مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية ــ (2012) المجلد (28) ــ العدد 2 ــ الصفحات: 143-159

الاستجابات المورفولوجية والفيزيولوجية لأصلين من التفاح البري (*Malus trilobata*) و(*Malus communis*) للإجهاد المائي

حسان عبيد[1] وعصام فلوح[2] وينس ليون[3]

الملخص

دُرس أصلان من التفاح البري (*Malus communis* و *Malus trilobata*) إذ هدف هذا البحث إلى دراسة التغيرات المورفولوجية والفيزيولوجية لهذين الأصلين بتأثير فترات قصيرة من الجفاف إذ عُطّشت بعض النباتات مدة عشرين يوماً، أو بالإجهاد المائي وذلك بري النباتات بمحلول من البولي أتيلين غليكول 6000 (PEG 6000) بتراكيز مختلفة من الجهود الحلولية (-0.7، -1.6 و -2.4 ميغاباسكال)، فضلاً عن نباتات الشاهد التي رُويت مرة كل يومين. ولدراسة تأثير الجفاف أو الإجهاد المائي في التغيرات المورفولوجية تم قياس طول النبات، وعدد الأوراق ومساحة المسطح الورقي، ولدراسة التغيّرات الفيزيولوجية قيس التألق الشعاعي لليخضور وتركيز اليخضور في الأوراق، كما قيس محتوى الماء والبرولين في الأوراق والجذور. بيّنت نتائج التحليل الإحصائي انخفاض معدل النمو التشكلي للغراس، وتأثر النظام الضوئي الثاني (PS II) في عملية التمثيل الضوئي وانخفاض تركيز اليخضور وزيادة تراكم البرولين في الأوراق والجذور، وذلك مع تأثير الجفاف مدة 20 يوماً وتأثير الإجهاد المائي باستخدام PEG-6000 الذي قد يعزى إلى زيادة معدل نقص المحتوى المائي في التربة، والجذور والأوراق.

الكلمات المفتاحية: غراس تفاح، يخضور، التألق الشعاعي، *Malus trilobata*، *Malus communis*، بولي أتيلين غليكول، نمو النبات، البرولين، الإجهاد المائي.

[1] قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية.
[2] الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دوما، دمشق، سورية.
[3] معهد تربية النبات في كلية الزراعة، جامعة بون، ألمانيا.

Morphological and physiological responses of two wild apples rootstocks (*Malus trilobata*) and (*Malus communis*) to water stress

H. Obaid[(1)]; I. Fallouh[(2)] and J. Léon[(3)]

ABSTRACT

This study was conducted on two rootstocks of apple (*Malus Trilobata*) and (*Malus Communis)*. The objective of the present work was to study the morphological and physiological responses of apple to short term water stress by irrigation with water and different osmotic potential of PEG 6000. The water stress was induced by water reduce and by polyethylene glycol (PEG) 6000, some plants were irrigated three time a week, as a control. Another were irrigated one time at 20 days. The water stress induced by PEG solution was induced by two osmotic potentials of -0.7 and -1.6 and -2,4 MPa. To evaluate the effect of water stress on plants, the plant length, number of leaves, leaves area, water content, fluorescence, chlorophyll value and proline accumulation, were measured.

Statistic analysis of results suggest that the water stress by water deficit irrigation (20 days drought) or by PEG 6000 showed a decrease in plant growth as the morphological characteristic of apple seedlings, and led to decrease photosynthesis (PS II), and chlorophyll value, and increase proline in the leaves and roots, in relationships to the water content reduction in soil, roots and leaves.

Key words: Apple seedlings, Chlorophyll, Fluorescence, *Malus trilobata* ،*Malus communis*, PEG, Plant growth, Proline, Water-stress,

[(1)]Department of horticultural science, faculty of agriculture, Damascus university.
[(2)]Scientific Agricultural Research, Duma, Damascus, Syria.
[(3)]Institut für Pflanzenzüchtung INRES, Katzenburgweg 5, 53115 Bonn, Germany.

المقدمة

يعدُّ الجفاف من أهم العوامل البيئية التي تؤثر سلباً في نمو النبات وفي العمليات الفيزيولوجية والحيوية والاستقلابية، كما يعدُّ الجفاف عاملاً محدداً ومهماً في توزع النباتات وإنتاجيتها ونوعية الثمار المنتجة (Agnes, *et al.*, 2002, Bray, 1997). ولا بدّ من زيادة الاهتمام بعامل الجفاف وذلك في إطار التزايد الكبير في عدد السكان على الكرة الأرضية. ويتطلب هذا التزايد الكبير زيادة كبيرة في الإنتاج النباتي كمصدر لغذاء الإنسان. لذلك من الضروري البحث عن إجراء المزيد من الدراسات التي يمكن من خلالها زيادة الإنتاج النباتي في المناطق الجافة أو الشبه جافة من خلال إيجاد بعض الأصول المتحملة للجفاف التي يمكن التطعيم عليها، ومحاولة الاستفادة - قدر الإمكان- من الأرض القابلة للزراعة في هذه المناطق. هذا وتساعد معرفة تأثيرات الجفاف في النبات ومعرفة أضرار إجهاد الجفاف وميكانيكية مقاومة بعض النباتات لإجهاد الجفاف في استنباط أصناف من النباتات أكثر مقاومة للجفاف، ويجري ذلك بالتهجين أو بطرائق التحسين الوراثي المختلفة (El-Aref, 2002, Mohamed, *et al.*, 2000).

وتعتمد دراسة تأثير الجفاف في النبات على تعريض النبات إلى بيئات ذات رطوبة منخفضة نسبياً أو بتعريض جذور النبات إلى بيئة ذات جهد مائي منخفض، ويجري ذلك إمّا من خلال التحكم في كمية ماء الري أو في عدد مرات الري أو باستخدام بعض المركبات العضوية لخفض جهد ماء التربة، ومن هذه المركبات المانيتول Mannitol أو بولي إيتيلين غليكول Polyetheylen glycol (PEG) التي تعتمد على مبدأ سحب الماء من النبات بوجود فرق في الجهد الحلولي (osmotic potential) بين الوسط الداخلي والخارجي وبحسب تركيز المحلول (Skribanek and Tomcsányi 2008, Dami and Hughes, 1996). كما تدل البحوث على أن التسميد بالعناصر المعدنية مثل البوتاسيوم والكالسيوم التي تزيد من صلابة الأغشية والجدر الخلوية ومتانتها للنبات تساعد في زيادة مقاومته للإجهادات البيئية مثل زيادة تحمل النبات للجفاف أو للإجهاد المائي (Ming, *et al.*, 2003, Gao, *et al.*, 1999, Robin, *et al.*, 1989).

ويعتمد تأثير الجفاف في النبات على شدة الإجهاد وعلى وقت حدوثه وعلى طول مدة تعرض النبات له، وأيضاً بحسب مرحلة نمو النبات (Sinhabab and Rup kumar 2003). والعمليات الفيزيولوجية الحساسة للجفاف هي التي تتأثر بالإجهاد. وأول تأثير للجفاف يشمل نقص المحتوى المائي في التربة وتغيّر المحتوى المائي في الأنسجة النباتية ويشمل تغير جهد الماء ومكوناته ويلي ذلك زيادة مقاومة الثغور لحركة الغازات وبخار الماء ونقص في التمثيل الضوئي وتثبيط لنمو النبات ونقص الإنتاج النباتي وزيادة معدل شيخوخة الأوراق وتساقطها (Molnar, *et al.*, 2002, Lawlor and Cornic,2002).

تشير العديد من البحوث إلى مدى تأثير الجفاف في نمو كثير من النباتات، إذ إنّ الجفاف يثبط نمو أعضاء النبات جميعها (Sircelj, *et al.*, 2005)، لكن تعتمد درجة التثبيط على كل من النوع والصنف النباتي، نوع العضو النباتي، ومرحلة النمو والتطور وعلى معدل انخفاض جهد الماء في كل من الوسط البيئي وأنسجة النبات (Sinhabab and Rup kumar 2003). ويرجع تثبيط الجفاف للنمو إلى تناقص ضغط الامتلاء. وقد وجد في دراسة على أوراق نبات فول الصويا أن هناك علاقة طردية بين معدل استطالة الأوراق وجهد ضغط الامتلاء. إذ إنّ نقص وصول الماء إلى الأنسجة النامية يعود إلى نقص التدرج في جهد الماء بين الخشب والخلايا النامية (Duan, *et al.*, 2004 ,Porcel, *et al.*, 1994). كما لوحظ أن الإجهاد المائي يؤدي إلى تراكم السكر والبرولين في كل من الأوراق والجذور (Suriyvan *et al.*, 2010).

الهدف من البحث

هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير الجفاف أو الإجهاد المائي في التغيّرات المورفولوجية والفيزيولوجية لأصلي التفاح البريين المدروسين. إذ دُرس تأثير الجفاف في نمو النباتات والتألق الشعاعي لليخضور ومحتوى اليخضور فضلاً عن محتوى الأوراق والجذور من الماء والبرولين، وذلك من جهة لتحديد مدى تحمل الأصل لمستوى معين من الجفاف مقارنة بالشاهد، ومن جهة أخرى لتحديد أي من الأصلين أكثر تحملاً للجفاف.

مواد البحث وطرائقه

1- المادة النباتية:

دُرست غراس عمرها 3 اشهر من أصلين من أصول التفاح البرية وهي:

Malus communis, Malus trilobata

- الأصل *Malus trilobata* التفاح ثلاثي الأوراق، تم الحصول على بذوره مباشرة من الثمار المقطوفة من أشجار التفاح البرية من منطقة في شمال سورية. الذي اكتُشف مؤخراً (الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية)، سُمّي بهذا الاسم لوجود الأوراق بشكل ثلاثي على الطرود.
- الأصل *Malus communis* ويسمى التفاح الشائع، وهو من التفاح البري المنتشر في مناطق أوربا، آسيا وشمال أفريقية، وقد تم الحصول على بذوره من وزارة الزراعة.

نُفّذ هذا البحث في البيت الزجاجي ومخابر معهد تربية النبات في كلية الزراعة بجامعة بون، ألمانيا، حيث نضّدت البذور مدة 45 يوماً، وبعدها أُزيل الغلاف البذري لتسريع عملية إنبات البذور، ومن ثم زرعت البذور في أصص بحجم $9\times9\times9$ سم في وسط من البيت موس (professional soil type 73, Germany) الحاوي على العناصر

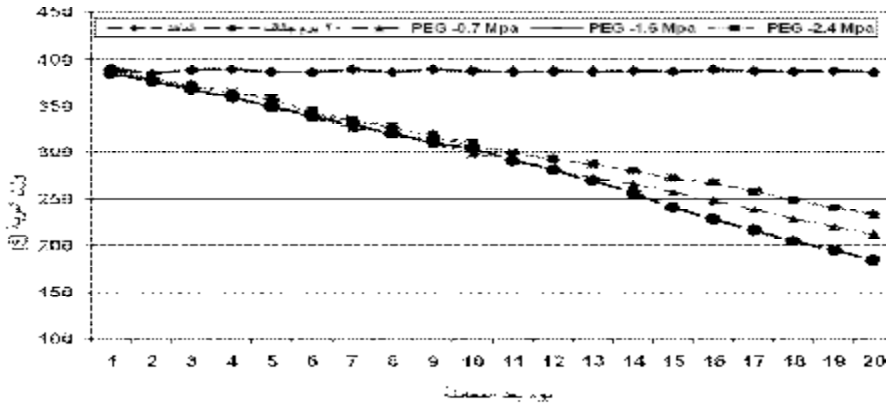
المعدنية الضرورية للنبات. ووضعت الغراس في البيت الزجاجي في درجة حرارة 17 -25 درجة مئوية.

2- المعاملات:

طُبّقت معاملات الجفاف أو الإجهاد المائي على الأصول وفقاً لما يأتي:

المعاملة	
المعاملة الأولى (شاهد)	الري بالماء كل يومين
المعاملة الثانية (تعطيش)	جفاف (تعطيش) النباتات مدة 20 يوماً
المعاملة الثالثة (PEG)	الري بمحلول PEG (o.p. -0.7 Mpa)
المعاملة الرابعة (PEG)	لري بمحلول PEG (o.p. -1.6 Mpa)
المعاملة الخامسة (PEG)	لري بمحلول PEG (o.p. -2.4 Mpa)

ويوضح الشكل (1) تغير وزن التربة خلال 20 يوماً من الجفاف والمعاملة بمحلول PEG-6000، إذ يتبيّن تناقص معدل محتوى الماء حتى نهاية التجربة، كما حُسب محتوى التربة من الماء (water content %) وذلك في نهاية التجربة، لتحديد مستوى الرطوبة الأرضية في التربة لمختلف المعاملات المدروسة، ومن ثمّ تحديد درجة الإجهاد المائي وتأثير ذلك في الصفات المورفولوجية والفيزيولوجية لغراس أصلي التفاح المدروسين. إذ يلاحظ محتوى رطوبي في الشاهد 70%، في حين راوحت في معاملات الجفاف والإجهاد بمحلول PEG بين 20% وحتى 29%.



الشكل (1) تغيرات محتوى الماء في التربة ومعدل الرطوبة الأرضية بعد 20 يوماً من الجفاف والإجهاد المائي

الجدول (1) وقد بلغ محتوى الماء (%) في التربة بعد 20 يوماً من الجفاف والمعاملة بمحلول (PEG)

شاهد	جفاف مدة 20 يوماً	PEG -0.7 ميغا باسكال	PEG -1.6 ميغا باسكال	PEG -2.4 ميغا باسكال
% 70	% 20.2	% 26.4	% 29	% 28.3

3- التصميم التجريبي وتحليل النتائج:

صُمّمت التجربة بطريقة القطاعات العشوائية الكاملة بتطبيق خمس معاملات من الإجهاد المائي على أصول التفاح المنتخبة، وكررت كل معاملة ثلاث مرات واحتوى كل مكرر على 8 غراس. بعد الحصول على القراءات أُدخلت إلى برنامج Excel، ومن ثم حُلّلت إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SAS-Programm (statistic analysis software) إذ قورنت متوسطات المعاملات باختبار المدى المتعدد لدونكان (Duncen Test) على مستوى 5%.

4- مؤشرات الدراسة والقراءات:

4-1- ارتفاع النبات (plant length): يمثل متوسط طول الغرسة (سم) من نقطة اتصال الساق مع الجذر عند سطح التربة حتى أعلى نقطة فيها.

4-2- قياس مساحة المسطح الورقي (leaves area): أُجري بواسطة جهاز قياس مساحة المسطح الورقي فوتوسكنر، الموصول إلى جهاز حاسوب محمول وبواسطة برنامج خاص يحسب مساحة المسطح الورقي مباشرة بالقيمة (سم^2).

4-3- عدد الأوراق على النبات (leaves number): حُسب في نهاية التجربة عدد الأوراق المتشكلة على النبات.

4-4- محتوى الماء في الأوراق والجذور (water content): أُخذت كافة أوراق النباتات وجذوره كلّها في نهاية التجربة حيث وزنت الأوراق بالحالة الطبيعية لمعرفة الوزن الرطب، ثم وضعت كل من الأوراق والجذور في مجفف على درجة حرارة (105) درجة مئوية مدة 48 ساعة للحصول على الوزن الجاف الثابت. وحسب محتوى الماء وفق المعادلة الآتية:

محتوى الماء (%) = (الوزن الرطب – الوزن الجاف) / الوزن الرطب × 100

4-5- تقدير معدل اليخضور في الأوراق (chlorophyll value): قيس معدل اليخضور في الأوراق بواسطة جهاز مينولتا (SPAD-502)، وذلك على النباتات مباشرة في البيت الزجاجي حيث احتوت كل قراءة في المعاملة على أربع أوراق لكل نبات و8 نباتات في ثلاثة مكررات (ن=96). ويمكن من خلال القياس معرفة المحتوى النسبي

للأوراق من اليخضور الذي قيس في مساحة من 2-3 مم من سطح الورقة (Porro *et al*., 2001; Netto *et al*., 2005).

4-6-قياس التألق الشعاعي لليخضور (Chlorophyll-fluorescence):

قياس التألق الشعاعي لليخضور بواسطة جهاز التألق الشعاعي بام 2000 من شركة فالز ألمانيا (Fluorometer, Portable fluorescence PAM 2000, Walz, Germany) (Schreiber 1986). إذ تُحدّد أولاً (Fo) الحالة الأساسية لجزيء اليخضور وتُحسب الطاقة اللازمة لتهيج هذا الجزيء بما يسمى الحالة المتهيجة (Fm)، أي ارتفاع في مستوى الطاقة (الكوانتوم Quantum) لواحد أو أكثر من الإلكترونات التي تقفز من مدار إلى مدار أبعد في النظام الضوئي الثاني، وذلك بعد تعريض الأوراق إلى إضاءة عالية بلغت شدتها 1800 mol µ/ في الثانية، إذ إنّ امتصاص الضوء يهيج جزيء اليخضور ويطلق إلكتروناً، أي أنّ الجزيء يصبح متأيناً ويمكن للالكترون أن يُستقبل من قبل أجسام جديدة تسمى المستقبلات الإلكترونية ثم يعود إلى جزيء اليخضور. وعليه تُحدّد المعطيات المختلفة كقياسات لتحديد تأثير الإجهاد الجفافي في عملية التمثيل الضوئي وانتقال الإلكترونات في النظام الضوئي الثاني (Photosystem II):

$$Fv/Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

إذ إنّ:

Fv = التألق الشعاعي القابل للتغيّر لليخضور (Variable fluorescence)

Fo = التألق الشعاعي الأساسي لليخضور (Grund fluorescence)

Fm = التألق الشعاعي الأعظمي لليخضور (Maximal fluorescence)

4-7-قياس محتوى البرولين في الأوراق والجذور (proline content):

حُلّل البرولين بحسب طريقة (Bates, *et al*., 1973) حيث أخذت الأوراق والجذور، ووزنت ثم وضعت في زجاجات ومباشرة في النتروجين السائل، بعد تجفيف العينات في المجفدة طُحنت، ثم أخذت كمية من العينة تعادل 0.03 غ وزناً جافاً، والتي مزجت مع 2 مل من محلول (3% sulfosalicylic acid) ومزجت ثلاث مرات لمدة 15 ثانية. ثم ثفلت مدة 10 دقائق بمعدل 14000 د/د. أضيف إليها 1 مل من حمض الخل و1 مل من نينهدرين، ووضعت لمدة ساعة في حمام مائي في درجة حرارة 100 درجة مئوية. بعد التبريد أضيف إلى المزيج 2 مل من التولوين، ومُزجت بشكل جيد. من ثم قيس البرولين بوساطة جهاز مقياس الطيف الضوئي بطول موجة 520 nn وذلك بناءً على خط بياني من البرولين كمقياس لتحديد محتوى البرولين في العينات التي حسبت بمعدل (mmol/g. DW) (ميلي مول/غ وزن جاف).

النتـــائـــج

1- تأثير الإجهاد المائي في التغيرات المورفولوجية (الشكلية) لغراس أصلي التفاح *Malus communis* و *Malus trilobata*:

تبيّن نتائج تأثير الجفاف أو الإجهاد المائي في نمو غراس أصلي التفـــاح المدروســـين وتطورهما، عدم جود فروق معنوية ما بين الأصلين في طول النبات وعدد الأوراق، ولكن الفرق كان معنوياً في مساحة المسطح الورقي إذ بلغت في الأصـــل*Malus communis* (18.67 سم^2) مقابل (15.75 سم^2) في الأصل *Malus tribolata* (الجدول 2).

وبشكل عام انخفض معدل طول النبات وعدد الأوراق ومساحة المسطح الورقي بتأثير الجفاف مدة عشرين يوماً أو برفع جهد الماء لمحلول التربة بواسطة PEG، وقـــد أظهـــر الأصل *Malus tribolata* فروقاً معنوية في طول النبات ومـــساحة المـــسطح الـــورقي وفروقاً ظاهرية في عدد الأوراق وذلك بين معاملات الإجهاد المـــائي مقارنـــة بنباتـــات الشاهد. بينما أظهرت نتائج طول النبات في الأصل *Malus communis* فرقـــاً معنويـــاً فقط بين معاملة الجفاف لعشرين يوماً (9.47 سم) مقارنة بالشاهد (11.93 سم)، في حين لم يكن بين معاملات الري بمحلول البولي أتيلين غليكول (PEG) والشاهد أيـــة فـــروق معنوية (الجدول 2)، كما لم تظهر قراءة عدد الأوراق على النبات أية فروق معنوية بـــين المعاملات، وانخفضت أيضاً وبشكل معنوي مساحة المسطح الورقي في معاملات الإجهاد المائي كلها مقارنةً بالشاهد (الجدول 2).

الجدول (2) تأثير الإجهاد المائي فـــي نمـــو غـــراس أصـــلي التفـــاح *Malus communis* و*Malus trilobata*

المعاملة \ الأصول	طول النبات (سم) Plant length (cm)		عدد الأوراق Leaves number		مساحة المسطح الورقي (سم2) Leaves area (cm^2)	
	Malus communis	*Malus trilobata*	*Malus communis*	*Malus trilobata*	*Malus communis*	*Malus trilobata*
شاهد	11.93 ab	14.1 a	17.7 a	19.5 a	23.59 a	17.84 a
جفاف لمدة 20 يوم	9.47 b	10.35 b	14.8 a	15.8 ab	17.61 b	15.43 bc
PEG -0.7 ميغا باسكال	12.4 ab	10.1 b	16.3 a	21.5 a	18.91 b	15.59 bc
PEG -1.6 ميغا باسكال	10.3 ab	9.77 b	19.3 a	21.3 a	14.22 c	13.71 c
PEG -2.4 ميغا باسكال	14.68 a	10.43 b	19.5 a	15.2 b	19.06 b	16.16 ab
المتوسط	11.76 a	10.95 a	17.53 a	18.37 a	18.68 a	15.75 b

التحليل	DF	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
المعاملة	4	5.89	0.0004	3.40	0.0130	11.47	<0.0001
الأصول	2	1.25	0.2936	0.93	0.3994	26.22	<0.0001
الأصول×المعاملة	8	1.99	0.0594	1.51	0.1686	3.42	0.0009

2- تأثير الإجهاد المائي في المحتوى المائي (water content) في أوراق غراس أصلي التفاح وجذوره *Malus communis* و*Malus trilobata*:

بيّنت نتائج المحتوى المائي في أوراق غراس أصلي التفاح انخفاض هذا المحتوى وبشكل معنوي بين معاملات الإجهاد المائي وبين الشاهد، ويعود ذلك إلى نقص الماء في الأوراق نتيجة عدم قدرة النباتات على امتصاص الماء لنقصه في التربة أو لوجود فرق في الجهد الحلولي بين الوسط الداخلي للنبات وبين محلول التربة. وقد أظهرت نباتات الشاهد في الأصل *Malus communis* محتوىً مائياً أعلى مما هو عليه في نباتات الشاهد لدى الأصل *Malus trilobata* ، ويعود ذلك إلى مساحة المسطح الورقي الكبيرة التي تميّز بها ذلك الأصل، إلا أن تحمل الأصل *Malus trilobata* للإجهاد المائي كان أعلى مما هو في الأصل *Malus communis*، وهذا يتضح من خلال النسبة في معدل نقص الماء بين نباتات الشاهد وبين معاملات الإجهاد المائي ولاسيّما عند معاملات الري بمحلول البولي اتيلين غليكول 6000 (الجدول 3)

أمّا فيما يتعلق بتأثير الإجهاد المائي في محتوى الماء في الجذور فقد بيّنت النتائج كما هو الحال في محتوى الماء في الأوراق أن الأصل *Malus trilobata* تفوق في محتوى الماء في الجذور (79.4%) على ما هو عليه في الأصل *Malus communis* (74.25%). حيث انخفض في الأخير محتوى الماء معنوياً في معاملات الإجهاد المائي كلّها مقارنة بالشاهد، بينما أظهر الأصل *Malus trilobata* محتوىً مائياً أعلى في جذوره التي كانت معنوية فقط في الجفاف مدة 20 يوماً ومعاملة (PEG -2.4 Mpa)؛ ولكنها بقيت أعلى من مثيلاتها في الأصل *Malus communis* (الجدول 3).

الجدول (3) تأثير الإجهاد المائي في محتوى الماء لأوراق غراس أصلي التفاح وجذوره *Malus communis* و*Malus trilobata*

		محتوى الماء % (أوراق) % water content (leaves)		محتوى الماء % (جذور) %water content (roots)	
الأصول / المعاملة		*Malus communis*	*Malus trilobata*	*Malus communis*	*Malus trilobata*
شاهد		70.15 a	66.34 a	86.76 a	85.56 a
جفاف لمدة 20 يوم		43.93 c	55.62 d	62.77 c	70.63 d
-0.7 ميغا باسكال PEG		57.97 b	59.90 c	71.79 bc	80.95 a
-1.6 ميغا باسكالPEG		61 33 ab	61.96 b	75.21 b	83.69 a
-2.4 ميغا باسكالPEG		59 67 ab	57.29 d	74.72 b	76.17 b
المتوسط		58.61 a	60.22 a	74.25 b	79.4 a
التحليل	DF	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
المعاملة	4	25.92	<0.0001	35.02	<0.0001
الأصول	2	4.91	0.0099	18.85	<0.0001
الأصول×المعاملة	8	1.91	0.0708	1.67	0.1201

3- تأثير الإجهازد المائي في التألق الشعاعي لليخضور (Chlorophyll fluorescence) وتركيز اليخضور لأوراق غراس أصلي التفاح *Malus communis* و *Malus trilobata*:

أبدى الأصل *Malus trilobata* تركيز يخضور أعلى معنوياً (42.1) مقارنة بالأصل *Malus communis* (37.9). كما أنه أظهر تحملاً أكبر للإجهاد المائي مقارنة بالأصل *Malus communis* إذ لم تكن هناك فروق معنوية بين معاملات الإجهاد المائي كلّها بالري بمحلول البولي أتيلين غليكول مقارنة بالشاهد، بينما كان الفرق معنوياً بين تأثير الجفاف مدة عشرين يوماً (38.79) وبين الشاهد (43.93)، وعلى العكس من ذلك انخفض معدل اليخضور أحياناً معنوياً وأحياناً ظاهرياً في معاملات الإجهاد المائي في الأصل *Malus communis* مقارنة بالشاهد، ولكنه بقي معدل اليخضور في الحالات كلّها في هذا الأصل أقل مما هو عليه في الأصل *Malus trilobata* (الجدول 4).

أمّا تأثير الإجهاد المائي في التألق الشعاعي لليخضور فقد دلت النتائج على تحمل الأصل *Malus trilobata* بشكل أكبر من الأصل *Malus communis*، إذ لم يلاحظ في الأول أية فروق معنوية بين معاملات الإجهاد المائي وبين الشاهد، في حين كان الفرق في الثاني معنوياً بين معاملة الجفاف مدة عشرين يوماً (0.732) وبين الشاهد (0.823)، كما كان الانخفاض ظاهرياً في معاملات الري كلّها بدرجات متزايدة من الجهد الحلولي لمحلول البولي اتيلين غليكول مقارنة بنباتات الشاهد، إذ يدلُّ هذا على تأثر عملية التمثيل الضوئي في النبات بتأثير الإجهاد المائي، وهذا يؤثر بدوره في معدل اليخضور وفي نمو النبات وتطوّره (الجدول 4).

الجدول (4) تأثير الإجهاد المائي في التألق الشعاعي لليخضور (Chlorophyll fluorescence) وتركيز اليخضور لأوراق غراس أصلي التفاح *Malus communis* و *Malus trilobata*

		تركيز اليخضور Chlorophyll value		التألق الشعاعي لليخضور (Fv/Fm) Chlorophyll fluorescence	
الأصول / المعاملة		*Malus communis*	*Malus trilobata*	*Malus communis*	*Malus trilobata*
شاهد		40.04 a	43.93 a	0.823 a	0.822 a
جفاف لمدة 20 يوم		33.86 c	38.79 b	0.732 b	0.818 a
0.7-PEG ميغا باسكال		40.89 a	41.44 ab	0.815 ab	0.823 a
1.6- PEG ميغا باسكال		36.54 bc	43.82 a	0.816 ab	0.818 a
2.4- ميغا باسكالPEG		38.12 ab	42.32 a	0.814 ab	0.822 a
المتوسط		37.9 c	42.1 a	0.800 a	0.820 a
التحليل	DF	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
المعاملة	4	10.09	<0.0001	3.36	0.0112
الأصول	2	23.42	<0.0001	2.12	0.1237
الأصول xالمعاملة	8	2.09	0.0377	1.47	0.1716

4- تأثير الإجهاد المائي في محتوى الأوراق والجذور من البرولين (proline content) في غراس أصلي التفاح *Malus communis* و *Malus trilobata*:

تبيّن نتائج تأثير الجفاف أو الإجهاد المائي في محتوى الأوراق من البرولين تفوق الأصل *Malus trilobata* بمحتوى أقل من البرولين في الأوراق (2.47 ميلي مول/غ وزناً جافاً) مقارنة بالأصل *Malus communis* (4.33 ميلي مول/غ وزناً جافاً). إذ أظهر الأصل *Malus trilobata* تحملاً أكثر للجفاف مدة عشرة أيام (3.08 ميلي مول/غ وزناً جافاً) مقارنة بالأصل *Malus communis* (11.16 ميلي مول/غ وزن جاف)، وذلك بالمقارنة أيضاً بالشاهد في الأصل نفسه، بينما انخفض محتوى الأوراق من البرولين في معاملات الإجهاد المائي بمحلول PEG كلّها مقارنة بالشاهد وفي كلا الأصلين (الجدول 5).

أمّا بالنسبة إلى تأثير الإجهاد المائي في محتوى الجذور من البرولين فلم يظهر أي فرق معنوي في جذور الأصلين المدروسين. وكان محتوى البرولين في جذور الشاهد أقل منه مما هو عليه في أوراق الشاهد وفي كلا الأصلين، وكما هو الحال بالنسبة إلى محتوى الأوراق من البرولين أظهر الأصل *Malus trilobata* محتوى أقل من البرولين في الجذور في معاملات الجفاف كلّها أو الإجهاد المائي مما هو عليه في الأصل *Malus communis* إذ بلغ محتوى البرولين نتيجة الجفاف مدة 20 يوماً في جذور الأصل *Malus trilobata* (3.77 ميلي مول/غ وزناً جافاً) مقارنة بالمعاملة نفسها في الأصل *Malus communis* (4.38 ميلي مول/غ وزناً جافاً). كما لوحظ ارتفاع تركيز البرولين في الجذور في معاملات البولي أتيلين غليكول على خلاف ما هو عليه في الأوراق، التي تبيّن فيها انخفاض تراكم البرولين في الأصل *Malus trilobata* عما هو عليه في الأصل *Malus communis* وبالتراكيز نفسها من PEG (الجدول 5).

الجدول (5) تأثير الإجهاد المائي في محتوى الأوراق والجذور من البرولين في غراس أصلي التفاح *Malus communis* و *Malus trilobata*:

		برولين (أوراق) ميلي مول/غ وزن جاف Proline (leaves)		برولين (جذور) ميلي مول/غ وزن جاف Proline (roots)	
الأصول / المعاملة		*Malus communis*	*Malus trilobata*	*Malus communis*	*Malus trilobata*
شاهد		3.48 b	3.07 a	2.56 b	1.95 c
جفاف لمدة 20 يوم		11.16 a	3.08 a	4.38 ab	3.77 ab
-0.7 ميغا باسكال PEG		3.01 b	1.76 b	2.33 b	2.45 c
-1.6 ميغا باسكالPEG		1.83 b	1.80 b	6.31 a	5.01 b
-2.4 ميغا باسكالPEG		2.16 b	2.68 ab	6.01 a	4.99 b
المتوسط		4.33 a	2.47 b	4.32 a	3.63 a
التحليل	DF	F Value	Pr > F	F Value	Pr > F
المعاملة	4	29.33	<0.0001	16.48	<0.0001
الأصول	2	6.87	0.0014	0.50	0.4816
الأصول×المعاملة	8	6.08	<0.0001	5.63	0.0008

المناقشة

إن انخفاض معدل نمو الغراس بشكل عام سواء تحت تأثير الجفاف بنقص الماء مدة عشرين يوماً أو بالري بمحلول البولي أتيلين غليكول (PEG-6000) وخاصة في التراكيز المرتفعة من الجهود الحلولية، يعود إلى انخفاض معدل امتصاص الماء من قبل جذور النباتات والضروري لتحول المدخرات الغذائية وتحلّلها وانتقالها (Rubio, *et al.*, 2002)، فضلاً عن تأثير الجفاف في نشاط الأنزيمات المحللة للمواد الغذائية، ونقلها وتمثيلها، إذ لوحظ أن نشاط أنزيم β-amylase وα-amylase يثبط وبشكل كبير بفعل الجفاف (Yan, *et al.*, 2006, Todaka, *et al.*, 2000). كما أدى انخفاض جهد الماء في منطقة الجذر بسبب نقص المحتوى المائي بتأثير طول مدة الجفاف أو بوجود فرق في الجهد الحلولي بين داخل النبات وخارجه إلى نقص الماء في النبات الذي أدى بدوره إلى انخفاض أو تثبيطها عملية الانقسام الخلوي ومن ثمّ توقف النمو (Okcu, *et al.* 2005)، وهذا ما تبين في النتائج التي تم التوصل إليها في هذا البحث من خلال انخفاض معدل نمو النبات كمؤشرات شكلية، تجلت في انخفاض طول النبات، وعدد الأوراق ومساحة المسطح الورقي، بغض النظر عن الأصل ومدى تحمله.

هذه النتائج تتوافق مع نتائج العديد من الدراسات التي أشارت إلى انخفاض في نمو النباتات وتأثر نظام مضاد الأكسدة فيها سلباً حين تعرضت البادرات إلى إجهاد جفاف عند معاملة النباتات بمحلول بولي ايتلين غليكول (Tian and Lei, 2006, Jiang and Zhang, 2002). وهذا ما أكده أيضاً (Zhang *et al.*, 2010) حين تعرضّت غراس صنف التفاح Fugi/M.9EML للجفاف مدة شهر، مما أدى إلى انخفاض طول النبات، وعدد الأوراق ومساحة المسطح الورقي مقارنة بالشاهد، فضلاً عن انخفاض محتوى الماء النسبي وعملية التمثيل الضوئي.

ويمكن الاستنتاج أن معدل استطالة الخلايا حساساً جداً للجفاف؛ وهذا يعود إلى اعتماد نمو الخلايا بالتمدد والاستطالة على الحفاظ على امتلاء الخلية الذي يتأثر بشكل مباشر بإجهاد الجفاف، فضلاً عن ذلك فإن الجفاف يعمل على تثبيط النمو نتيجة نقص ضغط امتلاء الخلايا أو بسبب نقص وصول الماء إلى الأنسجة النامية نظراً إلى عدم قدرة الجذور على النمو وامتصاص الماء والأملاح المعدنية بسبب نقص التدرج في جهد الماء بين الخشب والخلايا النامية (Whalley, *et al.*, 1998)، الذي يؤدي في النهاية إلى انخفاض المحتوى المائي في أنسجة النبات الذي سيؤثر سلباً في العمليات الحيوية والفيزيولوجية والاستقلابية كلّها (Kang and Zhang, 2004).

كما أثبتت العديد من الدراسات أن الإجهاد المائي سواء تحت تاثير الجفاف أو تراكيز مختلفة من PEG أدت إلى انخفاض محتوى الأوراق من اليخضور وتأثر النظام الضوئي الثاني (photosystem II) إذ انخفضت قيمة (Fv/Fm) ومن ثمّ أثّرت سلباً في نمو النبات، ففي دراسة مشابهة أجراها (Suriyvan *et al*., 2010)، باستخدام جهود حلولية مختلفة من البولي أتيلين غليكول (0.42, -0.98, -2.15 MPa PEG-)، أدّى ذلك إلى انخفاض معدل نمو النبات (طول الطرود والجذور، ومساحة المسطح الورقي، والوزن الجاف والوزن الرطب)، فضلاً عن انخفاض محتوى الأوراق من اليخضور ومعدل التمثيل الضوئي. وهذا ما يتوافق مع النتائج التي تم التوصل إليها في هذا البحث حيث أدى الإجهاد المائي إلى انخفاض معدل نمو النبات ومعدل اليخضور وانخفضت قيمة (Fv/Fm) مع اختلاف تأثير تركيز الإجهاد واختلاف تحمل كل من الأصلين المدروسين له.

كما لوحظ ارتفاع تركيز البرولين في النبات (أوراق وجذور) كمؤشر لتأثر النبات بالجفاف أو الإجهاد المائي (Shtereva *et al*., 2008, Lotfi, *et al*. 2008). إذ إنّ ارتفاع البرولين بشكل مباشر وسريع في أنسجة النبات يعدُّ من المؤشرات المهمة والدقيقة في معرفة مدى تأثر النبات بالإجهاد المائي وتحمّله له، حيث يزداد تراكم البرولين في أنسجة الأوراق أو الجذور مع زيادة تعرض النبات للإجهاد المائي، وهذا ما أكده (Shultz and Matthews, 1993) في دراسة على شجيرات العنب، أو ما أكده (Lakso *et al*., 1984) في تجارب للإجهاد المائي على غراس التفاح. وهذا ما يؤكد النتائج التي تم التوصل إليها في بحثنا هذا، إذ إن الجفاف أو الإجهاد المائي أدى إلى زيادة محتوى الأوراق والجذور من البرولين، اختلفت باختلاف الجزء النباتي وشدة الإجهاد المائي، حيث بلغ أعلى محتوى من البرولين سواء في الجذور أو الأوراق عند تعطيش النباتات مدة عشرين يوماً. وفي دراسة مشابهة على غراس من الزيتون أدّى الجفاف مدة عشرين يوماً إلى ارتفاع محتوى الأوراق من البرولين إلى (1.59 ميكرو مول/مغ. وزناً جافاً) مقارنة بالشاهد (0.5 ميكرو مول/مغ. وزناً جافاً) (Sofoa *et al*., 2004). وفي دراسة أجراها Nayer and Heidari (2008) على نباتات الذرة لوحظ أن الإجهاد المائي بواسطة PEG عند جهد حلولي (-1,76 Mpa) أدى إلى زيادة محتوى البرولين في الجذور إلى (3.13 مع/غ وزن جاف)، وارتفعت في النموات الخضرية إلى (3.1 مع/غ وزن جاف) مقارنة بالشاهد.

الاستنتاجات

1- أثبت الأصل *Malus trilobata* تحملاً أكبر للجفاف أو للإجهاد المائي مقارنة بالأصل *Malus communis* تجلى ذلك من خلال الاستجابات المورفولوجية والفيزيولوجية، حيث انخفض معدل النمو (عدد الأوراق وطول النبات) في الأصل *Malus communis* بشكل أكبر.

2- انخفض تركيز اليخضور ومعدل التمثيل الضوئي (PS II) بشكل واضح في الأصل *Malus communis* في حين كان الأصل *Malus trilobata* أقل تأثرا، وقد يعزى ذلك إلى ارتفاع المحتوى المائي في جذوره وأوراقه مقارنة بالأصل *Malus communis*.

3- ارتفع محتوى الأوراق والجذور من البرولين بتأثير الإجهاد المائي، وكان في الأصل *Malus communis* أعلى مما هو عليه في الأصل *Malus trilobata*؛ مما يدل على تحمله بشكل أكبر للإجهاد المائي، وكان ذلك واضحاً حين تعطيش الغراس مدة 20 يوماً.

4- من خلال النتائج يتبيّن أن الأصل *Malus trilobata* أكثر تحملاً للجفاف أو للإجهاد المائي من الأصل *Malus communis*، إذ يمكن الاستفادة منه في عمليات التربية والتحسين الوراثي لاستنباط أشجار أكثر مقاومة للجفاف، ومن ثم الحفاظ عليه من الانقراض بوصفه مصدراً وراثياً في المجمعات الوراثية.

REFERENCES المراجع

Agnes G., J. Csiszar, T. Irma and Erdei, L. (2002). Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars.Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology, 2002, S2-P05.

Bates, L., R. Waldren, and J. Teare, (1973). determination of proline for water stress studies, Plant Soil (1973) 39: 205-207.

Bray, E.A. (1997). Plant responses to water deficit. Trends in Plant Sci 2:48-54.

Dami I. and H. G. Hughes, (1996). Effects of PEG-induced water stress on in vitro hardening of 'Valiant' grape. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Volume 47(5), pp. 97-101.

Duan, D., Liu, X., M.A.H Khan, and B. Gul, (2004). Effects of salt and water stress on the germination of *Chenopodium glaucum* L. seed. Pak. J. Bot., 36(4): 793-800.

El-Aref, H. M. (2002). Employment of maize immature embryo culture for improving drought tolerance. Proceeding of the 3rd Scientific Conference of Agriculture Sciences, Fac. of Agric., Assiut Univ., Assiut, Egypt, 20-22. October. 2002, pp. 463-477.

Gao, X.Y., G.P. Yang, Z.Q. Xu, and F. C. Xu. (1999). Effect of calcium on anti-oxidant enzymes of lipid peroxidation of soybean leaves under water stress. J. South China Agri. Univ. 2: 58-62.

Jiang, M and J. Zhang, (2002). Role of abscissic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings. Free-Radic-Res. 2002 Sep; 36(9): 1001-15.

Kang, S. and J. Zhang, (2004). Controlled alternate partial root-zone irrigation: its physiological consequences and impact on water use efficiency. Journal of Experimental Botany, Issue 55 (407), Pp. 2437-2446.

Lakso, A.N., A.S. Geyer, and S.C. Carpenter, (1984). Seasonal osmotic relations in apple leaves of different ages. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 109: 544-547.

Lawlor, D.W. and G. Cornic, 2002, Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant Cell Environ 25:275-294.

Lotfi, N., K. Vahdati, B. Kholdebarin, and A. Reza, (2010). Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. Issue Fruits, 65, 97-112.

Ming, Li., W. Gen-Xuan, and L. Jiou-Sheng (2003). Application of external calcium in improving the PEG-induced water stress tolerance in liquorice cells. Bot. Bull. Acad. Sin. 44: 275-284.

Mohamed, M.A.H., P.J.C. Harris, and J. Henderson, (2000). In vitro selection and characterisation of a drought tolerant clone of *Tagetes minuta*. Plant Science (Shannon) 159(2): 213-222.

Molnar, I., L. Gaspar, L. Stéhli1, S. Dulai, E. Sarvari, I. Kiraly, G. Galiba1, and M. Molnar-Lang, (2002). The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and of Aegilops biuncialis genotypes originating from various habitats. Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology, 2002. S2-P19.

Nayer M. and R. Heidari, (2008). Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. World Applied Sciences Journal 3 (3): 448-453.

Netto, A.T., E. Campostrini, J. G. DE-Oliveira, and R. E. Bressan-Smith, (2005). Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Scientia Horticulturae, Issue (104)2, 199-209.

Okcu, G., M.D. Kaya, and M. Atak, (2005). Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). Turkish journal of agriculture and forestry, 29(4), 237-242.

Porcel, R., J.M. Barea, and J.M. Ruiz-Lozano, (2003). Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. New Phytol 157: 135-143.

Porro, D., C. Dorigatti, M. Stefanini, and A. Ceschini, (2001). Use of SPAD Meter in Diagnosis of Nutritional Status in Apple and Grapevine. Acta Hort. 564, ISHS 2001, p.p. 243-252.

Robin, C., L. Shamsun-Noor, and A.Guckert, (1989). Effect of potassium on the tolerance to PEG-induced water stress of two white clover varieties (*Trifolium repens* L.). Plant and Soil, 120, 153-158.

Schreiber, U. (1986). Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer. Photosynthesis Research, 9: 261-272.

Shtereva, L. B. Atanassova, T. Karcheva, and V. Petkov, (2008). The effect of water stress on the growth rate, water content and proline accumulation in tomato calliand seedlings. Acta Horticulturae 789, vol.1.

Shultz, H.R. and M. A. Matthews, (1993). Growth, osmotic adjustment and cell-wall mechanics of expanding grape leaves during water deficits. *Crop Sci*., 33: 287-294.

Sinhababu, A. and K. Ru mp kumar, (2003). Comparative responses of three fuel wood yielding plants to PEG-induced water stress at seedling stage. Acta physiologiae plantarum, 25(4), 403-409.

Sircelj, H., M. Tausz, D. Grill, and F. Batic (2005). Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. Journal of Plant Physiology 162, 1308-1318.

Skribanek, A. and A. Tomcsányi, (2008). Predicting water stress tolerance of malting barley varieties with seedlings PEG-reactions. Acta Biologica Szegediensis, Volume 52(1):187-189.

Sofoa, A, B. Dichida, C. Xiloyannisa, and A. Masi, (2004). Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. Physiologia Plantarum, 121: 58–65.

Suriyan, C., T. Takabe, and C. Kirdmanee, (2010). Osmotic potential, photosynthetic abilities and growth characters of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) seedlings in responses to polyethylene glycol-induced water deficit. African Journal of Biotechnology 9(39), 6509-6516.

Todaka, D., H. Matsushima, and Y. Morohashi, (2000). Water stress enhances ß-amylase activity in cucumber cotyledons. Journal of Experimental Botany, Vol. 51, No. 345, pp. 739-745.

Tian, X. and Y. Lei, (2006). Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. Biologia Plantarum, 50 (4), 775-778.

Whalley, W., A. Bengough, and A. Dexter, (1998). Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedlings. Journal of Experimental Botany, 49, 1689-1694.

Yan, P., Li, J. W. and L. Y. Zeng (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation, 49(2-3), 157-165.

Zhang, J., Y. Yuncong, J. G. Streeter, and D. C. Ferree, (2010). Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phophorus absorb in different section of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. African Journal of Biotechnology 9(33), 5320-5325.

Received	**2011/05/16**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2012/03/19**	**قبول البحث للنشر**