Effect of soaking seeds of two tobacco varieties (Berley 21 and Virginia VK51) in chemical mutagen (EMS) on some growth indicators under drought stress conditions

Dr. Majd Darwish*
Dr. Nizar Moalla**
Ahmed Soufi***

(Received 13/ 12 / 2021. Accepted 29 / 5 /2022)

□ ABSTRACT □

The research was carried out during the 2021 to study the effect of treatment with the chemical mutagen Ethyl Methane Sulfonate (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, 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 Bouqa farm of the Faculty of Agricultural Engineering-Tishreen University - Lattakia- Syria, and with three replications per treatment. Some germination characteristics for treated seeds (germination percentage (%) and germination speed (day) number of morphological indicators for plants (plant height (cm/plant), internode length (cm) and stem diameter (cm)) were also measured. Treatment with EMS at a low concentration (0.1) % led to an increase in the germination rate and speed of both tobacco varieties, High concentration of EMS at 1 % caused a decrease in the germination rate of 31 and 34% in the Burley and Virginia tobacco varieties, respectively. The chemical mutagen treatment under drought stress conditions at a low concentration (0.1) %, also improved the values of most of the studied indicators compared to the other treatments. The treatment with PEG at the high concentration, had a negative effects on the growth of both tobacco varieties. Thus, it can be suggested to soak seeds at the concentration 0.1% for its role in improving the germination of two tobacco varieties (Berley 21 and Virginia VK51).

Keywords: Tobacco, chemical mutagen, drought stress, PEG.

* **Assistant Professor in the Department of Crops, Faculty of Agriculture - Tishreen University - Lattakia – Syria majd26@yahoo.com**
****Associate Professor in the Department of Crops, Faculty of Agriculture - Tishreen University - Lattakia - Syria. nizarmoualla@gmail.com**
*****Postgraduate student - (PhD) - in the Department of Crops - College of Agriculture - Tishreen University-lattakia Syria. hmada-movo@hotmail.com.**

تأثير معاملة نقع البذور لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 بتراكيز من المطفر الكيميائي (EMS) في بعض مؤشرات النمو تحت ظروف الإجهاد الجفافي

د. مجد درويش*

د. نزار معلا **

احمد صوفي***

(تاريخ الإيداع 13 / 12 / 2021. قبل للنشر في 29 / 5 / 2022)

□ ملخّص □

نُفذ البحث خلال الموسم الزراعي 2021م لدراسة تأثير المعاملة بالمطفر الكيميائي إيثيل ميثان سلفونات (EMS) في تحسين تحمل صنفي التبغ (برلي 21 وفرجينيا VK51) للإجهاد الجفافي. تمت معاملة البذور باستخدام ثلاثة تراكيز من المادة المطفرة (0، 0.1، 0.5 و1) % وبزمن غمر (8) ساعات، في حين استخدم البولي ايتيلين غليكول (PEG) وبتراكيز (15، 30 و45) % ما يعادل ضغط اسموزي (−0.52، −1.04 و−1.56) ميغا باسكال لإحداث الإجهاد الجفافي المصطنع. أجريت التجربة وفقاً لتصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) في مزرعة بوقا التابعة لكلية الهندسة الزراعية في جامعة تشرين– محافظة اللاذقية– سورية، وبثلاث مكررات لكل معاملة. تم قياس بعض مؤشرات الإنبات للبذور المعاملة (نسبة الإنبات (%)، سرعة الإنبات (يوم)) وعدد من المؤشرات المورفولوجية للنباتات (ارتفاع النبات (سم/ نبات)، طول السلاميات (سم)، قطر الساق (سم)). أدت المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS عند التركيز المنخفض (0.1)% إلى زيادة في نسبة الإنبات وسرعته لدى صنفي التبغ، في حين سبب التركيز المرتفع من المطفر EMS عند 1% انخفاضاً في نسبة الإنبات بلغت 31 و34 % لدى صنفي التبغ برلي وفرجينيا على التوالي. كما حسنت معاملة المطفر الكيميائي تحت ظروف الإجهاد الجفافي عند التركيز المنخفض (0.1)% من قيم أغلب المؤشرات المدروسة مقارنة ببقية المعاملات، في حين أدت التراكيز المرتفعة من المطفر الكيميائي EMS إلى تأثيرات سلبية في نمو نبات التبغ وبشكل أكثر وضوحاً مع زيادة تركيز المطفر. وهكذا يمكن الاقتراح بنقع البذور بتركيز 0.1 % EMS لدوره في تحسين بعض خصائص الإنبات والنمو الخضري لدى صنفي التبغ برلي21 وفرجينيا VK51.

الكلمات المفتاحية: التبغ، المطفر الكيميائي (EMS)، الإجهاد الجفافي، PEG.

مقدمة:

*مدرس في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا.majd26@yahoo.com

**أستاذ مساعد في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سوريا.nizarmoualla@gmail.com

***طالب دراسات عليا. (دكتوراه) . في قسم المحاصيل . كلية الزراعة . جامعة تشرينhmada-movo@hotmail.com

يُعد التبغ (*Nicotiana tabacum* L.) بأصنافه المختلفة من المحاصيل ذات الأهمية الاقتصادية المتميزة، وقطعت زراعته شوطاً لا بأس به على مستوى القطر العربي السوري، وانتشرت زراعته منذ بداية القرن الماضي وتركزت بشكل أساسي في المنطقة الساحلية، إذ أولت الدولة زراعته أهمية خاصة، فتم إحداث المؤسسة العامة للتبغ التي تشرف على زراعته وتسويقه من المناطق المختلفة [1].

يُصنف التبغ نباتياً ضمن الفصيلة الباذنجانية (Solanaceae)، ويضم الجنس *Nicotiana* حوالي 70 نوعاً نباتياً مختلفاً، تم تمييز نوعين فقط ذوي أهمية تكنولوجية وهما: *Nicotiana tabacum* L. و *Nicotiana rustica* L.، وتم تقسيم الجنس *Nicotiana* إلى ثلاثة تحت أجناس وهي *Tabacum*، *Rustica* و*Petunioids* وذلك بالاعتماد على دراسات حديثة للمورثات النيكليوتيدية والسيتوبلازمية للأنواع المنتمية لهذا الجنس [2]، ويستجيب محصول التبغ وبحساسية عالية للمجهدات البيئية المختلفة والظروف المتعلقة بالتربة [3].

يُعد الجفاف من أهم العوامل البيئية التي تؤثر سلباً في نمو النبات وفي العمليات الفيزيولوجية والحيوية والاستقلابية، وعاملاً محدداً ومهماً في توزع النباتات وإنتاجيتها، وواحداً من بين العوامل الأكثر تأثيراً في مردود المحاصيل على المستوى العالمي [5,4]. أشار كل من [7,6] لضرورة زيادة الاهتمام بعامل الجفاف وذلك للاستفادة قدر الإمكان من الأرض القابلة للزراعة في المناطق الجافة وشبه الجافة. وذكر [8] أن الإجهاد المائي الذي يحدث في مراحل مختلفة من نمو نبات التبغ يؤدي إلى انخفاض الغلة الورقية، وقلة تراكم المواد الجافة. كما أشار [9] أن الفترة الأكثر حساسية لرطوبة التربة لنبات التبغ تكون خلال فترة النمو الخضري، وأن الإجهاد المائي في مرحلة التبرعم قلل من مساحة الأوراق المحصودة، في حين أعطى الإجهاد المائي خلال فترة الإزهار أوراق ذات قيمة تجارية منخفضة. في الواقع، يشمل أول تأثير للجفاف نقص المحتوى المائي في التربة وتغير المحتوى المائي في الأنسجة النباتية ويلي ذلك زيادة مقاومة الثغور لحركات الغازات وبخار الماء ونقص في التمثيل الضوئي وتثبيط لنمو النبات ونقص الإنتاج النباتي وزيادة معدل شيخوخة الأوراق وتساقطها [11,10].

تزايد في العقد الأخير القلق من التأثير الضار لمركبات محددة وجدت في دخان التبغ منها القلويدات، ومعظم الجهود تركزت على النيكوتين، ويجري العمل حالياً على التقليل منه قدر الإمكان من خلال إنتاج أصناف جديدة أو تحسين الأصناف المزروعة عن طريق إحداث الطفرات سواءً باستخدام المطفرات الكيميائية أو الفيزيائية [12].

قدم Julio دليلاً على أن 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 التطفير [13]، 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، حشرات) 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 [14].

يعد المطفر الكيميائي EMS من أهم المركبات الكيميائية التي تسبب طفرات نقطية تؤدي إلى إحداث تغيرات وراثية [15]، ويستخدم إيثيل ميثان سلفونات (EMS) كمطفر كيميائي في تركيبه مع مركب البولي ايثيلين غليكول (PEG) لإحداث الإجهاد الجفافي كعامل اختبار [16]، كما وتم استخدام EMS بشكل واسع للحث على الطفرات في البذور. ويمكن أن يحدث مركب EMS طفرات نقطية عشوائية بدرجة كبيرة، تزيد من مقدرة النباتات على تحمل الإجهادات اللاإحيائية المختلفة [18,17].

تم استخدم EMS بنجاح في الفصيلة الباذنجانية (Solanaceae) للحصول على التنوع المورفولوجي وتحسين الصفات المرغوبة للنباتات، بما في ذلك المحصول وجودته ومقاومته للأمراض، ومنها نبات البندورة [20,19]. وأدت معاملات التطفير بمركب EMS لزيادة معنوية في صفات (ارتفاع النبات– عدد الأوراق وطول الجذور) لنبات الداودي تحت ظروف الإجهاد الملحي [21].

ونظراً للتدهور الوراثي الذي يصيب أصناف التبغ المعتمدة للزراعة إضافة إلى قلة التباينات الوراثية لهذه الأصناف ما يقود لانخفاض خصائص الصنف الإنتاجية وتدني النوعية التكنولوجية، ولقلة الدراسات المحلية عن تأثير المعاملة بالمطفرات الكيميائية، تبرز هنا أهمية التركيز على استخدام المطفرات الكيميائية، ومنها المطفر EMS، كواحدة من الوسائل المتاحة لتحديد تأثير هذا المطفر في بعض مؤشرات الإنبات والنمو وبما يمكن من تحسين خصائص الأصناف المستخدمة الإنتاجية والنوعية وإمكانية تحملها للإجهاد الجفافي.

أهمية البحث وأهدافه:

أهداف البحث:

يهدف هذا البحث إلى:

(1). دراسة بعض مؤشرات الإنبات لصنفين من التبغ (برلي– فرجينيا)، تحت تأثير المعاملة بتراكيز متدرجة من المطفر الكيميائي EMS.

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

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

طرائق البحث و مواده:

مكان تنفيذ البحث وزمنه:

نُفذ البحث في الفترة الممتدة من شهر نيسان وحتى شهر تموز لعام 2021 في كل من مخبر البحث العلمي ومزرعة بوقا التابعين لكلية الزراعة– جامعة تشرين– 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.	K2O	P2O5	N	رمل	سلت	طين
7.11	0.73	31	1.20	570	3.5	0.58	10	19.5	69.5
معتدلة الحموضة	خفيف الملوحة	عالية	كاف	غنية	منخفض	–	طينية		

تميزت التربة بأنها طينية ومنخفضة المحتوى بالفوسفور وغنية بالبوتاسيوم ومعتدلة الحموضة.

المادة النباتية المستخدمة:

استخدم في هذا البحث بذور صنفي التبغ (برلي 21 وفرجينيا VK51) تم الحصول عليها من المؤسسة العامة للتبغ-اللاذقية، حيث يمتاز هذان الصنفان بإنتاجية عالية وبمحتوى منخفض من النيكوتين.

معاملات التطفير:

حضرت محاليل التطفير بإضافة المطفر الكيميائي EMS (0، 10، 50 و100) مايكرولتر إلى 10 مل ماء مقطر لتحضير التراكيز (0، 0.1، 0,5 و1) % [22].

تم استخدام 0.01 غ (120 بذرة) من بذور صنفي التبغ المستخدمين لكل معاملة، تم النقع بثلاث مكررات لكل معاملة، ثم غمرت البذور في محلول التطفير المحضر بأربعة تراكيز (0.1، 0,5 و1) % وبزمن غمر (8) ساعة، وبذور الشاهد تم غمرها بالماء المقطر فقط وبنفس زمن الغمر، تلتها عملية غسيل البذور المعاملة بالمطفر بالماء بشكل جيد من 6-8 مرات (دقيقة واحدة كل مرة) لإزالة المطفرات المتبقية وتم تجفيف سطح البذرة بوضع البذور على ورق ترشيح ثم زراعتها على وسط زراعي بأطباق بلاستيكية تحتوي على كمبوست بسعة 2 كغ لكل معاملة حيث تم أخذ قراءات الإنبات وتم فيما بعد نقل الشتول لزراعتها في الأرض الدائمة.

معاملات الإجهاد المائي:

تم استخدام مادة البولي ايتيلين غليكول (PEG-6000) كنسب مئوية (%) وما يعادلها من ضغط اسموزي (Osmotic potential) [23]، لإحداث الإجهاد المائي المصطنع عبر الري بمعدل ريتين بمقدار 200 مل لكل معاملة، 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 -0.51 ميغا باسكال.
- P_2: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 30% (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي -1.04 ميغا باسكال.
- P_3: رويت النباتات بمحلول يحوي PEG-6000 بتركيز 45% (V/W) ما يعادل ضغط أسموزي -1.56 ميغا باسكال.

تمت زراعة الشتول في تجربة عاملية باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (RCBD) وبثلاث مكررات.

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.

دُرست الخصائص والصفات التالية:

1. مؤشرات الإنبات:

- نسبة الإنبات (%):

تم حساب نسبة الإنبات باستخدام المعادلة التالية [24]:

$$DK=(JK\div JC)\times 100$$

DK: النسبة المئوية للإنبات، JK: عدد البذور النابتة، JC: العدد الكلي للبذور.

- سرعة الإنبات (معدل الإنبات)/ يوم:

تم حساب معدل الإنبات باستخدام المعادلة التالية [25]:

$$LP=(N_1T_1+N_2T_2+\ldots.+N_XT_X) \div JB$$

LP: سرعة الإنبات، N: عدد البذور التي نبتت في وحدة زمنية معينة، T: مقدار الوقت بين الاختبار الأولي للاختبار النهائي في فترة زمنية معينة، JB: العدد الإجمالي للبذور النابتة.

2. المؤشرات المورفولوجية:

- ارتفاع النبات Plant Height (سم/ نبات):

وذلك بقياس ارتفاع النبات (سم) لثلاثة نباتات (n=3) من كل معاملة تجريبية بدءاً من مستوى سطح التربة حتى القمة النامية وذلك قبل دخول النباتات مرحلة تشكيل النورة الزهرية أي بعد التشتيل بحوالي 6 أسابيع.

- طول السلاميات (سم):

تم قياس المسافة بين كل عقدتين متتاليتين على النبات في مرحلة ما قبل الإزهار.

- قطر الساق (سم):

وذلك بقياس قطر الساق بواسطة جهاز بي دو كوليس في مرحلة ما قبل الإزهار.

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 المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS في نسبة الإنبات (%) وسرعة الإنبات (يوم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51:

تُشير معطيات الجدول (2) إلى وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملات المدروسة من حيث نسبة الإنبات(%) وسرعة الإنبات (يوم) في بذور نباتات صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

لم تتأثر بشكل معنوي أن نسبة إنبات صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 عند معاملة النقع بالتركيز المنخفض (0.1) % من المطفر EMS حيث بلغت 94 و92 % عند المعاملات EB_1 وEV_1 على التوالي وذلك بالمقارنة مع الشاهد 95 و94 %، وانخفضت نسبة الإنبات معنوياً (P<0.05) مع زيادة تركيز المطفر EMS لتُسجل أدنى قيمة لها 31 و34 % عند المعاملات EB_3 وEV_3 على التوالي.

أما بالنسبة لسرعة الإنبات، فقد أعطت أفضل نتيجة عند تركيز EMS المنخفض (0.1) % حيث بلغت (10.2 و10.4) يوم عند المعاملات EB_1 وEV_1 على التوالي، وأدى التطفير بالتراكيز المرتفعة (0.5 و1) % إلى إطالة مدة الإنبات مقارنة بالشاهد 10 و10.2 يوم على التوالي، وانخفضت سرعة الإنبات عند البذور المعاملة بالمطفر EMS حتى بلغت أخفض قيمة لهذا المؤشر أيضاً عند التركيز 1% فبلغت 15.6 و15.4 يوم عند المعاملات EB_3 وEV_3 على التوالي.

جدول (2): نسبة الإنبات (%) وسرعة الإنبات (يوم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت تأثير المطفر الكيميائي EMS.

الصنف	المعاملات	نسبة الإنبات	سرعة الإنبات
برلي 21	**EB0**	95 ± **3.5**^{a}	**10 ± 0.5**^{c}
	EB1	94 ± **2.5**^{a}	**10.2 ± 0.4**^{c}
	EB2	65 ± **2**^{b}	**14 ± 0.3**^{b}
	EB3	31 ± **1.5**^{C}	**15.6 ± 0.4**^{a}
فرجينيا **VK51**	**EV0**	94 ± **2.5**^{a}	**10.2 ± 0.4**^{c}
	EV1	92 ± **3**^{a}	**10.4 ± 0.5**^{c}
	EV2	67 ± **2.5**^{b}	**13.7 ± 0.3**^{b}
	EV3	34 ± **1.5**^{C}	**15.4 ± 0.4**^{a}

تُشير الرموز (E) للمعاملة بالمطفر الكيميائي EMS (0، 0.1، 0,5 و1) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 على التوالي. تُشير جميع المعطيات إلى 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).

انخفضت نسبة الإنبات وسرعته مع زيادة تركيز المطفر الكيميائي المستخدم [28,27,26]، إن التطفير الكيميائي يقلل الإنبات، ويتباطأ إنبات البذور مع زيادة تركيز EMS وفقاً لنتائج البحث الذي تم إجراؤه على نبات التبغ [29]، وللنتائج على نبات *Vigna radiata* [30].

يمكن للتراكيز العالية من EMS أن تقلل من قدرة البذور على امتصاص البذرة للماء، وبالتالي لا يمكن للبذرة أن تحصل على كمية كافية من الماء للإنبات [31]، وكلما زاد تركيز EMS ، ازداد امتصاصه وبالتالي تزداد سمية EMS [32]. وفي دراسة [33] أدت معاملة EMS بالتركيز 1 % مع زمن غمر مختلف إلى انخفاض قوة نمو البذور بسبب التأثير المثبط للمطفر، ما أدى إلى تثبيط نمو شتول الفليفلة.

2- تأثير المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS في ارتفاع النبات (سم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

تُشير معطيات الجدول (3) إلى وجود فروق معنوية (*P<0.05*) بين المعاملات المدروسة من حيث صفة ارتفاع النبات (سم) في نباتات صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

أدى الإجهاد الجفافي بالبولي ايتلين غليكول PEG إلى انخفاض معنوي (*P<0.05*) في صفة ارتفاع النبات وبشكل أكثر وضوحاً مع زيادة شدة الإجهاد، حيث بلغت قيمة هذا المؤشر (78، 73 و69) سم عند صنف البرلي 21 و (85، 80 و78) سم عند صنف الفرجينيا VK51 تحت تأثير المعاملة بالتراكيز (15، 30 و45) % على التوالي، وذلك بالمقارنة مع ارتفاع النبات (109) سم لدى صنف البرلي 21 و(113) سم لصنف الفرجينيا VK51 عند الشاهد. حسنت المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS لوحدها عند التركيز المنخفض 0.1 % من ارتفاع النبات بشكل معنوي (*P<0.05*)، وكان هذا التأثير الإيجابي ملموساً عند المعاملات EB_1P_0 (108) وEV_1P_0 (111) سم بالمقارنة مع باقي المعاملات، وتراكيز المطفر EMS المرتفعة فقد أدت إلى انخفاض في ارتفاع النبات ازداد مع زيادة تركيز المطفر وذلك بالمقارنة مع الشاهد، لوحظ في المقابل عند معاملة المطفر بالتركيز المنخفض تحت مستوى الإجهاد الجفافي المنخفض زيادة في ارتفاع النبات عند المعاملات EB_1P_1 (111 سم) وEV_1P_1 (115 سم) سم مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد، وزيادة تركيز المطفر الكيميائي عند مستويات الإجهاد الجفافي العالية أدت إلى انخفاض في ارتفاع النبات مقارنة بباقي المعاملات والشاهد، وسجل ارتفاع النبات أدنى قيمة له 60 و71 سم عند المعاملات EB_3P_3 وEV_3P_3.

جدول (3): تأثير المطفر الكيميائي EMS في ارتفاع النبات (سم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت مستويات مختلفة من الإجهاد الجفافي.

P3	P_2	P_1	P_0	المعاملات	الصنف
69 ± 2^{hi}	73 ± 2^{h}	78 ± 1.5^{g}	109 ± 2^{ab}	EB_0	برلي 21
97 ± 1^{de}	102 ± 1^{cd}	111 ± 2^{a}	108 ± 2.5^{e}	EB_1	
92 ± 1^{f}	96 ± 1.5^{e}	101 ± 1.5^{cd}	104 ± 1.5^{c}	EB_2	
60 ± 1.5^{g}	67 ± 2.5^{i}	75 ± 2.5^{gh}	100 ± 1.5^{d}	EB_3	
78 ± 1.5^{g}	80 ± 1.5^{i}	85 ± 2^{h}	113 ± 2.5^{ab}	EV_0	فرجينيا VK51
102 ± 1^{e}	107 ± 1^{c}	115 ± 2^{a}	111 ± 2^{b}	EV_1	
94 ± 2^{g}	99 ± 1.5^{f}	105 ± 1.5^{d}	108 ± 2^{c}	EV_2	
71 ± 1.5^{l}	75 ± 2^{k}	81 ± 2^{i}	101 ± 1.5^{ef}	EV_3	

تُشير الرموز (P) للري بالبولي ايتيلين غليكول (15، 30 و45) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 على التوالي و(E) للمعاملة بالمطفر الكيميائي EMS (0، 0.1، 0,5 و1) %. تُشير جميع المعطيات إلى متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري ± means (n=3،SE) ، وأحرف مختلفة (a, b, c, d...) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة (*P*<0.05, ANOVA-Tukey test).

إن ارتفاع النبات يزداد مع طول فترة نموه والتي بدورها تتأثر بالظروف البيئية المحيطة بالنبات بما فيها ظروف التغذية [34]، وربما يعود سبب اختزال ارتفاع نباتات التبغ عند تعرضها للإجهاد المائي إلى قلة انقسام خلايا الساق والأوراق وصغر حجمها نتيجةً لانخفاض الجهد المائي فيهما بسبب نقص جاهزية ماء التربة مما يؤدي إلى انخفاض كفاءة اعتراض وتحويل الطاقة الشمسية إلى طاقة كيميائية وإنتاج المادة الجافة، في هذا السياق، أشار [35] إلى أن معدل استطالة الخلايا حساساً جداً للجفاف، 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.

إن التأثير السلبي مع زيادة تركيز المطفر EMS أدى إلى انخفاض ارتفاع النبات خاصة عند التركيز المرتفع مقارنة مع الشاهد وهذا يتفق مع نتائج [18]، وقد يعزى التأثير بالجرعة العالية إلى تثبيط النمو من خلال التأثير على انقسام الخلايا أو إحداث أضرار مختلفة في الجينوم بأكمله [36].

حسنت المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS عند التركيز المنخفض صفة ارتفاع النبات تحت ظروف الإجهاد الجفافي وهذا يتفق مع نتائج [21] .

3- تأثير المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS في طول السلاميات (سم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

تُشير معطيات الجدول (4) إلى وجود فروق معنوية (*P<0.05*) بين المعاملات المدروسة من حيث طول السلاميات (سم) في نباتات صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

أدى الإجهاد الجفافي إلى انخفاض معنوي (*P<0.05*) في صفة طول السلاميات والتي بلغت (2.5، 2.2 و2) سم عند صنف البرلي 21 و(3.6، 3.5 و3.4) سم عند صنف الفرجينيا VK51 عند التراكيز (15، 30 و45) % من PEGعلى التوالي، مقارنةً مع طول السلاميات (3.3) سم لدى صنف البرلي 21 و(4.2) سم لصنف الفرجينيا VK51 عند الشاهد.

حسنت المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS لوحدها عند التركيز المنخفض 0.1 % من طول السلاميات بشكل معنوي (*P<0.05*) وكان هذا التأثير الإيجابي واضحاً عند المعاملات EB_1P_0 (3.2 سم) وEV_1P_0 (4.1 سم) وذلك بالمقارنة مع باقي المعاملات، أما التراكيز المرتفعة من المطفر فقد أدت إلى انخفاض في طول السلاميات بشكل مضطرد مع زيادة التركيز مقارنةً مع الشاهد. لوحظ بالمقابل عند معاملة المطفر والإجهاد الجفافي معاً بالمستويات

المنخفضة لكل منهما زيادة في طول السلاميات، حيث بلغت عند المعاملات EB_1P_1 (3.3 سم) وEV_1P_1 (4.3 سم) مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد، ومع زيادة تركيز المطفر الكيميائي عند مستويات الإجهاد الجفافي العالية سُجل انخفاضاً في طول السلاميات مقارنة بباقي المعاملات والشاهد.

جدول (4): تأثير المطفر الكيميائي EMS في طول السلاميات (سم) 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	3.3 ± 0.06^{a}	2.5 ± 0.06^{e}	2.2 ± 0.05^{b}	2 ± 0.06^{g}
	EB_1	3.2 ± 0.04^{b}	3.3 ± 0.04^{a}	3 ± 0.04^{c}	2.8 ± 0.05^{d}
	EB_2	3 ± 0.05^{c}	3 ± 0.05^{c}	2.7 ± 0.06^{de}	2.6 ± 0.06^{e}
	EB_3	2.7 ± 0.04^{de}	2.6 ± 0.06^{e}	1.9 ± 0.06^{h}	1.7 ± 0.06^{i}
فرجينيا VK51	EV_0	4.2 ± 0.07^{ab}	3.6 ± 0.07^{de}	3.5 ± 0.07^{e}	3.4 ± 0.06^{e}
	EV_1	4.1 ± 0.06^{b}	4.3 ± 0.07^{a}	4 ± 0.06^{bc}	3.8 ± 0.06^{cd}
	EV_2	3.9 ± 0.06^{c}	3.9 ± 0.06^{c}	3.7 ± 0.07^{d}	3.6 ± 0.07^{de}
	EV_3	3.9 ± 0.06^{c}	3.6 ± 0.06^{de}	3.2 ± 0.07^{g}	3.1 ± 0.06^{g}

تُشير الرموز (P) للري بالبولي ايتيلين غليكول (15، 30 و45) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51على التوالي و(E) للمعاملة بالمطفر الكيميائي EMS (0، 0.1، 0,5 و1) %. تُشير جميع المعطيات إلى متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة (a, b, c, d...) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة (*P*<0.05, ANOVA–Tukey test).

سبب الإجهاد الجفافي بالبولي ايتيلين غليكول ومع زيادة شدة الإجهاد انخفاضاً مضطرداً في صفة طول السلاميات بالنظر للتأثير السلبي للإجهاد الجفافي في معدل استطالة الخلايا النباتية، حيث توافقت هذه النتيجة مع نتائج [37] على نبات القطن ونتائج [39,38] على نبات القمح.

أدت المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS وبالتركيز المنخفض المستخدم إلى الحصول على أفضل مسافة عقدية، والذي قد يعود للأثر الفيسيولوجي المحفز للتراكيز المخففة من المطفر الكيميائي، وهذا يتوافق ما تمت الإشارة إليه في دراسة [40] على نبات الحنظل، في حين أدت المعاملة بالتركيز المرتفع إلى انخفاض المسافة العقدية ليتوافق ذلك مع نتائج [41] على نبات الفليفلة الحلوة ونتائج [42] على نبات السمسم.

4- تأثير المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS في قطر الساق (سم) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 تحت ظروف الإجهاد الجفافي:

تُشير معطيات الجدول (5) إلى وجود فروق معنوية (*P<0.05*) بين المعاملات المدروسة من حيث قطر الساق (سم) في نباتات صنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51.

أدى الإجهاد الجفافي بالبولي ايتلين غليكول PEG إلى انخفاض معنوي (*P<0.05*) في صفة قطر الساق والتي بلغت (2.16، 2.15 و2.13) سم لدى صنف البرلي 21 و(1.71، 1.69 و1.66) سم لدى صنف الفرجينيا VK51 عند التراكيز (15، 30 و45) % على التوالي مقارنةً مع قطر الساق (2.32 سم) لصنف البرلي 21 و(1.94 سم) لصنف الفرجينيا VK51 عند الشاهد.

لم يُلاحظ أية فروق معنوية (*P>0.05*) بين المعاملة بالمطفر الكيميائي EMS لوحده عند التركيز المنخفض 0.1% والشاهد من حيث صفة قطر الساق، حيث بلغ قطر الساق عند المعاملات EB_1P_0 (2.31 سم) وEV_1P_0 (1.9 سم)، أما التراكيز المرتفعة من المطفر فقد أدت إلى انخفاض معنوي (*P<0.05*) في قطر الساق وبشكل أكثر وضوحاً مع زيادة تركيز المطفر، حيث بلغ قطر الساق 2.18 و1.77 سم عند المعاملات EB_3P_0 وEV_3P_0 على التوالي.

هذا ولوحظ عند معاملة المطفر بالتركيز المنخفض تحت ظروف المستوى المنخفض من الإجهاد زيادة في قطر الساق فبلغ عند المعاملات EB_1P_1 (2.32 سم) وEV_1P_1 (1.93 سم) مقارنةً بباقي المعاملات والشاهد، ومع زيادة تركيز المطفر الكيميائي عند مستويات الإجهاد الجفافي العالية انخفض في قطر الساق مقارنة بباقي المعاملات والشاهد.

جدول (5): تأثير المطفر الكيميائي EMS في قطر الساق (سم) 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	2.32 ± 0.006^{a}	2.16 ± 0.007^{g}	2.15 ± 0.008^{gh}	2.13 ± 0.007^{h}
	EB_1	2.31 ± 0.006^{a}	2.32 ± 0.006^{a}	2.27 ± 0.007^{b}	2.22 ± 0.008^{d}
	EB_2	2.24 ± 0.006^{c}	2.26 ± 0.007^{b}	2.23 ± 0.007^{cd}	2.2 ± 0.006^{e}
	EB_3	2.18 ± 0.008^{f}	2.19 ± 0.006^{ef}	2.14 ± 0.007^{h}	2.11 ± 0.006^{i}
فرجينيا **VK51**	EV_0	1.94 ± 0.02^{a}	1.71 ± 0.02^{d}	1.69 ± 0.02^{de}	1.66 ± 0.02^{e}
	EV1	1.9 ± 0.03^{a}	1.93 ± 0.03^{a}	1.79 ± 0.02^{bc}	1.77 ± 0.02^{bc}
	EV_2	1.82 ± 0.02^{b}	1.8 ± 0.03^{bc}	1.76 ± 0.02^{c}	1.72 ± 0.03^{cd}
	EV_3	1.77 ± 0.03^{bc}	1.74 ± 0.02^{cd}	1.64 ± 0.03^{ef}	1.62 ± 0.02^{f}

تُشير الرموز (P) للري بالبولي ايتيلين غليكول (15، 30 و45) % و(B وV) لصنفي التبغ برلي 21 وفرجينيا VK51 على التوالي و(E) للمعاملة بالمطفر الكيميائي EMS (0، 0.1، 0,5 و1) %. تُشير جميع المعطيات إلى متوسطات مضافاً لها الخطأ المعياري (means ± SE)، n=3، وأحرف مختلفة (a, b, c, d…) لإظهار الفروق المعنوية بين المتوسطات لكل مؤشر عند كل معاملة (*P*<0.05, ANOVA-Tukey test).

يمكن أن يُفسر تأثير الإجهاد الجفافي في انخفاض قطر الساق، إلى أن الجفاف يسبب انخفاض محتوى الماء النسبي للنبات والذي يؤدي بدوره إلى انخفاض معدل نمو الأجزاء الخضرية وما للماء من دور مهم في عملية انقسام الخلايا واستطالتها ووفرة العناصر الغذائية في التربة وسهولة امتصاصها ومن ثم انخفاض عملية البناء الضوئي، ويتوافق ذلك مع نتائج [43,39].

أما من حيث تأثير المطفرات الكيميائية وبالتراكيز العالية، فقد أشار العديد من الباحثين إلى وجود علاقة عكسية بين زيادة تركيز المطفرات الكيميائية وقطر الساق عند استخدامها على العديد من الأنواع النباتية وذلك بالنظر إلى أثرها السمي مع ارتفاع تراكيز استخدامه من حيث تأثيرها على نمو واستطالة الخلايا النباتية [46,45,44].

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

أدت عملية نقع البذور بالمطفر الكيميائي EMS وبالتراكيز المرتفعة 0.5 و1 % إلى أعلى نسبة موت في البذور حيث انخفضت نسبة الإنبات (%) وسرعته (يوم) عند كلا الصنفين حوالي الثلث إلى الثلثين، هذا وكان التأثير الإيجابي للتركيز المنخفض 0.1 % ملحوظاً في أغلب المؤشرات المدروسة. سبب الإجهاد الجفافي المصطنع بالمركب PEG ولاسيما ولاسيما عند التراكيز المرتفعة (30 و45) % لانخفاض قيم جميع المؤشرات المدروسة لدى صنفي التبغ

برلي 21 وفرجينيا VK51، والذي ظهر واضحاً في صفة ارتفاع النبات (73 و69) سم عند صنف البرلي 21 و (80 و78) سم عند صنف الفرجينيا VK51 على التوالي وطول السلاميات (سم) التي بلغت (2.2 و2) سم عند صنف البرلي 21 و(3.5 و3.4) سم عند صنف الفرجينيا VK51 على التوالي وقطر الساق (سم) الذي بلغ (2.15 و2.13) سم لدى صنف البرلي 21 و(1.69 و1.66) سم لدى صنف الفرجينيا VK51 على التوالي. حسنت في المقابل المعاملة بالمطفر EMS عند التركيز المنخفض (0.1) % جميع المؤشرات المدروسة لصنفي التبغ المدروسين تحت ظروف الإجهاد الجفافي.

المقترحات:

1-استخدام المطفر 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 النقع بالتراكيز المرتفعة من EMS لانتخاب افضلها وادخاله في برامج التحسين الوراثي لهذين الصنفين المستخدمين.

References

1. Ahmed T, Ahmed W. Studying the Impact the profitability of the tobacco types produced in the Syrian coast on the Agriculture Domestic product during the period (2000-2011). Tishreen University Journal- Economic and Legal Sciences Series. 2015; 37(2).

2. Knapp S, Chase MW, Clarkson JJ. Nomenclatural changes and a new sectional classification in Nicotiana (Solanaceae). International Association for Plant Taxonomy. 2004 Feb; 53(1): 73–82.

3. Darwish M, Lopez-Lauri F, Vidal V, El Maataoui M, Sallanon H. 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. Biology. 2015 Jul; 148: 9-20.

4. Henin S. Définition de la sécheresse et politique d'utilisation de l'eau. Fourreges. 1976. 67: 13–2.

5. Galle A. Changes in water and chlorophyll fluorescence parameters under osmotic stress in wheat cultivars. Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology. 2002 Jan 1;46 (3-4): 85-6.

6. El-Aref HM. Employment of maize immature embryo culture for improving drought tolerance. In 3rd Scientific Conference of Agriculture Sciences. Faculty of Agriculture, Assiut University, Assiut Egypt 2002 Oct 22 (Vol. 20, p. 22).

7. Mohamed MH, Harris PJ, Henderson J. In vitro selection and characterisation of a drought tolerant clone of Tagetes minuta. Plant Science 2000 Nov 6;159: 213-222.

8. Wilkinson CA, Reed TD, Johnson CS, Jones JL. Flue-cured tobacco variety information for 2002. Virginia Polytechnic Institute and State University, Tobacco, Publication 2002. 436-047. Blacksburg, Virginia, USA.

9. Mcnee P, Warrell LA, den Muyzenberg E. Influence of water stress on yield and quality of flue-cured tobacco. Australian Journal of Experimental Agriculture.1978; 18 (94): 726–731.

10. Lawlor DW, Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant Cell Environ. 2002 Feb; 25(2): 275–294.

11. Molnar I. The effects of drought stress on the photosynthetic processes of wheat and of Aegilops biuncialis genotypes originating from various habitats. Acta Biology Szegediensis. 2002 Jan 1;46(3-4); 115-116
12. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. Nature Reviews Cancer. 2003Dec; 3(10): 733-44.
13. Julio E, Laporte F, Reis S, de Borne FD. Reducing the content of nornicotine in tobacco via targeted mutation breeding. Molecular Breeding. 2008 Apr: 21(3), 369-381.
14. Simmonds NW. Potatoes. In Evolution of crop plants (ed.N. W. Simmonds), 1979 pp. 279^283. NewYork: Longman.
15. Shu QY, Forster BP, Nakagawa H, Nakagawa H. Plant Mutation Breeding and Biotechnology. Cabi. 2012 pp: 595.
16. Masoabi M, Lloyd J, Kossmann J, van der Vyver. Ethyl methanesulfonate mutagenesis and In vitro polyethylene glycol selection for drought tolerance in sugarcane (Saccharum spp.). Sugar Tech. 2018 Feb; 20 (1):50-59.
17. Arisha MH, Liang BK, Shah SM, Gong ZH, Li DW. Kill curve analysis and response of first generation Capsicum annuum L. B12 cultivar to ethyl methane sulfonate. Genet. Mol. Res. 2014 Nov 28; 13, 10049–10061.
18. Talebi AB, Shahrokhifar B. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenesis in Malaysian rice (cv. MR219) for lethal dose determination. Am. J. Plant Sci, 2012, 1661–1665.
19. Piron F, Nicolai M, Minoia S, Piednoir E, Moretti A, Salgues A, Zamir D, Caranta C, Bendahmane A. An induced mutation in tomato eIF4E leads to immunity to two potyviruses. PLoS one. 2010 Jun 25; 5(6): e13313.
20. Gauffier C, Lebaron C, Moretti A, Constant C, Moquet F, Bonnet G, Caranta C, Gallois JL. A TILLING approach to generate broad-spectrum resistance to potyviruses in tomato is hampered by eIF4E gene redundancy. The Plant Journal. 2016 Mar; 85(6): 717–729.
21. Al-Korkhi, M. Z.; Obeid, E.A. And Ibrahim, K.M. Effect of the mutagen Ethyl Methane Sulfoanate on improving nacl tolerance in chrysanthemum in vitro. Mesopotamia Journal of Agriculture. 2019;47.
22. Zhao L, Li W, Wang B, Gao Y, Sui X, Liu Y, Song Z. Development of a PVY resistant flue-cured tobacco line via EMS mutagenesis of elF4E. Agronomy. 2020; 10(1), 36.
23. Muscolo A, Sidari M, Anastasi U, Santonoceto C, Maggio A. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. Journal of Plant Interactions.2014; 9: 354–363.
24. Kuswanto H. Dasar-Dasar Teknologi Produksi dan Sertifikasi Benih. Yogyakarta : Penerbit Andi**.** 1996.
25. Sutopo L. Teknologi Benih. PT Rajawali, Jakarta**.** 1998.
26. Dhanavel D, Pavadai P, Mullainathan L, Mohana D, Raju G, Girija M, Thilagavathi C. Effectiveness and efficiency of chemical mutagens in cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.). Afr. J. Biotechnol. 2008; 7: 4116-4117. 36.
27. Amarnath S, Prasad AB. Induced Variability in Homozygous and Heterozygous Genotypes of Tobacco. Indian Journal of Genetics. 1998; 58(1): 69-77.
28. Kavithamani D, Kalamani A, Vanniarajan C, Uma D. Mutagenic Effectiveness And Efficiency Of Gamma Rays And Ems In Soybean (Glycine Max L. Merrill). Madras Agric. J., 2008; 95(7-12): 448-451.
29. Putra NE, Putra MR, Rama GA, Prayoga SA. Gambaran Pemahaman, Persepsi, Dan Penggunaan Rokok Elektrik Pada Siswa Sekolah Menengah Atas Di Kota Denpasar. In PROCEEDING 4th ICTOH 2017 Indonesian Conference on Tobacco or Health (p. 2).

30. Mori VK, Kumar R, Kiran K, Ribadiya KH. EMS and Gamma Rays Induced Mutation in Greengram (Vigna Radiata L.).International Journal of Environmental Sciences. 2016; 10(1):75-80.
31. Singh R, Kole CR. Effect of Mutagenic Treatments with EMS on Germination and Some Seedling Parameters in Mungbean. Crop Research. 2005; 30:236-240.
32. Priyono dan Susilo AW. Respon Regenerasi In vitro Eksplant Sisik Mikro Kerk Lily (Lilium longiflorum) terhadap Ethyl Methane Sulfonate (EMS). Jurnal Ilmu Dasar. 2002; 3(2): 74-79.
33. Rustini NK, Dan Pharmawati M. Aksi Ethyl Methane Sulphonate terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit (Capsicum frutescens L.). Jurnal Bioslogos. 2014; 4(1):1-8
34. Sokolov BP, Domashnev PP, Makarendo IT. Methods and results of breeding drought resistant maize hybrids. Referativnyi Zhurnal, 1971; Vol. 8, 55123
35. Whalley W, Bengough A, Dexter A. Water stress induced by PEG decreases the maximum growth pressure of the roots of pea seedlings. Journal of Experimental Botany. 1998; 49: 1689–1694.
36. Borzouei A, Kafi M, Khazaei H, Naseriyan B, Majdabadi A. Effects of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Wheat(Triticum Aestivum L.) Seedlings, Pakistan Journal of Botany, 2010; Vol. 42. No. 4, pp. 2281-2290
37. Anwar M, Saleem MA, Dan M, Malik W, Ul-Allah S, Ahmad MQ, Hu Z. Morphological, physiological and molecular assessment of cotton for drought tolerance under field conditions. Saudi Journal of Biological Sciences. 2021
38. Ahmad A, Aslam Z, Ilyas MZ, Ameer H, Mahmood A, Rehan M. Drought stress mitigation by foliar feeding of potassium and amino acids in wheat. Journal of Environmental and Agricultural Sciences, 2019; 18, 10-18.
39. Nemmar, M. Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez les variétés de Blé dur(Triticum durum Desf.) et de Blé tendre(Triticum aestivum L.), évolution des teneurs en proline au cours du cycle de développement (Doctoral dissertation. 1983.
40. Ramakrishna D, Chaitanya G, Suvarchala V, Shasthree T. Effect of gamma ray irradiation and ethyl methane sulphonate on in vitro mutagenesis of Citrullus colocynthis (L.). Schrad. Journal of Plant Biotechnology, 2018; 45(1), 55-62.
41. Arisha MH, Shah SN, Gong ZN, Jing H, Li C, Zhang HX. 2015- Ethyl methane sulfonate induced mutations in M2 generation and physiological variations in M1 generation of peppers (Capsicum annuum L.). Frontiers in plant science,2015; 6, 399.
42. Boranayaka MB, Ibrahim SM, Kumar CA, Rajavel DS. Induced macro-mutational spectrum and frequency in sesame (Sesamum indicum L.). Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 2010; 70(2), 155-164.
43. Carter JF. Sunflower science and technology. Pub. In the U.S.A. by longman, NewYork. 1987.
44. Khan MH, Tyagi SD. Induced variation in quantitative traits due to physical (Gamma rays), chemical (EMS) andcombined mutagen treatments in Soybean (Glycine max L Merrill) Soybean. Genetics Newsletter. 2009; 36, 1-10.
45. Kangarsu S, Ganesharm S, Joel AJ. Determination of lethal dose for gamma rays and ethyl methane sulfonate induced mutagenesis in cassava (Manihot esculenta crantz). International journal of scientific research. 2014; 3,1, 77-79.
46. Karthika R, Lakshmi BS. Effect of Gamma rays and EMS on two varieties Soybean, Asia. J. Plant. Sci., 2006; 5, 721-724.