



SSN: 1608-9391
e-ISSN: 2664-2786

Received:23/5/2021
Accepted:20/7/2021

دور حامض الاسكوريك في استحداث ونمو كالس زهرة الشمس تحت ظروف الاجهاد الملحي

شيماء محمد سلطان * ساجدة عزيز عبود

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

*E-mail: sajsbio@uomosul.edu.iq

الملخص

شمل البحث دراسة تأثير ملح كلوريد الصوديوم بتركيز 50، 100، 150 و 200 ملي مول وتركيز من حامض الاسكوريك 20 و 40 ملغم/ لتر⁻¹ في استحداث ونمو كالس زهرة الشمس *Helianthus annuus L.* اظهرت النتائج ان زيادة تركيز NaCl في الاوساط الغذائية ادى الى اختزال نسب استحداث الكالس من قطع سيقان البادرات النامية على اوساط Murashige and Skoog (MS) Murashige and Skoog (MS) الصلبة المزودة بالبنزاييل ادنين (BA) بتركيز 1 ملغم/ لتر⁻¹ والنفثالين حامض الخليك (NAA) بتركيز 0.5 ملغم.لتر⁻¹ ورافقه انخفاض معنوي في الاوزان الطرية والجافة للكالس، بينما سببت اضافة حامض الاسكوريك الى الاوساط الحاوية على الملح الى استعادة استحداث ونمو الكالس بعد 30 يوما من الزراعة، كما اوضحت النتائج ان زراعة عينات من الكالس في اوساط MS المزودة بتركيز مختلفة من الملح ادت الى انخفاض متباين في مؤشرات نمو الكالس (الوزن الطري والجاف، دليل التحمل الاجهاد الملحي، معدل النمو النسبي والمطلق، حيوية الكالس) مع زيادة في النضح الالكتروليتي لخلايا الكالس بعد 21 يوما من الزراعة. ان اضافة حامض الاسكوريك و بتركيز 20 او 40 ملغم/ لتر⁻¹ الى اوساط MS شجع مؤشرات نمو الكالس اعلاه مع تفوق التركيز 20 ملغم/ لتر⁻¹. وأدى اضافة حامض الاسكوريك مع NaCl بتركيز 150 ملي مول زيادة في محتوى الكالس من حامض الاسكوريك قياسيا بمعاملة الملوحة فقط بعد 21 يوما من الزراعة.

الكلمات الدالة: نبات زهرة الشمس، مزارع الكالس، كلوريد الصوديوم، حامض الاسكوريك.

المقدمة

يعد نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus* L. من المحاصيل الواسعة الانتشار نظرا لأهميته الطبية والاقتصادية واستعمالاته الواسعة الانتشار، وهو أحد أهم أربعة محاصيل زيتية في العالم (Adeleke and Babalola, 2020). يزرع نبات زهرة الشمس على نطاق واسع في المناطق الشمالية من العراق (Omar et al., 1993). ومن الاجهادات البيئية غير الحيوية التي يتعرض لها النبات هي الملوحة، يعد نبات زهرة الشمس من النباتات المتوسطة الحساسية للملوحة (Hazegawa et al., 2000). وتعد الملوحة من المشاكل الرئيسية التي تؤثر على نمو وانتاجية المحاصيل (Zhao et al., 2020). للإجهاد الملحي تأثيرات اولية تكون سمية تناضحية وايونية على الخلايا وتأثيرات ثانوية معقدة تشمل الاجهاد التأكسدي مسببة تلف المكونات الخلوية مثل دهون الاغشية والبروتينات والاحماض النووية وخلل في التمثيل الضوئي (Zhu, 2002). و يعد حامض الاسكوربيك (فيتامين C) هو احد الفيتامينات الذائبة في الماء وله ادوار مهمة ومتعددة في نمو النبات، حيث يشارك في انقسام الخلايا، توسع جدار الخلية وعمليات النمو والتطور الاخرى (Paciolla et al., 2019). وهو أحد مضادات الاكسدة غير الانزيمية الذي له القدرة على الحد او التقليل من التأثيرات الضارة لأنواع الاوكسجين التفاعلية Reactive oxygen species (ROS) التي تنتج بفعل العمليات الايضية المختلفة للنبات، وبذلك يعمل الحامض على حماية الاغشية الخلوية من التلف ويحافظ على الجهد الازموزي والتوازن الايوني في الخلايا (Nunes et al., 2020). ذكرت دراسة (Omar et al., 1993) ان اضافة كلوريد الصوديوم الى وسط نمو كالس زهرة الشمس بتركيز مختلفة ادى الى انخفاض معنوي في محتوياته الخلوية من البروتينات و RNA والكربوهيدرات ورافقه انخفاض في وزنه الطري والجاف. وتوصل (Ibrahim et al., 2020) في دراستهم الى حصول انخفاض في الوزن الطري لكالس البطاطا النامي في الوسط الزراعي المزود بملح كلوريد الصوديوم بتركيز 100 ملي مول مع حصول موت وعدم تحمل الكالس للتركيز 120 ملي مول من الملح. واكدت دراسة (Zulfqar et al., 2020) ان الظروف الملحية العالية لكلوريد الصوديوم 150 ملي مول سببت انخفاضا كبيرا في تركيز الكتلة الحيوية لكالس زهرة الشمس وتركيز البروتين مقارنة بالوسط غير الملحي. وجد ان اضافة حامض الاسكوربيك بتركيز 100 ملغم/ لتر⁻¹ الى اوساط نمو كالس نخيل التمر المزودة بكلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول ادت الى زيادة في نشاط انزيمات الاكسدة APX و SOD التي منحت الدور الوقائي لخلايا الكالس من الاكسدة (Al-mayahi et al., 2016). توصلت دراسة السعدي (2019) الى حصول انخفاض في مؤشرات نمو كالس الماش (الوزن الطري والجاف، دليل تحمل الاجهاد الملح، معدل النمو النسبي والمطلق، استدامة الكتلة الحيوية) ووجد عند اضافة حامض الاسكوربيك الى الاوساط الملحية ادى الى استعادة نمو ذلك الكالس وزيادة في بعض محتوياته الخلوية ومنها تركيز فيتامين C. هدفت الدراسة الحالية الى معرفة مدى امكانية توظيف تقانة الزراعة النسيجية في دراسات المتغيرات الحاصلة في مؤشرات استحداث ونمو خلايا كالس زهرة الشمس بتأثير الاجهاد المتسبب من اضافة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم الى الاوساط الغذائية، ودور حامض الاسكوربيك في اختزال التأثيرات السلبية في تلك المؤشرات التي يسببها الملح.

مواد وطرائق البحث

التعقيم السطحي للبذور

عقمت بذور زهرة الشمس بغمر مجموعة منها في محلول الكحول الايثيلي بتركيز 99% لمدة دقيقتين، ثم نقلت مباشرة الى قنارٍ زجاجية معقمة حاوية على محلول القاصر التجاري هابيوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 6% وخفف بنسبة 1:1 (حجم قاصر : حجم ماء مقطر) لمدة 20 دقيقة مع التحريك المستمر. رفعت البذور المعاملة وغسلت بالماء المقطر المعقم أربع مرات لإزالة اثار المواد المعقمة (Mohammad et al., 1986).

زراعة البذور وتنمية البادرات

زرعت بذور زهرة الشمس المعقمة سطحيا في الفقرة السابقة على وسط MS بنصف القوة التركيبية بحوي 20 غم/ لتر⁻¹ من السكر المصلب بإضافة 7.5 غم من الاكار. نقلت الزروع الى غرفة النمو بدرجة حرارة 20±2°م في الظلام. وبعد بزوغ الجذير نقلت الى نظام الضوء والظلام المتعاقب 16 ساعة ضوء بشدة اضاءة 2000 لوكس و 8 ساعات ظلام لحين بلوغها العمر المناسب لاستخدامها (Mohammad *et al.*, 1986).

استحداث مزارع الكالس من السيقان

استخدمت قطع من سيقان بادرات زهرة الشمس المعقمة وبعمر 20 يوما وبطول 1.0 سم تقريبا. ثم زرعت على وسط MS المدعم بإضافة BA بتركيز 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ و NAA بتركيز 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ (غانم وعبود، 2019) وبمعدل قطعتين/ قنينة. سدت فوهات القناني الزجاجية وحفظت في غرفة النمو تحت الظروف المشار اليها سابقا في زراعة البذور. تم حساب النسبة المئوية لاستحداث الكالس (%) بعد 30 يوما من تاريخ الزراعة وفق المعادلة التالية:

$$\text{استحداث الكالس (\%)} = \frac{\text{عدد الاجزاء النباتية الناتج منها الكالس}}{\text{العدد الكلي للأجزاء النباتية}} \times 100$$

(Atabaki *et al.*, 2018).

تأثيرات كلوريد الصوديوم في نمو الكالس

أخذ 100 ملغم تقريبا من الكالس المستحدث من السيقان بعمر 21 يوما ونقل الى اوساط MS المضافة اليها نفس تركيبة منظمات النمو المستخدمة للاستحداث مع اضافة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم 50، 100، 150 و 200 ملي مول واوساط اخرى زودت بتركيزين من حامض الاسكوريك 20 و 40 ملغم/ لتر⁻¹، اضافة الى معاملات التداخل بين العاملين (كلوريد الصوديوم وحامض الاسكوريك) فضلا عن معاملة المقارنة. وبعد مرور 21 يوما من الزراعة تم حساب مؤشرات نمو الكالس.

المؤشرات المدروسة للكالس المعامل بكلوريد الصوديوم وحامض الاسكوريك

الوزن الطري (غم): حسب الوزن الطري للكالس لجميع المعاملات بالاعتماد على تحديد الفرق بين وزن الكالس عند معاملته ووزنه بعد مضي مدة نمو 21 يوما.

الوزن الجاف (غم): وضع الكالس في اكياس مثقبة في فرن كهربائي بدرجة حرارة تراوحت بين 65-70°م لمدة 48 ساعة ولحين ثبوت الوزن.

دليل تحمل الاجهاد الملحي (%): تم حساب دليل تحمل الاجهاد الملحي بكلوريد الصوديوم وفق المعادلة الآتية:

$$\text{دليل تحمل الاجهاد الملحي (\%)} = \frac{\text{الوزن الجاف للمعاملة}}{\text{الوزن الجاف لمعاملة المقارنة}} \times 100$$

(Bagci *et al.*, 2007)

معدل النمو المطلق (ملغم/ يوم⁻¹): حسب معدل النمو المطلق للكالس حسب المعادلة الآتية:

$$\text{معدل النمو المطلق (ملغم/ يوم⁻¹)} = 100 \times \frac{W_2 - W_1}{\Delta t}$$

إذ يمثل W_1 ، W_2 الوزن الطري في بداية ونهاية التجربة بالتتابع، Δt مدة تحضين الكالس في غرفة الزرع (21 يوم) (El-Yacoubi *et al.*, 2010)

معدل النمو النسبي (%): حسب معدل النمو النسبي للكالس وفقاً للمعادلة الآتية:

$$\text{معدل النمو النسبي (\%)} = \frac{\text{معدل نمو الكالس للمعاملة}}{\text{معدل نمو الكالس لمعاملة المقارنة}} \times 100$$

(El-Yacoubi *et al.*, 2010)

النضح الالكتروليتي النسبي (%): قدر النضح الالكتروليتي النسبي Relative Electrolyte Leakage لنسيج الكالس بالاعتماد على المعادلة الآتية:

$$\text{النضح الالكتروليتي النسبي (\%)} = \frac{\text{القراءة الاولى لدرجة التوصيل الكهربائي (EC}_1\text{)}}{\text{القراءة الثانية لدرجة التوصيل الكهربائي (EC}_2\text{)}} \times 100$$

(Sullivan, 1972)

حيوية الكالس (%)

قدرت حيوية الكالس حسب الطريقة المتبعة من قبل Towill and Mazur (1975).

تركيز حامض الاسكوريك

استخدمت الطريقة المقدمة من قبل Bajaj and Kaur (1981) في تقدير تركيز حامض الاسكوريك في عينات كالس زهرة الشمس بعمر 21 يوماً للمعاملات المختلفة.

التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات وفق نظام التجارب البسيطة والعاملية بالتصميم العشوائي الكامل، وتم اختبار المتوسطات حسب اختبار دنكن المتعدد المدى، إذ مُيزت المعاملات المختلفة معنوياً بأحرف هجائية مختلفة وتحت مستوى احتمال 1% (عنتر وعلي، 2017).

النتائج

تأثير معاملة قطع سيقان بادرات زهرة الشمس بكلوريد الصوديوم

نسب استحداث الكالس

يتضح من (الجدول 1) وجود اختلافات معنوية في النسبة المئوية لاستحداث الكالس باختلاف تراكيز كلوريد الصوديوم المضاف الى الوسط الغذائي بعد 30 يوماً من الزراعة، إذ اعطت معاملة المقارنة نسبة استحداث 80%، وانخفضت تلك النسبة بزيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم حتى بلغت 30% عند التركيز 150 ملي مول، بينما سبب التركيز 200 ملي مول من الملح الموت للقطع النباتية وعدم حصول على اي استحداث لها.

الاوزان الطرية والجافة

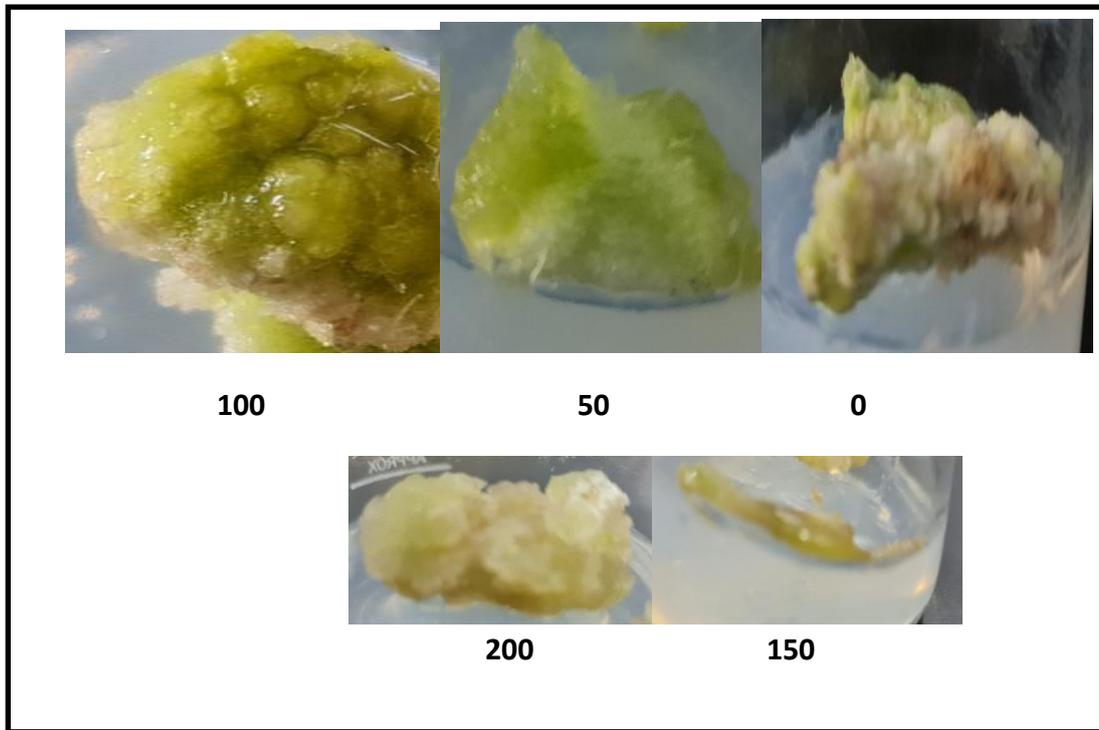
تشير نتائج (الجدول 1) الى انخفاض في الوزن الطري والجاف للكالس النامي على الاوساط الغذائية المزودة بتراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم، إذ اعطى كالس معاملة المقارنة اعلى وزن طري وجاف بلغ 2.673 غم و0.635 غم على التوالي قياساً بأقل اوزان للكالس المعامل بالتركيز 150 ملي مول من الملح التي بلغت 0.953 غم للوزن الطري و0.371 غم للوزن الجاف.

الجدول 1: تأثير كلوريد الصوديوم في استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس ووزنه الطري والجاف بعد مرور 30 يوما من الزراعة على وسط MS المجهز بإضافة 1.0 ملغم/لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم/لتر⁻¹ من NAA.

معدل الاوزان الجافة للكالس (غم)	معدل الاوزان الطرية للكالس (غم)	نسب الاستحداث (%)	تراكيز NaCl (ملي مول)
0.635a	2.673a	80a	0
0.570b	2.001b	60b	50
0.445c	1.500c	50c	100
0.371d	0.953d	30d	150
•	•	0e	200

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات. • موت القطع النباتية

يوضح الشكل (1) النمو البطيء للكالس بزيادة تركيز الملح وتحول لونه الى الابيض المصفر خاصة عند التركيز 150 ملي مول في حين سبب التركيز 200 ملي مول الموت للقطعة النباتية وعدم حصول أي استحداث للقطعة النباتية.



الشكل 1: استحداث وتكوين الكالس من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس تحت تأثير الاجهاد بكلوريد الصوديوم بالملي مول بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم/لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم/لتر⁻¹ من NAA.

تأثير معاملة قطع سيقان بادرات زهرة الشمس بحامض الاسكوريك نسب استحداث الكالس

اعطت معاملة قطع سيقان بادرات زهرة الشمس بحامض الاسكوريك بتركيز 20 و 40 ملغم/ لتر⁻¹ نسبة استحداث 100% و 90% على التوالي بعد 30 يوما من الزراعة اي اعلى من نسبة استحداث قطع معاملة المقارنة التي بلغت 80% (الجدول 2).

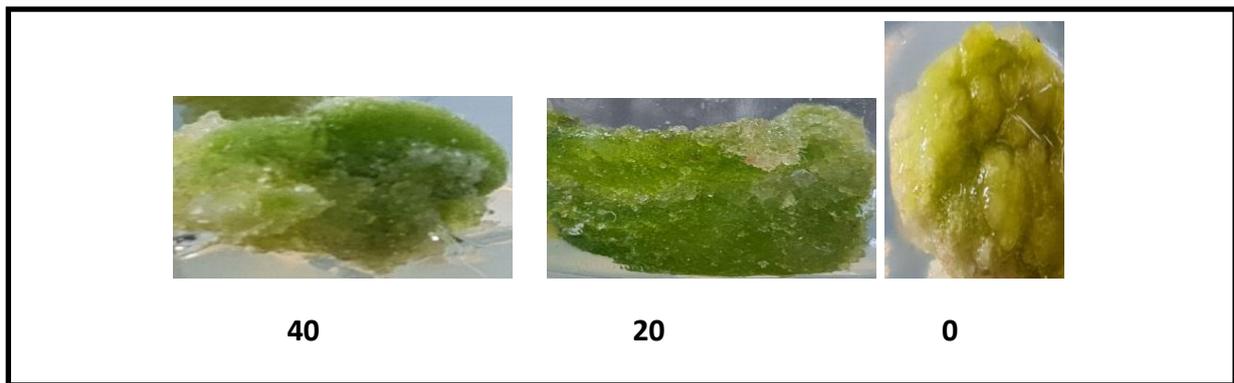
الاوزان الطرية والجافة

تشير بيانات (الجدول 2) الى التأثير الايجابي لحامض الاسكوريك في نمو كالس زهرة الشمس بدلالة الزيادة الحاصلة في معدل اوزانه الطرية والجافة والتي سجلت 3.648 غم و 1.005 غم على التوالي بعد 30 يوما من معاملته بالحامض بتركيز 20 ملغم/ لتر⁻¹ متفوقة بذلك على معاملة المقارنة، ويبرهن الشكل (2) تلك الزيادة الحاصلة في الكتلة الحيوية للكالس المعامل بحامض الاسكوريك قياسا بمعاملة المقارنة.

الجدول 2: تأثير حامض الاسكوريك في استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس ووزنه الطري والجاف بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بـ 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

معدل الاوزان الجافة للكالس (غم)	معدل الاوزان الطرية للكالس (غم)	نسب الاستحداث (%)	تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم/ لتر ⁻¹)
0.627c	2.566b	80c	0
1.005a	3.648a	100a	20
0.787b	3.000c	90b	40

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.



الشكل 2: مزارع الكالس المستحدث من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس تحت تأثير حامض الاسكوريك بتركيز 20 و 40 ملغم/ لتر⁻¹ بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بـ 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

تأثير التداخل بين حامض الاسكوريك وكلوريد الصوديوم نسب استحداث الكالس

تشير بيانات (الجدول 3) الى ان التداخل بين حامض الاسكوريك وكلوريد الصوديوم سبب زيادة معنوية بنسب استحداث الكالس وتكوينه بعد مرور 30 يوما من الزراعة، سببت اضافة حامض الاسكوريك بتركيز 20 ملغم/ لتر⁻¹ الى الوسط الغذائي

الحاوي على 150 ملي مول من كلوريد الصوديوم الى زيادة نسبة الاستحداث الى 60% اي ضعف نسبة استحداث الكالس النامي على وسط ملحي بتركيز 150 ملي مول (دون اضافة حامض الاسكوريك بلغ 30%). يوضح الجدول ذاته حصول على نسبة استحداث قليلة جدا عند اضافة حامض الاسكوريك مع كلوريد الصوديوم بتركيز 200 ملي مول.

الجدول 3: دور حامض الاسكوريك في استحداث الكالس من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس تحت تأثير الاجهاد الملحي بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بـ 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.

المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم / لتر ⁻¹)
	نسب الاستحداث (%)					
	200	150	100	50	0	
46b	0h	30g	50ef	60de	80c	0
63a	5h	60de	70cd	80b	100a	20
54.4b	2h	40fg	60de	80bc	90b	40
	2.3e	43.3d	60c	76.7b	90a	المعدل

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

الاوزان الطرية والجافة

تشير بيانات (الجدولين 4 ، 5) الى التأثير الايجابي لحامض الاسكوريك في زيادة الاوزان الطرية والجافة للكالس المعامل بالملوحة بعد 30 يوما من الزراعة، واعطت المعاملة المؤلفة من 150 ملي مول كلوريد الصوديوم و 20 ملغم / لتر⁻¹ حامض الاسكوريك وزنا طريا بلغ 2.092 غم وجافا 0.511 غم قياسيا بالوزن 0.966 غم و 0.387 غم على التوالي للكالس النامي على الوسط الملحي فقط بتركيز 150 ملي مول. ويوضح الجدول ايضا استعادة تكوين الكالس وبأوزان قليلة جدا عند معاملته بحامض الاسكوريك و 200 ملي مول من كلوريد الصوديوم. وظهرت متابعة نمو الكالس وجود بعض الفروقات المظهرية بين كتل عينات الكالس للمعاملة 150 ملي مول من كلوريد الصوديوم وحامض الاسكوريك 20 و 40 ملغم / لتر⁻¹. الشكل (3).

الجدول 4: انعكاسات تأثير حامض الاسكوريك في الوزن الطري للكالس المستحدث من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس تحت تأثير الاجهاد الملحي بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة باضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.

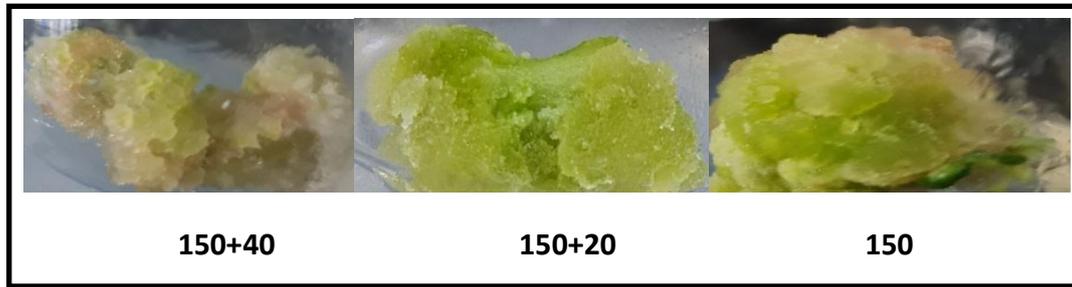
المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم / لتر ⁻¹)
	معدل الاوزان الطرية (غم)					
	200	150	100	50	0	
1.429c	0.001k	0.966h	1.502g	2.020f	2.676c	0
2.402a	0.551i	2.092e	2.665c	3.001b	3.700a	20
1.752b	0.311j	1.001h	2.120e	2.353d	2.981b	40
	0.288e	1.353d	2.096c	2.458b	3.119c	المعدل

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

الجدول 5: تأثير حامض الاسكوريك في الوزن الجاف للكالس المستحدث من قطع سيقان زهرة الشمس تحت تأثير الاجهاد الملحي بعد مرور 30 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم / لتر ⁻¹)
	معدل الاوزان الجافة (غم)					
	200	150	100	50	0	
0.400c	0h	0.387f	0.430f	0.55e2	0.633d	0
0.603a	0.103g	0.511e	0.612d	0.788	1.002a	20
0.472b	0.035h	0.401f	0.511e	0.624d	0.789b	40
	0.046e	0.433d	0.518c	0.655b	0.808a	المعدل

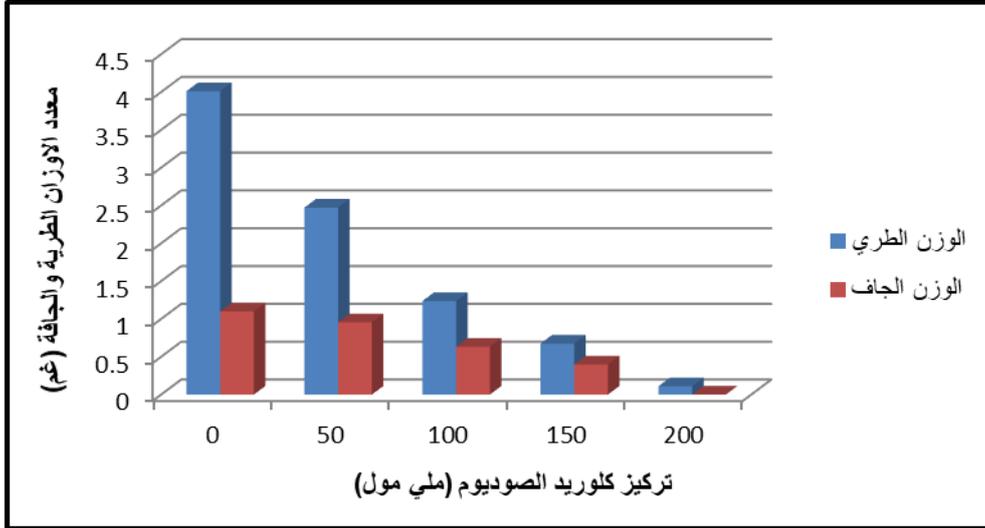
كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.



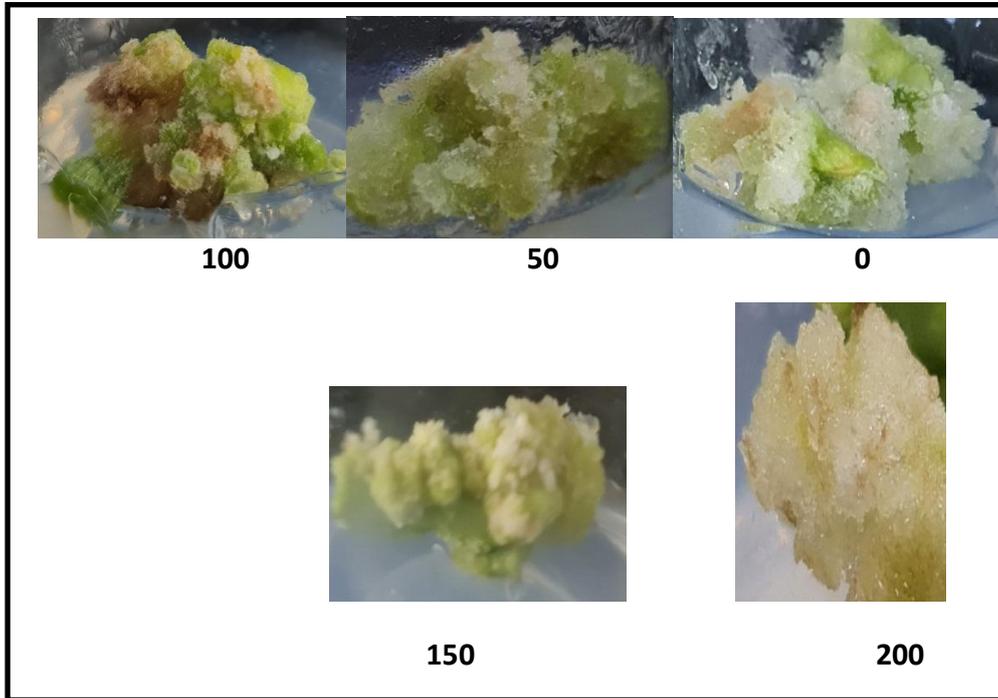
الشكل 3: تأثير تداخل المعاملة بحامض الاسكوريك بتركيز 20 و 40 ملغم / لتر⁻¹ وكلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول في كتلة الكالس المستحدث من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس في وسط MS المجهز بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA بعد 30 يوما من معاملته.

تأثير معاملة عينات كالس زهرة الشمس بكلوريد الصوديوم الاوزان الطرية والجافة

تعتبر النتائج في الشكل (4) عن الانخفاض التدريجي في معدل الاوزان الطرية والجافة للكالس بزيادة تركيز كلوريد الصوديوم المضاف الى الاوساط الغذائية، اذ سجل التركيز 200 ملي مول اقل معدل للوزن الطري 0.400 غم وللوزن الجاف 0.001 غم قياسا بمعاملة المقارنة اذ بلغت 4.011 غم للوزن الطري و 1.100 غم للوزن الجاف بعد 21 يوما من الزراعة. يوضح الشكل (5) فروقات مظهرية في كتلة عينات الكالس باختلاف تركيز الملح المضاف للأوساط الزرعية مقارنة مع نظيراتها لعينات المقارنة مع تغير لون الكالس الى الاصفر وموت معظم خلاياه عند التركيز 200 ملي مول من الملح.



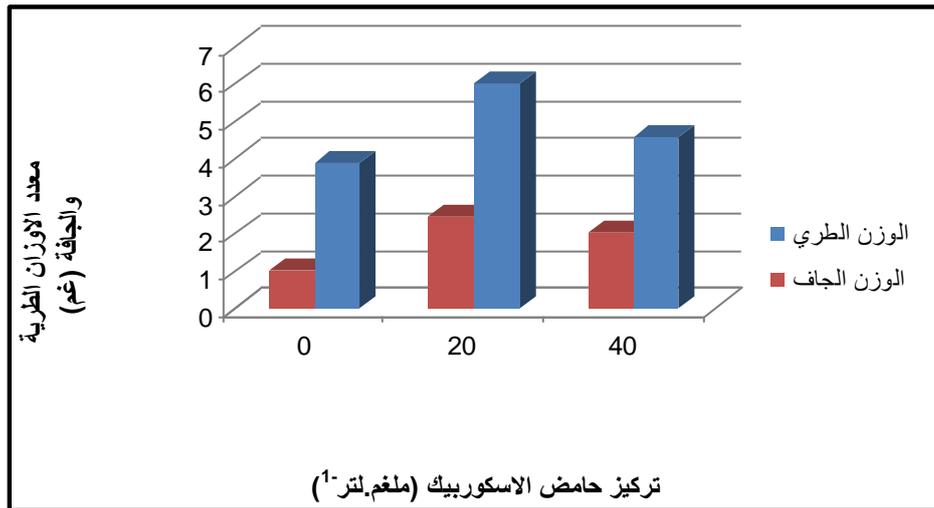
الشكل 4: تأثير كلوريد الصوديوم في الوزن الطري والجاف لكالس زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من زراعته على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.



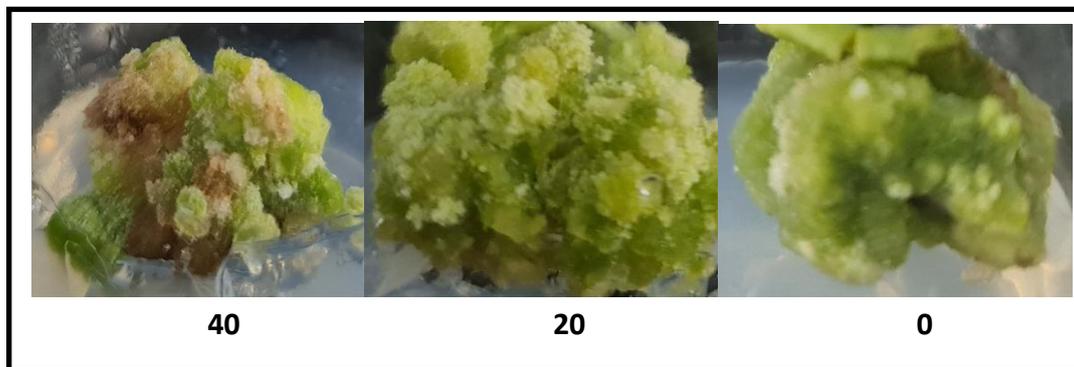
الشكل 5: انعكاسات تأثير كلوريد الصوديوم بالملي مول في نمو كالس زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من زراعته على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.

تأثير معاملة عينات كالس زهرة الشمس بحامض الاسكوريك

تشير البيانات المدونة في الشكل (6) الى حصول زيادة في قيمة الوزن الطري والجاف للكالس المعامل بحامض الاسكوريك قياسا بمعاملة المقارنة بعد 21 يوما من الزراعة، اذ اعطى تركيز 20 ملغم / لتر⁻¹ لحامض الاسكوريك اعلى معدل بلغ 6.001 غم للوزن الطري و2.456 غم للوزن الجاف قياسا بـ 3.880 غم و1.012 غم على التوالي لمعاملة المقارنة. تظهر ملاحظات متابعة نمو الكالس حصول زيادة بكتلته بتأثير حامض الاسكوريك وخاصة عند التركيز 20 ملغم / لتر⁻¹ قياسا بمعاملة المقارنة. الشكل (7).



الشكل 6: تأثير حامض الاسكوربيك في الوزن الطري والجاف لكالس زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم/لتر⁻¹ من NAA.



الشكل 7: تأثير حامض الاسكوربيك بتركيز 20 و40 ملغم/لتر⁻¹ في نمو الكالس المستحدث من قطع سيقان بادرات زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم/لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم/لتر⁻¹ من NAA.

تأثير التداخل بين حامض الاسكوربيك وكلوريد الصوديوم الاوزان الطرية والجافة

ساهمت عملية اضافة حامض الاسكوربيك الى الاوساط الملحية النامي عليها الكالس في التغلب على الاثر السلبي للاجهاد بكلوريد الصوديوم بدلالة الزيادة في معدل الاوزان الطرية والجافة للكالس واعطت المعاملة 20 ملغم / لتر⁻¹ من حامض الاسكوربيك مع 150 ملي مول كلوريد الصوديوم زيادة معنوية في الوزن الطري والوزن الجاف للكالس والذي بلغ 2.78 غم و 1 غم على التوالي مقارنة مع نظيراتها للمعاملة 150 ملي مول من الملح فقط والتي سجلت 0.7غم و0.398 غم على التوالي (الجدول 6 و7). سببت اضافة حامض الاسكوربيك مع كلوريد الصوديوم الى اوساط نمو الكالس الى استعادة نموه واكسابه اللون الاخضر قياسا بمعاملة الملح فقط. الشكل (8).

الجدول 6: تأثير تداخل حامض الاسكوريك وملح كلوريد الصوديوم في الوزن الطري لكالس زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.

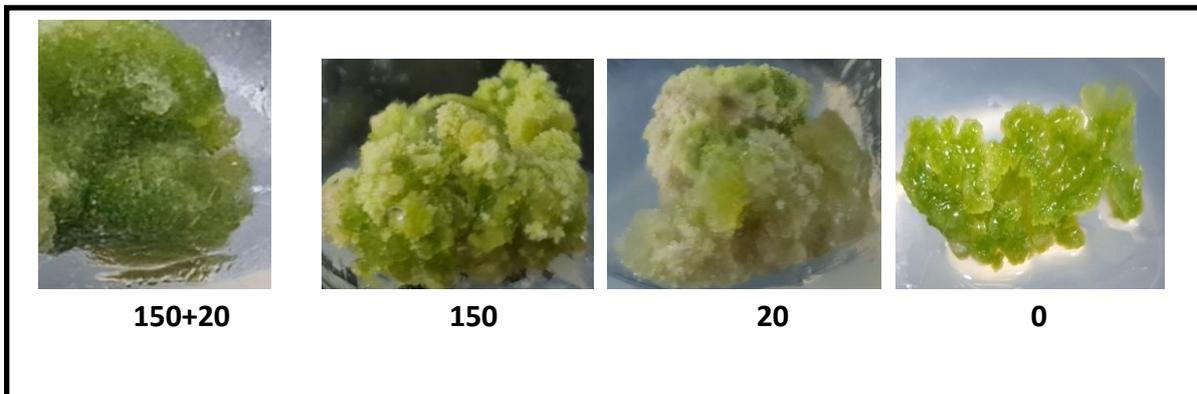
المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم/ لتر ⁻¹)
	معدل الاوزان الطرية (غم)					
	200	150	100	50	0	
1.666c	0.111m	0.700k	1.233j	2.450g	3.879d	0
3.218a	0.501l	2.781f	3.003f	4.144c	5.661a	20
2.431b	0.400m	1.662i	2.202h	3.342e	4.553b	40
	0.337e	1.714d	2.146c	3.312b	3.698a	المعدل

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

الجدول 7: تأثير تداخل حامض الاسكوريك وملح كلوريد الصوديوم في الوزن الجاف لكالس زهرة الشمس بعد مرور 21 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم / لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم / لتر⁻¹ من NAA.

المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم/ لتر ⁻¹)
	معدل الاوزان الجافة (غم)					
	200	150	100	50	0	
0.608c	0.002j	0.398i	0.612h	0.934f	1.092de	0
1.108a	0.002j	1.000de	1.007de	1.089c	2.441a	20
0.983b	0.001j	0.888g	0.992e	1.033d	1.999b	40
	0.002e	0.762d	0.870c	1.020b	1.844a	المعدل

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.



الشكل 8: مزارع كالس زهرة الشمس بعمر 21 يوما تحت تأثير تداخل حامض الاسكوريك بتركيز 20 ملغم/ لتر⁻¹ وملح كلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول في اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ من BA و0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

مؤشرات نمو كالس زهرة الشمس بتأثير حامض الاسكوريك وكلوريد الصوديوم دليل تحمل الاجهاد الملحي

اعطت المعاملة ذات التركيز الملحي 150 ملي مول قيمة دليل تحمل الاجهاد المنخفضة التي بلغت 36.447%، بينما ادت اضافة حامض الاسكوريك الى الوسط الملحي الى زيادة تلك القيمة الى 91.575% للتركيز 20 ملغم / لتر⁻¹ والى 81.319% للتركيز 40 ملغم / لتر⁻¹ (الجدول 8).

معدل النمو المطلق

كانت التداخلات بين حامض الاسكوريك وكلوريد الصوديوم مؤثرة بصورة واضحة في معدل النمو المطلق للكالس بعد 21 يوم من الزراعة، واعطت المعاملة المؤلفة من 20 ملغم / لتر⁻¹ و 150 ملي مول كلوريد الصوديوم معدل نمو مطلق بلغ 0.110 غم/ يوم⁻¹ بينما اعطى التداخل بين الحامض بتركيز 40 ملغم / لتر⁻¹ والملح معدل نمو مطلق بلغ 0.060 غم/ يوم⁻¹ قياسا بمعاملة الملح فقط 0.010 غم/ يوم⁻¹ (الجدول 8).

معدل النمو النسبي

انخفض معدل النمو النسبي للكالس عند اضافة كلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول الى الوسط الغذائي الى 18.046%، بينما اعطت المعاملات المؤلفة من حامض الاسكوريك 20 ملغم/ لتر⁻¹ و 40 ملغم/ لتر⁻¹ مع 150 ملي مول من كلوريد الصوديوم، معدل نمو نسبي 71.694% و 42.846% على التوالي وبعد فترة نمو استغرقت 21 يوم (الجدول 8).

النضج الالكتروني النسبي

ان تضرر الاغشية الخلوية بالملوحة سبب زيادة النضج الالكتروني عند المعاملة بالتركيز 150 ملي مول من كلوريد الصوديوم حيث بلغت 58% في حين قلت النسبة المئوية للنضج الالكتروني باضافة حامض الاسكوريك الى الاوساط الملحية سواء بتركيز 20 او 40 ملغم/ لتر⁻¹ الى 40% و 44% على التوالي (الجدول 8).

حيوية الكالس

انعكست تأثيرات كلوريد الصوديوم السلبية على نسبة حيوية الكالس، اذ انخفضت تلك النسبة الى 50% عند اضافته بتركيز 150 ملي مول الى اوساط نمو الكالس، في حين ازدادت تلك الحيوية الى 70% و 62% عند اضافة حامض الاسكوريك بتركيز 20 او 40 ملغم/ لتر⁻¹ الى ذلك الوسط الملحي على التوالي (الجدول 8).
يوضح الجدول ذاته ان اضافة حامض الاسكوريك بتركيز 20 او 40 ملغم/ لتر⁻¹ الى اوساط نمو الكالس دون اضافة الملح كان له تأثير ايجابي في مؤشرات النمو قيد الدراسة بدلالة زيادة كل من دليل تحمل الملح، معدل النمو المطلق، معدل النمو النسبي والنسبة المئوية لحيوية الكالس ورافقها انخفاض في معدل النضج الالكتروني مقارنة بنظيراتها لمعاملة الملح فقط بتركيز 150 ملي مول.

الجدول 8: دور حامض الاسكوريك بتركيز 20 و 40 ملغم/ لتر⁻¹ في مؤشرات نمو كالس زهرة الشمس تحت تأثير كلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول بعد مرور 21 يوما من الزراعة على اوساط MS المجهزة بإضافة 1.0 ملغم/لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

معدل حيوية الكالس (%)	معدل النضج الالكتروليتي النسبي (%)	معدل النمو النسبي (%)	معدل النمو المطلق (غم/ يوم ⁻¹)	دليل تحمل الاجهاد الملحي (%)	حامض الاسكوريك (ملغم/ لتر ⁻¹)
100a	15d	145.940a	0.246a	223.535a	20
88b	23c	117.376b	0.192b	183.059b	40
50d	58a	18.046e	0.010e	36.447e	150
70c	40b	71.694c	0.110c	91.575c	150+20
62c	44b	42.846d	0.060d	81.319d	150+40

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات ماعدا معدل النضج الالكتروليتي وحيوية الكالس تمثل ثلاث مكررات.

تركيز حامض الاسكوريك

تظهر البيانات الموضحة في (الجدول 9) حصول زيادة في محتوى الكالس من حامض الاسكوريك بزيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الاوساط الزرعية ماعدا التركيز 200 ملي مول، واستمرت تلك الزيادة بإضافة حامض الاسكوريك الى تلك الاوساط، اذ سجلت اعلى تركيز للحامض المستخلص من الكالس بعد 21 يوما من نموه على الوسط الزرعي المزود بحامض الاسكوريك بتركيز 20 وكلوريد الصوديوم بتركيز 150 ملي مول اذ بلغ 1.500 ملغم/ غم⁻¹ وزن طري قياسا بمعاملة الملح فقط والتي بلغ تركيز الحامض فيها 1 ملغم/ غم⁻¹ وزن طري فقط.

الجدول 9: تركيز حامض الاسكوريك في عينات كالس زهرة الشمس بعد 21 يوما من النمو على اوساط زرعية مزودة بحامض الاسكوريك وكلوريد الصوديوم اضافة الى 1.0 ملغم/ لتر⁻¹ من BA و 0.5 ملغم/ لتر⁻¹ من NAA.

المعدل	تراكيز NaCl (ملي مول)					تراكيز حامض الاسكوريك (ملغم/ لتر ⁻¹)
	تركيز حامض الاسكوريك (ملغم/ غم ⁻¹ وزن طري)					
	200	150	100	50	0	
0.683c	0.015j	1.000e	0.967e	0.755h	0.677i	0
0.932a	0.023j	1.500a	1.444b	0.922f	0.772h	20
0.766b	0.018j	1.144c	1.101d	0.865g	0.700i	40
	0.019e	1.215a	1.171b	0.847c	0.716d	المعدل

كل قيمة تمثل معدل عشرة مكررات.

المناقشة

تعد الملوحة عاملاً رئيسياً للحد من نمو وإنتاج النباتات على مستوى العالم. وقد أجريت العديد من البحوث والدراسات لمعرفة قدرة النباتات على تحمل الملوحة وإمكانية التوصل إلى استخدام أساليب وتقنيات مختلفة لزيادة مقاومة تلك النباتات للاجهاد الملحي التي تتعرض له (Zulfiqar et al., 2020). إن عملية استحداث الكالس للأجزاء النباتية المزروعة في الوسط الغذائي المناسب من العمليات الأساسية في الزراعة النسيجية التي تمر بمراحل تطورية أهمها مرحلة الاستحداث، حيث يحدث خلال هذه المرحلة تغيرات عديدة كبناء البروتينات والاستنساخ للحامض DNA لكي تدخل المرحلة الثانية والتي تشمل انقسام الخلايا بشكل سريع لتكون كتلة من خلايا غير متميزة تعرف بالكالس (الصميدعي، 2017). تعتمد عملية الاستحداث أيضاً على حالة التوازن الهرموني في الوسط، التي أشار إليها (Skoog and Miller, 1957). وهذا يؤكد نجاح استحداث كالس زهرة الشمس ونموه في الدراسة الحالية الذي يعود إلى حالة التوازن بين BA و NAA في الوسط الزراعي وإن أي تغيير في تركيزهما سوف يؤثر سلباً في نمو الكالس (Mineo, 1990). إلا أن انخفاض تلك النسب للاستحداث بإضافة كلوريد الصوديوم إلى الأوساط الغذائية ربما يعود إلى حصول تغيرات في التوازن الهرموني (الكعبي وآخرون، 2016) وبناء البروتينات والأحماض النووية وبذلك تعمل الملوحة على الحد أو التقليل من نسب استحداث الكالس (Omar et al., 1993). أظهرت النتائج أيضاً الانخفاض الواضح في معدل الأوزان الطرية والجافة لعينات كالس زهرة الشمس بزيادة تراكيز كلوريد الصوديوم المضافة إلى الأوساط الغذائية، إن التأثير السلبي للملح يعود إلى التغيرات الحاصلة في العلاقات المائية خارج وداخل الخلايا مما يؤدي إلى انخفاض جاهزية العناصر الغذائية لنمو الكالس وبذلك تصبح الخلايا مجبرة على امتصاص الملح لموازنة جهدها الأزموزي مع الوسط الغذائي للنمو (العبيدي، 2008)، وهذا يسبب الببط في عمليات انقسام ونمو خلايا الكالس ومن ثم انخفاض في معدل أوزانه الطرية والجافة (Muszynski and Gadysewski, 2008). جاءت هذه النتائج متفقة مع نتائج دراسة جودي وعباس (2016) على كالس أصل الخوخ، (Al Hattab et al., 2015) على كالس الحنطة وياسين وعبود (2020) على كالس البازلاء. إن زيادة تراكيز كلوريد الصوديوم المضافة إلى الأوساط الغذائية سببت انخفاضاً في مؤشرات نمو الكالس المعتمدة على الكتلة الحية لعينات الكالس المتأثرة بالملوحة، إن انخفاض قابلية خلايا الكالس على امتصاص الماء والمغذيات من الأوساط الغذائية يرافقه اختلال في التوازن الهرموني والفعالية الأنزيمية واضطراب المسارات الأيضية وبالتالي يؤدي إلى انخفاض في بناء المواد الأيضية الضرورية والمحتوى المائي مع زيادة في تراكم الجذور الحرة الضارة (الكعبي وآخرون، 2016)، وتسبب الملوحة أيضاً استنزافاً في الكربوهيدرات وتحللها إلى السكريات الذائبة لزيادة الأزموزية وتقليل الجهد المائي للخلية، لكن هذا يتطلب في الوقت نفسه طاقة إضافية تكلف النبات قلة النمو العام مسببة انخفاضاً في كمية المادة الحيوية أي انخفاض في معدل الأوزان الطرية والجافة للنبات (Garcia-Sanchez and Syvertsen, 2006)، إن تغيير لون الكالس من الأخضر المصفر ذو القوام المتماسك إلى اللون الأصفر ذو القوام الهش المتفتت ربما يعود إلى تراكم أيوني Na^+ و Cl^- في خلايا الكالس مسبباً اختلال التوازن الأيوني وظهور أعراض السمية لأيونات الملح (Sami et al., 2016). إن زيادة النسبة المئوية لتضرر أغشية (النضح الإلكتروني النسبي) خلايا كالس زهرة الشمس يعود إلى حالة الاجهاد التأكسدي الذي سببته أيونات كلوريد الصوديوم محررة عدد من الجذور الأوكسجينية العالية السمية التي تتفاعل مع مكونات جدار الخلية مسببة أكسدة الليبيدات وتحطيم البروتينات مما يؤدي إلى حدوث تسريب في محتويات الخلية وجفاف سريع وبالتالي موت الخلية (Candan and Tarhan, 2003). واتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه عبد الحسين وظاهر (2016) على كالس العنب وجودي وعباس (2016) كالس أصل الخوخ وياسين وعبود (2020) كالس البازلاء. انعكست التغيرات السلبيه التي حصلت في أنسجة كالس زهرة الشمس بتأثير إضافة كلوريد الصوديوم على حيوية ونمو الكالس، حيث انخفضت حيويته إلى النصف عند زيادة تركيز الملح إلى 150 ملي مول في الوسط الزراعي، وهذا يتفق مع نتائج دراسة ياسين وعبود (2020) على كالس البازلاء، بينما وجد كل من Abu-Romman and Suwwan (2009) أن حيوية كالس الخيار انخفضت إلى 33.1% عند التركيز 100 ملي مول، وحيوية كالس البازلاء إلى 18% عند التركيز 200 ملي مول من الملح هذا يدل على

اختلاف حساسية الكالس لملاح كلوريد الصوديوم باختلاف النباتات. ان اضافة حامض الاسكوريك الى الاوساط الملحية النامي عليها كالكس زهرة الشمس عمل على حماية ازموزية جيدة وتقليل نسبة تضرر الاغشية الخلوية وبالتالي زيادة في الوزن الطري والجاف للكالس مع زيادة حيويته، وهذا يعود الى دور حامض الاسكوريك في التنظيم الازموزي الخلوي، وان اضافة حامض الاسكوريك عمل على زيادة محتوى خلايا انسجة الكالس من الحامض وان هذه الزيادة منحت الكالس تحملاً أكبر للملوحة، وهذا يعود الى كون حامض الاسكوريك من مضادات الاكسدة التي تعمل على ازالة الجذور الحرة من خلال زيادة نشاط انزيمات الاكسدة (Akram et al., 2017) وتتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج (Alhasnawi, 2016) ؛ Kurniasari et al., 2019 ؛ (السعدي، 2019) في دراستهم على كالس نبات الرز والاوركيد والماش على التوالي. وبذلك يمكن القول ان حامض الاسكوريك المضاف لأوساط نمو كالس زهرة الشمس سبب تحسناً في معظم مؤشرات نمو الكالس قيد الدراسة اضافة الى قابليته في التقليل من التأثير السمي لأيونات ملح كلوريد الصوديوم العالية التركيز.

المصادر العربية

- جودي، زينب جلال؛ عباس، محسن جلاب (2016). تأثير حامض الساليسيليك في مؤشرات النمو لكالس أصل الخوخ Garnem تحت الاجهاد الملحي خارج الجسم الحي. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية، 8(3)، 77-91.
- السعدي، حسن عبد الرزاق علي (2019). دور فيتامين C وهرمون البراسينولايد في تحمل الماش للإجهاد الملحي والنامي في المزارع النسيجية والحقل. اطروحة دكتوراه، قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) جامعة بغداد، العراق.
- الصميدعي، كاظم محمد ابراهيم (2017). تطبيقات في التقانات الاحيائية النباتية. الطبعة الاولى، الجزء الاول، الدار الجامعية للطباعة والنشر والترجمة، جامعة النهرين، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- عبد الحسين، مسلم علي؛ طاهر، حوراء عماد (2016). دراسة نمو كالس العنب تحت الإجهاد الملحي خارج الجسم الحي. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية، 8(2)، 77-90.
- العبيدي، محمد كاظم هشام؛ محمود، سعدية حسن؛ ابراهيم، كاظم محمد؛ الجبوري، عبد الجاسم محسن (2008). تأثير الغرلة والانتخاب في قابلية كالس تركيبيين وراثيين من فول الصويا *Glycine max L.* لتحمل الملوحة خارج الجسم الحي. مجلة علوم المستنصرية، 19(3)، 47-62.
- عنتر، سالم حمادي وعلي، عدنان حسين (2017). التحليل الاحصائي للتجارب الزراعية باستخدام برنامج SAS، مطبعة جامعة ديالى، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.
- غانم، سارة نزار؛ عبود ساجدة عزيز (2019). تأثيرات اشعة ليزر الدايدود في استحداث ونمو كالس نبات زهرة الشمس *Helianthus annuus L.* مجلة علوم الرافدين، 28(1A)، 24-34.
- الكعبي، حسين خلف؛ عبد القادر، لمى حسين؛ قاسم، حسن عبد الكريم (2016). الاضافتان التدريجية والمباشرة لملاح كلوريد الصوديوم ودور حامض البرولين في التقليل من اثارهما في صنفين من الحنطة المستزرع نسيجياً. مجلة جامعة ذي قار للبحوث الزراعية، 5(1)، 111-130.
- ياسين، ايمان طه؛ عبود، ساجدة عزيز (2020). تأثير ظروف الشد الملحي في مؤشرات انبات البذور ونمو البادرات واستحداث كالس البازلاء *Pisum sativum L.* في الاوساط الزرعوية. مجلة علوم الرافدين، 29(1)، 11-25.

المصادر الأجنبية

- Abu-Romman, S.M.; Suwwan, M.A. (2009). Salt stress-induced responses in cucumber callus. *Dirasat, Agric. Sci.*, **36**(2), 100-108.
- Adeleke, B.S.; Babalola, O.O. (2020). Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: nutritional and health benefits. *Food Sci. Nutr.* **8**, 4666-4684.
- Akram, N.A.; Shafid, F.; Ashraf, M. (2017). Ascorbic acid a potential oxidant scavenger and its role in plant development and a biotic stress tolerance. *Front. Plant Sci.*, **8**, 1-17.
- Al Hattab, Z.A.; Majid, S.; Hamdalla, M.; Momhammed. M.A. (2015). Salinity effect on wheat *Triticum aestivum* L. callus growth and development, *Int. J. Mult. and Cur. Res.*, **3**, 1185-1188.
- Alhasnawi, A.N. (2016). Tissue culture technician and in vitro screening of rice callus for salt tolerance. *J. Global Pharm. Technol.*, **11**(9), 67-74.
- Al-mayahi, A.M.W. (2016). Influence of salicylic acid (SA) and ascorbic acid (ASA) on in vitro propagation and salt tolerance of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. 'Nersy', *AJCS* **10**(7), 969-976.
- Atabaki, N.; Nulit, R.; Kalhori, N.; Lasumin, N.; Sahebi, M.; Abiri, R. (2018). In vitro selection and development of Malaysian salt-tolerant rice under salinity. *Act. Sci. Agri.*, **2**(8), 8-17.
- Bagci, S.A.; Ekiz, H.; Yillmaz, A. (2007). Salt tolerance of sixteen wheat genotypes during seedling growth. *Turk. J. Agric.*, **31**, 363-372.
- Bajaj, K.L.; Kaur, G. (1981). Spectrophotometric determination of L- ascorbic acid in vegetables and fruits. *Analyst.*, **106**(1258), 117-120.
- Candan, N.; Tarhan, L. (2003). The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Sci.*, **163**, 769-779.
- El-Yacoubi, H.; Ayolie, K.; Rochdi, A. (2010). In vitro cellular salt tolerance of Troyer citrange: changes in growth solutes accumulation in callus tissue. *Int. J. Agric. Biol.*, **12**(2), 187-193.
- Garcia-Sanchez, F.; Syvertsen, J.P. (2006). Salinity tolerance of Cleopatra mandarin and Carrizo citrange rootstock seedlings is affected by CO₂ enrichment during growth. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **131**, 24-31.
- Hazegawa, P.M.; Bressan, P.A.; Zhu, J.; Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Ann. Rev. Plant Mol. Biol.* **51**, 463-499.
- Ibrahim, M.A.; Jerry, A.N.; Khalil, A.I. (2020). Salt tolerant cells selection of potato callus from culturing at different concentrations of sodium chloride by in vitro culture technique. *Plant Cell Biotech. Mol. Bio.*, **21**, 8-89.
- Kurniasari, D.; Yullanti, A.E.; Suglyarto, L.; Mereuriani, I.S. (2019). Increasing *Rhynchosytilis retusa*'s callus formation by immersing explant in ascorbic acid and planting on activated charcoal contained medium, The international Seminar on Bioscience and Biological Education, IOP Conf. Series: *J. Physics: Conf. Series*, 1241.
- Mineo, L. (1990). "Plant Tissue Culture Techniques". In: C.A. Goldman, (Editor), *Tested Studies for Laboratory Teaching*. V. 11. pp.151-174.
- Mohammad, A.M.S.; Al-Barhawi, R.K.; Abood, S.A. (1986). Effect of some growth regulators on the initiation and growth of sunflowers callus. *J. Univ. Kuwait (Sci.)*. **13**(2), 199-205.

- Murashige, T.; Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, **15**, 473-477.
- Muszynski, S.; Gadyzewska, B. (2008). Representation of He-Ne laser irradiation effect on radish seeds with selected germination indices. Department of Physics, University of Life Sciences, *Akademicka*, **13**, 320-350.
- Nunes, L.R.; Pinheiro, P.R.; Silve, J.B.; Dutra, S. (2020). Effects of ascorbic acid on the germination and vigour of cowpea seeds under water stress. *Rev. Ciênc. Agron*, **51**(2), 1-11.
- Omar, M.S.; Yousif, D.P.; Al-Jibouri, J.M.; AL-Rawi, M.S.; Hameed, M.K. (1993). Effect of gamma rays and sodium chloride on growth and cellular concentrations of sunflower (*Helianthus annuus* L.) callus cultures. *J. Is. Acad. of Sci.*, **6**, 69-72.
- Paciolla, C.; Fortunato, S.; Dipierro, N.; Paradiso, A.; Leonardis, S.D.; Mastropasqua, L.; Pinto, M.C. (2019). Vitamin C in plants: from functions to biofortification. *Antioxidants (Basel)*, **8**, 519.
- Sami, F.; Yusuf, M.; Faizan, M.; Faraz, A.; Hayat, S. (2016). Role of sugar under a biotic stress. *Plant Physiol. and Biochem.*, **109**, 54-61.
- Skoog, F.; Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **11**, 118-148.
- Sullivan, C.Y. (1972). "Mechanism of Heat and Drought Resistance in Grain Sorghum and Methods of Measurement". in: N.G.P. Rao, L.R. House (Eds.), *Sorghum in the Seventies*, Oxford and New Delhi, pp. 247-264.
- Towill, L.E.; Mazur, P. (1975). Studies on the reduction of 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride as a viability assay for plant tissue cultures. *Can. J. Bot.*, **35**, 1097-1102.
- Zhao, C.; Zhang, H.; Song, C.; Zhu, J.K.; Shabala, S. (2020). Mechanisms of plant responses and adaptation to soil salinity. *The Innov.*, **1**, 1-41.
- Zhu, J.K. (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* **53**, 247-273.
- Zulfiqar, H.; Shahbaz, M.; Ahsan, M.; Nafees, M.; Nadeem, H.; Akram, M.; Maqsood, A.; Ahmar, S.; Kamran, M.; Alamri, S.; Siddiqui, M.H.; Saud, S.; Fahad, S. (2020). Strigolactone (GR24) induced salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.) by ameliorating morpho-physiological and biochemical attributes under in vitro conditions. *Art. J. Plant Growth Regul.*,
-

Role of Ascorbic Acid in the Initiation and Growth of *Helianthus annuus* L. Callus under Salt Stress Conditions

Shima M. Sultan

*Sajida A. Abood

Department of Biology/ College of Science/ University of Mosul

ABSTRACT

The research included study the effect of sodium chloride NaCl salt with concentrations 50, 100, 150 and 200 mM and ascorbic acid concentrations 20, 40 mg/ l⁻¹ in the initiation and growth of *Helianthus annuus* L. callus. The results showed that increasing salt concentration in cultured media led to decrease callus induction from stem segments of seedlings that grown on agar-solidified Murashige and Skoog medium (MS) provided with 1 mg/ l⁻¹ of BA and 0.5 mg/ l⁻¹ of NAA. This was accompanied by a decrease in the fresh and dry weights of callus, whereas, the addition of ascorbic acid to media containing salt resulted in a restoration of the initiation and growth of callus after 30 days of cultivation. The results also showed that cultivation of samples of callus in MS media with different concentrations of NaCl led to a significant decrease in the indicators of callus growth (fresh and dry weight, salt stress index, absolute and relative rates, callus viability) with an increase in electrolyte leakage of callus cells. The addition of ascorbic acid 20 or 40 mg/ l⁻¹ to MS media encourages the callus growth indicators above with the superior concentration 20 mg/ l⁻¹. The presence of ascorbic acid, especially 20 mg/ l⁻¹ in growing media containing NaCl at 150 mM, increased the callus content of ascorbic acid as compare to salt treatment only, after 21 days of cultivation.

Keywords: *Helianthus annuus* L. plant, Callus cultures, Sodium chloride, Ascorbic acid.