

تأثير الاجهاد الملحي في نمو الكالس خارج الجسم الحي لنبات الحلبة *Trigonella foenum-graecum L.*

علي حسين جاسم بشير عبد الحمزة العلواني يسرى اسماعيل الطائي أميمه محمد حسن شاكر
كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء كلية العلوم / جامعة بابل كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء

الخلاصة :

اجريت التجربة في مختبر زراعة الانسجة في كلية العلوم - جامعة بابل خلال العام ٢٠١٦ لدراسة تأثير فترات التعرض للإجهاد (٣٠ و ٦٠ يوم) في اربعة تراكيز ملحية (٥٠ و ١٠٠ و ١٥٠ و ٢٠٠ مليمولاري) بالإضافة الى معاملة المقارنة في نمو الكالس المستحث من بذور نبات الحلبة في الوسط الغذائي MS (Murashige and Skoog) الجاهز واجري التحليل الاحصائي بتجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل وبثلاثة مكررات. بينت النتائج ان الوزن الطري والنمو المطلق والنمو النسبي ومعدل النمو على اساس الوزن الطري والنسبة المئوية للمادة الجافة للكالس انخفضت بزيادة تركيز الملح وبلغ حدود المعنوية عند اعلى تركيز (٢٠٠ ملي مولاري) وبنسبة انخفاض ٣٠% و ٦٠,٣% و ٥٩,٢% و ٥٠,٩% و ٣٧% على التتابع، بينما كان التأثير معنوياً في الوزن الجاف للكالس في كل التراكيز الملحية وبلغت نسبة الانخفاض ٥١% عند التركيز ٢٠٠ mM. من جانب آخر ادى زيادة التركيز الملحي الى زيادة معنوية في المحتوى الرطوبي للكالس ولجميع التراكيز الملحية قياساً بمعاملة المقارنة وبلغ حده الاعلى عند التركيز ٢٠٠ mM وبنسبة زيادة ٤%. بالإضافة الى ان زيادة التركيز الملحي ادت الى انخفاض معنوي في دليل التحمل للإجهاد الملحي لكالس الحلبة عند التركيزين ١٥٠ و ٢٠٠ ملي مول قياساً بالتركيز ٥٠ ملي مول وكانت نسبة الانخفاض ٢٢,٦٤ و ٢٠,٣% اما فترة التعرض للإجهاد الملحي فلم يكن لها تأثير معنوي على جميع الصفات المدروسة عدا صفات معدل النمو المطلق والنسبي والمحتوى الرطوبي للكالس إذ ادى طول فترة التعرض (٦٠ يوم) الى زيادة معنوية فيها قياساً بفترة التعرض ٣٠ يوم. وكان للتداخل بين تراكيز الملح وفترة التعرض تأثير معنوي في جميع الصفات المدروسة.

كلمات مفتاحية: الاجهاد الملحي، الحلبة، الكالس.

Effect of salt stress on callus growth of fenugreek plant (*Trigonella foenum-graecum L.*) *in vitro*

Ali H. Jasim & Basheer A. Al-Alwany & Yusra I. Al-Tae & Oumamah M. Shaker

Abstract:

The experiment was conducted in the laboratory of tissue culture in the Science College – University of Babylon in 2016 to study the effect of stress exposure periods (30 and 60 days) in four concentrations of salt (50, 100, 150 and 200 mM) in addition to control treatment on growth of callus induced from fenugreek plant seeds on ready MS (Murashige and skoog) media according to complete randomized design (CRD) with ten replicates. The results showed that fresh weight, absolute growth rate, relative growth rate, growth rate on the basis of fresh weight, dry matter%, salt

tolerance index were decreased by increasing salt concentration and caused a significant effect at the highest concentration (200 mM), with a reduction percentage of 30% , 60.3% , 59.2% , 50.9 % , 37% and 39.4% respectively, while all salt concentrations caused a significant effect on the dry weight of callus with a percentage decline of 51% with the focus of 200 mM. On the other hand increasing salt concentrations led to a significant increase in callus moisture content compared to control treatment and reached its highest value at 200 mM with a percentage increase of 4%. The period of exposure to salt stress had no significant effect on all traits except the absolute and relative growth rate, since 60 days exposure period was superior significantly compared to 30 days exposure. The interaction between salt concentration and exposure period had a significant effect on all trait studied.

Key words: salt stress, fenugreek, callus

المقدمة :

و (Das ، ٢٠٠٥) وان زيادة تركيز الملح تسبب عدم التوازن الايوني والاجهاد الازموزي المفرط (Molina واخرون ٢٠٠٢) والذي يعد من اهم محددات الزراعة في المناطق الجافة وشبة الجافة. ولأهمية الحلبة الطبية واحتوائه على مركبات ثانوية تدخل في الصناعات الصيدلانية ونتيجة الحاجة المتزايدة لهذه المركبات ، يمكن توظيف تقنية زراعة الأنسجة النباتية واستخدام الهرمونات وإضافة المحفزات الى الوسط الغذائي لزيادة إنتاج المركبات الثانوية الفعالة ، ولذلك اجريت هذه الدراسة لمعرفة تأثير الاجهاد الملحي في نمو الكالس خارج الجسم الحي لنبات الحلبة.

المواد وطرائق العمل :

اجريت الدراسة في مختبر زراعة الانسجة في كلية العلوم - جامعة بابل خلال العام ٢٠١٦ لدراسة تأثير فترات الاجهاد والتراكيز الملحية في نمو كالس الحلبة . تم تحضير الوسط الغذائي باستعمال الوسط الغذائي MS (Murashige and Skoog) الجاهز (المجهز من شركة Himedia) والمحتوي على السكر والاكثار بعد اضافة ١ ملغم/لتر من 2,4-D و ١ ملغم/لتر من BA ثم وضع على الخلاط المغناطيسي من اجل الذوبان الكامل للمكونات الوسط . ثم تم ضبط pH الوسط إلى ٥,٦-٥,٨ بمحلول ١ عياري من حامض الهيدروكلوريك (HCl) أو ١ عياري من محلول هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) ومن ثم وزع

يعد نبات الحلبة (*Trigonella foenum-graecum* L) من النباتات الغذائية و لها فائدة علاجية وفعالية بيولوجية مهمة بإنتاجها الفينولات والزيوت الطيارة و المادة الصمغية و القلويدات مثل Choline و Trigonelline (Aasim واخرون ، ٢٠١٠)، وهو نبات بقولي حولي شتوي يتميز بدورة حياته القصيرة ولذلك يزرع كمحصول غذائي وطبي وكذلك علفي اضافة الى زراعته في الدورات الزراعية كمحصول بقولي محسن لخصوبة التربة من خلال تثبيت النتروجين (Sadeghzade واخرون، ٢٠٠٩). ان نبات الحلبة كباقي نباتات العائلة البقولية يتأثر بالاجهادات البيئية ومنها الاجهاد الملحي واجهاد الجفاف والاجهاد الحراري (Almansouri واخرون، ٢٠٠١). وتعد الملوحة واحدة من اهم الاجهادات غير الاحيائية التي تؤثر في انتاج النبات بالمناطق المتصحرة وشبه المتصحرة في العالم (Soughir واخرون، ٢٠١٢) وذلك لان التبخر اعلى من كمية الامطار الساقطة فيها. تعد الملوحة من المشاكل البيئية ذات التأثير السلبي والمعاكس لعملية البناء والنمو للمحصول (Rueda-Puente واخرون ، ٢٠٠٧). وتؤثر في الناحية الفسلجية للنبات من خلال احداث تغيرات في الماء والحالة الايونية للخلايا (Hasegawa واخرون ، ٢٠٠٠). الملوحة يمكن ان تغير فعالية ابيض النبات مثل تجمع العناصر الغذائية وايض الكربون وكفاءة انزيمات البناء الضوئي (Parida

استحثاث الكالس. واختبر تحمل الكالس للإجهاد الملحي وذلك بنقل الكالس المستحث (وزنه ٣٠٠ ملغم) الى انابيب تحتوي على الوسط الغذائي نفسه المستعمل في تنشئة الكالس بعد اضافة ملح كلوريد الصوديوم النقي NaCl وبتراكيز ٠, ٥٠, ١٠٠, ١٥٠ و ٢٠٠ ملي مول اليه ووضعت الزروع في غرفة النمو بنفس لمددة ٣٠ يوماً و ٦٠ يوماً في غرفة النمو بنفس ظروف التحضين المتبعة في استحثاث الكالس . بعدها تم دراسة الصفات التالية:

الوزن الطري للكالس : تم قياس الوزن الرطب للكالس باستعمال ميزان حساس كمعدل لثلاثة تكرارات (أنابيب اختبار)

الوزن الجاف للكالس: جففت العينات التي استعملت في قياس الوزن الطري في فرن كهربائي تحت درجة حرارة ٤٠ م° لحين ثبوت الوزن وحسب الوزن الجاف باستعمال ميزان حساس.

معدل النمو النسبي للكالس: تم حسابه وفق المعادلة التالية (Farshadfar واخرون، ٢٠١٤)

معدل النمو النسبي للكالس (غم / يوم) = $\text{Log } W_2 - \text{Log } W_1 / \text{time}$

معدل النمو المطلق للكالس : تم حساب معدل نمو الكالس بدلالة الوزن الطري وفق المعادلة التالية التي اوردها El- Yacoubi واخرون (٢٠١٠)

الوسط في أنابيب الزراعة وبقاوع ١٠ مل لكل أنبوبة. أغلقت الأنابيب ونقلت إلى جهاز التعقيم بالبخار (Autoclave) على درجة حرارة ١٢١ م° وضغط مقداره ١,٠٤ كغم/سم^٢ لمدة ١٥ دقيقة و بعد نهاية التعقيم أخرجت وحفظت في الثلاجة لحين الزراعة.

تم تهيئة الجزء النباتي المستعمل بوضع كمية مناسبة من البذور في علبة وغسلت بالماء المقطر ثلاث مرات للتخلص من الغبار والشوائب العالقة، ثم نقلت الى كابينة انسياب الهواء الطبقي air flow – cabinet laminar وعقمت بغمرها ب١٥ % هيبوكلورات الصوديوم مع التحريك لمدة ٧ دقائق. غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقة واحدة لثلاث مرات وتعقم كذلك ب ٧٠ % الكحول الإيثيلي مع الرج لمدة ٣٠ ثانية ثم غسلت بالماء المقطر المعقم لمدة دقيقة واحدة لثلاث مرات لإزالة الكحول الإيثيلي، ثم وضعت البذور في طبق بتري حاوي على ورقة ترشيح معقمة من أجل ازالة المياه العالقة (Awika و Rooney ، ٢٠٠٤). وزرعت البذور المعقمة بشكل مقلوب داخل انابيب الزراعة في كابينة انسياب الهواء الطبقي. حضنت انابيب الزراعة بعد اكمال الزراعة في غرفة النمو لمدة أربعة أسابيع على درجة حرارة 25±2 م° وفي الظلام لغرض

الوزن الطري للكالس نهاية التجربة – الوزن الطري للكالس بداية التجربة

معدل نمو الكالس (ملغم/ يوم) = -----

مدة تحضين الكالس في غرفة الزراعة (يوم)

نسبة المادة الجافة % = الوزن الجاف /الوزن الطري x 100
معدل النمو على اساس الوزن الطري : حسب وفق المعادلة التالية التي اوردها El- Yacoubi واخرون (٢٠١٠)

دليل التحمل للإجهاد الملحي: تم قياسه حسب المعادلة التالية (Al-Mishhadani واخرون ، ٢٠١٥)

دليل التحمل للإجهاد الملحي = الوزن الجاف /بالاجهاد الملحي / الوزن الجاف بدون ملح
النسبة المئوية للمادة الجافة للكالس : حسبت نسبة المادة الجافة للكالس وفق المعادلة (Sakthivelu واخريين، ٢٠٠٨)

الوزن الطري للكالس نهاية التجربة – الوزن الطري للكالس بداية التجربة

معدل نمو الكالس = ----- x ١٠٠

الوزن الطري للكالس بداية التجربة

المحتوى الرطوبي للكالس: حسب وفق المعادلة التالية (Liu و Huang, ٢٠٠٢)

الوزن الطري للكالس - الوزن الجاف للكالس

المحتوى الرطوبي للكالس = ----- x ١٠٠

الوزن الطري للكالس

للصوديوم (Tyagi و Sairam, ٢٠٠٤). وهذا يتفق مع ما وجدته Forooghian و Esfarayeni (٢٠١٣) بان زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ١٠٠ ملي مولاري ادت الى تخفيض الوزن الطري لكالس البطاطا بنسبة ٨٣%، وما وجدته AL- و Khuder و Taei (٢٠١٥) من ان زيادة مستوى كلوريد الصوديوم في الوسط الى ١,٥% ادى الى تقليل معنوي في كالس الحنطة بنسبة ٦١,٨%. ولم تختلف فترات التعرض للإجهاد عن بعضها معنويا في الوزن الطري للكالس على الرغم من اختلاف القيم الا ان الفروقات لم تصل الى درجة المعنوية بينها. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى وزن طري من الكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للإجهاد ٦٠ يوم (٠,٥٨٤)غم اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل وزن طري للكالس (٠,٣٩٠)غم وكانت نسبة الانخفاض ٣٣%.

تم تطبيق تجربة عاملية وفق التصميم العشوائي الكامل (CRD)، (الراوي وخلف الله، ٢٠٠٠). تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج التحليل الاحصائي (الجنستات) وقورنت المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي Least Significant Differences (L.S.D) عند مستوى احتمال (٠,٠١).

النتائج والمناقشة:

يظهر من جدول ١ ملحق ١ ان المعاملة بالتراكيز الملحية ادت الى انخفاض بالوزن الطري للكالس وبشكل معنوي عند المعاملة ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة المقارنة وكانت نسبة الانخفاض ٣٠%. وهذا قد يرجع الى ان زيادة تركيز الملح ربما ادى الى عدم قدرة الخلايا على الانقسام نتيجة زيادة الضغط الازموزي وتأثير الايونات داخل الخلايا، إضافة الى نقص القدرة على امتصاص الماء والعناصر الغذائية، بالإضافة الى السمية الايونية

جدول ١: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في الوزن الطري لكالس الحنطة (غم)

المتوسط	التراكيز الملحية mM					فترات الاجهاد
	٢٠٠	١٥٠	١٠٠	٥٠	٠	
٠,٥٠٥	٠,٣٩٠	٠,٤٧٥	٠,٥٣٣	٠,٥٥٠	٠,٥٧٥	٣٠ يوم
٠,٥٢٨	٠,٤٢٥	٠,٥١٧	٠,٥٤٠	٠,٥٦٧	٠,٥٩٣	٦٠ يوم
	٠,٤٠٨	٠,٤٩٦	٠,٥٣٧	٠,٥٥٨	٠,٥٨٤	المتوسط
	تراكيز الملحية = ٠,٠٩٤٨ الفترات = n.s التداخل = ٠,١٣٤١					أ.ف.م

معنوي لكل التراكيز الملحية وبلغت نسبة الانخفاض ٥١% عند التركيز ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة

يبين جدول ٢ ملحق ١ ان المعاملة بالتراكيز الملحية ادت الى انخفاض بالوزن الجاف للكالس وبشكل

الوزن الجاف لكالس الحلبة وما وجده **Khuder** و **AL-Taei** (٢٠١٥) من ان زيادة مستوى كلوريد الصوديوم في الوسط الى ١,٥% ادى الى تقليل معنوي في الوزن الجاف لكالس الحنطة بنسبة ٥١%. ولم تختلف فترات التعرض للاجهاد عن بعضها معنويًا في الوزن الجاف لكالس على الرغم من اختلاف القيم الا ان الفروقات لم تصل الى درجة المعنوية بينها. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى وزن جاف من الكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للاجهاد ٦٠ يوم (٠,٠٥٧٣٧)غم اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل وزن طري للكالس (٠,٠٢٦٨٣)غم وكانت نسبة الانخفاض ٥٣%.

المقارنة ، وهذا يرجع الى قلة الوزن الطري (جدول ١) لان زيادة تركيز الملح ادى الى تقليل قدرة الخلايا على الانقسام نتيجة زيادة الضغط الازموزي وتأثير الايونات داخل الخلايا ، إضافة الى نقص القدرة على امتصاص الماء والعناصر الغذائية ، والى السمية الايونية للصوديوم (Sairam و Tyagi ، ٢٠٠٤)، او قد يعود السبب الى الصدمة الازموزية او الايونية (Shanthy و Forooghian ، ٢٠١٠)، وهذا يتفق مع ما وجده Esfarayeni (٢٠١٣) بان زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ٥٠ ملي مولاري ادت الى تخفيض الوزن الجاف لكالس البطاطا بنسبة ٧٦% ، وكذلك يتفق مع ما وجده Hussein و Aqlan (٢٠١١) بان زيادة ملح كلوريد الصوديوم ادى الى انخفاض في

جدول ٢: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في الوزن الجاف لكالس الحلبة (غم)

المتوسط	التراكيز الملحية mM					فترات الاجهاد
	٢٠٠	١٥٠	١٠٠	٥٠	٠	
٠,٠٣٥٨٣	٠,٠٢٦٨٣	٠,٠٢٨٤٠	٠,٠٣٢٦٣	٠,٠٣٥٣٣	٠,٠٥٥٩٣	٣٠ يوم
٠,٠٣٩١٠	٠,٠٢٨٢٧	٠,٠٣٢٠٧	٠,٠٣٥٠٠	٠,٠٤٢٨٠	٠,٠٥٧٣٧	٦٠ يوم
	٠,٠٢٧٥٥	٠,٠٣٠٢٣	٠,٠٣٣٨٢	٠,٠٣٩٠٧	٠,٠٥٦٦٥	المتوسط
	تراكيز الملحية=٠,٠٠٨٦٣٦ الفترات= N.S التداخل=٠,٠١٢٢١٤					أ.ف.م

للكالس إذ ادى طول فترة التعرض ٦٠ يوم الى زيادة معنوية فيها قياسا بفترة التعرض ٣٠ يوم وبنسبة زيادة ٤٤,١٣%. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى معدل نمو للكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للاجهاد ٦٠ يوم (٠,٠٠٩١٧)غم/يوم اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل معدل نمو مطلق للكالس (٠,٠٠٢٠٨)غم/يوم وكانت نسبة الانخفاض ٧٧,٣٢%.

يظهر من جدول ٣ ملحوق ١ ان المعاملة بالتراكيز الملحية ادت الى انخفاض بمعدل النمو المطلق للكالس وبشكل معنوي عند المعاملة ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة المقارنة وكانت نسبة الانخفاض ٦٠,٣% ، وهذا يتفق مع ما وجده **Khuder** و **AL-Taei** (٢٠١٥) من ان زيادة مستوى كلوريد الصوديوم في الوسط الى ١% ادى الى تقليل معنوي في النمو المطلق لكالس الحنطة بنسبة ٤٢%. اما فترة التعرض للاجهاد الملحي فقد كان لها تأثير معنوي في صفة معدل النمو المطلق

جدول ٣: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في معدل النمو المطلق للكالس (غم/يوم)

المتوسط	التراكيز الملحية mM					فترات الاجهاد
	٢٠٠	١٥٠	١٠٠	٥٠	٠	
٠,٠٠٣٨١	٠,٠٠٢٠٨	٠,٠٠٣٦١	٠,٠٠٤٠٠	٠,٠٠٤٤٤	٠,٠٠٤٨٩	٣٠ يوم
٠,٠٠٦٨٢	٠,٠٠٣٠٠	٠,٠٠٥٨٣	٠,٠٠٧٧٨	٠,٠٠٨٣٣	٠,٠٠٩١٧	٦٠ يوم

المتوسط	٠,٠٠٧٠٣	٠,٠٠٦٣٩	٠,٠٠٥٨٩	٠,٠٠٤٧٢	٠,٠٠٢٥٤
أ.ف.م	تراكيز الملح = ٠,٠٠٢٩٢٣	الفترات = ٠,٠٠١٨٤٩	التداخل = ٠,٠٠٤١٣٣		

معنوية فيها قياسا بفترة التعرض ٣٠ يوم ونسبة زيادة ٤٤,٣٥%. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى معدل نمو النسبي للكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للاجهاد ٦٠ يوم (٠,٠٠٩٣٦) غم/يوم اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل معدل نمو نسبي للكالس (٠,٠٠٢٥٢) غم/يوم وكانت نسبة الانخفاض ٧٣%.

يبين جدول ٤ ملحوق ان المعاملة بالتركيز الملحية ادت الى انخفاض بمعدل النمو النسبي للكالس وبشكل معنوي عند المعاملة ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة المقارنة وكانت نسبة الانخفاض ٥٩,٢%. اما فترة التعرض للاجهاد الملحي فقد كان لها تأثير معنوي في صفة معدل النمو النسبي للكالس إذ ادى طول فترة التعرض ٦٠ يوم الى زيادة

جدول ٤: تأثير فترات الاجهاد وراكيز الملح وتداخلهما في معدل النمو النسبي للكالس (غم/يوم)

المتوسط	التركيز الملحية mM					فترات الاجهاد
	٢٠٠	١٥٠	١٠٠	٥٠	٠	
٠,٠٠٤٠٤	٠,٠٠٢٥٢	٠,٠٠٣٩٣	٠,٠٠٤٢٣	٠,٠٠٤٦٠	٠,٠٠٤٩٢	٣٠ يوم
٠,٠٠٧٢٦	٠,٠٠٣٣١	٠,٠٠٦٦٣	٠,٠٠٨٣١	٠,٠٠٨٧٢	٠,٠٠٩٣٦	٦٠ يوم
	٠,٠٠٢٩١	٠,٠٠٥٢٨	٠,٠٠٦٢٧	٠,٠٠٦٦٦	٠,٠٠٧١٤	المتوسط
	٠,٠٠٣٩١٢=التداخل	٠,٠٠١٧٥٠=الفترات	٠,٠٠٢٧٦٦=تراكيز الملحية			أ.ف.م

المعاملة بالملوحة للمدة ١٠ و ٢٠ يوماً سبب نقصان في معدل النمو النسبي لنبات الحنطة خارج الجسم الحي. ولم تختلف فترات التعرض للاجهاد عن بعضها معنوياً في معدل النمو على اساس الوزن الطري للكالس على الرغم من اختلاف القيم الا ان الفروقات لم تصل الى درجة المعنوية بينها. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى معدل نمو على اساس الوزن الطري للكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للاجهاد ٦٠ يوم (٤٩,٣%) اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل معدل نمو نسبي للكالس (١٨,٠%) وكانت نسبة الانخفاض ٦٣,٣٥%.

يظهر من جدول ٥ ملحوق ان المعاملة بالتركيز الملحية ادت الى انخفاض بمعدل النمو على اساس الوزن الطري للكالس وبشكل معنوي عند المعاملة ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة المقارنة وكانت نسبة الانخفاض ٥٠,٩%. وقد يعود سبب ذلك الى ما يسببه الملح من اضطراب في المكونات الخلوية إذ يثبط امتصاص العناصر المهمة للعمليات الفسيولوجية بالاضافة الى اختلال في التوازن الهرموني والانزيمي ونتيجة لزيادة الملوحة سيدفع الخلية الى صرف جزء من الطاقة المخصصة للنمو لتكيف تحمل هذا الاجهاد وبالتالي ينخفض معدل النمو (Talukdar, ٢٠١٢) وهذا يتفق مع ما توصل اليه Houshmand وآخرون (٢٠٠٥) ان

جدول ٥: تأثير فترات الاجهاد وراكيز الملح وتداخلهما في معدل النمو على اساس الوزن الطري للكالس (%)

المتوسط	التركيز الملحية mM	فترات
---------	--------------------	-------

الاجهاد	٠	٥٠	١٠٠	١٥٠	٢٠٠
٣٠ يوم	٤٧,٤	٤٥,٠	٤٣,٦	٣٦,٦	١٨,٠
٦٠ يوم	٤٩,٣	٤٧,٠	٤٤,١	٤١,٩	٢٩,٤
المتوسط	٤٨,٣	٤٦,٠	٤٣,٨	٣٩,٢	٢٣,٧
أ.ف.م	تراكيز الملح = ١٣,٦٦		الفترات = N.S		التداخل = ١٩,٣٢

يبين جدول ٦ ملحق ١ ان زيادة التراكيز الملحية ادت الى زيادة معنوية في المحتوى الرطوبي للكالس ولجميع التراكيز الملحية قياسا بمعاملة المقارنة وبلغ حده الاعلى عند التركيز ٢٠٠ ملي مول وبنسبة زيادة ٤% ، وهذا يتفق مع ما وجدته Forooghian و Esfarayeni (٢٠١٣) بان زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ١٠٠ ملي مولاري ادت الى زيادة المحتوى المائي لكالس. اما فترة التعرض للإجهاد الملحي فقد كان لها تأثير معنوي

في صفة المحتوى الرطوبي للكالس إذ ادى طول فترة التعرض ٦٠ يوم الى زيادة معنوية فيها قياسا بفترة التعرض ٣٠ يوم وبنسبة زيادة ٤,٠%. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى محتوى رطوبي للكالس عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة التعرض للإجهاد ٦٠ يوم (٩٤,٠٠%) اما عند معاملة المقارنة والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل محتوى رطوبي للكالس (٩٠,٢٨%) وكانت نسبة الانخفاض ٣,٩٦%.

جدول ٦: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في المحتوى الرطوبي لكالس الحلبة (%)

الاجهاد	التراكيز الملحية mM					فترات
	٠	٥٠	١٠٠	١٥٠	٢٠٠	
٣٠ يوم	٩٠,٢٨	٩٢,٤٠	٩٣,٥١	٩٣,٧٥	٩٣,٨٠	٩٢,٧٥
٦٠ يوم	٩٠,٣٤	٩٣,٤٥	٩٣,٨٥	٩٣,٩٩	٩٤,٠٠	٩٣,١٣
المتوسط	٩٠,٣١	٩٢,٩٣	٩٣,٦٨	٩٣,٨٧	٩٣,٩٠	
أ.ف.م	تراكيز الملح = ٢,٢٤٥		الفترات = ١,٤٢٠		التداخل = ٣,١٧٥	

يظهر من جدول ٧ ملحق ١ ان المعاملة بالتراكيز الملحية ادت الى انخفاض النسبة المئوية للكالس وبشكل معنوي عند المعاملة ٢٠٠ ملي مول قياسا بمعاملة المقارنة وكانت نسبة الانخفاض ٣٧%. وهذا يتفق مع نتائج Jan وآخرون ٢٠١٥ الذين وجدوا ان نمو الكالس لنبات gooseberry في الوسط الغذائي الحاوي على ١٠٠ ملي مولاري كلوريد الصوديوم يقل بصورة معنوية بعد ٦٠ يوم من التعرض قياسا بمعاملة المقارنة. ولم تختلف فترات التعرض للإجهاد عن بعضها معنويا في

معدل النمو على اساس الوزن الطري للكالس على الرغم من اختلاف القيم الا ان الفروقات لم تصل الى درجة المعنوية بينها. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج اعلى نسبة مئوية جافة للكالس عند معاملة المقارنة والفترة التعرض للإجهاد ٦٠ يوم (٩,٧٦%) اما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم فقد نتج اقل نسبة مئوية للمادة الجافة للكالس (٦,٠١%) وكانت نسبة الانخفاض ٣٨,٤٢%.

جدول ٧: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في النسبة المئوية للمادة الجافة للكالس

فترات	التراكيز الملحية mM	المتوسط
-------	---------------------	---------

الاجهاد	٠	٥٠	١٠٠	١٥٠	٢٠٠
٣٠ يوم	٩,٧٢	٧,٣١	٦,٥٥	٦,١٥	٦,٠١
٦٠ يوم	٩,٧٦	٧,٦٠	٦,٦٧	٦,٤٩	٦,٢٥
المتوسط	٩,٧٤	٧,٤٦	٦,٦١	٦,٣٢	٦,١٣
أ.ف.م	تراكيز الملح = ٢,٢٤٥ الفترات = N.S التداخل = ٣,١٧٥				

التركيز ٠,٥%. ولم تختلف فترات التعرض للاجهاد عن بعضها معنوياً على الرغم من اختلاف القيم إلا أن الفروقات لم تصل إلى درجة المعنوية بينهما. وكان للتداخل تأثير معنوي ونتج أعلى دليل تحمل للاجهاد الملحي للكالس عند التركيز ٥٠ ملي مول والفترة ٣٠ يوم (٠,٧٤٦) أما عند التركيز الملحي ٢٠٠ ملي مول والفترة ٦٠ يوم فقد نتج أقل معدل نمو نسبي للكالس (٠,٤٨٠) وكانت نسبة الانخفاض ٣٥,٦٦%.

يبين جدول ٨ ملحق ١ أن زيادة التراكيز الملحية أدت إلى انخفاض معنوي في دليل التحمل للاجهاد الملحي لكالس الحلبة عند التركيزين ١٥٠ و ٢٠٠ ملي مول قياساً بالتركيز ٥٠ ملي مول وكانت نسبة الانخفاض ٢٢,٦٤ و ٢٠,٣% عند التركيزين ١٥٠ و ٢٠٠ ملي مول على التوالي، وهذا يتفق مع Kumari وآخرون (٢٠١٥) عند دراستهم تحمل عدة أصناف من الرز للاجهاد الملحي حيث كان أعلى دليل لتحمل الكالس للاجهاد الملحي عند

جدول ٨: تأثير فترات الاجهاد وتراكيز الملح وتداخلهما في دليل تحمل الاجهاد الملحي للكالس

الاجهاد	التراكيز الملحية mM				المتوسط
	٠	٥٠	١٠٠	١٥٠	
٣٠ يوم	٠,٧٤٦	٠,٦١٠	٠,٥٥٩	٠,٤٩٢	٠,٦٠٢
٦٠ يوم	٠,٦٣٢	٠,٥٨٤	٠,٥٠٨	٠,٤٨٠	٠,٥٥١
المتوسط	٠,٦٨٩	٠,٥٩٧	٠,٥٣٣	٠,٤٨٦	
أ.ف.م	تراكيز الملح = ٠,١٦٦٦ الفترات = N.S التداخل = ٠,٢٣٥٧				

ملحق (١) جدول تحليل التباين متمثلاً بمتوسطات المربعات (M.S) للصفات المدروسة

المحتوى الرطوبي للكالس	معدل النمو على اساس الوزن الطري	معدل النمو النسبي للكالس	معدل النمو المطلق للكالس	النسبة المئوية للمادة الجافة	الوزن الجاف للكالس	الوزن الطري للكالس	D.F	S.O.V
١٢,٦٠٦	٥٨٠,٩٤	١,٦٨٩	١,٨٦٩	١٢,٦٠٦	٠,٠٠٠٨٠١	٠,٠٢٨٥٦	٤	C
٠,٢٧٥	١٣٠,٨٩	٧,٧٩٧	٦,٨٢٥	٠,٢٧٥	٠,٠٠٠٠٨٠	٠,٠٠٤٢٠	١	P
٠,٥٧٠	٢٩,٠٣	٣,٤٥٧	٢,٩٨٩	٠,٥٧٠	٠,٠٠٠٠٠٩	٠,٠٠٠٣٠	٤	C.P
٣٧,٣٥١	١٣٨٣,١١	٥,٦٧٢	٦,٣٣١	٣٧,٣٥١	٠,٠٠٠٥٥٢	٠,٠٦٦٦١	٢٠	ERROR

دليل التحمل للاجهاد الملحي	D.F	S.O.V
٠,٠٤٦٠٩٠	٣	C
٠,٠١٥٣٨٨	١	P
٠,٠٠٣٠١٤	٣	C.P
٠,١٥٦٢٣٣	١٦	ERROR

- accumulation in callus tissue. Int. J. Agric. Biol., 12: 187-193.
- Farshadfar, E.; B. Jamshidi; M. Chehri .2014. Assessment of immature embryo culture to select for drought tolerance in bread wheat. Int. J. Bio sci., 4(4): 194-203.
- Forooghian , S. and S. Esfarayeni . 2013. An evaluation of effect of salt stress on callus induction in different potato cultivars. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 13 (8): 1135-1140.
- Hasegawa, P. ; R. A . Bressan ; J. K. Zhu and H. J. Bohnert .2000. Plant cellular and molecular response to high salinity. Ann. Rev. Plant Mol. Biol., 51, 463-499.
- Houshmand S, Arzani A, Maibody SAM, Feizi M (2005) Evaluation of salt-tolerant genotypes of durum wheat derived from *in vitro* and field experiments. Field Crop Res 91:345-354
- Huang, W. and Liu, L. 2002. Carbohydrate metabolism in rice during callus induction and shoot regeneration induced by osmotic stress. Bot. Bull. Acad. Sin., 43: 107- 113.
- Hussein, E. A. and Aqlan, E. M. 2011. Effect of Mannitol and Sodium Chloride on Some Total Secondary Metabolites of Fenugreek Calli Cultured In vitro.
- المصادر :
- الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز محمود خلف الله . ٢٠٠٠. تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . العراق.
- Aasim, M.; N. Hussain ; U. E. Muhammed ; M. Zubair ; S. H. Bilal ; S. Saeed ; T. S. Rafique and C. Sancak .2010. In vitro shoot using different cytokinins. Afric. J. Biotech., 9(42):7174-7179.
- Almansouri, M.; J.M. Kinet ; S. Lutts. 2001 . Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil, 231, 243-254.
- Al-Mishhadani, I. I. ; Ismail, E. N. ; Jaddoa, K. A. ; Majeed, D. M. and Mohammed, O. A. 2015. Estimation of the interaction effect between salinity and growth regulators on salt tolerance of two bread wheat cultivars. Int. J. App. Agric. Sci., 1(4): 95-101.
- Awika, J. M.; and L. W. Rooney .2004. Sorghum phytochemical and their potential aspects on human health.Photochemistry, 65(9):1199-1221.
- El-Yacoubi, H.; Ayolie, K. and Rochdi, A.2010. In vitro cellular salt tolerance of 'Troyer' citrange: changes in growth solutes

- drought tolerance in Iranian fenugreek landraces. Food, Agric. Environ., 7(3-4), 414-419.
- Sairam, R. K. and A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Curr. Sci., 86(3):407-417.
- Sakthivelu, G.; M. K. Akitha Devi; P. Giridhar; T. Rajasekaran; G. A. Ravishankar; T. Nedev and G. Kosturkova .2008. Drought-induced alterations in growth, osmotic potential and in vitro regeneration of soybean cultivars. Gen. Appl. Plant Physiol., (Special Issue) 34 (1-2): 103-112.
- Shanthi, P. ; S Jebaraj and S. Geetha . 2010. *In vitro* screening for salt tolerance in Rice (*Oryza sativa*). Electronic Journal of Plant Breeding. 1(4): 1208-1212.
- Soughir, M. ; M.A. Elouaer and C. Hannachi . 2012 . The effect of NaCl priming on emergence, growth and yield of fenugreek under saline conditions. Cercetări Agronomice în Moldova, XLVI, No. 2 (154): 73-83.
- Talukdar, D. 2012. Modulation of plant growth and leaf biochemical parameters in grass pra (*Lathyrus sativus* L.) and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) exposed to NaCl treatments. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 2 (3): 20-28.
- Plant Tissue Cult. & Biotech., 21(1): 35-43.
- Khuder, H.H. and Y. I. H. AL-Taei . 2015. Effect of salt stress on some growth indicators and cellular components of wheat (*Triticum aestivum* L.) callus. Int. J. App. Agric. Sci., 1(4): 91-94.
- Kumari, R.; V. K. Sharma and H. Kumar.2015. Seed culture of rice cultivars under salt stress. Int. J. Pure App. Biosci., 3 (1): 191-202.
- Molina, A.; P. Bueno ; M.C. Marin ; M.P.R. Rosales ; A. Belver ; K. Venema and J.P. Donaire .2002. Involvement of endogenous salicylic acid content, lipoxygenase and antioxidant enzyme activities in the response of tomato cell suspension cultures to NaCl. New Phytologist, 156: 409-415.
- Parida, A.K. and A. B. Das .2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicol. Environ. Saf., 60: 324-349.
- Rueda-Puente, E.O. ; J. L. Garcia-Hernandez ; P. Preciado-Rangel and et al .2007. Germination of *Salicornia bigelovii* ecotypes under stressing conditions of temperature and salinity and ameliorative effects of plant growth. J. Agron. Crop Sci., 193: 167-176.
- Sadeghzade, A.D.; A.K. Kashi ; M.R. Hassandokht ; A. Amri and K. Alizade . 2009. Assessment of

