

تأثير مثيل حامض الجاسمونيك وحامض الأسكوربيك في نمو الزروعات النسيجية لأصل

الحمضيات ترويرستراج تحت الاجهاد الملحي خارج الجسم الحي

مسلم عبد علي عبد الحسين

*مريم بشير عيسى

* قسم البستنة وهندسة الحدائق- كلية الزراعة - جامعة الكوفة - جمهورية العراق

المستخلص

اجري البحث بهدف دراسة تأثير تزويد الوسط الغذائي (المضمن بتركيز من ملح كلوريد الصوديوم) بمثيل جاسمونيك وحامض الاسكوربيك في نمو المزارع النسيجية لاصل الحمضيات ترويرستراج خارج الجسم الحي ، ونفذت كتجربة عاملية باستخدام التصميم العشوائي الكامل بعاملين: تركيز ملح كلوريد الصوديوم (0,75,150) ملي مول والثاني توليفة منظمات النمو (الوسط الخالي ،2 ملي مول حامض اسكوربيك، 25 مايكرومول مثيل جاسمونيك، 50 مايكرومول مثيل جاسمونيك، 25 مايكرومول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض الاسكوربيك ، 50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2ملي مول حامض اسكوربيك).

اظهرت النتائج تأثيرا معنويا لملح كلوريد الصوديوم في صفات نمو المزارع النسيجية لاصل الحمضيات ترويرستراج المدروسة فقد حصل اختزال معنوي في النسبة المئوية لبقاء الزروعات على قيد الحياة وعدد الفروع وأوزانها الطرية والجافة فضلا عن محتوى الزروعات من الكلوروفيل عند زيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في وسط التضاعف حيث سجلت اقل النتائج عند التركيز 150 ملي مول . لتر¹ مقارنة بأعلى النتائج عند معاملة المقارنة 0 ملي مول . لتر¹.

وأظهرت النتائج اختلاف استجابة توليفة منظمات النمو المستخدمة في الوسط الغذائي اذ تفوقت المعاملة 25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض الاسكوربيك معنويا على باقي المعاملات في نسبة البقاء وعدد الافرع والوزن الطري والجاف بالمقارنة مع الوسط الخالي من المنظمات . اظهرت التداخلات بين ملوحة تركيز الوسط الغذائي وتوليفة الوسط من منظمات النمو وجود اختلافات معنوية في الصفات المدروسة اذ تفوقت زروعات معاملات التداخل التي تشترك بها مثيل جاسمونيك و حامض الاسكوربيك (على افراد او معا) مع كل تركيز من الملح معنويا على باقي المعاملات في معظم الصفات المدروسة اذ اظهرت هذه التداخلات زيادة نسبة البقاء وعدد الافرع والوزن الطري والجاف مما يشير الى دورهما وفعالتهما في التخفيف من الاثار السلبية لملح كلوريد الصوديوم.

كلمات مفتاحية : مثيل حامض الجاسمونيك، حامض الأسكوربيك ، اجهاد ملحي ، *Citrus* ، *in vitro* ،

Rootstock

المقدمة

ويعد حامض الاسكوربيك احد مكونات النظام الدفاعي غير الانزيمي ضد مختلف الاجهادات التي يتعرض لها النبات عن طريق حمايته من الاضرار الناجمة عنها (16) ، كما ويعد مثيل الجاسمونيك من المركبات العضوية الطيارة التي تؤدي دورا مهما في التنظيم الخلوي وعمليات التطور في النبات فضلا عن دورها في تحفيز النظام الدفاعي ضد الاجهادات الميكانيكية المتمثلة بالجروح ومختلف مسببات المرضية والحشرات والاجهادات البيئية مثل الجفاف ، انخفاض درجات الحرارة والملوحة (4 و7). ولفت انظار الباحثين في السنوات القليلة الماضية الدور الفعال لحامض الجاسمونيك وحامض الاسكوربيك في تحمل المحاصيل الزراعية المختلفة للاجهاد الملحي ومنها البطاطا *Solanum tuberosum* (14) وبناء على ذلك تم اجراء البحث الحالي بهدف دراسة التغيرات في مؤشرات نمو الزروع النسيجية لاصل الحمضيات ترويرستراتج Troyer Citrang النامية في وسط غذائي مزود بحامض الاسكوربيك ومثيل الجاسمونيك معا او كلا على انفراد تحت ظروف الاجهاد الملحي لبيان مدى تأثيرهما في التخفيف من الاجهاد الملحي.

المواد وطرائق العمل

نفذت التجربة في مختبر زراعة الأنسجة النباتية العائد لقسم البستنة وهندسة الحدائق – كلية الزراعة – جامعة الكوفة خلال المدة من نيسان 2013م إلى ايلول 2014م ، درس خلالها تأثير تزويد الوسط الغذائي (المزود بتركيزات من ملح NaCl) بمثيل الجاسمونيك وحامض

تعد ملوحة التربة وملوحة ماء الري من المشاكل الرئيسية المعيقة لزيادة المساحة المزروعة ، لا سيما في المناطق الجافة وشبه الجافة التي تعتمد الري كوسيلة رئيسية في الزراعة، مما ينعكس سلباً في نمو وانتاجية النباتات المختلفة ومنها الحمضيات نتيجة التأثير الأزموزي للملوحة أو الإخلال بالتوازن الغذائي والهرموني والأنزيمي أو التأثير السمي للأيونات (12) ، فضلا عن تسببها في الإجهاد التأكسدي Oxidative stress عند تعرضها لتراكيز عالية من الملح او لفترة اجهاد طويلة (31).

وبالنظر لاتساع وانتشار ملوحة مياه الري التي تحد من التوسع في زراعة أشجار الحمضيات في العراق فقد وجد من الضروري استخدام وسائل لتقليل شدة التأثيرات الضارة للملوحة على أشجار الحمضيات، رغم ان النبات يكيف نفسه لمدة معينة باستجابات خاصة به لمواجهة مثل هذه الاجهادات. وقد لوحظ ان اجراء مثل هذه الدراسات باستخدام تقنيات زراعة الانسجة التي تجرى تحت ظروف بيئية مسيطر عليها تتيح فرصة اكبر للدارسين لدراسة استجابات النبات تحت الاجهاد (31). وقد بيّنت دراسة كل من ناجي (2) و Chatzissavvidis واخرون (8) و Ghaleb و آخرون (13) و Habibi و Amiri (17) ان اضافة ملح كلوريد الصوديوم (NaCl) الى الوسط الغذائي قد اثر سلباً على معظم صفات النمو وان هذا التأثير السلبي يتناسب طردياً مع زيادة التراكيز الملحية في الأوساط الغذائية المستعملة .

غرفة النمو على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ وشدة إضاءة 1000 لوكس مدة 16 ساعة في اليوم لمدة ثمانية أسابيع. وفي نهاية هذه المدة أخذت القياسات الخاصة بالصفات المدروسة في مختبرات الدراسات العليا في قسم البستنة وهندسة الحدائق في كلية الزراعة - جامعة الكوفة ، ثم حُللت النتائج باستخدام تحليل التباين و أختير اختبار دنكان Duncan test لمقارنة المتوسطات على مستوى احتمال 0.05 (1) .

الصفات المدروسة

النسبة المئوية لبقاء الزروعات على قيد الحياة
حسبت على أساس نسبة الأفرع المستمرة في الحياة الى العدد الكلي للأجزاء النباتية المزروعة في نهاية التجربة
معدل عدد الأفرع
تم حساب عدد الفروع الناتجة من زراعة العقد الساقية لكل مكرر (الأنبوب الواحد) وتم جمع عدد فروع المعاملة الواحدة وقسمتها على عدد المكررات علماً بان عدد المكررات (10) لكل معاملة.

الوزن الطري للنباتات الخضرية (ملغم)
تم حساب الوزن الطري للأفرع المتكونة بعد إنتهاء فترة التحضين باستعمال ميزان حساس.
الوزن الجاف للنباتات الخضرية (ملغم)
قيست بعد تجفيف الأفرع المتكونة بعد إنتهاء فترة الحضان (بأخذ ثلاث مكررات متجانسة قدر الامكان) في فرن التجفيف الكهربائي oven عند درجة حرارة مقدارها 48°C ولمّ ولحين ثبوت الوزن .

قياس محتوى الأفرع من الكلوروفيل الكلي
تم تقدير الكلوروفيل الكلي في الأفرع باستعمال جهاز UV-visible

الاسكوربيك في نمو المزارع النسيجية خارج الجسم الحي.

المعاملات والتصميم التجريبي

نفذت التجربة بوصفها تجربة عاملية باستعمال التصميم العشوائي الكامل وبعاملين الاول الوسط الغذائي المضمن 3 تراكيز من ملح كلوريد الصوديوم هي (0 ، 75 و 150 ملي مول) والعامل الثاني اضافة المواد الاتية على انفراد لكل وسط من هذه الاوساط

1- بدون اضافة حامض اسكوربيك و

مثيل جاسمونك

2- 2 ملي مول حامض اسكوربيك

3- 25 مايكرومول مثيل جاسمونك

4- 50 مايكرومول مثيل جاسمونك

5- 25 مايكرومول مثيل جاسمونك + 2

ملي مول حامض اسكوربيك

6- 50 مايكرومول مثيل جاسمونك + 2

ملي مول حامض اسكوربيك

أخذت فروع بطول 3 سم وزرعت في أنابيب زجاجية تحوي 10 مل لكل أنبوبة وزرعت على الوسط الغذائي Murashige

MS (and Skoog, 1962) الجاهز)

25 (المنتج من قبل شركة Himedia)

الذي صلب بمادة الأجار Agar بمقدار 7

غم.لتر⁻¹ بعد اضافة السكر 3% و 100

ملغم.لتر⁻¹ من المايو-اينوسيتول-Myo

(inositol) و 2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1

ملغم NAA . لتر⁻¹ و 30 ملغم . لتر⁻¹

سلفات الادنين اليه مضافا اليه تراكيز من

ملح NaCl المستعملة في الدراسة ، بحيث

زود كل وسط بتراكيز المواد المذكورة في

العامل الثاني وبواقع 20 فرعاً لكل معاملة

ولكل تركيز ملحي. نقلت الزروعات الى

تجمع أحد هذين الأيونين أو كليهما في أنسجته (23)، فضلاً عن ما تسببه الملوحة من اضطراب في عمل الأغشية الخلوية وتأثيرها في فعالية بعض الأنزيمات فيؤدي ذلك إلى اضطراب في العمليات الأيضية المختلفة للخلية (5 و 29) .

أما عن تأثير توليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي في نسبة البقاء ، فيلاحظ من الجدول نفسه إن زراعة الفروع في اوساط غذائية ذات توليفات مختلفة من منظمات النمو قد أدت إلى زيادة معنوية في النسبة المئوية لبقاء الزروع على قيد الحياة قياساً بمعاملة المقارنة (الوسط الخالي منها) وقد تفوقت المزرعة في الوسط الغذائي المزود بـ (25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) بإعطائها أعلى نسبة بلغت 86.78% والتي لم تختلف معنوياً عن معاملة الـ (25 مايكرومول مثيل جاسمونيك) ، في حين لم تؤثر إضافة (2 ملي مول حامض اسكوربيك) للوسط الغذائي معنوياً في هذه الصفة عن معاملة المقارنة التي بلغت فيها نسبة البقاء على قيد الحياة 72.28% . وهذه النتائج تتفق في إطارها العام مع معاجاء به El Khallal (11) الذي أشار الى معاملة بادرات البزاليا بحامض الجاسمونيك قد خففت من حدة التأثيرات السلبية لملاح كلوريد الصوديوم في وسط الزراعة على نموها .

ان تفوق معاملة إضافة مثيل الجاسمونيك الى الوسط الغذائي في بقاء النباتات على قيد الحياة قد يعزى الى دور الجاسمونيك في تخفيف التأثير السلبى للملوحة على نمو النبات بفعل دوره في المحافظة على الاغشية من التضرر تحت ظروف الاجهاد الملحي عن طريق تأثيره في زيادة فعاليته الانزيمات المضادة للاكسده

Spectrophotometer لقياس الإمتصاص الضوئي لصبغة الكلوروفيل الكلي على طولين موجيين هما 645 و 663 نانوميتر (15).

النتائج والمناقشة

النسبة المئوية لبقاء الزروعات على قيد الحياة يتبين من نتائج الجدول (1) أن النسبة المئوية لبقاء الزروعات على قيد الحياة بعد 8 أسابيع من زراعتها بوسط مجهز بملاح كلوريد الصوديوم قلت بزيادة تركيز الملاح ، إذ سجل تركيز 150 ملي مول كلوريد الصوديوم أقل نسبة بقاء على قيد الحياة و بلغت 62.57% مقارنة مع تركيز 0 ملي مول كلوريد الصوديوم (المقارنة) وأعطت نسبة بقاء قدرها 100% .

ان انخفاض نسبة بقاء الزروعات على قيد الحياة بارتفاع مستوى الملوحة في الوسط الغذائي قد تمت الإشارة إليه من قبل العديد من الباحثين منهم ناجي (4) و Chatzissavvidis و اخرون (11) و Ghaleb و آخرون (13). في الحمضيات ، الذين وجدوا أن النسبة المئوية للبقاء على قيد الحياة تقل مع زيادة تركيز الملاح في الوسط الغذائي المجهز به.

إن سبب انخفاض نسبة بقاء الزروعات على قيد الحياة الناتج عن زراعة أفرع أصل الحمضيات ترويرسترانج بزيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في وسط التضاعف يمكن اعزاه الى التأثيرات المباشرة وغير المباشرة لملاح كلوريد الصوديوم عند المستوى الخلوي للأنسجة المزروعة مؤدياً الى انخفاض معدل إنقسامها وتوسعها (24) إذ ان زيادة تجمع أيونات الصوديوم Na^+ والكلوريد Cl^- في أنسجة الأفرع وبتراكيز عالية تكون لها تأثيرات ضارة للحمضيات بفعل الملوحة قد تعود إلى

ابدت تداخلات المعاملة (25 مايكرومول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) داخل كل تركيز ملحي تفوقا ملحوظا على معاملة المقارنة ومعاملات التداخلات الاخرى. وتبين النتائج ان اضافة حامض الجاسمونيك مع حامض الاسكوربيك في الوسط المضمن 75 مليمول ملح كلوريد الصوديوم قد اظهرت زروعاتها نسبة بقاء اعلى من زروعات نفس المعاملات المزروعة في الوسط المضمن 75 مليمول ملح كلوريد الصوديوم . و يمكن اعزاء تفوق معاملة التداخل (25 مايكرومول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) الى الدور المشترك لكل من حامض الجاسمونيك والاسكوربيك في التخفيف من تأثير الملوحة السلبي على الزروعات.

معدل عدد الأفرع

تشير البيانات الواردة في الجدول (2) الى وجود تأثير سلبي للملوحة في معدل عدد الافرع الذي انخفض مع زيادة تراكيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي اذ اعطى التركيز 150 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم اقل معدل بلغ 1.55 فرع مقارنة بالتركيز (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم) الذي اعطى 3.11 فرع والذي لم يختلف معنويا عن التركيز 75 ملي مول . ان انخفاض معدل عدد الأفرع المتكونة في وسط التضاعف الحاوي على تراكيز عالية من ملح كلوريد الصوديوم يتفق مع ما وجدته كل من Chatzissavvidis وآخرون (8) و Pérez-Tornero وآخرون (27) و Shiyab وآخرون (34) في المزارع النسيجية للحمضيات وقد يعزى ذلك الى تثبيط نشوء البراعم الجانبية بفعل الملوحة والتأثير السلبي لها

APX و SOD التي تعمل على التخلص من اضرار الملوحة على الاغشية الخلوية ومن ثم المحافظة عليها فضلا عن تداخله مع زيادة انتاج هرمون النمو حامض الابسيسيك ABA تحت الاجهاد الملحي والذي يعرف عنه دوره الفعال في التخفيف من اضرار الملوحة (19).

ان اضافة حامض الاسكوربيك الى وسط النمو يزيد من قابلية النبات للتحمل للاجهاد الملحي بفعل تأثيره كمادة مضادة للاكسدة اذ ان المعروف عن تأثيرات الملوحة في تقليل النمو في الزروعات ترتبط مع زيادة انتاج الجذور الاوكسجينية الفعالة active oxygen species (AOS) التي تعمل على تضرر الاغشية في الخلايا ، اذ ان حامض الاسكوربيك يتداخل في تثبيط بعض التفاعلات الداخلة في انتاجها بصورة جزئية (33) او ان له دور مهم في المحافظة على لبيدات الاغشية الخلوية من التضرر في ميكانيكية غير واضحة المعالم بشكل تام (6).

أما تداخلات تراكيز ملح كلوريد الصوديوم وتوليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي فتشير الى ان النسبة المئوية لبقاء الزروعات على قيد الحياة انخفضت مع زيادة تراكيز الملح لجميع التوليفات، اذ يتضح من الجدول نفسه ان الزروعات قد أعطت نسبة بقاء جيدة في التراكيز المنخفضة من ملح كلوريد الصوديوم المستعملة في الدراسة ، فلم تظهر زروعات المعاملة (25 مايكرومول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) النامية في المستوى الملحي 75 ملي مول اختلافاً معنوياً عن معاملة المقارنة (0 ملي مول)، في حين انخفضت نسبة البقاء معنوياً عند التركيز 150 ملي مول . من جهة أخرى فقد

ويتبين من التداخلات ان جميع التوليفات في الوسط الملحي 75 ملي مول لم تختلف بينها في هذه الصفة . اما في تداخلات التوليفات وتركيز الملح 150 ملي مول فيتضح تفوق معاملة تداخل التوليفة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) مع هذا التركيز الملحي على بقية التوليفات .

ان تقليل التفرعات بفعل التراكيز العالية من مثيل الجاسمونيك قد يعزى الى تداخلها مع انتاج حامض الابسيسيك المثبط للنمو (32) في حين ان زيادة عدد التفرعات عند اضافة حامض الأسكوربيك منفردا او مع مثيل الجاسمونيك بوجود اوعدم وجود الملح قد يعزى إلى دور حامض الأسكوربيك في تشجيع انقسام الخلايا النباتية ونموها مما يؤدي إلى تشجيع النمو الخضري ومن ثم زيادة عدد التفرعات .

الوزن الطري للنموات الخضرية(ملغم)

اظهرت النتائج الواردة في جدول (3) بان تضمين وسط التضاعف بتراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم ادى الى انخفاض الوزن الطري للأفرع بشكل معنوي بزيادة نسبة الملح فكان معدل الوزن الطري للأفرع 409.5 للتركيز الملحي 150 ملي مول (التي اختلفت معنويا عن تركيز 75 ملي مول) مقارنة بمعاملة 0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم التي تفوقت على جميع التراكيز معنويا اذ بلغ معدل الوزن الطري لزروعاتها 550 ملغم .

. ان انخفاض الوزن الطري للمجموع الخضري لزروعات الحمضيات نتيجة لاضافة ملح كلوريد الصوديوم الى وسط الزراعة قد ذكره العديد من الباحثين منهم Ghaleb وآخرون (13) و Pérez-Tornero وآخرون (27). وقد يعزى انخفاض في معدل الوزن الطري للأفرع

في بناء الصبغات النباتية المشتركة في البناء الضوئي والإختلال في الفعاليات الفسلجية الناجمة عن قلة جاهزية الماء والإختلال في التوازن الغذائي (18) ، فضلا عن ان العديد من الدراسات التي أوردتها Kaya وآخرون (27) قد افترضت أن زيادة مستويات الملوحة في وسط النمو من الممكن أن تقلل من مستويات الهرمونات النباتية الداخلية المشجعة للنمو في الأنسجة المعرضة للملوحة الضرورية لعمليات التضاعف والإستطالة والنمو تحت الإجهاد الملحي.

وتوضح النتائج في الجدول نفسه وجود فروق معنوية في معدل عدد الافرع لزروعات اصل الحمضيات تروپرستراتج المنمأة في الوسط الغذائي الحاوي على توليفات مختلفه من منظمات النمو اذ تفوقت معاملة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) التي اعطت 3.3 فرع على باقي المعاملات عدا معاملة (2 ملي مول حامض اسكوربيك) التي لم تختلف عنها. كما ان اضافة 50 مايكرو مول مثيل جاسمونيك الى الوسط الغذائي قد ادى الى تقليل عدد الافرع اذ اعطت اقل عدد فروع بلغ 1.3 فرع.

وبينت النتائج الواردة في الجدول نفسه وجود تأثير معنوي للتداخلات بين تراكيز ملح كلوريد الصوديوم وتوليفة منظمات النمو المستخدمة في الوسط الغذائي في معدل عدد الافرع اذ تفوقت زروعات معاملة التداخل (جميع توليفات منظمات النمو مع تركيز 0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم) باستثناء معاملة (50 مايكرو مول مثيل جاسمونيك م نفس التركيز من الملح) واعطت 3.6 فرع .

اسكوربيك) اعلى محتوى مقداره 474.3 ملغم والتي اختلفت معنوياً عن باقي المعاملات باستثناء زروعات معاملة (2 ملي مول حامض الاسكوربيك) ومعاملة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك) في حين لم تختلف معاملة المقارنة عن (50 ملي مول مثيل جاسمونيك) وتوليفة (50 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) التي اعطت اقل القيم .

ان زيادة الوزن الطري للفروع بفعل اضافة حامض الاسكوربيك الى الوسط الغذائي قد يعزى الى تداخل أدواره الفسيولوجية في تحفيز النمو النشط كونه يدخل كمرافق انزيمي في التفاعلات الانزيمية لأيض الكربوهيدرات والبروتينات وله دور في عمليتي التنفس والبناء الضوئي ومن ثم زيادة معدل عملية البناء الضوئي في النبات واستغلال نواتجها في عمليات النمو والبناء. كما ان قلة النمو الناجم عن اضافة التركيز 50 مايكرومول مثيل الجاسمونيك الى الوسط الغذائي يتفق مع ما وجدته كل من Cipollini (9) وShahzad (32) الذين لاحظوا ان التراكيز العالية من حامض الجاسمونيك تعمل على اختزال النمو في النباتات المعاملة .

وتشير نتائج التداخل بين توليفة منظمات النمو وتراكيز ملح كلوريد الصوديوم المضافة الى الوسط الغذائي في الجدول نفسه الى وجود فروق معنوية بين التداخلات اذ تفوقت زروعات معاملة التداخل (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) وتركيز (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم) على جميع التداخلات واعطت 691.1 ملغم . كما وتفوقت زروعات معاملة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) بتدخلها مع تركيزي 75 و 150

المتضاعفة بفعل الملوحة الى التأثير الأزموزي والتأثير الأيوني السلبي السام للملح في الوسط الغذائي فيؤدي الى زيادة تجمع أيونات الصوديوم والكلور في الخلايا لدرجة حدوث التأثير السمي والذي يؤدي الى تثبيط النمو في التراكيز العالية من الأملاح، وذلك للتغيرات الحاصلة في العلاقات المائية للخلايا وإعادة تنظيم جهودها الأزموزي كوسيلة للتأقلم للظروف الملحية ، إضافة الى انخفاض جاهزية الماء في الوسط الغذائي لذا فإن انخفاض الجهد المائي لوسط النمو بسبب زيادة تركيز كلوريد الصوديوم يتسبب في انخفاض معدل انتقال الماء الذي يؤثر على الضغط الانتفاخي للخلية مما يؤدي الى أعاقة الفعاليات الحيوية للنبات ولا سيما عمليتي البناء الضوئي والتنفس ، اذ تكمن أهمية الماء في أنقسام الخلايا واستطالتها وعندما يقل تتأثر معظم العمليات الحيوية للخلية مما ينعكس ذلك سلباً في نموها كما وان زيادة تركيز الأملاح في الوسط يؤدي الى انخفاض في جاهزية العناصر الغذائية وبالتالي انخفاض معدل النمو (22) ويعتقد أن الانخفاض في النمو بسبب الشد الملحي ربما يعود الى استهلاك بعض الطاقة التنفسية في عملية التكيف بدلاً من استخدام هذه الطاقة في عمليات النمو فيحدث تثبيط للانقسامات الخلوية عموماً ومن جانب آخر فإن للملوحة تأثير بيولوجي إذ تثبط المنشطات الطبيعية للنمو مثل الجبرلينات والسايتوكاينينات متلازمة مع تنشيط المانعات الطبيعية للنمو مثل حامض الابسسيك منعكساً ذلك سلباً على نمو النبات (26).

كما توضح نتائج الجدول نفسه الى وجود اختلافات في تأثير توليفة منظمات النمو المستعملة في الوسط الغذائي في هذه الصفة اذ اعطت زروعات المعاملة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض

الإتجاه السائد لتأثير الملوحة في نمو الخلايا والأنسجة بوجود الملح في وسط التضاعف حيث ان ارتفاع الضغط الأزموزي في الوسط الغذائي (بفعل وجود تراكيز عالية من ملح NaCl) يضطر النبات أو الأنسجة المزروعة لتحويل الجزء الأعظم من الطاقة المتوفرة للعمليات الأيضية للنسيج المزروع نحو بناء جهد اوزموزي داخل الخلية لمواجهة إرتفاع الضغط الأزموزي في الوسط على حساب عمليات البناء اللازمة لإدامة العمليات المشتركة في النمو و التضاعف المتمثلة بانقسام الخلايا وإتساعها مما يؤثر في المواد المصنعة المخزونة ومن ثم قلة الوزن الجاف .

يلاحظ من الجدول نفسه وجود تأثير معنوي لتوليفة منظمات النمو المضافة الى الوسط الغذائي اذ اعطت زروعات المعاملة (25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك +2 ملي مول حامض اسكوربيك) اعلى معدل من الوزن الجاف بلغ 262.27 ملغم والتي تفوقت على جميع المعاملات في حين اعطت زروعات المعاملة (50 مايكرو مول مثيل جاسمونيك) اقل معدل بلغ 170.93 ملغم وزن جاف التي لم تختلف عن معاملة المقارنة ومعاملي 2 ملي مول حامض اسكوربيك و 50 مايكرو مول مثيل جاسمونيك . ان التأثير السلبي لمثيل الجاسمونيك المضاف بصورة منفردة الى الوسط في هذه الصفة فقد يعزى الى كون التركيز المستعمل (50 مايكرومول) يعد تركيزاً عالياً في مثل هذه الحالة والذي يؤدي الى تثبيط النمو عوضاً عن تشجيعه.

وسبب تداخل توليفة منظمات النمو وتراكيز ملح كلوريد الصوديوم تأثيراً معنوياً في معدل الوزن الجاف للفرع الذي ظهر بأعلى قيمة له

مليمول وان اضافة الاسكوربيك مفرداً او مع مثيل الجاسمونيك تركيز 25 ملي مول قد خفف من التأثير السلبي للملوحة في نمو الزروعات اذا ما قورن بزروعات الاوساط الخالية منهما والمتضمنة تراكيز من ملح كلوريد الصوديوم وقد يعزى ذلك الى الدور المشترك لكل من حامض الاسكوربيك و مثيل الجاسمونيك معاً وكما جاء في تفسير كل عامل على انفراد .
الوزن الجاف للنموات الخضرية(ملغم)

تبين النتائج الواردة في الجدول (4) وجود تأثير معنوي لاضافة ملح كلوريد الصوديوم الى وسط الزراعة في معدل الوزن الجاف للفرع المتضاعف اذ ترافق انخفاض معدلاتها معنوياً مع الزيادة في تركيز الملح فقد اعطت زروعات المعاملة في التركيز الملحي 150 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم اقل معدل للوزن الجاف بلغ 164.15 ملغم بالمقارنة بمعدل الوزن الجاف لها في معاملة المقارنة بلغ 248.97 ملغم .

تتفق النتائج الحالية مع ما وجدته Ghaleb وآخرون (13) و Habibi و Amiri (17) و Pe´rez-Tornero وآخرون (27) في الحمضيات من حيث انخفاض الوزن الجاف للأوراق وسيقان فروع النباتات التي درسوها مع زيادة تراكيز الملح في وسط نموها . وقد يعزى انخفاض معدل الوزن الجاف بفعل الملوحة الى تثبيط نمو الفروع وأعدادها (جدول 2) والتأثير السلبي لها في محتوى الأوراق من الكلوروفيل (جدول 5) ومن ثم انعكاسها على المكونات الأيضية والتمثيلية داخل أنسجة الفرع المعرض للإجهاد الملحي . اذ إن خفض الوزن الجاف للفروع بفعل الملوحة قد جاء متوافقاً مع

الافرع النامية في وسط يحتوي على 25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول اسكوربيك في محتواها من صبغة الكلوروفيل الكلي وبلغ 11.78 ملغم. 100غم⁻¹ وزن طري معنويا عن باقي المعاملات باستثناء افرع معاملة 2 ملي مول حامض اسكوربيك ، في حين اعطت زروعات معاملة المقارنة (الوسط الخالي من المنظمات) اقل محتوى من الكلوروفيل بلغ 8.50 ملغم. 100غم⁻¹ وزن طري .

واظهر تداخل مستويات ملح كلوريد الصوديوم وتوليفة منظمات النمو (الجدول 5) تأثيرا معنويا في محتوى الافرع من الكلوروفيل اذ تفوقت زروعات معاملة التداخل (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم وتوليفة منظمات النمو 25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) معنويا على بقية التداخلات باعطائها اعلى محتوى بلغ 13.87 ملغم . 100 غم⁻¹ وزن طري والتي لم تختلف عن التداخلات (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم و 2 ملي مول حامض اسكوربيك) و (0 ملي مول كلوريد الصوديوم و 25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك) و (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم و 50 مايكرومول مثيل جاسمونيك) و (75 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم و 2 ملي مول حامض اسكوربيك) و (75 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم و 25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) . كما وتشير التداخلات الى ان توليفة 25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك مع كل تركيز ملحي قد تفوقت زروعاتها علة الوسط الخالي من المنظمات ضمن نفس الوسط الملحي.

بلغت 391.1 ملغم في زروعات معاملة التداخل (0 ملي مول ملح كلوريد الصوديوم و 25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك) متفوقه بشكل معنوي على جميع التداخلات الاخرى. كما يتضح ان اضافة مثيل الجاسمونيك وحامض الاسكوربيك في جميع الاوساط الملحية قد حسن من الوزن الجاف للافرع مقارنة بمعاملة المقارنة (الوسط الخالي منهما في كل وسط ملحي) وقد يعزى ذلك التأثير المشترك لكل من مثيل الجاسمونيك وحامض الاسكوربيك في زيادة نمو الزروعات فقد عرف ان حامض الاسكوربيك عامل منظم للنمو له تأثير في العديد من العمليات الحيوية في النبات ، ويُعد العامل المساعد في التفاعلات الانزيمية التي عن طريقها يتم ايضا الكربوهيدرات والبروتين فضلا عن دوره كمضاد للأكسدة في النبات وله دور في استطالة وانقسام الخلايا كما وان حامض الجاسمونيك يزيد من الكلوروفيل تحت ظروف الاجهاد الملحي مما ينعكس في انتاج المادة الجافة (10).

محتوى الأفرع من الكلوروفيل الكلي

يلاحظ من الجدول (5) ان محتوى الافرع من الكلوروفيل الكلي قد انخفض معنويا بزيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في وسط التضاعف وصولا الى اقل محتوى بلغ 7.89 ملغم. 100غم⁻¹ وزن طري عند التركيز 150ملي مول ملح كلوريد الصوديوم قياسا بزروعات معاملة المقارنة اذ كان محتوى الكلوروفيل فيها 11.82 ملغم. 100غم⁻¹ وزن طري.

توضح نتائج الجدول نفسه التأثير المعنوي لتوليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي في محتوى الافرع من الكلوروفيل الكلي اذ تفوقت

ان تفوق توليفة منظمات النمو 25 مايكرو مول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك في الوسط الغذائي المزود بكلوريد الصوديوم في محتوى الزروعات من الكلوروفيل قد يعزى الى الدور المشترك لكل من حامض الجاسمونيك والاسكوربيك في بناء الكلوروفيل والمحافظة عليه ، اذ ان حامض الاسكوربيك يعمل كمادة مضادة للاكسدة ومحافظة على الكلوروفيل من الهدم (10) كما ذكر Kovac و Ravnkar (21) ان المعاملة بحامض الجاسمونيك قد اظهرت زيادة في محتوى النبات من الساييتوكاينين الذي يحافظ على صبغات الكلوروفيل ، اذ ذكر Reiss و Beale (28) ان هذا الهرمون قد زاد من قابلية النبات لحصاد الضوء والذي يؤثر بدوره في عملية اخضرار الورقة .

ان انخفاض صبغة الكلوروفيل بتأثير ملح NaCl تتفق مع ما وجده كل من Abdel-Hussein (3) و Chatzissavvidis وآخرون (8) و Pe'rez-Tornero وآخرون (27). وقد يعزى ذلك الى التأثير المحتمل لملاح NaCl في عملية بناء الكلوروفيل عن طريق تأثيره على العوامل الضرورية لتكوين الكلوروفيل كالماء والعناصر المعدنية إذ إنّ الملوحة تعمل على الإبطاء من سرعة بناء الكلوروفيل نتيجة لعجز النبات عن امتصاص الماء والعناصر المعدنية الضرورية لبناءه مثل الحديد والمغنيسيوم والنايتروجين أو إنّ الملوحة تعمل على هدم الكلوروفيل وبطء سرعة تكوينه وزيادة فعالية الأنزيم المحلل للكلوروفيل Chlorophyllase ومن ثمّ انخفاض محتوى الكلوروفيل (30)

جدول 1- تأثير كلوريد الصوديوم وتوليفة الوسط الغذائي MS من حامضي الجاسمونيك والاسكوربيك وتداخلهما في النسبة المئوية لبقاء زروعات اصل الحمضيات تروير سترانج على قيد الحياة بعد 8 اسابيع من زراعة الافرع خارج الجسم الحي

توليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي*	تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي (ملي مول)			معدل تأثير الوسط الغذائي
	150	75	0	
وسط خالي	56.58 ^f	60.26 ^{ef}	100.00 ^a	72.28 ^{cd}
2 ملي مول حامض اسكوربيك	61.12 ^{def}	75.17 ^{bc}	100.00 ^a	78.76 ^{bc}
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك	64.34 ^{cdef}	80.00 ^b	100.00 ^a	81.45 ^{ab}
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك	54.93 ^f	70.73 ^{bc}	100.00 ^a	75.22 ^{cd}
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	74.23 ^{bcde}	86.12 ^{ab}	100.00 ^a	86.78 ^a
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	64.22 ^{cdef}	75.11 ^{bcd}	100.00 ^a	79.78 ^{bc}
معدل تأثير تركيز الملح	62.57 ^c	74.56 ^b	100.00 ^a	

ضمن الوسط الغذائي لجميع المعاملات (2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1 ملغم NAA . لتر⁻¹)

جدول 2- تأثير كلوريد الصوديوم وتوليفة الوسط الغذائي MS من حامضي الجاسمونيك والاسكوربيك وتداخلهما في معدل عدد افرع اصل الحمضيات تروير سترانج بعد 8 اسابيع من زراعتها خارج الجسم الحي

معدل تأثير توليفة منظمات النمو	تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي (ملي مول)			توليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي *
	150	75	0	
2.6 ^b	1.9 ^{cd}	2.4 ^{abc}	3.6 ^a	وسط خالي
2.8 ^{ab}	2.1 ^{cd}	2.8 ^{ab}	3.5 ^{ab}	2 ملي مول حامض اسكوربيك
2.4 ^b	1.1 ^d	2.8 ^{ab}	3.5 ^{ab}	25 مايكرومول مثيل جاسمونيك
1.3 ^c	0.7 ^d	1.8 ^{cd}	1.4 ^{cd}	50 مايكرومول مثيل جاسمونيك
3.3 ^a	2.6 ^{abc}	3.5 ^{ab}	3.9 ^a	25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك
2.1 ^{bc}	0.9 ^d	2.6 ^{abc}	2.8 ^{ab}	50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك
	1.55 ^b	2.65 ^a	3.11 ^a	معدل تأثير تركيز الملح

ضمن الوسط الغذائي لجميع المعاملات (2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1 ملغم NAA . لتر⁻¹)

جدول 3- تأثير كلوريد الصوديوم وتوليفة الوسط الغذائي MS من حامضي الجاسمونيك والاسكوربيك وتداخلهما في الوزن الطري للافرع الخضرية المتكونة (ملغم) لاصل الحمضيات تروير سترانج بعد 8 اسابيع من زراعتها خارج الجسم الحي

معدل تأثير توليفة منظمات النمو	تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي (ملي مول)			توليفة منظمات النمو في الوسط الغذائي *
	150	75	0	
358.9 ^{cd}	173.3 ^g	338.8 ^{de}	564.8 ^b	وسط خالي
425.5 ^{ab}	265.3 ^{efg}	466.8 ^{bc}	544.6 ^{bc}	2 ملي مول حامض اسكوربيك
413.9 ^{abc}	270.4 ^{ef}	466.6 ^{bc}	504.8 ^{bcd}	25 مايكرومول مثيل جاسمونيك
327.5 ^d	173.1 ^g	318.3 ^{de}	491.1 ^{cd}	50 مايكرومول مثيل جاسمونيك
474.3 ^a	283.3 ^{ef}	448.5 ^{bc}	691.1 ^a	25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك
379.2 ^{bcd}	215.2 ^{fg}	418.2 ^d	504.4 ^{bcd}	50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك
	230.1 ^c	409.5 ^b	550.1 ^a	معدل تأثير تركيز الملح

ضمن الوسط الغذائي لجميع المعاملات (2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1 ملغم NAA . لتر⁻¹)

جدول 4- تأثير كلوريد الصوديوم وتوليفة الوسط الغذائي MS من حامضي الجاسمونيك والاسكوربيك وتداخلهما في الوزن الجاف للنموات الخضرية لاصل الحمضيات تروير سترانج بعد 8 اسابيع من زراعتها خارج الجسم الحي

توليفة منظّمات النمو	تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي (ملي مول)			توليفة منظّمات النمو في الوسط الغذائي *
	150	75	0	
وسط خالي	155.2 ^{gh}	188.4 ^{def}	210.4 ^{cde}	
2 ملي مول حامض اسكوربيك	188.3 ^{def}	203.9 ^{de}	211.5 ^{cde}	
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك	171.3 ^{fg}	215.2 ^{cd}	233.6 ^{bc}	
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك	140.1 ^h	171.3 ^{fg}	201.4 ^{cde}	
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	188.5 ^{def}	207.2 ^{de}	391.1 ^a	
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	141.5 ^h	183.9 ^{def}	245.8 ^b	
معدل تأثير تركيز الملح	164.15 ^c	194.98 ^b	248.97 ^a	

ضمن الوسط الغذائي لجميع المعاملات (2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1 ملغم NAA . لتر⁻¹)

جدول 5- تأثير كلوريد الصوديوم وتوليفة الوسط الغذائي MS من حامضي الجاسمونيك والاسكوربيك وتداخلهما في محتوى الفروع لاصل الحمضيات تروير سترانج من الكلوروفيل الكلي(ملغم/100غم وزن طري) بعد 8 اسابيع من زراعتها خارج الجسم الحي

توليفة منظّمات النمو	تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي (ملي مول)			توليفة منظّمات النمو في الوسط الغذائي *
	150	75	0	
وسط خالي	6.67 ^f	8.40 ^{de}	10.44 ^{bcd}	
2 ملي مول حامض اسكوربيك	9.31 ^{de}	12.12 ^{abc}	13.11 ^a	
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك	8.15 ^{de}	10.3 ^{bcd}	11.9 ^{abc}	
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك	8.00 ^{def}	9.97 ^{cde}	11.62 ^{abc}	
25 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	9.15 ^{de}	12.32 ^{ab}	13.87 ^a	
50 مايكرومول مثيل جاسمونيك + 2 ملي مول حامض اسكوربيك	6.07 ^f	8.31 ^{de}	10.01 ^{bcd}	
معدل تأثير تركيز الملح	7.89 ^c	10.24 ^b	11.82 ^a	

ضمن الوسط الغذائي لجميع المعاملات (2 ملغم BA . لتر⁻¹ + 0.1 ملغم NAA . لتر⁻¹)

- deprivation stress. *Annals of Botany*, 91:179-197.
- 7-Cheong, J.-J. and Y.D. Choi, .2003. Methyl jasmonate as a vital substance in plants. *Trends in Genetics*, 19 (7) :409-413.
- 8-Chatzissavvidis, C. ; C. Antonopoulou,; I. Therios, and Dimassi, K. .2014. Responses of trifoliate orange (*Poncirus trifoliate* L.) to continuously and gradually increasing NaCl concentration. *Acta Botanica Croatia*, 73 (1) : 275–280.
- 9-Cipollini, D. .2005. Interactive effects of lateral shading and jasmonic acid on morphology, physiology, seed production, and defense traits in *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Plant Sciences*, 166: 955-959.
- 10-Del Longo, O.T. ; A.R. Koroch, and Trippi, V.S. .1997. The role of ascorbic acid in the preservation or degradation of chlorophyll in oat leaves. *Agri. Scientia*, 14 : 11-17.
- 11-El Khallal, S.M. .2001. Some physiological roles of jasmonic acid in adaptation of pea seedlings to salt stress. *Egyptian Journal of Biotechnology*, 10: 249–271.
- المصادر
- 1-الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله .1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل . العراق .
- 2- ناجي ، ضرغام باسم . 2013. تقييم بعض أصول الحمضيات *Citrus spp* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة الكوفة. جمهورية العراق.
- 3--Abdel-Hussein, M. A.-A. .2006 . Evaluation of MM106 and Omara apple rootstocks for salt tolerance *in vitro*. *Scientific Journal of Karbala University*, 4 (2) : 184-191.
- 4-Akter, N.2012. Roles of glutathione in abscisic acid and methyl jasmonate-induced stomatal closure. Ph.D thesis , Okayama University, Japan. pp.90.
- 5-Ashraf, M. and N. Parveen. 2002. Photosynthetic parameters at the vegetative stage and during grain development of two hexaploid wheat cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum*, 45 : 401-407.
- 6-Blokhina, O. ; E. Virolainen, and Fagerstedt, K. V. .2003. Antioxidant damage and oxygen

- responses of two citrus rootstocks. International Journal of Agronomy and Plant Production, 4 (6) : 1320-1326.
- 18-Harb, E.M. ; O.M. El – Shihy; A . H . Hanafy Ahmed, and Mualla, N.A . . 2002. Using plant tissue culture technique for rapid propagation and salt tolerance in banana plant .Proceedings of the 2nd Congress on Recent Technologies in Agriculture, Faculty of Agriculture, Cairo University 28 – 30 October. Pp.979- 994.
- 19-Javid, M. G.; A. Sorooshzadeh,; F. Moradi,; S. A. M. M. Sanavy, and Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Australian Journal of Crop Science, 5(6):726-734.
- 20-Kaya, C. ; A.L. Tuna, and Yokaş, I. 2009. The role of plant Hormones in plants under salinity stress. In : M. Ashraf : M. Ozturk and H.R. Athar (Eds.) Salinity and Water Stress : Improving Crop Efficiency. Springer Science & Business Media B.V. chapter , 5 . Republic of Turkey. Pp 45 -50.
- 12-Flowers, T.J. .2004. Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany, 55 (396):307-319.
- 13-Ghaleb,W.Sh. ; J.S. Sawwan,; M.W. Akash,. and AL-Abdallat, A.M.2010. *In vitro* response of two *Citrus* rootstocks to salt stress. International Journal of Fruit Science,10(1) : 40-53.
- 14-Gómez-Galera, S. ; R. Rodríguez,; J.L.L. Sanfeliu,; L. Martín-Closas, and Pelacho, A.M..2008. Effect of salinity on *in vitro* grown potato explants and potential protection by jasmonic acid. Acta Horticulturae , 774:345-350.
- 15-Goodwin , T.W. 1976. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment. 2nd ed. Academic Press, London, N.Y., England, p. 373.
- 16-Guo, Z. ; H. Tan; Z. Zhu; S. Lu, and Zhou, B . 2005. Effect of intermediates on ascorbic acid and oxalate biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. Plant Physiology and Biochemistry, 43(10): 955-962.
- 17-Habibi, F. and M. E. Amiri .2013. Influence of *in vitro* salinity on growth, mineral uptake and physiological

- Factors . John Wiley & Sons , Inc. : USA.
- 27-Pérez-Tornero, O. ; C. I. Tallón,; I. Porras, and Navarro, J. M. .2009. Physiological and growth changes in micropropagated *Citrus macrophylla* explants due to salinity. Journal of Plant Physiology, 166(17) : 1923-1933.
- 28-Reiss, C. and S. I. Beale .1995. External calcium requirements for light induction of chlorophyll accumulation and its enhancement by red light and cytokinin pre-treatment in excised etiolated cucumber cotyledons. Planta, 196 : 635-641.
- 29-Sairam, R. K. and A. Tyagi .2004 . Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science, 86(3) : 407-417.
- 30-Salisbury, F.B. and W. C. Ross .1992. Plant Physiology. - Wadsworth, Inc., Belmont. Italia
- 31-Sen, A. .2012. Oxidative stress studies in plant tissue culture. In :M.A. El-Missiry (ed.) Antioxidant Enzyme. Chapter 3 , p.59-88.
- 21-Kovac, M. and M. Ravnikar .1994. The effect of jasmonic acid on the photosynthetic pigments of potato plant grown *in vitro*. Plant Sciences, 103 : 11-17.
- 22-Mass, E.V.. 1996. Plant response to soil salinity, p. 385–391. In: W. Albany, (ed) 4th Natl. Conf. and Workshop on the Productive Use and Rehabilitation of Saline Lands. Promaco Conventions Ltd., Australia.
- 23-Montoliu, A. ; M. F. Lo'pez-Climent,; V. Arbona, ; R. M. Pe'rez-Clemente, and Go'mez-Cadenas, A. .2009. A novel *in vitro* tissue culture approach to study salt stress responses in *Citrus*. Plant Growth Regulation , 59:179–187.
- 24-Munns, R. .2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment, 25 : 239-250.
- 25-Murashige, T. and F. Skoog . 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15, 473-497.
- 26-Orcutt , D.M. and E. T. Nilsen . 2000. The Physiology of Plants under Stress : Soil and Biotic

<http://www.intechopen.com/book>

S.

- 32-Shahzad, A. N. .2011.The role of jasmonic acid (JA) and abscisic acid (ABA) in salt resistance of maize (*Zea mays* L.). Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences, Home Economics and Environmental Management, Ph.D Thesis. Justus Liebig University Giessen. Egypt .pp.113.
- 33-Shalata, A. and P. M. Neumann .2001. Exogenous ascorbic acid increases resistance to salt stress reduces lipid peroxidation. Journal of Experimental Botany, 52: 2207-2211.
- 34-Shiyab, S.M. ; R.A. Shibli, and Mohammad, M.M. .2003. Influence of sodium chloride salt stress on growth and nutrient acquisition of sour orange *in vitro*. Journal Plant Nutrition , 26 : 985–96.

Effect of Methyl Jasmonate and Ascorbic Acid on Growth of Troyer Citrange Rootstock Cultures under *In Vitro* Salt Stress

*Mariam Basheer Esa

Muslim Abd Ali Abdul hussein

*Department of Horticulture and Landscape Gardening - Faculty of Agriculture –
University of Kufa – Republic of Iraq

Abstract

This experiment was conducted in Plant Tissue culture Laboratory / Horticulture and Landscape Department / Faculty of Agriculture /Kufa University during 2013-2014 .The aim was to study the effect of culture medium supplemented with NaCl salt, Methyl jasmonate and ascorbic acid on survival percentage, shoots number, its fresh and dry weights and its chlorophyll content of citrus rootstock Troyer citrange cultures under *in vitro* conditions .

This experiment was carried as factorial using complete randomized Design with two factors, the first : NaCl at concentrations (0 , 75 or 150) mM and the second with combinations of (control , 2 mM of ascorbic acid ; 25 μ M methyl jasmonate ; 50 μ M methyl jasmonate ; 25 μ M Methyl Jasmonate + 2 mM of ascorbic acid and 50 μ M methyl jasmonate + 2 mM Ascorbic acid .)

Results showed negative effects for NaCl on studied growth parameters of Troyer citrange rootstock cultures .It was found significant reduction in survival percentage, shoots number, its fresh and dry weights, and its chlorophyll content with an increase in NaCl levels in multiplication medium . They were the lowest values at 150 mM NaCl compared with the highest at control treatment (0 mM NaCl).

Results also showed difference in responses of the plant growth regulators combinations in culture medium, treatment of 25 mM methyl jasmonate + 2 mM ascorbic acid increased significantly most studied parameters, compared with the free of plant growth regulators medium.

Interaction between concentration of medium salinity and combinations of growth regulators showed significant differences in studied parameters. Cultures of the interaction treatment between methyl jasmonate and ascorbic acid (alone or together) with each concentration of salt were showed significant superiority on other treatments which gave an increase in survival percentage , shoots number , its fresh and dry weights, These results indicated the important role of methyl jassmonate and ascorbic acid in decreasing the adverse effects of NaCl salt.

Keywords : methyl jasmonate , ascorbic acid , *in vitro* salt stress, citrus rootstock

*Part of M.Sc. thesis of the first author