مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (6) العدد(10) 2022
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (6) No. (10) 2022

تأثير نقع البذور بتراكيز متدرجة من إيثيل ميثان سلفونات (EMS) في بعض الخصائص المورفيزيولوجية لنبات التبغ تحت ظروف الإجهاد الجفافي

د. مجد محمد درويش *

د. نزار علي معلا **

احمد ادهم صوفي ***

(تاريخ الإيداع 2022/9/4 . قُبِل للنشر في 2022/10/26)

□ ملخّص□

نُفذ البحث خلال المواسم الزراعي 2021- 2022 م لدراسة تأثير نقع البذور بتراكيز من مركب إيثيل ميثان سلفونات (EMS) في زيادة تحمل صنفي التبغ (برلي 21 وفرجينيا VK51) للإجهاد الجفافي، حيث تمت المعاملة باستخدام ثلاثة تراكيز من EMS (0.1، 0.5 و1 %) وبزمن غمر (8) ساعات، في حين استُخدم البولي ايتيلين غليكول (PEG) وبتراكيز (15، 30 و45 %) ما يعادل ضغط اسموزي (-0.7، -1.4 و-2.1 ميغا باسكال) لإحداث الإجهاد الجفافي المصطنع. أُجريت التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) في مزرعة دمسرخو في محافظة اللاذقية– سورية، وبثلاث مكررات لكل معاملة. تم قياس بعض المؤشرات المورفيزيولوجية (مساحة المسطح الورقي الكلي (سم^2)، دليل المساحة الورقية، الوزن النوعي للأوراق (غ/سم^2) ومعدل التمثيل الضوئي الصافي (ملغ/سم^2/يوم)). أدت معاملة النقع بمركب EMS عند التركيز المنخفض (0.1 %) إلى زيادة في مساحة المسطح الورقي الكلي ودليل المساحة الورقية، الوزن النوعي للأوراق ومعدل التمثيل الضوئي الصافي لكلا الصنفين، في حين سببت التراكيز المرتفعة (0.5 و1 %) انخفاضاً في جميع المؤشرات المدروسة لدى صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51، كما حسنت معاملة النقع تحت ظروف الإجهاد الجفافي عند التركيز المنخفض (0.1 %) من قيم المؤشرات المدروسة مقارنة بباقي المعاملات والشاهد، في حين أدت المعاملة بالإجهاد الجفافي إلى تأثيرات سلبية في مساحة المسطح الورقي الكلي، دليل المساحة الورقية، الوزن النوعي للأوراق ومعدل التمثيل الضوئي الصافي لدى نباتات التبغ وبشكل أكثر وضوحاً مع زيادة الإجهاد المطبق. وهكذا يمكن الاقتراح بنقع البذور بمركب EMS بتركيز (0.1 %) لدوره في تحسين بعض الخصائص المورفيزيولوجية لدى صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

الكلمات المفتاحية: نقع البذور، إيثيل ميثان سلفونات، الخصائص المورفيزيولوجية، نبات التبغ، الإجهاد الجفافي، بولي ايتيلين غليكول.

* أستاذ مساعد في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية– جامعة تشرين .

** مدرس في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية – جامعة تشرين.

***طالب دراسات عليا (دكتوراه) في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية– جامعة تشرين.

مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الهندسية المجلد (6) العدد(10) 2022
Tartous University Journal for Research and Scientific Studies - engineering Sciences Series Vol. (6) No. (10) 2022

Effect of soaking seeds with graded concentrations of Ethyl Methane Sulfonate (EMS) on the morphological characteristics of tobacco plant under drought stress conditions.

Majd Darwish*
Nizar Moalla**
Ahmed soufi***

(Received 4/9/ 2022 . Accepted 26/10/ 2022)

□ ABSTRACT

The research was carried out during the 2021-2022 . to study the effect of soaking seeds with chemical mutagen (EMS) in improving the tolerance of two tobacco varieties (Burley 21 and Virginia VK51) to drought stress. The seeds were treated using three concentrations of the mutagen (0.1, 0.5 and 1%) with a soaking time of (8) hours. In addition, to induce drought stress, polyethylene glycol (PEG) was used at concentrations (15, 30 and 45%) equivalent to an osmotic pressure (-0.52, -1.04 and -1.56) MPa. The experiment was conducted according to a randomized complete block design (RCBD) at the Damsarko farm- Lattakia- Syria. and with three replications per treatment. Some characteristics for treated seeds morphological characteristics (plant leaf area (cm^2), Leaf Area Index, Specific leaf Weight (g/cm^2) and Net Photosynthesis Rate ($mg/cm^2/day$)) for both tobacco varieties. Treatment with EMS at a low concentration (0.1%) led to an increased in the plant leaf area, Leaf Area Index, Specific Leaf Weight and Net Photosynthesis. High concentration of EMS at (0.5 and 1%) caused a decrease in the studied indicators of two tobacco varieties (Berley 21 and Virginia VK51). The chemical mutagen treatment under drought stress conditions at a low concentration (0.1%) improved the values of the studied indicators compared to the other treatments. The treatment with PEG, had a negative effects on the plant leaf area, Leaf Area Index, Specific Leaf Weight and Net Photosynthesis of two tobacco varieties. Thus, it can be suggested to soak seeds at the concentration (0.1%) EMS for its role in improving on the morphological characteristics of two tobacco varieties (Berley 21 and Virginia VK51).

Keywords: soaking seeds**,** Ethyl Methane Sulfonate, morphological characteristics, tobacco plant, drought stress, polyethylene glycol.

* PhD in Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University.
** PhD in Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University.
*** PhD student in Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University.

المقدمة:

يُعدّ التبغ من أهم المحاصيل الصناعية وأكثرها إنتاجاً وتصديراً في العالم (Moon, 2009)، إذ يُزرع هذا المحصول في أغلب دول العالم، وفي أحوال بيئية متباينة من خط العرض 60 شمالاً في السويد وفنلندا، حتى 40 جنوباً في جنوب استراليا، ويضم عدداً كبيراً من الأصناف التي تختلف بعضها عن بعض في الصفات والخصائص الفيزيائية، الكيميائية والتصنيعية، وذلك عند زراعتها في مناطق ذات ظروف بيئية مختلفة من حيث المناخ والتربة (Paunescu *et al*., 2003)، حيث تجود زراعة التبغ في الأقاليم المعتدلة، والحارة الرطبة القريبة من البحار (زكريا، 2015).

الماء هو العامل الأساسي الذي يحدد توزع النباتات وكثافتها على الكرة الأرضية، ونقص الماء المتاح للنبات سواء بسبب الملوحة أو الجفاف أم البرودة يسبب العديد من المضاعفات السلبية التي ربما تؤدي في النهاية إلى اختفاء نبات ما من بيئة معينة (أبو جاد الله، 2010). ويُعدّ الإجهاد الجفافي العامل الأكثر تأثيراً على نمو وإنتاجية المحاصيل المختلفة (Tardieu *et al*., 2014)، وأثبتت العديد من الدراسات أن الإجهاد المائي يُعدّ العامل الرئيسي الذي يؤدي إلى انخفاض في إنتاجية النباتات ضمن المناطق الجافة وشبه الجافة (Jaleel *et al*., 2007).

يستجيب محصول التبغ وبحساسية عالية للمجهدات البيئية المختلفة (Darwish *et al*., 2015)، إذ إنَّ الإجهاد الجفافي الذي يحدث في مراحل نمو مختلفة لنبات التبغ يؤدي إلى انخفاض الغلة الورقية، بسبب انخفاض النمو الخضري بما في ذلك المساحة الورقية وتراكم المادة الجافة للنبات (Moore and Tyson, 1999)، وسبب الإجهاد الجفافي انخفاض معنوياً في صفات النمو والإنتاجية المدروسة لنبات التبغ (درويش، 2022).

إن تحسين التبغ لا يعتمد بالضرورة على برامج إكثار طويلة الأمد، أو على إنتاج النباتات المعدلة وراثياً، لكن يمكن الاستفادة من سرعة وبساطة الطريقة القائمة على تعديل صفات معينة ذات فائدة كبيرة من خلال المعاملة بالمركبات ذات الأثر المطفر (Julio *et al*., 2008)، ويهدف التحسين الوراثي للتبغ عموماً إلى إنتاج أصناف متميزة بإنتاجها العالي، نوعيتها الجيدة، صفاتها التكنولوجية المرغوبة، تكيفها مع الظروف البيئية السائدة ومقاومتها للإجهادات الإحيائية (أمراض وحشرات)، واللاإحيائية (الجفاف، الملوحة والصقيع)، وتتميز بأعلى درجة من الأصالة والتماثل الوراثي، وأدنى درجة من الخلط الوراثي بين النباتات وذلك عبر التلقيح الذاتي المستمر لعدة أجيال متتابعة (Simmonds, 1979).

يعد المركب الكيميائي إيثيل ميثان سلفونات (EMS) من أهم المركبات الكيميائية التي تسبب طفرات نقطية والتي تؤدي إلى إحداث تغيرات في المادة الوراثية (Shu *et al*., 2012)، ويستخدم إيثيل ميثان سلفونات (EMS) كمُطفر كيميائي في تركيبه مع مركب البولي ايتيلين غليكول (PEG) لإحداث الإجهاد الجفافي كعامل اختبار (Masoabi *et al*., 2018)، وتم استخدم EMS بنجاح في الفصيلة الباذنجانية (Solanaceae) للحصول على التنوع المورفولوجي وتحسين الصفات المرغوبة للنباتات، بما في ذلك المحصول وجودته، ومنها نبات البندورة (Gauffier *et al*., 2016).

تم استخدام المطفر الكيميائي إيثيل ميثان سلفونات (EMS) كطريقة بديلة ومستمرة تعمل على تغيير المعلومات الجينية (Oladosu *et al*. 2016).

يُعد EMS حالياً أكثر أنواع المطفرات الكيميائية استخداماً وهو طريقة فعالة للغاية حيث يولد نسبة عالية من الطفرات النقطية التي يتم توزيعها عشوائياً في جميع أنحاء الجينوم (Talebi *et al*., 2012; Chen *et al*., 2013).

أهمية البحث وأهدافه:

أدى التدهور الوراثي الذي أصاب العديد من أصناف التبغ المعتمدة في الزراعة إلى قلة التباينات الوراثية لهذه الأصناف ما نتج عنه انخفاض في بعض خصائص الصنف المورفيزيولوجية، ولقلة الدراسات المحلية عن تأثير المعاملة ببعض المركبات الكيميائية ذي التأثير المطفر على نبات التبغ. تبرز هنا أهمية التركيز على استخدام بعض المركبات الكيميائية ومنها EMS، كواحدة من الوسائل المتاحة لتحديد تأثير هذا المركب في بعض المؤشرات المورفيزيولوجية للنباتات وإمكانية تحملها للإجهاد الجفافي.

يهدف هذا البحث إلى:

(1). دراسة بعض المؤشرات الفيزيولوجية لصنفين من التبغ (برلي وفرجينيا)، تحت تأثير المعاملة بتراكيز متدرجة من المركب الكيميائي EMS.

(2). معرفة تأثير الإجهاد الجفافي بالبولي ايتلين غليكول PEG في بعض الخصائص الفيزيولوجية لصنفي التبغ المدروسين.

(3). تحديد استجابة نباتات صنفي التبغ للمعاملة بمركب EMS تحت ظروف الإجهاد الجفافي.

مواد البحث وطرائقه:

مكان تنفيذ البحث وزمانه:

نُفذ البحث في الموسم الزراعي 2021 – 2022 م في كل من مخبر البحث العلمي التابع لكلية الهندسة الزراعية– جامعة تشرين، ومزرعة بقرية دمسرخو – محافظة اللاذقية، كما أُجريت التحاليل الكيميائية في مخابر الكلية ذاتها.

أُجري تحليل كيميائي لعينة من التربة على عمق 0-30 سم، وذلك لمعرفة قوامها ومحتواها من العناصر الغذائية، وجاءت النتائج كما هو مبين في الجدول (1).

جدول (1): خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية في موقع الزراعة.

pH	EC ds/m	المحتوى الكلي %		تحليل ميكانيكي (ملغ/كغ) تربة جافة					
		$CaCo_3$	O.M.	K_2O	P_2O5	N	رمل	سلت	طين
7.9	0.24	45	1.35	130	27	0.9	34	14	52

تميزت التربة بأنها طينية (52) غير متملحة فقيرة بالأزوت (0.9) والمادة العضوية (1.35) ذات محتوى جيد من البوتاسيوم وغنية بالفوسفور ومائلة للقلوية.

المادة النباتية المستخدمة:

استُخدم في هذا البحث بذور صنفي التبغ (برلي 21 وفرجينيا VK51) تم الحصول عليها من المؤسسة العامة للتبغ– اللاذقية، وهي من الأصناف الأمريكية التي تُزرع مروية في السهول الساحلية وتمتاز بإنتاجية عالية وبمحتوى منخفض من النيكوتين.

معاملات النقع:

حُضرت المحاليل بإضافة المركب الكيميائي إيثيل ميثان سلفونات EMS (0، 10، 50 و100 ميكروليتر) إلى 10 مل ماء مقطر لتحضير التراكيز (0، 0.1، 0.5 و1 %) (Zhao *et al*., 2020).

تم استخدام 0.01 غ (120 بذرة) من بذور صنفي التبغ المستخدمين لكل معاملة، حيث تم النقع بثلاث مكررات لكل معاملة، ثم غُمرت البذور في محلول EMS المحضر بثلاث تراكيز (0.1، 0.5 و1 %) وبزمن غمر (8 ساعة)، أما بذور الشاهد تم غمرها بالماء المقطر فقط وبنفس زمن الغمر، تلتها عملية غسيل البذور المعاملة بالمركب EMS بالماء وبشكل جيد من 6-8 مرات (دقيقة واحدة كل مرة) وتم تجفيف سطح البذرة بوضع البذور على ورق ترشيح ثم زراعتها على وسط زراعي بأطباق بلاستيكية تحتوي على كومبوست بسعة 2 كغ لكل معاملة وتم فيما بعد نقل الشتول لزراعتها في الأرض الدائمة.

معاملات الإجهاد الجفافي:

تم استخدام مادة البولي ايتيلين غليكول (PEG-6000) كنسب مئوية (%) وما يعادلها من ضغط اسموزي (Osmotic potential) (Muscolo *et al*., 2014)، لإحداث الإجهاد المائي المصطنع عبر الري بمعدل ريتين بمقدار 100 مل لكل نبات عند كل معاملة، حيث تم الري إلى أسفل ساق النبات مباشرةً وبفارق بين الرية والثانية أسبوعين خلال فترة النمو الحرج للنبات والتي توافق مرحلة النمو الخضري النشط وذلك بعد التشتيل بحوالي شهر، لتكون معاملات الإجهاد كما يلي:

- P_0: رويت النباتات بالماء العذب فقط.
- P_1: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 15 % (V/W) ما يعادل ضغط اسموزي - 0.7 ميغا باسكال.
- P_2: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 30 % (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي - 1.4 ميغا باسكال.
- P_3: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 45 % (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي - 2.1 ميغا باسكال.

تمت زراعة الشتول في تجربة عاملية باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبثلاث مكررات، حيث بلغت مساحة القطعة التجريبية (2×3 م^2) ومسافات الزراعة (40×60 سم).

تم إرواء النباتات بمحلول مغذي تم تحضيره من سماد معدني ذواب (NPK) (20-20-20) وفقاً لمتطلبات التسميد اللازمة للنباتات ومحتوى التربة من العناصر الغذائية وبمعدل مرتين كل أسبوع، خلال فترة النمو النشيط وحتى مرحلة الإزهار. وتم إجراء عمليات الخدمة الزراعية فيما بعد من مكافحة وري وفقاً للتوصيات المتعلقة بكيفية زراعة التبغ والعناية به والمعتمدة من قبل المؤسسة العامة للتبغ في سورية.

الخصائص والصفات المدروسة:

دُرست الخصائص والصفات المورفيزيولوجية التالية:

- مساحة المسطح الورقي الكلي Plant Leaf Area (PLA) (سم^2):

فقد تم حساب مساحة الورقة (سم^2) من المعادلة الآتية:

1. (مساحة الورقة الواحدة لصنف البرلي 21 (سم^2)= أقصى طول للورقة (سم) × أقصى عرض للورقة (سم) × (0.6523))

(0.6523): ثابت تصحيح مساحة الورقة لتبغ البرلي 21 (Petrova, 2006).

2. (مساحة الورقة لصنف الفيرجينيا VK51 (سم2)= أقصى طول للورقة (سم) × أقصى عرض للورقة (سم) × (0.6443))

(0.6443): ثابت تصحيح مساحة الورقة لتبغ الفيرجينيا VK51 (عرب، 2001).

ومن ثم تم حساب مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات:

3. PLA) (سم^2/نبات)= مجموع مساحة جميع أوراق النبات). (عرب، 2001)

- دليل المساحة الورقية Leaf Area Index:

تم حساب دليل المساحة الورقية بعد معرفة مساحة المسطح الورقي الكلي والمساحة التي يشغلها النبات على التربة وفقاً لمعادلة الباحث (Williams, 1946):

4. (دليل المساحة الورقية LAI = المساحة الورقية للنبات (سم^2)/المساحة التي يشغلها النبات من الأرض (سم^2))

- الوزن النوعي للأوراق Specific Leaf Weight (غ/سم^2):

تم تحديد الوزن النوعي للأوراق (SLW) بعد قياس الوزن الجاف للأوراق مع بداية النضج الفني للأوراق وفقاً للباحث (Pearce *et al*., 1968):

5. (SLW = وزن الأوراق الجافة (غ/نبات)/المساحة الورقية (سم^2/نبات)).

- معدل التمثيل الضوئي الصافي Net Photosynthesis Rate (ملغ/سم^2/يوم):

ويُحسب من المعادلة الآتية (Williams, 1946):

6. $(\boldsymbol{NPR} = \frac{(\boldsymbol{Log\ eL2\ -Log\ eL1\ })(\boldsymbol{W2-W1})}{(\boldsymbol{T2-T1})(\boldsymbol{L2-L1})})$

NPR: صافي إنتاج التمثيل الضوئي، ملغ/سم^2/يوم، *L2* و*L1*: مساحة الأوراق (سم^2) في بداية ونهاية فترة القياس على الترتيب، *W2* و*W1*: وزن النبات الجاف في بداية ونهاية فترة القياس على الترتيب، *T2* و*T1*: عدد الأيام بين المرحلتين (عند بداية مرحلة النمو الخضري النشيط ونهاية هذه المرحلة أي عند 30 و60 يوم من التشتيل).

تم إجراء تحليل التباين للبيانات عبر البرنامج R statistical software باستخدام الاختبار ANOVA مع Tukey وعرضت النتائج بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) والفروقات ذات معنوية عند مستوى الاحتمالية ($P<0.05$).

النتائج والمناقشة:

1. تأثير معاملة نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات (سم^2) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

نُلاحظ من بيانات الجدول (2) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات (سم^2)، إذ خفضت معاملات الإجهاد الجفافي مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات، فبلغ (5336، 5142 و4996 سم^2) لدى صنف برلي 21 وبلغ (16363، 15842 و15122 سم^2) لدى صنف فرجينيا VK51 عند المعاملات P_1، P_2 وP_3 على التوالي بالمقارنة مع الشاهد EB_0P_0 (8636 سم^2) لدى صنف برلي 21 و EV_0P_0 (23288 سم^2) لدى صنف فرجينيا VK51.

جدول (2): تأثير نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات (سم^2) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي.

الصنف	المعاملات	P_0	P_1	P_2	P_3
برلي 21	EB_0	8636 ± 122^{c}	5336 ± 112^{h}	5142 ± 129^{hi}	4996 ± 122^{i}
	EB_1	9011 ± 106^{b}	9218 ± 108^{a}	8348 ± 136^{d}	7544 ± 111^{fg}
	EB_2	8524 ± 124^{cd}	8123 ± 120^{de}	7974 ± 128^{e}	7212 ± 107^{g}
	EB_3	7416 ± 223^{fg}	4782 ± 116^{ij}	4624 ± 112^{j}	4242 ± 112^{k}
فرجينيا VK51	EV_0	23288 ± 244^{c}	16363 ± 377^{h}	15842 ± 424^{hi}	15122 ± 448^{i}
	EV_1	24125 ± 225^{b}	25204 ± 277^{a}	22414 ± 425^{d}	19630 ± 360^{fg}
	EV_2	23010 ± 338^{cd}	21894 ± 464^{de}	21320 ± 288^{e}	18950 ± 466^{g}
	EV_3	19120 ± 442^{fg}	14781 ± 466^{ij}	14133 ± 299^{j}	13225 ± 345^{k}

تُشير الرموز (E) لمعاملات النقع بالمركب الكيميائي EMS (0، 0.1، 0.5 و1) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 و(P) لمعاملات الإجهاد الجفافي بمركب PEG (0، 15، 30 و45 %). وُعرضت جميع المعطيات بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) n=3، وأحرف مختلفة (a, b, c..) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت معاملة EMS بالتركيز (0.1 %) إلى زيادة في مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات، وكانت هذه الزيادة أكثر معنوية ($P<0.05$) عند المعاملة EB_1P_0 (9011 سم^2) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EB_2P_0 (8524 سم^2) والمعاملة EB_3P_0 (7416 سم^2) والشاهد EB_0P_0 لدى صنف التبغ برلي 21، وعند المعاملة EV_1P_0 (24125 سم^2) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EV_2P_0 (23010 سم^2) والمعاملة EV_3P_0 (19120 سم^2) والشاهد EV_0P_0 لدى صنف التبغ فرجينيا VK51.

تُظهر النتائج بالنسبة للمعاملة بالمركب EMS والإجهاد الجفافي معاً فروق معنوية في مساحة المسطح الورقي الكلي للنبات، فبلغت أعلى قيمة لهذا المؤشر عند التركيز (0.1 %) وذلك عند المعاملة EB_1P_1 (9218 سم^2) لدى صنف التبغ برلي 21 والمعاملة EV_1P_1 (25204 سم^2) لدى صنف التبغ فرجينيا VK51 مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد.

تُشير الدراسات السابقة بأن المساحة الورقية ومساحة المسطح الورقي الكلي للنبات تتأثر بقدر كبير بأحوال الإجهاد، نظراً للتأثير الملحوظ للإجهاد في منع تطاول الأوراق (Darwish *et al.*, 2015)، وبذلك تُعد المساحة الورقية ومساحة المسطح الورقي الكلي للنبات من مؤشرات النمو الدالة على شدة وقوة الإجهاد التي يتعرض لها النبات

تحت أحوال العديد من المجهدات الإحيائية وغير الإحيائية، ومنها الإجهاد المائي، وهذا يتفق مع نتائج (Hand *et al*., 2011).

يمكن أن يُعزى سبب زيادة المسطح الورقي عند التركيز المنخفض (0.1 %) إلى زيادة طول الأوراق وعرضها الناتج عن زيادة انقسام الخلايا النباتية وهذا ما أشار إليه كل من (Omosun *et al*., 2022 ; Gerami *et al*., 2017).

2. تأثير معاملة نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في صفة دليل المساحة الورقية للنبات لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

تظهر بيانات الجدول (3) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة دليل المساحة الورقية للنبات، إذ خفضت معاملات الإجهاد الجفافي دليل المساحة الورقية للنبات، فبلغ (1.18، 1.12 و1) لدى صنف برلي 21 وبلغ (4.9، 4.6 و4.2) لدى صنف فرجينيا VK51 عند المعاملات P_1، P_2 وP_3 على التوالي بالمقارنة مع الشاهد EB_0P_0 (1.9) لدى صنف برلي 21 وEV_0P_0 (8.8) لدى صنف فرجينيا VK51.

جدول (3): تأثير نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في دليل المساحة الورقية للنبات لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي.

الصنف	المعاملات	P_0	P_1	P_2	P_3
برلي 21	EB_0	1.9 ± 0.05^{c}	1.18 ± 0.04^{h}	1.12 ± 0.05^{hi}	1 ± 0.04^{i}
	EB_1	2 ± 0.04^{b}	2.19 ± 0.03^{a}	1.73 ± 0.05^{d}	1.43 ± 0.04^{f}
	EB_2	1.8 ± 0.05^{cd}	1.66 ± 0.04^{de}	1.59 ± 0.04^{e}	1.31 ± 0.04^{g}
	EB_3	1.37 ± 0.04^{fg}	0.96 ± 0.03^{ij}	0.9 ± 0.04^{j}	0.8 ± 0.03^{k}
فرجينيا VK51	EV_0	8.8 ± 0.16^{c}	4.9 ± 0.14^{h}	4.6 ± 0.18^{hi}	4.2 ± 0.24^{i}
	EV_1	9.4 ± 0.22^{b}	9.9 ± 0.16^{a}	8.2 ± 0.26^{d}	6.7 ± 0.28^{f}
	EV_2	8.6 ± 0.18^{cd}	7.8 ± 0.28^{de}	7.4 ± 0.22^{e}	6.1 ± 0.14^{g}
	EV_3	6.3 ± 0.22^{fg}	3.8 ± 0.2^{ij}	3.4 ± 0.16^{j}	2.9 ± 0.14^{k}

تُشير الرموز (E) لمعاملات النقع بالمركب الكيميائي EMS (0، 0.1، 0.5 و1) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 و(P) لمعاملات الإجهاد الجفافي بمركب PEG (0، 15، 30 و45 %). وُعرضت جميع المعطيات بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) n=3، وأحرف مختلفة (a, b, c..) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت معاملة النقع بمركب EMS بالتركيز (0.1 %) إلى زيادة في دليل المساحة الورقية للنبات، وكانت هذه الزيادة أكثر معنوية ($P<0.05$) عند المعاملة EB_1P_0 (2) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EB_2P_0 (1.8) والمعاملة EB_3P_0 (1.37) والشاهد EB_0P_0 لدى صنف التبغ برلي 21، وعند المعاملة EV_1P_0 (9.4) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EV_2P_0 (8.6) والمعاملة EV_3P_0 (6.3) والشاهد EV_0P_0 لدى صنف التبغ فرجينيا VK51.

تُظهر النتائج بالنسبة للمعاملة EMS والإجهاد الجفافي معاً فروق معنوية في صفة دليل المساحة الورقية للنبات، فبلغت أعلى قيمة لهذا المؤشر عند التركيز (0.1 %) وذلك عند المعاملة EB_1P_1 (2.19)

لدى صنف التبغ برلي 21 والمعاملة EV_1P_1 (9.9) لدى صنف التبغ فرجينيا VK51 مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد.

وهكذا فإن الانخفاض الحاصل في المساحة الورقية تحت تأثير الإجهاد الجفافي يمكن أن يُعزى إلى قلة محتوى الماء النسبي في النبات والذي يؤدي إلى انخفاض معدل نمو الأجزاء الخضرية، وما للماء من دور مهم في عملية انقسام الخلايا واستطالتها ووفرة العناصر الغذائية في التربة وسهولة امتصاصها والذي يقود بدوره إلى انخفاض عملية التمثيل الضوئي وانخفاض المساحة الورقية (درويش، 2022).

أدت التراكيز العالية من المركب الكيميائي EMS إلى انخفاض طول الورقة وبالتالي انخفاض في المساحة الورقية، واتفقت مع نتائج (Mostafa *et al*., 2014)، حيث تعمل على تثبيط نمو الخلايا النباتية.

3. تأثير معاملة نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في الوزن النوعي (غ/سم^2) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

نلاحظ من بيانات الجدول (4) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث الوزن النوعي للأوراق (غ/سم^2). إذ خفضت معاملات الإجهاد الجفافي الوزن النوعي للأوراق، فبلغ (0.015، 0.013 و0.012 غ/سم^2) لدى صنف برلي 21 وبلغ (0.020، 0.018 و0.017 غ/سم^2) لدى صنف فرجينيا VK51 عند المعاملات P_1 ، P_2 وP_3 على التوالي بالمقارنة مع الشاهد EB_0P_0 (0.023 غ/سم^2) لدى صنف برلي 21 و EV_0P_0 (0.029 غ/سم^2) لدى صنف فرجينيا VK51.

جدول (4): تأثير نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في الوزن النوعي للأوراق (غ/سم^2) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي.

الصنف	المعاملات	P_0	P_1	P_2	P_3
برلي 21	EB_0	0.023 ± 0.0003^{c}	0.015 ± 0.0006^{h}	0.013 ± 0.0004^{i}	0.012 ± 0.0007^{ij}
	EB_1	0.024 ± 0.0003^{b}	0.025 ± 0.0003^{a}	0.021 ± 0.0006^{de}	0.018 ± 0.0007^{f}
	EB_2	0.022 ± 0.0005^{d}	0.020 ± 0.0006^{e}	0.019 ± 0.0006^{ef}	0.016 ± 0.0007^{gh}
	EB_3	0.017 ± 0.0004^{g}	0.011 ± 0.0005^{j}	0.010 ± 0.0007^{jk}	0.009 ± 0.0004^{k}
فرجينيا VK51	EV_0	0.029 ± 0.0004^{c}	0.020 ± 0.0006^{h}	0.018 ± 0.0007^{i}	0.017 ± 0.0004^{ij}
	EV_1	0.030 ± 0.0003^{b}	0.031 ± 0.0004^{a}	0.026 ± 0.0007^{de}	0.023 ± 0.0006^{f}
	EV_2	0.027 ± 0.0007^{d}	0.025 ± 0.0005^{e}	0.024 ± 0.0006^{ef}	0.021 ± 0.0007^{gh}
	EV_3	0.022 ± 0.0006^{g}	0.016 ± 0.0007^{j}	0.015 ± 0.0006^{jk}	0.014 ± 0.0007^{k}

تُشير الرموز (E) لمعاملات النقع بالمركب الكيميائي EMS (0، 0.1، 0.5 و1) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 و(P) لمعاملات الإجهاد الجفافي بمركب PEG (0، 15، 30 و45 %). وُعرضت جميع المعطيات بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) n=3، وأحرف مختلفة (a, b, c..) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة ($P<0.05$, ANOVA-Tukey test).

أدت معاملة المركب الكيميائي EMS (0.1 %) إلى زيادة في الوزن النوعي للنبات، وكانت هذه الزيادة أكثر معنوية ($P<0.05$) عند المعاملة EB_1P_0 (0.024 غ/سم^2) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EB_2P_0 (0.022 غ/سم^2) والمعاملة EB_3P_0 (0.017 غ/سم^2) والشاهد EB_0P_0 لدى صنف التبغ برلي 21، وعند المعاملة EV_1P_0 (0.030 غ/سم^2) وذلك بالمقارنة مع المعاملة EV_2P_0 (0.027 غ/سم^2) والمعاملة EV_3P_0 (0.022 غ/سم^2) والشاهد EV_0P_0 لدى صنف التبغ فرجينيا VK51.

تُظهر النتائج بالنسبة للمعاملة بالمركب EMS والإجهاد الجفافي معاً فروق معنوية في الوزن النوعي للنبات، فبلغت أعلى قيمة لهذا المؤشر عند التركيز (0.1 %) وذلك عند المعاملة EB_1P_1 (0.025 غ/سم^2) لدى صنف التبغ برلي 21 والمعاملة EV_1P_1 (0.031 غ/سم^2) لدى صنف التبغ فرجينيا VK51 مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد.

يمكن أن يُفسر هذا الانخفاض الملحوظ في الوزن النوعي لأوراق التبغ تحت أحوال الإجهاد الجفافي، للتأثير السلبي للإجهاد في معدل التمثيل الضوئي وبالتالي قلة تراكم المادة الجافة في الأوراق، فقد أظهرت نتائج Cha-um *et al.* (2010) باستخدام جهود حلولية مختلفة من البولي ايتيلين غليكول، انخفاضاً في مساحة المسطح الورقي، الوزن الجاف والوزن الرطب للنبات.

فالجفاف يعمل على تثبيط النمو نتيجة نقص ضغط امتلاء الخلايا ويسبب نقص وصول الماء إلى الأنسجة النامية نظراً لعدم قدرة الجذور على النمو وامتصاص الماء والأملاح المعدنية وهكذا قلة في انقسام الخلايا وصغر في حجمها. تم الإشارة، في هذا السياق، لأن الجفاف المسبب نقص الامتلاء ترافق مع تراكم مثبط النمو حمض الأبسيسيك ($C_{15}H_{20}O_4$) في النبات (Li *et al.*, 2018).

4. معاملة نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في معدل التمثيل الضوئي الصافي (ملغ/سم^2/يوم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

تبين بيانات الجدول (5) وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث معدل التمثيل الضوئي الصافي (ملغ/سم^2/يوم)، إذ خفضت معاملات الإجهاد الجفافي بالبولي ايتيلين غليكول معدل التمثيل الضوئي الصافي، فبلغ (0.16، 0.13 و0.10 ملغ/سم^2/يوم) لدى صنف برلي 21 وبلغ (0.41، 0.36 و0.32 ملغ/سم^2/يوم) لدى صنف فرجينيا VK51 عند المعاملات P_1، P_2 وP_3 على التوالي بالمقارنة مع الشاهد EB_0P_0 (0.32 ملغ/سم^2/يوم) لدى صنف برلي 21 وEV_0P_0 (0.66 ملغ/سم^2/يوم) لدى صنف فرجينيا VK51.

جدول (5): تأثير نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS في معدل التمثيل الضوئي الصافي (ملغ/سم^2/يوم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51تحت مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي.

الصنف	المعاملات	P_0	P_1	P_2	P_3
برلي 21	EB_0	0.32 ± 0.02^{c}	0.16 ± 0.01^{g}	0.13 ± 0.02^{gh}	0.10 ± 0.01^{h}
	EB_1	0.36 ± 0.01^{b}	0.39 ± 0.01^{a}	0.28 ± 0.01^{d}	0.24 ± 0.01^{ef}
	EB_2	0.31 ± 0.01^{c}	0.27 ± 0.01^{de}	0.25 ± 0.01^{e}	0.18 ± 0.02^{fg}
	EB_3	0.21 ± 0.02^{f}	0.11 ± 0.01^{h}	0.09 ± 0.01^{hi}	0.07 ± 0.01^{i}
فرجينيا VK51	EV_0	0.66 ± 0.02^{c}	0.41 ± 0.03^{g}	0.36 ± 0.02^{gh}	0.32 ± 0.02^{h}
	EV_1	0.71 ± 0.01^{b}	0.74 ± 0.01^{a}	0.60 ± 0.01^{d}	0.50 ± 0.02^{ef}
	EV_2	0.65 ± 0.02^{c}	0.57 ± 0.02^{de}	0.54 ± 0.02^{e}	0.45 ± 0.02^{fg}
	EV_3	0.48 ± 0.01^{f}	0.31 ± 0.03^{h}	0.27 ± 0.03^{hi}	0.23 ± 0.01^{i}

تُشير الرموز (E) لمعاملات النقع بالمركب الكيميائي EMS (0، 0.1، 0.5 و1) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 و(P) لمعاملات الإجهاد الجفافي بمركب PEG (0، 15، 30 و45 %). وُعرضت جميع المعطيات بشكل متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE) n=3، وأحرف

مختلفة (a, b, c..) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة (*P*<0.05, ANOVA-Tukey test).

زادت معاملات نقع البذور لنباتات التبغ EMS من معدل التمثيل الضوئي الصافي (ملغ/سم^2/يوم) عند التركيز المنخفض وكانت هذه الزيادة أكثر معنوية (*P<0.05*) عند المعاملة EB_1P_0 (0.36) ملغ/سم^2/يوم وذلك بالمقارنة مع المعاملة EB_2P_0 (0.31) ملغ/سم^2/يوم والمعاملة EB_3P_0 (0.21) ملغ/سم^2/يوم والشاهد EB_0P_0 لدى صنف التبغ برلي 21، وعند المعاملة EV_1P_0 (0.71) ملغ/سم^2/يوم وذلك بالمقارنة مع المعاملة EV_2P_0 (0.65) ملغ/سم^2/يوم والمعاملة EV_3P_0 (0.48) ملغ/سم^2/يوم والشاهد EV_0P_0 لدى صنف التبغ فرجينيا VK51.

تُظهر النتائج بالنسبة للمعاملة بمركب EMS والإجهاد الجفافي معاً فروق معنوية في معدل التمثيل الضوئي الصافي عند المعاملة بالتركيز المنخفض (1%)، فبلغت أعلى قيمة لهذا المؤشر عند المعاملة EB_1P_1 (0.39) ملغ/سم^2/يوم لدى صنف التبغ برلي21 والمعاملة EV_1P_1 (0.74) ملغ/سم^2/يوم لدى صنف التبغ فرجينيا VK51 مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد.

يُعد الإجهاد المائي أحد أهم العوامل المؤثرة في معدل التمثيل الضوئي في المناطق شبه الجافة، يعود هذا الانخفاض الملحوظ في معدل التمثيل الضوئي تحت تأثير الإجهاد المائي لكون الماء عاملاً اساسياً لمجمل التفاعلات الكيميائية– الضوئية والكيميائية–الحيوية اللازمة لتثبيت الكربون في عملية التمثيل الضوئي، فقد تم الإشارة في هذا السياق إلى أن الإجهاد المائي وخلال فترة قصيرة يؤدي إلى توقف مؤقت للنمو يليه تناقص في التمثيل الضوئي (Qi *et al*., 2022).

يمكن أن يُفسر هذا الانخفاض الملحوظ في معدل التمثيل الضوئي تحت ظروف الإجهاد الجفافي، للتأثير السلبي للإجهاد في معدل التمثيل الضوئي وبالتالي قلة تراكم المادة الجافة في الأوراق، فقد أظهرت نتائج Chen *et al*. (2019) حول تأثير الإجهاد الجفافي باستخدام البولي ايتيلين غليكول PEG على صنفين من التبغ انخفاضاً في معدل نمو النبات (مساحة المسطح الورقي والوزن الرطب للنبات)، فضلاً عن انخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل ومعدل التمثيل الضوئي الصافي. وعزى باحثون أخرون الانخفاض الملحوظ في معدل التمثيل الضوئي تحت تأثير الإجهاد الجفافي لكون الماء عاملاً اساسياً لمجمل التفاعلات الكيميائية– الضوئية والكيميائية–الحيوية اللازمة لتثبيت الكربون في عملية التمثيل الضوئي، حيث تم الإشارة لأن الإجهاد الجفافي وخلال فترة قصيرة يؤدي إلى توقف مؤقت للنمو يليه تناقص في شدة التمثيل الضوئي (Alam *et al*., 2017). كما وتبين بأن النباتات المجهدة جفافياً تقوم بغلق مساماتها لتجنب المزيد من فقد الماء وبالتالي تتناقص تراكيز (CO_2) الداخلة عبر الثغور وهذا يؤدي إلى تناقص صافي إنتاجية التمثيل الضوئي (Ullah *et al*., 2021).

يتسبب الإجهاد الناتج عن الجفاف في التراكم المفرط لأنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) في النباتات، مما يؤدي إلى أكسدة الدهون الغشائية، وتدمير بنية غشاء الخلية والتمثيل الغذائي الطبيعي للخلايا، فضلاً عن التأثير على الأحماض النووية(Wang *et al*., 2017).

سببت التراكيز العالية من المركب الكيميائي EMS انخفاضاً في معدل التمثيل الضوئي، وهذا ما أشارت إليه نتائج (Siddique *et al*., 2020)، وأحدث مركب ايثيل ميثان سلفونات EMS انخفاضاً في معظم صفات النمو للنبات، وقد يعزى ذلك إلى حدوث اضطرابات فيسيولوجية وخلل وراثي وخلوي مسبباً تكوين الجذور الحرة في الخلية وضرراً للأغشية الخلوية وزيادة في نفاذيتها وبالتالي التأثير في فعالية ونشاط الأنزيمات كمنع او غياب تكوين الأوكسين

الذي يساعد على انقسام الأنسجة الميرستيمية والخلايا القريبة منها وبالتالي التأثير على انقسام واستطالة الخلايا وعلى العمليات الاستقلابية ومراحل نمو النبات المختلفة (Kangarsu *et al*., 2014).

الاستنتاجات:

أدت معاملة نقع البذور بالمركب الكيميائي EMS بالتراكيز المرتفعة (0.5 و1%) إلى انخفاض مساحة المسطح الورقي الكلي ودليل المساحة الورقية، الوزن النوعي للأوراق، معدل التمثيل الضوئي الصافي ومعدل نمو المحصول النبات حيث بلغت مساحة المسطح الورقي الكلي (8524 و7416 سم^2) لدى صنف برلي 21 وبلغت (23010 و19120 سم^2) لدى صنف فرجينيا VK51 على التوالي، وكان التأثير الإيجابي للتركيز المنخفض 0.1 % ملحوظاً في أغلب المؤشرات المدروسة، وسبب الإجهاد الجفافي المصطنع بالمركب PEG ولاسيما عند التراكيز المرتفعة (30 و45 %) لانخفاض قيم جميع المؤشرات المدروسة لدى صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51، والذي ظهر واضحاً في معدل التمثيل الضوئي الصافي والتي بلغت (0.13 و0.10 ملغ/سم^2/يوم) عند صنف البرلي 21 و(0.36 و0.32 ملغ/سم^2/يوم) عند صنف الفرجينيا VK51 على التوالي، حسنت في المقابل المعاملة EMS عند التركيز المنخفض (0.1 %) جميع المؤشرات المدروسة لصنفي التبغ المدروسين تحت ظروف الإجهاد الجفافي.

المقترحات:

1- استخدام المركب الكيميائي (EMS) بالتركيز المنخفض (0.1 %) لدوره الفسيولوجي المحفز في زيادة تحمل الإجهاد الجفافي وذلك عند زراعة صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

2- متابعة الدراسة على النباتات الناتجة عن معاملات المركب الكيميائي (EMS) والتي من الممكن انتخاب أفضلها وإدخالها في برامج التحسين الوراثي لهذين الصنفين المستخدمين.

المراجع :

1. ابو جاد الله، جابر مختار (2010). فسيولوجيا وبيولوجيا النبات الجزيئية أثناء الإجهاد المائي، قسم النبات– كلية العلوم، جامعة دمياط، مصر.
2. درويش، مجد (2022). أثر الرش الورقي بالماء الأوكسجيني (H2O2) في تحمل التبغ البلدي (*nicotiana tabacum* L.) للإجهاد الجفافي المحدث بالبولي إيتلين غليكول (PEG). المجلة السورية للبحوث الزراعية، المجلد (10) العدد (4).
3. زكريا، وصفي (2015). زراعة المحاصيل الحقلية. دمشق– سوريا. صفحة 227–228.
4. عرب، سائد. (2001). معادلات تحديد المسطح الورقي في صنف تبغ الفرجينيا، مجلة بحوث جامعة حلب، سلسلة العلوم الزراعية، العدد 39.
5. Alam SA.; JG. Huang; KJ. Stadt; PG. Comeau; A. Dawson; G. Gea-Izquierdo; T. Aakala; T Holtta T, Vesala; A. Makela and F. Berninger (2017) *Effects of competition, drought stress and photosynthetic productivity on the radial growth of white spruce in western Canada*. Front Plant Sci 8:1915.
6. Cha-um, S.; 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: 6509–6516.
7. Chen, Y.L.; H.L. Liang; X.L. Ma; S.L. Lou; Y.Y. Xie; Z.L. Liu; L.T. Chen and Y.G. Liu (2013). *An efficient rice mutagenesis system based on suspension-cultured cells*. J. Integr. Plant Biol., 55: 122-130.
8. Chen, Z.; J. Xu; F. Wang; L. Wang; and Z. Xu (2019). *Morpho-physiological and proteomic responses to water stress in two contrasting tobacco varieties*. Scientific Reports. 9: 18523. https://doi.org/10.1038/s41598-019-54995-1.
9. Darwish, M.; F. Lopez-Lauri; V. Vidal; M. El Maataoui and H. Sallanon (2015). *Alternation of light/dark period priming enhances clomazone tolerance by increasing the levels of ascorbate and phenolic compounds and ROS detoxification in tobacco (Nicotiana tabacum L.) plantlets*. Journal of Photochemistry and Photobiology, 148, 9–20.
10. Gauffier, C.; C. Lebaron; A. Moretti; C. Constant; F. Moquet; G. Bonnet; C. Caranta and JT. Gallois (2016). *A TILLING approach to generate broad-spectrum resistance to potyviruses in tomato is hampered by eIF4E gene redundancy*. The Plant Journal. Mar; 85(6): 717–729.
11. Gerami, M.; H. Abbaspour; V. Ghasemiomran and H. Pirdashti (2017). *Effects of ethyl methanesulfonate on morphological and physiological traits of plants regenerated from stevia (stevia rebaudiana bertoni) calli.* Applied Ecology and Environmental Research, 15(3), 373-385.
12. Hand, S.C.; M.A. Menze; M. Tone; M.; L. Boswell and D. Moore (2011). *LEA proteins during water stress: Not just for plants anymore. Annu.* Rev. Physiol. 73, 115–134.
13. Jaleel, C.A.; P. Manivannan; A. Kishorekumar; B. Sankar; R. Gopi; R. Somasundaram and R. Panneerselvam (2007). *Alterations in osmoregulation, antioxidant enzymes and indole alkaloid levels in Catharanthus roseus exposed to water deficit, Colloids Surf.* B: Biointerfaces. 59: 150-157.

14. Julio E.; F. Laporte; S. Reis and FD. de Borne (2008). *Reducing the content of nornicotine in tobacco via targeted mutation breeding.* Molecular Breeding. Apr: 21(3), 369-381.

15. Kangarsu, S.; S. Ganesharm and A.J Joel (2014). *Determination of lethal dose for gamma rays and ethyl methane sulfonate induced mutagenesis in cassava(Manihot esculenta crantz)*. International journal of scientific research., 3,1, 77-79.

16. Li, Z.; Y. Li; Y. Zhang; B. Cheng; Y. Peng; X. Zhang; X. Ma; L. Hung; and Y. Yan (2018). *Indole-3-acetic acid modulates phytohormones and polyamines metabolism associated with the tolerance to water stress in white clover*. Plant Physiology and Biochemistry. 129: 251-263.

17. Masoabi M.; J. Lloyd; J. Kossmann and van der Vyver (2018). *Ethyl methanesulfonate mutagenesis and In vitro polyethylene glycol selection for drought tolerance in sugarcane (Saccharum spp.).* Sugar Tech. 2018 Feb; 20 (1):50-59.

18. MOON, H. S. (2009). *Microsatellite-based analysis of tobacco (Nicotiana tabacum L.) genetic resources.* Crop Science, v. 49,n. 06, p 2149-2159.

19. Moore, J. and A.W. Tyson (1999). *Irrigating tobacco.* University of Georgia, College of Agricultural and Environmental Sciences, CooperativeExtension Service; 9 pp.

20. Mostafa GG.; AM. Alfrmawy and HEE. Mokadem (2014). *Induction of mutations in Celosia argentea using dimethyl sulphate and identification of genetic variation by ISSR markers.* International Journal of Plant Breeding and Genetics. 8(2):44-56.

21. Muscolo A.; M. Sidari; U. Anastasi; C. Santonoceto and A. Maggio (2014). *Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes.* Journal of Plant Interactions; 9: 354–363.

22. Oladosu Y.; M.Y. Rafii; N. Abdullah G. Hussin and A. Ramli (2016). *Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement*: a review. Biotech Biotechnol Equip 30:1–16.

23. Omosun, G.; F.E Akanwa and B. Lazarus (2022). *Effect of Ethyl Methanesulfonate (EMS) on the Germination, Growth and Yield of Two Okra (Abelmoschus esculentus (L.) Moench) Varieties*. African Scientist, 22(2).

24. Paunescu, M.; A.D. Paunescu; A. Ciuperca; V. Udrescu and E. Udrescu (2003). *Studies concerning the release of new oriental tobacco genotypes with superior characteristics of taste and aroma*. Coresta Meeting, *Agronomy/Phytopathology*, 2003, Bucharest, Abstract APOST27.

25. Pearce, R.B.; R.H. Brown and R.E Blaser (1968). *Photosynthesis of alfalfa leaves as influenced by age and environment.* Crop Science, 8, 677-680.

26. Petrova Bozhinova, R. (2006). *Coefficient for determination of the leaf area in three Burley tobacco varieties*, Journal of Central European Agriculture. 67: 237-245.

27. Qi, M.; X. Zheng; G. Niu; A. Ye; S.A Rather; N. Ahmed and L. Zhang (2022). *Supplementation of Acetylcholine Mediates Physiological*

and Biochemical Changes in Tobacco Lead to Alleviation of Damaging Effects of Drought Stress on Growth and Photosynthesis. Journal of Plant Growth Regulation, 1-13.

28. Shu QY.; B.P. Forster; H. Nakagawa and H. Nakagawa (2012). *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. Cabi. pp: 595

29. Siddique, M.I.; S. Back; J.H. Lee; J. Jo; S. Jang; K. Han and B.C. Kang (2020). *Development and Characterization of an Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Induced Mutant Population in Capsicum annuum L. Plants*, 9(3), 396.

30. Simmonds N.W (1979). *Potatoes. In Evolution of crop plants (ed.N. W. Simmonds)*, pp. 279^283. NewYork: Longman.

31. Talebi, A.B.; A.B. Talebi and B. Shahrokhifar (2012). *Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination*. Amer. J. Plant Sci., 3: 1661-1665.

32. Tardieu, F.; B. Parent; C. Caldeira and C. Welcker (2014). *Genetic and physiological controls of growth under water deficit.* Plant Physiol. 164.

33. Ullah, A.; R.S. Al-Rajhi; A.M. Al-Said; and M. Farooq (2021). *Wheat genotypes with higher intrercellular CO_2 concentration, rat of photosynthesis, and antioxidant potential can better tolerate drought stress*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 21: 2378-2391.

34. Wang YG.; CX Peng; YN. Zhan; LH. Yu; M. Li; J. Li and G. Geng (2017) *Comparative proteomic analysis of two sugar beet cultivars with contrasting drought tolerance*. J Plant Growth Regul 36:537–549.

35. Williams, R.F. (1946). *The physiology of plant growth with special reference to the concept of net assimilation rate*. Annals of Botany 37, 41-71.

36. Zhao L.; W. Li; B. Wang; Y. Gao; X. Sui; Y. Liu and Z. Song (2020). *Development of a PVY resistant flue-cured tobacco line via EMS mutagenesis of elF4E.* Agronomy.10(1), 36.