0.08x}, r = 0.78)$.

إن نواقل الجدار البلازمي تستنفد السكريات الأوبلازمية، بينما يُصدر أو يُبخر الماء الزائد عن التدفق حتى يتمدد غلاف الثمرة بشكل جيد، مما يسهل اكتمال فترة النمو الأولى في الثمار المتأخرة في الدخول بمرحلة النضج. وبالتالي فإن تصريف الفائض من الماء اللحائي عبر الخشب والموتق مؤخراً من قبل Zhang and Keller, (2017) ينبغي أن يرتفع بشكل خاص خلال هذه المرحلة فقط. كما يمكن تفسير ذلك بأن تدرج الضغط الأسموزي الكبير بين الثمار المتقاربة فيما بينها قد يؤدي إلى تحفيز انتقال الماء عبر الخشب (Backflow) من الثمار التي على وشك البدء في النضج إلى الثمار الناضجة، على غرار تلك الملاحظة في الأوراق التي تتخضع لجهودها الحلولية من -0.8 ميغاباسكال كنتيجة للإجهاد (Greenspan *et al.*, 1994). أظهرت القياسات على الثمار المتجانسة فيما بينها لـ صنف

Syrah متوسط نمو مماثل تقريباً لنمو الثمار المفردة للسنف Pinot ML1 و Pinot meunier (الأشكال 2 و 3 و 5a و 6a)، مما يشير إلى أن مدة النمو الثانية (20 يوماً) يجب أن تكون ثابتة بين الأصناف والظروف التجريبية. تم نمذجة الزمن اللازم لكل ثمرة بعد التلدين للوصول إلى التراكيز المقاسة بتابع أسّي (الشكل 5b) ما يسمح بإعادة مزامنة عدد كبير من الثمار التي أخذت عشوائياً دون معرفة التاريخ الدقيق لتلدينها (الشكل 7). بقيت أنماط النمو متوافقة مع العينات المتجانسة لثمار الصنف Syrah. يتراكم السكر في العينات المقطوفة بشكل كلاسيكي كثمار غير متزامنة بمعدل تراكم متوسط قدره 17 ميكرومول/دقيقة/ Nberry خلال 49 يوماً (بيانات غير معروضة). بينما احتاجت عينات البحث المتزامنة فيما بينها إلى ما يعادل 26 يوماً فقط اعتباراً من تاريخ التلدين وحتى تصل إلى 0.9 مول هكسوز/ Nberry (ما يعادل تقريباً 10% كحول محتمل)، والذي يترافق تماماً مع توقف تفريغ النسغ الناقص في الثمار. وأي زيادة في تركيز السكريات بعد هذا الزمن تعود فقط إلى ما يسمى بالانكماش في الثمرة (الأشكال 2 و 5 و 7). لاحظ (McCarthy, 1999) أيضاً أن الثمرة تصل إلى الحجم الأعظمي عند نفس التركيز قبل أن تبدأ بالانكماش.



الشكل 8. تطور الثمرة المفردة كأبسط نموذج ممكن خلال مرحلة النضج. يمثل كل من (1) و (2) و (3) ثلاثة أطوار خلال فترة النضج. يُلاحظ محتوى السكريات (الخط الرمادي) وتركيز السكريات (الخط الرمادي المتقطع) والنمو (الخط الأسود) ومحتوى حمض المالك (الخط الأسود المتقطع). يمثل DAS عدد الأيام بعد التلدين.

يبدو التراكم الثابت للهكسوز بمعدل 24 ميكرومول/دقيقة/ Nberry خلال الأيام الـ 26 النموذج الأبسط لتطور النضج، بالمقابل من الممكن وجود نماذج أكثر تعقيداً حيث يمكن ملاحظة نشاط مفاجئ يزيد عن 30 ميكرومول/دقيقة/ Nberry في المراحل الأولى للنضج يليه طبقات تدهور طفيفة (الشكل 6a). يتناسب هذا التسلسل في تطور السكريات بشكل ملحوظ مع التأخير لمدة 6 أيام بين تاريخ التلدين وتاريخ استئناف النمو المذكور آنفاً على الثمار المفردة (Coombe and Phillips 1982)، والذي يليه فترة التوسع والتي مدتها 20 يوماً في ثمار العنب القرمي ML1 microvine. هذه الدراسة لا تؤكد استمرار نشاط النسغ عبر الخشب بعد توقف النمو الذي تم ذكره في دراسات (Keller et al., 2015 ; McCarthy and Coombe, 1999) والذي تم حسابه على مستوى المجتمع الثمري الكامل خلال مرحلة النضج المتأخر. يجب اعطاء هذه العلاقة بين تراكم الماء والسكريات اهتماماً كبيراً كونها توجه البحث العلمي نحو فهم

أفضل للتحيز الإحصائي في مجموعات تحتوي في وقت واحد ثماراً متأخرة في النضج لا تزال خضراء قاسية، وأخرى قد تجاوزت طور النضج وبدأت بالانكماش وفقد الماء.

قد يتأخر هدم (تحلل) حمض المالك عن لحظة بداية تراكم السكريات تحت درجات الحرارة المنخفضة (Rienth *et al.*, 2016). تحت ظروف تجارب هذا البحث، بدأت جميع الثمار المدروسة باستهلاك حمض المالك مباشرة عند بداية مراكمة السكريات.

يتحلل حمض المالك بثلاثة طرق، إما عن طريق تصنيع السكريات الأحادية ($2 \text{ malate} \rightarrow 1 \text{ hexose} + 2 \text{ CO}_2$) أو في عمليات التنفس ($\text{Malate} + 3 \text{ O}_2 \rightarrow 4 \text{ CO}_2 + 3 \text{ H}_2\text{O}$)، أو في عمليات التخمر ($\text{Malate} \rightarrow \text{Ethanol} + 2 \text{ CO}_2$) (Terrier *et al.*, 2009; Sweetman *et al.*, 2001).

إن استمرار تراكم السكريات بعد تركيز 0.7 مول/Nberry، (حيث يكون عندها معظم كمية حمض المالك قد تحللت)، يؤكد بأن حمض المالك لا يستهلك بالضرورة في عمليات تصنيع السكريات (الأشكال 5c و 6a). إن السرعة

الأولية لتحلل حمض المالك قد تصل إلى 8 ميكرومول مالات/دقيقة/Nberry، والتي قدرت من حركية العناصر المدروسة في مختلف التجارب (الأشكال 7 و 8)، تعادل أربعة أضعاف سرعته الاعتيادية في عينات غير متزامنة فيما بينها (0.2 ± 1.9 ميكرومول/دقيقة/Nberry) والتي حسب ابتداء من قراءات مختلفة لمجموعة من الدراسات المرجعية. وبالتالي فإن حمض المالك يلعب

دوراً ضعيفاً جداً في عملية تصنيع السكريات، كونه يستنزف تقريباً في بداية تراكم السكريات مما يمكننا من رفض النظرية التي تقول إن نشاط مسار تصنيع السكر عن طريق حمض المالك المتزامن مع نشاط نواقل السكريات في الفجوة قد يعني مشاركته في تنشيط مسار

النسغ الكامل للسكريات كون هذا الأخير يكون في قمة نشاطه خلال اليوم الأول بعد تاريخ التلين.

بالمقابل فإن المساهمة المحتملة لحمض المالك في التنفس (8 ميكرومول ماليك/دقيقة/Nberry = 24 ميكرومول أوكسجين/دقيقة/Nberry) والذي يتوافق بشكل ملحوظ مع متطلبات التنفس في الثمار الناضجة حسب (Harris *et al.*, 1971)، يدعم

بشكل كبير نظرية أن حمض المالك يعتبر العنصر الأساسي للتنفس خلال المراحل الأولى للنضج، والتي لا يمكن أن تظهر بشكل واضح في عينات الثمار غير المتزامنة (Famiani *et al.*, 2016).

في النهاية، نستطيع القول بأن هذه الدراسة تمهد لنا السبيل لتحديد الموعد الأمثل للقطاف، حيث إننا نؤكد بأن الثمرة تحتاج فقط إلى 26 يوماً للوصول إلى طور النضج التام بغض النظر عن الصنف المدروس في المنطقة البيئية الواحدة، وبالتالي فإن اختلاف أغلب الأصناف

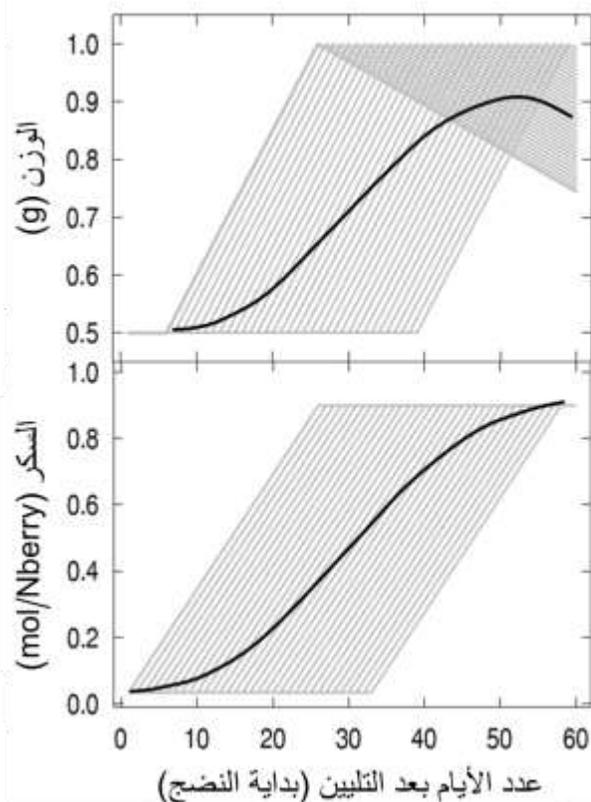
في موعد نضجها لا يعود إذاً إلى اختلاف سرعات التطور لدى ثمارها وإنما السبب الحقيقي في الاختلاف هو مدى التجانس بين الثمار على مستوى العقود الواحد وعلى مستوى الحقل ككل إذا ما أهملنا دور العامل البيئي (الشكل 9). يلعب عامل الوراثة إلى جانب الظروف

البيئية دوراً مهماً في هذا المجال فمثلاً احتاج الصنف Pinot meunier إلى 39 يوماً فقط للوصول إلى طور النضج التام، بالمقابل احتاج صنف Zinfandel إلى 65 يوماً مع أن الصنفين دخلا في الإزهار معاً تقريباً، والاختلاف فيما بينهما كان على مستوى التجانس

في الدخول في مرحلة النضج. وعلى ذلك يمكن اقتراح زيادة العمل في عمليات التربية (التهجين) للوصول إلى أصناف عالية التجانس فيما بينها وبالتالي توفير الكثير من الزمن المترافق مع توفير في كلفة العمل. إن ارتفاع درجات الحرارة خلال فترة تراكم السكريات قد

يساهم أيضاً في تسريع عمليات النضج. كما يمكن اللجوء إلى بعض العمليات الفيزيو-ميكانيكية لزيادة التجانس كرش مادة سيانيد الهيدروجين خلال الفترات التي تسبق حركة النسغ الكامل، والتي تؤمن تفتح البراعم بشكل متجانس، حيث سيتم العمل على هذه الفكرة في

المستقبل القريب.



الشكل 9. تفسير آلية تطور النمو الحجمي وتراكم السكريات لـ 20 ثمرة مفردة تبعاً للنموذج المتمثل بالشكل 8، مع فارق يوم واحد في موعد بداية النضج بين الثمرة والاخرى لنحصل على فارق نهائي 20 يوم بين الثمرة الأولى والأخيرة. يمثل كل خط رمادي تطور ثمرة مفردة بينما الخط الأسود فهو المتوسط لجميع هذه الثمار المفردة.

الاستنتاجات:

وجد في هذا البحث أن عملية نضج الثمرة أسرع زمنياً وأبسط فيزيولوجياً بكثير من تلك العينات التي تضم الكثير من الثمار غير المتزامنة فيما بينها؛ فبعد تاريخ التليين، ينشط تفريغ النسغ الكامل في الثمار فجأة بأعلى معدل لفترة زمنية تعادل 26 يوماً فقط ليتوقف بعدها. إن عملية استئناف النمو في الحجم لا تبدأ إلا بعد 6 أيام من تاريخ التليين، والذي يمكن أن يعزى إلى التأخر في تمدد غلاف الثمرة، بالمقابل يتوقف النمو الحجمي وتراكم السكريات معاً.

قد يشكل حمض المالك العنصر الأساسي في التنفس عند بداية تراكم السكريات، لكن هذه المساهمة لا تستمر حتى نهاية استيراد السكريات وتخزينها في الفجوة.

تشكل هذه الدراسة لعناصر الاستقلاب الأساسية والماء في ثمرة العنب مرجعاً أساسياً لبيانات المحتوى الكمي للثمرة المفردة، وبيانات زمن التطور الخاص بها. يشكل النموذج البسيط الذي تم التوصل له، المتحرر من التحيز الإحصائي المعتاد داخل المجتمعات الثمرية غير المتزامنة، سبيلاً جيداً يمهد الطريق لنهج النمذجة السليمة من الناحية الكمية لثمرة العنب.

المراجع:

- Castellarin, S.D.; G.A. Gambetta; H. Wada; K.A. Shackel; and M.A. Matthews (2011). Fruit ripening in *Vitis vinifera*: spatiotemporal relationships among turgor, sugar accumulation, and anthocyanin biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 62: 4345-4354.
- Coombe, B.G. (1984). The inception of ripening in the grape berry. *Quad. Vitic. Enol. Univ. Torino*. 8: 87-99.
- Coombe, B.G. (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture*. 43: 101-110.
- Coombe, B.G.; and P.E. Phillips (1982). Development of the grape berry. III. Compositional changes during veraison measured by sequential hypodermic sampling. *Proceedings of International Symposium on Grape and Wine*. 132–136.
- Dai, Z.; H. Wu; V. Baldazzi; C. van Leeuwen; N. Bertin; H. Gautier; B. Wu; E. Duchêne; E. Gomès; S. Delrot; F. Lescourret; and M. Génard (2016). Inter-species comparative analysis of components of soluble sugar concentration in fleshy fruits. *Frontiers in Plant Science*. 7.
- Dai, Z.W.; P. Vivin; T. Robert; S. Milin; S.H. Li; and M. Génard (2009). Model-based analysis of sugar accumulation in response to source sink ratio and water supply in grape (*Vitis vinifera*) berries. *Functional Plant Biology*. 36: 527-540.
- Famiani, F.; D. Farinelli; T. Frioni; A. Palliotti; A. Battistelli; S. Moscatello; and R.P. Walker (2016). Malate as substrate for catabolism and gluconeogenesis during ripening in the pericarp of different grape cultivars. *Biologia Plantarum*. 60: 155-162.
- Famiani, F.; D. Farinelli; A. Palliotti; S. Moscatello; A. Battistelli; and R.P. Walker (2014). Is stored malate the quantitatively most important substrate utilised by respiration and ethanolic fermentation in grape berry pericarp during ripening? *Plant Physiology and Biochemistry*. 76: 52-57.
- Friend, A.P.; M.C.T. Trought; and G.L. Creasy (2009). The influence of seed weight on the development and growth of berries and live green ovaries in *Vitis vinifera* L. cvs. Pinot Noir and Cabernet Sauvignon. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 15: 166-174.
- Friedel, M.; V. Sorrentino; M. Blank; and A. Schüttler (2016). Influence of berry diameter and colour on some determinants of wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Riesling. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 22: 215-225.
- Gouthu, S.; S.T. O'Neil; Y. Di; M. Ansarolia; M. Megraw; and L.G. Deluc (2014). A comparative study of ripening among berries of the grape cluster reveals an altered transcriptional programme and enhanced ripening rate in delayed berries. *Journal of Experimental Botany*. 65: 5889-5902.
- Greenspan, M.D.; K.A. Shackel; and M.A. Matthews (1994). Developmental changes in the diurnal water budget of the grape berry exposed to water deficits. *Plant, Cell & Environment*. 17: 811-820.
- Harris, J.M.; P.E. Kridemann; and J.V. Possingham (1971). Grape berry respiration: Effects of metabolic inhibitors. *Vitis*. 9: 291-298.
- Higginson, E.G.; N.D.R. Lloyd; O. Kravchuk; C.M. Ford; and M.R. Thomas (2016). A high-throughput UHPLC MS/MS method for evaluation of tartaric and malic acid concentration in individual grapevine berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 22: 16-23.

- Keller, M.; Y.U.N. Zhang; P.M. Shrestha; M. Biondi; and B.R. Bondada (2015). Sugar demand of ripening grape berries leads to recycling of surplus phloem water via the xylem. *Plant, Cell and Environment*. 38: 1048-1059.
- Luchaire, N.; M. Rienth; C. Romieu; A. Nehe; R. Chatbanyong; C. Houel; A. Ageorges; Y. Gibon; O. Turc; B. Muller; L. Torregrosa; and A. Pellegrino (2017). Microvine: A new model to study grapevine growth and developmental patterns and their responses to elevated temperature. *American Journal of Enology and Viticulture*. doi: 10.5344/ajev.2017.16066.
- Lund, S.T.; F.Y. Peng; T. Nayar; K.E. Reid; and J. Schlosser (2008). Gene expression analyses in individual grape (*Vitis vinifera* L.) berries during ripening initiation reveal that pigmentation intensity is a valid indicator of developmental staging within the cluster. *Plant Molecular Biology*. 68: 301-315.
- Matthews, M.A.; G. Cheng; and S.A. Weinbaum (1987). Changes in water potential and dermal extensibility during grape berry development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 112: 314-319.
- McCarthy, M.G. (1999). Weight loss from ripening berries of Shiraz grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Shiraz). *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 5: 10-16.
- McCarthy, M.G.; and B.G. Coombe (1999). Is weight loss in ripening grape berries cv. Shiraz caused by impeded phloem transport? *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 5: 17-21.
- Ojeda, H.; A. Deloire; A. Carbonneau; A. Ageorges; and C. Romieu (1999). Berry development of grapevines: relations between the growth of berries and their DNA content indicate cell multiplication and enlargement. *Vitis*. 38: 145-150.
- Ollat, N.; and J.P. Gaudillere (1998). The Effect of Limiting Leaf Area During Stage I of Berry Growth on Development and Composition of Berries of *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture*. 49: 251-258.
- Rienth, M.; L. Torregrosa; N. Luchaire; R. Chatbanyong; D. Lecourieux; M.T. Kelly; and C. Romieu (2014). Day and night heat stress trigger different transcriptomic responses in green and ripening grapevine (*vitis vinifera*) fruit. *BMC Plant Biology*. 14: 108.
- Rienth, M.; L. Torregrosa; G. Sarah; M. Ardisson; J. M. Brillouet; and C. Romieu (2016). Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. *BMC Plant Biology*. 16 : 1-23.
- Robin, J.P.; P. Abbal; and C. Flanzky (1996). La fermeté des baies de raisin: définition d'un indice de fermeté, corrélation avec les modifications de couleur et application à la détection précoce de la véraison. Lonvaud-Funel, A., eds. *Oenologie 95 : 5e Symposium International d' Oenologie*. (Lavoisier - Technique et Documentation : Paris, FRA) pp. 109-114.
- Robin, J.P.; P. Abbal; and J.M. Salmon (1997). Fermeté et maturation du raisin. Définition et évolution de différents paramètres rhéologiques au cours de la maturation. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 31 : 127- 138.
- Rogiers, S.Y.; D.H. Greer; J.M. Hatfield; B.A. Orchard; and M. Keller (2006). Solute transport into shiraz berries during development and late-ripening shrinkage. *American Journal of Enology and Viticulture*. 57: 73-80.
- Singleton, V.L.; C.S. Ough; and K.E. Nelson (1966). Density separations of wine grape berries and ripeness distribution. *American Journal of Enology and Viticulture*. 17: 95-105.

- Sweetman, C.; L.G. Deluc; G.R. Cramer; C.M. Ford; and K.L. Soole (2009). Regulation of malate metabolism in grape berry and other developing fruits. *Phytochemistry*. 70: 1329-1344.
- Terrier, N.; D. Glissant; J. Grimplet; F. Barrieu; P. Abbal; C. Couture; A. Ageorges; R. Atanassova; C. Léon; J.-P. Renaudin; F. Dédaldéchamp; C. Romieu; S. Delrot; and S. Hamdi (2005). Isogene specific oligo arrays reveal multifaceted changes in gene expression during grape berry (*Vitis vinifera* L.) development. *Planta*. 222: 832-847.
- Terrier, N.; and C. Romieu (2001). Grape berry acidity. Roubelakis-Angelakis, K.A., eds. *Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine*. (Springer Netherlands: Dordrecht) pp. 35-57.
- Terrier, N.; F.-X. Sauvage; A. Ageorges; and C. Romieu (2001). Changes in acidity and in proton transport at the tonoplast of grape berries during development. *Planta*. 213 : 20-28.
- Terrier, N.; L. Torregrosa; A. Ageorges; S. Vialet; C. Verriès; V. Cheynier; and C. Romieu (2009). Ectopic Expression of VvMybPA2 Promotes Proanthocyanidin Biosynthesis in Grapevine and Suggests Additional Targets in the Pathway. *Plant Physiology*. 149. 1028-1041.
- Tesnière, C.; and C. Verriès (2000). Molecular cloning and expression of cDNAs encoding alcohol dehydrogenases from *Vitis vinifera* L. during berry development. *Plant Science*. 157: 77-88.
- Torregrosa, L. (1998). A simple and efficient method to obtain stable embryogenic cultures from anthers of *Vitis vinifera* L. *Vitis*. 37: 91-92.
- Zhang, Y.; and M. Keller (2017). Discharge of surplus phloem water may be required for normal grape ripening. *Journal of Experimental Botany*. 68: 585-595.

Quantitative Flow of Water, Sugars and Organic Acids in Individual Grape Fruits During Maturity

Rezk Shahood^{*(1)} and Charles Romieu⁽²⁾

(1). Agricultural Research in Latakia, General Commission for Scientific Agricultural Research GCSAR, Damascus, Syria.

(2). INRA, Montpellier, France.

(*Corresponding author: Dr. Rezk Shahood. E-Mail: rezk.sh@hotmail.com).

Received: 10/05/2019

Accepted: 04/06/2019

Abstract

The study was conducted in order to compare the development of the individual grape fruit with those samples represented by the average number of asynchronous fruits in their development, so the flows of water, sugars and malic acid were determined in the individual fruits and their timing of development. The varieties of Pinot meunier and Syrah were used in the experimental SubAgro field, and the dwarf variety ML1 was used under laboratory-controlled conditions in Montpellier, France, during 2014/2015 season. The study was conducted using a single non-synchronized fruit (the ripening date not determined), and single fruits with defined ripening dates. The results showed non synchronicity at the beginning of sucrose storage, which is the main reason of fruits differentiation. Sugars import activity through the phloem started from softening and lasted for 26 days only. Sugar imports stopped at a concentration of 0.9 M, then sugar concentration is determined by shriveling in volume as a result of transpiration and evaporation. Growth enhanced during the first six days after ripening, then resumed. Malic acid became the major respiratory element during early ripening, where its contribution decreased rapidly and stopped in two weeks only.

Key words: Grapes, Fruits development, Metabolic flux, Sugars, Malic acid.