# التغيرات الأيضية للدهون والبروتينات خلال ظاهرة التعمير وعلاقتها بتجذير عقل نبات الماش *Phaseolus aureus* Roxb.

رسالة مقدمة
الى مجلس كلية العلوم-جامعة بابل
وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم
في علوم الحياة-نبات

من قبل
إيفان إبراهيم مرهج الجبوري

شباط ٢٠٠٥م ذي القعدة ١٤٢٦هـ

بسم الله الرحمن الرحيم

# ((وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا))

صدق الله العلي العظيم

سورة الإسراء – الآية ٨٥

# الاهداء

**الى أعز انسانة على قلبي ...**
**الى نور عيني...**

**أمي العزيزة**

**الىمن عشت معهم أيام طفولتي**

**أخوتي وأخواتي الاعزاء**

**الى من ساندتني ووقفت بجانبي**

**الغالية كوثر**

**الى من ملئوا حياتي بهجةً وفرحاً**

**ابراهيم ورانية وسفانة**

# شكر وتقدير

يطيب لي وانا أنهي هذه الرسالة ان أتقدم بخالص الشكر والتقدير والامتنان الى الاستاذين الفاضلين الدكتور عبد الله أبراهيم شهيد والدكتور عودة مزعل ياسر لاشرافهما على البحث وتوجيهاتهما السديدة طيلة فترة البحث سائلة الله المولى القدير ان يمن عليهم بالصحة والعمر المديد. ويسعدني ان أتوجه بجزيل الشكر الى الدكتور هادي مزعل خضير لما قدمه من مساعدة في التحليل الاحصائي. ويشرفني ان اشكر أعضاء لجنة المناقشة الاساتذة الافاضل لرحابة صدورهم وتوجيهاتهم لاظهار الرسالة بأفضل شكل كما أتقدم بالشكر الجزيل الى كل من ساعدني وقدم لي يد العون لانجاز هذا البحث، وأخص بالذكر طلبة الدراسات العليا في قسم الكيمياء (ندى فيروز و فؤاد فاضل و أياد فاضل و احمد كاظم ومحمود حسين هدوان) والست رنا عبد العال. مع خالص شكري وتقديري الى زملائي طلبة الدراسات العليا في قسم علوم الحياة وأخص بالذكر زينة هادي فادية حميد وشيماء عبد الهادي .كما أتقدم بخالص الشكر والتقدير الى الزميل بسام موسى الياسين لما أبداه من مساعدة في طبع الرسالة وأخراجها بهذا الشكل.

ومن واجبي أن أتقدم بالشكر الى رئاسة قسم علوم الحياة وعمادة كلية العلوم ورئاسة جامعة بابل لمنحي الفرصة لاكمال دراستي .

أيفان

أبراهيم

الباحث

# اقرار لجنة المناقشة

نشـــهد نحـــن أعضـــاء لجنـــة المناقشـــة بإطلاعنـــا علـــى هـــذه الرســـالة الموســـومة (التغيـرات الايضـية للـدهون والبروتينـات خـلال ظـاهرة التعميـر وعلاقتهـا بتجـذير عقـل نبـات الماش.*Phaseolus aureus* Roxb) وقد ناقشنا الطالبة في محتوياتها وكل ما يتعلق بها وذلك بتاريخ / / ٢٠٠٥ ووجدنا انها جديرة بالقبول بدرجة ( ) لنيل درجة الماجستير علوم في علوم الحياة/ نبات.

التوقيع:
رئيس اللجنة:
المرتبة العلمية:
العنوان:
التاريخ: / /٢٠٠٥

التوقيع:
العضو:
المرتبة العلمية:
العنوان:
التاريخ: / /٢٠٠٥

التوقيع:
العضو:
المرتبة العلمية:
العنوان:
التاريخ: / /٢٠٠٥

التوقيع:
العضو:
المرتبة العلمية:
العنوان:
التاريخ: / /٢٠٠٥

التوقيع:
العضو:
المرتبة العلمية:
العنوان:
التاريخ: / /٢٠٠٥

**مصادقة مجلس كلية العلوم/ جامعة بابل**

التوقيع:
الاسم: د.عودة مزعل ياسر
المرتبة العلمية: استاذ مساعد
العنوان: كلية العلوم- العميد
التاريخ: / /٢٠٠٤

# توصية الاستاذ المشرف

نشهد ان اعداد هذه الرسالة جرى تحت اشرافنا في قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة بابل كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة.

اسم المشرف :د.عبد الله ابراهيم شهيد
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : كلية العلوم -جامعة بابل
التوقيع :
التاريخ : / / ٢٠٠٥

اسم المشرف :د.عودة مزعل ياسر
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم -جامعة بابل
التوقيع :
التاريخ : / / ٢٠٠٥

## توصية رئيس القسم

اشارة الى التوصية اعلاه المقدمة من قبل الاستاذين المشرفين احيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها و بيان الرأي فيها.

الاسم : علي شعلان الاعرجي
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : كلية العلوم -جامعة بابل
التوقيع :
التاريخ : / / ٢٠٠٥

# الخلاصة

تمت دراسة التغيرات الايضية للدهون والبروتينات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير بدلالة تكوين الجذور العرضية في عقل الماش *Phaseolus aureus* Roxb. وأستخدمت العقل بأعتبارها نظاماً تجريبياً من بادرات نامية لمدة عشرة أيام تحت ظروف قياسية (إضاءة مستمرة وبشدة ضوئية ٣٠٠٠-٣٥٠٠ لوكس، ودرجة حرارة ٢٥ ± ١ سليزي، ورطوبة نسبية ٦٠-٧٠%). حيث وجد أن الانخفاض في استجابة تجذير عقل الماش المعمرة يتزامن مع الانخفاض في كل من الدهون والبروتينات الناتجين عن زيادة نشاط أنزيمي Lipoxygenase (LOX) و Protease. وكان مجمل النتائج مايأتي:-

١- قلة أستجابة تجذير عقل الماش المعمرة بالماء المقطر لمدة ثلاثة أيام مقارنة بالعقل الطرية.

٢- زيادة معنوية لكل من محتوى Malondialdehyde (MDA) (٨٨.٨%)، وفعالية أنزيمات (LOX) (١٢٢.٢%) و Protease (١١٢.١٤%) ، بينما أنخفض محتوى البروتين (٩٠%) ومحتوى مضادات الاكسدة مثل الكلوتاثيون (٤١.٤٣%) والاسكوربيت (٦٦.٨٥% ) في العقل المعمرة مقارنة بعينة السيطرة.

٣- بهدف السيطرة على ظاهرة التعمير، حفظت العقل بمحاليل اليانسون١% وحامض سيناميك ( $10^{-3}$ مولاري) ومحاليل الزيوت التطايرية، مما أدى الى أيقاف العمليات التي تحدث خلال التعمير بدلالة تكوين الجذور العرضية، من خلال أيقاف الزيادة الحاصلة في محتوى MDA وفعالية أنزيمات LOX وProtease والحفاظ على محتوى البروتين والكلوتاثيون والاسكوربيت.

تمحورت المناقشة حول نشاط الانزيمات الخاصة بأكسدة الدهون والجذور الحرة الناتجة عنها والتي تزداد خلال ظاهرة التعمير بدلالة الناتج النهائي (MDA) . وكذلك الدور الذي يلعبه حامض الاسكوربك والكلوتاثيون ضمن الميكانيكيات الدفاعية المضادة للاكسدة بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل.

# Metabolic changes of lipids and proteins during ageing & its relation to rooting of Mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings

*A thesis*
*submitted to the Council of the Collegeof Science*
*University of Babylon*
*in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science*
*in*
*Biology -Botany*

**By**

**Evan Ibrahim Merhij AL-Joboury**

**February ٢٠٠٥**

# Summary

Metabolic changes of lipids and proteins which occures during ageing of Mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings were studied. These cuttings as "experimental system" were taken from ١٠-day-old seedlings grown in sawdust in growth chamber at standard conditions of continuous light, light irradiance (٣٠٠٠-٣٥٠٠ Lux), temperature (٢٥±١˚C) and relative humidity (٦٠-٧٠)%. The decline in rooting response coincided with the decline of lipids and proteins that produced by increasing the activity of lipoxygenaseand protease. The data revealed the following results:

١- Decline in rooting response of aged cuttings (held in D.W. for ٣ days) was found compared to fresh cuttings.

٢- There was a significant increases in malodialdehyde (MDA) content (as a final product of lipid peroxidation) by (٨٨٪); in activity of lipoxygenase by (٢٧٧.٢٪) and activity of protease by (٢١٢.١٪). Whereas the proteins and antioxidants contents (e.g. glutathione and ascorbate were declined in aged cuttings compared to fresh cuttings.

٣- For ageing control, the cuttings were kept in anise extract (١٪), cinnamic acid solution ($١٠^{-٣}$ M) and solutions of volatile oils, which led to stop the processes that occure during ageing in terms of rooting response by the stopping increase in MDA content, lipoxygenase activity and protease activity, and maintaning protein content, glutathione and ascorbate.

The discussion focused on enzymes that associated with lipid peroxidation process and the free radicals that produced by this process in which its final product (MDA) has increased during ageing in terms of its final product (MDA). In addition the role of ascorbic acid and glutathione as antioxidants that involved in antioxidant defence mechanisms in terms of adventitious root formation in cuttings were assayed.

# المحتويات


| الموضوع | رقم الصفحة |
|---|---|
| الخلاصة بالعربية | I |
| المحتويات | II |
| قائمة الجداول | VI |
| قائمة الاشكال | VII |
| الفصل الاول - مقدمة عامة | ١ |
| ١-١:التكثير الخضري بوساطة العقل | ١ |
| ١-٢: تكوين الجذور العرضية | ٢ |
| ١-٣: الاوكسينات | ٤ |
| ١-٤: البورون | ٦ |
| ١-٥: ظاهرة التعمير وعلاقتها باستجابة تجذير العقل | ٨ |
| ١-٦ المفاهيم العامة للتعمير | ١٠ |
| ١-٧: أكسدة الدهون Lipid Peroxidation | ١١ |
| ١-٨: أنزيم اللايبوكسجنيز Lipoxygenase | ١٥ |
| ١-٩: أنزيم البروتيز Protease | ١٧ |
| ١-١٠: مضادات الاكسدة Antioxidants | ١٨ |
| ١-١٠-أ: الكلوتاثيون Glutathione | ١٨ |
| ١-١٠-ب: فيتامين C ( حامض الاسكوربك) | ٢٠ |
| ١-١١:المستخلصات النباتية وطبيعة بعض المواد الفعالة فيها | ٢٤ |
| ١-١١-أ: القلوانيات | ٢٥ |
| ١-١١-ب: التربينات | ٢٦ |
| ١-١١-ج: التانينات | ٢٧ |
| ١-١٢:المركبات الفينولية | ٢٧ |
| ١-١٣: الزيوت التطايرية | ٣٠ |
| ١-١٤: أسباب ظاهرة التعمير | ٣٢ |
| ١-١٥: السيطرة على ظاهرة التعمير | ٣٤ |
| ١-١٦: الهدف من البحث | ٣٦ |
| الفصل الثاني- المواد وطرائق العمل | ٣٧ |
| ٢-١: مصدر البذور | ٣٧ |
| ٢-٢: زراعة البذور | ٣٧ |
| ٢-٣: تهئية العقل | ٣٧ |
| ٢-٤: المعاملة القاعدية للعقل | ٣٨ |
| ٢-٥: معاملات التعمير | ٣٨ |
| ٢-٦: حساب عدد الجذور والتحليل الاحصائي | ٣٨ |
| ٢-٧: تحضير المحاليل | ٣٩ |
| ٢-٧-١: محاليل التجذير | ٣٩ |
| (A) الاوكسينات المصنعة | ٣٩ |
| (B): حامض البوريك | ٣٩ |
| (C) : تحضير محاليل السيطرة على ظاهرة التعمير | ٣٩ |
| ١- تحضير المستخلص المائي لليانسون | ٣٩ |
| ٢- المحلول المائي للسينماميك أسد | ٣٩ |
| ٣- المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية | ٤٠ |
| ٢-٨: تقدير محتوى Malondialdehyde | ٤٠ |
| أ- تحضير المحاليل | ٤٠ |

| | |
|---|---|
| ب: طريقة العمل | ٤٠ |
| ٢-٩: تقدير فعالية أنزيم Lipoxygenase | ٤٠ |
| أ- تحضير المحاليل | ٤٠ |
| ب: طريقة العمل | ٤٠ |
| ج: تعيين الاس الهيدروجيني الامثل لفعالية أنزيمLipoxygenase | ٤١ |
| د: تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية أنزيمLipoxygenase | ٤١ |
| ٢-١٠: تقدير محتوى البروتين | ٤٢ |
| أ: تحضير المحاليل المستخدمة | ٤٢ |
| ب- طريقة العمل | ٤٢ |
| ج- تحضير المنحني القياسي للالبومين | ٤٣ |
| ٢-١١: تقدير فعالية أنزيم Protease | ٤٤ |
| أ- تحضير المحاليل المستخدمة | ٤٤ |
| ب- طريقة العمل | ٤٤ |
| ج: تعيين الاس الهيدروجيني الامثل لفعالية أنزيم Protease | ٤٥ |
| د: تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية أنزيم Protease | ٤٥ |
| ٢-١٢: تقدير محتوى الكلوتاثيون | ٤٥ |
| أ- تحضير المحاليل المستخدمة | ٤٥ |
| ب- طريقة العمل | ٤٦ |
| ج- تحضير المنحني القياسي للكلوتاثيون | ٤٦ |
| ٢-١٣: تقدير محتوى الاسكوربيت الكلي | ٤٨ |
| أ-تحضير المحاليل المستخدمة | ٤٨ |
| ب- طريقة العمل | ٤٩ |
| ٢-١٤: الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة في مستخلص اليانسون | ٥٠ |
| أ- الكشف عن عموم القلوانيات | ٥٠ |
| ب- الكشف عن عموم الفينولات | ٥٠ |
| ج- الكشف عن التربينات | ٥٠ |
| د- الكشف عن الكلاكوسيدات | ٥٠ |
| هـ- الكشف عن الفلافونات | ٥٠ |
| و- الكشف عن التانينات | ٥١ |
| ي- الكشف عن الراتنجات | ٥١ |
| الفصل الثالث- النتائج | ٥٣ |
| ٣-١: تأثير ظاهرة التعمير في استجابة تجذير عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية. | ٥٣ |
| ٣-٢: تأثير ظاهرة التعمير في محتوى Malondialdehyde والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٥٦ |
| ٣-٣-أ: تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية أنزيمLipoxygenase | ٦٠ |
| ٣-٣-ب: تأثير درجة الحرارة في فعالية أنزيم Lipoxygenase | ٦١ |
| ٣-٣-ج: تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيمLipoxygenase والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٢ |
| ٣-٤: تأثيرظاهرة التعمير في محتوى البروتين لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٦ |
| ٣-٥-أ: تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية أنزيم Protease | ٧٠ |
| ٣-٥-ب: تأثير درجة الحرارة في فعالية أنزيم Protease | ٧١ |
| ٣-٥-ج: تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيم Protease والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٢ |
| ٣-٦: تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون لعقل الماش والسيطرة | ٧٥ |

| | |
|---|---|
| عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | |
| ٣-٧: تأثيرظاهرة التعمير في محتوى حامض الاسكوربك الكلي لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٨ |
| الفصل الرابع- المناقشة | ٨٢ |
| الاستنتاجات | ٩١ |
| التوصيات | ٩٢ |
| المصادر العربية | ٩٣ |
| المصادر الاجنبية | ٩٥ |
| الخلاصة باللغة الانكليزية | |


# قائمة الجداول


| رقم الجدول | العنوان | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة في مستخلص المائي لليانسون | ٥٢ |
| ٢ | تأثير ظاهرة التعمير في استجابة تجذير عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو- كيميائية | ٥٥ |
| ٣ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى Malondialdehyde لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٥٩ |

| | | |
|---|---|---|
| ٤ | تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيم Lipoxygenase لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٥ |
| ٥ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى البروتين لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٩ |
| ٦ | تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيم Protease لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٤ |
| ٧ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٧ |
| ٨ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الاسكوربيت الكلي لأجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٨١ |


# قائمة الاشكال


| رقم الشكل | العنوان | رقم الصفحة |
|---|---|---|
| ١ | أكسدة الدهون التي تحدث في الغشاء البلازمي | ١٤ |
| ٢ | المنحني القياسي لتراكيز مختلفة من الالبومين والامتصاصية بطول موجي ٥٥٥ نانومتر | ٤٣ |
| ٣ | المنحني القياسي لتراكيز مختلفة من الكاوتاثيون القياسي والامتصاصية بطول موجي ٤١٢ نانومتر | ٤٧ |
| ٤ | تأثير ظاهرة التعمير في فعالية محتوى Malondialdehyde لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٥٨ |
| ٥ | تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية أنزيمLipoxygenase لأجزاءعقل الماش | ٦٠ |
| ٦ | تأثير درجة الحرارة في فعالية أنزيم Lipoxygenaseلعقل الماش | ٦١ |
| ٧ | تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيم Lipoxygenase لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٤ |
| ٨ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى البروتين لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٦٨ |
| ٩ | تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية أنزيم Protease لأجزاءعقل الماش | ٧٠ |
| ١٠ | تأثير درجة الحرارة في فعالية أنزيم Protease لعقل الماش | ٧١ |
| ١١ | تأثير ظاهرة التعمير في فعالية أنزيمProtease لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٣ |
| ١٢ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٧٦ |
| ١٣ | تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الاسكوربيت الكلي لعقل الماش | ٨٠ |

| | | |
|---|---|---|
| | الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | |
| ١٤ | التغيرات الهدمية الافتراضية للدهون والبروتينات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية | ٩٠ |

# الفصل الاول

## مقدمة عامة General introduction

### (١-١) التكاثر الخضري بوساطة العقل :- Vegetative propagation by cutting

يشمل التكاثر الخضري التعاقب اللاجنسي من خلال أعادة تجديد الانسجة والاجزاء النباتية المفقودة (جانك،١٩٧٢)، حيث تتكون أفراد جديدة من النباتات بوساطة أستعمال معظم أجزائه الخضرية، وذلك لان العديد من هذه الاعضاء لها القدرة على التجدد (Regeneration) (يوسف،١٩٨٧). ويعد التكاثر بالعقل من أكثرطرائق التكاثر الخضري انتشاراً. حيث يشير أصطلاح العقلة ( Cutting) الى أي جزء خضري مفصول من النبات وله القدرة على النمو وتكوين نبات جديد (Weaver,١٩٧٢). وتصنف العقل بصفة عامة على أساس الجزء المستخدم من النبات (عقل جذرية، عقل ساقية، عقل ورقية). وتعد العقل الساقية من أهم انواع العقل المستعملة، لانها تحتوي على براعم ولها القدرة على تكوين مجموع خضري جديد (أي من الضروري تكوين مجموع خضري جديد) (جانك، ١٩٧٢). ويمكن تقسيمها الى أربعة انواع وفقاً لطبيعة الخشب المنتخب، وهي العقل ذات الخشب الصلب Hardwood, والعقل ذات الخشب شبه الصلب Semi–Hard wood، والعقل ذات الخشب اللين Soft wood، والعشبية Herbaceous. وتستعمل العقل الساقية في تكثير شجيرات الزينة النفظية والمستديمة الخضرة، وتكثير نباتات الزينة المهمة في البيوت الزجاجية، والعديد من انواع الفاكهة. وهنالك عدة عوامل تؤثر في نجاح تجذير العقل وهي الحالة الفسلجية للنباتات الام وعمرها والعوامل الوراثية ونوع الخشب المنتخب و موعد أخذ العقل والتعرض للظلام Etiolation و الحزة و التحليق Girdling وعوامل معاملة العقل بالاضافة الى العوامل البيئية (يوسف، ١٩٨٧). ومن أهداف التكاثر الخضري هي الحفاظ على النقاوة الوراثية Genetic purity للنبات الاصل المنتخب (Hansen, ١٩٧٥ )، حيث تنتج نباتات ذات تركيب وراثي متجانس تحمل مواصفات النبات الاصل ذو الصفات المنتخبة مقارنة بالطريقة الجنسية التي يحصل خلالها تغايرات على المدى البعيد. ويضمن مضاعفة عدد الافراد وزيادتها لغرض حفظ النوع (Salisbury & Ross, ١٩٨٥ ) ومن ناحية أخرى فان النباتات التي تتكاثر بالعقل تكون سريعة النمو والانتاجية، كما يمكن بوساطته التغلب على ظاهرة العقم (يوسف، ١٩٨٧). فضلاً عن ضمانه انتاج كبير وبنوعية عالية (Chaturvedi , Tha and Das,١٩٩٦). وايضا تكثير النباتات التي لا تنجح زراعتها بالبذور كالثوم ومقاومة بعض الامراض (محمد واليونس، ١٩٩١). بالاضافة الى ذلك، تكرار السلالة الخضرية Vegetative Clone التي لاتنتج بذوراً حية أو لاتنتج بذورا اطلاقاً، مثل صنف البرتقال (Navel Washington)، وصنف الموز (Cross Michel)، وصنف العنب عديم البذور (Thompson seedless) (جانك،١٩٧٢).

يعتمد نجاح تكثير النباتات خضرياً بالعقل على نشوء الجذور أولاً، ثم كسر كمون البراعم ونموها ثانياً، وذلك لمنع التنافس على العوامل الغذائية المخزونة في العقلة، واللازمة لعمليتي التجذير والتبرعم (شهيد، ١٩٨٠).

كما يعد التكاثر الخضري بالعقل من الممارسات الشائعة التي استخدمها الانسان على نطاق تجاري واسع(Davies, Lazarte and Joiner,١٩٨٢)، فقد استخدمت هذه الطريقة بشكل واسع لتكثيرنبات القهوة في أمريكا اللاتينية، وكذلك الكاكاو في جزر الهند الغربية (Fiester, ١٩٥٧).

### (١-٢) تكوين الجذور العرضية في العقل :- Adventitious root formation

تعرف الجذور العرضية بانها الجذور التي تنشأ من مواقع،عدا الجنين أو أفرع الجذر الابتدائي (Lovell & White,١٩٨٦). وتعد عملية تكوين الجذور العرضية في العقل أساسية

لنجاح تكثير النباتات بوساطة العقل (يوسف، ١٩٨٧) وهذا ما أكده (Hartmann; Kester and Davies,١٩٩٠) من ضرورة تكون نظام جذري عرضي جديد عند تكثير النباتات بالعقل. يختلف منشأ الجذور العرضية بأختلاف النباتات فانها تنشأ عادة في النباتات العشبية مباشرة خارج الحزم الوعائية (Weaver,١٩٧٢) ، وفي العقل الساقية Stem cuttings للنباتات العشبية البالغة ( Matured ) فيكون عادة من اللحاء الفتي، كما يمكن ان تنشأ أيضاً من الاشعة الوعائية Vascular Rays، واللب Pith لنباتات أخرى (يوسف، ١٩٨٧).

تعرف المواد التي تتفاعل (تتداخل) مع الاوكسين لتؤثر في تكوين الجذور العرضية بالعوامل المرافقة Co – factors . وان طبيعتها مختلفة، فقد تكون مركبات فينولية مثل Caffeic acid و Catechol و Chlorogenic acid (Hackett , ١٩٧٠ ; Batten & Goodwin , ١٩٧٨)، أو أمينات متعددة Polyamines (Friedman, Altman and Bachrach, ١٩٨٢)، أو بعض العناصر المعدنية كالكالسيوم (Eliasson, ١٩٧٨; Hartmann *et al*., ١٩٩٠) ، أو تكون ذات طبيعة هرمونية، حيث أفترض Chin وMeyer و Beevers (١٩٦٩) ان حامض الابسيسك Abscisic acid هو أحد العوامل المرافقة في تحفيز تكوين الجذور. وكأستنتاج فان كمية ونوعية العوامل المرافقة الموجودة في العقل يجعلها على نوعين سهلة التجذير Easy to root cuttings وصعبة التجذير Difficult – to – root – cuttings.

تنقسم عملية تكوين الجذور العرضية الى طورين رئيسين، الاول هو طور النشوء Initiation phase، والثاني طور النمو والتكشف Growth & development phase (Lovell, Cobb and Moore,١٩٧١; Erisken, ١٩٧٣; Lovell & White, ١٩٨٦). ويحدث خلال الطور الاول، انقسام خلوي Mitosis وتخصص خلايا معينة لتكوين البادئات الجذرية Root primordia (أي حدوث تغيرات خلوية Intracellular changes )، وتكون هذه التغيرات مميزة كيمو – نسيجياً Histochemically ، حيث تتضمن التغير ات تضخم النوى والنويات، وزيادة كثافة أصطباغ السايتوبلازم (Blazich & Heuser,١٩٧٩ ).

وفي عام (١٩٨٦ ) قسم Jarvis طور النشوء في عقل الماش *Phaseolus aureus* Roxb. الى أطوار ثانوية هي:-

أولا :- **طور التحفيز Induction phase** . ويحصل فيه تراكم للاوكسين في منطقة نشوء الجذور، وكذلك قلة فعالية انزيم IAA-Oxidase ، ويصاحب انتقال الاوكسين كل من الكاربوهيدرات وحاميات الاوكسين.

ثانيا:- **طور النشوء المبكر Early initiation phase**. وتبدأ فيه الخلايا بالانقسام بفعل الاوكسين المتراكم، مما تؤدي لاحقاً الى تكوين البادئات الجذرية. ويختلف كثيراً طول المدة اللازمة لتكوين البادئات الجذرية بأختلاف النباتات نظراً لاختلاف في موعد بدء الانقسام الخيطي. حيث وجد انها تستغرق (٣ و ٥ و ٧) أيام في عقل الداوودي والقرنفل والورد على التوالي. أما في عقل الماش، فيبدأ الانقسام الخيطي خلال (٢٠ – ٢٤) ساعة من أخذ العقل، ويتطلب تكوين البادئات الجذرية وكذلك الجذور المرئية ٤٨ ، ٧٢ – ٩٦ ساعة على التوالي.

ثالثا :- **طور النشوء المتاخر Late initiation phase.** ويحدث فيه انخفاض في مستوى الاوكسين نتيجة لنشاط انزيم IAA- Oxidase ، وهذا يحفز تكوين البادئات الجذرية وتكشفها لاحقاً.

أما الطور الثاني وهو طور النمو والتكشف. وفيه تتحول البادئات الجذرية الى جذور مرئية Visible roots والتي تظهر بعد مرور (٧٢ –٩٦) ساعة من أخذ العقل. ويحدث هذا نتيجة لانخفاض مستوى الاوكسين من خلال دور البورون في زيادة نشاط انزيم IAA-Oxidase، والذي يحدث من خلال تكوين معقدات من البورون والفينولات بعد أضافة البورون مما يسحب الفينولات من ساحة التفاعل بعد ان كانت تعمل كحاميات للاوكسين IAA .

## (١-٣) الاوكسينات Auxins

تعد الاوكسينات من الهرمونات النباتية المهمة، وذات الاكتشاف المبكر، ولها أولوية (Priority) السيطرة في تكوين الجذور العرضية في العقل. حيث تلعب دوراً مهماً في عدة عمليات فسيولوجية ومنها نمو الساق والانقسام الخلوي، وتثبيط نمو البراعم الجانبية، وانفصال الورقة والثمرة، وتمايز النسيج الوعائي كالخشب، وتأخير شيخوخة الورقة. وقبل أكتشافه وتشخيصه كهرمون نباتي، فقد أفترض Sachs (١٨٨٠) وجود مادة أو مجموعة مواد في الاوراق والبراعم والفلق تتحرك بأتجاه قاعدة العقلة وتحفز التجذير وقد أطلق عليها مصطلح الرايزوكالين Rhizocaline. وبسبب أدوار الاوكسين الفسيولوجية المهمة فقد حاز على أهتمام العديد من الباحثين وخاصة بعد استخلاص وتشخيص IAA كهرمون نباتي Endogenous auxin من قبل (Kögle, Haagen-Smith and Erxleben,١٩٣٤) حيث انه يصنع في بعض الاجزاء النباتية (كالاوراق والبراعم والبذور النامية مثلاً) ثم ينتقل بعدها ويبدي تأثيره في أجزاء أخرى(منطقة نشوء الجذور في قاعدة العقلة مثلاً). أشار Went في عام ١٩٣٩ الى ان دور الاوكسين في تكوين الجذور العرضية يعزى الى دوره في إعادة توزيع Re-distribution الرايزوكالين(تجميع الرايزوكالين في الجزء القاعدي من العقلة وتنشيط الرايزوكالين المتجمع أو التفاعل معه).كما أشار كل من (Erisken & Mohammed,١٩٧٤;Haissig,١٩٨٣;Blakesly; Weston and Hall,١٩٩١; AL-Tury, Omari and Abuqooud,١٩٩٩) الى سيطرة الاوكسين في عملية تكوين الجذور بطوريها (النشوء والتكشف)، وعدم أشتراك أي مادة أخرى معه بشكل مباشر في طور النشوء. أضافة الى ذلك فانه يؤثر على العمليات الحيوية المتعلقة بتكوين الجذور وظهورها عند قاعدة العقلة، حيث ينشط الانزيمات المتعلقة بأيض الكاربوهيدرات (Battachary & Nanda,١٩٧٨) وتسمى هذه الانزيمات بالمحللة Hydrolysing enzymes، حيث تقوم بتحويل النشأ الى كاربوهيدرات ذائبة، وتعد هذه الكاربوهيدرات ضرورية لعملية نشوء وتكشف الجذور (Nanda & Ananda,١٩٧٠). وكذلك يؤثر الاوكسين في تضاعف DNA (Yasuda, Yajima and Yanada,١٩٧٤; Ricard *et al*., ١٩٧٦).

هنالك أوكسينات مصنعة Synthetic auxins مشابهه للاوكسين IAA من حيث التأثير التحفيزي في تكوين الجذور العرضية مثل Indoleacetic acid (IAA) ، Indole butyric acid ( IBA) ، Naphthalene acetic acid (NAA) ، بأستثناء أختلافها من حيث التركيز الامثل وفترة المعاملة والنبات المستعمل. ومن الناحية التطبيقية فان IBA و NAA تكون شائعة الاستعمال (Zimmerman & Wiloxon,١٩٣٥ ) لانهما أكثر بقاءاً Persist longer في الانسجة النباتية وأقل تحطماً بالانظمة الانزيمية المؤكسدة للاوكسين IAA-Oxidase (Kawase & Matsui ,١٩٨٠ ;Geneve & Heuser ,١٩٨٣; Salisbury ١٩٨٥ , &Ross ). بالاضافة الى ما تقدم فقد قام Liu وHasigo وPan (١٩٩٦) بدراسة تأثير NAA المجهز من الخارج في المستويات الداخلية للاوكسين IAA في السويقات الجنينية تحت الفلق Hypocotyl ، وبالتالي تأثيرها في تكوين الجذور العرضية في عقل نبات الترمس *Glycine max* . فوجد الاخير ان هنالك زيادة في عدد الجذور تتزامن مع زيادة مستويات IAA الداخلية مصحوباً بانخفاض في فعالية انزيم IAA- Oxidase . بالاضاقة الى ذلك، فقد وجد أيضاً انخفاضاً في فعالية انزيم Peroxidase مصحوباً بانخفاض في محتوى اللكنين Lignin خلال تكوين الجذور.

أما فيما يتعلق بأيض الاوكسينات، فيتم تخليق الاوكسين IAA من الحامض الاميني التربتوفان Tryptophan . وقد أفترضت ميكانيكيات لتكوين IAA وفي كل منها تفقد مجموعة الامين ($-NH_2$) وكذلك مجموعة الكاربوكسيل (COOH- ) من الحامض الاميني التربتوفان،

وكذلك تكوين مجموعة كاربوكسيل طرفية جديدة. ان الانزيمات الضرورية لتحويل التربتوفان الى IAA تكون فعالة في الانسجة الفتية المتطورة كالانسجة المرستيمية والاوراق والثمار الفتية والجذور. ولهذا يعتقد بان فعالية الاوكسين تكون عالية في هذه الاعضاء النباتية المذكورة. كما وجد ان تكوين IAA يتطلب الزنك في بعض النباتات وبذلك يقل نمو سيقان بعض النباتات في حالة نقص الزنك. وان تركيز الاوكسين الموجود بصورة طبيعية في النباتات يتأثر بنوع العملية الفسيولوجية التي تسبب تكوين أو هدم الاوكسين(محمد واليونس،١٩٩١).

هنالك عدة طرائق لهدم الاوكسين وهي الطريقة الانزيمية بواسطة الانزيم IAA-Oxidase ، حيث يتأكسد الاوكسين بالاوكسجين الحر ويتحرر $CO_2$ ويتطلب الامر وجود نوع من Flavoprotein المختزل وانزيم Peroxidase ويحدث التفاعل بالصورةالاتية:-

$$\text{Protein-FADH}_2 + O_2 \xrightarrow[\text{Oxidase}]{\text{IAA}} \text{Protein-FAD} + H_2O_2$$

Red.Flavoprotein Oxid.Flavoprotein

$$\text{IAA} + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Peroxidase}} CO_2 + \text{Indole aldehyde}$$

ويظهر ان ناتج التفاعل يختلف بأختلاف النباتات. كما وجد ان الانزيم IAA-Oxidase يفقد فعاليته بوجود بعض المركبات الفينولية مثل Caffeic acid، Quercetin و Chlorogenic acid وبعض المركبات الفينولية الاخرى الحاوية على مجموعتين هيدروكسيليتين على مواقع الاورثوOrtho بالنسبة لحلقة البنزين، وبالتالي زيادة مستوى وفعالية الاوكسين. ومن جانب أخر فان فعالية الانزيم IAA-Oxidase تزداد بفعل بعض المركبات الحاوية على مجموعة هيدروكسيل واحدةMonophenols مثل المركب *P*-Coumaric acid الذي يسبب انخفاض في مستوى الاوكسين (ديفلين،١٩٨٥).

أشار Hopkins (١٩٩٩) الى ان فعالية الانزيم IAA-Oxidase تزداد بصورة عامة في الانسجة البالغة، والانسجة المتوقفة عن النمو مقارنة بالانسجة الفتية، والانسجة النامية بشكل فعال والتي تحتاج كميات عالية من الاوكسين. كما لوحظ ان الهدم التأكسدي Oxidative breakdown هي الطريقة الوحيدة التي لا تتعارض مع أزالة الاوكسين، وربما تكون مهمة في تنظيم الاستجابات المشفوعة بالاوكسين IAA- mediated responses . وعلاوة على ذلك، ان خزين الاوكسين بشكل أوكسينات مرتبطة يجعلها محصنة ضد الهجوم التأكسدي Oxidative attack .

## (١-٤) البورون Boron

يعد البورون من العناصر الغذائية الضرورية Essential microelements التي يحتاجها النبات بكميات قليلة ويوجد بشكل حامض ضعيف $H_3BO_3$ في الترب والنباتات. حيث بين Hopkins (١٩٩٩) انه الشكل المفضل للامتصاص من قبل الجذور. يوجد حامض البوريك بشكل رئيسي في جدار الخلية (حيث يشكل ما يقرب ٢.٩-٩.٨% من الجدار الخلوي للانواع المختلفة من النباتات) (Matoh *et al.*١٩٩٣; Matoh,١٩٩٧)، وذلك بسبب ميل البورون لتكوين أسترات مع السكريات المتعددة لجدار الخلية كالمانوز ومشتقاته بهيئة Cis-diol ، بينما الكلوكوز والفركتوز والكالاكتوز لا ترتبط مع البورون لانها تفتقر الى مثل هذه الهيئة (Hopkins, ١٩٩٩) .

يلعب البورون دوراً مهماً في العديد من الوظائف الفسيولوجية ومنها دوره في تكوين الجذور العرضية، حيث يعمل على تحفيز نمو وتكشف البادئات الجذرية Primordia وتحولها الى جذور مرئية (Gorter,١٩٥٨). ومن أدواره الاخرى كعامل مساعد في العديد من التفاعلات الانزيمية وبشكل خاص تلك التي لها علاقة بالتصنيع الحيوي للاحماض النووية (Krueger *et al.*,١٩٧٩). كما يساعد في انتقال السكريات داخل النبات من خلال تكوين معقدات مع السكر (معقد البورات– السكر)، وبهذا تنتقل السكريات بسهولة عبر الاغشية (Gauch & Dugger, ١٩٥٣). وقد قام Matoh وجماعته (١٩٩٣) بأستخلاص هذا المعقد من الغشاء الخلوي لجذور الفجل. كما أشار الاخير (١٩٩٧) الى ان البورون لا يرتبط مع السكر فحسب، بل يعمل على ربط تصالبي Cross-links لسلسلتين من البكتين – السكريات وتكوين شبكة من هذا المعقد في جدار الخلية.

ان نقص البورون في النباتات يسبب ظهور علامات وأعراض مميزة على النبات ومنها شذوذ تركيبه في الجدران الابتدائية للخلايا، وتثبيط انقسام الخلايا وأستطالتها في الجذور الاولية والثانوية مسبباً جذور متقزمة قليلة الكثافة. ويثبط أيضاً انقسام الخلايا في قمة الساق والاوراق الفتية متبوعاً بنخر المرستيم. أضافة الى ذلك، فان تثبيط انقسام وأستطالة الخلايا الناتج عن نقص البورون يكون مصحوباً بزيادة فعالية الانزيمات التي تؤكسد هرمون الاوكسين IAA أو نقصان في محتوى RNA (Hopkins,١٩٩٩). كما لاحظ Cohen و Albert (١٩٧٤) توقف أستطالة الجذور في النباتات التي تعاني من نقص البورون، حيث يعد عنصراً أساسياً لاستمرار التخليق الحيوي للحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA Biosynthesis ، والانقسام الخلوي Mitosis.

أما بالنسبة لدور البورون في تكوين الجذور العرضية، فقد أشار Middleton وJarvis وBooth (١٩٧٨) الى ان نشوء البادئات الجذرية يستحث بالاوكسين فقط، ولكن هذه البادئات الجذرية لاتتحول الى جذور مرئية في غياب البورون المجهز من الخارج وخاصة في عقل الماش *Phaseolus aureus* Roxb. var. Berkin المأخوذة من بادرات نامية في الضوء .وهذا يتفق مع ما ذكره Hemberg (١٩٥١). كما بين Shaheed (١٩٨٧) ان حاجة عقل الماش للبورون لكي تتحول البادئات الجذرية الى جذور مرئية تظهر بعد ٤٨ ساعة من انتهاء المعاملة بالاوكسين التي تستغرق ٢٤ ساعة، بحيث لاتتجاوز أضافته ٧٢ ساعة الاولى من أخذ العقل. وقد أقترح الاخير ان البورون يعمل على خفض مستوى الاوكسين IAA عن طريق زيادة فعالية انزيم IAA-Oxidase، ان هذا قد يحصل عن طريق أتحاده مع مركبات Orthodiphenols (التي تعمل كحاميات للاوكسين من الفعالية الانزيمية)، وبالتالي سحبها وفسح المجال لانزيم IAA-Oxidase لممارسة دوره في تحطيم IAA، ونتيجة لذلك ينخفض مستوى الاوكسين ليبدأ طور النمو والتكشف وتكوين الجذور المرئية Visible roots .

قد يعود تجذير ضروب نباتية متعددة دون الحاجة الى تجهيزها بالبورون من الخارج الى وجود البورون بنسبة قليلة جداً كـ Contaminant ، كأن يكون موجوداً في الماء المستخدم في تحضير المحاليل أو وسط الزرع أو حاويات الزرع (Middleton *et al.*,١٩٧٨). وأستنتج Weiser وBlaney (١٩٦٠) من دراسة أجراها بهدف تحسين أستجابة التجذير في عقل نبات الايلكس الانكليزي ( English Holley ) عند معاملتها بالبورون ممزوجاً مع IBA زيادة في نسبة التجذير وسرعة التجذير الذي يعود في الظاهر apparently الى التفاعل التأزري Synergistic reaction بين الاوكسين والبورون، حيث ان البورون لوحده ليس له تأثير في نشوء الجذور. كما تظهر الخلايا الناقصة للبورون Boron- deficient cells فعاليات مستحثة للانزيمات (oxidative-enzymes-polyphenol oxidase) ، وانزيمات aldehyde oxidase، catalase و peroxidase مما يدل على ان البورون أما ان يكون مثبطاً لتلك الانزيمات، أو يعمل على أختزال المواد الاساس الطبيعية لتلك الانزيمات عن طريق تكوين معقدات borate-di-phenol complexes.

## (١-٥) ظاهرة التعمير وعلاقتها بإستجابة العقل للتجذير:-

يقصد بالشيخوخة أو التعمير Ageing انخفاض الفعاليات الحيوية بصورة تدريجية أو مفاجئة كتدهور الرايبوسومات والـ rRNA في الاوراق الناضجة (Makrides& Goldthwaite,١٩٨١)، أو تحطم الكلوروفيل والبروتينات والاحماض النووية (Wickliff & Aronoff,١٩٦٢;Woolhouse,١٩٦٧;Lewington, Talbot and Simon,١٩٦٧;Wheeler ١٩٦٨;Jana& Choudhuri,١٩٨٢ ; Sarath *et al.*,١٩٨٦ ). كما يحصل تغير في خواص ومكونات الغشاء البلازمي خلال الشيخوخة والتعمير (Mckersie *et al.*,١٩٧٩; Lurie & Ben-Yehoshua, ١٩٨٦). وان من الصعوبة تحديد موعد بدء ظاهرة التعمير في الكائنات الحية، ولكنها في الغالب هي مجمل العمليات التي تحدث بعد النضج Maturity (Gorter,١٩٧٢) . وان التغيرات التي تحدث خلال التعمير عكسية ويمكن السيطرة عليها كلياً أو جزيئاً ولكن الاستمرار دون أيقافها يؤدي بالكائن الحي الى الشيخوخة فالموت، وعليه يمكن أعتبار التعمير على انها بداية مسار طويل يؤدي الى الشيخوخة (Carr& Pate,١٩٦٧) . فقد أشار Medwar (١٩٥٧) الى العلاقة بين المصطلحين وذكر بان التعمير هو التغيرات الحاصلة مع الوقت دون الاشارة الى التطور الطبييعي للموت، بينما الشيخوخة تشير الى العمليات الطبيعية التي تؤدي الى الموت. وبين Beutelmann و Kende (١٩٧٧) بان هنالك تغيرات مرافقة لظاهرة التعمير كانخفاض مستوى الدهون المفسفرة في أغشية نبات *Ipomoea tricolor* cav. قبل ظهور أي علامة تدل على الشيخوخة. ووصف Ting (١٩٨٢) التعمير بانه عمليات تقود الى الشيخوخة وهي الطور النهائي من النمو والذي يؤدي الى الموت.

ان حدوث أي تغير Alteration أوتحوير Modification في مكونات الغشاء Membrane Composition أو بنيته (Configuration) Architecture يؤدي الى تغير في وظائفه كزيادة النفاذية ( Hoppe & Heitefuss,١٩٧٤b,c ) التي تحصل خلال نضج الثمار ( Ben-Yehoshua,١٩٦٤ ; Sacher,١٩٧٣) أو عند أصابة نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* بفطر *Uromyces phaseoli* فانها تؤدي الى حدوث تغير في خواص الغشاء ويحفز من خلالها نضوح الالكتروليتات والاحماض الامينية من انسجة الاوراق المصابة ( Hoppe & Heitefuss,١٩٧٤a ). كما بين (Mckersie&Stinson,١٩٨٠; Davide, Nelson and Sanders,١٩٩٤) ان نضوح الالكتروليتات دليل على تغير في نفاذية الغشاء، أو عند تعجيل تعمير البذور صناعياً (Parrish & Leopold, ١٩٧٨) وغيرها من التغايرات التي يرافقها تدهور في الغشاء وفقدانه لصفة النفاذية الاختيارية.

يحدث خلال تعمير الانسجة النباتية تغير في خواص ومكونات الغشاء البلازمي من بروتين ودهون مفسفرة. فقد أشار(Hancock, ١٩٧٩; Hancock, ١٩٨٣) الى ان التغيرات تحصل في الدهون المفسفرة ثنائية الطبقة. كما يحدث نقصاً في مستوى الدهون المفسفرة في انسجة نبات *Ipomoea tricolor* cav. المعمرة وذلك نتيجة لتحطمها أو نقص في بنائها أو كلاهما (Beutelmann&Kende,١٩٧٧). وهذا يتفق مع ما ذكره (Shaheed & Jabour,٢٠٠٤) من حدوث انخفاض في مستوى الدهون المفسفرة وبنسبة ٥٠% في عقل الماش المعمرة مقارنة بالعقل الطرية مما يؤدي هذا النقص في مستوى الدهون المفسفرة الى تغير في سلوكها(Mckersie&Thompson,١٩٧٧;Mckersie& Thampson,١٩٧٩). مثال ذلك ، زيادة اللزوجة الدقيقة Microviscosity لإغشية الاوراق التويجية لنبات الروز (Borochov *et al.*,١٩٧٨) وأغشية ثمار الفلفل الاخضر والاحمر . *Capsicum annum* L cv.Maor ( Lurie & Ben-Yehoshua,١٩٨٦ ) أثناء التعمير. كما تحصل تغيرات هامة في محتوى وخواص الدهون المفسفرة عند تعمير جذور نبات Cassava (*Manihot esculentu* Crantz,c.v) (Lalaguna & Agudo,١٩٨٨; Lalaguna &Agudo,١٩٨٩). كما يقل نشاط وحيوية البذور أثناء التعمير (Gorecki *et al.*,١٩٨٩a; Gorecki and Mierzejewska, ١٩٨٩) .

أشارت بعض الدراسات الى دور الجذور الحرة Free radicals في تحفيز أكسدة الدهون Peroxidation والضرر الذي تلحقه بالغشاء البلازمي (Leshem,١٩٨١) . كما يحصل تحطيم في البروتينات الخلوية خلال تدهور البذرة بسبب التعمير وقد لوحظ أيضاً ان الانزيم L-Isoaspartyl methyltransferase يقوم بإصلاح البروتينات المتحطمة في بذور الطماطة Mill *Lycoperiscon esculentum* المعمرة. وحديثاً فقد أشار Shaheed و Jabour (٢٠٠٤) الى ان انخفاض كمية البروتين والدهون المفسفرة كان مصحوباً بإضطراب نفاذية الاغشية والذي يحدث أثناء تعمير عقل الماش *Phaseolus aureus* Roxb. ، مما أدى الى زيادة التدفق الخارجي (Leakage) والذي تم قياسه بدلالة electrolytes leakage ، حيث أزداد في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية.

تؤدي التغيرات التي تحدث خلال التعمير الى انخفاض إستجابة التجذير في العقل، وهذا ما لاحظه قلة من الباحثين. فكان أولهم Middleton وJarvis وBooth (١٩٨٠) حيث وجد ان عقل الماش *Phaseolus aureus* Roxb. var.Berkin المعمرة والتي حفظ جزؤها القاعدي في الماء الخالي من العناصر Deionized Water خلال التعمير ولمدة ثلاثة أيام مع بقاء الاوراق الاولية معرضة للضوء المستمر، ينخفض فيها معدل التجذير مقارنة بالعقل التي حجب عنها الضوء خلال المعاملة اللاحقة بالاوكسين والبورون فقط (أي حجب الضوء عن أوراقها الاولية خلال مدة التعمير). وعليه فقد أقترح الاخير بان العقل التي عرضت أوراقها الاولية للضوء خلال مدة التعمير قد أصبحت تعاني من نقص البورون (أي ان الضوء أستحث الحاجة الى البورون) في وقت مبكر مقارنة بالعقل التي حفظت أوراقها خلال نفس المدة بالظلام Darkness فقط. أما إستجابة التجذير الفقيرة للعقل المعمرة فقد ترتبط مع نقص البورون Boron deficiency. تكون إستجابة عقل الماش للتجذير (تكوين عدد كبير من الجذور) عندما تكون هذه العقل طرية، بينما تنخفض هذه القابلية على التجذير تدريجياً عند تعمير العقل في الماء المقطر قبل معاملتها بالاوكسين IBA (Shaheed,١٩٨٧ ). اذ أشار الى عدة نقاط منها:-

١- انخفاض معدل النتح Traspiration للعقل المعمرة بزيادة التعمير مقارنة بنتح العقل الطرية.
٢- انخفاض معدل أخذ الاوكسين Auxin uptake المجهز قاعدياً للعقل والذي قد يرتبط أو يتلازم مع انخفاض النتح في العقل المعمرة.
٣- الانتقال العلوي للاوكسين Acropetal transport of auxin من منطقة السويقة تحت الفلق Hypocotylبأتجاه الاوراق ينخفض أيضاً في العقل المعمرة بغض النظر عن الكمية التي تم أخذها من قبل السويقة تحت الفلق للعقل المعمرة.
٤- ان الانتقال القاعدي للاوكسين Basipetal transport of auxin ينخفض أيضاً في العقل المعمرة في حالة أستخدام IAA- $C^{14}$ للاوراق الاولية ومتابعة انتقاله وتجمعه في منطقة نشوء الجذور العرضية.

## (١-٦) المفاهيم العامة للتعمير:-

وضعت عدة مفاهيم لظاهرة التعمير حسب الحالة الفسيولوجية المدروسة وهي:-

أولا:- التغيرات الكيميائية الحياتية والوراثية التي تؤدي الى الشيخوخة التدريجية فالموت للخلية ، أو الكائن الحي (Coombs,١٩٨٦).

ثانيا:- فقدان أو قلة إستجابة الانسجة النباتية للاوكسين (محمد واليونس،١٩٩١).

ثالثا:- الظاهرة التي تمتاز بكونها هدمية Degenerative ، متطورة Progressive (Davies,١٩٨٣). يحدث خلالها انخفاض في محتوى الدهون المفسفرة (Lalaguna & Agudao,١٩٨٩ )، وفي البروتينات (Reuzeau, Goffner and Gavalie,١٩٩٢) وDNA (Wel,١٩٩٢)، RNA (Zalewski,١٩٩٢) والكلوروفيل. كما تمتاز بزيادة فعالية العديد من الانزيمات مثل انزيم Lipoxygenase (LOX) و Protease و DNase وChlorophyllase (Kar&Mishra,١٩٧٦)

أما بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل فانها تعني انخفاض قابلية العقل على تكوين الجذور العرضية في حالة تأخير معاملتها بالاوكسين وذلك بحفظها بالماء المقطر لمدة معينة (Jarvis,١٩٨٦ ).

## (١-٧) أكسدة الدهون :- Lipid peroxidation

هي عملية أيضية تحدث في الظروف الطبيعية. وتتكون من ثلاث مراحل وهي مرحلة الابتداء Initiation phase، ومرحلة التكاثر Propagation phase ، ومرحلة الانتهاء Termination phase ( Blokhina ,٢٠٠٠ ). في مرحلة الابتداء، يتفاعل الاوكسجين الجزيئي أو الجذر الحر مثل جذر الهيدروكسيل الفعال جداً (OH·) Hydroxyl radical مع الحامض الدهني غير المشبع ليكون الجذر الحر Fatty acyl free radical عن طريق أزالة الهيدروجين من مجموعة المثيلين Methylene group المجاورة للاصرة الثنائية في الحامض الدهني. ان وجود عوامل Pro-Oxidant factors مثل المعادن الانتقالية Transition metals (كالحديد والنحاس)، والاشعاع فوق البنفسجي أو المؤين Ultraviolet or ionizing radation يحفز مرحلة الابتداء من عملية أكسدة الدهون (Chesworth, Stuchury and Scaife ,١٩٩٨).

ان الاحماض الدهنية غير المشبعة Polyunsaturated fatty acids (PUFA) هي المكونات الرئيسية لدهون الغشاء، وتكون حساسة لعملية الاكسدة (Blokhina ,٢٠٠٠) Peroxidation (الشكل-١)، وتحدث عملية الادامة عندما يتفاعل الجذر الدهني ( fatty acyl radical) مع الاوكسجين الجزيئي ليكون Fatty acyl peroxide radical، والذي بدوره يكون جذر حر جديد، أي يؤدي الى انتاج Fatty acyl hydroperoxide radical.

$$RH + O2 \longrightarrow R^{\cdot} + HO^{\cdot}_2$$

$$RH + OH^{\cdot} \longrightarrow R^{\cdot} + H_2O$$

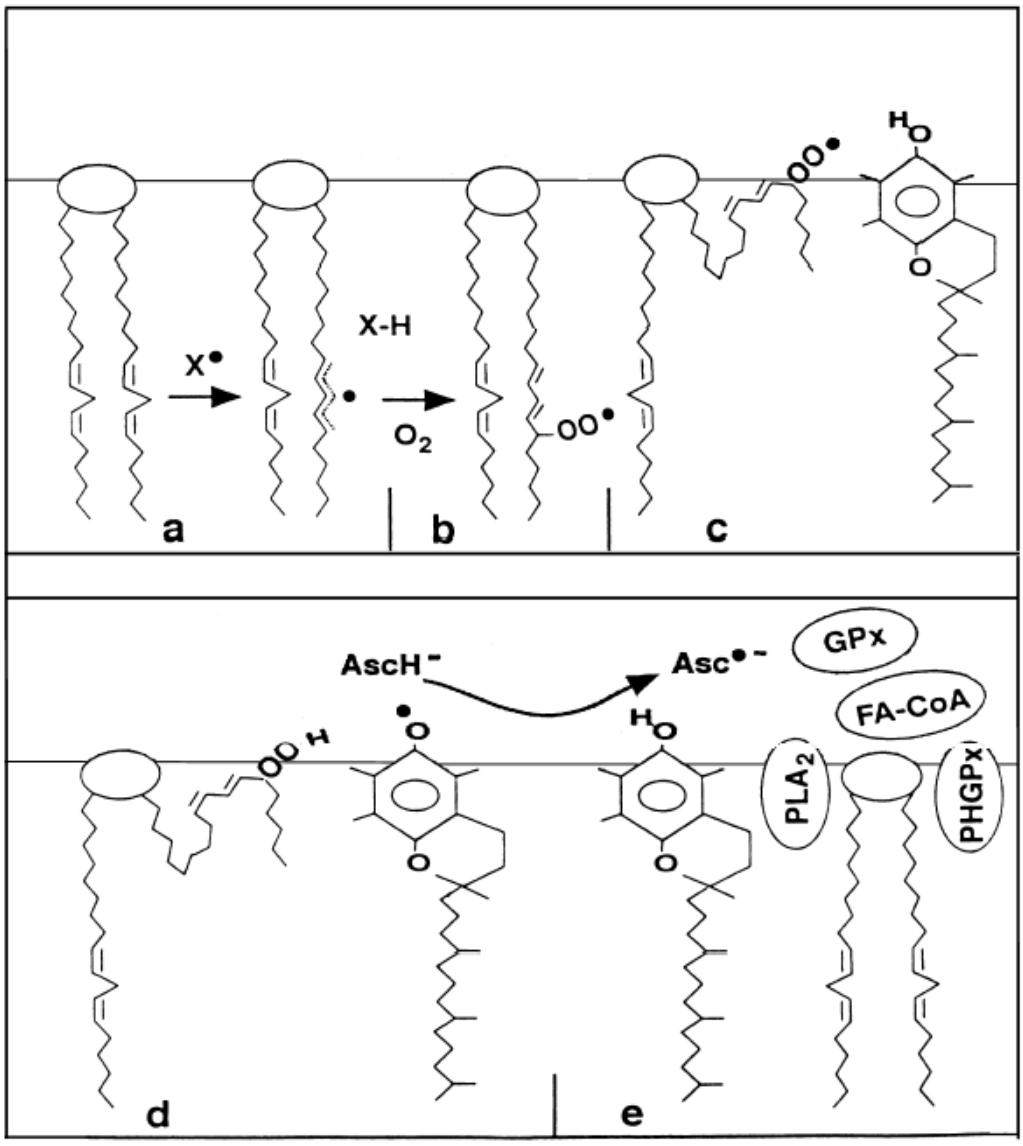
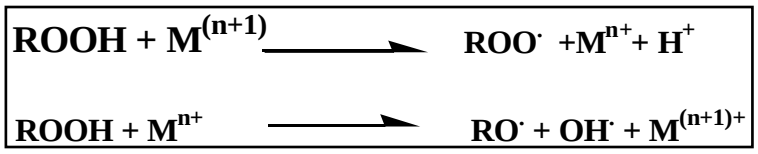



Figure (١). Membrane Lipid Peroxidation. (a) Initiation of the peroxidation process by an
oxidizing radical X•, by abstraction of a hydrogen atom, thereby forming a pentadienyl radical. (b) Oxygenation to form a peroxyl radical and conjugated diene (c) Peroxyl radical moiety partitions to the water–membrane interface where it is poised for repair by tocopherol. (d) Peroxyl radical is coverted to a lipid hydroperoxide, and the resulting tocopherol radical can be repaired by ascorbate. (e) Tocopherol has been recycled by ascorbate; the resulting ascorbate radical can be recycled by enzyme systems. the enzymes phospholipase A٢ (PLA٢), phospholipid hydroperoxide Glutathione peroxidase (PH-GPx),Glutathione peroxidase (GPx) and fatty acyl-coenzyme A (FA-CoA) cooperate to detoxify and repair the oxidized fatty acid chain of the phospholipid. (from Buettner ١٩٩٣).

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

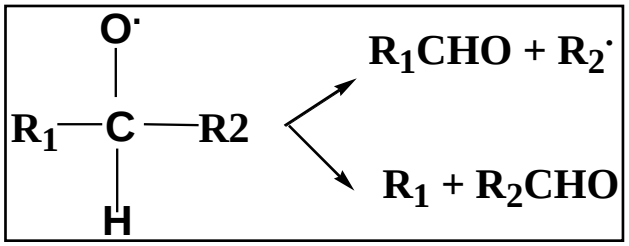
$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

يعاني جذر Fatty acyl hydroperoxides (ROOH) تحولاً لينتج جذور Fatty acyl peroxide، الذي أيضاً ينشأ الاكسدة، أو قد يتحول الى جذور الكوكسي alkoxy radical. تحفز هذه التحولات بشكل كبير بفعل وجود المعادن الانتقالية (Chesworth *et al.*,١٩٩٨).




تكون جذور الكوكسي مركبات غير مستقرة Unstable compounds، والتي تعاني عملية كسر السلسلة Chain fragmentation، حيث تعرف هذه العملية بـ β-scission لتنتج جذور الالكيل وألديهايدات عطرية ذات وزن جزيئي واطئ ( Low molecular-weight volatile aldehydes) مثل Octanal، Nonanal، ٢-decenal و ٢-undecenal. ان بعض هذه المركبات الانفة الذكر مسؤولة عن النكهات والروائح الكريهة الخاصة بالاغذية الدهنية المتعفنة.

شكل يوضح β-Scission لجذر Alkoxy لتنتج جذور الالكيل Alkyl والالديهايد .




تحدث مرحلة الانتهاء Termination phase عندما تتفاعل الجذور الحرة مع بعضها سوية أو مع المركبات مكسورة السلسلة Chain-breaking compounds لتنتج جزيئات مستقرة التي لاتنشأ ولاتعاني عملية الادامة فيما بعد الاكسدة (Chesworth *et al.*, ١٩٩٨).

تؤدي الاكسدة المنظمة بفعل انزيم LOX (Siedow,١٩٩١) الى تكوين مجموعة من المواد الفعالة من الجذور الحرة ، والهايدروبيروكسيدات، ونواتج ثانوية ناتجة من أكسدة الالديهايد. تعتمد حساسية الدهون للاكسدة في البذور المعمرة على وجود المواد الوقائية Protective Substances التي تسمى بمضادات الاكسدة(مثلTocopherols ،وفيتامين C ، والكلوتاثيون و β-Carotene) (Priestly,١٩٨٦ ; Wilson & McDonald,١٩٨٦) ، ونفسها تؤكسد وتتحطم في هذه العملية. كما ان أضافة مضادات الاكسدة يؤدي الى تمديد مرحلة الادامة حتى تختزل فعالية مضادالاكسدة (Chesworth *et al.*,١٩٩٨ ).

وقد لاحظ Shalata وNeuman (٢٠٠١) ان أضافة حامض الاسكوربك الى بادرات الطماطة *Lycoperiscon esculentum* Mill.cv.M٨٢ يختزل أكسدة الدهون ويزيد مقاومة البادرات للملوحة. كما وجد Kelley وجماعته (١٩٩٩) ان Nitric Oxide يثبط أكسدة الدهون المستحثة بالحديد (Iron-induced Lipid Peroxidation) في خلايا Human Leukemia-(HL-٦٠) ٦٠ من خلال عمله كمضاد أكسدة، حيث يعمل على أعتراض سبيل جذور البيروكسيل Peroxyl radicals الحاملة للسلسلة. كما ان وجود مضادات الاكسدة الاولية بكميات ضئيلة ربما يؤثر على مرحلة الابتداء بتفاعلها مع جذر الدهن Lipid radical أو تثبط خطوة الادامة بتفاعلها مع جذر البيروكسيل Peroxyl radical أو جذر الكوكسيل Alkoxyl radical (Jadhar *et al.*,١٩٩٦) ، وربما يتداخل الجذر الحر المضاد للاكسدة مرة أخرى مع تفاعلات أدامة السلسلة

Chain propagation reactions لتكوين مركبات مضادة للاكسدة البيروكسيدية Peroxy antioxidant Compound. كما وجد Liang وجماعته (٢٠٠٣) انخفاض معدل أكسدة الدهون في جذور الشعير (*Hordeum vulgaris*L.) المعرضة للاجهاد الملحي Salt Stress عند تجهيزها بالسليكون. وبين Dhindsa وPlumb-Dhindsa و Reid (١٩٨٢) زيادة عملية أكسدة الليبيد في الاوراق الشائخة من نبات *Avena sativa* L.cv.victory وأقراص من أوراق نبات *Rumex obtusifolius* L.

## (١-٨) انزيمات اللايبوكسجينز

**Lipoxygenases (Linoleate: Oxygen Oxidoreductase)**

هي انزيمات (dioxygenase) التي تنظم أضافة الاوكسجين الجزيئي الى الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة (PUFA) Polyunsaturated fatty acids المحتوية على مجموعة (Cis,Cis-١,٤-pentadiene). حيث تؤكسد الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة الى هايدروبيروكسيدات الحامض الدهني Fatty acid hydroperoxides كما في المعادلة الاتية:-

حيث يحتوي الحامض الدهني ((C١٨:٣) Linolenic acid) مثل هذه المجموعة أعلاه ويكون متوفراً بشكل كبير في معظم الانسجة النباتية. وكذلك يحتوي الحامض الدهني

**Unsaturated fatty acid + $O_2$ $\xrightarrow{\text{LOX}}$ Peroxide derivative of unsaturated fatty acids**

((C١٨:٢) Linoleic acid) على هذه المجموعة أيضاً ويوجد بتراكيز عالية في البذور والاجنة (Hildebrand *et al.*,١٩٨٨ ).

يؤكسد الحامض الدهني Linoleic acid عند ذرتي الكاربون السادسة والعاشرة، بينما بقية الحوامض الدهنية المتعددة غير المشبعة فتؤكسد عند ذرة الكاربون السادسة فقط. ان نواتج عملية Oxygenation الاساسية هي أيزوميرات hydroperoxide Isomerase ٩ & ٣ (Thorell, Holman and Akeson, ١٩٤٧). كما أتضح بان الحديد الموجود في انزيم (LOX) بقدر ذرة واحدة لكل جزيئة من الانزيم، ويشترك في نقل الالكترون خلال أتحاد الاوكسجين بالحوامض الدهنية غير المشبعة المحتوية على ترتيب ( Cis,Cis-١,٤-pentadiene ) كما ياتي:-س

**$CH_3$-$(CH_2)_4$-CH=CH-$CH_2$-CH=CH-$(CH_2)_7$-COOH**

**Linoleic acid**

**Linoleate + $O_2$ $\xrightarrow{\text{LOX}}$ 13-Hydroperoxyoctadeca-9,11,dienoate**

يحتوي الانزيم ( LOX ) على أيون الحديد III ($Fe^{+3}$) ويختزل LOX الى الشكل الذي يكون محتوياً على $Fe^{+2}$ II .

درس الدور الفسيولوجي لهذا الانزيم في العديد من النباتات مثل فول الصويا Soyabean ، والحنطة Wheat، والشعير Barley، والتبغ Tobacco، والطماطة Tomato، والبطاطا Potato. كما درس في نبات الماش Mung bean والفاصوليا البنفسجية navy beans والفاصوليا الخضراء green beans والبزاليا Peas والفول السوداني Peanuts، وفي الحبوب كالشوفان والحنطة والشعير والذرة (Tappel,١٩٦٣). تعد نباتات الفصيلة البقلية (Fabaceae) مصادر جيدة لانزيم LOX (Harwood,١٩٩٧ ).

هنالك نوعين من انزيمات LOXs وهي ، النوع الاول:- يكون فعال أتجاه الحوامض الدهنية الحرة. والنوع الثاني:- يكون فعال جداً أتجاه الحوامض الدهنية المرتبطة بالآستر (Ester bound fatty acids ) (Chesworth *et al.*,١٩٩٨ ).

تنظم انزيمات LOXs تفاعلات Co-Oxidation. كما تستخدم تلك الانزيمات لقصر الصبغات الطبيعية مثل كاروتينات الحنطة Wheat أو كلوروفيل الجت alfalfa bleaching . ولهذا السبب يضاف دقيق فول الصويا Soyabean، أوالباقلاء (الفول) Broad bean (كلاهما غني بالانزيم) الى دقيق الحنطة وبالتالي انتاج دقيق أبيض. تختلف الانزيمات مختلفة المصادر في قابليتها على Co-Oxidation التي ربما تعتمد على فترة بقاء Lifetime الجذورالحرةالوسطيةFree radical intermediates (Dey & Harborne,١٩٩٧).

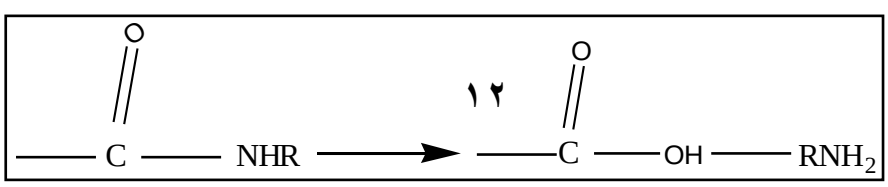
تختلف هذه الانزيمات ذات المصادر المختلفة بعدة نقاط منها خصوصية المادة الاساس Substrate specificity، والاس الهيدروجيني الامثل، وتاثيرات المثبطات، والشكل الايزوميري Isomeric form لنواتجها.وقد وجدت أيزوميرات لانزيم LOX في فول الصويا (Goodwin & Mercer,١٩٨٥).

أجريت العديد من الدراسات لتحديد الظروف المثلى الضرورية لتثبيط انزيم LOX في النواتج Products. تتضمن هذه الدراسات أضافة مضادات الاكسدة، والتحكم بالاس الهيدروجيني pH adjustment، والحرارة. حيث تثبط فعالية الانزيم بواسطة مضادات الاكسدة المختلفة مثل ( homo-catechol, pyrocatechol, phioroglucinol, resorcinol, , propylgallate nordihydroguariaretic acid, hydroquinone butylated hydroxyanisole،والفلافونات المختلفة(O'connor & O'Brien,١٩٩١). حيث تمكن Brown وShrift (١٩٨٢) من تثبيط فعالية انزيم LOX بنسبة ٩٠% بدرجة حرارة (٩١ مئوية) فأكثر.

تلعب انزيمات LOXs في الاوراق دوراً مهماً في نمو وتكشف النبات، وفي الشيخوخة، وفي دفاع النبات ضد الحشرات والعوامل الممرضة وفي التخليق الحيوي للجزيئات المنظمة Regulatory molecules (Vieira *et al.*, ٢٠٠٠).

## (١-٩) انزيمات البروتيز (Proteases (Peptidases

تعد انزيمات Proteases من الانزيمات التي تحلل البروتينات (تحطمها) الى مركبات أبسط مثل الببتيدات Peptides ، والاحماض الامينية Amino acids وتكون هذه الانزيمات من نوع Transpeptidase ، والمجموعة التي تقوم بنقلها هي مجموعة Acyl group . (Bugg,١٩٩٧)



تصنف انزيمات Proteases أعتماداً على المجاميع الموجودة في الموقع الفعال التي تعاني عمليـــة التحطـــيم وهـــي ١-Serine Proteases، ٢-Cystein Proteases، ٣-Metallo Proteases ، ٤-Aspartyl (ASP) or (acid) Proteases . كما تقسم هذه الانزيمـات أيضـاً علـى أسـاس فعـل الانـزيم enzyme action علـى بـوليمرالبروتين الـى Endo-or-Exo-Proteases. تعمل الانزيمات Endo-Proteases على تحطيم بوليمر البروتين بشـكل عشـوائي فـي أي مكـان علـى طـول السلسـلة. أمـا النـوع الثـاني مـن الانزيمـات Exo-Proteases فتعمل على كسر متخصص بالمجموعة النهائية Terminal group من البوليمر.

لقد شخص Distefano وجماعته (١٩٩٧) أيزوميرات لانزيمات Endo Proteases في Peroxisomes التي تم عزلها من أوراق البزاليا.*Pisum sativum* L . كما لاحظ أيضاً ان انزيمات Endoproteases في Peroxisomes من أوراق البزاليا المسنة Senescent leaves (٥٠-Day-old ) أظهرت فعالية عالية جدا مقارنة بعضيات الاوراق الفتية Young leaves (١٥-Day-old). حيث وجدت ثلاث مشابهات انزيمية Endo Proteases Isoenzymes، بينما في الاوراق المسنة فقد وجد أربع مشابهات انزيمية أضافة للانزيمات الثلاثة الموجودة. شخصت ثلاثة منها كانزيمات Serine Proteases، وأثنان كانزيمات Cysteine Protease ، وواحد كانزيم Metallo Protease ، و الاخير كانزيمMetallo-dependent Serine-Protease . كما برهن على وجود الفعالية التحطيمية لهذه ألانزيمات في مكونات خلوية أخرى كالبلاستيدات الخضراء وكذلك في السايتوسل (Vierstra,١٩٩٦)، والجدار الخلوي (Van der Valk & Van Loon,١٩٨٨) والجسيمات الدقيقة Microsomes (Osteryoung *et al.*,١٩٩٢) و المايتوكوندريا(Corpas; Palma and Del Riol, ١٩٩٣) وأجهزة كولجي (Marttila; Jones and Mikkonen, ١٩٩٥).

## (١-١٠) مضادات الاكسدة Antioxidants

لكي تنجو النباتات وتسيطر على مستوى Reactive Oxygen Species (ROS)، وتحمي خلاياها تحت ظروف الاجهاد (الشد) التأكسدي، فيجب ان تحتوي خلاياها على انظمة انزيمية كالانزيمات الكابحة للـ ROS مثل Superoxide dismutase ،Catalase، و Peroxidase، والبعض الاخر غير انزيمية وهي مجموعة من مضادات الاكسدة ذات الوزن الجزيئي واطئ مثل الاسكوربيت والكلوتاثيون ومركبات فينولية و Tocopherols. اضافة الى مجموعة من الانزيمات الضـــرورية لتجديـــد الاشـــكال الفعالـــة مـــن مضـــادات الاكســـدة وهـــي (Dehydroascorbate reductase,Glutathione reductase , Ascorbate peroxidase ) (Makelian *et. al.* ,٢٠٠٠ ).

## (١-١٠-أ) الكلوتاثيون ( GSH ) Glutathione

هو سلسلة ببتيدية ثلاثية الحامض الاميني(γ -L-glutamyl- L-Cysteinyl- glycine) . ويعد من مضادات الاكسدة Antioxidants التي تحمي الخلية من الجذور الحرة التي أذا تركت بدون سيطرة سوف تحطم مكونات الخلية الرئيسية (مثل الاغشية و DNA). كما يلعب دوراً مهماً في دفاع النبات ضد انواع الاجهاد الحياتي واللاحياتي Biotic & Abiotic stresses من خلال دورة Ascorbate/ GSH. كما انه يعمل على أزالة سمية Detoxification العديد من المواد المتأيضة Metabolites المتعلقة بالجذور الحرة مثل البيروكسيدات، كما يحمي تركيب ووظيفة وتغير البروتين من شكل لاخر.

بالاضافة الى ما ذكر من وظائف الكلوتاثيون، فقد لوحظ أيضاً تفاعله مع هايدروبيروكسيد الدهون Lipid hydroperoxide بواسطة الانزيم Phospholipid hydroperoxide



$$2GSH + \text{Lipid hydroperoxide} \xrightarrow{PXGPX} GSSG + \text{lipid} + 2H_2O$$

glutathione peroxidase (PXGPX) ، وبالتالي يوفر الحماية للاغشية من الاجهاد التأكسدي Oxidative stress (Blokhina, ٢٠٠٠) وهذا ما توضحه المعادلة الاتية:-

ويعد الكلوتاثيون كمنظم للتعبير الجيني gene expression (Alscher,١٩٨٩). وهو المخزن الرئيسي للكبريت المختزل Reduced sulphur ( Blokhina, Virolainen and Fagerstedt,٢٠٠٣). وطليع Precursor للفايتوجيلاتينز ( Phytochelatins). وأتضح بان GSHيشترك في تخليق الشكل المختزل من الاسكوربيت وفيتامين E (أو Tocopherol)، والحفاظ عليها في حالته الفعالة، اذ ان الجهد الاختزالي التأكسدي السالب يسمح للكلوتاثيون المختزل GSH بمنح الالكترونات لاعادة دورة الاسكوربيت وفيتامين E ( Hausladen & Alscher,١٩٩٣).

ومن أدواره الاخرى، تحمله للمعادن الثقيلية وأزالة سميتها ( Foyer & Rennenberg,٢٠٠٠ ). يحفز أعادة أختزال الكلوتاثيون المؤكسد (GSSG) بواسطة الانزيم Glutathionee Reductase (GTR) بوجود NAD(P)H كمجهز للالكترونات. كما انه يكبح بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$، ويتفاعل لاانزيمياً مع المؤكسدات ROS الاخرى مثل SingletOxygen و Superoxide radical (Blokhina *et al.*,٢٠٠٣).

لقد أوضح Hausladen و Alscher (١٩٩٣) ان البلاستيدات الخضراء تحتوي على (١٠-٦٠) % من المجموع الكلي للكلوتاثيون الخلوي، وان (٦٦-٩٠)% منه يكون بشكل مختزل، في حين ان ٩٨% من الكلوتاثيون خارج البلاستيدات الخضراء يوجد بشكل مختزل.

ان أحد صفات البقوليات وجود شبيه الكلوتاثيون Y-Glutamyl Cysteine-B-Alanine:hGSH، الذي يوجد بدلاً من الكلوتاثيون أو يوجدان معاً. لقد تم أجراء العديد من الدراسات لمعرفة تأثير GSH والمواد الحاوية على مجموعة السلفهيدريل Sulfohydryl groups (SH groups) في أستجابة تجذير عقل الماش لتكوين الجذور العرضية. وأظهر بشكل عام تأثيرات تثبيطية، وتبين انها غير فعالة في التراكيز الواطئة كما هو الحال في مركبات الثيوريا Thiourea، بينما تميز السيستائين Cysteine الذي يحتوي على مجموعة SH بعدم وجود أي فعل تثبيطي بالتراكيز($١٠^{-٦}$-$١٠^{-٤}$ ) مولار (Ferqvist,١٩٦٦). كما أشار Johnstone (١٩٦٣) الى ان المواد Glutathione و Cysteine والتي تحتوي على مجموعة سلفهيدريل حرة ربما تقوم بحماية انزيمات السلفهيدريل من الخمول Inactivation.

كما وجد علوان (٢٠٠٤) الى ان هنالك زيادة غير معنوية في إستجابة تجذير عقل الماش المعمرة لمدة ثلاثة أيام بتراكيز واطئة من الكلوتاثيون ($^{-٦}$ ١٠) مولار مقارنة بعينة السيطرة. وربما يعزى ذلك الى دور GSH كمضاد للاكسدة في دفاع النبات ضد عوامل الاكسدة التي تحدث خلال ظاهرة التعمير.

أشار Hess (١٩٦٥) الى انه في الوقت الذي يكون فيه الكلوتاثيون مثبطاً في التراكيز ($١٠^{-٦}$) مولار فصاعداً، فانه ان يعمل ككابح لبعض العمليات التأكسدية المتعلقة بتكوين الجذور العرضية كما في تفاعل Tryptophan Phenol-Phenol بأعتباره يمثل ألية كامنة في النبات التي ربما تنطلق بواسطة التجريح فتأخذ دورها في الكالس Callus وتكوين الجذور العرضية.

ومن جانب أخر، وجد ان المركب ٣-Methylene Oxiendol ،الناتج من أكسدة الاوكسين IAA ، يعد كاشفاً قوياً من نوع السلفهيدريل ويتفاعل بسرعة مع المواد الاخرى مثل GSH وCOA ومثبطاً فاعلاً جداً للانزيمات المحتوية على SH (توماس،١٩٨٢).

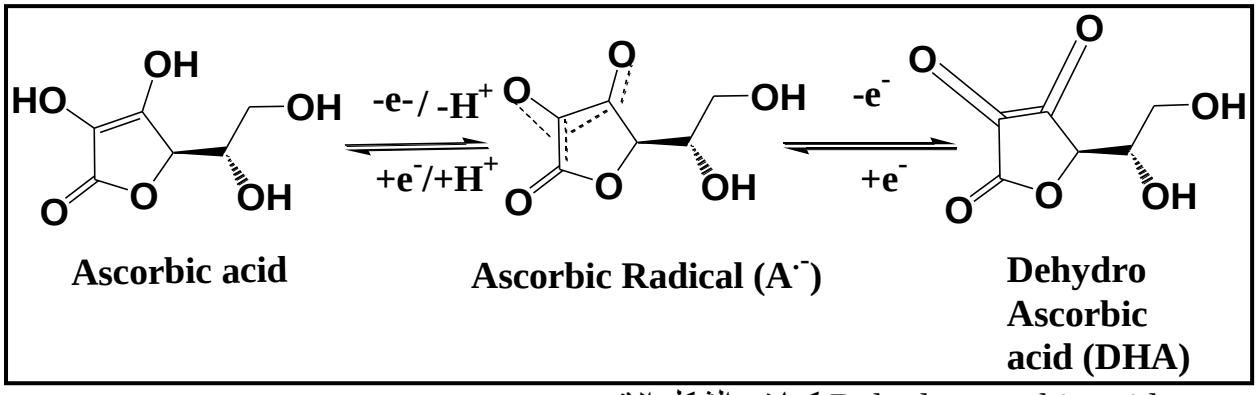
## (١٠-١) فيتامين C (Ascorbic acid)

هو فيتامين ذائب في الماء، وله القابلية على التفاعل مع الجذور الحرة ويعد كمضاد أكسدة كاسر للسلاسل الببتيدية، البروتينية والحوامض النووية chain-breaking antioxidant . ومع

ذلك عند وجود الايونات المعدنية metal ions ، وعند التراكيز العالية من الاسكوربيت فانه يعد كـ Pro-Oxidant (Beyer,١٩٩٤).

للاسكوربيت العديد من الادوار الفسيولوجية المهمة، حيث يلعب دوراً جوهرياً كمضاد أكسدة في البلاستيدات الخضراء. كما أشار Bratt وجماعته (١٩٩٥) الى ان الاسكوربيت في البلاستيدات الخضراء يعد كمادة تفاعل مرافقة Co-Substrate ضرورية لمادة تفاعل عملية De-Epoxidation الخاصة بالفويلازانثين Violaxanthin، حيث يمنح هيدروجين ليتم هذا التحول. كما ان انتظام الانزيم Violaxanthin De-Epoxidase يتم بزيادة تركيز الاسكوربيت في التراكيب الغشائية Lumenal ascorbate . يوجد الاسكوربيت في معظم انواع الخلايا النباتية، في العضيات Organelles وفي Apoplast. يكون معظم الاسكوربيت تحت الظروف الفسيولوجية بالشكل المختزل (٩٠% من محتوى الاسكوربيت ascorbate pool) في الاوراق والبلاستيدات الخضراء (Smirnoff,٢٠٠٠ ).

وبما ان الاسكوربيت ذائب في الماء، فان وظائفه تتم بكفاءة عالية في الحالة المائية aqueous phase للخلية. تعزى قابليته المضادة للاكسدة لعدة أسباب، أولاً:- ان الاسكوربيت وجذر الاسكوربل ascorbyl (الناتج من أكسدة الاسكوربيت) كلاهما يمتلك جهداً أختزالياً reduction potential واطئاً، يتفاعل بشكل كبير مع الجذور البايولوجية الاخرى. ثانياً :- يمتلك جذر الاسكوربل ascorbyl مقاومة واطئة (بسبب الاستقرار الرنيني Resonance stabilization للالكترون غير المشترك) وبهذا يتحول dismutate بسرعة الى أسكوربيت




Dehydroascorbic acid كما في الشكل الاتي:-

وكذلك يشترك في تنظيم دورة الخلية Cell-Cycle من خلال تأثيره على التدرج Progression من المرحلة G١ phase الى المرحلة S phase. كما يشترك في تنظيم أستطالة الخلية(Smirnoff,١٩٩٦) الوظيفة البايولوجية المهمة الاخرى لفيتامين C هي تفاعله مع الايونات المعدنية المتنقلة Transition metal ions الفعالة والتي تعاني أكسدة وأختزال مثل الحديد والنحاس. ويمثل ايضاً كـ Co-Substrate لانزيمات hydroxylas و Oxygenaseالمشتركة في التخليق الحيوي للـ procollagen ، carnitine و neurotransmitters. كما يعمل على كبح مدى واسع من ROS مثل Superoxide anion ، Singlet Oxygen و بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ ، حيث له القابلية على إختزال البيروكسيد Superoxide الى بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ ، ويتفاعل مع Singlet Oxygen بمعدل أسرع نسبياً. وان وجود الاسكوربيت (بصفة واهب للهيدروجين) يقوم بأخماد $H_2O_2$ وأختزاله الى ماء من خلال تفاعل Mehler ascorbate peroxidase reaction (MAP) بواسطة الانزيم Ascorbate Peroxidase (APX) (Swiss,١٩٩٨)، وكذلك فان $H_2O_2$ يفقد سميته في البلاستيدات الخضراء بوجود زيادة من Ascorbic acid. ومن أدواره الاخرى عمله على أعادة دورة جذور α-tocopheroxyl الى α-tocopherol (Fryer,١٩٩٢) .

ان أزالة $H_2O_2$ المحفزة بالانزيم (APX) ينتج عنها تكوين (MDHAsc) والذي يتحلل انزيمياً الى أسكوربيت، أما في ستروما البلاستيدات الخضراء فيختزل MDHAsc انزيمياً الى أسكوربيت بواسطة الانزيم (MDAR) بوجود NADH وNADPH كمركبات واهبة للالكترونات (Hossain, Nakano and Asada,١٩٨٤) . وبالاضافة الى ذلك، فان المركب (MDHAsc)يختزل بواسطة PSI من خلال الفيريدوكسين Ferredoxin (Miyake& Asada,١٩٩٤). ان هذه الانزيمات الثلاثةوبالذات Superoxidemutase (SOD) و(APX) و MDAR تشكل تفاعل MAP (Polle,١٩٩٦) .

تعاد دورة الاشكال المتأكسدة للاسكوربيت وبالذات Monodehydro Ascorbate (MDHAsc) ، و(DHAsc) DehydroAscorbate بفعل نشاط الانزيمات MonoDehydroAscorbate Reductase (MDAR) ، والانزيم DehydroAscorbate Reductase (DHAR) على التوالي بوجود NAD(P)H وGSH على التوالي كمركبات مانحة للهيدروجين.كما وجد Anderson وPrasad وSteward (١٩٩٥) ان هنالك خمسة انزيمات مناظرة للانزيم (APX) في بادرات الذرة. ويعزى نصف المجموع الكلي لفعالية هذا الانزيم في البلاستيدات الخضراء الى أرتباطه بالثايلاكويد Thylockoid bond APX ، والستروما Stromal APX (Asada,١٩٩٢) .

ينتج الاسكوربيت في النباتات الراقية من العمليات الايضية السداسية (Foyer,١٩٩٣ ) حيث لا يبدو ان المركب L-Galacton-γ-Lacyone (GγL) الذي يتحول الى أسكوربيت من المكونات الطبيعية للنباتات الراقية ويخضع هذا التفاعل لسيطرة الانزيم L-alacton-γ-Lactone Dehydrogenase (DeGara *et al.*,١٩٩٤). وبما ان الاسكوربيت مادة تفاعل مرافقة لعملية (De-Epoxidation) الفويلازانثين واللانثرازنثين (Yamamoto, Kamite and Wang, ١٩٧٢) فربما ينتج الاسكوربيت من (GγL) الموجود في البلاستيدات الخضراء.

وقد لوحظ في دراسة أجراها Wise و Naylor (١٩٨٧) على أوراق نبات الخيار، ان الاسكوربيت ربما يقلل تلف التأكسد الضوئي في التراكيز العالية جداً فقط، بينما زيادة الاسكوربيت المجهز من الخارج لم تعطي حماية ضد اجهاد التأكسد الضوئي مقارنة بأوراق السيطرة. تحتوي البلاستيدات الخضراء على ٢٠-٤٠% من الاسكوربيت في خلايا الطبقة الاسفنجية الميزوفيل mesophyll ، كما ان انتشار انواع الاسكوربيت غير المشحونة يتم من خلال الاغشية (Foyer,١٩٩٣).

أما بالنسبة لدور الفيتامينات في إستجابة التجذير في العقل، فقد لوحظ ان الفيتامينات تؤثر على إستجابة تجذير العقل من خلال أجراء العديد من الدراسات ومنها الدراسة التي أجراها Aberg (١٩٦١) اذ لاحظ ان الفيتامينات مثل Nicotinamide و Pyridoxine و Thiamine و Ascorbic acid و Carotene و فيتامين K وadenine أظهرت تأثيرات أيجابية في إستجابة تجذير عقل البزاليا Pea . وأشار Champagant (١٩٦١) الى صعوبة تفاعل الفيتامينات والاوكسينات في معقد الرايزوكالين Rhizocaline Complex . ومن الدراسات الاخرى أيضاً في هذا المضمار ما قام به Fernqvist (١٩٦٦) اذ لاحظ زيادة إستجابة تجذير عقل الفاصوليا beans ( *Phaseolus vulgaris* ) عند معاملتها بفيتامينات كالاسكوربيت والرايبوفلافين، أما عند معاملتها بالادنين والثايمين فأظهرت زيادة قليلة في عدد الجذور المتكونة وينطبق الحال نفسه بالنسبة للتربتوفان Tryptophan. ان تأثير الفيتامينات مقارنة بالاوكسينات قليلة نسبياً، وان إستخدام التراكيز($10^{-3}$ – $10^{-2}$) مولار ضروري للحصول على زيادة معنوية، وربما يكون التخليق الداخلي لهذه الفيتامينات أو الفيتامينات الاخرى هو العامل المحدد في تكوين الجذور العرضية وهذا يتفق مع أقتراحات (Hemberg,١٩٥٣) فيما يخص البايوتين Biotin وفيتامين K.

وهنالك محاولات لمعرفة التأثيرات التأزرية بين التراكيز العالية من الاسكوربيت والاوكسين بتركيز ($10^{-4}$ مولار) وعلاقتها بإستجابة تجذير عقل الفاصوليا *Phaseolus*

*vulgaris* وكانت نتائجها كالاتي :- عدم تأثير الاسكوربيت لوحده في تجذير العقل بالتراكيز ($١٠^{-٧}$ - $١٠^{-٢}$) مولار، حدوث تعاون بين الاوكسين والاسكوربيت بتركيز ($١٠^{-٤}$ مولار) من الاوكسين والتراكيز العالية من الاسكوربيت.

ووجد من محاولات أخرى لإستجابة تجذير عقل نفس النبات، في أختبار تعاضد الاوكسين والاسكوربيت (٢,٣,٥-Triod Benzoic Acid (TIBA ، عدم ظهور أي تأثيرات تثبيطية للاسكوربيت حتى في تركيز ($١٠^{-٢}$) مولار، وحفز الاوكسين على تكوين الجذور العرضية في التراكيز العالية فقط ($١٠^{-٤}$ - $١٠^{-٢}$) مولار وذلك عند مقارنة إستجابة التجذير في العقل المعرضة للضوء وإستجابة التجذير في العقل التي حجب عنها الضوء والتي تبدو أقل حساسية لتراكيز الاسكوربيت (Fernqvist, ١٩٦٦).

كما أشارت Scheuermann (١٩٥٢) الى انخفاض محتوى الاسكوربيت في عقل الفاصوليا النامية في الظلام بنسبة ٣٥% مقارنة بالعقل النامية في الضوء، وعليه أستنتجت الاخيرة بان دور الفيتامينات في تكوين الجذور العرضية ربما يكون في حالة النسيان بسبب تخليقها في النباتات الخضراء، وعند معاملة ايبكوتيلات عقل نبات *Phaseolus multiflorous* بالاسكوربيت بتركيز (١٥٠) جزء بالمليون، كشفت عن زيادة في عدد الجذور بنسبة (٢٢-٢٨)% لكل عقلة مقارنة بالسيطرة. أما في حالة معاملة العقل بالاسكوربيت والاوكسين بتركيز (٤٠) جزء بالمليون، كشفت عن زيادة في عدد الجذور بنسبة (٦٢)% مقارنة بالحالة التي أستخدم فيها الاوكسين بمفرده. وقد يعمل الاسكوربيت كمثبط لانزيم IAA-Oxidase ، من خلال التنافس على الاوكسجين أو من خلال تأثيره في الـ pH ، حيث يكون الاوكسجين أكثر تأثيراً في الاس الهيدروجيني الواطئ المحفز بزيادة تراكيز الاسكوربيت(Brauner & Brauner,١٩٥٤).

كما تم أجراء دراسات لمعرفة تأثير الفيتامينات على زيادة فعالية الاوكسين IAA، وتكوين الجذور في عقل الماش. ووجد عدم ظهور تأثيرات للفيتامين Biotin وفيتامين H بتركيز ($١٠^{-٦}$ - $١٠^{-٣}$) مولار في تكوين الجذور العرضية. بينما أظهرت تأثيراً أيجابياً قليلا بوجود الاوكسين IBA بتركيز ($٥×١٠^{-٤}$) مولار بإستخدام نفس التراكيز من البايوتين (Went & Thiamann,١٩٣٧).

وحديثاً وجد علوان(٢٠٠٤) زيادة معنوية في إستجابة تجذير عقل الماش المعمرة لمدة ثلاثة أيام بمدى (٢٠٠-٥٠٠) جزء بالمليون من فيتامين C مقارنة بالسيطرة. والذي عزاه الى دور حامض الاسكوربك كمضاد أكسدة في مقاومة الاجهاد التأكسدي وما ينتج عنه من انواع الاوكسجين الفعالة (ROS) والجذور الحرة و بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ ونواتج التلف التأكسدي الاخرى.

## (١-١١) المستخلصات النباتية وطبيعة بعض المواد الفعالة فيها :-

لقد حظيت المستخلصات النباتية بأهتمام كبير من قبل الباحثين واستخدمت في شتى المجالات لما تحتويه من مواد فعالة كالقلوانيات والفينولات وغيرها. كما انها لا تترك أثار سلبية على الانسان والبيئة مقارنة بالمركبات الكيميائية المصنعة. ومن المجالات التي استخدمت فيها دورها الكبير في السيطرة على الكثير من الامراض وذلك لفعلها المضاد للمايكروبات (AL-Rawi & Chakravarty,١٩٨٨;Al-Ani, Nadir and Anti- bacterial activity AL-Khazraji,١٩٩٦). ومكافحة الادغال وأبادتها( Abdul- Rahmann & Habib,١٩٨٦)، وفي تثبيط نمو الطحالب (Shaheed *et al*,١٩٩٧)، ومكافحة الحشرات والفطريات (Ofuya , ١٩٩٧ ; Reina *et al*., ١٩٩٧). وأخيراً في تحفيز تجذير عقل الماش من خلال أيقاف أو السيطرة على العمليات التي تحدث خلال التعمير في النباتات. فقد تم أستخدام مستخلصات بذور الحلبة ١% ، وحبة البركة ١% ، واليانسون ١%، والقريص ٠.١% (Shaheed & AL-Alwani ,٢٠٠١) ، والبقدونس ١% ( Shaheed & Jabour , ٢٠٠٤). اذ أظهرت جميع هذه المحاولات نتائج أيجابية في أيقاف ظاهرة التعمير بشكل كبير وجعل العقل المعمرة تستجيب كما لو كانت عقلاً طرية.

تختلف مركبات الايض الثانوية في أماكن تواجدها بأختلاف النباتات فقد تتجمع في الجذور أو السيقان أو الاوراق أو الازهار أو الثمار(Harborne,١٩٨٤;Goodwin&Mercer, ١٩٨٥) . كما يختلف تواجد هذه المركبات من حيث النوعية والكمية في النباتات الراقية وغير الراقية مثل على ذلك توزيع القلويدات في النباتات الراقية يكون شائعا في معراة البذور، بينما يكون محدوداً في مغطاة البذور، أذ ان وجودها يقتصر على عائلتي Poaceae ، Liliaceae ، ومن ذوات الفلقة الواحدة وعلى عائلتي Solanaceae ، و Fabaceae من ذوات الفلقتين.

### (١-١١-أ) القلوانيات :-Alkaloids

هي مجموعة من المركبات الايضية الثانوية وتكون ذات أصول تخليقية مختلفة لكنها تتميز بوجود تركيب يحتوي على النتروجين، والذي يكون مهم للعديد من التأثيرات الصيدلانية Pharmacological effects. وأغلبها سامة للبشر وللحيوانات، حيث تتداخل مع وظيفة الجهاز العصبي، لهذا فانها تكون كوسيلة دفاع مهمة للنباتات من العواشب Anti-herbivore Defence (Hartmann *et al*, ١٩٩٠). وتكون عديمة اللون والعديد منها متبلور مثل الكيوتين ولكن بعضها سائلاً في درجة حرارة الغرفة مثل النيكوتين ومعظمها ذات طعم مر (Ikan , ١٩٦٩) . وتعد الاحماض الامينية هي المادة الطليعة Precursor لتخليق القلوانيات (Harborne,١٩٨٤;Salisbury& Ross, ١٩٨٥). تصنع غالبية القلوانيات في الاوراق ما عدا النيكوتين الذي يصنع في الجذور وينتقل الى الاوراق ليتجمع فيها (Salisbury & Ross, ١٩٨٥). وتكون بعض القلوانيات موجودة في النباتات في أتحاد مع السكريات ( Solanine ) ، بينما تتواجد الاخرى كأميدات حامضية Acid amids (Piperine) أو أسترات Esters (Atropine,Cocaine) (Ikan, ١٩٦٩). قد تعد المركبات النتروجينية الموجودة في الفطريات والكائنات الدقيقة الاخرى كقلوانيات. وقد وجدت القلوانيات في البذور والجذور والقلف وعزلت بطريقة الاستخلاص مع أحماض مخففة (الهيدروكلوريك و الكبريتيك و الخليك) أو مع الكحول ، ويستدل على وجود القلوانيات أما بالمرسبات أو بالكواشف الملونة ( Ikan , ١٩٦٩ ). و تتواجد معظم القلوانيات في العائلة الباذنجانية Solanaceae . ويعتمد مستواها على عمر النبات والورقة( Constabel, ١٩٩٩). كما انها تتراكم في أربعة انواع من الانسجة وهي النسيج النامي الفعال والخلايا الإدمية Hypodermal cells ، والاغمدة الوعائية والاوعية اللبنية Latex vessels. كما توجد في الفجوات ولاتوجد في الخلايا الفتية حتى تتكون الفجوات فيها. واستخدمت القلوانيات في العديد من المجالات الطبية، حيث أستعمل القلواني Cinchanaka في معالجة مرض الملاريا ويمتلك Quinine فعالية ضد الملاريا Antimalarial (Goodwin & Mercer, ١٩٨٥). كما تعد القلوانيات محفزة للجهاز العصبي ولاسيما القلوانيات الا ندولية Indole alkaloids ومنشطة لعضلة القلب وتستعمل في صناعة الادوية والسموم (Langenheim & Thimann,١٩٨٢). وكذلك تستعمل في مكافحة الحشرات وفايروسات الاعشاب. وفي النباتات يعتقد بانها تعمل على نقل كميات من النتروجين في الخشب لنباتات معينة (Salisbury & Ross, ١٩٨٥)، أو تفرز الى خارج النبات لتخليصه من المواد النتروجينية الفائضة عن حاجته أي تعتبر مركبات مزيلة للسمية Detoxification، أو ان القلوانيات تعمل كمركبات حافظة للنتروجين Nitrogen reservoirs ولكن هنالك قليل من الادلة التي تثبت ان القلوانيات تستهلك أثناء تعرض النبات لنقص النتروجين. أو تعمل كمنظمات نموبصورة خاصة كمثبطات للانبات. وكذلك تساعد في الحفاظ على التوازن الايوني Ionic balance بواسطة Chelating power (Goodwin & Mercer, ١٩٨٥) . أما دور القلوانيات الفسلجي في تكوين الجذور العرضية فما زال غامضاً. فقد وجد ان بعضها يعمل محفزاً لتكوين الجذور العرضية في

عقل الماش الطرية. حيث أشار Shaheed (٢٠٠١) الى ان القلوانيات مثل النيكوتين ، ٨- Hydroxyquinoline (٨-HQ) و Harmoline hydrochloride جميعها تزيد من معدل عدد الجذور المتكشفة في التركيز ( ١٠-٤مولاري).

ودرس تأثير بعض القلوانيات مثل النيكوتين والهارمالول Harmalol ، و ٨-HQ في السيطرة على العمليات التي تؤدي الى خفض أستجابة التجذير في عقل الماش المعمرة ( Shaheed , ١٩٩٧ ) الا ان النتائج وصفت على انها غير مؤثرة لجميع التراكيز المستخدمة (١٠-١١ – ١٠-١٣ مولاري).

## (١-١١-ب) التربينات :- Terpenoids

هي مركبات كيمياوية دهنية ذات أعداد مختلفة من ذرات الكاربون التي تشتق من وحدات خماسية الكاربون هي الايزوبيرين Isoprene ($C_5H_8$) وأغلبها ذات تركيب حلقي ومتصلة بواحدة أو أكثر من المجاميع الوظيفية الفعالة كالهيدروكسيل والكاربونيل (Harborne,١٩٨٤ ; Goodwin & Mercer,١٩٨٥ ). وتعتبر Isopentenoid المادة الطليعة precursor للتربينات (Constabel, ١٩٩٩) وتكون مشابهة للمركبات أو الزيوت التطايرية (جانك، ١٩٧٢). وتصنف التربينات كنواتج ثانوية في النبات. وهي عموماً تذوب في الدهون في سايتوبلازم الخلية النباتية في حين تتواجد الزيوت الاساسية Essential Oils في خلايا غدية خاصةعلى سطح الورقة النباتية وهي عديمة اللون عدا الكاروتينات (Harborne ,١٩٨٤) . وتصنف التربينات وفقا لعدد الوحدات الخماسية الى Monoterpenes($C_{10}H_{16}$) و Sesquiterpenes($C_{15}H_{24}$) و Diterpenes($C_{20}H_{30}$) و Triterpenes($C_{30}H_{48}$) و Tetraterpenes($C_{40}H_{64}$) وPolyterpenes$(C_5H_n)_n$ (Ikan,١٩٦٩ ).

ومن وظائف المركبات التربينية في النبات عملها كمنظمات نمو فقد وجد ان حامض الابسيسك Abscisic acid هو من مجموعة Sesquiterpenes بينما الجبرلينات هي من مجموعة التربينات الثانوية Diterpenes . وان الكاروتينات Carotenoids تعمل كصبغات مساعدة accessory pigments في عملية البناء الضوئي. يعد السابونين Saponin من التربينات الثلاثية والتي تكون بشكل مركبات معقدة حيث ترتبط بأكثر من جزيئة واحدة من السكريات. وقد تم الكشف عن السابونين في أكثر من١٧ عائلة نباتية (Tschesche & Wulff ,١٩٧٣ ). حيث ان للتربينات وظائف وقائية في النبات ضد الحشرات والعواشب، كما يمكن أستخدام مركباته لصنع الكورتيزون Cortisone ذي الاستخدامات العلاجية المختلفة(Harborne , ١٩٨٤) .ومن وظائفها الاخرى هي الخضاب Pigmentation وأكتساح الجذور الحرة Free- radical scavenging ومكونات غشائية و متطايرات Volatiles (Harborne,١٩٩٣).

## (١-١١-ج) التانينات :- Tannins

هي مركبات فينولية نباتية متعددة ذات وزن جزيئي يتراوح من(٥٠٠ الى ٤٠٠٠ دالتن)، وتحتوي مجاميع هيدروكسيلية عديدة. تتفاعل مع البروتينات وتحطمها وترسبها من المحلول (Constabel,١٩٩٩). وتعزى قابليتها على ترسيب البروتينات الى تكوينها أواصر هيدروجينية متعددة بين مجاميع Phenolic hydroxyl للتانين ومجاميع النتروجين للبروتين (Goodwin & Mercer,١٩٨٥) . وتكون عضوية غير نتروجينية وتذوب في الماء والكحول ويتغير تركيبها وتفقد خواصها عند حفظها لمدة طويلة Tyler, Brady and Robbers, ) (١٩٨٨. وتتواجد بشكل كبير في النباتات الخشبية المعمرة Woody perenials أكثر من النباتات العشبية. حيث تكون بمستويات تركيبية عالية في الخشب والقلف وبمستويات أوطأ في الاوراق (Swain ,١٩٧٩).

وتقسم التانينات الى مجموعتين هي :- التانينات قابلة التمية Hydrolyzable Tannins والتانينات الكثيفة (المتراصة) أو غير المتميهةCondensed( non-hydrolyzable ) Taninns وتسمى الاخيرة أيضا بـ Proanthcyanidins بسبب سلوكها لتكوين anthocyanidinsبوجود الحوامض.

تؤدي التانينات وظائف مختلفة في النباتات، أذ تساعد في شفاء الجروح ومنع التعفن (التلف)، وكذلك لها دور مهم في تكوين الفلين والصبغات المختلفة. كما تقوم بوظائف دفاعية ضد الطفيليات وقد استخدمت في دباغة الجلود ( Goodwin & Mercer, ١٩٨٥) .

## (١-١٢) المركبات الفينولية :-Phenolic Compounds

هي أهم النواتج الثانوية للأيض الحيوي في النباتات والاكثر تركيزاً وتأتي بالمرتبة الاولى بعد مركبات الايض الاولية وتسمى أيضاً بالمركبات العطرية Aromatic Compounds لرائحتها الخاصة أو المركبات المغلقة لامتلاكها حلقة بنزين التي قد ترتبط بمجاميع عديدة كالهايدروكسيدات والكاربوكسيدات والميثوكسيل، وقد تحتوي على تراكيب أخرى غير مغلقة. وهي مواد ذائبة في الماء ولا توجد حرة في الطبيعة بل مرتبطة برابطة الاستر Ester مع جزيئة سكر مكونة كلاكوسيدات، وتتمركز هذه المركبات في فجوة الخلية Goodwin). & Mercer, ١٩٨٥)

وأشار Dey وHarborne (١٩٩٧) الى ان المركبات الفينولية هي مجموعة من Phytochemicals تتراوح من أحماض فينولية صغيرة الى بوليمرات معقدة. تتضمن الفينولات عدة انواع من الفلافونات والتانين واللكنين وغيرها، وتقسم الى عدة أقسام أعتماداً على عدد ذرات الكاربون المرتبطة بحلقة البنزين أو على نوعية المادة الفينولية وتواجدها في النبات ( Ribereau- Gayon,١٩٧٢; Harborne, ١٩٨٤) . وتكون معظم المركبات الفينولية الموجودة المعروفة مشتقة من مسلك Shikimic acid pathway ومن Phenyl propanoid. وانها تعمل على حماية النباتات من المفترسات Predators .وتتراكم الفينولات كمركبات ذات وزن جزيئي واطئ تسمى Phytoalexins كنتيجة للهجوم المايكروبي. ومن الوظائف الاخرى للفينولات، تكون بمثابة عوامل نمو (Goodwin&Mercer,١٩٨٥). وبسبب أمتلاكها تركيباً كيمياوياً أمثل، فانها تكون مضادات أكسدة فعالة جداً وبالتالي دورها في كبح الجذور الحرة. حيث انها تشترك في دفاع النبات ضد مسببات الاصابة بالامراض النباتية والمتمثلة بالحشرات والفطريات والرواشح، وربما تشترك في تكوين المضادات المايكروبية المقاومة لمسببات أمراض الانسان مثل *Escherichia coli* و *Campylobacter jejuni* (Mendel & Hella, ٢٠٠٠) .

وبالاضافة الى ما تقدم فقد تم أجراء العديد من الدراسات على مركبات فينولية مختلفة من الناحية التركيبية مثل Gallocatechin و Rutin و Caffeic acid و Chlorogenic acid و Ferulic acid و Gallic acid و Epicatechin والمركب غير الفينولي Trans Cinnamic ، وقد وجد تنوع هذه الاشكال من حيث قابليتها على الهدم التأكسدي، وتفاعلاتها مع الفينولات الاخرى والاحماض الامينية والبروتينات والايونات المعدنية. كما وجد ان جميع هذه الاشكال تتحول في مدى pH (١-٨)، مستعيدة فعاليتها المضادة للاكسدة (Lapidot *et al*., ١٩٩٩ ). وان ثباتها لا يعتمد على الاس الهيدروجيني ومدة الخزن فقط، وانما يعتمد كذلك على الصيغ التركيبية لهذه الفينولات فالمركب Trans-Cinnamic أتصف بعدم تغير طيف أمتصاصه بشكل معنوي تحت تأثير الاس الهيدروجيني وثباته في pH العالي. أما المركب Ferulic acid الحاوي على مجموعة OH واحدة فأتصف بثباته كذلك في pH العالي. في حين ان المركب Caffeic acid الحاوي على مجموعة OH يتغير دراماتيكياً بتغير pH وبمدى (٧-١١) وقد وجد ان مجموعتي OH المتصلتين بحلقة البنزين مسؤولتان عن تلك التغيرات. أما المركب Gallic acid الذي يمتلك ثلاث مجاميع OH فأتصف بعدم ثباته في pH العالي (Mendel & Hella,٢٠٠٠) .

كما لوحظ ان الفينولات تؤثر على عملية التجذير، حيث درس علوان (٢٠٠٤) تأثير المركبات الفينولية أعتماداً على عدد وموقع المجاميع الهيدروكسيلية في إستجابة تجذير نفس عقل الماش قيد الدراسة (*Phaseolus aureus* Roxb.) ولاحظ زيادة معنوية عالية في إستجابة تجذير العقل المعمرة في O-Coumaric acid، Caffeic acid و *P*-Hydro Quinone جميعها بتركيز($١٠^{-٣}$مولاري) وزيادة معنوية في إستجابة تجذير العقل المعمرة في Cinnamic acid و Phenol و O-Hydroxyl Catechol بتركيز($١٠^{-٣}$، $١٠^{-٥}$، $١٠^{-٥}$) مولاري على التوالي مقارنة بعينة السيطرة، أذ ان كل هذه المركبات سببت أفساداً أو أيقافاً العمليات التأكسدية التي تحدث خلال ظاهرة التعمير كعوامل مضادة للاكسدة التي تعمل على أكتساح الجذور الحرة ويحفز التخليق الحيوي للـIAA من خلال الزيادة المعنوية لمحتوى IAA في السويقة تحت الفلق للعقل المعمرة في المركبات الآنفة الذكر والذي تتم تقديره بطريقة Spectrophotometer ، وقد عزى هذا التأثير الى مساحة التبادل الالكتروني والتأصر الهيدروجيني الضمني Intra hydrogen bonding للمركبات الفينولية. كما وجد Kakkar و Ria (١٩٨٦) ان Coumarin وα-tocopherol يحفزان التجذير في حين ان hydroquinone و gallic و Salicylic و Cinnamic و Coumarine و Chlorogenic بتركيز( $١٠^{-٥}$مولاري) لكل منها ثبط التجذير في عقل *Phaseolus vulgaris* L.cv.kentucky ،حيث ان *P*-Coumaric acid وChlorogenic acid أظهر تأثير تأزري مع IAA بتركيز ( $١٠^{-٥}$مولاري). بينما المركبات الاخرى أظهرت تأثير تضادي بدلالة تكوين الجذور العرضية. بالاضافة الى ما تقدم فقد أشار Shaheed (١٩٩٧) الى فشل الفينولات مثل Caffeic acid، O-coumaric acid ، وGallic acid في أيقاف عمليات التعمير في عقل الماش والتي أدت الى خفض أستجابة التجذير بأستثناء السينماميك أسد ( $١٠^{-٣}$مولاري) ، حيث أستجابت العقل المعمرة بحامض السينماميك كما لو كانت عقلاً طرية. وقد فسر ذلك الى دور هذا الحامض في تثبيط فعاليةالانزيم IAA-Oxidase ، وبالتالي زيادة مستوى الاوكسين، أو من خلال تأثيره على الثغور وزيادة معدل النتح وبالتالي زيادة أخذ الاوكسين المجهز من الخارج الى قاعدة العقلة، أما الفعل التثبيطي للفينولات فقد يعزى الى زيادة فعالية انزيم Peroxidase أو IAA-Oxidase. ومما تجدر الاشارة أليه ان نسبة المركبات الفينولية تزداد الى ٤٥% خلال ٢٤ ساعة الاولى من التجذير وتستمر هذه الزيادة حتى بزوغ البادئات الجذرية في اليوم الرابع مما يؤكد كونها مهمة في حماية الاوكسين وزيادة مستواه (Fernqvist, ١٩٦٦) .

أوضح Zenk و Muller (١٩٦٣) قيام المركبات Caffeic acid و Chlorogenic acid بتثبيط الانزيم IAA-Oxidase داخل الجسم (*in vivo* ) ، بينما P-Coumaric acid عزز التحطيم الانزيمي للاوكسين IAA في غمد السويق فوق الفلق لنبات Avena . يكون المركب Para-Coumaric acid بتركيز ($١٠^{-٤}$ مولاري) أكثر تأثيراً في عملية انتزاع $CO_2$ من الاوكسين (Auxin Decarboxylation) في وسط التجذير. أما تأثير الحامض Para-Coumaric acid في أستجابة تجذير العقل فانه يزيد تحفيز الاوكسين في تكوين الجذور العرضية في التراكيز ($١٠^{-٥}$- $١٠^{-٤}$) مولار. يتبين مما تقدم صعوبة توضيح النتائج التي أجريت على نبات الماش أعلاه بسبب فعل الانزيم IAA-Oxidase الضئيل على الاوكسين عندما تحفز عملية تكوين الجذور العرضية بإستخدام IBA ، في حين ان فعل P-Coumaric acid يناقض عمل هذه الفرضية. على أية حال أتضح ان تأثيرات المركبات الفينولية في انواع نباتية أخرى وخلال عمليات نمو مختلفة، تختلف بشكل كبير عن تأثيراتها في تكوين الجذور العرضية في عقل الماش. فقد تعمل المركبات الفينولية بأتجاهات عديدة في العمليات الايضية التي تحدث في العقل. وبهذا فان الاحماض الفينولية التي تستخدم بوجود الاوكسين، ربما تؤثر في أخذ Uptake وأذابة Dissociation الاوكسين مما يسبب زيادة الكفاءة لاحقاً. وبالاضافة الى ذلك فان المركبات الفينولية ربما تؤثر في معدل أرتباط الاوكسين (Tomaszewski,١٩٦٤) الذي يمكن ان يؤثر بشكل معنوي في تكوين الجذور العرضية لان الاوكسينات المرتبطة مهمة في التجذير

(Hemberg, ١٩٥٤). كما ان للمركبات الفينولية علاقة في تخليق الاوكسين في العقل، وبعض الجوانب المتعلقة بتأثيراتها على الجروح Wound effects .

## (١- ١٣) الزيوت التطايرية Volatile Oils

هي روائح Odors رئيسية موجودة في مختلف الاجزاء النباتية. وتتبخر عند التعرض الى الهواء في درجات الحرارة الاعتيادية، ولهذا تسمى بالزيوت التطايرية Volatile Oils أو الزيوت الايثرية Etheral Oils أو الزيوت الاساسية Essential Oils . يطلق المصطلح الاخير لان الزيوت التطايرية تمثل "essences" أو مركبات ذات رائحة عطرية Odoriferous Compounds في النباتات. وتكون الزيوت التطايرية عديمة اللون خاصة عندما تكون طرية Fresh، ولكنها تصبح داكنة اللون عندما تخزن لفترة طويلة. ولهذا يجب ان تخزن في مكان بارد وجاف (Tyler *et al.*,١٩٨٨).

يختلف تواجد الزيوت التطايرية بأختلاف العوائل النباتية، فقد تتواجد في تراكيب عصارية متخصصة مثل الشعيرات الغدية Glandular hairs (العائلة الشفوية Lamiaceae)، وفي خلايا برنكيمية محورة Modified Parenchyma Cells (العائلة المظلية Apiaceae )، وفي Lysigenous أو ممرات Schizogenous Passages (العائلة الحمضية Rutaceae) ( Tyler *et al.*,١٩٨٨).

تتكون الزيوت التطايرية مباشرة بواسطة البروتوبلازم، أو بواسطة تحلل الطبقة الراتنجية Resinogenous Layer للجدار الخلوي (Tyler *et al.*,١٩٨٨ )، أو بواسطة التحلل المائي لكلاكوسيدات معينة (Trease & Evans, ١٩٩٨) .

تختلف الزيوت التطايرية في الخصائص الفيزيائية والكيميائية عن الزيوت الثابتة Fixed Oils. حيث انها تقطر من مصادرها الطبيعية ولاتحتوي على أسترات الكلسيرول للحامض الدهني. كما انها لا تترك بقعة زيتية دائمية، ولا تتصوبن مع الالكيلات ،ولا تتعفن كما في الزيوت الثابتة ولكنها تؤكسد عند التعرض للضوء والهواء (Tyler *et al.*,١٩٨٨).

ان العوائل النباتية التي تكون غنية بالزيوت التطايرية هي العائلة المركبة Asteracea ( مثل البابونج *Matricaria* ) ،والعائلة الشفوية Lamiaceae (مثل النعناع Mints) ،والعائلة الكافورية Myrtaceae مثل *Eucalyptus* ، والعائلة الصنوبرية Pinaceae (مثل الصنوبر *Pinus* ) ،والعائلة الوردية Rosaceae مثل "atter" الورد والعائلة الحمضية Rutaceae (مثل زيوت البرتقال *Citrus* )، والعائلة المظلية Apiaceae (مثل اليانسون و الكرويا caraway و الكمون cumin) (Harborne,١٩٨٨).

تقسم المكونات الكيميائية للزيوت التطايرية الى قسمين رئيسين أعتماداً على تخليقها الحيوي:- ١- المشتقات التربينية Terpene derivatives المتكونة عن طريق مسلك Mevalonic acid pathway و ٢- المركبات العطرية Aromatic compounds المتكونة عن طريق مسلك Shikimic acid Phenyl Propanoid route Pathway . وقد برهنت معظم الدراسات التجريبية ان مصدر التخليق (Precursor) يكون عبارة عن Acetate يكون متحدا بجزيئة التربين Terpene بتصميم خاص (Tyler *et al.*,١٩٨٨).

وقد أشار الزهيري (١٩٨٢) الى احتواء الزيت الاساسي لاوراق نبات الآس على الكحولات التربينية Terpenic Alcohols كمركبات أساسية للزيت (١,٨-Cineol , Co-terpeneol, Linalool).

وبالرغم من ان الزيوت التطايرية تختلف بشكل كبير في تركيبها الكيميائي فانها تمتلك عدة خصائص فيزيائية، حيث انها لها روائح خاصة تشخص بواسطة معامل الانكسار العالية High refraction indices ، ومعظمها تكون فعالة جداً، ويكون دورانها الخاص علامة تشخيصية كبيرة. وكذلك تكون الزيوت التطايرية غير قابلة للامتزاج مع الماء، ولكن تكون ذائبة

بحيث تمنح رائحتها للماء. وتكون المياه العطرية Aromatic Waters معتمدة على تلك الذوبانية القليلة، ومع ذلك تكون الزيوت التطايرية ذائبة في الايثر والكحول ومعظم المذيبات العضوية ( Tyler *et al.*,١٩٨٨).

في حالات قليلة يتكون الزيت الطيار من مركب كيميائي يكون في حالة نقاوة مقارنة Comparative Purity. بينما في معظم الحالات تكون بشكل خليط محتوي على مركبات من انواع مختلفة وتلك المركبات قد تفصل بطرائق مختلفة منها: ١- درجات الحرارة الواطئة والتي تبلور (أو تعمل على بلورة) Stearoptenes ، ٢-التقطير التجزيئي Fractional distillation ،٣- التبلور التجزيئي Fractional Crystallization ،٤-الاشكال المختلفة من Chromatography ،٥-الازالة بواسطة الفعل الكيميائي Chemical action ( Tyler *et al.*,١٩٨٨).

## (١-١٤) أسباب ظاهرة التعمير:-

أقترحت عشر فرضيات Hypotheses لتفسير ظاهرة التعمير في انظمة تجريبية مختلفة. وقد تم التأكد من صحة خمس منها في نظام تجريبي واحد وهو عقل الماش وعلاقة ذلك بأستجابة التجذير. وان الفرضيات العشرة هي الآتي:-

١- انخفاض المحتوى الطبيعي للاوكسين Decline of natural auxin : IAA مما يسبب انخفاض معدل تكوين الجذور العرضية في العقل وهذا ما أكده Shaheed & AL-Alwani,٢٠٠١ ) .

٢- انسداد الاوعية الخشبية Blockage of xylem vessels:

قد يحدث خلال فترة التعمير انسداد الاوعية الخشبية بمركبات مختلفة، مثل التانين Tannin (Durkin,١٩٦٧)، أو تكون مركبات دهنية مثل السوبرين Suberin ، والكيوتين Cutin (Cline & Neely,١٩٨٣)، والتي تمنع الاوكسين المجهز Supplied auxin الى قاعدة العقلة من الصعود علوياً Acropetally عن طريق الخشب الى الاوراق، وبالتالي قلة نزوله عن طريق اللحاء وتجمعه في قاعدة العقلة (منطقة نشوء الجذور). وقد أكد Shaheed وAL-alwani (٢٠٠٢) صحة هذه الفرضية.

٣-أضطراب النفاذية Permeability نتيجة لزيادة نشاط الانزيمات المحطمة للجزيئات البروتينية، والجزيئات الدهنية خلال فترة التعمير. حيث وجد (Shaheed & Jabour, ٢٠٠٤) انخفاض معنوي في كمية البروتين والدهون في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية، والذي رافقه زيادة في التدفق الخارجي لبعض العناصر مثل (المغنسيوم والكالسيوم).

٤-الحالة الغذائية Nutritional status :-

أكد Shaheed و Salim (٢٠٠٢ b) انخفاض الحالة الغذائية في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية فيما يتعلق بالبروتين والكاربوهيدرات وأيقاف العمليات التي تحصل خلال التعمير في حالة تجهيز المواد الغذائية العضوية والمعدنية من الخارج أو استخدام عقل معمرة بعمر (٥ أيام) حاوية على الفلق (كمصدر داخلي).

٥- فرضية الاكسدة Oxidative hypothesis:-

أكد علوان(٢٠٠٤) ان العمليات التأكسدية التي تحدث خلال التعمير هي أحد أسباب انخفاض أستجابة التجذير في العقل، والتي تترافق مع قلة المحتوى الاوكسيني في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية.

٦- زيادة مستوى حامض الابسيسك خلال فترة التعمير مما يؤدي الى غلق الثغور وقلة النتح (Atkinson, Davies and Manfield,١٩٨٩)، وبالتالي قلة Uptake وصعود الاوكسين المجهزقاعدياً الى العقل المعمرة مما يؤثر في معدل تكوين الجذور العرضية فيها.
٧- قلة تواجد المركبات الفينولية ودورها التأزري Auxin-synergistic في عملية تكوين الجذور، فمن المحتمل انخفاض هذه المركبات خلال التعمير، وبالتالي قلة عددالجذور المتكونة. حيث ان لها دور في حماية الاوكسين Auxin-protectors من الاكسدة بوساطة انزيم IAA-oxidase (Zenk&Muller,١٩٦٣).
٨- تكون مادة الكالوز Callose وتجمعها خلال ظاهرة التعمير في الصفائح المنخلية sieve plates للحاء (Ullrich,١٩٦٢)، والتي تمنع نزول الاوكسين والعوامل المرافقة الى الاسفل، وبالتالي تؤثر في معدل تكوين الجذور العرضية.
٩- زيادة فعالية انزيم حامض الاندول الخليك IAA-Oxidase خلال مرحلة نشوء الجذورالعرضية، وبالتالي يمنع تجميع الاوكسين الى المستوى الملائم لطور النشوء في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية.
١٠- انخفاض العوامل المرافقة للاوكسين Co-factors :- حيث ان هذه المركبات تسهم في عملية تكوين الجذور في العقل، وقد يكون معدل تخليق وانتقال هذه المواد الى الجزء القاعدي قليلاً في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية وبالتالي يؤثر في معدل تكوين الجذور في العقل ( Wally *et al.*,١٩٨٠).

## (١-١٥) السيطرة على ظاهرة التعمير :-

من البديهي ان أزالة الازهار، أوالثمار، أو الاوراق الفتية ما هي الا محاولات لتأخير ظاهرة التعمير، وذلك من خلال تقليل التنافس على المواد الغذائية بين الاجزاء المتكشفة حديثاً والاجزاء المسنة (Wheeler , ١٩٦٨) .كما أشار Abraham و Reinhold (١٩٨٠) الى ان معاملة أوراق المطاط *Centranthus ruber* بالسيرالينين Cerulenin وكبريتات الكالسيوم $CaSO_4$ أدى الى أصلاح الغشاءMembrane repair والمتضمن بناء البروتينات والدهون الغشائية.

ومن جانب أخر فقد أجريت العديد من المحاولات الفيزيو – كيميائية بهدف السيطرة على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير، وذلك من خلال أعاقتها Retardation و أفسادها Offset و تأخيرها Delaying و أو أيقافها Stopping جزيئاً Partially أو كلياً Completely. معظم هذه المحاولات في عقل الماش فبعضها فشل والبعض الاخر تكلل بالنجاح. ومن المحاولات التي فشلت في أيقاف ظاهرة التعمير في عقل الماش:-

١- البورون بتركيز ١٠ مايكروغرام / مل (Shaheed , ١٩٨٧).
٢-مركبات البولي أمين(Polyamine) مثل Spermine بتركيز($١٠^{-١٢}$ – $١٠^{-٣}$) مولار (Shaheed ,١٩٨٧).
٣- أزالة الجزء القاعدي من السويقة تحت الفلق Excision of the Basal hypocotyl (٣mm ) (Shaheed,١٩٨٧).
٤-القلوانيات المصنعة Synthetic alkaloids مثل ٨-hydroxy quinoline، Nicotine، و Harmalol بتركيز ( $١٠^{-١١}$– $١٠^{-٣}$) مولار لكل منهما (Shaheed, ١٩٨٧) .
٥- معاملة العقل المعمرة بمحلول NaCl (٠.٠٢) مولار، و KCl (٠.٠٨) مولار (Shaheed & Salim, ٢٠٠٢ a) .

أما المحاولات التي نجحت في أيقاف ظاهرة التعمير جزئياً Partially فهي:-

١- أستعمال محاليل مخففة Dilute Solutions من IAA و IBA بتراكيز ($١٠^{-٨}$– $١٠^{-٩}$) مولار (Shaheed ,١٩٨٧).

٢- حفظ العقل بظلام تام Darkness خلال التعمير، نجح في أيقاف ظاهرة التعمير بنسبة ٧٣% بدلالة تكوين الجذور العرضية(Shaheed,١٩٨٧).
٣ - تأثير الفعل المتبادل بين البورون والاوكسين وأزالة الجزء القاعدي من العقل، اذ نجح في أيقاف ٤٥% من العمليات التي تحدث خلال التعمير(Shaheed,١٩٨٧ ).
٤- حفظ العقل بالمستخلصات المائية لبذور البقدونس والحلبة بتراكيز (١% ،٠.١%) على التوالي (Shaheed ,١٩٨٧).
٥- حفظ العقل بتراكيز ١٠% ، ٠.١ % ، ١% للمستخلصات المائية لبذور الخس والحلبة، والبابونج على التوالي (Shaheed & Al-Alwani,٢٠٠١)
٦- حفظ العقل بمحلول السكروز ١.٥ % (Shaheed& Salim,٢٠٠٢) .
٧- حفظ العقل في محاليل الكلوتاثيون بتركيز($10^{-10}$) مولار وللمركبات الفينولية مثل Cinnamic acid بتركيز ($10^{-3}$) مولار، phenol ، catechol، O- Hydroxy بتراكيز ($10^{-5}$) مولار، من خلال المحافظة على مستوى IAA (علوان، ٢٠٠٤).
أما المحاولات التي نجحت في أيقاف ظاهرة التعمير بشكل كامل فهي:-
١- حفظ العقل بتركيز عالي ($10^{-3}$) مولار من حامض Cinnamic acid (Shaheed,١٩٨٧).
٢- حفظ العقل بالمستخلصات المائية لبذور الحلبة ١% ( Shaheed, ٢٠٠١) .
٣-حفظ العقل بالمستخلصات المائية لبذور الينسون والقيصوم وحبة البركة جميعها بتركيز ١%، والقريص بتركيز ٠.١% (Shaheed & Al-Alwani, ٢٠٠١).
٤-حفظ العقل بالمستخلصات المائية للزنجبيل وورد الساعة بتركيز ٠.٠١% لكليهما، وكذلك السكروز بتركيز ١.٥% ، و Ascorbic acid بتركيز ٤٠٠ ملغم / لتر، والكلوكوز بتركيز (١،١.٥ )% ، والنيكوتين بتركيز ($10^{-7}$–$10^{-5}$) مولار (أبو التمن، ٢٠٠٣) .
٥- حفظ العقل بمحاليل المركبات المضادة للاكسدة كالاسكوربيت بمدى (٢٠٠-٥٠٠) جزء بالمليون، والسكروز بتركيز ٣%، والمركبات الفينولية مثل O- Coumaric acid، caffeic acid، وP- hydroxy Quinone بتراكيز $10^{-3}$ مولار (علوان، ٢٠٠٤).

## (١-١٦) الهدف من البحث :-

يهدف البحث الى التعرف على التغيرات المتعلقة بالدهون والبروتينات خلال ظاهرة التعمير في عقل الماش والتي تؤدي الى خفض إستجابة التجذير، حيث لوحظ انخفاض المحتوى البروتيني ومحتوى الدهون والذي يكون سبباً لحدوث الاضطراب في نفاذية الاغشية الخلوية. كما تضمنت الدراسة السيطرة على هذه التغيرات التي تحدث خلال التعمير ومحاولة الحد منها وذلك بحفظ العقل في محاليل اليانسون ١% ، وحامض السينامك ($10^{-3}$ مولاري)، ومحاليل الزيوت التطايرية.

وقد تضمنت الدراسة المحاور الاتية:-

**(A) المحور الاول:- الجانب الفسيولوجي ويشمل:-**

١-تأثير ظاهرة التعمير في إستجابة التجذير في العقل المستحثة بالاوكسين.

٢-دراسة تأثير محاليل السيطرة في إستجابة التجذير في العقل المعمرة.

**(B) المحور الثاني:- الجانب الكيميائي الحياتي ويتضمن تقدير ما يأتي:-**

١-محتوى(Malondialdehyde (MDA.

٢-فعالية انزيم اللايبوكسجينيز (Lipoxygenase activity (LOX .

٣-محتوى البروتين Protein Content .

٤-فعالية انزيم البروتيز Protease activity .

٥-محتوى الكلوتاثيون Glutathione Content .

٦-محتوى الاسكوربيت الكلي Total Ascorbate Content.

# الفصل الثاني
# المواد وطرائق العمل
# Materials & Methods

## (٢-١) :- مصدر البذور source of seeds:-

استعملت في هذه الدراسة بذور نبات ماش من صنف *Phaseolus aureus* Roxb. var. local لمحصول تشرين الاول-٢٠٠٣ من قضاء المحاويل/ محافظة بابل وقد أنتخبت البذور المتماثلة مظهرياً لغرض أجراء التجارب.

## (٢-٢):- زراعة البذور Cultivation of seeds:-

لقد تمت زراعة البذور بالطريقة الاتية:-

**أ-** غسلت ونقعت البذور بماء الحنفية الجاري Current water لمدة ليلة كاملة(over night).

**ب-** زرعت البذور في نشارة خشب Sawdust (معقم بماء مغلي لمدة ربع ساعة ومرطب بماء مقطر) بشكل صفوف متوازية تقريباً والمسافة بين بذرة وأخرى (٢ سم) تقريباً في أحواض بلاستيكية مثقبة من الاسفل وبأبعاد ( ١٩ x١٤ x ٦ سم) حيث توضع هذه الاحواض في أحواض أكبر منها حجماً وغير مثقبة بأبعاد ( ٢٦ x ٢٠ x ٧)سم. وتم تغطية البذور بطبقة رقيقة من نشارة الخشب سمكها (٢-٣) ملم تقريباً.

**ج_** أضيف لتر واحد من الماء المقطر الى الاحواض الكبيرة وتركت في الغرفة البيئية Growth Chamber والتي تمتاز بظروف قياسية(أضاءة مستمرة وبشدة ضوئية (٣٠٠٠-٣٥٠٠ لوكس، درجة حرارة ٢٥ ±١ م، ورطوبة نسبية ٦٠ -٧٠ %). وبعد بزوغ البادرات Seedlings emergence أضيف الماء حسب الحاجة الى عمر عشرة أيام ثم أستخدمت البادرات لتهيئة العقل منها وأجراء التجارب.

## ٢-٣:- تهيئة العقل Preparation of cuttings:-

أخذت العقل من بادرات متماثلة نامية في الضوء بعمر عشرة أيام ١٠-day-old grown seedlings حسب طريقة (Hess,١٩٦١) وتمتاز هذه البادرات بأحتوائها على برعم طرفيTerminal bud، زوج من الاوراق الاولية كاملة الاتساع Pair of fully expanded primary leaves و سويقة جنينية فوق الفلق Epicotyl و سويقة جنينية تحت الفلق Hypocotyl بطول (٣سم) تحت ندب الفلق Cotyledonary nodes وذلك بعد أزالة المجموع الجذري Root system.

## ٢-٤:- المعاملة القاعدية للعقل Basal Treatment of cuttings

عومل الجزء القاعدي من العقل بمحاليل الاختبار، حيث وضعت العقل في أنابيب زجاجية Glass vials. تتضمن كل معاملة ثلاثة فيالات، كل فيال يتسع لإربعة عقل أي بمعدل ١٢ عقلة للمعاملة الواحدة. حيث غمرت السويقة الجنينية تحت الفلق التي طولها (٣ سم) في محلول حجمه(١٥ مل) من محاليل الاختبار. بعد أخذ العقل من البادرات ، حفظت العقل الطرية لمدة ٢٤ ساعة في الماء المقطر أو الاوكسين NAA بتركيز ($10^{-4}$ مولار). بعدها نقلت الى حامض البوريك ١٠ مايكروغرام/ مل لمدة ستة أيام بهدف دراسة استجابة التجذير في العقل الطرية.

## (٢-٥) معاملات التعمير Ageing treatments:-

حفظت العقل بعد أخذها مباشرة من البادرات في الماء المقطر لمدة ثلاثة أيام (Ageing period) بهدف دراسة أسباب ظاهرة التعمير. أوحفظت في محاليل Cinnamic acid ( $10^{-4}$ M)، مستخلص اليانسون ١%، محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية (Volatile Oils) لنفس المدة أعلاه كلا على حده وذلك لغرض السيطرة على ظاهرة التعمير. وعندما يكون الهدف دراسة استجابة التجذير في العقل المعمرة عوملت العقل بعد أنتهاء فترة التعمير بالاوكسين (NAA $10^{-4}$ M) لمدة ٢٤ ساعة ثم نقلت الى حامض البوريك (١٠ µg/ ml) لمدة ستة أيام.

## (٢-٦) حساب عدد الجذور اوالتحليل الاحصائي:-

بعد الانتهاء من المعاملة بحامض البوريك (٦ أيام) في معاملات العقل الطرية والمعمرة تم حساب عدد الجذور لكل عقلة وذلك بأزالة البشرة الممزقة بالملقط وقطعت الجذور بمستوى البشرة بشفرة حادة و تم حساب عددها لكل عقلة. ولغرض التحليل الاحصائي أستخدم التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design وأستخرجت قيمة أقل فرق معنوي (L. S. D.) للمقارنة بين المعاملات وعلى مستوى أحتمالية (٠.٠٥ , ٠.٠١). وكذلك أستخدم التصميم الاحصائي C.R.D. لتقدير المحتوى البروتيني، محتوى MDA ، محتوى Ascorbic acid ، محتوى Glutathione و فعالية أنزيم Protease و Lipoxygenase (الراوي،١٩٩٢).

## (٢-٧) تحضير المحاليل Preparation of solutions:-

### (٢-٧-١)محاليل التجذير:-

#### (A) الاوكسينات المصنعة Synthetic auxins:-

حضر الاوكسين الصناعي( NAA ) Naphthalene acetic acid بتركيز ($10^{-4}$ M) وقت المعاملة. أن هذا التركيز هو الامثل Optimum concentration لتجذير النوع نفسه من العقل . حيث أذيب في كمية من الكحول المطلق Absolute alcohol وكمل للحجم المطلوب بحيث يكون تركيز الكحول النهائي (٢%). حيث وجد Middleton وجماعته (١٩٧٨) أن هذا التركيز غير مؤثر في عملية تكوين الجذور العرضية لعقل الماش.

#### (B) حامض البوريك Boric acid:-

حضر حامض البوريك Boric acid بتركيز (١٠ $\mu$ g / ml) وأستخدم كوسط للتجذير وذلك لدور البورون الضروري في نمو وتكشف البادئات الجذرية الى جذور مرئية (Middleton *et.al.* ,١٩٧٨).

### (C) تحضير محاليل السيطرة على ظاهرة التعمير:-

#### ١- تحضير المستخلص المائي لليانسون:-

حضر مستخلص اليانسون الطازج بتركيز( ١٪ ) وقت التجربة حيث أخذ ( ١غم) من اليانسون بعد طحنها بأستخدام مطحنة كهربائية وأضيف اليها الماء المقطر وكمل الحجم النهائي الى ١٠٠ مل بالماء المقطر بحيث يكون التركيز النهائي (١٪ W/V) ثم أستخلصت المركبات الذائبة في الماء بأستخدام هزاز كهربائي Shaker لمدة نصف ساعة. بعدها ترك لمدة ساعة واحدة في جو المختبر ورشح من خلال ثلاث طبقات من الشاشCheese cloth. ثم أجريت عملية الطرد المركزي بقوة (٣٠٠٠ دورة/ دقيقة) ولمدة (١٥ دقيقة). وبالتالي الحصول على مستخلص بتركيز (١%).

#### ٢- المحلول المائي لحامض السيناميك ($10^{-3}$ مولاري):-

حضر المحلول المائي للسيناميك اسد Cinnamic acid بتركيز ($10^{-3}$مولاري) من أذابة الوزن الجزيئي الغرامي بالماء المقطر ثم كمل الحجم الى حجم لتر واحد بحيث حصلنا على محلول ذو تركيز( $10^{-3}$مولاري).

**٣- المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية Volatile Oils**

حضرت بوضع أوراق نبات الآس داخل ناقوس زجاجي ووضع داخله بيكر فيه كمية من الماء المقطر (٢٥٠ ml ) لمدة أسبوع واحد. ثم معاملة العقل بهذا المحلول لمدة ثلاثة أيام (فترة التعمير).

**(٢-٨) تقدير محتوى Malondialdehyde:- (Zacheo *et al.*,٢٠٠٠ )**

**أ- تحضير المحاليل Preparation of solutions:-**

١-حامض الخليك ثلاثي الكلور (٥٠ g/L) Trichloracetic acid.

حضر من أذابة (٥٠ غم) من TCA في كمية من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر.

٢ – ثايوباربيوتريك أسد ( thiobar butric acid (TBA - ٢ تركيز (٥g/ L).

حضر من أذابة (٥غم) من TBA في كمية من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى واحد لتر بالماء المقطر.

**ب- طريقة العمل The procedure :-**

سحق (١ غم) من الجزء النباتي (الاوراق الاولية أو الايبكوتيل أو الهايبوكوتيل) مع (٢٠ مل) من TCA (٥٠ g /L) لغرض ترسيب البروتينات. ونبذ الراسب بجهاز الطرد المركزي، ثم أخذ حجم معين من الراشح وأضيف له حجم مماثل من (٥g/L) TBA. ووضع في حمام مائي مغلي لمدة (٣٠ دقيقة) مع مراعاة غلق أنابيب التفاعل. بعد ان برد المحلول، قرأت الامتصاصية عند طول موجي ٥٣٢ نانومتر وبالتالي حساب كمية MDA بتطبيق معادلة بير-لامبرت الاتية:-

**A= E*B* C**

**A: Absorabance ( ٥٣٢nm )**

**E: extinction Coefficient ( ١٥٣ mmol /L /cm )**

**B : Light bath ( ١ cm )**

**C: Concentration of Malondialdehyde .**

**( ٢-٩) تقدير فعالية أنزيم اللايبوكسجينيز (LOX) Lipoxygenase :-**

**( Zacheo *et al.*,٢٠٠٠ )**

**أ- تحضير المحاليل Preparation of solutions:-**

١-محلول المادة الاساس Sodium Linoleate (substrate) بتركيز(٠.٣ ملي مولار).

حضرت من أذابة الوزن الجزيئي الغرامي من Sodium Linoleate بالماء المقطر ثم يكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر بحيث يكون التركيز النهائي ٠.٣ ملي مولار.

٢ – المحاليل المنظمة Buffer solutions :- Potassium acetate (pH=٣-٥) و Potassium phosphate (pH=٦-٧) و Sodium borate (٨-٩).

**ب- طريقة العمل The procedure :**

سحق (٠.٥ غم) من الجزء النباتي(الاوراق الاوليةأو الايبكوتيل أو الهايبوكوتيل ) في (٥مل) ماء مقطر في هاون فخاري فوق جريش من الثلج ثم حضن لمدة ساعة عند درجة حرارة (٢٥درجة مئوية)، ثم رشح المستخلص بعد ذلك من خلال أربع طبقات من قماش الشاش Cheese Cloth وغسلت بالماء المقطر (٥ مل). ثم أجريت عملية الطرد المركزي للمستخلص (١٥٠٠٠ g) دورة في الدقيقة و لمدة (٢٠) دقيقة. وأستخدم الراشح كمستخلص

للانزيم. تقاس فعالية أنزيم ( LOX ) من خلال قراءة الامتصاصية عند طول موجي ٢٣٤) nm ) بوجود المادة الاساس Sodium Linoleate وأستخدم المحلول المنظم ذات الاس الهيدروجيني الامثل لفعالية الانزيم. تعرف الوحدة الواحدة من الانزيم بأنها كمية الانزيم التي تنتج (١ مايكرومول) من Conjugated diene في الدقيقة الواحدة تحت الظروف القياسية ثم حساب فعالية الانزيم بتطبيق معادلة بير-لامبرت الاتية:-

**A=E *B * C**
**A: Absorbance ( ٢٣٤ nm )**
**E : Extinction coeffecient :٢.٥ X ١٠$^{٤}$ mol/cm**
**B: Light bath (١ cm )**
**C : Enzyme activity**

**ج- تعيين الاس الهيدروجيني الامثل لفعالية أنزيم Lipoxygenase :-**

قدرت فعالية الانزيم في قيم مختلفة من الاس الهيدروجيني. فقد أستعملت الارقام الهيدروجينية(٣،٤،٥،٦،٧،٨،٩) وقدرت فعالية الانزيم حسب الطريقة السابقة (٢-٩-ب).

**د- تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية الانزيم Lipoxygenase :-**

قدرت فعالية الانزيم في درجات حرارة مختلفة تراوحت بين (١٥-٦٠) درجة مئوية وفي الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية الانزيم وهو(٦) وقد أستعملت الطريقة السابقة في تقدير فعالية الانزيم (٢-٩-ب).

**(٢-١٠) تقدير محتوى البروتين Protein content assay**

أستخدمت الطريقة المتبعة من قبل (Bishop *et al.*,١٩٨٥)، حيث يتفاعل البروتين مع أيون النحاس من كبريتات النحاس $CuSO_4$ في محلول البايوريت لإعطاء اللون البنفسجي الذي يمتص الضوء بطول موجي ٥٥٥ نانومتر،وهو اللون الناتج من تكوين مركب معقد بين ذرة النحاس والاصرة الببتيدية Peptide bond.

**أ- تحضير المحاليل المستخدمة Preparation of solutions**

١- محلول البايوريت

حضر من أذابة (٣ غم) من كبريتات النحاس $CuSO_4$ في (٥٠٠ مل) ماء مقطر. يضاف (٩ غم) من ترترات الصوديوم البوتاسيوم، و٥ غم من يوديد البوتاسيوم KI بعد أذابتها كلياً وبصورة جيدة يضاف (١٠٠ مل) من هيدروكسيد الصوديوم NaOH. يخفف المزيج الى لتر واحد بالماء المقطر. يحفظ في قنينة معتمة في درجة حرارة الغرفة.

٢- محلول الفوسفيت بفر Phosphate buffer ( M٠.١) ، وحضر من المحاليل الاتية:-

**اولاً** :- فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين $KH_2PO_4$ (١ M )، حيث حضر من أذابة ١٣٦.٠٩ غم من $KH_2PO_4$ بالماء المقطر ويكمل الى حجم لتر واحد.

**ثانياً** :- فوسفات الصوديوم الهيدروجينية $Na_2HPO_4$ وحضر من أذابة ١٤٢.٠٧ غم من $Na_2HPO_4$ في الماء المقطر ويكمل الى حجم واحد لتر. ولاجل الحصول على pH=٥.٦ يتم خلط ٩.٤١ مل من المحلول الاول مع٠.٥٩ مل من المحلول الثاني.

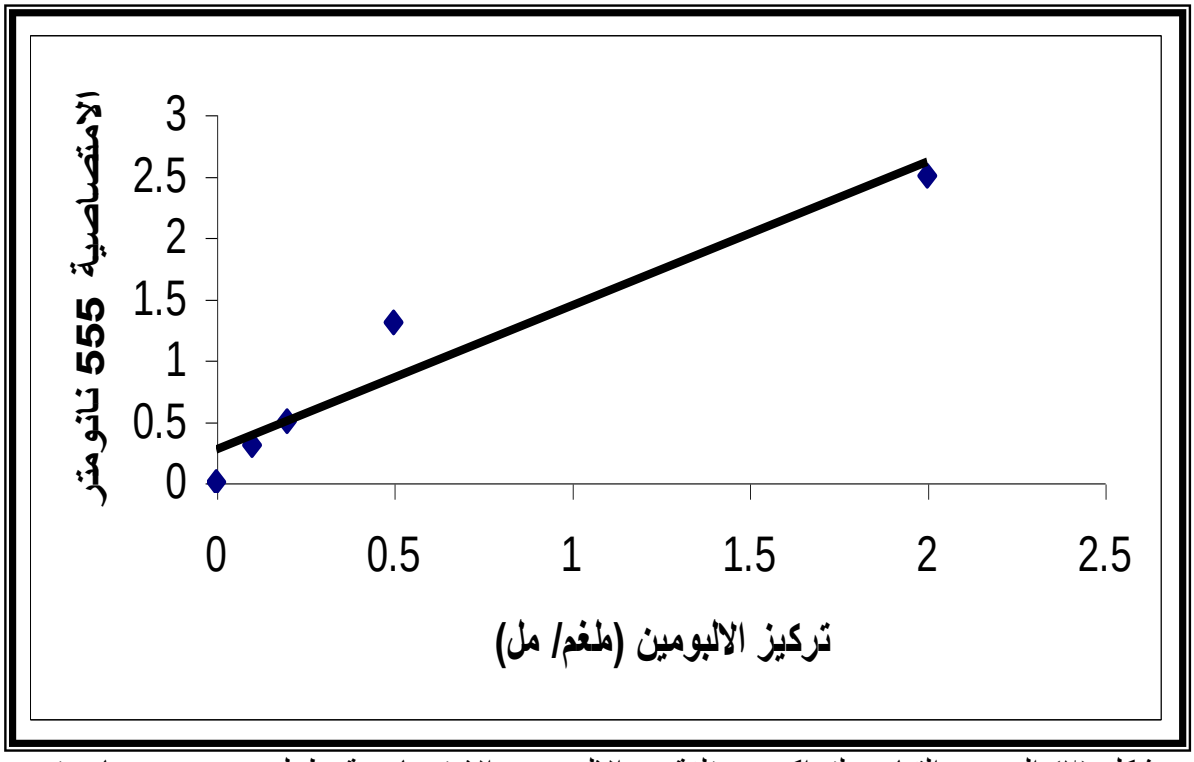
**ب- طريقة العمل The procedure :-**

يؤخذ (١ غم) من الجزء النباتي وسحق مع (٦) مل من محلول فوسفيت بفر Phosphate buffer (pH =٥.٦) في هاون فخاري. يوضع الهاون على الثلج أثناء السحق لمدة (٥-١٠) دقيقة

للحصول على درجة حرارة واطئة. يرشح الخليط من خلال طبقتين من الشاش ثم يجمع الراشح وتجرى عليه عملية الطرد المركزي بقوة (١٥٠٠) دورة في الدقيقة ولمدة (١٥ دقيقة). يهمل الراسب وياخذ الراشح ويكمل الى (١٥ مل) باستعمال محلول الفوسفيت بفر المذكور أعلاه. يؤخذ (٢ مل) من مستخلص البروتين ويضاف اليه (٨ مل) من كاشف البايوريت، يرج ثم يترك لمدة نصف ساعة بعدها تقرأ الكثافة الضوئية Optical density بجهاز المطياف Spectrophotometer-٢١ بطول موجي (٥٥٥ نانومتر). أما البلانك فحضر من (٢ مل ) فوسفيت بفر، ٨ مل محلول البايوريت ويستخدم لمعايرة الجهاز.

**ج- المنحني القياسي للالبومين Albumin standard curve**

حضر محلول البروتين الاصلي (Stock) من أذابة غرام واحد من الالبومين كمادة أساس لعمل المنحني القياسي في (١٠٠ مل) من الماء المقطر المضاف اليه بضع قطرات من (NaOH , ١M). أخذت منه الحجوم الاتية (٠.١ و ٠.٢ و ٠.٥ و٢ مل) وأضيف اليها (١.٩، ١.٨، ١.٥، ٠.٠) مل على التوالي فوسفيت بفر ثم أضيفت الى كل منها (٨ مل) من كاشف البايوريت وتركت لمدة نصف ساعة بعدها تقرأ الكثافة الضوئية حسب السياق في أعلاه. بعدها يتم رسم المنحني القياسي وتقدير تركيز البروتين في العينات النباتية.




شكل (٢) المنحني القياسي لتراكيز مختلفة من الالبومين والامتصاصية بطول موجي٥٥٥ نانومتر.

**(٢-١١) تقدير فعالية أنزيم البروتيز Protease activity assay**

(Kuntiz,١٩٤٧)

**أ- تحضير المحاليل المستخدمة Preparation of solutions :-**

١- محلول المادة الاساس(Substrate) الالبومين (تركيز ٠.٥ %). حضر من أذابة (٠.٥)غم من المادة الاساس في كمية قليلة من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر.

٢- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro acetic acid (TCA) (تركيز٥ %). حضر من أذابة ٥ غم من TCA في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر.

٣- محاليل منظمة Buffer Systems . Tris base / HCl(pH = ٦.٨) Potassium acetate (pH =٣-٥) و Potassium phosphate (pH=٦-٧) و Sodium borate (٨-٩).

**ب- طريقة العمل The procedure**

١-حضر مستخلص الانزيم من سحق(١ غم) من النسيج النباتي في ٥ مل من محلول الترس في هاون فخاري فوق جريش من الثلج للحصول على درجة حرارة واطئة. ثم تجرى عملية الطرد المركزي للمستخلص بقوة (١٦٠٠٠ g) لمدة ( ٢٠) دقيقة، و أستخدم الراشح كمستخلص للانزيم.

٢- يؤخذ (٠.١ مل) من المستخلص ويضاف اليه (١.٩ مل) من المحلول المنظم الامثل(pH=٦) لفعالية الانزيم المذاب فيه المادة الاساس ويحضن لمدة (٣٠ دقيقة) بدرجة حرارة (٢٥ مئوي).

٣- توضع أنابيب التفاعل في حمام مائي بدرجة حرارة (٢٥ مئوي) لمدة ٢٠ دقيقة ( زمن التفاعل).

٤- يضاف (٣ مل) من محلول TCA لترسيب البروتينات غير المتفاعلة.

٥- تجرى عملية الطرد المركزي بقوة (٥٠٠٠) دورة في الدقيقة ولمدة (١٥) دقيقة.

٦- تقرأ الامتصاصية للعينات بأستخدام جهاز Spectrophotometer(Cintra-٥) ، وتحسب فعالية الانزيم بتطبيق المعادلة الاتية:

$$\text{Protease Activity(unit)} = \frac{\text{Abs.}_{(٢٨٠)}}{\text{Time(min.)X Vol.of enzyme X } ٠.٠٠٠١}$$

**ج- تعيين الاس الهيدروجيني الامثل لفعالية أنزيم Protease :**

قدرت فعالية الانزيم في قيم مختلفة من الاس الهيدروجيني بأستعمال الالبومين٠.٥%. فقد أستعملت الارقام الهيدروجينية(٣،٤،٥،٦،٧،٨،٩) وقدرت فعالية الانزيم حسب الطريقة السابقة (٢-١١-ب).

**د- تعيين درجة الحرارة المثلى لفعالية الانزيم Protease:-**

قدرت فعالية الانزيم في درجات حرارة مختلفة تراوحت بين (١٥-٦٠) درجة مئوية بأستعمال الالبومين ٠.٥% وفي الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية الانزيم وهو(٦) وقد أستعملت الطريقة السابقة في تقدير فعالية الانزيم (٢-١١-ب).

**(٢-١٢ ) تقدير محتوى الكلوتاثيون Glutathione Content assay (GSH)**

تم قياس محتوى الكلوتاثيون بأستعمال محلول DTNB أو ما يسمى بكاشف ألمانز Di thio bis (٢-nitro benzoic acid) (Ellman's reagent)٥,٥. عند أتحاد هذا المركب

مع مجموعة الثايول (SH) في جزيئة الكلوتاثيون في وسط قاعدي (pH= ٨) تتكون ثنائيات الكبريت المختلطة Mixed disulfide ويتحرر أيون الثايول Thiol anion الذي تقاس شدة لونه بأستعمال جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer-٢١ عند الطول الموجي ٤١٢ نانومتر (Ellman ,١٩٥٩ ).

**أ- تحضير المحاليل المستخدمة Preparation of solutions**

١- محلول حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloro acetic acid(TCA) بتركيز ٥ %. حضر من أذابة( ٥ غم) من TCA في كمية قليلة من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر.

٢- محلول منظم الترس Tris buffer Solution (١.٤ مولاري). حضر بأذابة (٤.٨٢ غم) من ترس القاعدة Tris base في١٠مل من محلول٠.٤ مولاري$Na_2$ - EDTA (المحضر من أذابة ١.٤٨٨٩ غم من $Na_2$ - EDTA في ١٠ مل ماء مقطر) ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر ويضبط الاس الهيدروجيني الى ٨.٩ بأضافة حامضHCl (٠.١ مولاري).

٣- المحلول القياسي للكلوتاثيون GSH standard (٠.٠٠٥ مولاري):-
حضر بأذابة ٠.٠١٥٣ غم من الكلوتاثيون في ١٠ مل من محلوله ٠.٠٢ مولاري $Na_2$ - EDTA (المحضر بأذابة ٠.٧٤٤ غم من $Na_2$ -EDTA في ١٠٠ مل ماء مقطر).

**ب- طريقة العمل The procedure**

١- يسحق (٠.٥) غم من النسيج النباتي (الاوراق الاولية، الايبكوتيل، الهايبوكوتيل) مع(٥ مل) من TCA (٥%) في هاون فخاري فوق جريش من الثلج، ثم تجرى عملية الطرد المركزي بقوة (١٦٠٠٠ g) لمدة (٢٠ دقيقة) ويستخدم الراشح كمستخلص نباتي.

٢- حضرت أنبوبتي أختبار نظيفة وجافة، علمت الاولى للاختبار T (Test) والثانية للانبوبة الخاوية B (Blank) ثم أضيف أليها المحاليل الاتية:-
أ- نقل ٠.٤ مل من الراشح الى انبوبة الاختبار T فقط.
ب-أضيف ٠.٢ مل من محلول TCA و ٠.٢ مل من الماء المقطر الى أنبوبة الخاوية فقط.
ج-أضيف ٠.٨ مل من محلول المنظم الترس لكل أنبوبة الخاوية( B) والاختبار(T).
د- أضيف ٠.٠٢ مل (٢٠ مايكرولتر) من محلول DTNB المحضر أنياً الى كل أنبوبة.

٣- تمزج المواد جيداً وتقرأ الامتصاصية بأستعمال جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي٤١٢ نانومتر بمدة لاتزيد عن خمس دقائق. ويتم حساب تركيز الكلوتاثيون الكلي في المستخلص بإستخدام المنحني القياسي.

**ج- تحضير المنحني القياسي للكلوتاثيون GSH Standard Curve**

١- خفف المحلول القياسي للكلوتاثيون بالمحلول $Na_2$-EDTA (٠.٢ مولاري) لتحضير التراكيز الاتية(٣٠٠٠،٢٥٠٠،٢٠٠٠،١٥٠٠،١٠٠٠،٥٠٠ مايكروغرام/مل.

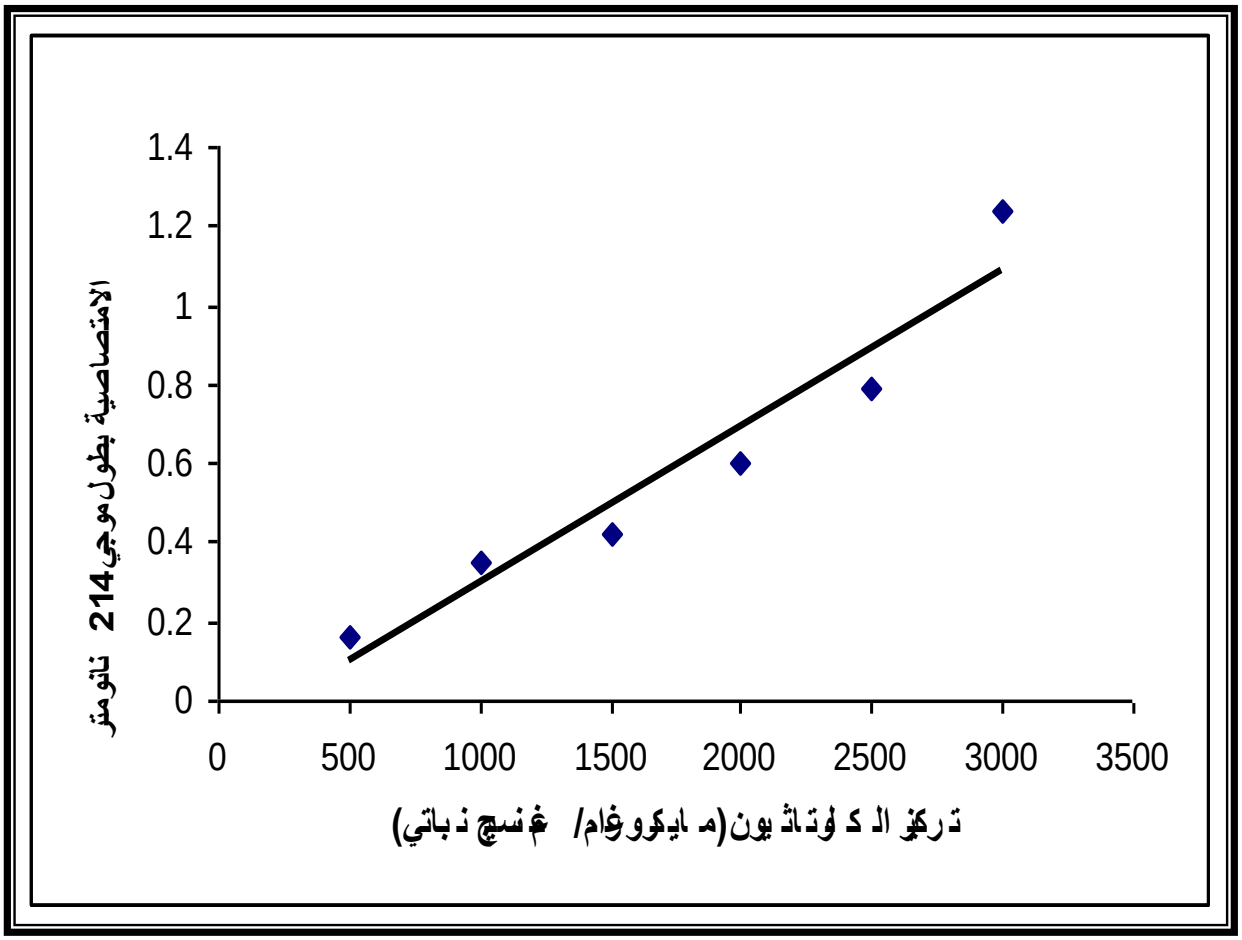
٢- أخذ (٠.١) مل من كل تركيز وأضيف اليه ٠.٨ مل ماء مقطر و ٠.١ مل من محلول TCAويمزج جيداً.

٣-حضرت أنبوبتي أختبار نظيفة وجافة، علمت الاولى للاختبارTوالثانية للانبوبة الخاوية B.

٤-أضيف للاولى T (٠.٤ مل) من المزيج والثانية B (٠.٢ مل) من محلول TCA و ٠.٢مل ماء مقطر.

٥-أضيف ٠.٨ مل من محلول الدارىء الترس و ٠.٠٢ مل من محلول DTNB لكلا الانبوبتين.

٦-ترج الانابيب جيداً وتقرأ الامتصاصية بأستعمال المطياف الضوئي عند الطول الموجي٤١٢ نانومتر بفترة لاتزيد عن خمس دقائق. ثم يرسم المنحني القياسي بين الامتصاصية والتركيزكما في الشكل (٣).




شكل (٣) المنحني القياسي للكلوتاثيون (مايكروغرام/مل) والامتصاصية بطول موجي٤١٢ نانومتر.

## (٢-١٣) تقدير محتوى الاسكوربيت الكلي **Total Ascorbic acid assay**

(Shalata and Neumann,٢٠٠١)

أستخدمت طريقة ٢,٤ -dinitrophenylhydrazine method (DNPH)، حيث يؤكسد فيها حامض الاسكوربك Ascorbic acid بواسطة $Cu^{+2}$ الىDihydroascorbic acid(DHA)،و diketogulonic acid. وعندالمعاملة بـDNPH يتكون ٢,٤ –dehydrophenylosazon، الذي بوجود حامض الكبريتيك Sulfuric acid يتكون مركب برتقالي محمر Orange-red complex الذي يمتص الضوء عند الطول الموجي (٥٢٠ نانومتر).

أ- **المحاليل المستخدمة** **Preparation of regeants**

١- $(m\text{-}HPO_3)$ Metaphosphoric acid بتركيز (٠.٧٥ مولاري). حضر من أذابة (٣٠ غم) من $(m\text{-}HPO_3)$ في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى ٥٠٠ مل بالماء المقطر.

٢- حامض الكبريتيك Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ بتركيز (٤.٥ مولاري). يضاف٢٥٠ مل من حامض الكبريتك المركز بحذر شديد الى ٥٠٠ مل من الماء المقطر البارد.عندما يبرد المحلول الى درجة حرارة الغرفة يكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر.

٣- حامض الكبريتيك Sulfuric acid $(H_2SO_4)$ بتركيز(١٢ مولاري). حضر من أضافة ٦٥٠ مل من $H_2SO_4$ المركز بحذر شديد الى ٣٠٠ مل من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر.

٤- كاشف DNPH regeant بتركيز (٠.٠١ مولاري).

حضر من أذابة ١٠ غم من ٢,٤–DNPH في ٤٠٠ مل من حامض $H_2SO_4$ (٤.٥ مولاري)، ويكمل الحجم الى ٥٠٠ مل بحامض $H_2SO_4$ (٤.٥ مولاري)، بعد ذلك يبرد لمدة ليلة كاملة، ومن ثم يرشح.

٥- الثيوريا Thiourea (تركيز ٠.٦٦ مولاري)

اذابة ٥ غم من الثيوريا في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى لتر واحد بالماء المقطر.

٦- كبريتات النحاس Copper Sulfate (تركيز ٠.٠٢٧ مولاري)

حضر من أذابة ٠.٦ غم من anhydrous Copper Sulfate في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى ١٠٠ مل بالماء المقطر.

٧- كاشف DTCS regeant

حضر من مزج٥ مل من الثيوريا، و ٥ مل من كبريتات النحاس، و١٠٠ مل من ٢,٤-DNPH regeant.

٨- محلول الاسكوربيت القياسيي Ascorbic acid Standard

حضر محلول حامض الاسكوربك القياسي بتركيز (٢٠ µg/L) ويستعمل لعمل المنحني القياسي.

**ب-طريقة العمل The procedure**

**١-**حضر المستخلص النباتي من سحق (١غم) من النسيج النباتي في (١٠ مل)من TCA.

**٢-** يؤخذ (٠.٥ مل) من المستخلص النباتي ويضاف أليه (٢ مل) من محلول (m- HPO٣) . ترج الانابيب جيداً ثم تجرى عملية الطرد المركزي بقوة (٩٠٠ g)

لمدة(١٠ دقائق) بدرجة حرارة الغرفة. بعدها يؤخذ (١.٢ مل) من الراشح ويضاف أليه (٠.٤ مل) من كاشف DTCS ويحضن بدرجة حرارة (٣٧ درجة مئوي) لمدة ثلاث ساعات.

٣-حضر البلانك (Blank) من(١.٢ مل) من (m- $HPO_3$) مضافاً أليه (٠.٤ مل) من كاشف DTCS ويحضن بدرجة حرارة (٣٧ مئوي) لمدة ثلاث ساعات.

٤- بردت الانابيب لمدة عشرة دقائق في الثلج. ثم يضاف ببطء (٢ مل) من حامض الكبريتيك البارد( M ١٢) الى كل الانابيب.

٥- قرأت الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي (٥٢٠) نانومتر.

٦- تم حسب محتوى Ascorbic acid الكلي من خلال المعادلة الاتية:-

**At/Ast X Cst =Ct**
**At= Absorbance of test**
**Ast=١.٤٨**
**Ct=٢٠ mg/L**
**Cst=concentration of Standard Ascorbic acid**

## (٢-١٤) الكشف عن المركبات الفعالة في مستخلص اليانسون:-

**أ- الكشف عن عموم القلوانيات Alkaloids**

تم الكشف عن عموم القلوانيات بأستخدام كاشف مايرMayers regeant الذي حضر من أذابة١٣.٥ غم من كلوريد الزئبقيك و٥٠ غم من يوديد البوتاسيوم في لتر من الماء المقطر. أضيف (٢ مل)من الكاشف الى(٥مل) من المستخلص المائي لليانسون (Harborne ,١٩٨٤).

**ب-الكشف عن عموم الفينولات Phenols**

تم الكشف عن عموم الفينولات بأستخدام كاشف سيانيد الحديد البوتاسيومي Potassium ferric cyanide وكلوريد الحديديك Ferric Chloride وحضرمن أذابة كميتين متساويتين من المحاليل المائية١% كلوريد الحديديك و١% لسيانيد الحديد البوتاسيومي وأضيفت كمية منه الى كمية متساوية لها من المستخلص النباتي لليانسون (Harborne , ١٩٨٤) .

**ج- الكشف عن التربينات Terpenoids**

أستخدم كاشف الرغوة للكشف عن السابونين في المستخلص النباتي وذلك بوضع كمية من المستخلص في قنينة محكمة الغلق ورج القنينة (Harborne ,١٩٨٤).

**د- الكشف عن الكلاكوسيدات Glycosides**

تم مزج جزأن متساويان من كاشف فهلنك [حضر محلول (أ) بأذابة ٣٥ غم من كبريتات النحاس $CuSO_4$ في ١٠٠ مل ماء مقطر وخفف المحلول الناتج الى ٥٠٠ مل. أما المحلول (ب) فحضر من أ ذابة٧ غم من هيدروكسيد الصوديوم NaOH و ١٧٥ غم من ملح روشيل في ١٠٠ مل ماء مقطر. وأكمل الحجم الى ٥٠٠ مل ماء مقطر] وعند الاستعمال يتم مزج حجمين متساويين من المحلولين (أ ،ب) والمستخلص النباتي ثم ترك في حمام مائي مغلي لمدة ١٠ دقائق (Shihata ,١٩٥١).

**و- الكشف عن الفلافونات Flavonoids**

وتـم بأضـافة (١٠ مـل) مـن الكحـول الاثيلـي ٥٠ % الـى (١٠ مـل) مـن محلـول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH (٥٠ %). ثم مزج (٥ مل) من هذا المحلول في كمية متساوية لـه من المستخلص النباتي.

**ي- الكشف عن التانينات Tannins**

وتـم بأخـذ (١٠ مـل) مـن المسـتخلص النبـاتي وأضـيف أليـه قطـرات مـن محلـول خـلات الرصاص١% (Shihata,١٩٥١) .

**ن- الكشف عن الراتنجات Resines**

أضـيف (١٠ مـل) مـن المـاء المقطـر المحمـض بحـامض الهيـدروكلوريك HCl الـى المستخلص النباتي (Shihata,١٩٥١).

جدول(١) الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لليانسون:-

| المركب | الكاشف المستخدم | دليل الكشف | نتيجة الكشف |
|---|---|---|---|
| الفينولات | كلوريدالحديـــــــــديك١%، سيانيد الحديد البوتاسيومي١% | ظهور لون أخضر مزرق | + |
| القلوانيات | كاشف ماير | راسب رمادي | + |
| الفلافونات | الكحـــــــــــــــول | ظهور لون أصفر | + |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | الاثيلـــــي ٥٠%،هيدروكســـــيد البوتاسيوم٥٠% | | |
| التانينات | خلات الرصاص ١% | راسب هلامي | + |
| الراتنجات | مـاء مقطـر مسـتحمض بحـامض الهيدروكلوريك | عكورة Turbidity | + |
| الكلاكوسيدات | فهلنك | ظهور لون أحمر | + |
| التربينات | رج المستخلص المائي | رغوة كثيفة لمدة طويلة | - |

# الفصل الثالث

# النتائج Results

**(٣-١) تأثير ظاهرة التعمير في استجابة تجذير عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية:-**

يشير الجدول (٢) الى تأثير ظاهرة التعمير في عقل الماش والسيطرة عليها باستعمال طرائق فيزيو- كيميائية. حيث بينت النتائج بأن العقل الطرية غير المعاملة بالاوكسين (عينة السيطرة) كشفت عدداً من الجذور يساوي (١٠.٥٨) جذر في العقلة الواحدة، وهذا يعزى الى تأثير الأوكسين الطبيعي Endogenous auxin . وكذلك العقل المعاملة بالايثانول (٢٪) كشفت العدد نفسه تقريباً. مما يؤكد أن تركيز الايثانول المستعمل في إذابة الأوكسين NAA غير مؤثر في عملية تكوين الجذور في عقل الماش. أما بالنسبة للعقل الطرية والمعاملة بالاوكسين الخارجي Exogenous auxin (NAA بتركيز $١٠^{-٤}$ مولاري) ولمدة ٢٤ ساعة، كشفت عدداً من الجذور يساوي (٥٠.٩ جذر) في العقلة الواحدة. أي أن عدد الجذور أزداد بنسبة مئوية قدرها (٣٨١.١%). أما في حالة تعمير العقل بالماء المقطر (لمدة ثلاثة أيام) ثم نقلها الى حامض البوريك (٦ أيام) بدون معاملة أوكسينية خارجية فقد كشفت جذوراً تساوي (٥.٧٥ جذر لكل عقلة)، أي انخفضت استجابة التجذير فيها بمقدار (٤٥.٧ %) مقارنة بالسيطرة. بينما في حالة العقل المعمرة بالماء المقطر والتي أُخرت معاملتها بالاوكسين، كشفت عدد من الجذور يساوي (١٩.١٦ جذر) لكل عقلة، حيث انخفضت استجابة التجذير بمقدار (٦٢.٤٠%) مقارنة بالعقل الطرية المستحثة بالاوكسين أيضاً. وأن هذه النسبة عالية المعنوية من الناحية الإحصائية. ويعزى هذا الانخفاض الى العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير وتكون السبب في انخفاض استجابة التجذير.

وبهدف السيطرة على هذه العمليات أو تأخيرها أو الحد منها، فقد عوملت العقل خلال فترة التعمير (ثلاثة أيام) بمحاليل السيطرة (مستخلص اليانسون ١%، ومحلول حامض السينامك $١٠^{-٣}$ مولاري، و محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية Volatile Oils). وأشارت النتائج الى أن العقل المحفوظة في مستخلص اليانسون أو المحفوظة بحامض السينامك خلال فترة التعمير، كشفت عدداً من الجذور [ بعد تجهيزها بالاوكسين NAA (أي تأخير المعاملة الاوكسينية المستحثة)] يساوي ( ٤٨ و٤٧.٤١) جذر لكل عقلة على التوالي. وأن هذه الاستجابة معنوية من الناحية الإحصائية مقارنة بالعقل المعمرة بالماء

جدول (٢ ) تأثير ظاهرة التعمير في استجابة تجذير عقل الماش والسيطرة عليها بإستخدام طرائق فيزيو-كيميائية.

| نوع العقلة | المعاملة اللاحقة لمدة ٢٤ ساعة | معدل عدد الجذور لكل عقلة |
|---|---|---|
| **طرية** | ماء مقطر | ١٠.٥٨ |
| **طرية** | أيثانول ( ٢٪) | ١٠.٠٨ |
| **طرية** | NAA( $١٠^{-٤}$M ) | ٥٠.٩٠ |
| **معمرة في الماء المقطر (تعمير)** | ماء مقطر | ٥.٧٥ |
| **معمرة في الايثانول (٢ %)** | أيثانول (٢٪) | ٦.٥٨ |
| **معمرة في الماء المقطر** | NAA( $١٠^{-٤}$M ) | ١٩.١٦ |

| | | |
|---|---|---|
| **معمـــرة فـــي المســـتخلص المـــائي لليانسون(١%)** | NAA( $١٠^{-٤}$M ) | ٤٨.٠٠ |
| **معمـــرة فـــي حـــامض الســـينامك ($١٠^{-٣}$مولاري)** | NAA( $١٠^{-٤}$M ) | ٤٧.٤١ |
| **معمـرة فـي المحاليـل المائيـة الحاويـة علـى الزيوت التطايريةVolatile Oils** | NAA( $١٠^{-٤}$M ) | ١٥.١٦ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير المحتوى البروتيني في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات.أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/ مستخلص اليانسون١% /حامض السينامك ($١٠^{-٣}$مولاري) / محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى البروتين في العقل المعمرة.

- قيمة (L.S.D.) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٦.١١
- قيمة (L.S.D.) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٨.٦٩٩

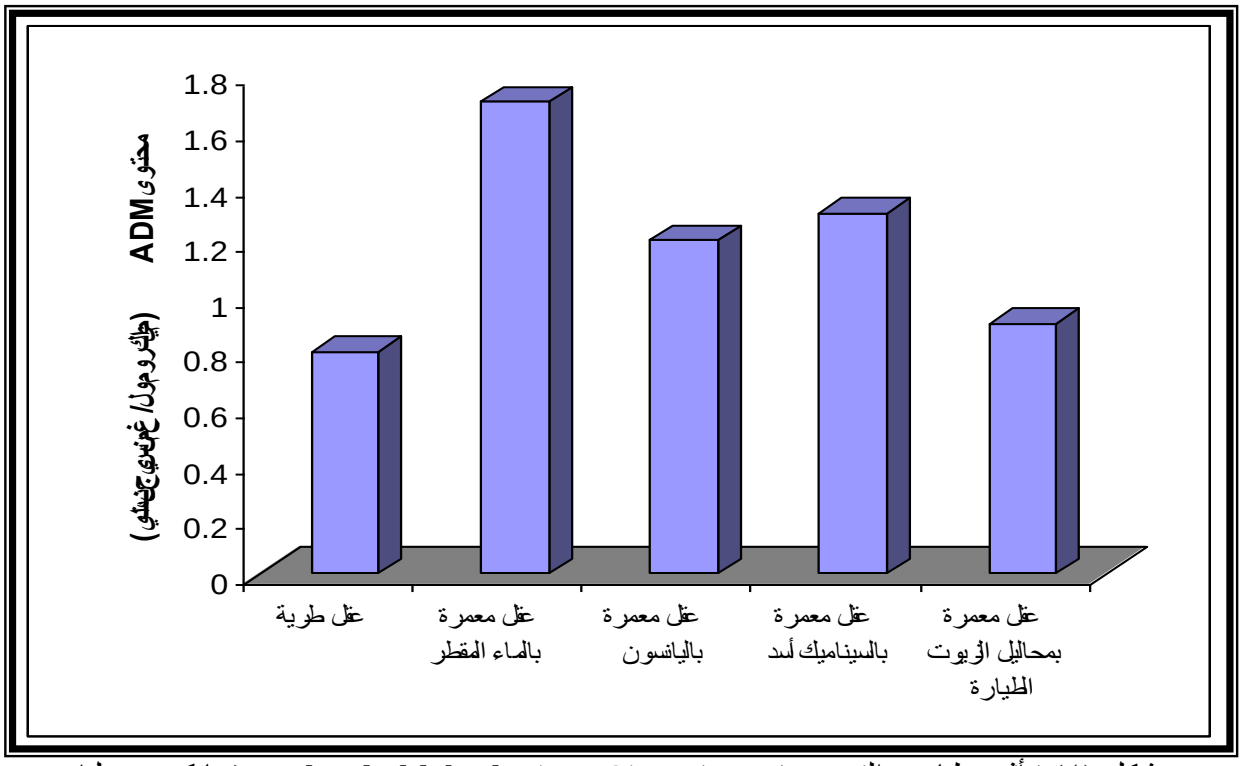
المقطر(١٩.١٦جذر لكل عقلة). وفي نفس الوقت تعتبر غير معنوية مقارنة بالعقل الطرية المستحثة بالاوكسين (٥٠.٩ جذر/ عقلة). ومما تجدر الإشارة إليه أن العقل المعمرة في اليانسون (١%)، وحامض السينامك ($١٠^{-٣}$ مولاري) قد إستجابت كما لو كانت طرية، أي أن هذه المواد قد أوقفت العمليات التي تحصل خلال ظاهرة التعمير بشكل كبير جداً (كلياً). أما في حالة تعمير العقل بمحاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية. كان معدل عدد الجذور المتكونة (١٥.١٦ جذر لكل عقلة). وإن هذه النسبة غير معنوية إحصائياً.

**(٣-٢) تـأثير ظـاهرة التعميـر فـي محتـوى Malondialdehyde (MDA) لعقـل المـاش والسيطرة عليها بأستخدام طرائق فيزيو-كيميائية:-**

يبين الشكل (٤) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى MDA لعقل الماش الكاملة Whole cutting المأخوذة من بادرات نامية في الضوء لمدة عشرة أيام. حيث أتضح بأن محتوى MDA للعقلة الكاملة من العقل المعمرة في الماء المقطر قد أزداد الى (١.٧ مايكرو مول/غم نسيج نباتي) من جراء عملية الاكسدة للدهون أي بنسبة (١٨٨.٨ %) مقارنة بالعقل الطرية إذا أُعتبر محتواها يساوي ١٠٠%. أما فيما يتعلق بالتوزيع للـ MDA خلال أجزاء العقلة فقد يشير الجدول (٣) الى أن محتوى MDA في الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل قد أزداد الى (١.٩ ، ١.٢، ١.٦) مايكرو مول علىالتوالي في العقل المعمرة بالماء المقطر. أن هذه الزيادة كانت معنوية من الناحية الاحصائية مقارنة بأجزاء العقل الطرية ( ١.١ ، ٠.٥ و ٠.٩ ) مايكرو مول على التوالي. وإن النسب المئوية لهذه الزيادة تقدر بحوالي(١٧٢.٧%، ٢٤٠%، ١٧٧.٧%) في كل من الاوراق الاولية، والسويقة الجنينية فوق الفلق، والسويقة الجنينية تحت الفلق على التوالي.

وبهدف السيطرة على ظاهرة التعمير، تم حفظ العقل في محاليل السيطرة (مستخلص اليانسون ١%، حامض السينامك، محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية) فكان محتوى MDA في العقلة الكاملة (١.٢) مايكرو مول/غم نسيج نباتي أي بنسبة انخفاض تساوي (٢٩.٥ %) في العقل المحفوظة بمحلول اليانسون(١%) مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. إي أن مستخلص اليانسون قد أفسد ٢٩.٥ % من العمليات التي تحدث خلال التعمير (شكل-٢). أما توزيعه في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل للعقل المحفوظة في مستخلص اليانسون (جدول-٤) فقد كانت (١.٧، ٠.٩ و ١.٢ ) مايكرو مول على التوالي. إي أن المستخلص نجح في خفض محتوى MDA (أي تثبيط عملية أكسدة الدهون Lipid peroxidation) ولكنه لم يصل الى مستواه في أجزاء العقل الطرية. وإن نسب الانخفاض (١٠.٦، ٢٥، ٢٥) % في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. وأن هذه النسب غير معنوية من الناحية إلاحصائية عند مقارنتها بالعقل المعمرة بالماء المقطر. ومن جانب آخر فأن هذه النسب كانت معنوية من الناحية الاحصائية مقارنة بالعقل الطرية وعلى مستوى أحتمالية (٥%) في جميع أجزاء بأستثناء منطقة الهايبوكوتيل. أما العقل المحفوظة في حامض السينامك ($١٠^{-٣}$مولاري). فقد نجح هذا المحلول في تثبيط عملية أكسدة الدهون وبالتالي انخفاض محتوى MDA الى (١.٣) مايكرومول/ غرام نسيج نباتي في العقلة الكاملة أوالى (١.٨ و ٠.٨ و ١.٣ ) مايكرومول/ غم نسيج نباتي في أجزاء العقلة المذكورة في أعلاه على التوالي، ولكنها لم تصل الى مستوى MDA في أجزاء العقلة الطرية (جدول-٣). وكانت نسب الانخفاض هي (٥.٣، ٣٣.٣، ١٨.٨%) في الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. حيث أن هذه النسب كانت غير معنوية من الناحية الاحصائية مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر بأستثناء منطقة الايبكوتيل وعلى مستوى ٥% من الاحتمالية. وكذلك كانت هذه النسب غير معنوية عند مقارنتها بالعقل الطرية بأستثناء منطقة الاوراق الاولية وعلى مستوى أحتمالية (١%). وعند حفظ العقل في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية فقد أنخفض محتوى MDA في العقلة الكاملة الى (٠.٩ ) مايكرو مول، أي بنسبة انخفاض ٤٧.١ % مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر (شكل- ٤)، وكان محتواه في أجزاء العقلة ( ٠.٨، ٠.٩ و ١.١) مايكرو مول/غم نسيج نباتي في الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. وأن النسب المئوية لهذا الانخفاض تقدر بحوالي (٥٧.٩، ٢٥، ٣١.٣ )% مقارنة بأجزاء العقل المعمرة بالماء المقطر.وكانت هذه النسب معنوية أحصائياً بأستثناء منطقة الايبكوتيل وعلى

مستوى ١% من الاحتمالية. بينما هذه النسب غير معنوية مقارنة بالعقل الطرية بأستثناء منطقة الايبكوتيل، حيث كانت مقرونة بزيادة معنوية على مستوى أحتمالية (٥%) .




شكل (٤) تـأثير ظـاهرة التعمير فـي محتوى Malondialdehyde (MDA) (مـايكرو مـول/غم نسيج نباتي) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٠.٥٤
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٠.٢٥

جدول (٣) تـأثير ظـاهرة التعمير فـي محتوى Malodialdehyde (MDA) (مـايكرو مـول/غم نسيج نباتي) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بأستخدام طرائق فيزيو- كيميائية.

| نوع العقلة | محتوى MDA (مـايكرو مـول/غم نسيج نبـاتي) فـي أجزاء العقل | | |
|---|---|---|---|
| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |

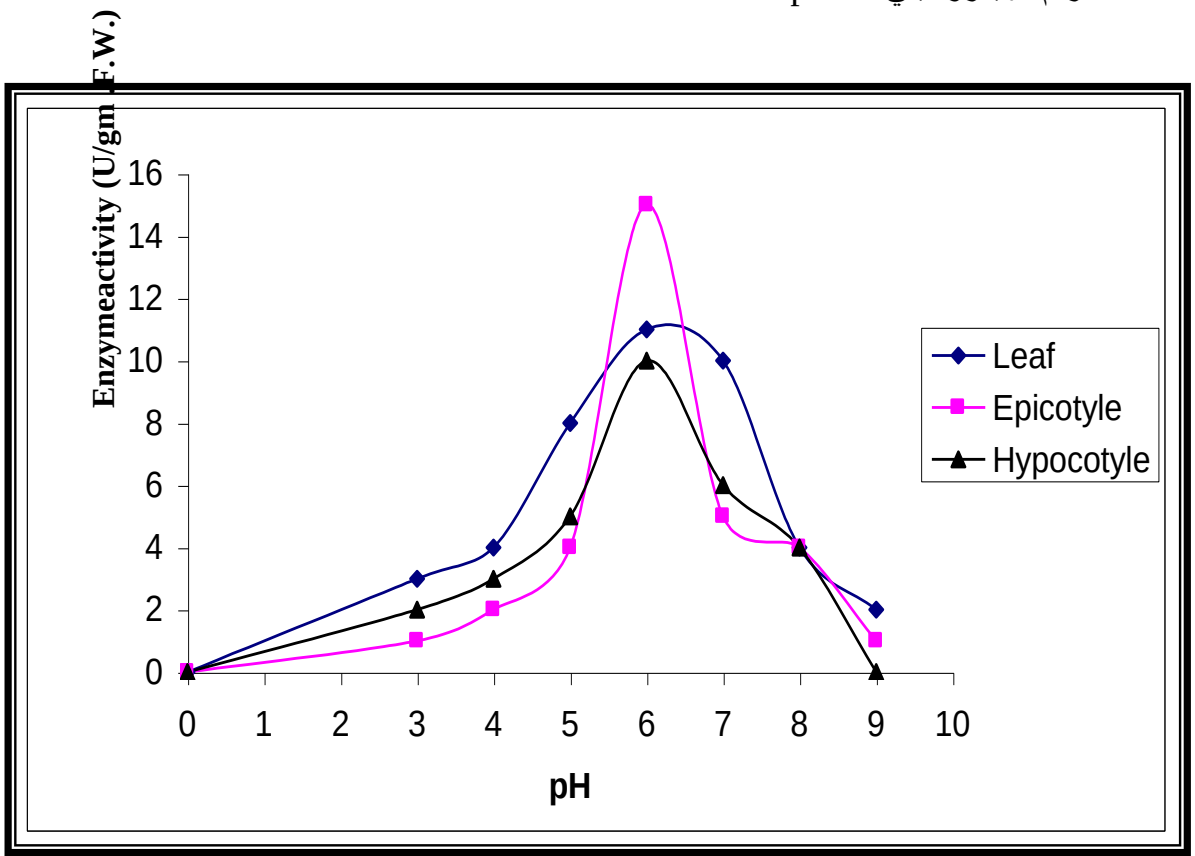
| | | | |
|---|---|---|---|
| طرية | ١.١ | ٠.٥ | ٠.٩ |
| معمرة في الماء المقطر | ١.٩ | ١.٢ | ١.٦ |
| معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%) | ١.٧ | ٠.٩ | ١.٢ |
| معمرة في حامض السينامك ($10^{-3}$مولاري) | ١.٨ | ٠.٨ | ١.٣ |
| معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايريةVolatile Oils | ٠.٨ | ٠.٩ | ١.١ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير المحتوى البروتيني في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات.أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/ مستخلص اليانسون١% /حامض السينامك($10^{-3}$مولاري) / محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى البروتين في العقل المعمرة.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) =٠.٣
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) =٠.٤

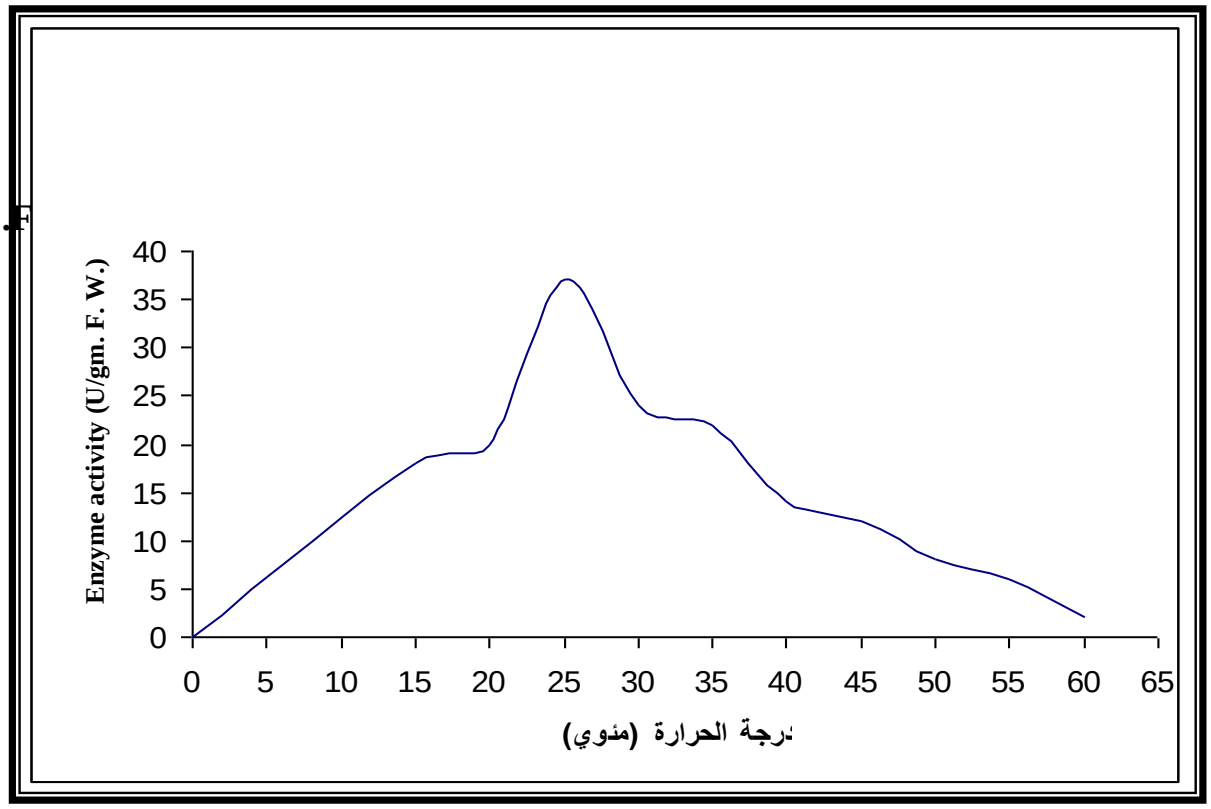
**(٣-٣-أ) تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية انزيم اللايبوكسجنيز Lipoxygenase :-**

يبين الشكل (٥) أن الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية انزيم اللايبوكسجنيز تجاه المادة الاساس هو(٦)، حيث أرتفعت الفعالية الانزيمية تدريجياً في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل بأرتفاع الرقم الهيدروجيني حتى وصلت أقصاها عند الرقم الهيدروجيني (٦) ثم بدأت بالانخفاض مع أرتفاع الرقم الهيدروجيني فوق pH=٦ حيث وصلت الى أدنى فعالية لها عند الرقم الهيدروجيني pH=٩.



**(٣-٣-ب) تأثير درجة الحرارة في فعالية انزيم Lipoxygenase :-**

يتضح من الشكل (٦) أن القعالية الانزيمية للانزيم أزدادت بأرتفاع درجة الحرارة زيادة تدريجية حتى وصلت الفعالية الانزيمية أقصاها عند درجة حرارة ٢٥ مئوي، ثم بدأت بالهبوط مع أرتفاع درجة الحرارة فوق هذه القيمة.

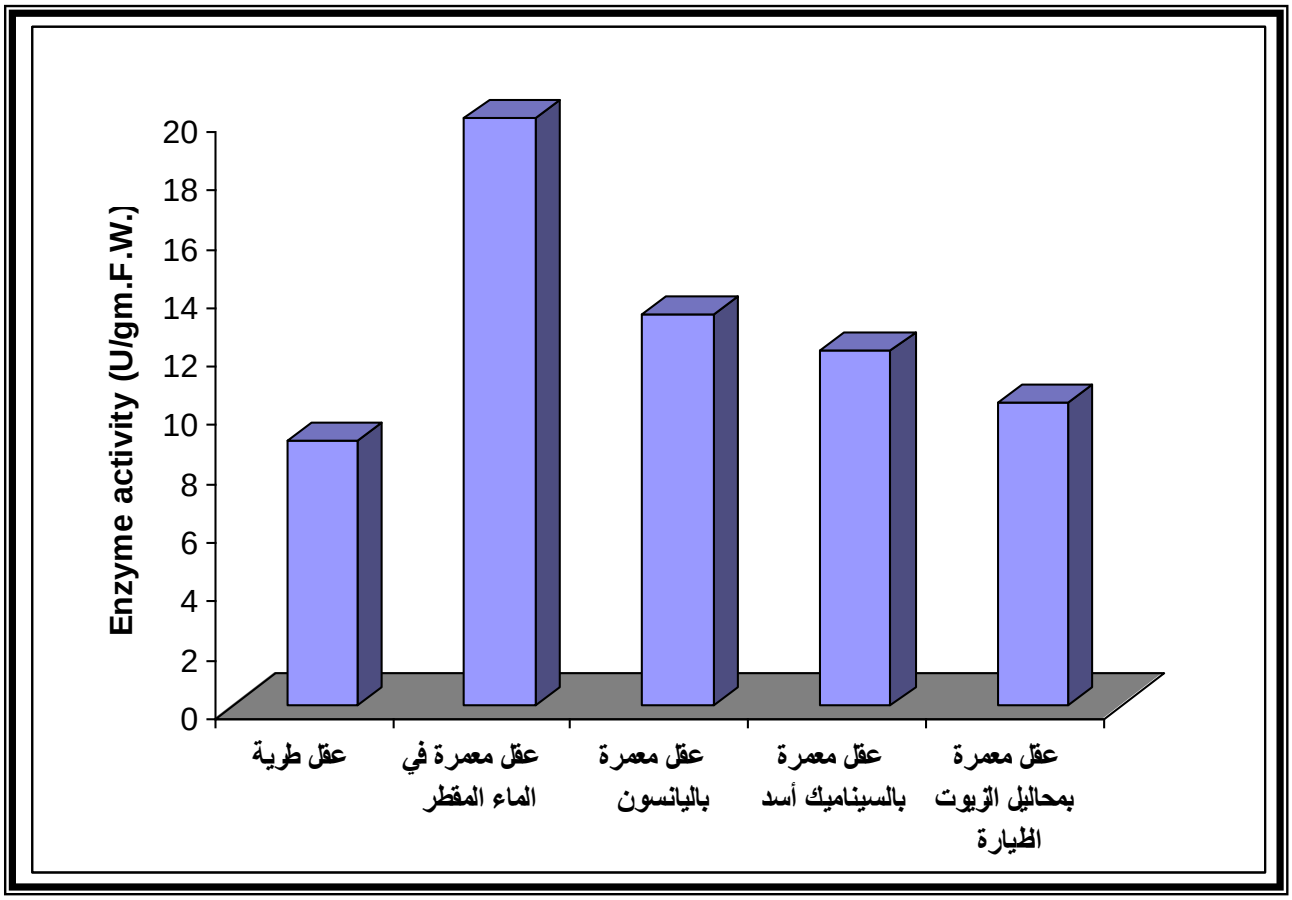



شكل(٦) تأثير درجة الحرارة في فعالية انزيم Lipoxygynase (U/gm. F. W.) في عقل الماش.

**(٣-٣-ج) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم اللايبوكسجنيز Lipoxygenase (LOX) والسيطرة عليها بطرائق فيزيو- كيميائية:-**

يوضح الشكل (٧) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم ( LOX ) لعقلة الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة. حيث وجد أنه خلال ظاهرة التعمير تحصل زيادة معنوية عالية في فعالية إنزيم LOX للعقلة الكاملة تصل الى (٢٠ ) U/gm. F. W ، وكذلك لاجزاء مختلفة من عقل الماش المعمرة (جدول-٤) وهي (٢٥ و ١٦ و ٢٠) U/gm.F.W. في كل من الأوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي مقارنة بقيم فعالية الأنزيم (٩ U/gm. F. W.) للعقلة الكاملة (شكل-٧) أو (٨ ، ٦ و ٨) U/gm. F.W. لنفس الاجزاء على التوالي (جدول-٤). حيث كانت فعالية انزيم LOX في العقل المعمرة أكثر من ثلاثة أضعاف لكل من الاوراق الاولية والايبكوتيل وضعفين ونصف في الهايبوكوتيل.

أما في حالة حفظ العقل في (مستخلص اليانسون ١% و حامض السينامك $١٠^{-٣}$ مولاري و محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية) بهدف السيطرة على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير. فقد وجد أن مستخلص اليانسون خفض الزيادة الحاصلة في فعالية انزيم LOX الى ( ١٣.٣ ) U/gm.F.W. للعقلة الكاملة (شكل-٧) وأن هذا الانخفاض يعتبر معنوي على مستوى أحتمالية (٠.٠١) مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر ويقدر الانخفاض كنسبة مئوية بـ(٣٣.٥% ).كما أن التوزيع كان (١٣ ، ١٠ و ١٤) U/gm.F.W. في أجزائها المشار أليها في أعلاه مقارنة بالعقل المعمرة في الماء المقطر (جدول-٤). وأن هذا الانخفاض غير معنوي من الناحية الاحصائية بأستثناء الاوراق الاولية وعلى مستوى أحتمالية ١%. ولكن هذا الانخفاض لم يصل الى مستوى فعالية انزيم LOX في أجزاء العقل الطرية، الا أنه لا يختلف معنوياً من الناحية الاحصائية عند مقارنتها بالعقل الطرية. وبنفس السياق فأن حامض السينامك خفض الزيادة في فعالية الأنزيم في العقلة الكاملة بشكل معنوي الى (١٢.١) U/gm. F.W. (شكل-٧) أوالى(٩ ، ١٠ و١٥) U/gm.F.W. في أجزاء العقلة المشار أليها على التوالي. وأن نسب الانخفاض هي (٦٤ ، ٣٧.٥، ٢٥)% في أجزاء العقلة على الترتيب في أعلاه. وكانت هذه النسب غير معنوية بأستثناء منطقة الاوراق الاولية، حيث كانت في الاوراق الاولية معنوية جداً وعلى مستوى أحتمالية (١%). وعلى الرغم من معنوية هذه القيم من الناحية الاحصائية في الاوراق الاولية الا انها في نفس الوقت غير معنوية مقارنة بالعقل الطرية. وبعبارة أخرى، فانها وصلت الى نفس قيمها (فعالية الانزيم) في الاوراق الاولية للعقل الطرية، أي أستجابت كما لو كانت عقلاً طرية أو أن حامض السينامك سيطر على فعالية الانزيم أو منع زيادة فعاليته وبالتالي أوقف عمليات أكسدة الدهون التي تحدث خلال التعمير. بينما كانت فعالية انزيم LOX في العقلة الكاملة (١٠.٣ U/gm.F.W.) (الشكل-٧) أو في أجزائها (٨ و ٦ و١٧) U/gm.F.W. في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي للعقل المحفوظة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية (جدول-٤). أي أن حفظ العقل بهذه المحاليل أدى الى خفض الزيادة الحاصلة في فعالية الانزيم LOX مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. حيث انخفضت الى مستوى فعالية الانزيم في العقل الطرية تماماً بأستثناء منطقة الهايبوكوتيل. وبهذا يصح القول بأن الزيوت التطايرية لنبات الآس والذائبة في الماء المقطر قد أخفضت فعالية الانزيم خلال تعمير عقل الماش وأن هذا الانخفاض كان معنوياً وعلى مستوى أحتمالية ١% مقارنة بجميع أجزاء العقل المعمرة بالماء المقطر بأستثناء منطقة الهايبوكوتيل. بينما تعتبر غير معنوية مقارنة بالعقل الطرية وخصوصاً في منطقة الاوراق الاولية والايبكوتيل. وبهذا تكون العقل قد أستجابت كما لو كانت طرية.




شكل (٧) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم Lipoxygenase (U/gm. F. W.) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٧.٦
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٨.١

جدول (٤) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم اللايبوكسجنيز LOX ( U/gm. F.W.) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بأستخدام طرائق فيزيو-كيميائية.

| نوع العقلة | فعالية انزيم LOX ( U/gm.F.W. ) في أجزاء العقل | | |
|---|---|---|---|
| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |
| طرية | ٨ | ٦ | ٨ |
| معمرة في الماء المقطر | ٢٥ | ١٦ | ٢٠ |
| معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%) | ١٣ | ١٠ | ١٤ |
| معمرة في حامض السينامك ($١٠^{-٣}$مولاري) | ٩ | ١٠ | ١٥ |
| معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية | ٨ | ٦ | ١٧ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير المحتوى البروتيني في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات.أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/ مستخلص اليانسون١% /حامض السينامك($١٠^{-٣}$مولاري) / محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى البروتين في العقل المعمرة.

- قيمة (L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٦
- قيمة (L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٧

**(٣-٤) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى البروتين لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-**

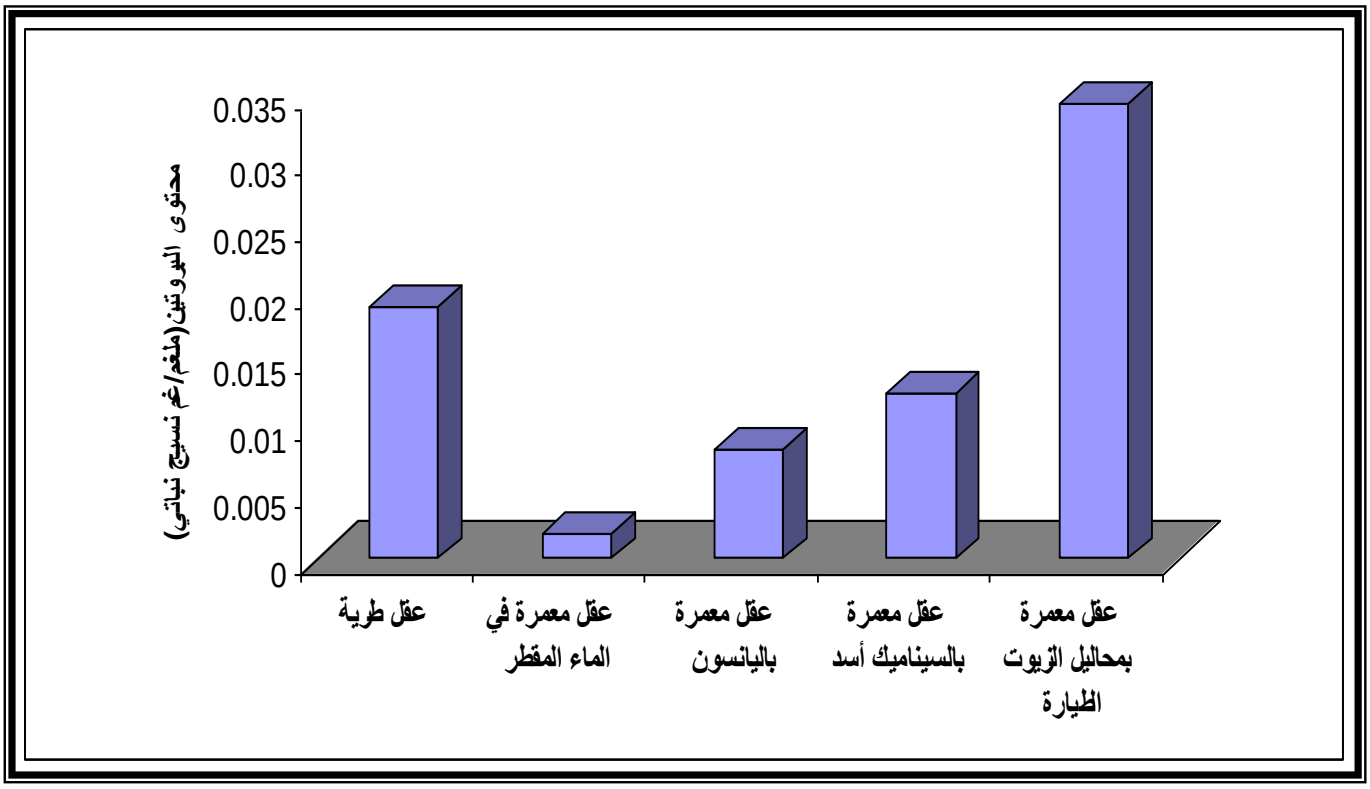
يبين الشكل (٨) تأثير ظاهرة التعمير في المحتوى البروتيني لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة. حيث يشير الى أن كمية البروتين الابتدائية ( initial amount) الموجودة في العقلة الطرية الكاملة هي (٠.٠١٩ ملغم/غم نسيج نباتي) وأن توزيعه الطوبوغرافي على أجزاء العقلة الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل هي (٠.١٤٦، ٠.١٨٧، ٠.١٤٤) ملغم/غم نسيج نباتي في العقلة الطرية (جدول-٥). وأن هذا المحتوى قد أنخفض الى عشر قيمته في العقلة المعمرة الكاملة. وأما توزيعه على أجزاء العقلة فقد أنخفض أيضاً وبشكل معنوي في العقلة المعمرة الى (٠.٠٣٢، ٠.٠٠٨، ٠.٠٠٨) ملغم/غم نسيج نباتي على التوالي. وأن نسب الانخفاض هي تقدرب (٧٨.١، ٩٥.٨، ٩٤.٥) % في أجزاء العقلة أعلاه على التوالي.

أما في حالة تعمير العقل بمحاليل (اليانسون وحامض السينامك و محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية) لمدة ثلاثة أيام بهدف السيطرة على ظاهرة التعمير. فكان محتوى البروتين في العقلة الكاملة Whole cutting (٠.٠٠٨)، أي أزداد بنسبة ٤٣١.٦% مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر أذا أعتبر محتواها من البروتين ١٠٠%. وأن توزيعه في أجزاء العقلة الاوراق

الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل (٠.٠٤٦، ٠.٠٩٨، ٠.٠٦٢) ملغم/غم نسيج نباتي. أي نجح المستخلص في أيقاف الانخفاض الحاصل في كمية البروتين ولكنها لم تصل الى مستوى البروتين في أجزاء العقل الطرية. وأن هذه النسب كانت معنوية وعلى مستوى ١% من الاحتمالية بأستثناء منطقة الاوراق الاولية.

كما أن كمية البروتين في العقلة المحفوظة في حامض السينامك ($10^{-3}$ مولاري) قد أزداد الى (٠.٠١٢٥) ملغم/غم نسيج نباتي، أي بزيادة تقدر كنسبة مئوية بـ٦٥٧.٩% مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. وفي أجزاء العقلة(٠.١، ٠.٠٦٧، ٠.٠٦٩) ملغم/غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. أي أن المحلول منع الانخفاض الحاصل في المحتوى البروتيني جزئياً. وتختلف جميع هذه النسب معنوياً من الناحية الاحصائية وعلى مستوى أحتمالية ١% مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. ومن جانب أخر فأن هذه النسب لا تختلف معنوياً من الناحية الاحصائية مقارنة بالعقل الطرية بأستثناء منطقة الايبكوتيل، حيث زاد محتوى البروتين في الأخير بأكثر من ثلاثة أضعاف ونصف عن محتواه في عينة السيطرة.

وعند تعمير العقل في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية Volatile Oils . كانت كمية البروتين في العقلة الكاملة (٠.٠٣٤) ملغم/غم نسيج نباتي (شكل-٨) وفي أجزاء العقلة (٠.١١٣، ٠.١٠٦، ٠.٠٩٥) ملغم/غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. أي أن محتوى البروتين قد زاد بشكل مدهش الى (١٨) ضعف مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر(٠.٠٠١٩) ملغم/ غم نسيج نباتي. ومن ناحية أخرى فأن هذه القيمة قد فاقت ضعف ماهو عليه من قيمة للبروتين في العقل الطرية (يساوي١.٨ ضعف). أما توزيع البروتين في العقل المعمرة بمحاليل الزيوت التطايرية فكانت (٠.١١٣، ٠.٠٩٥، ٠.١٠٦) ملغم/غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي (جدول-٥). أي بنسبة زيادة تساوي (٣٥٣.١، ١٣٢٥، ١١٨٧.٥) % عن العقل المعمرة بالماء المقطر. علما بأن هذه النسب تمثل (٧٧.٤، ٥٦.٧، ٦٦)%من قيم البروتين في العقل الطرية على التوالي.




شكل (٨) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى البروتين (ملغم/غم نسيج نباتي) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٠.٠٤١
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٠.٠٤٥

جدول (٥) تأثير ظاهرة التعمير في المحتوى البروتيني (ملغم/ غم نسيج نباتي) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-

| نوع العقلة | محتوى البروتين (ملغم/غم نسيج نباتي) في أجزاء العقل |
|---|---|

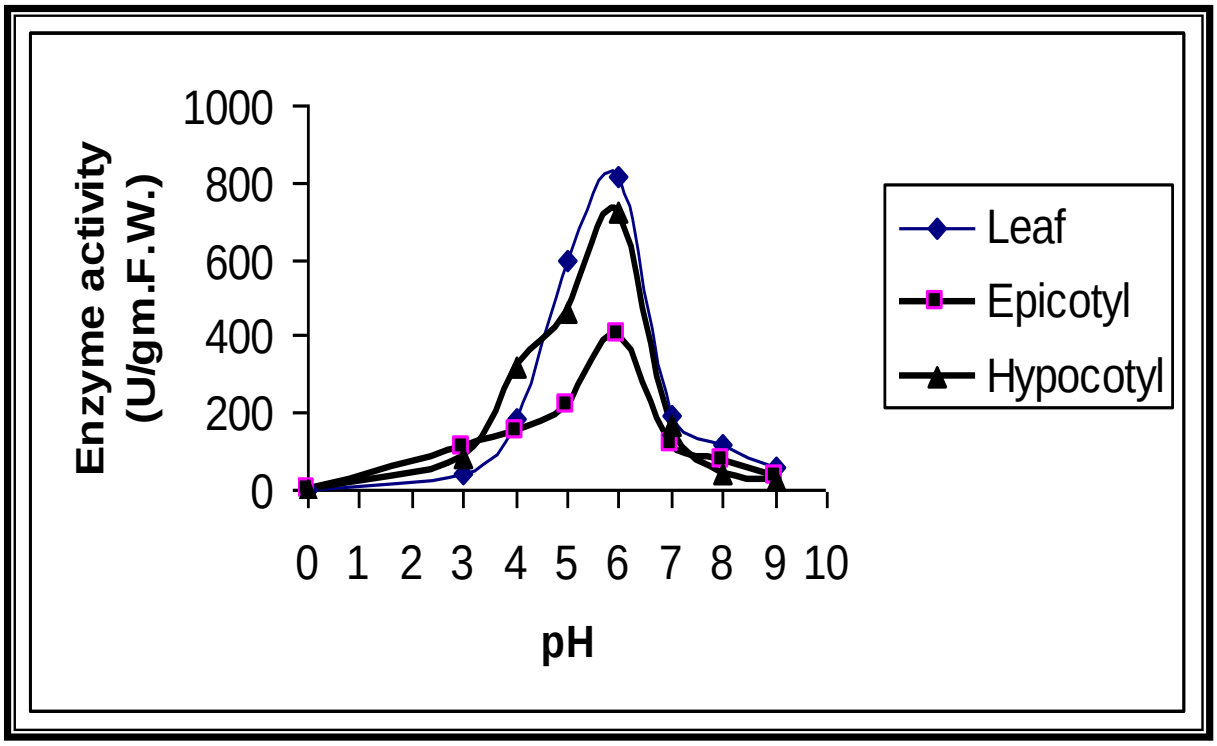
| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |
|---|---|---|---|
| **طرية** | ٠.١٤٦ | ٠.١٨٧ | ٠.١٤٤ |
| **معمرة في الماء المقطر** | ٠.٠٣٢ | ٠.٠٠٨ | ٠.٠٠٨ |
| **معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%)** | ٠.٠٤٦ | ٠.٠٦٢ | ٠.٠٩٨ |
| **معمرة في حامض السينامك ($10^{-3}$ مولاري)** | ٠.١٠٠ | ٠.٦٩٠ | ٠.٠٦٧ |
| **معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية** | ٠.١١٣ | ٠.١٠٦ | ٠.٠٩٥ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير المحتوى البروتيني في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات. أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/ مستخلص اليانسون١% /حامض السينامك ($10^{-3}$مولاري) / محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى البروتين في العقل المعمرة.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٠.٠٣٣
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٠.٠٤٧

**(٣-٥-أ) تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية انزيم البروتيز Protease :-**

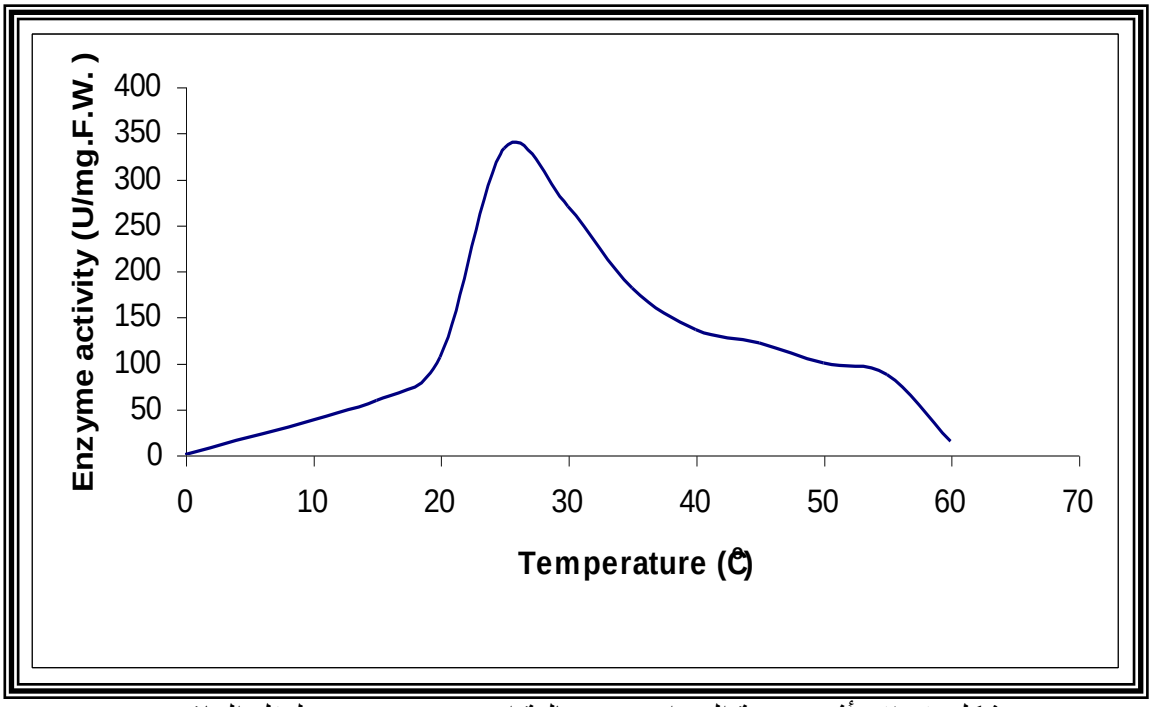
يبين الشكل (٩ ) أن الرقم الهيدروجيني الامثل لفعالية انزيم البروتيز تجاه الالبومين هو(٦)، حيث أرتفعت الفعالية الانزيمية تدريجياً في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل بأرتفاع الرقم الهيدروجيني حتى وصلت أقصاها عند الرقم الهيدروجيني (٦) ثم بدأت بالانخفاض مع أرتفاع الرقم الهيدروجيني فوق pH=٦.




شكل (٩) تأثير الاس الهيدروجيني في فعالية انزيم Protease (U/gm. F. W.) لاجزاء عقل الماش.

**(٣-٥-ب) تأثير درجة الحرارة في فعالية انزيم Protease :-**

يتضح من الشكل (١٠) أن القعالية الانزيمية للانزيم أزدادت بأرتفاع درجة الحرارة زيادة تدريجية حتى وصلت الفعالية الانزيمية أقصاها عند درجة حرارة ٢٥ مئوي، ثم بدأت بالهبوط مع أرتفاع درجة الحرارة فوق هذه القيمة.



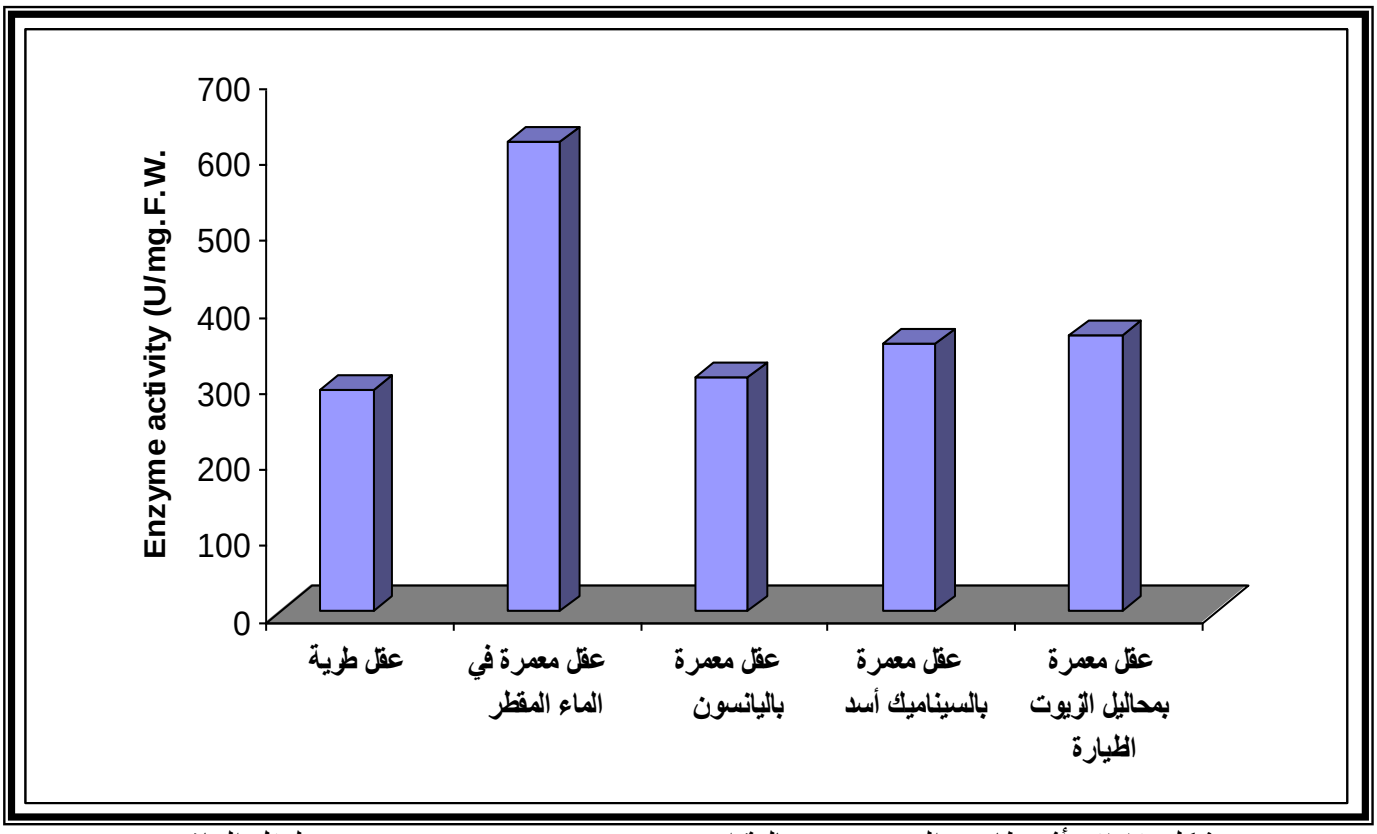

شكل (١٠) تأثير درجة الحرارة في فعالية انزيم Protease لعقل الماش.

**(٣-٥-ج) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم Protease لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-**

يوضح الشكل (١١) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم البروتيز لعقلة الماش الكاملة. حيث أن الفعالية الابتدائية Initial activity في العقل الطرية هي (٢٩٠.١) U/gm.F.W. وانها أزدادت في العقل المعمرة في الماء المقطر ( بتأثير التعمير) الى أكثر من الضعف (٦١٥.٤٢ ).U/gm.F.W وقد انخفضت عن هذا الحد بتأثير محاليل السيطرة . وكان أفضلها مستخلص اليانسون (١%) حيث خفض فعاليتها الى مستواها في العقل الطرية تقريباً. كما لوحظ زيادة فعالية الانزيم في أجزاء العقل المعمرة في الماء المقطر (٩٥٣.٨٣، ٦١٨.٦٦، ٩٩١.٨٧) U/gm.F.W. في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. وأن النسب المئوية للزيادة تقدر بـ (١٩٧.٧، ٢٢٣.٤، ٢٢٠.٤) % في أجزاء العقلة أعلاه على التوالي مقارنة بالعقل الطرية. وأن هذه الزيادة معنوية من الناحية الاحصائية وعلى مستوى أحتمالية ١%.

وعند حفظ العقل في محاليل (مستخلص اليانسون، حامض السينامك، محاليل مائية حاوية على زيوت تطايرية). فأن فعالية الانزيم قد انخفضت في أجزاء مختلفة من عقل الماش

المعمرة في جميع المحاليل التي أستخدمت أعلاه للسيطرة على العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعميرمقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. حيث وصل الانخفاض الى مستوى فعالية الانزيم وبشكل معنوي في الاوراق الاولية والى أكثر من ذلك بقليل في الايبكوتيل والهايبوكوتيل في العقل المعمرة في مستخلص اليانسون (١%) أو الى دون مستوى فعاليتها في هيبوكوتيل العقل المعمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية مقارنة بالعقل الطرية. ومما تجدر الاشارة أليه أن المحاليل التي أستخدمت في السيطرة على عمليات التعمير والمتمثلة في هذه التجربة بفعالية انزيم Protease قد أوقفت تقريباً العمليات التي تحدث خلال التعمير بشكل كبير ومن ضمنها فعالية انزيم البروتيز، وهذا ما يؤكده نتائج التقدير الكمي للمحتوى البروتيني جدول (٦) والتي جاءت متناغمة مع فعالية انزيم Protease .




شكل (١١) تأثيرظاهرة التعمير في فعالية انزيم Protease (U/gm. F. W.) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٤٩.٢١
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٥٦.٣٢

جدول (٦) تأثير ظاهرة التعمير في فعالية انزيم البروتيز Protease (U/gm. F.W.) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة :-

| نوع العقلة | فعالية انزيم Protease ( U/gm.F.W. ) في أجزاء العقل | | |
|---|---|---|---|
| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |
| طرية | ٤٨٢.٣٣ | ٢٧٦.٨٣ | ٤٤٩.٨٣ |
| معمرة في الماء المقطر | ٩٥٣.٨٣ | ٦١٨.٦٦ | ٩٩١.٨٣ |
| معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%) | ٤٥٢.٨٣ | ٣٢١.١٦ | ٥٠٢.٦٦ |
| معمرة في حامض السينامك ($10^{-3}$مولاري) | ٥٥٢.١٦ | ٤١٩.٣٣ | ٤٨٧.٣٣ |
| معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية | ٦٥٠.٣٣ | ٥٥١.٨٣ | ٣٠٢.٨٣ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير فعالية انزيم Protease في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات.أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/مستخلص اليانسون ١%/ حامض السينامك($10^{-3}$مولاري)/ محاليل الزيوت التطايريةلمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير الانزيم في العقل المعمرة.

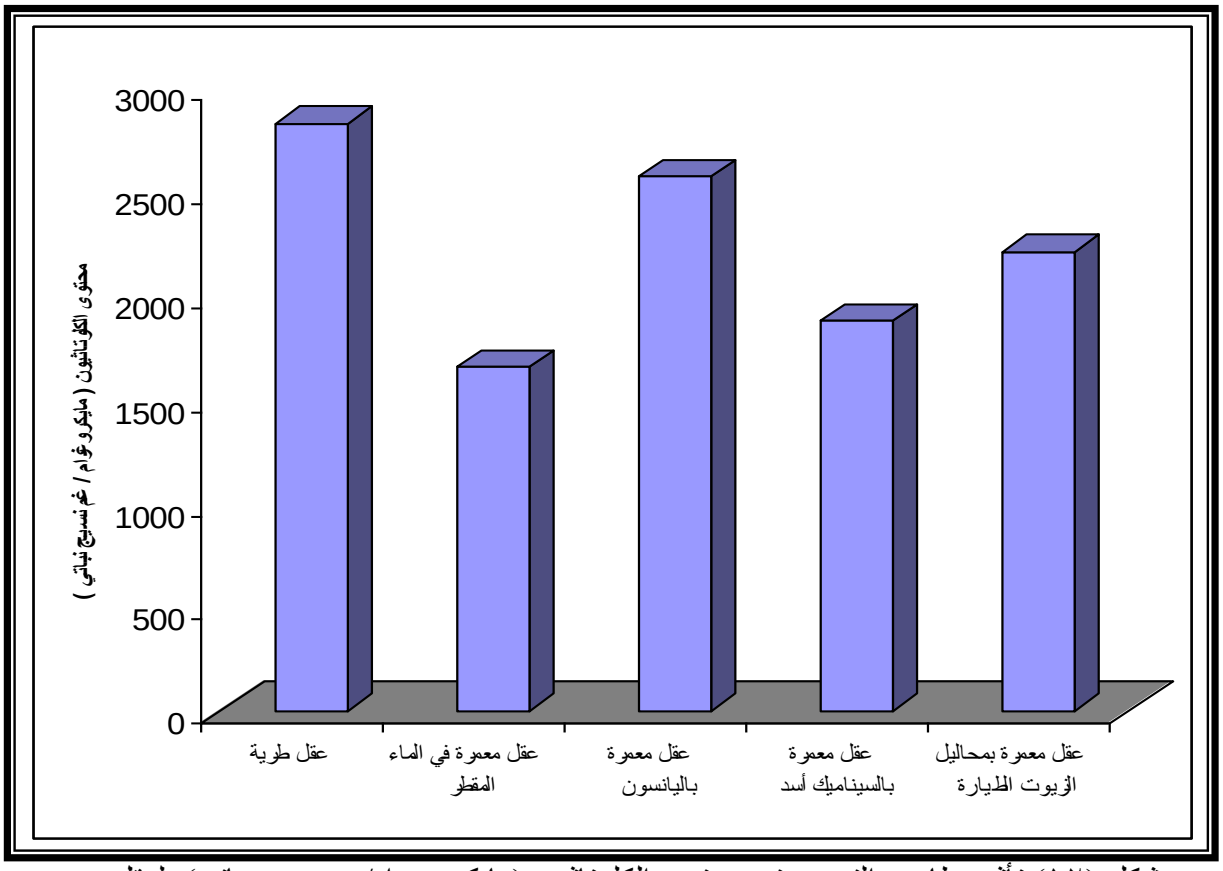
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٢٦.٤٧
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٣٥.٣٣

**(٣-٦ ) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون ( GSH) لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-**

يتضح من ملاحظة الشكل (١٢) أن محتوى الكلوتاثيون قد أنخفض في العقل المعمرة في الماء المقطر الى (١٦٥٥.٥٦) مايكروغرام/غم نسيج نباتي مقارنة بالعقل الطرية (٢٨٢٦.٢٤) مايكروغرام/غم نسيج نباتي وتقدر نسبة الانخفاض بـ (٤١.٥ )%. وقد أزداد

محتوى الكلوتاثيون عن محتواه في العقل المعمرة بالماء المقطر بتأثير محاليل السيطرة. وكان أفضلها مستخلص اليانسون (١%)، حيث أزداد محتواه بشكل كبير ووصل الى مستواه في العقل الطرية تقريباً (٢٥٦٨.٩٢) مايكروغرام/غم نسيج نباتي. كما أنخفض محتوى GSH في أجزاء العقلة المعمرة في الماء المقطر (٣٥١٩.٢، ٢٣٩٢.٦، ٢٣٦٦) في الاوراق الاولية والاييكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي مقارنة بأجزاء العقل الطرية (٤٥١٢.٦ و ٤١٣٢.٦ و ٥٤٨٦) مايكروغرام/غم نسيج نباتي المذكورة أعلاه على التوالي (جدول-٧). وعند حفظ العقل في محاليل السيطرة للحد من العمليات التي تحدث خلال التعمير، فنلاحظ أن أستخدام هذه المحاليل قد أوقف الانخفاض الحاصل في محتوى GSH (نتيجة التعمير) في أجزاء مختلفة من عقل الماش، حيث أن مستخلص اليانسون أوقف بالكامل هذا الانخفاض في جميع أجزاء العقلة. ومما يؤكد ذلك كون هذه القيم غير معنوية وخصوصاً على مستوى ١% من الاحتمالية. فقد كان محتوى GSH في أجزاء العقل المعمرة باليانسون (١%) (٤٦٤٦ و ٣٦٥٢.٦ و ٣٥٤٦) مايكروغرام/غم نسيج نباتي في أجزاء العقلة المذكورة على التوالي مقارنة بأجزاء العقل الطرية (٤٥١٢.٦ و ٤١٣٢ و ٥٤٨٦) مايكروغرام/غم نسيج نباتي. أي أن العقل المعمرة باليانسون أستجابت كما لو كانت عقلاً طرية بخصوص محتوى الكلوتاثيون. أما محتواه في العقل المحفوظة بحامض السينامك (١٠-٣ مولاري) كان (٤٢١٩.٢ و ٢١٧٢.٦ و ٢٩٩٢) مايكروغرام/ غم نسيج نباتي في أجزاء العقلة المشار أليها في أعلاه على التوالي، أي أن المعاملة بهذا المحلول أوقفت الانخفاض الحاصل في محتوى GSH وخصوصاً في الاوراق الاولية عند مقارنتها بعينة السيطرة. بينما أنخفض محتوى GSH الى دون ما هو عليه في العقل المعمرة بالماء المقطر في الاييكوتيل للعقل المعمرة في حامض السيناميك. وأن هذه النسب غير معنوية أحصائياً مقارنة بالعقل المعمرة في الماء المقطر وعلى مستوى أحتمالية (١%). بينما كانت أحصائياً معنوية مقارنة بالعقل الطرية بأستثناء منطقة الاوراق الاولية.

وكان محتوى GSH في أجزاء العقل المحفوظة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية (٣٢٥٩.٢ و ٢١٦٦ و ٥٦٣٢.٦) مايكروغرام/غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والاييكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. حيث أن هذه المحاليل تمكنت من أيقاف الانخفاض الحاصل في محتوى GSH في منطقة الهايبوكوتيل، حيث بلغ نفس محتواه في هايبوكوتيل العقل الطرية.




شكل (١٢) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون(مايكروغرام/غم نسيج نباتي) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٥٣٦.١١
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٦٨٨.٤٥

جدول(٧) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى الكلوتاثيون (مايكروغرام/غم نسيج نباتي) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة.

| نوع العقلة | محتوى الكلوتاثيون (مايكروغرام/ غم نسيج نباتي)في أجزاء العقل | | |
|---|---|---|---|
| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |
| طرية | ٤٥١٢.٦ | ٤١٣٢.٦ | ٥٤٨٦.٠ |
| معمرة في الماء المقطر | ٣٥١٩.٢ | ٢٣٩٢.٦ | ٢٣٦٦.٠ |
| معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%) | ٤٦٤٦.٠ | ٣٦٥٢.٦ | ٤٥٤٦.٠ |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **معمرة في حامض السيناميك ($١٠^{-٣}$ مولار)** | ٤٢١٩.٢ | ٢١٧٢.٦ | ٢٩٩٢.٠ |
| **معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية.** | ٣٢٥٩.٢ | ٢١٦٦.٠ | ٥٦٣٢.٦ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر (١٠) أيام. تم تقدير محتوى الكلوتاثيون في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات. أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر/ مستخلص اليانسون ١%/ حامض السيناميك ($١٠^{-٣}$مولاري) / محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى الكلوتاثيون في العقل المعمرة.

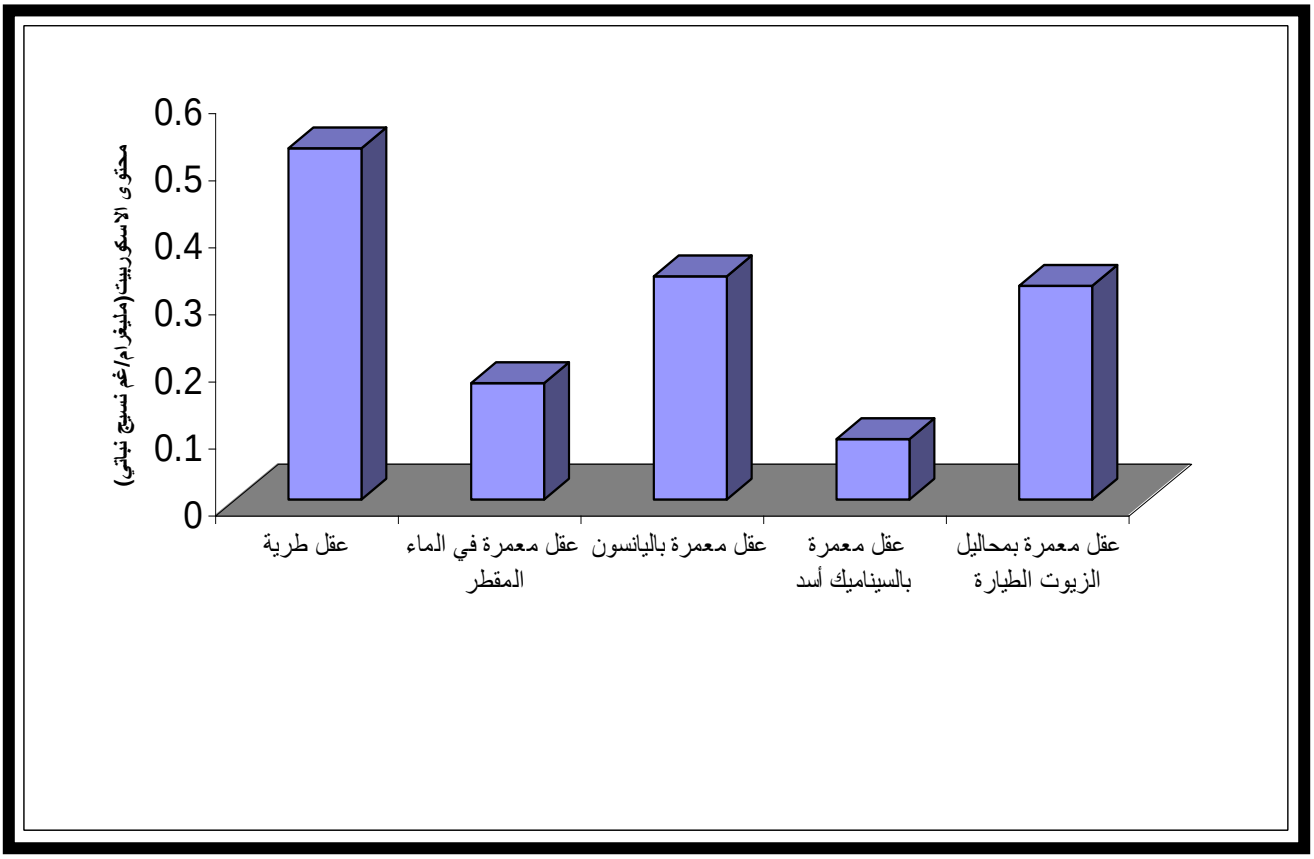
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ٧٣٦.٢
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ٩٨٤.٧

## (٣-٧) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى حامض الاسكوربك الكلي (Total ascorbic acid) والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-

يشير الشكل (١٣) الى تأثير ظاهرة التعمير في محتوى حامض الاسكوربك الكلي لعقل الماش الكاملة. حيث بينت النتائج أن محتوى حامض الاسكوربك قد أنخفض في العقل المعمرة بالماء المقطر الى (٠.١٧٣٦) مليغرام/غم نسيج نباتي مقارنة بالعقل الطرية (٠.٥٢٣٦) مليغرام/غم نسيج نباتي وبنسبة انخفاض تقدر بـ(٦٦.٨٥%). كما أن حفظ العقل بمستخلص اليانسون (١%) ومحاليل الزيوت التطايرية قد أوقف جزئياً الانخفاض الحاصل في محتوى حامض الاسكوربك. بينما حفظ العقل في حامض السيناميك ($١٠^{-٣}$مولاري) لمدة ثلاثة أيام لم تنجح في أيقاف الانخفاض الحاصل في محتوى حامض الاسكوربك الكلي (٠.٠٩٠١٢) مليغرام/غم نسيج نباتي مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر (٠.١٧٣ )مليغرام/غم نسيج نباتي بل زاد من ذلك الانخفاض.

أما محتوى حامض الاسكوربك الكلي على مستوى أجزاء العقلة (الاوراق الاولية و الايبكوتيل والهايبوكوتيل) فيظهره الجدول (٨). فقد بينت نتائج الجدول أعلاه انخفاض محتوى حامض الاسكوربك الكلي في أجزاء العقل المعمرة ( ١.٧ ، ٠.٧ ، ١.٩٤ ) مليغرام/ غم نسيج نباتي المذكورة أعلاه على التوالي. وأن هذا الانخفاض كان معنوياً في جميع أجزاء العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية (٤.١٢، ٤.٥٢، ٥.٠٥) مليغرام/غم نسيج نباتي. قدرت النسبة المئوية للانخفاض بحوالي (٥٨.٨، ٨٤.٦، ٦١.٦) % في أجزاء العقلة على التوالي. وأن هذا الانخفاض معنوي من الناحية الاحصائية وعلى مستوى (١%) من الاحتمالية. وعند حفظ العقل لمدة ثلاثة أيام في محاليل (مستخلص اليانسون و حامض السيناميك و محاليل الزيوت التطايرية) بهدف السيطرة على عمليات التعمير. ففي العقل المحفوظة في اليانسون تم اعاقة الانخفاض الحاصل في محتوى حامض الاسكوربك وبشكل معنوي الى (٣.٢١، ٢.٠٨، ٣.٠٣) مليغرام/غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. وأن هذه القيم تختلف معنوياً من الناحية الاحصائية وعلى مستوى أحتمالية (٥%) ولجميع اجزاء العقلة مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. هذا ومن جانب أخر فأن هذه القيم بالرغم من زيادتها فانها لم تصل الى مستواها الطبيعي في أجزاء العقل الطرية. وأن معاملة العقل المعمرة باليانسون قد أوقفت عمليات التعمير بنسبة (٧٧.٩، ٤٦.٠، ٦٠.١٩ %) في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على

التوالي. أما محتوى حامض الاسكوربك في العقل المحفوظة بحامض السينامك هو (٠.٨٧٣، ٠.٨٦، ٠.٧٢) ملغم/ غم نسيج نباتي في كل من الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. أي أن المحلول لم يفشل في أيقاف الانخفاض في محتوى حامض الاسكوربك (نتيجة التعمير) فحسب بل زاد من الانخفاض أكثر مما هو عليه في العقل المعمرة بالماء المقطر. بالاضافة الى ما تقدم فأن محتوى حامض الاسكوربك في أجزاء العقل المحفوظة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية(١.٨١ و ٣.٨٣ و ٢.٣٢٤) ملغم/ غم نسيج نباتي في الاوراق الاولية والايبكوتيل والهايبوكوتيل على التوالي. أي أن هذه المحاليل لم تتمكن من أيقاف الانخفاض الحاصل في محتوى حامض الاسكوربك وفي جميع أجزاء العقلة بأستثناء الايبكوتيل حيث أزدادت كمية حامض الاسكوربك الكلي بنسبة ٥٤٧.١% مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر ولكنها لم تصل الى مستوى حامض الاسكوربك في أجزاء العقل الطرية. أو بعبارة أخرى فأن محتوى حامض الاسكوربك الكلي في الايبكوتيل قد أزداد الى (٨٤.٧ %) من نسبة تواجده في الايبكوتيل للعقل الطرية بأعتباره ١٠٠%. أي أن المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية لاوراق نبات الآس قد أوقفت جزئياً العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير وما ينعكس ذلك على كمية حامض الاسكوربك الكلي ودوره في عملية تكوين الجذور العرضية في العقل.




شكل (١٣) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى حامض الاسكوربك الكلي (مليغرام/غم نسيج نباتي) لعقل الماش الكاملة والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ١.٠٦
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ١.٣٩

جدول (٨) تأثير ظاهرة التعمير في محتوى حامض الاسكوربك الكلي (مليغرام/غم نسيج نباتي) لاجزاء عقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية مختلفة:-

| نوع العقلة | محتوى حامض الاسكوربك الكلي (مايكروغرام/غم نسيج نباتي) في أجزاء العقل |
|---|---|

| | Primary leaves | Epicotyl | Hypocotyl |
|---|---|---|---|
| **طرية** | ٤.١٢ | ٤.٥٢ | ٥.٠٥ |
| **معمرة في الماء المقطر** | ١.٧٠ | ٠.٧٠ | ١.٩٤ |
| **معمرة في المستخلص المائي لليانسون (١%)** | ٣.٢١ | ٢.٠٨ | ٣.٠٣ |
| **معمرة في حامض السينامك ($١٠^{-٣}$ مولاري)** | ٠.٨٧ | ٠.٦٦ | ٠.٧٢ |
| **معمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت تطايرية** | ١.٨١ | ٣.٨٣ | ٢.٣٤ |

أخذت عقل ماش نامية في الضوء وبعمر(١٠) أيام. تم تقدير محتوى حامض الاسكوربك الكلي في العقل الطرية بعد أخذها مباشرة من البادرات. أما العقل المعمرة فحفظت في الماء المقطر /مستخلص اليانسون ١%/ حامض السينامك($١٠^{-٣}$مولاري)/ محاليل الزيوت التطايرية لمدة ثلاثة أيام. بعد ذلك تم تقدير محتوى حامض الاسكوربك في العقل المعمرة.

- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠٥) = ١.٠٢٠
- قيمة ( L.S.D. ) على مستوى أحتمالية (٠.٠١) = ١.٣٦٥

# الفصل الرابع
# المناقشة Discussion

من المعروف أنه خلال ظاهرة التعمير، تحدث العديد من العمليات الايضية Metabolic processes ذات الطابع الهدمي (ومنها أكسدة الدهون وتحطم البروتين بفعل النشاط الانزيمي أو بتأثير الجذور الحرة) التي تؤدي الى قلة استجابة تجذير العقل. وقد حاول العديد من الباحثين تقليل تأثير هذه التغيرات أو محاولة السيطرة عليها وبالتالي الحصول على أفضل استجابة للتجذير. حيث تؤدي عملية أكسدة الدهون بنوعيها الاكسدة التلقائية Autoxidation والمنظمة بفعل أنزيم Lipoxygenase الى تكوين نواتج أولية (الجذور الحرة والهايدروبيروكسيدات)، وثانوية (مثلMDA ) كما موضح في الشكل (٤). تعزى استجابة تجذير العقل الطرية وغير المعاملة بالاوكسين الخارجي Exogenous auxin (جدول-٢) الى الاوكسين الداخليEndogenous auxin ، كما يعود الى قلة تحطم البروتين والدهون (Shaheed & Jabour,٢٠٠٤)، وتوفر الكاربوهيدرات الضرورية لنمو الجذور وتكشفها (Shaheed & Salim,٢٠٠٢). وعند معاملة العقل الطرية بالاوكسين من الخارج فأنه يحفز تكوين عدد أكبر من الجذور. فقد أشار Chen وجماعته (١٩٩٥) الى قابلية الاوكسين NAA في تحفيز تضاعف DNA وأستنساخ RNA وتخليق البروتينات وبالتالي أنقسام الخلايا وأستطالتها التي تؤدي الى تكوين الجذور العرضية. وأن تعمير عقل الماش بالماء المقطر (جدول-٢) لمدة ثلاثة أيام (فترة التعمير) أدى الى انخفاض عدد الجذور المتكونة وبنسبة (٥٤.٣%) وأن أسباب هذا الانخفاض غير معروفة بشكل واضح ولكن يتفق جزئياً مع قلة المحتوى الاوكسيني في العقل المعمرة للنوع نفسه (Shaheed & AL-Alwani,٢٠٠١). وبالرغم من تجهيز العقل بالاوكسين بعد أنتهاء فترة التعمير لتعويض النقص الحاصل نتيجة التعمير، نلاحظ أنه لم يصل الى مستواه في العقل الطرية (علوان،٢٠٠٤)، وبالتالي لم يكن قادراً من التغلب على الفارق بينها وبين العقل الطرية في عدد الجذور المتكونة وذلك بسبب :- غلق أوعية الخشب Blockage of Xylem vessels بمادة السوبرين بسبب التعمير(Shaheed & AL-Alwani,٢٠٠٢) مما يعيق الانتقال العلوي للاوكسين المجهز من الخارج بعد أخذه من قبل الهايبوكوتيل باتجاه الاوراق وبالتالي انخفاض استجابة التجذير نتيجة لقلة ما ينزل من الاوكسين الى منطقة نشوء الجذور عن طريق اللحاء، وانخفاض المحتويات الغذائية (الحالة الغذائية) في العقل المعمرة (Shaheed & Salim,٢٠٠٢a) أو بسبب أضطراب النفاذية (الناجم عن انخفاض المحتوى البروتيني وكمية الدهون المفسفرة) (Shaheed & Jabour,٢٠٠٤) . أو قلة العوامل المرافقة Co-factors، أو قلة المركبات الفينولية، أو بسبب العمليات التأكسدية التي تزداد خلال ظاهرة التعمير نتيجة لتوافر عوامل الاكسدة من جانب، أو قلة العوامل التي تشترك في الميكانيكيات الدفاعية المضادة للاكسدة من جانب أخر. كما يشير الجدول (٢) الى أن حفظ العقل بمستخلص اليانسون (١%) قد أوقف تقريباً العمليات التي تحدث خلال التعمير بشكل كامل، وجعل العقل تحتفظ بحساسيتها للمعاملةالاوكسينية، حيث كشفت عن عدد من الجذور يفوق بشكل كبير عدد الجذور في العقل المعمرة بالماء المقطر. وجعلها تستجيب كما لو كانت عقلاً طرية. وقد يعزى تأثير المستخلص في زيادة استجابة التجذير الى أحتوائه على الكالسيوم (Chakravarty,١٩٧٦)، والذي يكون عاملاً مشاركاً في تكوين الجذور العرضية (Hartmann *et al.*,١٩٩٠)، أو من خلال مساهمة الكالسيوم في أصلاح التلف في الغشاء وبالتالي المحافظة على نفاذية الغشاء ( Epstein,١٩٧٢ ) . أذ قد تعمل المستخلصات المائية على وقف العمليات التي تؤدي الى خفض استجابة التجذير للاوكسين المستحث ويكون من خلال المحافظة على مستوى IAA في العقل المعمرة بالمستخلصات المائية أو منع أنسداد أوعية الخشب في العقل المعمرة، زيادة معدل النتح وبالتالي زيادة أخذ Uptake والتوزيع اللاحق للاوكسين المجهز قاعدياً. كما وجد أن معاملة العقل باليانسون (١%)، حيث كشفت عدداً من الجذور يساوي (٣-٤) أضعاف تقريباً ما هو عليه في عينة السيطرة (الماء المقطر). أو قد تعمل المركبات الفينولية كحاميات للاوكسين من التحطيم بواسطة الانزيم IAA-Oxidase مسببة استجابة تجذير معنوية في العقل المعمرة. أن هذا الافتراض يؤيد ملاحظات Zenk ( Muller,١٩٦٣ & ) الذي أستخدم المركبات الفينولية وبشكل خاص Orthodiphenols في السيطرة

على تركيز الاوكسين من خلال تثبيط الانزيم IAA-Oxidase . ومن جانب أخر، ربما تكون فعاليتها ناجمة عن دورها في تنظيم آليات غلق وفتح الثغور في الاوراق الاولية، وهذا يتفق مع Ria وجماعته (١٩٨٦) الذي أوضح بأن المركبات الفينولية تعمل كمواد محفزة لعملية النتح من خلال أبطالها دور Abscisic acidفي تنظيم فتح وغلق الثغور. حيث أشار Shaheed (١٩٨٧) الى انخفاض معدل النتح في عقل الماش تدريجياً بتقدم العمر مما يؤثر في أخذ الاوكسين المجهز من الخارج مسبباً انخفاض استجابة التجذير. ووجد علوان (٢٠٠٤) أن معاملة العقل بالمركبات الفينولية مثل O-Coumaric acid و caffeic acid وhydroxy quinone بتركيز ($10^{-3}$) مولار لمدة ثلاثة أيام (مدة التعمير) أوقف العمليات التي تحدث خلال التعمير بشكل كامل، بينما حفظها بحامض السينماميك بتركيز ($10^{-3}$) مولار و Phenol وO-Hydroy Catechol بتركيز ($10^{-5}$) مولار أوقفها بشكل جزئي وذلك من خلال المحافظة على مستوى الاوكسين IAA . وبالاضافة الى ذلك، فقد أوضح كل من Gordon وPaley (١٩٦١) أن المركبات الفينولية تؤثر في تخليق IAA (*In vitro*) من التربتوفان (مصدر تخليق الاوكسين) الذي يتوسط عملية تكوين Phenolase و Quinone وتأكد ذلك بواسطة Koves (١٩٦٤) بوجود أنزيم الفاصوليا المتقزمة وبعدمه.

وأيضا هذا ما أظهره حفظ العقل في حامض السينماميك ($10^{-3}$) مولاري لمدة ثلاثة أيام وذلك لكونه أحد المركبات الفينولية التي تعمل كحاميات للاوكسين (مثل حامض Caffeic). وتعمل كحاميات للاوكسين عن طريق تأثيرها في منع نشاط الانزيم المحطم للاوكسين IAA-Oxidase (Jarvis,١٩٨٦).بينما العقل المعمرة في المحاليل المائية الحاوية على زيوت طيارة قد أوقفت العمليات التي تحدث خلال التعمير (جدول-٢). وبالرغم من ذلك فأنهاحفزت تكوين عدد من الجذور ولكنها لم تصل الى مستوى عدد الجذور في المحاليل الاخرى(اليانسون١%،سينماميك أسد$10^{-3}$مولار).

يتبين من ملاحظة (الشكل-٤،الجدول-٣) أن محتوى Malondialdehyde (MDA) في العقل المعمرة يفوق محتواه في العقل الطرية بشكل كبير وهذا يتفق مع الانخفاض الحاصل في محتوى الدهون المفسفرة (Shaheed & Jabour,٢٠٠٤ ) الذي قد يعزى الى حدوث عملية أكسدة للدهون وتكوين MDA ، حيث أن عملية أكسدة الدهون هي عملية تحدث في الظروف الطبيعية وتزداد تحت ظروف الاجهاد (الشد) Stress ، وعليه تحدث هذه العملية بمعدل أعلى خلال ظاهرة التعمير ولهذا يكون محتوى MDA عالي مقارنة بالعقل الطرية. حيث أشار Zacheo وجماعته (٢٠٠٠) الى أن خلال تعميربذور اللوز Almond يحدث انخفاض في محتوى الدهون مصحوبا بزيادة محتوى MDA. أما العقل المعمرة باليانسون ١%، فكان محتوى MDA أقل من محتواه في العقل المعمرة بالماء المقطر والذي قد يعود الى أحتواء المستخلص على مركبات فعالة(كالفينولات والتربينات وغيرها)، والتي أظهرها الكشف التمهيدي عن المركبات الفعالة (جدول-١) فقد تعمل التربينات ككاسحات للجذور الحرة Free-radical Scavenging (Harborne,١٩٩٣).

وكان محتوى MDA في العقل المعمرة بحامض السينماميك($10^{-3}$مولاري) (شكل-٤، جدول-٣) أقل من محتواه في العقل المعمرة بالماء المقطر. فقد بين Bazirakenge وجماعته(١٩٩٥) أن احماض Benzoic acid وCinnamic acid يستحث أكسدة الدهون التي تنتج من فعل الجذور الحرة في الاغشية السايتوبلازمية وأن الانخفاض الحاصل في أمتصاص المغذيات والمستحث بالحامض الفينولي قد يكون نتيجة لتحطيم الغشاء البلازمي الناتج من أكسدة الدهون. كما أشار Doblinskiوجماعته (٢٠٠٣) أن احماض P-Coumaric acid ،وP-Hydroxybenzoic acid بتركيز (٠.٥،١) مولار على التوالي تحفز أكسدة الدهون. كذلك نلاحظ أن محتوى MDA في العقل المعمرة في المحاليل الحاوية على زيوت طيارة أقل من محتواه في العقل المعمرة بالماء المقطر وذلك لان الزيوت التطايرية هي مواد تربينية وأحدى وظائفها هو كسح الجذور الحرة (Harborne,١٩٩٣)، وبالتالي حماية الدهون من فعل الجذور الحرة. أو أن الزيوت التطايرية قد ثبطت عملية Lipid Peroxidation من خلال تثبيط فعالية أنزيم اللايبوكسجنيز Lipoxygenase (شكل-٧، جدول-٤).

نلاحظ من ( الشكل-٧، الجدول-٤) أن فعالية أنزيم Lipoxygenase (LOX) قد أزدادت بشكل كبير جداً في العقل المعمرة بالماء المقطر مقارنة بالعقل الطرية، حيث أن خلال ظاهرة التعمير

تزداد فعالية الانزيمات المحللة Hydrolyzing enzymes (Kar&Mishra,١٩٧٦) مثل أنزيمات LOXو Protrease و RNase و DNase و Chlorophyllase ، وبالتالي انخفاض محتوى الدهون المفسفرة (Lalaguna& Aguda,١٩٨٩; Shaheed&Jabour,٢٠٠٤) مصحوباً بأضطراب النفاذية. أما فعالية أنزيم LOX في العقل المعمرة باليانسون (١%) وفي حامض السينامك ($١٠^{-٣}$) مولاري فقد أنخفضت مقارنة بالعقل المعمرة في الماء المقطر. وذلك فقد يكون بسبب أحتواء المستخلص على مركبات فعالة (كالفينولات وغيرها) وحامض السينامك قد يكون أحد هذه المركبات والتي تعتبر كمضادات أكسدة Antioxidants فقد تقوم بتثبيط فعالية هذا الانزيم وذات الشيء بالنسبة لفعالية أنزيم LOX في العقل المعمرة في محاليل الزيوت التطايرية، وبالتالي قلة محتوى MDA ( الشكل-٤، الجدول-٣ ).

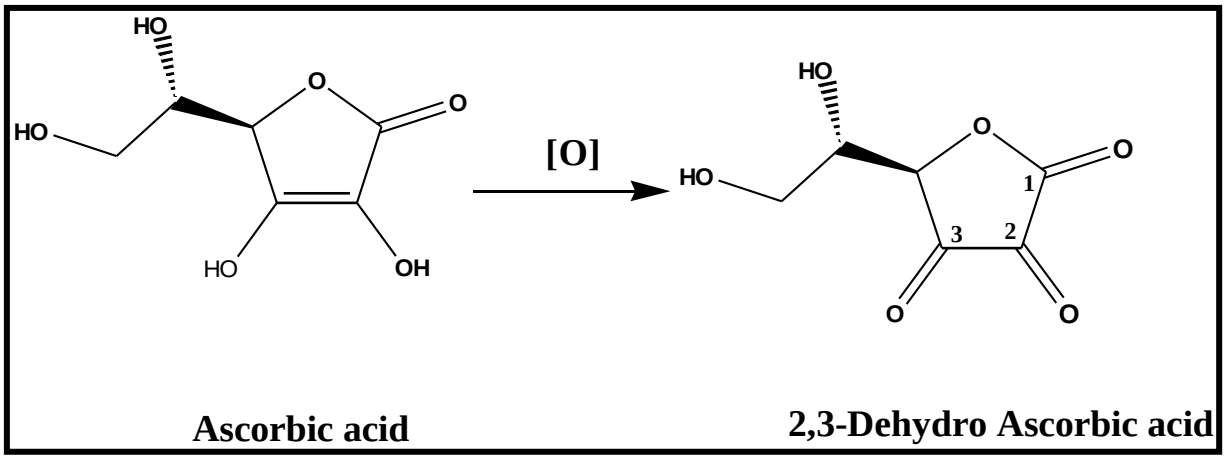
يعزى الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين (الشكل- ٨، الجدول-٥) الى تأثير العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير. حيث أشار Zalewski (١٩٩٢) أنه خلال ظاهرة التعمير يحصل انخفاض في معدل بناء RNA وتكوين الرايبوسومات المتعددة Polyribosomes. وذكر Michalcizyk وجماعته (١٩٩٨) أنه خلال التعمير يحصل نقصان في الاحماض الامينية Amino acids ، الامر الذي يؤدي الى أضعاف (Impaired) عملية بناء البروتين. كما لاحظ Kester وجماعته (١٩٩٧) حدوث تحطيم ودمج في البروتينات الخلوية خلال تعجيل تعمير Accelerated ageing بذور الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill "New Yorker ، كما يحصل أضطراب في نفاذية الاغشية. كما أشار Jensen (١٩٨٢) الى انخفاض في مستوى العناصر المعدنية في العقل المعمرة بالاضافة الى انخفاض المحتوى البروتيني من خلال نشاط انزيمات Proteases المحطمة للجزئيات البروتينية أو أنزيمات Nucleases المحطمة للاحماض النووية التي تعتمد عليها عملية البناء الحيوي للبروتين. وأن حفظ العقل بمستخلص اليانسون (١%) ومحلول حامض السينامك ($١٠^{-٣}$) مولاري حافظ على كمية البروتين وكمية الدهون (قلة تكوين MDA ) (جدول-٣)، وبالتالي الحفاظ على سلامة الاغشية، وهذا ربما يعود للمركبات الفينولية والتي بينها الكشف التمهيدي (جدول-١)، وحامض السينامك قد يكون أحد هذه المركبات، من خلال تثبيط فعالية أنزيم Protease (جدول-٦)، أو من خلال تحفيز الانزيمات المسؤولة عن بناء البروتين. حيث أشار Harborne(١٩٨٤) الى أن للمركبات الفينولية قابلية كبيرة على تكوين معقدات مع البروتينات بواسطة أواصر هيدروجينيةHydrogen bonds عند حدوث ضرر في الغشاء البلازمي. وربما يكون أحد هذه المركبات الفينولية هو Catechol أو حامض Cinnamic ، والذي أوقف ظاهرة التعمير كلياً بدلالة الجذور العرضية وبتركيز ($١٠^{-٣}$) مولاري (Shaheed,١٩٩٧) . وأن حفظ العقل في محاليل الزيوت التطايرية قد منع الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين، والذي من المحتمل أن يكون من خلال تثبيط الانزيمات المحطمة للبروتينات Proteases (جدول-٥)، أو تحفيز الانزيمات المسوؤلة عن بناء البروتينات أو من خلال زيادة محتوى مضادات الاكسدة كالكلوتاثيون ( شكل- ١٢، جدول- ٧)، أو محتوى الاسكوربك الكلي (شكل-١٣، جدول- ٨)، وبالتالي تعمل على كسح الجذور الحرة التي تعمل على تحطيم المكونات الخلوية.

ويشير الشكل (١١ ) والجدول (٦) الى زيادة فعالية أنزيم البروتيز Protease في العقل المعمرة بشكل كبير مقارنة بالعقل الطرية، وتعزى هذه الزيادة الى تأثير ظاهرة التعمير، فقد أشار Kar وMishra (١٩٧٦) الى أن أنزيم البروتيز هوأحد الانزيمات المحللة التي تزداد خلال التعمير. وأن حفظ العقل بمستخلص اليانسون (١%) ومحلول حامض السينامك ($١٠^{-٣}$) مولاري ومحاليل الزيوت التطايرية قد منع الزيادة في فعالية أنزيم البروتيز، وبالتالي قلة تحطيم البروتين (شكل-٨، جدول-٥).

كما نلاحظ من (شكل-١٢، جدول-٧) انخفاض محتوى الكلوتاثيون في العقل المعمرة بالماء المقطر بشكل كبير مقارنة بالعقل الطرية نتيجة للعمليات التأكسدية التي تحدث خلال التعمير،حيث يتحول من الشكل المختزل (GSH) الى الشكل المؤكسد (GSSG). علماً أن الشكل المختزل هو الشكل الفعال كمضاد للاكسدة في دفاع النبات ضد عوامل الاكسدة من خلال دورة

Ascorbate / GSH. كما أن الجهد الاختزالي السالب يسمح للكلوتاثيون المختزل بمنح الالكترونات لاعادة دورة الاسكوربك ومن المحتمل α- tocopherol . ويلعب الكلوتاثيون أيضا دورا مهما في أنتزاع سمية البيروكسيدات Peroxides التي تتولد بوجود أنواع الاوكسجين الفعالة (ROS). وأن دور الكلوتاثيون كمضاد للاكسدة أكدته الكثير من الدراسات، فقد أشار Foyerو Rennenberg (٢٠٠٠) الى أن الكلوتاثيون هو الثايول thiol الاكثر وفرة في النباتات ويشترك في تحمل المعادن الثقيلة وأنتزاع سميتها. وأن العديد من النباتات لها القدرة على تخليق ببتيدات متعددة تسمى Phytochelates تماثل في تركيبها الكلوتاثيون (GSH) الذي يلعب دوراً مهما في أنتزاع سمية البيروكسيدات التي تتولد بوجود أنواع الاوكسجين الفعالة ROS (Schmidt & Jager,١٩٩٢ ). كما يشترك في تحوير خزين GSH المختزل/المؤكسد خلال الفعل المتبادل بين النبات والعوامل الممرضة(Vanacher *et al.*,١٩٩٨ ) . ويقوم الكلوتاثيون بأعادة دورة الاسكوربك (شكل-١٣، جدول-٨) ومن المحتمل α-tocopherol (Hausladen & Alscer,١٩٩٣). وقد أوضح Fernqvist (١٩٦٦) من خلال دراسات أجراها لمعرفة تأثير الكلوتاثيون والمركبات الحاوية على مجاميع السلفهيدريل (SH) في استجابة تجذير عقل الماش ، وقد أظهرت بشكل عام تأثيرات تثبيطية. كما أشار Hess (١٩٦٥) الى أنه في الوقت الذي يكون فيه الكلوتاثيون مثبطا في التركيز ١٠$^{-٦}$ مولار فصاعداً، فأنه يمكن أن يعمل ككابح لبعض العمليات التأكسدية المتعلقة بتكوين الجذور العرضية كما في تفاعل Tryptophan-Phenolase-Phenol بأعتباره يمثل آلية كامنة في النبات والتي ربما تنطلق بواسطة التجريح Wounding فتأخذ دورها في الكالس وتكوين الجذور العرضية. بين (علوان،٢٠٠٤) أن حفظ العقل في محاليل الكلوتاثيون بتركيز (١٠$^{-١٠}$) مولار قد أوقف العمليات التي تحدث خلال التعمير بشكل جزئي وذلك من خلال المحافظة على مستوى الاوكسين IAA.

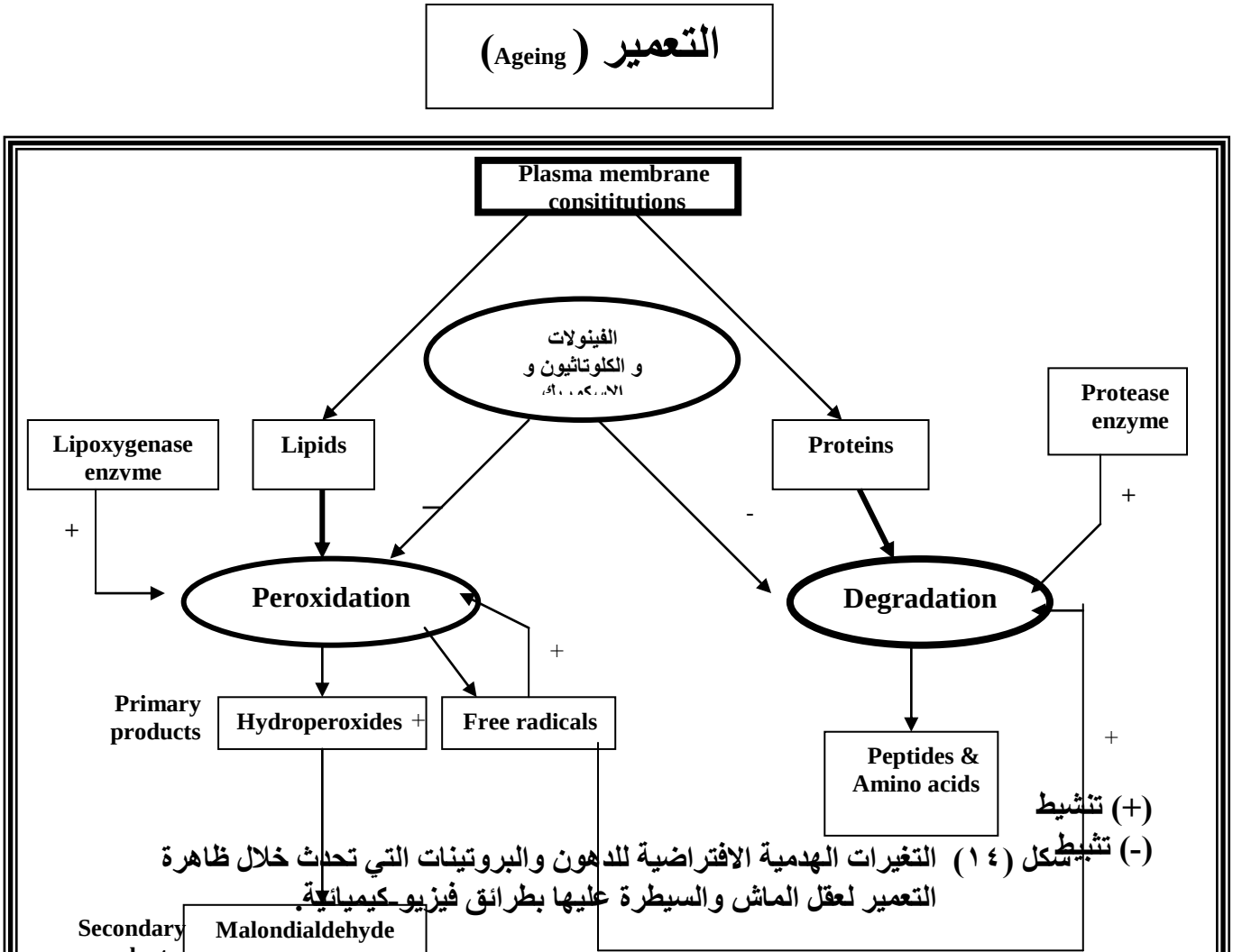
ويشيرشكل (١٣) والجدول (٨) الى انخفاض معنوي في محتوى حامض الاسكوربك الكلي في العقل المعمرة في الماء المقطر مقارنة بالعقل الطرية، والذي قد يعزى الى حدوث العمليات التأكسدية وأستنفاذه في عمليات كبح الجذور الحرة، حيث يتحول الى الشكل المؤكسد (Dehydro ascorbic acid ). ولكن حفظ العقل بمحلول مستخلص اليانسون (١%)، ومحاليل الزيوت التطايرية قد تمكن من المحافظة على مستوى الاسكوربك الكلي على مستوى العقلة الكاملة أو على مستوى أجزائها، والذي قد يعزى الى أحتواء هذه المحاليل على مواد أو عناصر شجعت التخليق الحيوي للاسكوربيت، أو منعت أستنفاذه في عمليات الاكسدة. حيث يعد حامض الاسكوربك مضاد للاكسدة يحتوي على نظام تبادل الكتروني بين ذرة رقم (٢) والذرة رقم (٣) كما هو موضح في المعادلة أدناه :-




**Ascorbic acid** **2,3-Dehydro Ascorbic acid**

والاسكوربيت ذو مساحة تبادل ألكتروني أقل مقارنة بالفينولات بصفته مضاداً للاكسدة (ثلاث ذرات كاربون وثلاث مجاميع أوكسجين). ويعمل فيتامين C كمضاد أكسدة ثانوي على حماية فيتامين E. كما يعمل على أعادة دورة الكلوتاثيون GSH ( شكل-١٢، جدول-٧) الذي يتحول نتيجة لعمليات الاكسدة الى الكلوتاثيون المؤكسد (GSSG) التي تخضع الى فعل أنزيم Glutathione Oxidase الذي يحتوي على السلينيوم كمرافق أنزيمي. وهذا ما أقترحه Fryer (١٩٩٢) حيث أشار الى دور حامض الاسكوربك كمضاد للاكسدة في تقليل التأثيرات الهدمية لانواع الاوكسجين الفعالة (ROS) وقابليته على أختزال Superoxide anion radical الى بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) بالاضافة الى تفاعله مع Singlet Oxygen بمعدل سريع نسبياً. كما أشار الى دور الاسكوربك في أعادة دورة جذور α- tocopheroxyl الى α-tocopherol . وأن الاسكوربك مادة تفاعل مرافقة ضرورية في عملية (De-epoxidation ) الخاصة بالفيولازانثين Violaxanthin بسبب منحه الهيدروجين لاجل هذا التحول. وبين Shalata وNeumann (٢٠٠١) أن الاسكوربك يعمل على التثبيط الجزئي لزيادة تراكم نواتج أكسدة الدهون Lipid Peroxidation في الجذور والسيقان والاوراق والتي تتكون بتأثير أنواع الاوكسجين الفعالة المهدمة التي تعمل على هدم دهون الغشاء الاساسية والبروتينات والاحماض النووية. كما يعمل الاسكوربك على تقليل تلف التأكسد الضوئي في التراكيز العالية جداً فقط (Wise & Naylor,١٩٨٧). ويعمل على مقاومة الاجهاد الملحي من خلال تنظيم تراكيز أنواع الاوكسجين الفعالة، وتثبيط زيادة تراكيز نواتج الاكسدة وأختزال مستوى الشد الازموزي (Zhang & Kirkham,١٩٩٦). وتثبيط زيادة نضوح الالكتروليتات الاساسية الناتجة عن التلف فوق التأكسدي Peroxidative damage لاغشية البلازما المحفزة بالشد (Lechno *et al.*,١٩٩٧). ربما ترتبط الحماية التي يوفرها حامض الاسكوربك بشكل كبير بانخفاض تلف البروتينات الاساسية والاحماض النووية المتسبب عن ROS ( Noctor & Foyer,١٩٩٨ ) . أو ربما يكون ناتجاً عن تأثيره في الخلايا المرستيمية في أنسجة الجذور والسيقان، حيث وجد أن التراكيزالواطئة منه تؤثر في فترة السكون التي تسبق الانقسام الخيطي Mitotic Quiescence (Kerk *et al.*,٢٠٠٠) . وأن المعاملة بتراكيز (٠.١ ملي مولر) أرتبطت بزيادة ظهور جذور وسيقان طبيعية من الاجنة الجسمية Somatic embryos (Stasolla & Yeung,١٩٩٩). بالاضافة الى دوره كعامل مرافق لبعض التفاعلات الانزيمية (Ting,١٩٨٢) .كما أجريت العديد من الدراسات لمعرفة تأثير العديد من الفيتامينات ومنها الاسكوربك في استجابة تجذير عقل البزاليا الساقية وأظهرت تأثيرات إيجابية (Aberg,١٩٦١). وفي دراسات أخرى لمعرفة استجابة تجذير عقل الفاصوليا Bean ، كشفت عن تأثيرات إيجابية أيضاً فيما يخص الاسكوربك والرايبوفلافين (Frenqvist,١٩٦٦ ) . بالاضافة الى ذلك فقد أجريت دراسات لمعرفة التأثيرات التأزرية بين الاسكوربك والاوكسين وعلاقتها باستجابة تجذير عقل الفاصوليا فقد أشار Frenqvist (١٩٦٦) الى وجود تعاون بينهما في تركيز ($١٠^{-٤}$مولار) من الاوكسين والتراكيز العالية من الاسكوربك. ومن المحاولات الاخرى لمعرفة استجابة التجذير في عقل نفس النبات فقد لوحظ أن الاسكوربك حفز الاوكسين على تكوين الجذور العرضية في التراكيز العالية فقط ($١٠^{-٤}$-$١٠^{-٢}$) مولار في العقل المعرضة للضوء. ووجدتScheuermann (١٩٥٢) زيادة بنسبة (٢٢-٢٨)%لكل عقلة عند معاملة عقل نبات *Phaseolus multiflorous* بالاسكوربك بتركيز (١٥٠)جزء بالمليون مقارنة بعينة السيطرة، في حين أن معاملة العقل بالاسكوربك والاوكسين بتركيز (٤٠) جزء بالمليون كشفت عن زيادة في عدد الجذور بنسبة (٦٢%) مقارنة بالحالة التي أستخدم فيها الاوكسين بمفرده. كما بين علوان (٢٠٠٤) أن معاملة عقل الماش بالاسكوربك (٢٠٠-٥٠٠) جزء بالمليون لمدة ثلاثة أيام (فترة التعمير) قد أوقف العمليات التي تحدث خلال التعمير بشكل كامل. حيث يعمل الاسكوربك كمثبط للانزيم IAA-Oxidase من خلال التنافس على الاوكسين، أو من خلال تأثيره في الاس الهيدروجيني pH ، حيث يكون الاوكسين أكثر تأثيرا في pH الواطئ المحفز بزيادة تراكيز الاسكوربك ( Brauner & Brauner,١٩٥٤) . كما أظهر الشكل (١٣) والجدول (٨) أن حفظ العقل بحامض

السينامیك (١٠-٣) مولار لم ينجح في أيقاف الانخفاض الحاصل في محتوى الاسكوربك الكلي، والذي قد يعود لفشله في تنشيط مسلك تخليق الاسكوربك، أو أيقاف أستنفاذه نتيجة للعمليات التأكسدية.




**شكل (١٤) التغيرات الهدمية الافتراضية للدهون والبروتينات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير لعقل الماش والسيطرة عليها بطرائق فيزيو-كيميائية.**

# الاستنتاجات Conclusions

١-انخفاض استجابة التجذير في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية.
٢-حفظ العقل بمستخلص اليانسون١%، ومحلول حامض السينامك (١٠-٣مولاري) لمدة ثلاثة أيام يؤدي الى أيقاف العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير بشكل كامل، وفي محاليل الزيوت التطايرية بشكل جزئي بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل.
٣- يحدث خلال التعمير زيادة معنوية في كل من محتوى (MDA) Malondialdehyde ، وفي فعالية أنزيمات Lipoxygenase وprotease. وكذلك انخفاض معنوي في محتوى البروتين ومضادات الاكسدة (كالكلوتاثيون والاسكوربك).
٤-حفظ العقل بمستخلص اليانسون(١%) لمدة ثلاثة أيام، خفض محتوى MDA بنسبة (٨٨%)، وفي فعالية أنزيمات Lipoxygenase بنسبة (٢٧٧.٢% )، وفي فعالية أنزيم Protease بنسبة (٢١٢.١%) مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. كما أوقف الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين والكلوتاثيون وحامض الاسكوربك.
٥- حفظ العقل بحامض السينامك (١٠-٣مولاري) يؤدي الى خفض الزيادة الحاصلة في محتوى MDA وفعالية أنزيم LOX وProtease . وكذلك أوقف الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين والكلوتاثيون بأستثناء محتوى الاسكوربك الكلي مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر.

٦- حفظ العقل بمحاليل الزيوت التطايرية Volatile Oils أدى الى خفض محتوى MDA وLOX وprotease. بالاضافة الى ذلك، فأنه حافظ على محتوى البروتين والكلوتاثيون والاسكوربك كما هو عليه في العقل الطرية.

# التوصيات Recommendations

١-أستخدام المستخلص المائي لليانسون١%، ومحلول حامض السينامك (١٠-٣مولاري)، ومحاليل الزيوت التطايرية لحفظ العقل النباتية عند تأخير غرسها، أو كمحاولة لتجذير العقل صعبة التجذير Difficult to root cuttings وبتراكيز تختلف بحسب الانواع النباتية.
٢- أستخلاص وتشخيص وتقدير المواد الفعالة بايولوجيا في المستخلص المائي لليانسون ومعرفة ميكانيكية عملها في أعاقة العمليات التأكسدية.
٣-محاولة استغلال المحاليل التي أستخدمت في الدراسة الحالية كبدائل لمنظمات النمو عند عدم توفر الاوكسينات المصنعة ، وأن كانت إستجابتها محدودة.
٤-أجراء فصل نوعي للدهون الموجودة في النبات لتحديد النوع الحساس منها لعملية الاكسدة والمتسبب في التغيرات الحاصلة في نفاذية الاغشية خلال ظاهرة التعمير.

٥-دراسة الانزيمات التي تستخدم لكبح الجذور الحرة مثل Superoxide dismutase و Catalase و Peroxidase.
٦- دراسة فعالية الانزيمات المسؤولة عن التخليق الحيوي للدهون والبروتينات ودورها خلال ظاهرة التعمير.
٧- دراسة نشاط فعالية الانزيمات DNase ،وRNase خلال ظاهرة التعمير.
٨- محاولة أيجاد مستخلصات ومواد أخرى تعمل على تحسين تجذير العقل والحفاظ على حساسية العقل للتجذير عند تأخير غرسها.
٩- دراسة تأثير العناصر المعدنية الصغرى Miicronutrients في عملية أكسدة الدهون وفي فعالية مضادات الاكسدة كالكلوتاثيون وحامض الاسكوربك.

# References


Abdul-Rahmann , A.A. and Habib,S.A.١٩٨٦. Effectiveness of herbecides and some plant extracts in controlling Dodder on Alfalfa.J.Agr.Water Resources,٥: ٥٣-٦٦.

Aberg, B.١٩٦١. Vitamin as growth facrtors in higher plants. Handb. D.Pflanzen-Physiol.١٤: ٤١٨-٤٤٩.

Abraham,G. and Reinhold.١٩٨٠. Mechanism of effect of ageing on membrane transport in leaf strips of *Centranthus ruber*: possible ethylene involvement in cutting stock.Planta,١٥٠: ٣٨٠-٣٨٤.

AL-Ani,A.B.; Nadir,M.T.and AL-Khazraji,N.١٩٩٦. The antimicrobial activity of volatile oils isolated from some Iraqi plants.J. AL-Anbar Univ.,١: ٨٢-٨٦.

AL-Rawi,A.and Chakravarty, H.L.١٩٨٨. Medicinal Plants of Iraq. Ministry of Agricultural and Irrigation.٢nd ed. Baghdad.

Alscher R.G. ١٩٨٩. Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants. Physiol.Plant.٧٧: ٤٥٧-٤٦٤.

AL-Tury,M.H. ; Omari,M.A. and Abuqooud, H.١٩٩٩. Studies on the propagation of carb (*Ceratonia siliqua*) by stem cutting. Dirasat, ٢٦:١٦١-١٦٧.

Anderson,M.D.; Prasad,T.K. and Steward,C.R.١٩٩٥. Changes in Isoenzyme profiles of catalase, peroxidase and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings . Plant Physiol.,١٠٩: ١٢٤٧-١٢٥٧.

Asada,K.١٩٩٢. Production and scavenging of active oxygen in chloroplasts. In Molecular Biology of free radical scavenging systems (ed.J.G.Scandalios),pp.١٧٣-١٩٢. Cold spring Harbor Laboratory Press,NewYork.

Atkinson,C.J.; Davies,W.J. and Manftield,T.A.١٩٨٩ . Changes in intact ageing wheat leaves in response to abscisic acid . Exp.J.Bot.,٤٠:١٠٢١ -١٠٢٨.

Battachary,S. and Nanda,K.K.١٩٧٨. Stimulatroy effect of purine and pyrimidine bases and their role in mediation of auxin action through the regulation carbohydrate metabolism during adventitious root formation in hypocotyl cutting of *Phaseolus mungo*.Z.Pflanzen Physiol., ٨٨: ٢٨٣-٢٩٣.

Batten,B.J. and Goodwin,P.N.١٩٧٨. Phytohormones and the induction of adventitious roots. In phytohormones and related compound: Acomprehensive treatisc. D.I.Letham,P.B.Goodwin and T.J.Higgins,eds Vol.II.pp.١٣٧-١٧٣. Elservier-North Holland.

Bazirakenga,R. ; Leroux,G.D. and Simard,R.R. ١٩٩٥. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on membrane permeability of soybean roots.J. Chem. Ecol.,٢١,١٢٧١-١٢٨٥.

Ben-Yehoshua, S.١٩٦٤. Respiration and ripening fruit. Physiol.Plant, ٧٧: ٧١-٨٩.

Beutelmann,P. and Kende,H.١٩٧٧. Membrane lipids in senscing flower tissue of *Ipomoea tricolor* cav.. Plant Physiol. ٥٩: ٨٨٨-٨٩٣.

Beyer R.E.١٩٩٤. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamine E and Coenzyme Q.J. Bio-membr. ٢٦: ٣٤٩-٣٥٨.

Bishop, M.C.; J.L. Dben-Von Laufer; E.P. Fody and Thirty three Contrib-Utors.١٩٨٥. Clinical Chemistry Principles, Procedures and Correlations. pp.١٨١-١٨٢.

Blakesly,D.; Weston,G.D. and Hall,J.F.١٩٩١. The role of endogenous auxin in root initiation evidence from studies on auxin application and analysis of endogenous level. Plant Growth Regulation, ١٠: ٣٤١-٣٥٣.

Blazich,F.A. and Heuser.C.W.١٩٧٩. A Histological study of adventitious root initiation in mung bean cuttings. Amer.J.Soc.Hort.Sci.,١٠٤: ٦٣-٦٧.

Blokhina,O.٢٠٠٠. Anoxia and oxidative stress: Lipid peroxidation, antioxidant status and mitochondrial functions in plants. Academic Dissertation.

Blokhina, O.; Virolainen, E. and Fagerstedt, K.V. ٢٠٠٣. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A Rev. Ann. Bot., ٩١: ١٧٩-١٩٤.

Borochov,A.; Halevy,A.H.; Borochov,H. and Shinitzky,M.١٩٧٨. Microviscosity of plasmalemma in rose petals as affected by aged and environmantal factors. Plant Physiol.,٦١: ٨١٢-٨١٥.

Bratt.C.E., Arvidsson,P.O., Carlsson,M. and Akerlund, H.-E.١٩٩٥. Regulation of violaxanthin de-epoxidase activity by pH and ascorbate concentration. Photosynthesis Res. ٤٥: ١٦٩-١٧٥.

Brauner,L. and Brauner, M.١٩٥٤. Unstersuchungen uber die photolyase des Heteoauxins II. Zeitscher. Bot.٤٢: ٨٣-١٢٤.

Brown,T.A. and A. Shrift.١٩٨٢. Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. Biol. Rev., ٥٧:٥٩-٨٤.

Buettner G.R.١٩٩٣. The pecking order of free radicals and antioxidants: Lipid peroxidation, α-tocopherol and ascorbate. Arch.Biochem. Biophys. ٣٠٠: ٥٣٥-٥٤٣.

Bugg, T.١٩٩٧. An Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry . Black Well Science Ltd.

Carr,D.J. and Pate,J.S.١٩٦٧. Ageing in the whole plant. In: Woolhouse , H .W.(eds) Aspects of the biology of ageing. Academic Press NewYork.

Chakravarty, H.L.١٩٧٦. Plant Wealth of Iraq. Vol.١. Ministry of Agriculture and Agrarian Reform.

Champagnat,P.١٩٦١. Defferenciation formation desracines etdes bourgeons. Harb.d. Pflanzen Physiol.١٤: ٨٣٩-٨٧١.

Chaturvedi,O.P.; Tha.N.A. and Das,D.K. ١٩٩٦. Vegetative propagation of *Acacia auriculiformis* by stem cuttings. Fors Far. Comm.Tre-Resea, Repor. , ١:٢-٦.

Chen,J.Witham, F.H. and Heuser,C.W.١٩٩٥. Inhibition of NAA-induced adventitious roots in mung bean cuttings by kinetin ,zeatin,ethidium bromide and other DNA intercalators. Microsoft internet explorer.( cited by Alwan,٢٠٠٤, in arabic )

Chesworth,J.M.; Stuchury,T. and Scaife,J.R.١٩٩٨. An Introduction to Agricultural Biochemistry.(١st ed.), Chapman and Hall.

Chin,T.Y.; Meyer.M.M.Jr and Beevers,L.١٩٦٩. Abscisic acid stimutated rooting of stem cuttings. Planta, ٨٢:١٩٢-١٩٦.

Cline,M.N. and Neely.D.١٩٨٣. The histology and histochemistry of the wound-healing process in *Geranium* cuttings. Am.J.Soc. Hort. Sci.١٠٨: ٤٩٦-٥٠٢.

Cohen,M.S. and Albert, L. S.١٩٧٤. Autoradiographic examination of meristems of intact boron – deficient squash roots treated with tritiated thymidine. Plant Physiol.,٥٤: ٧٦٦-٧٦٨.

Constabel,C.P.١٩٩٩. A Survey of Herbivore-inducible defence proteins and phytochemicals.In: A.A. Agrawal, S. Tuzun, and E. Bent, editors.١٩٩٩. Inducible plant defense against pathogens and herbivores: Biochemistry, ecology and agriculture. American Phytopathological Society Press, USA.

Coombs,J.١٩٨٦. Macimillan Dictionary of Biotechnology.P.١٠. The Macmillan Press Ltd.

Corpas,F.J., Palma,J.M. and Del Riol,L.A.١٩٩٣. Eur.J.Cell Biol. ٦١: ٨١-٨٥. ( cited by Doblinski *et al*.,٢٠٠٣)

Davide,P.P.,Nelson,P.V. and Sanders,D.C. ١٩٩٤. A humic acid improves growth of tomato seedling in solution culture. J. plant nutrition,١٧: ١٧٣-١٨٤.

Davies,F.T.; Tr.,Lazarte , J.E. and Joiner, J.N. ١٩٨٢. Initiation on development of roots in juvenile and mature leaf bud cutting of *Ficus pumila* L. Am.J.Bot.,٦٩: ٨٠٤-٨١١.

Davies, I. ١٩٨٣. Ageing. Edward Arnold, London. P٦٠.

De Gara ,L., Piciolla.; Tommasi,F.; Liso, R. and Arrigoni O.١٩٩٤. *In vivo* " inhibition of galactone –γ-Lactone conversion to ascorbate by lycorine. J. Plant Physiol., ١٤٤: ٦٤٩-٦٥٣.

Dey, P.M. and Harborne, J.B. eds. ١٩٩٧. Plant Biochemistry. (١st ed.) Academic Press.

Dhindsa,R.S.; Plumb-Dhindsa,L.P. and Reid,D.M. ١٩٨٢. Leaf senescence and lipid peroxidation: Effect of some phytohormones and scavengers of free radical singlet oxygen . Physiol.Plant.,٥٦:٤٥٣-٤٥٧.

Distefano,S.; Palma,J.M.; Gomez,M. and Rio,L.A.١٩٩٧. Characterization of endoproteases from plant peroxisomes. Biochem.J. ٣٢٧: ٣٩٩-٤٠٥.

Doblinski,P.M.F.; Ferrarese, M.D.L.; Huber,D.A.; Scapim,C.A. ; Braccini,A.D.and Ferrarese-Filho,O.٢٠٠٣. Peroxidase and lipid peroxdation of soyabean roots in response to P-coumaric and P-hydroxybenzoic acids. Brazilian Arch.s Biol. and Technol. ٢٦: ١٩٣-١٩٨.

Durkin,D. ١٩٦٧. The role of tannin in senescence of the cut rose flower. Proce,٦٤ th. Ann.Meet.Amer.Soc.Hort.Sci.P.٧٨.(Abstr.).

Eliasson ,L.١٩٧٨. Effects of nutrients and light on growth and root formation in *Pisum sativum* cuttings. Physiol.Plant.,٤٣:١٣-١٨.

Ellman G.L.١٩٥٩.Arch. Biochem. Biophys., ٨٢٢,٧٠.

Epstein, E.١٩٧٢. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives, NewYork: Wiley.

Eriksen,E.N.١٩٧٣. Root formation in pea cuttings.I. Effect of decapitation and disbbudding of different developmental stages. Physiol.Plant. ٢٨: ٥٠٣-٥٠٦.

Eriksen,E.N. and Mohammed,S. ١٩٧٤. Root formation in pea cuttings.III. influence of indole-٣-acetic of different developmental stages. Physiol. Plant, ٣٠:١٥٨-١٦٢.

Fernqvist, I.١٩٦٦. Studies on factors in adventitious root formation. ٣٢: ١٠٩-٢٤٤. ( cited by Alwan,٢٠٠٤, in arabic )

Fiester, D.R. ١٩٥٧. Revision deliferation sobre propagation a sexual de café perestacas. Turrialba. ٧: ٥٧ (cited by Shaheed,١٩٨٠).

Foong ,T.W. and Barnes,M.F.١٩٨١. Rooting Co-factors in Rhodendron: the fractionation and activity of components froman easy-to-root and diffecult-to-root variety . Biochem. Physiol.Pflanzen., ١٧٦: ٥٠٧-٥٢٣.

Foyer,C.H. ١٩٩٣. Ascorbic acid. In: Antioxidants in Higher Plants ( In:

R.G.Alscher and J.L.Hess ) ,pp.٣١-٥٨. CRC press, Boca Raton.

Foyer,C.H. and Rennenberg,H.٢٠٠٠. Regulation of glutathionee synthesis and its role in abiotic and biotic stress defence , In: C. Brunold (ed.), sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants. Paul Haupt, Bern, pp.١٢٧-١٥٣.

Friedman,R.; Altman,A. and Bachrachm, V.١٩٨٢. Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. Plant Physiol., ٧٩:٨٠-٨٣.

Fryer,M.J.١٩٩٢. The antioxidant effects of thylakoids vitamine E (α- tocopherol). Plant Cell and Environ.,s ١٥: ٣٨١-٣٩٢.

Gauch,H.G. and Dugger,W.M.Jr.١٩٥٣. The role of boron in translocation of sucrose. Plant Physiol., ٢٨: ٤٥٧-٤٦٦.

Geneve, R.L. and Heuser, C.W.١٩٨٣. The role of IAA, IBA, NAA and ٢,٤-D on root promotion and ethylene evolution in *Vigna radiata* cuttings. Amer. J.Soc.Hort.Sci.,١٠٧: ٢٠٢-٢٠٥.

Goodwin, T.W. and Mercer,E.I. ١٩٨٥. Introduction to Plant Biochemistry (٢nd ed). Pergamon Press.

Gordon, S. A. and Paley, L. G. ١٩٦١. Formation of auxin from tryptophan through action of polyphenols. Plant Physiol. ٣٦: ٨٣٨-٨٤٥.

Gorecki,R.J.; Mierzejewska,D.; Kaszuba,J.; Grzesivk,S. and Rejowski,A. ١٩٨٩. Vigour evalution of cocks root (*Dactylis glomerata* L.) seeds of different age. Acta. Agrobot., ٤٢: ٢٣-٣٣.

Gorecki,R.J. and Mierzejewska,D.١٩٨٩. The vigour of timothy (*Phleum pratense* L.) seeds stored up to ٥ years. Acta. Soc. Bot.Poloniae, ٥٨: ٢٦٣-٢٧٣.

Gorter, C.J.١٩٥٨. Synergism of indole and indole-٣-acetic acid in the root production of cutting. Physiol.Plant.,١١:١-٩.

Gorter,C.J.١٩٧٢. Growth regulators and ageing of plant. In: Kaldewey,H. and Vasdar,Y. (eds.), Hormonal regulation in plant growth and development , pp. ٤٣٩- ٤٥١. Verlag Chemics Weinheim.

Hackett,W.P.١٩٧٠. The influence of auxin , catechol and methanolic tissue extracts on root initiation of the juvenile and adult forms of *Hedera helix* .J.Amer.Soc.Hort.Sci.,٩٥ :٣٩٨-٤٠٢ .

Haissig, B.E.١٩٨٣. N.phenyl indole-٣-butyl amide and phynol indole-٣-٣-thiobutyrate enhance adventitious root primordium development. Physiol.plant.,٥٧ :٤٣٥-٤٤٠ .

Hancock,J.G. ١٩٧٩. Association of an irreversible reduction in urea permeability with osmotic factors during the ageing of excised squash hypocotyls. Can.J.Bot.,٥٧: ٢٦-٣٣ .

Hancock, J.G.١٩٨٣. Changes in water relation and cell permeability in relation to ageing of excised squash hypocotyls: areapprasial. Can. J.Bot., ٦١: ١٣٠٧-١٣٠٩ .

Hansen,J.١٩٧٥. Adventitious root formation . Influence of light during stock plant growth. Diss.ISBN Copenhangen. Denmark.

Harborne,J.B. ١٩٨٤. Phytochemical Methods. ٢nd ed. Chapman and Hall.

Harborne, J.B.١٩٩٣. Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press, London.

Hartmann,H.T.; Kester,D.E. and Davies,F.T.Jr. ١٩٩٠. Plant Propagation, Principles and Practices. ٥th ed. Prentice-Hall.Inc.

Harwood.J.L.١٩٩٧. Plant Metabolism. In: (Dey,P. M. and Harborne,J .B.( eds) The Plant Biochemistry Academic press.

Hausladen ,A. and Alscer,R.G. ١٩٩٣. Glutathione. In antioxidats in higher plants (eds R.G.Alscher and J.L.Hess) , pp.١-٣٠. CRC Press, Boca Rotan.

Hemberg,T.١٩٥١. Rooting experiment with hypocotyls of *Phaseolus vulgaris* L. Physiol.Plant.٤ :١٩٥١-٣٥٨ .

Hemberg,T.١٩٥٣. The effect of vitamins K and H on the root formation in cuttings of *Phaseolus vulgaris*. Physiol.Plant.٦:١٧-٢٠ .

Hess,C.E.١٩٦١. The mung bean bioassay for detection of root promoting substances. Plant Physiol.,٣٦: Suppl.٢١.

Hess,C.E.١٩٦٥. Phenolic compounds as stimulators of root initiation. Plant Physiol.٤٠ Suppl., ٤٥.

Hildebrand,D.F.; Hamillon-Kemp,T.R.; Legg,C.S. and Bookjans,G.١٩٨٨ Plant lipoxygenase: Occurrence, properties and possible functions. Current Topics In Plants Biochem. and Physiol., ٧:٢٠١-٢١٩,١٩٨٨.

Hopkins,W.G.١٩٩٩. Introduction to Plant Physiology (٢nd ed.), John Wiley and Sons, Inc.

Hoppe,H.H. and Heitefuss,R.١٩٧٤ a. Permeability and membrane lipid metabolism of *Phaseolus vulgaris* infected with *Uromyces phaseoli* I. Changes in the efflux of cell consitituents.. Physiol.Plant and Plant Pathol., ٤:١١-٢٣.

Hoppe,H.H. and Heitefuss,R.١٩٧٤ b. Permeability and membrane lipid metabolism of *Phaseolus vulgaris* infected with *Uromyces phaseoli* II. Changes in lipid concentration and ٣٢p incoporation into phospho-lipids. Physiol.Plant Plant Pathol., ٤:١١-٢٣.

Hoppe,H.H. and Heitefuss, R. ١٩٧٤ c. Permeability and membrane lipid metabolism of *Phaseolus vulgaris* infected with *Uromyces phaseli* III. Changes in relative concentration of lipid bound fatty acids phosphli-pase activity. Physiol.Plant Pathol.,٤: ٢٥-٣٥.

Hossain,M.A.; Nakano Y. and Asada K.١٩٨٤. Monodehydroascorbate reductase in Spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxid. Plant and Cell Physiol. ٢٥: ٣٨٥-٣٩٥.

Ikan, R.١٩٦٩. Natural Products. Academic Press, London and NewYork.

Jadhar,S.J.; Nimbalkar, S.S.; Kulkarni, A.D. and Madhavi,D.L.١٩٩٦. In food antioxidants: Technological, Toxicological and Health perspective, (ed).D.L.Madhavi ,S.S.Deshpande and D.K. Salunkhe, Marcel Dekker, New York, pp.٥-٦٤.

Jana, S. and Choudhuri, M.A. ١٩٨٢. Changes occuring during ageing and senescence in a submergrd aquatic angiosperm (*Potamogeton pectinatus*). Physiol. Plant., ٥٥: ٣٥٦-٣٦٠.

Jarvis,B.C. ١٩٨٦. Endogenous control of adventitious rooting in non woody cuttings . In: Jackson.M.B. (ed) New root formation in plant and cuttings. Martinus Nijhoff.Pub., Netherlands .

Jenson, P.١٩٨٢. Effects of interrupted $K^+$ supply on growth and uptake of $K^+$, $Ca^+$, $Mg^+$, and $Na^+$ in spring wheat. Physiol.Plant, ٥٦: ٢٥٩-٢٦٥.

Johnstone ,R.M. ١٩٦٣. Sulfhydryl agents: Arsenicals. Hochster and Quastel.

Kakkar R.K.and Ria V.K.١٩٨٦. Interaction between indole-٣-acetic acid and phenolic compounds on rhizogensis in *Phaseolus vulgaris* hypocotyl cuttings. Current Sci.,٥٥: ١٠١٣-١٠١٥.

Kar,M. and Mishra,D.١٩٧٦. Catalase , peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence . Plant Physiol., ٥٧: ٣١٥-٣١٩.

Kawase,M. and Matsui,H.١٩٨٠ . Role of auxin in root premordium formation in etiolated bean stems. Amer.J.Soc.Hort.Sci.,١٠٥: ٨٩٨-٩٠٢.

Kelley, E.E. ; Wagner,B.A.; Buettner,G.R. and Burns, C.P.١٩٩٩. Nitric oxide inhibits Iron-induced lipid peroxidation in HL-٦٠ cells. Arch. of Biochem. and Biophy.٣٧٠:٩٧-١٠٤.

Kerk,N.M. ; Jiang,K.N. and Feldman.L.J.٢٠٠٠. Auxin metabolism in the root apical meristem . Plant Physiol.١٢٢: ٩٢٥-٩٣٢ .

Kester,S.T.; Geneve,R.L. and Houtz,R.L.١٩٩٧. Primary and accelerated ageing affect L-isoaspartyl methyltransferase activity in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seed. J. Exp. Bot.,٤٨: ٩٤٣-٩٤٩ .

Kögle,F.; Haagen-Smith,A. and Erxleben,H. ١٩٣٤. Uberein neues auxin (heteroauxin) aus harm-X I.Z.Physiol.Chem.,٢٢٨ :٩٠-١٠٣ (cited by Wilkins,١٩٨٤) .

Koves, E.١٩٦٤. The effect of phenol carboxylic acids occuring in plants on the *in vitro* formation of β-indoleacetic acid from tryptophan. Acta.

Bot.Sci.Hung.١٠: ٢٩٩-٣٠٧.

Kruger,R.W.; Lovatt,C.L.; Tremblay,G.C. and Albert, L.S. ١٩٧٩. The metabolic requirement of *Cucurbita pepo* formation. Plant Physiol., ٦٣: ٥- ١١٥.

Kunitz, M. ١٩٤٧. J. Gen. Physiol. ٣٠: ٢٩١-٢٩٦.

Lalaguna,F. and Agudo,M. ١٩٨٨. Lipid classes of fresh cassava roots (*Manihot esculenta* var.crantz). Identification and quantification.J.Amer. Oilchem.Sci.Soc., ٦٥:١٨٠٨-١٨١١.

Lalaguna,F. and Agudo,M. ١٩٨٩. Relationship between changes in lipids with ageing of cassava roots and senescence parameter. Phytochemistry, ٢٨: ٢٠٥٩-٢٠٦٢.

Langenheim, J.H. and Thimann,K.V. ١٩٨٢. Plant Biochemistry and its Relation to Human Affarirs. John Wiley and Sons, Inc.

Lapidot,T.; Harel,S.; Akiri,B.; Grant,R. and Kanner,J.١٩٩٩. pH-dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. J. Agric. Foodchem. ٤٧: ٦٧-٧٠.

Lechno, S. ; Zamski, E. and Tel-Or, E. ١٩٩٧. Salt stress-induced responses in cucumber plant. J. Plant Physiol., ١٥٠: ٢٠٦-٢١١.

Leopold, A.C. and Plummer,T.H.١٩٦١. Auxin- phenol complexes. Plant Physiol., ٣٦: ٥٨٩-٥٩٢.

Leshem,Y.Y. ١٩٨١. Oxyfree radical and plant senescence. Plant Physiol., ١٢:١-٤.

Lewington, R.J.; Talbot, M. and Simon, E.W. ١٩٦٧. The yellowing attached and detached cucumber cotyledons. J. Exp. Bot., ١٨: ٥٢٦-٥٣٠.

Liang, Y.; Chen, Q.; Liu,Q. ; Zhang,W. and Ding, R. ٢٠٠٣. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). J. Plant Physiol.٤٦: ١-٨.

Liu, Z.; Hasigo I. and Pan Y. ١٩٩٦. Effect of NAA on endogenous IAA, peroxidase and auxin oxidase in hypocotyl cuttings of soybean during root formation. Bot. Bull. Acad. Sin. ٣٧: ٢٤٧-٢٥٣.

Lovell, P.H.; Cobb,A. and Moore K.G. ١٩٧١. The control in detached cotyledon of *Sinapsis alba* L. and *Raphanus sativus* L. Ann. Bot., ٣٥; ٥٠١-٥٠٩.

Lovell,P.H. and White,J.١٩٨٦. Anatomical changes during adventitious root formation. In Jackson,M.B.(eds) New root formation in plant and cuttings. Martinus Nijhoff Pub., Netherlands.

Lurie ,S. and Ben-Yehoshua, S.١٩٨٦. Changes in membrane properties and abscisic acid during senescence of harvested bell pepper fruit .J.Amer. Soc. Hort. Sci., ١١١: ٨٨٦-٨٨٩.

Macdonald,I.R. , Bacon,J.S.D., Vaughan,D. and Eills,R.J.١٩٦٦. The relation between ion absorption and protein synthesis in beet disk. J.Exp. Bot., ١٧: ٨٢٢-٨٤٧.

Makelian,F.; Rao,R.; Prinyawiwatkul,W.; Marshallw. Windhauser,M. and Ahmedna,M.٢٠٠٠. Lipase and lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in Rice bran during storage. LSU.Ag.center research and Extention. Bulletin : ٨٧٠.

Makrides,S.C. and Goldthwaite, J.١٩٨١. Biochemical changes during bean leaf growth, maturity and senescence. J.Exp.Bot.,٣٢: ٧٢٥-٧٣٥.

Matoh, T.١٩٩٧. Boron in plant cell wall. Plant and Soil.١٩٣: ٥٩-٧٠.

Matoh, T.; Ishigaki, K.; Ohno, K. and Azuma, J. ١٩٩٣. Isolation and characterization of a boron-polysaccharide complex from radish roots. Plant Cell Physiol. ٣٤: ٦٣٩-٦٤٢.

Mattews,H.R., Freedland,R.A. and Miesfled,R.L.١٩٩٧. Biochemistry A short course. Willey-Liss. Inc.,pp ٤٥-٥٥ .

Mattila,S., Jones,B.L. and Mikkonen,A.١٩٩٥. Physiol.Plant. ٩٣: ٣١٧-٣٢٧. ( cited by Doblinski *et al*.,٢٠٠٣)

Mckersie,B.D. and Stinoson,R. H.١٩٨٠. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. Seed.Plant Physiol.,٦٦: ٣١٦-٣٢٠.

Mckersie,B.D. and Thompson,J.E.١٩٧٧. Lipid crystallization in senescence membranes from cotyledons. Plant Physiol., ٥٩: ٨٠٣-٨٠٧.

Mckersie,B.D. and Thompson,J.E.١٩٧٩. Phase properties of senescing plant membrane role of the natural lipids. Bioch. Biophys.,٥٥٠:٤٨-٥٨.

Medwar, P.B.١٩٥٧. An unsolved problem in biology. In the uniqueness of the individual. Menthuem.London (Cited by Salisbury and Ross, ١٩٨٥).

Mendel,F. and Hella,S.J.٢٠٠٠. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds.J. Agri. Food Chem.,٤٨.No.٦. (cited by Alwan,٢٠٠٤, in arabic )

Michalczyk,D.J.; Goreki,R.J.; Kuskka,K. and Reiowaki,A.١٩٨٨. Changes in phospholipid fractions of field bean (*Vicia faba* var.minor harz.) seeds stored at different temperatures. Plant Breeding and Seed Sci.,٤٢: ٣٧ –٤٦.

Middleton,W.; Jarvis,B.C. and Booth,A.١٩٧٨ . The boron requirement for root development in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb.The New Phytol., ٨١: ٢٨٧-٢٩٧.

Middleton, W.; Jarvis, B. C. and Booth, A. ١٩٨٠. The role leaves in auxin and boron dependent rooting of stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. The New Phytol., ٨٤: ٢٥١-٢٥٩.

Miyake,C. and Asada K.١٩٩٤. Ferredoxin-dependent photoreduction of the monodehydro ascorbate raical in Spinach thylakoids. Plant Cell Physiology.٣٥: ٣٥٩-٥٤٩.

Nanda,K.K. and Ananda,U. K.١٩٧٠. Seasonal changes in auxin effects on rooting of stem cutting of *Populus nigra* and relationship with mobilization of starch . Physiol.Plant., ٢٣: ٩٩-١٠٧.

Nitsch,J.P. and Nitsch, C.١٩٦٢. Composes phenoliques et croissance vegetable. Ann.Physiol.Veget.٤: ٢١١-٢٢٥.

Noctor,G. and Foyer,C.H.١٩٩٨. Ascorbate and glutathionee: Keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., ٤٩: ٢٤٩-٢٧٩.

Norcini, J. G.; Heuser, C.W. and Hamillon, P.H. ١٩٨٥. Changes in free and conjugated indole-٣- acetic acid during initiation and early

development of adventitious root in mung bean. Am. J. Soc. Hort. Sci., ١١٠: ٥٢٦-٥٣٣.s

O'Connor,T.P. and N.M.O'Brien.١٩٩١. Significance of lipoxygenase in fruits and vegtables. In: Food Enzymology. Fox,P.F.(ed). Elsevier Science Publishing Co.,Inc.NY.pp ٣٣٨-٣٦٤ .

Ofuya,T.I.١٩٩٧. Effect of some plant extracts on two coccinellid predators of the *Cowpea caphid*, *Aphis craccivora* (HOM.:Aphididae) .Entomophaga. ٤٢: ٢٧٧-٢٨٢.

Osteryoung,K.W.; Sticher,L.; Jones,R.L. and Bennett,A.B.١٩٩٢. Plant Physiol.٩٩: ٣٧٨-٣٨٢.

Parrish,D.S.and Leopold,A.C.١٩٧٨. On the mechanism of ageing in soyabean seeds. Plant Physiol.,٦١: ٣٦٥-٣٦٨.

Polle,A.١٩٩٦. Mehler reaction: friend or foe in photo synthesis Bot. Acta., ١٠٩: ٨٤-٨٩.

Priestly, D.A. ١٩٨٦. Seed ageing. Comstock Publ. Assoc., Ithaca and London, ١٢٥-١٩٧.

Priestlty, J.H. and J.Ewing .١٩٩٢. Physiological studies in plant anatomy. VI. Etiolation. NewPhytol.,٢٢: ٣٠-٤٤.

Ria, V. K.; Sharma, S. S. and Sharma, S. ١٩٨٦. Reversal of ABA-induced stomatal clouse by phenolic compounds. J. Exp. Bot., ٣٧: ١٢٩-١٣٤.

Reina,M.; Gonzalez-Coloma,A.; Gutierrez, C.; Cabrera,R.; Henriquez,J.and Villarroel,R.١٩٩٧. Bioactive saturated pyrrolizidine alkaloids from Heliotropium floridum. Phytochemistry.٤٦: ٨٤٥-٨٥٣.

Reuzeau,C.; Goffner,D. and Gavalie,G.١٩٩٢. Relation between protein composition and germination capacity of sunflower seeds. Seed Sci. Res.,٢: ٢٢٣-٢٣٠.

Ribereau-Gayon,P.١٩٧٢. Plant Phenolics. Oliver and Boyed.U.S.A.

Ricard, J. ; Teissere,M.; Azou, Y. and Penon, P. ١٩٧٦. Hormonal control of ribonucleic acid. Protein synthesis in plant microscopic. J. Biol. Cell., ٢٦: ١٣٩-١٥٠ (cited by Norcini et al., ١٩٨٥).

Sacher, J.A.١٩٧٣. Senescence and post harvest physiology.Ann. Rev. Plant Physiol.,٢٤: ١٩٧-٢٢٤.

Sachs, J. ١٨٨٠. Stoff und form der pflanzernorgane. Arb. Bot Inst. Wurzburg. ٢: ٤٥٢-٤٨٨.

Salisbury,F.B. and Ross,C.١٩٨٥. Plant Physiology. (٣rd ed.) Wadswarth Publishing Co.Inc.Belmont. Calfornia .

Sarath, G.; Pfeiffer,N. E.; Sodhi,C.S. and Wanger, F. W. ١٩٨٦.

Bacteroids are stable during dark. Induced senescence of soybean root nodules . Plant Physiol., ٨٢: ٣٤٦-٣٥٠.

Scheuermann, R.١٩٥٢. Der einfluss wrsserlosliche vitamine aufdie wirk samkeit von heteroauxin in wachstums rozess der hoheren. Pflanzen. Plant, ٤٠: ٢٦٥-٣٠٠.

Schmidt,A. Jager,K.١٩٩٢. Open qusestions about sulfurmetabolism in plants Ann. Rev.Plant Physiol. Plant Mol. Biol., ٤٣: ٣٢٥-٤٩.

Siedow, J. ١٩٩١. Plant lipoxygenase: Structure and function. Ann. Rev. Plant Physiol., ٤٢: ١٤٥-١٤٨.

Simon ,T.W.١٩٧٤. Phosphlipid and plant membrane permeability. New Phytol.,٧٣: ٣٧٧-٤٢٠.

Singer,S.J. and Nicolson,C.L.١٩٧٢. The fluid mosaic model of structure of cell membrane. Science ,١٧٥: ٧٢٠-٧٣١.

Shaheed, A.I.١٩٨٧. The control of adventitious root development in cutting of *Phaseolus aureus* Roxb.Ph.D.Thesis.University of Sheffield.U. K.

Shaheed, A.I.١٩٩٧. Effect of secondary metaolites on the ageing of mung bean stem cuttings. Iraq J.Sci., ٣٨: ٤٩٩-٥٠٨.

Shaheed,A.I. ٢٠٠١. Interaction between alkaloids and indole butyric acid in rooting of *Phaseolus aureus* Roxb. stem cutting. J.Coll.Educ. for Women, Univ.Baghdad,١٢: ٥٣٥-٥٤١.

Shaheed,A.I. ٢٠٠٤. Medicinal herb extract and ageing control in *Phaseolus aureus* Roxb. Stem cuttings (Submitted for pub.).

Shaheed,A.I. and AL-Alwani, B.A.٢٠٠١. Ageing , causes and control, in relation to adventitious root formation in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings.I. Decline of naturally occuring auxin (IAA). Iraqi J. Biol. ١: ١٦١-١٧٤.

Shaheed,A.I. and AL-Alwani, B.A.٢٠٠٢. Ageing , causes and control, in relation to adventitious root formation in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings.II. Blockage of xylem vessels. ( Submitted for pub.

Shaheed ,A.I. and Jabour, M.A.٢٠٠٤. Effect of ageing on permeability perturbation in relation to rooting response in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings and its control by using aqueous extract of parsley (*Petrosefinum crispum* Mill.) seed. I.Membrane structure and efflux. (Submitted for pub.).

Shaheed,A.I. and Salim,S.A.٢٠٠٢a. Ageing of mung bean ( *Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings in relation to exogenous supply of some nutritional factors. Coll.Educ.for Women Univ.Baghdad.(In press).

Shaheed,A.I. and Salim,S.A.٢٠٠٢b. The role of cotyledons as endogenous source of nutritional factors in controlling of ageing mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) cuttings. Iraqi.J.Sci.٤٣:١-١٦ .

Shalata,A. and Neumann,P.M. ٢٠٠١. Exogenous ascorbic acid (vitamin acid) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. J. Exp. Bot., ٥٢: ٢٢٠٧-٢٢١١.

Shihata , I.M.١٩٥١. A Pharmacological study of *Angallis arvensis*. D.M. Vet thesis Cario University.

Skibb JL.; Powers, RH.; Stadnicka. A., and Cullinane DW., Int. J. Hyper-themia.,١٩٩١, ٧: ٧٤٩-٧٦١.

Smirnoff, N. ١٩٩٦. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. Annals of Botany, ٧٨: ٦٦١-٦٦٩.

Smirnoff, N. ٢٠٠٠. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-facetted molecule. Curr. Opinion in Plant Biol., ٣: ٢٢٩-٢٣٥.

Stangler,B.B.١٩٥٦. Origin and development of adventitous roots in stem

cutting of Chrysanthemum , carnation and Ross . NewYork, Agr. Exp. Sta. Memoir,٣٤٢ (cited by Blazich *et al*.,١٩٨٣).

Stasolla,C. and Yeung,E.C.١٩٩٩. Ascorbic acid improves conversion of while spruce somatic embryos. *In vitro* Cell. and Dev. Biol. Plant ٣٥,٣١٦-٣١٩.

Stonier, T.١٩٧١. The role of auxin protector in autonomous growth. In .Les cultures de itissue de plantes, pp. ٤٢٣-٤٣٥. Collagues internat-ionaux. C.N.R.S.Paris (No.١٩٣) (cited by Blazich *et al*.,١٩٨٣).

Stryer, L.١٩٩٥. Biochemistry.(٤th ed.) Freeman and Company, NewYork.

Swain,T.,١٩٧٩. Tannins and lights. pp. ٦٥٧-٦٨٢ In: G.A. Rosenthal and D.H.Jansen, (eds.) Herbivores. Their interaction with secondary plant metabolites. Academic Press, San Diego.

Swiss,F.١٩٨٢. Chilling-induced photo oxidative stress and adaptation of defence systems in maize (*Zea mays* L.) leaves. Dip.: Biol.Universital Gie Ben, Germany.

Swiss,F.١٩٩٨. Chilling-induced photo oxidative stress and adaptation of defence systems in maize (*Zea mays* L.) leaves. Dip.Biol.Universital Gie Ben, Germany.

Tappel, A.L.١٩٦٣. Lipoxygenase. In: enzymes. Boyer, P.D., Lardy H., and Myrback,K. (eds) ; (٢nd ed.) Academic Press: NY. Vol.B.pp ٢٧٥.

Thorell, H.R.; Holman, T. and Akeson, A.١٩٤٧. A note on the preparation of crystalline soybean lipoxidase. Arch. Biochem. Biophys., ١٤: ٢٥٠-٢٥٢.

Thrower, S.L.١٩٦٧. The pattern of translocation during leaf ageing. In: aspects of the biology of ageing. (ed.) H. W. Woolhouse, Academic Press, NewYork, pp: ٤٨٣-٥٠٦.

Ting. R. R.١٩٨٢. Plant Physiology. Addison-Welesy Publishing. Co. Inc.

Tomaszeski, M.١٩٦٤. The mechanism of synergistic effects between auxin and some natural phenolic substances regulators naturals de la croissance vegetal., ٣٣٥-٣٥١(ed.)By Nitsch. Paris.

Trease,G.E. and Evans, W.C.١٩٩٨. Pharmacognosy.(١١th ed.) Lea and Febiger.

Tschesche,R. and Wulff, G.١٩٧٣. Chemic und biologie der saponine-fortscher. Chemic.Org.Natarst., ٣٠ :٤٦١-٦٠٦ (cited by Harborne,١٩٨٤).

Tyler,V., J., and Brady, L. and Robbers,J.١٩٨٨. Pharmacognosy. (٩th ed.) Lea and Febiger.

Ullrich, W.١٩٦٢. Uberdie bildung vonkallose bei einer hemmung sedtrans sporeg in den sieborohrin in durchcuanid. Planta, ٦٩: ٣٨٧-٣٩٠.

Vanacher, H. T.; Carver, L. W. and Foyer, C. H.. ١٩٩٨. Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves, Plant Physiol.,١١٧ :١١٠٣-١١١٤.

Van der Valk,H.C.P.M. and Van Loon, L.C.١٩٨٨. Plant Physiol.,٨٧: ٥٣٦-٥٤١.( Vierira *et al*.,٢٠٠٠)

Vierira, A.A.; Oliveira,M. G.; Jose,I.C.; Piovesan,N.D.; Rezende, S.T.; Moreira, M.A. and Barros,E.G. ٢٠٠٠. Biochemical evolution of lipoxygenase pathway of soybean plants submitted to wounding. R. Bras. Fisiol. Veg., ١٣: ٥-١٢.

Vierstra,R.D.١٩٩٦. Plant Mol.Biol.٣٢: ٢٧٥-٣٠٢. (Cited by Salisbury and Ross, ١٩٨٥).

Wally,Y.A.; El-Hamady,M.M.; Boulos,S.T. and Salama,M.A.١٩٨٠. Physiological and Anatomical studies on pecan hard-wood cutting. Egypt. Hort. ٨: ٨٩-١٠٠.

Weaver, R. J.١٩٧٢. Rooting and propagation. In: Plant Growth Substances in Agriculture. W.H. Freeman Co., San Francisco. California. (Cited by Salisbury and Ross, ١٩٨٥).

Weiser, C.J. and Blaney, L.T.١٩٦٠. The effect of boron on the rooting of English holly cuttings. Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.,٧٥ :٧٠٤-٧١٠.

Wel,Y. H.١٩٩٢. Mitochondrial, DNA alterations as ageing associated molecular events. Mut. Res., ٢٧٥: ١٤٥-١٥٥.

Went, F.W.١٩٣٩. The dual effect of auxin on root formation. Am. J. Bot.,٢٦: ٢٤-٢٩.

Went,FW. and Thiamann,K.V.١٩٣٧. Phytohormones. ٢٩٤ pp. NewYork. (cited by Fernqvist,١٩٦٦).

Wheeler, A.W.١٩٦٨. Changes in auxins in expanding and senescent primaryleaves of dwarf franch bean (*Phaseolus vulgaris* L.).J.Exp.Bot.,١٩:١٠٢- ١٠٧.

Wickilff,J.S. and Arononff,S.١٩٦٢. Evidence for absence of diurnal variation of chlorophyll content in mature leaves of soybean. Plant Physiol.,٣٧: ٥٩٠-٥٩٤.

Wilson,D.O. and McDonald, M. B.١٩٨٦. The lipid peroxidation model of seed ageing . Seed.Sci.Technol.,١٤: ٢٦٩-٣٠٠.

Wise,R.R. and Naylor, A.W.١٩٨٧. Chilling-enhanced photo-oxidation. Plant Physiol., ٨٣: ٢٧٨-٢٨٢.

Woolhouse, H.W.١٩٦٧. The nature of senescence in plant synpose. Soc. Exp.Biol.,٢١: ١٧٩-٢١٣.

Yamamoto,H.Y.; Kamite,L. and Wang, Y. Y.١٩٧٢. An ascorbate-induced absorbance change in chloroplasts from violaxanthin de-epoxidation. Plant Physiol., ٤٩: ٢٢٤-٢٢٨.

Yasuda,T.; Yajima,Y. and Yanada, Y.١٩٧٤. Introduction of DNA synthesis and callus formation from tuber tissue of *Jerusalem artichoke* by ٢,٤-dichlorophenoxy acetic acid . Plant Cell Physiol.,١٥: ٣٢١-٣٢١.

Zacheo,G.; Cappello,M.S.; Gallo,A.; Santino,A. and Cappelo,A.R.٢٠٠٠. Changes associated with post-harvest ageing in Almond seeds. Lebensm-Wiss U. Technol.,٣٣; ٤١٥-٤٢٣.

Zalewski, K.١٩٩٢. The metabolism of aged seeds. The formation of polyribosomes in germination field bean (*Vicia faba* SS Minor) seeds of fifferent ages. Acta. Societatis. Bot. Poloniae. ٦١: ٢٠٣- ٢١٠.

Zenk, M.H.and Muller,G. ١٩٦٣. *In vivo* destruction and exogenously applied indole-٣-acetic acid as influenced by naturally occuring phenolic acid. Nature,٢٠٠: ٧٦١-٧٦٣.

Zhang, J.X. and Kirkham, M.B. ١٩٩٦. Lipid peroxide in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid and

propyl gallate. J. Plant Physiol., ١٤٩: ٤٨٩-٤٩٣.

Zimmerman, P.W. and Wiloxon, F. ١٩٣٥. Several chemical growth substances and which cause initiation of roots and other responses in plants. Contrib. Boyce. Thomp. Inst., ٧: ٢٠٩-٢٢٩.

# الاستنتاجات

١-أنخفاض إستجابة التجذير في العقل المعمرة مقارنة بالعقل الطرية.

٢-حفظ العقل بمستخلص اليانسون١%، ومحلول السيناميك أسد($10^{-3}$مولاري) لمدة ثلاثة أيام أدى الى أيقاف العمليات التي تحدث خلال ظاهرة التعمير بشكل كامل، وفي محاليل الزيوت الطيارة بشكل جزئي بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل.

٣- يحدث خلال التعمير زيادة معنوية في كل من محتوى Malondialdehyde(MDA ، وفي فعالية أنزيمات Lipoxygenase وprotease. وكذلك أنخفاض معنوي في محتوى البروتين ومضادات الاكسدة (كالكلوتاثيون والاسكوربيت).

٤-حفظ العقل بمستخلص اليانسون(١%) لمدة ثلاثة أيام خفض الزيادة الحاصلة في محتوى MDA بنسبة (٨٨%)، وفي فعالية أنزيمات Lipoxygenase بنسبة (٢٧٧.٢% )، وفي فعالية أنزيم Protease بنسبة (٢١٢.١%) مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر. كما أوقف الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين والكلوتاثيون والاسكوربيت.

٥- حفظ العقل بالسيناميك أسد($10^{-3}$مولاري) ادى الى خفض الزيادة الحاصلة في محتوى MDA وفعالية أنزيم LOX وProtease . وكذلك أوقف الانخفاض الحاصل في محتوى البروتين والكلوتاثيون بأستثناء محتوى الاسكوربيت الكلي مقارنة بالعقل المعمرة بالماء المقطر.

٦- حفظ العقل بمحاليل الزيوت الطيارة Volatile Oils أدى الى خفض الزيادة الحاصلة في محتوى MDA وLOX وprotease. بالاضافة الى ذلك، فأنه حافظ على محتوى البروتين والكلوتاثيون والاسكوربيت كما هو عليه في العقل الطرية.

# التوصيات

١-أستخدام المستخلص المائي لليانسون١%، ومحلول السيناميك أسد (١٠$^{-3}$مولاري)، ومحاليل الزيوت الطيارة لحفظ العقل النباتية عند تأخير غرسها، أو كمحاولة لتجذير العقل صعبة التجذير Difficult to root cuttings وبتراكيز تختلف بحسب النوع النباتي.

٢-عزل وتشخيص وتقدير المواد الفعالة بايولوجيا في المستخلص المائي لليانسون ومعرفة ميكانيكية عملها في أعاقة العمليات التأكسدية.

٣-محاولة أستخدام المحاليل قيد الدراسة كبدائل لمنظمات النمو عند عدم توفر الاوكسينات المصنعة ، وأن كانت إستجابتها محدودة.

٤-أجراء فصل نوعي للدهون الموجودة في النبات لتحديد النوع الحساس منها لعملية الاكسدة والمتسبب في التغيرات الحاصلة في نفاذية الاغشية خلال ظاهرة التعمير.

٥-دراسة أنزيمية للانزيمات التي تستخدم لكبح الجذور الحرة مثل Superoxide dismutase ، وCatalsase، وPeroxidase .

٦- دراسة فعالية الانزيمات المسؤولة عن التخليق الحيوي للدهون والبروتينات ودورها خلال ظاهرة التعمير.

٧- دراسة نشاط فعالية الانزيمات DNase ،وRNase خلال ظاهرة التعمير.

٨- محاولة أيجاد مستخلصات ومواد أخرى تعمل على تحسين تجذير العقل والحفاظ على حساسية العقل للتجذير عند تأخير غرسها.

٩- دراسة تأثير العناصر المعدنية الضئيلة على عملية أكسدة اللبيد وعلى فعالية مضادات الاكسدة كالكلوتاثيون والاسكوربيت.

# المصادر References

## المصادر العربية


أبو التمن، وسن مضر.٢٠٠٣. التفعيل الكيمياوي والحفظ الفيزياوي لفعالية المستخلصات النباتية ودورها في السيطرة على ظاهرة التعمير في عقل الماش المعمرة . رسالة ماجستير. جامعة بابل.

الراوي، خاشع محمود. ١٩٩٢. المدخل الى الاحصاء. الطبعة الاولى. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل.

الراوي، عادل والدوري، علي. ١٩٩١. المشاتل وتكثير النباتات. الطبعة الثانية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل.

الزهيري، احمد محمود حسين .١٩٨٢. دراسة بعض الصفات الكيميائية والدوائية لنبات الآس. رسالة ماجستير . جامعة بغداد.

توماس . سز مور. ١٩٨٢. الهرمونات النباتية فسلجتها وكيمياؤها الحيوية. ترجمة عبد المطلب سيد محمد. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة الموصل. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.

جانك، جـ .١٩٧٢ . علم البستنة. ترجمة جبار حسين سلومي وحسام حسين علي. الطبعة العربية ١٩٨٠. جامعة البصرة. مطبعة جامعة البصرة.

ديفلين، روبرت هـ. وتام، فرنسيس هـ . ١٩٨٥. فسيولوجيا النبات. الطبعة الرابعة. ترجمة محمد محمود شرقاوي وعبد الهادي خضر وعلي سعد الدين سلامة ونادية كامل . الطبعة العربية ١٩٨٥ . المجموعة العربية للنشر .

شهيد، عبد الله ابراهيم (١٩٨٠). الفعل المتبادل بين الاوكسين والسايتوكنين ودورهما في نشوء ونمو الجذور العرضية والبراعم في عقل نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* L. . رسالة ماجستير. جامعة بغداد.

علوان، عبد الله عودة. ٢٠٠٤. تأثير العناصر الضيئلة والعوامل المضادة للاكسدة في مستوى أندول حامض الخليك من خلال فرضية الاكسدة التي تحدث خلال ظاهرة التعمير في عقل الماش .*Phaseolus aureus* Roxb . رسالة ماجستير. جامعة بابل.

محمد، عبد العظيم كاظم واليونس، مؤيد احمد. ١٩٩١. اساسيات فسيولوجيا النبات. ثلاثة اجزاء. جامعة بغداد. دار الحكمة للطباعة والنشر.

يوسف، يوسف حنا. ١٩٨٧. اكثار اشجار الفاكهة. جامعة صلاح الدين. اربيل . مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل.