فسيولوجيا الإجهاد Stress Physiology

Stress Physiology

مـــقدمة:

النباتات التى تتعرض لظروف غير عادية مثل الإضاءة الشديدة، البـــرودة الشـــديدة Chilling، الحـــرارة الشديدة ــ التعطيش ــ التغريق ــ الإشعاع ــ التلوث سواء بالغازات السامة أو زيادة تركيز غـــاز معـــين مثل الأوزون، الإصابة بالمسببات المرضية. كل تلـــك العوامـــل وغيرهـــا مـــن عوامـــل الإجهـــاد البيئيـــة Environmental stress factors . كل تلك العوامل تنشط وتنشط بعضها الـــبعض فـــى زيـــادة إنتـــاج active oxygen species.

ومن المعروف أن نوعيات معينة من الإنزيمات تتدخل لحماية الأنسجة ضد عمليات الأكسدة الناتجة عن فعل active oxygen species والناتجة أصلا تحت ظروف stress.

أيضاً أجريت دراسات على تأثير درجة الحرارة المنخفضة على العمليات الفسيولوجية وأوضحت نقص شديد فى عملية البناء الضوئى كما أجريت دراسات على تأثير غاز الأوزون O_3 فوجد أنه يؤثر بشدة على نقـــص عملية البناء الضوئى ــ نقص واضح فى طول الجذور والسيقان للنباتات وأيضاً نقص واضـــح فـــى كميـــة محصول النبات والسبب فى السمية الشديدة Phytototxicity المتسببة عن O_2 يرجع إلى قدرتة الفائقـــة والشديدة على التأكسد لإنتاج جزئيات سامة (generate toxic molecular specie) مثل super oxide anion, hydroxyl radicals, hydrogen peroxide.

أجمع العلماء على أن التأثير الضار أو المميت لظروف Stress يرجع للتـــأثير المباشـــر أو الغيـــر مباشـــر لعوامل الإجهاد Stress على تكوين activated oxygen radicals والتأثير على سلسلة نقل الإلكترون.

فى تجربة لإثبات إنتاج وتراكم activated oxygen radicals تحت ظروف water stress لوحظ أيضـــاً زيادة فى هدم الأغشية وزيادة فى Lipid peroxides .

Free radicals and role of antioxidants

النباتات التى تتعرض للعديد من الظروف الجوية القاسية مثل الإنخفاض أو الإرتفاع الشديد لدرجة الحــرارة أو النقص الشديد فى محتوى التربة من العناصر المغذية أو ظروف التعطيش (نقص المــاء) أو التغريــق. كذلك الظروف البيولوجية الغير عادية أو الإصابة بالمسببات المرضية أو التلــوث بــالأوزون أو الإضــاءة الشديدة أو الإشعاع الشديد. كل تلك الظروف تؤثر سلبا على نمو النباتات وجودة وكمية المحصول.

قام العديد من العلماء بدراسة إستجابة النباتات لظروف الإجهاد السابق ذكرها stress وما يتبع ذلــك مــن تحرر الجذيرات الحرة Free radicals والتى تسبب دمار وهدم للخلايا والأنسجة النباتية وأيضــاً المــواد المضادة للأكسدة والتى تقوم بحماية هذه الخلايا والأنسجة النباتية تحت ظروف stress.

من المعروف أن Reactive oxygen species (Ros) أو المسمى Free radicals يتم التغلب عليها بما يسمى المواد المضادة للأكسدة والتى تقوم بمعادلة Free radicals فى الخلايا والأنسجة النباتية. ولكن هذا المواد المضادة للأكسدة يقل محتواها تدريجياً وذلك بزيادة ظروف الإجهاد stress أو الشيخوخة (التقدم فى العمر) وهذه الظروف يحدث عندها زيادة ملحوظة فى نشاط الإنزيمــات المؤكســدة oxidative enzymes والتى تقوم بإنتاج Reactive oxygen species (Ros) وكل هذا يسبب ويؤدى إلى زيادة تدهور الخلايــا أو الأنسجة النباتية ودخول النباتات فى طور الشيخوخة Senescent plants.

من المعروف أن Oxygen free radicals من أهم العوامل المؤدية لدخول النبات فى طــور الشــيخوخة وذلك عن طريق تنشيط عمليات الأكسدة الضارة للجزيئات البيولوجية والتى تؤدى إلى هدم الخلايــا ومــوت النبات.

أهم العوامل التى تظهر أو تنتج فى الخلايا والأنسجة النباتية تحت ظروف الإجهاد:

1- Lipoxygenase activity.

2- Activated oxygen species.

3- Stressed promoting compounds such as;

A- Ethylene.

B- Jasmonic acid.

Lipoxygenase activity هو إنزيم يهدم ويحلل Poly unsaturated fatty acids بواسطة الأكسجين ليعطى hydro peroxide products وكذلك يلعب هذا الإنزيم دور هام فى هدم الأغشية الليبيدية breakdown of membrane lipids induced by stress

أنــواع الــشوارد الــحرة Types of free radicals

*** * Activated oxygen species includes :**

من المعروف أن أنواع الأكسجين النشطة هى المادة المؤكسدة الرئيسية والهادمة للخلايا والأنسجة النباتية تحت ظروف stress وهذا الأنواع الأكسجينية هى:

1- Super oxide radicals O^-_2
2- Hydroxy radicals OH.
3 -Singlet oxygen radicals O_2
4- Peroxyl radicals H_2O_2
5- Alkoxyl radicals Ro
6- Peroxyl radicals Roo.
7- Poly unsaturated fatty acids.
8- Semi quinine free radicals
9- Atomic oxygen radicals (O^-)
10- Photolytic ozonation radicals (O_3)
11- Sulfar monoxide radicals (So^-)

هذه المواد activated oxygen species وخاصة (OH) , (O_2) مواد مؤكسدة قوية جداً وتقوم سريعاً بمهاجمة الجزئيات البيولوجية Biomolecules مثل جزئيات DNA مما يؤدى إلى خلل شديد فى عمليات metabolism واختلال وظيفى لا يمكن إصلاحه أو تعويضه مما يؤدى إلى موت خلايا الأنسجة النباتية.

المــواد الــمضادة للأكســدة Antioxidants

المواد المضادة للأكسدة منها ما هو إنزيمي ومنها ما هو غير إنزيمى. ومن أمثلة الإنزيمات المضادة للأكسدة Antioxidative enzymes.

1-Superoxid dismutase
2-Catalase
3-Peroxidaese
4-Ascorbat-glutathion cycle enzymes
5-Ascorbate peroxidaes
6-Mono-dehydro ascorbate reductase
7-Dehydro ascorbate reductase
8-Glutathion reductase

أمثلة للمواد غير الإنزيمية المضادة للأكسدة Non enzymatic antioxidative :

وهذه المواد تتواجد بوفرة فى الكلوروبلاست والميتوكوندريا والبيروكسيزوم.

1- Ascorbate (Vit.C)
2- Glutathion
3- &-Tocopherol (Vit.E)
4- Caroteine
5- Flavonoids.

تحت الظروف الطبيعية Normal conditions يقوم نظام الحماية من خلال المواد المضادة للأكسدة Antioxidative defense system يقوم بحماية النظام الخلوى ضد (من) الأكسجين النشط.

ولكن عند زيادة الأكسجين النشط بدرجة عالية جداً ويكون نشاطه أكبر من طاقه النظام الدفاعى للمواد المضادة للأكسدة antioxidant system كما هو الحال فى ظروف stress أو الشيخوخة فإن إجهاد الأكسدة يظهر بوضوح Oxidative stress produced

الدور الفسيولوجى لجذيرات الأكسجين النشطة فى الأنسجة النباتية
Physiological Roles of activated oxygen radicals in plant tissues

- جذيرات الأكسجين الحرة الناتجة فى الخلايا النباتية يمكنها أن تلعب دوراً مهماً فى العمليات الفسيولوجية مثل:

1- Cellular damage.
2- Promotors of senescence.
3- Metabolic oxidation.

- فى الكلوروبلاست يتم إنتاج superoxide radicals (O_2) من خلال التفاعل PSI هذا الأكسجين النشط يتم السيطرة علية من خلال تحويله إلى H_2O_2 وإذا لم يتم كنس O_2 فى صورة (scaveng) H_2O_2 والناتج من PSI فى الكلوروبلاست فإن تثبيت CO_2 إلى كربوهيدرات (Co_2 fixation) سوف يتوقف خلال ثوانى مما يؤدى لحدوث ذبول واضح.

- الإنتاج المستمر من H_2O_2 الناتج من O_2 من خلال PSI يقوم بتثبيط بعض إنزيمات Calvin cycle وكذلك أكسده وهدم نواتج عمليه البناء الضوئى.

- الإصابة الميكروبية أو الفيروسية ينتج عنها زيادة فى إنتـــاج oxygen free radical وكـــذلك (NO) Nitrogen oxide. ويحدث بين جذيرات الأكسجين وأكسيد النتروجين تفاعل ينتج عنه Peroxynitrite وهذا المركب يسبب أكسدة خلايا الأنسجة النباتية وكذلك إحداث طفرات من خلال أكسدة ونترته الجزيئـــات الحيوية. (Oxidation and nitration of various biomolecules)

أمثلة لبعض المواد الكانسة أو المثبطة للجذيرات الحرة
Scavengers and inhibitors of free radicals

1- **Azide (inhibit myloperoxidase).**
2- **1.4 diazo – bicycle – (2-2-2) octan (DABCO).**
3- **Diphenylisobenzofuran (as O_2 trap).**
4- **Deuterium oxide.**
5- **Superoxide anion dismutase (SOD) convert (O_2 to H_2O_2).**
6- **Sulfite (scavenge O_2 produced by xanthin oxidase).**
7- **Benzoate (Trap for OH).**
8- **Mannitol (scavenge OH).**
9- **Ascorbic acid (it is oxidized by both H_2O_2 to dehydromonoascorbate).**
10- **Triton (iron chelator) (inhibit peroxiadase).**
11- **Catalase.**
12- **Sallicyl hydroxamic acid (SHAM) (inhibit lipoxygenase).**
13- **Cyanide (metablic inhibitor).**
14- **Detergents (chloro mercuri benzoate) (inhibit $NADPH_2$ oxidase).**

تعتبر المواد السابق ذكرها مواد كانسة أو مثبطة لجذيرات الأكسجين النشطة
Activated oxygen radical scavengers or inhibitors

ومن المعروف أن الخلية النباتية تحتوى على المواد المنظفة أو الكانسة Scavengers والخاصة بها مثـــل الإنزيمات ــ الكربوهيدرات ــ الأحماض النووية ــ الأحماض الأمينية.

Plant Response to Stress

يحدث الإجهاد بفعل تعرض النبات لظروف خارجية معاكسة وغير طبيعية ويكون لها تأثير واضح على النمو والإنتاج للنباتات.

Biotic stress: وهو الإجهاد الناتج عن الكائنات الحيه مثل الإصابات الفطرية ــ البكتيرية ــ الفيروسية

abiotic stress: وهو الإجهاد الناتج عن فعل مؤثرات فيزيائية أو كيميائية (عوامل بيئية).

العوامل البيئية Environmental (abiotic)

1- water – logging **2- Drought**

3- High r low temperatuse **4- Soil Salinity**

5- Inadequate mineral in the soil **6- Too much or too little light**

7- Phytotoxic compounds (Ozone)

وتتوقف درجة مقاومة أو حساسية النباتات لظروف الإجهاد على نوع النبات ــ التركيب الوراثى ــ مرحلة النمو.

كما أن هناك العديد من العوامل التى تحدد درجة استجابة النبات لظروف الإجهاد البيئية مثل.

١ ــ نوع الإجهاد الذى يتعرض له النبات.

٢ ــ عدد المرات التى يتعرض فيها النبات للإجهاد.

٣ ــ فترة التعرض لظروف الإجهاد.

٤ ــ درجة الإجهاد (شدة الإجهاد).

٥ ــ مرحلة العمرية للنبات.

٦ ــ التركيب الوراثى.

٧ ــ وجود بعض العوامل المنشطة المشجعة لمضاعفة آثار وشدة الإجهاد Stress resistance mechanisms ميكانيكية مقاومة الإجهاد.

عملية مقاومة الإجهاد يكون من خلال أحد طريقين:

١ ــ تجنب التعرض لظروف الإجهاد Avoidance mechanism

٢ ــ دفع النبات للتحمل للإجهاد مثل إجراء عمليات الأقلمة ــ تحسين النمو وذلك قبل التعرض لظروف الإجهاد To lerance mechanism.

لوحظ أن بعض النباتات تتحمل لظروف الإجهاد وذلك من خلال الأقلمة مثل نبات التين الشوكى والصبار المعروف بمقاومتة للجفاف حيث السيقان المتورقة والأوراق العصيرية والجذور المتعمقة فى التربة. كما يحدث بها تغيرات فسيولوجية من شأنها تزيد إسموزية العصير الخلوى لأنسجة النبات.

كما وجد فى بعض النباتات التى تتميز بتحملها لظروف الإجهاد أنه يتم بها عملية تنظيم للهرمونات الداخلية فى الأنسجة النباتية مثل ABA (abscisic acid) & Jasmonic acid & Ethylene وكل ذلك يخضع للعمل والتحكم الجينى Gene expression.

تحمل الجفاف والملوحة To lerance to drought and Salinity

تعديل ضبط الإسموزية ودوره فى تحمل إجهاد الجفاف والملوحة

- **من المعروف أن ضبط الإسموزية لخلايا الأنسجة النباتية هى الميكانيكية التى تساعد النبات على الأقلمة تحت ظروف الجفاف والملوحة.**
- **من المعروف أيضاً أن النبات لا يستطيع إمتصاص الماء من التربة وذلك لأن إسموزية خلايا الجذور أقل من إسموزية محلول التربة المحيطة بالنبات فى ظروف الملوحة.**
- **بعض النباتات حساسة بدرجة كبيرة لظروف الإجهاد وبالتالى فإن جذورها تذبل وتموت بينما بعض النباتات مقاومة لظروف الإجهاد بدون أن يحدث لخلاياها أى بلزمة.**
- **النباتات المقاومة لإجهاد الجفاف تتمكن من تعديل إسموزية خلاياها من خلال زيادة تركيز العصير الخلوى ببعض المكونات التى ترفع من الضغط الإسموزى لمقاومة ظروف الإجهاد.**

- **من المركبات التى يمكنها زيادة إسموزية الخلايا ــ البــرولين (Proline) ، بــرولين بيتــين (praline betaine) ، مانيتول (Manitol) ، بنيتول (Pinitol).**
- **بعض النباتات تحت ظروف الإجهاد (Salt stress) من خلال بثبيط تخليق السكروز بينما ينشط تخليق سكر المانيتول (Manitol) وسكر المانيتول هوالصــورة المختزلــة للســكر المــانوز (Mannose) وهذه الظاهرة تحدث فى نباتات (Celery) الكرفس. ولذلك يمكن لبذور نباتــات الكرفس الإنبات بكفاءة تحت ظروف الملوحة المرتفعة.**
- **بعض النباتات تحت ظروف الإجهاد يتراكم بها سكر البنتول (Pinitol) وهــو مــن الســكريات الحلقية الكحولية ويتراكم فى بعض نباتات العائلة الصنوبرية والعائلة البقولية مثل Sesbania sp عندما يتم ريها بمحلول ملحى ويتم تراكم هذا السكر البنتول فى الكلوروبلاست والسيســتول بينما لا يتراكم إطلاقاً فى الفجوات العصارية.**
- **لوحظ تراكم أحد أنواع البروتينات مثل الأسموتين (Osmotin) وهو بروتين قلوى يتراكم فــى أوراق نبات الدخان المعرضة لظروف الإجهاد الملحى. كما لوحظ تراكم هذا البــروتين بدرجــة عالية عند تعرض النبات للمسببات المرضية وهذا البروتين يثبط نمو هيفات الفطر والجــراثيم أيضاً.**
- **يتم تنشيط تخليق الجين المسئول عن تخليــق الاســموتين (Transcription of sn Osmotin gene) تحت الظروف التالية:**

١ ــ وجود ABA
٢ ــ وجود Ethylene
٣ ــ وجود Auxin
٤ ــ الإصابة بالفيروس TMV
٥ ــ نقص الماء
٦ ــ الأشعة الفوق بنفسجية UV
٧ – الجروح
٨ ــ الإصابة الفطرية.

Oxidative stress

يحدث هذا النوع من الإجهاد تحت ظروف إنتاج (AOS) جذيرات الأكسـوجين النشـطة active oxygen species والتى لها المقدرة على إتلاف عمليات التحولات الغذائية والأغشية البلازمية وأيضاً إتلاف DNA وموت الخلايا.

العوامل البيئية المسببة لظروف الإجهاد بالأكسدة
Environmental factors that Oxidative stress

1- **air pollution (Ozone & Sulfur oxide).**
2- **Oxidant Forming herbicides (paraquat dichloride).**
3- **Heavy metals.**
4- **Drought.**
5- **Heat and cold stress.**
6- **Wounding.**
7- **Uv light.**
8- **Intense light that stimulate photoinhibition.**
9- **Pathogen infection**.

- **لوحظ أن Ros مثـل Hydrogene peroxide & super oxide anion مهمـين جـداً ويـتم الإحتياج إليهم لتكوين اللجنين (lignification) وهذا المركب مهم جداً لأنه وسيلة حماية ودفـاع ضد الإصابات المرضية Pathogen infection.**
- **الأوزون Ozone من أهم المركبات المسببة لعمليات الأكسدة فى خلايا الأنسـجة النباتيـة. ويـتم تخليق الأوزون عند توافر كل من الهيدروكربونات (Hydrocarbones) ، أكاسيد النيتروجين (No & No2) & أكسيد الكبريت (So) والتى تتفاعل مع أشعة UV فيتم تخليق الأوزون (O_3).**
- **يؤثر الأوزون على النباتات سلبياً فهو يعمل على**

1- **decreased photosynthetic rate**
2- **Leaf injury.**
3- **Reduced growth of shoots & roots.**

4- **Accelerated Senescence.**

5- **Reduced Crop yield.**

وتتفاوت النباتات أيضاً فى درجة حساسيتها أو تحملها للتعرض للأوزون.

- **يسبب الأوزون عمليات أكسدة ضارة للمحتويات البيوكيماوية فيتم هدم Lipids proteins والأغشية البلازمية ، كذلك يسبب إنتاج Free radicals ، Hydroxyl radicals ، Supesoxide ion ، hydrogen peroxide وذلك بتفاعل الأوزون مع الإيثيلين.**
- **الأوزون يشجع الجروح على تكوين الإيثيلين وتراكم Salicylic acid كما أن الأوزون يعمل على هدم الأغشية البلازمية كما سبق ذكره فيحدث للأغشية:**

1- **alter ion transport.**

2- **Increase membrane permeability.**

3- **Inhibits H^+ Pump activity.**

4- **Collapses membrane potential.**

5- **Increases Ca^{+2} uptake from apoplasm.**

تحمل إجهاد الأكسدة
Tolerance to Oxidative stress

زيادة تخليق مركبات ومواد مضادات الأكسدة وكذلك إنزيمات مضادات الأكسدة يشجع وتؤدى إلى زيادة تحمل إجهاد الأكسدة Oxidative stress.

والجدول التالى يعطى الأمثلة لظروف الإجهاد بالأكسدة بمسببات مختلفة والمواد المضادة للأكسدة أو إنزيمات مضادات الأكسدة التى تؤدى إلى تحمل الإجهاد بالأكسدة وذلك فى كل حالة من مسببات الإجهاد بالأكسدة:

Stress Conditions, antioxidants or enzymes

ظروف الإجهاد (مسبب الإجهاد) Stress Condition	المادة أو الإنزيم المضاد للأكسدة Antioxidant or antioxidant enzyme
Chilling – high Co_2	Anionic peroxidase
Drought – Co_2 – Ozone – high light intensity	Ascorbate peroxidase
Chilling	Catalase
Chilling – drought , heat – Co_2 - Ozone , So_2	Glutathion
Chilling – drought - Co_2 – Ozone - paryuate	Glutathion reductase

Deficiency of K , Ca , Mg , Mn , S , B-drought – heat - ozone	Polyaminase
Chilling - Co_2 - highlight – Ozone – paraquat – So_2	Super oxide dismutase SOD

التعرض للأوزون أيضاً يسبب زيادة المحتوى من H2O2 والذى ينشط أيضاً إنتاج السالسيليك (SA) وكذلك بعض المركبات الثانوية الناتجة من التحولات الغذائية مثــل Phytoalexins & Lignins & Callose & extensins.

Heat stress

النباتات التى تتعرض لدرجات حرارة مرتفعة يحدث بها تغيرات شديدة فى التحولات الغذائية وتخليق أنــواع جديدة من البروتين والذى يعرف بإسم Heat shock proteins (HSP) ويحدث هذا غالباً إذا ما تعــرض النباتات لدرجات حرارة أعلى من الحد الأمثل بحوالى ٥ ْم. كما يحدث أيضاً هدم للخلايا ــ وفساد للأغشــية البلازمية.

Salinity Stress physiology

ثالثاً: تأثير الإجهاد الملحى على النمو Effect of salinity stress on growth:

أوضح العديد من العلماء أن للإجهاد الملحى تأثير مثبط على النمو الخضرى للنباتات وهذا التثبيط قد يرجــع إلى الأسباب التالية:

١ ــ نقص إمتصاص النبات للماء يسبب زيادة تركيز الأملاح فى وسط الإمتصاص.

٢ ــ نقص فى جميع أنشطة التحولات الغذائية فى الخلايا النباتية.

٣ ــ نقص واضح فى النشاط المرستيمى للخلايا وكذلك نقص واضح فى إستطالة الخلايا.

٤ ــ زيادة واضحة فى معدل تنفس الخلايا مما يستهلك جزء وافر من الطاقة.

٥ ــ هدم الخلايا النباتية النامية وبالتالى لا تؤدى الخلايا وظيفتها المعتادة.

٦ ــ نقص إمداد الخلايا والأنسجة بإحتياجاتها الأساسية من نواتج التحولات الغذائية.

٧ ــ زيادة الأملاح فى التربة تؤدى إلى نقص واضح فى انقسام الخلايا وإستطالتها.

٨ ــ حدوث خلل واضح وعدم توازن فى المحتوى الهرمونى الداخلى فى الأنسجة النباتية.

٩ ــ النقص الواضح فى تحولات البروتين ونقص تخليق الأحماض النووية فى الأنسجة النباتية.

١٠ ــ الإجهاد الملحى يؤدى إلى نقص النمو من خلال التأثير المثبط على أنشطة التحولات الغذائية، عدم التوازن الأسموزى ، النقص الواضح فى امتصاص العناصر المغذيــة ، نقــص تخليــق البروتين ، نقص واضح فى عملية البناء الضوئى.

١١ ــ حدوث سمية Toxicity بسبب تراكم بعض الأيونات فى خلايا أنسجة النبات مثل أيونات Cl- & Na.

١٢ ــ حدوث نقص واضح وحاد فى المحتوى وكذلك إمتصاص عناصــر K (البوتاســيوم) ، P (الفوسفور).

١٣ ــ نقص واضح فى إمتصاص عناصر المغذيات الصغرى.

١٤ ــ حدوث شيخوخة مبكرة للأوراق النباتية وإصفرارها وظهور بقع ميته علــى الأوراق. وذلــك نتيجة لتراكم العناصر السامة فى خلايا أنسجة الورقة.

١٥ ــ نقص واضح فى المساحة الورقية وبالتالى حدوث نقص فى كفاءة عملية البنــاء الضــوئى وكذلك نقص واضح فى المحتوى الهرمونى.

١٦ ــ حدوث نقص واضح فى تركيز المحتوى من الهرمونات النباتية المنشطة مع حدوث زيادة فى المحتوى من المثبطات النباتية مثل ABA مما يؤدى إلى حدوث نقص واضح فــى عمليــات النمو فى النبات.

١٧ ــ حدوث زيادة واضحة فى إنتــاج الجــذيرات الحــرة Free – radicals مثــل Ros (ذرات الأكسوجين النشطة) أو O^-H مجاميع الهيدروكسيل النشطة أو NO_2 (أكسيد النيتــروجين) ، SO (أكسيد الكبريت) CO^-O (مجاميع الكربوكسيل النشطة) وهذه الجذيرات الحــرة لهــا تأثير مدمر على الأغشية الخلوية وعملية البناء الضوئى والمحتوى مــن DNA (الحمــض النووى).

١٨ ــ الجذيرات الحرة الناتجة عن تأثير الإجهاد الملحى تتداخل أيضاً بدرجة كبيرة فى عمل البروتينات ــ السكريات ــ الليبيدات ــ الأحماض النووية. مما يؤدى إلى أضطراب فى عمل الخلايا وتحولاتها الغذائية مما ينعكس على النمو.

- **لوحظ زيادة المحتوى من ROS (الجذيرات الحرة) نتيجة تواجد النبات فى وسط ترتفع به نسبة الأملاح المذابة (إجهاد ملحى) وهذه الجذيرات الحرة لها تأثير مدمر على المحتوى من الأحماض النووية DNA والبروتينات والسكريات.**
- **كما لوحظ زيادة المحتوى من Lipid hydro peroxide & H_2O_2 وهذه المركبات تسبب أكسدة وتدمير الأغشية البلازمية.**
- **لوحظ أيضاً نشاط واضح فى المحتوى من بعض مواد مضادات الأكسدة وخاصة مضادات الأكسدة الإنزيمية فى خلايا أنسجة الجذور.**
- **لوحظ زيادة فى المحتوى من أنزيمات مضادات الأكسدة أيضاً مثل البيروكسيدر (APX) الجلوتاثيون ردكتيز (GR) ، سوبر أكسيد دسميوتيز (SOD) ، كتاليز.**
- **لوحظ زيادة فى المحتوى من مضادات الأكسدة الغير أنزيمية مثل**

1- Lipid – soluble membrane (a- Tocopherol & B- Carotene).

مضادات أكسدة تذوب فى الليبيدات.

2- Water – soluble (glutathione & ascorbate)

مضادات أكسدة تذوب فى الماء.

ــ تأثير الإجهاد على صبغات البناء الضوئى

- إحتواء بلاستيدات الميزوفيل فى الطماطم على حبيبات نشا كبيرة تتمركز فى وسط البلاستيدة.

- إحتواء البلاستيدات على قطرات الليبيدات.

- لوحظ أن حبيبات النشا الكبيرة الموجودة بالبلاستيدات تكون محاطة بغشاء رقيق.

- فى حالة عدم وجود حبيبات النشا فإن الجرانا تكون عديدة وصغيرة.

- لوحظ إنتفاخ البلاستيدات وتآكل الجرانا.

- لوحظ وجود العديد من الريبوسومات فى البلاستيدات.

- لوحظ إنكماش وتقلص حجم البلاستيدات الخضراء.

- لوحظ أن البلاستيدات فى بعض الحالات تصبح بدون جرانا تقريباً granalless.

- نقص كفاءة تفاعل Hill.

- نقص كفاءة الفسفرة الضوئية وخاصة عند المعاملة بملح Na_2So_4.

- أكسدة الكاروتين والذى بدورة يحمى الكلورفيل من الأكسدة فعند أكسدته يهدم الكلوروفيل بسرعة.

- كما لوحظ نقص كفاءة عملية البناء الضوئى ولكن بطريقة مختلفة تتوقف على نوع النبات فمثلاً:

(١) فى البصل: نقص كفاءة البناء الضوئى كان من خلال غلق الثغور لعدم حدوث توازن مائى.

(٢) البقوليات: ترجع إلى نقص كمية CO_2 المتحصل عليها نتيجة لنقص إنفتاح الثغور.

(٣) القطن: يرجع النقص فى كفاءة البناء الضوئى نتيجة للتأثير على

أ – تفاعل Hill ، ب ــ عملية تثبيت CO_2 من خلال دورة تفاعل الظلام.

- **لوحظ نقص واضح فى المحتوى من صبغات البناء الضوئى تحت ظروف الإجهاد الملحى وذلك لأن إنزيمات هدم الكلوروفيلات تنشط تحت ظروف الإجهاد.**
- **لوحظ أيضاً حدوث تحور وتشوه فى حجم وشكل البلاستيدات الخضراء تحت ظروف الإجهاد الملحى وكذلك هدم ما بها من معقد البروتين ــ الكلوروفيل.**
- **لوحظ تثبيط نشاط الإنزيمات التى تساعد على تخليق الكلوروفيلات.**
- **زيادة المحتوى من أيونات Cl & Na فى الكلوروبلاست يؤثر على تخليق ونشاط الإنزيمات المرتبطة بالحديد وكذلك إنزيمات Cytochrome Oaidase.**

- **الإجهاد الملحى يؤدى إلى نقص المحتوى من صبغات البناء الضوئى نتيجة لنقص تخليق السيتوكرومات فى جذور النبات ونقص إنتقالة إلى المجموع الخضرى للنبات وفى المقابل يحدث زيادة واضحة فى تخليق هرمونات مثبطة لتحليق الكلوروفيلات مثل هرمون ABA (حمض الإيثيسيك) وهذا الهرمون يؤدى إلى تنشيط هدم الكلوروفيلات مما يؤدى إلى دخول الأوراق فى طور الشيخوخة.**
- **يحدث تنشيط للتنفس الضوئى تحت ظروف الإجهاد الملحى مما يؤدى سرعة عمليات الهدم لصبغات البناء الضوئى فى الكلوروفيلات وخاصة تحت ظروف نقص المحتوى المائى بفعل الإجهاد.**
- **لوحظ النقص الواضح فى المحتوى من الكارويتن تحت ظروف الإجهاد الملحى ومن المعروف أن للكاروتين دور فى منتهى الأهمية فى حماية الكلوروفيل من الهدم تحت ظروف الأكسدة الضوئية عن طريق التنفس الضوئى أو بفعل الجذيرات الحرة Free radicals مما ينتج عنه فى النهاية نقص المحتوى من الكلوروفيلات بصورة كبيرة.**

تأثير الإجهاد الملحى على المحتوى من البرولين فى الأنسجة النباتية
Effect of salinity stress on proline accumulation plant tissues

من أهم المحتويات البيوكيماوية تأثراً فى النبات تحت ظروف الإجهاد الملحى أو المائى هو المحتوى من الحمض الأمينى "برولين" والذى له علاقة وثيقة الصلة فى ميكانيكية مقاومة النبات لظروف الإجهاد.

من الوظائف الحيوية الهامة والتى يؤديها تراكم الحمض الأمينى برولين تحت ظروف الإجهاد عدة وظائف من أهمها.

وظيفة البرولين في الخلايا المعرضة للإجهاد الملحي:

- **ضبط الضغط الأسموزى.**
- **مخزن للكربون والنيتروجين اللازمين للنمو تحت الإجهاد.**
- **مضاد للتسمم بالأمونيا.**

- **ثبات البروتين والأغشية.**
- **تكنس الجزيرات الحرة.**
- **تحسن ثبات بعض أنزيمات الميتوكوندريا وأنزيمات السيتوبلازم.**
- **حماية الأنزيمات والأغشية ضد الملوحة.**
- **زيادة إنحلال البروتين.**

وتراكم البرولين يكون بسبب الإضطراب في هدم الأحماض الأمينية المتعلق بتكسير البروتين والشيخوخة الناتجة من الملوحة.

تراكم الجلوتامات والأمونيا في النباتات المعرضة للإجها الملحى يؤدي إلى إستحثاث تكوين البرولين بالتأثير المباشر أو الغير مباشر من نسبة المواد البنائية /المواد الناتجة.

سبب آخر لتراكم البرولين في النبات هو نقص نشاط كل من Proline Dehydrogenase& Proline Oxidase .

بعض العلماء أشارو إلى أهمية الكربوهيدرات الذابة في إستحثاث تراكم البرولين عن طريق تثبيط أنزيمات هدم البرولين مما يؤدي إلى زيادة بناء وتراكم البرولين.

١ ــ ضبط الوسط الأسموزى لخلايا الأنسجة النباتية.

٢ ــ إزلة الآثار السامة لتراكم الأمونيا فى الخلايا.

٣ ــ الحفاظ على ثبات وحيوية البروتين والأغشية السيتوبلازمنه وعدم تأثرها بظروف الإجهاد المدمرة.

٤ ــ يعتبر من أهم مواد مضادات الأكسدة حيث يعمل على حصدوكنس الجذيرات الحرة Free radicals من الأنسجة النباتية.

٥ ــ حماية وتنشيط وثبات إنزيمات الميتوكوندريا تحت ظروف الإجهاد.

٦ ــ يلعب البرولين دور هام جداً فى حماية الأنسجة النباتية تحت ظروف الإجهاد الملحى حيث يساهم فى ربط وتقييد العناصر السامة الممتصة تحت هذه الظروف.

٧ ــ يسهم البرولين فى ضبط PH السيتوبلازم.

من المهم أن تعرف أن محتوى البرولين يزداد ويرتفع تحت ظروف الإجهاد وذلك لحماية النبات من هذه الظروف ويرجع زيادة المحتوى من البرولين وزيادة تراكمه إلى نقص أكسدته من ناحية أو من زيادة هدم البروتين وتحوله إلى أحماض أمينيه منها البرولين.

- **لوحظت علاقة وثيقة بين زيادة تراكم البرولين وزيادة المحتوى من السكريات الذائبة والتى تساعد على ضبط إسموزية الخلايا والأنسجة.**
- **من المعروف تراكم الجذيرات الحرة Free radicals يتم التحكم فيه بواسطة المواد الكانسة Free radicals Scavengers مثل Catalase & Peroxidase & Super oxide & dismutase Sugars & Proline.**
- **البرولين من المواد الكانسة Scavengers الفعالة فى أصطياد ($O^{-}H$) ويقوم بحماية الأغشية البلازمية من الأكسدة enhance membrane lipid peroxidation**

تأثير الإجهاد الملحى على تراكم الأيونات
Effect of salinity stress on ion contents

لوحظ فى النباتات النامية تحت ظروف الملوحة المرتفعة حدوث تراكم بعض الأيونات فى أنسجة جذورها مثل الصوديوم والكلوريد ويتراكم وجود الصوديوم غالباً فى الفجوات العصارية Vacuoles وذلك لزيادة الضغط الإسموزى للعصير الخلوى لمقاومة الضغط الإسموزى المرتفع لمحلول التربة النامى فيها النبات.

الصوديوم والكلوريد

وتراكم عنصر الصوديوم فى الفجوات العصارية يسبب سمية كبيرة للخلايا كما أنه يتداخل مع مثل بعض الإنزيمات ويعوق عملها. كما أنه يتعارض مع البوتاسيوم فى العديد من التفاعلات ويؤثر عنصر الصوديوم

كذلك تأثيراً كبيراً على حيوية الأغشية البلازمية وكذلك الخيوط السيتوبلازمية Plamalemma حيث تفقد الأغشية البلازمية حيويتها وكذلك خاصية النفاذية الإختيارية التى تتمتع بها هذه الأغشية.

أما الكلوريد فإن تراكمة يسبب سمية أكثر من الصوديوم ويسبب نقص شديد فى كفاءة عملية البناء الضوئى. كما يؤدى أيضاً إلى نقص إمتصاص النبات للعديد من العناصر المغذية.

عنصر البوتاسيوم

أما عنصر البوتاسيوم فقد لوحظ حدوث نقص شديد لمحتواه فى أنسجة النباتات النامية تحت ظروف الملوحة المرتفعة حيث يقوم عنصر الصوديوم بالإحلال محل عنصر البوتاسيوم مما يؤثر على نفاذية الأغشية البلازمية. ويرجع السبب لنقص محتوى عنصر البوتاسيوم فى الأنسجة النباتية إما لهروبه وخروجه من الجذر إلى الوسط المحيط بالجذر من التربة الزراعية أو إلى نقص إمتصاصة بسبب تداخل عنصر الصوديوم فى إمتصاص البوتاسيوم وذلك لحدوث ظاهرة التضاد بين عنصرى الصوديوم والبوتاسيوم.

أيضاً لوحظ نقص واضح فى المحتوى من عناصر الفوسفور ــ الحديد ــ الزنك ــ النتروجين وذلك إما لهروب هذه العناصر من الجذر إلى خارج النبات أو لعدم إستطالة جذر النبات إمتصاص هذه العناصر بسبب الإسموزية المرتفعة جداً لمحلول التربة الخارجى المحيط بالجذر وكذلك للنقص الواضح فى إمتصاص الماء نظراً لظروف الإجهاد المرتفعة النامى فيها النبات.

عنصر الفوسفور

لوحظ نقص واضح فى محتوى النبات من عنصر الفوسفور تحت ظروف الإجهاد الملحى وذلك لأن عنصر الفوسفور غير متاح إمتصاصة تحت ظروف PH مرتفعة بسبب الوسط الملحى النامى فيه النبات (وسط قلوى شديد) كما لوحظ تناقص شديد فى إنتقال الفوسفور من الجذر إلى الساق بسبب إرتفاع الضغط الإسموزى لخلايا الجذر. كما أن النقص فى محتوى عنصر الفوسفور قد يرجع أيضاً إلى نقص إمتصاص النبات للماء بسبب الإسموزية المرتفعة لمحلول التربة.

النيتروجين

لوحظ نقص واضح فى المحتوى من النيتروجين للأعضاء النباتية المختلفة. كما لوحظ أيضاً تداخل الكلوريد بشدة وخاصة مع النيترات. كما يرجع نقص المحتوى من النيتروجين لنقص إمتصاصة بسبب نقص إمتصاص الماء المتاح تحت ظروف الإجهاد الملحى. كما يرجع السبب لنقص المحتوى أيضاً بسبب تأثير الكلوريد على النفاذية الاختيارية لأغشية خلايا الجذر.

الكالسيوم

يحدث تناقص فى المحتوى من الكالسيوم وذلك بزيادة تركيز الأملاح فى البيئة النامى فيها النبات. حيث لوحظ حدوث تضاد عنصرى الصوديوم والكالسيوم مما يسبب تثبيط فى إمتصاص عنصر الكالسيوم نظراً لوجود عنصر الصوديوم بوفرة.

تأثير الإجهاد الملحى على المحتوى من السكريات
Effect of salinity stress on Sugars Contents

أدت الملوحة الزائدة إلى نقص محتوى النبات من السكريات المختزلة بينما أدت إلى زيادة المحتوى من السكريات الغير مختزلة والذائبة. وذلك يرجع إلى تثبيط نشاط الإنزيمات المحللة hydrolytic enzymes. ويؤدى تراكم السكريات الذائبة والغير مختزلة إلى زيادة الضغط الإسموزى للعصير الخلوى للخلايا والأنسجة مما يؤدى إلى معادلة الضغط الإسموزى مع الضغط الإسموزى الخارجى الناتج عن الإجهاد الملحى.

محتوى الهرمونات الداخلية (ABA):

- الإجهاد سواء إجهاد مائي أو ملحي أو درجة حرارة منخفضة يعمل على تكوين الأبسيسك.

- الأبسيسك يتحكم في نمو النبات وتطورة وكذلك يتحكم في كثير من العمليات الفسيولوجية مثل غلق الثغور وتشكيل الجنين وتكوين البذور وتكوين مخزون البروتين والدهون والإنبات والشيخوخة والدفاع عن الخلية ضد الميكروبات والطفيليات.

- كما يلعب الأبسيسك دورا هاما في تكيف النبات لظروف البيئة.

- أثناء النمو الخضرى وتكوين الجذور يتكون الأبسيسك وتنقله إلى المجموع الخضري تحت ظروف الإجهاد.

- وفي النباتات البرية محتوى الأبسيسك يزيد في حالة الإجهاد المائي ولكن عند إزالة الإجهاد المائي ينقع تكوين الأبسيسك ويعود إلى مستواه قبل الإجهاد.

- زيادة الأبسيسك يقلل نقص الماء عن طريق نقص فتحه للثغور وينظم الأبسيسك عملية التكيف مع ظروف البيئة عن طريق خطوتين هما:

أولا: يعمل الأبسيسك عن طريق التأثير على إنتقال الإشارات في الخلية .

ثانيا: أو ينظم عن طريق جينات أو نواتج الجينات والتي تؤثر على عملية التكيف.

تأثير الإجهاد الملحى على المحتوى من مضادات الأكسدة
Effect of salinity stress on the contene of antioxidants

لوحظ زيادة المحتوى من مضادات الأكسدة الأنزيمية والغير إنزيمية بسبب الإجهاد الملحى ومثال ذلك زيادة أنشطة إنزيمات مضادات الأكسدة مثل Peroxdase , Catalase , Superoxid dismutase glutathione reductase , dehydro ascorbate reductase

كما لوحظ زيادة المحتوى من مضادات الأكسدة الغير إنزيمية مثل

Total phenols , a- Tocopherol , Citric acid , ascorbic acid , polypiptides , putruscin, glutathione.

ومضادات الأكسدة هذه تعمل كمواد كانسة Scavengers للجذيرات الحرة Free radicals الناجمة عن الإجهاد الملحى والذى يؤثر على التحولات الغذائية المضطربة والتى ينتج عنها ROS.

-نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية:

البيروكسيديز في النبات تدخل في تكوين الجدار الخلوي وبالأخص تكوين اللجنين والسيوبرين.

زيادة نشاط البيروكسيديز يقلل نمو النبات؛ وذلك بسبب أن البيروكسيديز يحفز تحول

ferulic acid ⟵ diferulic acid

كما يقوم بتقليل ذوبان الجليكوبروتين الغني بالهيدروكسي برولين كما يؤدي إلى تيبس في جدار الخلية.

ولاصلاح الضرر الناتج من AOS :

يكون النبات نظام مضاد للأكسدة معقد وأول مركبات هذا النظام هي الكاروتينويد والأسكوربات والجلوتاثيون والتوكوفيرول والأنزيمات مثل السوبر أكسيد ديسميوتيز والكاتاليز والجلوتاثيون بيروكسيديز والأسكوربيك بيروكسيديز والأنزيمات الداخلة في دورة الأسكوربات جلوتاثيون مثل: الأسكوربيك بيروكسيديز وMono dehydro Ascorbate reductase و dehydro Ascorbate reductase وGlutathion Reductase .

ومعظم هذه المكونات لجهاز الدفاع المضاد للأكسدة توجد في مناطق تختلف في النبات وقد لاحظ أحد العلماء زيادة الأسكربيك بيروكسيديز في الكلوروبلاست المفصول من النباتات المتحملة للإجهاد الملحي (Nacl) ونفس النتيجة وجدت في نباتات الفجل بالنسبة للأسكوربيك بيروكسيديزالموجود في السيتوسول.

كما لوحظ في أنواع القمح المتحملة للصوديوم كلوريد زيادة نشاط APX و SOD وDHAR .

وقال أحد العلماء أن النبات يمتلك أنظمة مضادة للأكسدة في شكل أنزيمات مثل:SODو APXو GRو DHAR و CATبالإضافة لحمض الأسكوربيك والجلوتاثيون وألفا توكوفيرول والكاروتينويد والفلافونيدات وغيرهم.

وهذه مضادات أكسدة تزيد في حالة الإجهاد ويزداد نشاطها في النباتات المتحملة للإجهاد الملحي أكثر من المعرضة له.

زيادة نشاط مضادات الأكسدة يقلل إجهاد الأكسدة ويزيد الضغط الأسموزي وزيادة إختيارية إمتصاص الأيونات المفيدة ويمنع التراكم الزائد للأيونات السامة وبذلك يساعد في تحمل الإجهاد الملحي.

وقد وجد أن المقاومة الكبيرة للملوحة بالنسبة للقمح مرتبط بقدرته العالية على زيادة نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية مثل SOD&GR&CAT مما يقلل إنتاج H_2O_2 & Lipid Peroxidation وزيادة ثبات الغشاء.

التأثير المفيد لتراكم المواد الأسموزية مثل السكريات الذائبة و البرولين والبوتاسيوم يؤدي إلى زيادة RWS وثبات الأنزيمات الضرورية مثل SOD و GR وCAT مما يؤدي إلى نشاطها الكبيرتحت الإجهاد الملحي.

المحتوى الكلى للفينولات:

الفينولات هي نواتج هدم ثانوية مثل الفلافونويد والتانينات واللجنين والهيدروسنامات إستروهي كثيفى في أنسجة النبات.

-Polyphenols تمتلك تركيبة كيميائية مثالية للتخلص من الجزذيرات الحرة وهي أكثر فاعلية في التجارب المعملية أكثر من التوكوفيرول والأسكوربات .

-Flavonoids لها القدرة على تغيير عملية الـ Peroxidation عن طريق تغيير نظام تعبئة الدهون وتقلق السوائل في الأغشية وهذا التغير يمنع تشرب الجذيرات الحرة ويمنع عملية الـPeroxidation (عملية تكوين H_2O_2) ولذلك فهي تحمى النباتات أيضا من فوق أكسيد الهيدروجين.

-الفينولات تؤخر أو تمنع الأكسدة الخارجية للدهون عن طريق وظيفتها في أسر الجذيرات الحرة وكذلك فهي مضادات أكسدة.

تزداد الفينولات الكلية مع زيادة مستوى الملوحة في التربة والتي تعمل على مقاومة هذه الملوحة.

المركبات الفينولية تعتبر وسيلة تكيف خلوية لأسر جذيرات الأكسجين الحرة أثنـــاء الإجهـــاد وهـــذه المركبات مع الأسكوربات تتأكسد في داخل الخلية مما يؤدي إلى ضرر بالخلية أيضا.

الإجهاد الملحي يؤدي إلى زيادة تكوين اللجنين

- نشاط مضادات الأكسدة الغير أنزيمية:

١ - الأسكوربيك:

تنقسم مضادات الأكسدة الغير أنزيمية إلى طائفتين:

١ - الأسكوربيك.

٢ - الصبغات مثل الكاروتينويد.

الأسكوربيك هو أهم مضادات الأكسدة لأنه لا يتفاعل فقط مع H_2O_2 ولكن أيضا مـــع O& OH& Lipid hydroperoxidase.

يدخل الأسكوربيك في العديد من الأنشطة الحيوية في النبات مثل :

١) أنزيم مساعد لأنزيم آخر.

٢) مضاد أكسدة.

٣) معطي أو مستقبل في نقل الألكترونات في غشاء البلازما أو في الكلوروبلاست.

وجميعهم يساعد النبات في مقاومة الأكسدة.

يستعمل الأسكوربيك بيروكسيديز حمض الأسكوربيك ويؤكسد إلـــى Mono dehydro Ascorbate والذي يتحول إلى Dehydro ascorate ويتعرض كــل مــن MDA&DHA للإختــزال وذلــك لإعادتها مستودع الأسكوربات.

وهذا النوع من مضادات الأكسدة يحدث بجوار PSI ولذا يقلل هروب الــ ROS أو تفــاعلهم مــع بعضهم البعض.

الأسكوربيك هو أكبر نواتج الهدم في الكلوروبلاست في النباتات المتقدمة ويقــدر بـــ ١٠% مــن الكربوهيدرات الذائبة في الأوراق.

٢ -المحتوى الكلى للفينولات:

الفينولات هي نواتج هدم ثانوية مثل الفلافونويد والتانينات واللجنين والهيدروســنامات إســتروهي كثيفى في أنسجة النبات.

-Polyphenols تمتلك تركيبة كيميائية مثالية للتخلص من الجزذيرات الحرة وهي أكثر فاعلية فــي التجارب المعملية أكثر من التوكوفيرول والأسكوربات .

-Flavonoids لها القدرة على تغيير عملية الــ Peroxidation عن طريق تغييــر نظــام تعبئــة الدهون وتقلق السوائل في الأغشية وهذا التغير يمنع تشــرب الجــذيرات الحــرة ويمنــع عمليــة الــPeroxidation (عملية تكوين H_2O_2) ولذلك فهي تحمى النباتات أيضــا مــن فــوق أكســيد الهيدروجين.

-الفينولات تؤخر أو تمنع الأكسدة الخارجية للدهون عن طريق وظيفتها في أسر الجــذيرات الحــرة وكذلك فهي مضادات أكسدة.

تزداد الفينولات الكلية مع زيادة مستوى الملوحة في التربة والتي تعمل على مقاومة هذه الملوحة.

المركبات الفينولية تعتبر وسيلة تكيف خلوية لأسر جذيرات الأكسجين الحرة أثنـــاء الإجهـــاد وهـــذه المركبات مع الأسكوربات تتأكسد في داخل الخلية مما يؤدي إلى ضرر بالخلية أيضا.

الإجهاد الملحي يؤدي إلى زيادة تكوين اللجنين.

-محتوى الجلوتاثيون المختزل:

الأهمية الفسيولوجية للجلوتاثيون في النبات تنقسيم إلى مجموعتين :

١ - هدم الكبريت والدفاع في النبات والحيوانات & والجلوتاثيون مضـــاد للأكســـدة و Redox Buffer.

٢ - تأثيره في التعبير عن جينات الدفاع حيث يدخل الجلوتاثيون في التحكم في تفاعلات الأكســـدة والإختزال في إنقسام الخلية.

والأنزيمات التي تنظم عملية إعادة الجلوتاثيون والأسكوربات هي:

1) **Ascorbic Peroxidase.**
2) **Glutathion reductase.**
3) **Super oxide dismutase.**
4) **Monodehydroascorbate reductase.**

وتدخل هذه الأنزيمات في إعادة تكوين مضادات الأكسدة في خلايا النبات.

ودائرة الهدم هذه موجودة في كل من الكلوروبلاست والسيتوسول والتي تؤكسد بنجاح وتعيد إختـــزل مضادات الأكسدة باستخدام NADH&NADPH كمعطيات للألكترونات ويعمل الأسكوربيك كعامـــل مختزل في إعادم بناء ألفا توكوفيرول وفي دورة Zeaxanthin.

الدور الثالث للأسكوربيك على سطح Thylakoidفي الكلوروبلاست والذي يعمل كعامل مختزل.

يختزل الأسكوربيك إلى Mono Dehydroascorbate radical كنتيجة لعملية Thylakoid.

ويعاد بناء الأسكوربيك بواسطة عملية تعتمد على الضوء فيThylakoid والتي تستخدم Ferredoxin كمصدر للعامل المختزل.

وفي حالة الأكسدة الكاملة لـDHA فإن GSH هو العامل المختزل في عملية إعادة بناء الأسكوربيك والجلوتاثيون المتأكسد والمتكون يعاد إختزاله عن طريق GR حيث يلعب APX دور هام في هذه العملية.

العملية التي تحدث في الكلوبلاست والمتعقلة بامتصاص أو سحب الأكسجين ووظيفة APX وإختزال الأكسجين الجزيئي تسمى حديثا باسم Mehler Ascorbate Peroxidase Photorespiration.

يعمل GSH كمضاد للأكسدة بطرق عديدة هي :

١ - يتفاعل ميائيا مع الأكسجين الذري والسوبر أكسيد والهيدروكسيل وبذلك يعمل بطريقة مباشرة على أسر الجذيرات الحرة .

٢ - يعمل على زيادة ثبات تركيبة غشاء النبات بواسطة إزالة Acyle peroxide المتكون بواسطة تفاعل Lipid Peroxidation.

٣ - عامل مختزل والذي يعيد دورة الأسكوربيك من الشكل المتأكسد إلى الشكل المختزل بواسطة أنزيم dehydroascorbate reductase.

٤ - GSH يختزل dehydroascorbate بواسطة عملية غير أنزيمية عند pH›7 وتركيز GSHأكبر من ١µm وهذا يحدث في الكلوروفيل الذي يصل pHالخاصة به إلى ٨ وتركيز GSH إلىµm ٥.

دور بعض مواد النمو ومضادات الأكسدة فى التغلب على الأثر الضار للإجهاد الملحى
Effect of some growth substances and antioxidants on counteracting the Harmfull effect of salinity stress

أولاً: دور مواد النمو

لوحظ أن لمواد النمو مثل الأوكسينات والجبريليين والكينين أثر فعال فى التغلب على الأثر الضار للإجهاد الملحى. وذلك من خلال إحداث تراكم لنواتج التحولات الغذائية مثل البرولين ــ الأمينات ــ السكريات ــ الأيونات ــ البولى أمينات وهذا يؤدى إلى زيادة الضغط الإسموزى للعصير الخلوى لمقاومة الإجهاد الملحى الخارجى علاوة على أن هذه المواد أيضاً تعمل كمضادات أكسدة.

علاوة على ذلك فإن مواد النمو (الهرمونات النباتية) أيضاً تؤدى إلى تنشيط عمليات فسيولوجية معينة يكون من نتيجتها التغلب على الأثر الضار للإجهاد الملحى على المحتوى البيوكيماوي والنمو للنبات وذلك من خلال:

- **تعمل الهرمونات على زيادة وتنشيط نمو الجذر وفى نفس الوقت تقليل مقاومة الجذر لإنسياب الماء إلى الداخل (زيادة إمتصاص الماء)**
- **تعمل الهرمونات على التغلب على الخلل والتغيرات التى حدثت فى المحتوى من العناصر ــ صبغات البناء الضوئى ــ المحتوى الداخلى من الهرمونات النباتية.**
- **تعمل الهرمونات على زيادة إمتصاص الماء من خلال الجذور وبالتالى زيادة إمتصاص العناصر المغذية.**
- **تؤدى الهرمونات إلى زيادة المحتوى من البوتاسيوم (K) عن طريق زيادة إمتصاصة ــ كما تؤدى إلى زيادة تراكم السكريات فى أنسجه النباتات.**
- **المعاملة بالهرمونات النباتية النشطة تؤدى إلى زيادة نسبة المنشطات إلى المثبطات من المحتوى الداخلى للهرمونات النباتية مما ينشط النمو وبالتالى التغلب على الأثر الضار للإجهاد الملحى.**

- **تؤدى الهرمونات إلى زياده المحتوى من الكربوهيدرات ــ البرولين ــ الأحماض العضوية ــ ومن المعروف أن هذه المواد معروف عنها أنها منظمات أسموزيه Osmoregulators وكذلك كمضادات أكسدة للجذيرات الحرة Free radicals الناتجة عن الإجهاد الملحى.**
- **تؤدى الهرمونات للتغلب على الأثر الضار للملوحة من خلال تنشيط تخليق الكلورفيلات وتثبيط هدم صبغات البناء الضوئى.**
- **تؤدى الهرمونات أيضاً إلى زيادة المحتوى من الكاروتين – الجلوتاثيون - التوكوفيرول وبعض الإنزيمات مثل Catalase & GR & APX & SOD وكلها مضادات أكسدة وتحمى الخلايا من ROS الناتج من الإجهاد الملحى.**

ثانيا: دور مضادات الأكسدة

Role of antioxidant materials on mitigate the harmfull effect of salinity stress.

تتواجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية فى خلايا أنسجه النبات وهذه المواد تنشط عند تعرض النبات لظروف الإجهاد Stress المختلفة وتعمل هذه المواد على كنس وأصطياد الجذيرات الحرة أو الشوارد الحرة Free radicals وحماية الخلية ومكوناتها من الأضرار الناتجة عن أكسدة الشوارد الحرة لأى من الأغشية البلازمية DNA.

ومضادات الأكسدة منها ما هو إنزيمى وما هو غير إنزيمى ومنها:

Superoxide dismutase (SOD)
- Catalase (CAT)
- Ascorbate peroxidose (APX)
- Glutathion reductase (GR)
- monodehydro ascorbate reductase (MDAR)
- Flavonoids.
- Carotenoids.
- Ascorbic
- Citric
- a- Tocopherol
- Poly and dipiptides
- Salicylic.

دور حمض السالسيلك في تقليل تأثير الإجهاد الملحي:

١. يقلل السالسيلك نسبة الصوديوم إلى البوتاسيوم في الجذور ويزيد تراكم الصوديوم في خلايا الأوراق يعمل كـ Osmolyte غير عضوي ويؤدي إلى زيادة جهد الماء ومحتوى الماء.

٢. ولذا فإن السالسيلك يحسن الأداء الضوئي للنبات تحت ظروف الإجهاد وطيف الكلوروفيل يعطي إشارة عن قدرة النبات على تحمل الإجهاد.

٣. وهذا يدل على أن المعاملة بحمض السالسيلك يحسن معدل التحول الغذائي للكربون تحت الضغط الأسموزي.

٤. في وجود حمض السالسيلك يتراكم مواد مختلفة مثل السكريات والكحولات والبرولين ويقوم POD&APX&GR & SOD بتغيرات مختلفة عند ١٠ µm&٧-١٠ µm ٤-١٠ من السالسيلك.

٥. المعاملة بالسالسيلك يزود مستوى GSH ويزود نسبة GSH إلى GSSG وذلك يشير إلى قوى مضادة للأكسدة.

٦. الأوراق المعاملة بتركيزات عالية من السالسيلك (٥ µm) يراكم الكلوروفيل وأشباه الكاروتينات والأوراق المعاملة بالسالسيلك يبدو نشاط عالى للسوبر أكسيد ديسميوتيز.

٧. المعاملة بالساليسلك يلاشي التغير في مستوى الهرمونات الضوئية في بذور القمح تحت الإجهاد الملحي وهذا يمنع أي إنخفاض في IAA&Cytokinine ويقلل التأثير المثبط للإجهاد على نمو النبات.

٨. زيادة مستوى APA في بذور القمح المعاملة بالساليسيلك.

دور الأسكوربيك والجلوتاثيون والسيتريك والتوكوفيرول في تقليل الإجهاد الملحي:

كل هذه المواد تقلل التأثير الضار لـــ ROS عن طريق عدة أسباب:

١) يمنع Lipid Peroxidation.

٢) يدخل في إنتقال الإلكترونات في النظـــام الضـــوئي الثـــاني ونظـــام مضـــاد الأكســـدة فـــي الكلوروبلاست .

٣) يزيد ثبات الغشاء ومضادات الأكسدة تعمل على أسر Oxygen Free Radical

٤) &Lipid Peroxy radical &Singlet Oxygen .

٥) يتفاعل مع Peroxyl radicalالمتكون في الغشاء المزدوج.

٦) يأسر فوق أكسيد الهيدروجين ويتفاعل غير أنزيميـــا مـــع ROS الأخـــرى مثـــل Single Oxygen و Super oxide radicalو Hydroxyl radical.

٧) إعادة تكوين مضادات الأكسدة الذائبة في الماء وحمـــض الأســـكوربيك عـــن طريـــق دورة الأسكوربات جلوتاثيون.

٨) يقوم بتثبيت تركيب الغشاء.

٩) يقلل نفاذية Digalactosyl glycerol vesicleللجلوكوز والبروتين.

دور Polyamine في تقليل الإجهاد الملحي:

١. يشمل الأسبرمين والاسبيرميدين والذي يعمل على تكيف النبات مع الإجهاد.

٢. تلعب دورا كبيرا في النظام المضاد للأكسدة وحماية الغشاء من الـــ Peroxidation.

تأثير البولي أمين في تقليل تأثير الملوحة على النمو نتيجة عدة عوامل هي:

١. تنشيط جهاز المناعة المضاد للأكسدة.

٢. يقلل مستوى السوبر أكسيد وفوق أكسيد الهيدروجين في الأوراق.

٣. يقلل فوق أكسيد الهيدروجين وبالتالي يقلل تدمير الخلايا.

٤. يختزل ال ROS عن طريق إخماد الأكسيجين الذري ويثير الكلوروفيل عن طريق زيادة مستوى الكاروتين وبذلك يحافظ على غشاء الكلوروبلاست.

٥. يقلل تسريب الغلاف ويقلل محتوي MDA ويقلل Lipid peroxidation في أوراق النبات.

٦. نتيجة طبيعته (poly cationic) وبذلك يمنع تدمير الخلايا.

٧. يزيد نشاط APX&GR&CAR&GSHفي كل مستويات الملوحة.

٨. يستحث تكوين الكلوروفيل ويمنع تكوين الكلوروفيل.

٩. يزيد كل التركيزات العضوية والتي تعزي تدخل PAsفي العمليات الحيوية مثل الإتزان الأيوني وتكوين DNA&RNA والبروتين.

التغيرات الفسيولوجية الناتجة عن الإجهاد الناشئ عن التعطيش

Drought stress

١ ــ إرتفاع معدل النتح يؤدى إلى الذبول وخروج الماء من الخلايا الحارسة يؤدى إلى غلق الثغور.

٢ ــ يحدث الذبول الناتج عن نقص المحتوى المائى على عدة مراحل:

- **درجه ما قبل الذبول: حيث تفقد الخلايا الماء بدرجة جزئية ولا يحدث بسبب ذلك ذبول وتحدث هذه الحالة أثناء الظهيرة.**

- **الذبول المؤقت: وهى حالة مؤقتة أيضاً وفيها يحدث معدل النتح بدرجة أكبر من معدل الامتصاص فى الجو الحار وتتلاشى هذه الحالة أثناء الغروب والليل حيث تغلق الثغور تماماً وينخفض معدل النتح بدرجة ملحوظة.**
- **الذبول الدائم: وهى مرحلة متقدمة لا يشفى منها النبات إلا بإضافة ماء للتربة وإذا أستمر الذبول الدائم عدة أيام يموت النبات وفى حالة الذبول الدائم يتوقف النمو تماماً نتيجه لمعدل الفقد الماء يكون أكبر من معدل الإمتصاص بإستمرار وتنغلق الثغور تماماً.**
- **أقصى درجات الذبول: بإستمرار الحالة السابقة تزداد أعراض الذبول وتعم جميع أوراق النبات إبتداء من الأوراق السفلى.**

التغيرات البيوكيماوية الداخلية فى المحتوى من مضادات الأكسدة تحت ظروف التعطيش

يؤدى الإجهاد المائى إلى حدوث عدم توازن بين المحتوى من مضادات الأكسدة فى الأنسجة النباتية وبين الجذيرات الحرة Free radicals ومنها (Ros) والناتجة عن عمليات الأكسدة تحت ظروف الإجهاد المائى.

من المعروف أن كل من Tacopherol & Carotenoids (vitamin E) & ascorbate (vit.c) & glutathion تؤدى وتساعد هذه المواد من مضادات الأكسدة على حماية أغشية جهاز البناء الضوئى تحت ظروف إجهاد الأكسدة.

- **وجد أيضاً تمركز a- Tocopherol داخل البلاستيدات الخضراء وهذا المركب أيضاً يلعب دور مهم جداً فى عملية البناء الضوئى وخاصة فى القسفره الضوئية غير الدائرية**

Non cyclic photo phosphorylatio وبالذات فى (PSI). Photosystemt ومعنى ذلك أن مضاد الأكسدة (a-Tocopherol) يقوم بحماية جهاز البناء الضوئى علاوة على أن هذا المركب أيضاً يشجع على تكوين وتخليق مضادات أكسدة أخرى مثل ascorbate (ASA) & Carnosic acid (CA)

- **الإجهاد المائى (Drought stress) يؤدى كذلك وبشدة إلى نقص واضح وكبير فى تمثيل Co_2 فى عملية البناء الضوئى وذلك لإنغلاق الثغور بفعل نقص الماء بالخلايا الحارسة. كما يؤدى نقص الماء أيضاً (water stress) إلى نقص شديد فى نشاط إنزيمات البناء الضوئى وخاصة Ribulosebiphoscarboxylase (RBP caeboxylase).**
- **يؤدى Drought stress إلى إنتاج Ros بوفرة وهذه الجذيرات الحرة يمكن كبحها بمواد مضادات الأكسدة. وعموماً فإن النباتات تحت ظروف الإجهاد المائى يحدث بها العديد من التغيرات مثل:**

1- increased production of ROS and of oxidized target mdecules.

زيادة إنتاج الشوارد الحرة والمركبات المؤكسدة الضارة.

2-increases in the expression of genes for antioxidant functions.

زيادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة.

3-increases Scavenging capacity for Ros resulting in tolerance against drought stress.

زيادة المواد الكانسة للجذيرات الحرة لمقاومة إجهاد الجفاف.

4- increasesx in the levels of an tioxidants and antioxidative system.

زيادة المحتوى من مضادات الأكسدة ونظام مضادات الأكسدة.

- **ومن أهم نواتج تأثير Ros هو أكسدة الأغشية البلازمية Lipid Peroxidatian وكذلك إحداث خلل كبير جداً بين الطاقة المنتجة داخل الخلية والطاقة المستهلكة مما يؤدى كذلك إلى تخليق مواد سامة تعمل على الأضرار بمكونات الخلية.**

من المواد الهامة جداً والتى تعمل على إزالة الأثر السام الناتج عن تفاعلات Ros مركبات عديدة منها.

1. **Supesoxide dismutase (SOD)**
2. **Catalase (CAT)**
3. **Ascorbate Peroxidase (APX)**
4. **Peroxidase (POD)**
5. **Glutathion reductase (GR)**
6. **Mono dehydro ascorbate reductase (MDAR)**

7- **Flavonoids**

8- **Anthocyanins**

9- **Carotenoids**

10- **Ascorbic acid**

- **ونظراً لأهمية الدور الذى يلعبه الأسكوربيك كمضاد للأكسدة والحفاظ على مكونات الخلية من الأكسدة والهدم والدمار فإنه يمكن إيجاز أهم الأدوار التى يلعبها (AA) حمض الاسكوربيك فى خلايا الأنسجة النباتية كالتالى:**

1- **as an enzyme Co-factor.**

2- **as antioxidant.**

3- **as doner acceptor in electron transport at the plasma membrane or in chloroplasts.**

كل من هذه الأدوار التى يلعبها الاسكوربيك لها علاقة وثيقة جداً بمقاومة الإجهاد Oxidatio stress. كما أن له علاقة وثيقة أيضاً بعملية البناء الضوئى وكذلك تخليق مركب مضاد الأكسدة a- Tocopherol

التغيرات المورفولوجية والفسيولوجية الناتجة عن الإجهاد الناشئ عن البرودة
Cold stress

١ ــ نقص المحتوى المائى فى الأنسجة النباتية مما يؤدى إلى موت النبات فى النهاية.

٢ ــ البرودة فوق درجة التجمد تسبب أضرار كبيرة للنبات الإستوائية وتحت الإستوائية وقد يموت النبات فى النهاية وخاصة إذا ما تعرضت لدرجة ٠.٥ ــ ٥.٥ ْم لمدة ٣٦ ساعة وذلك بسبب التحولات الغذائية المضطربة تحت هذه الظروف.

٣ – إنخفاض الحرارة لدرجة التجمد تؤدى إلى تجمد الماء داخل وبين الخلايا مكوناً بللورات ثلجية تعمل على تهتك الجدر والأغشية البلازمية مما يؤدى إلى موت الخلايا.

٤ ــ إنخفاض درجة الحرارة يؤدى إلى سحب الماء من الخلايا إلى المسافات البينية مما يؤدى إلى جفاف البروتوبلازم فتتغير صفاته وربما يتجمد.

التغيرات البيوكيماوية الناشئة عن إجهاد البرودة:

١ ــ لوحظ نقص واضح فى محتوى الكلوروبلاست من a- Tocopherol تحت ظروف البرودة. وهذا المركب من أهم مركبات مضادات الأكسدة فى الكلوربلاست.

٢ ــ تنشيط بعض التفاعلات والتحورات فى التحولات الغذائية ويتبعها إنتاج Free radicals مثل (ROS) والتى لها تأثير مدمر على الأغشية البلازمية والمحتوى من DNA.

الإجهاد الناشئ عن الحرارة المرتفعة

Heat stress

التغيرات الفسيولوجية الناتجة عن إرتفاع درجة الحرارة:

١ ــ يؤدى إرتفاع درجة الحرارة إلى زيادة معدل النتح بدرجة أكبر من معدل الإمتصاص مما يؤدى إلى نقص شديد فى المحتوى المائى للأنسجة مما يؤدى أيضاً إلى موت الأوراق والأفرع وقد يموت النبات فى النهاية.

٢ ــ إرتفاع درجة الحرارة يؤدى إلى حدوث إضطرابات فى التحولات الغذائية بالخلايا فمثلاً يزيد معدل الهدم (التنفس) بدرجة أكبر من معدل البناء فيصبح النبات قزماً ويموت فى النهاية.

٣ ــ إرتفاع درجة حرارة التربة فى بعض الأحيان إلى ٧٠ ْم يؤدى إلى موت سيقان النباتات الصغيرة الملاصقة للتربة.

٤ ــ بعض النباتات تتحمل درجات الحرارة المرتفعة وذلك بإحاطة سيقان بعض الأشجار بطبقة سميكة من الفللين (القلف) وهو رديء التوصيل للحرارة.

٥ ــ تعرض النباتات لدرجات حرارة مرتفعة يؤدى إلى نقص فى تخليق البروتينات الطبيعية وكذلك يحدث تغير فى عمليتى النسخ والترجمة Translation & Transcription مما يؤدى للحصول على بروتين جديد يعرف بإسم Heat shock protein (HSP) ويتخلق هذا البروتين إذا ما تعرض النبات لدرجة حرارة بأعلى من الحد الأمثل بحوالى ٥ ْم.

٦ ــ درجة الحرارة المرتفعة تؤدى إلى حدوث أضرار فى التركيب الخلوى وكذلك تراكيب العضيات فى الخلية ويحدث أيضاً تدهور فى وظيفة الأغشية البلازمية كما يحدث أيضاً تغيير فى التعبير الجينى Gene expression

التغيرات البيوكيماوية الناشئة عن الإجهاد الحرارى:

لوحظ أن تحت تأثير الحرارة المرتفعة يتم إنتاج ROS بكميات وفيرة وهذه الجذيرات الحرة لها تأثير مدمر على نواتج التحولات الغذائية كما أنها تقوم بأكسدة الأغشية البلازمية وإتلافها كما أنها تدمر المحتوى من DNA.