تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور ببيروكسيد الهيدروجين في بعض مضادات الاكسدة الانزيمية لنبات الماش *Vigna radiata L.*

وفاق امجد القيسي ايمان حسين هادي الحياني

*قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة -ابن الهيثم - جامعة بغداد- emanemaneman_h114@yahoo.com

المستخلص

اجريت تجربتان حقليتان خلال موسم النمو للعروتين الربيعية و الخريفية لنبات الماش *Vigna radiata* L. للعام 2014 في الحديقة النباتية التابعة لقسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة (ابن الهيثم) / جامعة بغداد ،بهدف دراسة تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون بالتراكيز 25 ، 50 ،75 ،100 ملغم .لتر$^{-1}$ فضلاً عن معاملة المقارنة و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بالتراكيز 5 ،10 ،15 ملي مول .لتر$^{-1}$ فضلاً عن معاملة المقارنة في بعض مضادات الاكسدة الانزيمية لنبات الماش .اظهرت النتائج زيادة الفعالية الكلية لانزيم Superoxide dismutase (SOD) بالكلوتاثيون بالتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ بنسبة مقدارها 69.32% و 40.93% للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع،و ازدادت بنسبة 100% و 28.53% للعروتين الربيعية والخريفية اعلى التتابع بالتركيز 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ في H_2O_2 و قد وجد ان هناك تأثير معنوي لتداخل الكلوتاثيون و بيروكسيد الهيدروجين في الفعالية الكلية لانزيم SOD عند التركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ من الكلوتاثيون و 15 ملي مول .لتر$^{-1}$ في H_2O_2 للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع، كما ازدادت الفعالية الانزيمية لانزيم Peroxidase (POD) بالتركيز 100 ملغم .لتر$^{-1}$ من الكلوتاثيون للعروتين بنسبة مقدارها 29.45% و 82.15% و ازدادت بنسبة مقدارها 175.57% و 40.58% بالتركيز 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ من بيروكسيد الهيدروجين ،و قد حصل تداخل معنوي بين المعاملتين لكلا العروتين في فعالية انزيم (POD)،اما بالنسبة للفعالية الكلية لانزيم Catalase فقد سجلت اعلى متوسط للفعالية بنسبة زيادة مقدارها 55.47% للتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ من الكلوتاثيون للعروة الاولى و ازدات فعالية الانزيم معنوياً بمعاملة بيروكسيد الهيدروجين بالتركيز 15 ملي مول .لتر$^{-1}$بنسبة مقدارها 118.29% و 71.78% لكلا العروتين على التتابع ،كما اظهرت النتائج حصول تداخل معنوي بين عاملي التجربة بالتراكيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$الكلوتاثيون و 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ لبيروكسيد الهيدروجين ،اشارات النتائج الى وجود تأثير معنوي لمتوسط الفعالية الكلية لانزيم Glutathione Peroxidase بنسبة مقدارها 30.90% و 63.62% بالتركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ من الكلوتاثيون، كما ازدادت فعالية الانزيم معنوياً بالتركيز 15 ملي مول .لتر$^{-1}$ من بيروكسيد الهيدروجين بنسبة مقدارها 12.86% و 61.40% للعروتين االربيعية والخريفية على التتابع ،كما وجد حصول تأثير معنوي بين عاملي التجربة للعروة الاولى فقط و قد قورنت جميع النتائج بنباتات السيطرة. نستنتج ان التركيز 100 ملغم .لتر$^{-1}$ كلوتاثيون و 15 ملي مول . لتر$^{-1}$ من بيروكسيد الهيدروجين سبب زيادة لمعظم الصفات المدروسة .

الكلمات المفتاحية :نبات الماش ، كلوتاثيون ، بيروكسيد الهيدروجين.

الكلمات المفتاحية : نبات الماش ، كلوتاثيون ، بيروكسيد الهيدروجين.

المقدمة

يعد الماش من المحاصيل القصيرة في فترة نموها (علي و اخرون ،1990) .ويعود نبات الماش الى العائلة البقلية (القرنية) peafamily او fabaceae او leguminosae (الكاتب ،1988)، وهو محصول حولي صيفي عشبي متفرع شبه قائم ،يتراوح طوله بين 25 – 125 سم، وله جذر وتدي قليل التعمق و توجد عليه العقد البكتيرية لذلك يزيد من خصوبة التربة من خلال تزويده بالنيتروجين بعملية

تاريخ تسلم البحث 25 / 3 / 2015 . http://www.agriculmag.uodiyala.edu.iq/
تاريخ قبول النشر 21 / 6 / 2015 .
* البحث جزء من اطروحة الدكتوراه للباحث الثاني.

التكافل Symbiosis ويعد مصدر مهم للبروتين كما وجد ان اوراق الماش تزود ما مقداره 37- 40 كغم من النتروجين لكل هكتار من التربة(Anwar و Rashed،2010) . الكلوتاثيون ثلاثي الببتيد هو الاكثر وفرة في انسجة النبات، و هو يلعب ادوار متعددة في عمليات الايض الخلوي ،و هو مركب مركزي في ايض الكبريت ،و يعتبر من الاشكال التي تعد ناقل رئيسي في اختزال الكبريت و يرتبط مسار اختزال الكبريت ببناء البروتين ، وكذلك فهو منظم للكبريت المختزل ،ومن ناحية اخرى فهو مختزل قوي لانواع الاوكسجين التفاعلية Specieal Oxygen Reactive (ROS) (Tausz وGrill، 2000) . ان بيروكسيد الهيدروجين بالتراكيز الواطئة بمثابة اشارة جزئية يسبب تحمل النبات ضد الاجهادات الحيوية Biotic و غير الحيوية Abiotic(Mitter و اخرون ،2004) اما التراكيز العالية منه تؤدي الى تحرير العوامل المحثة للموت الخلوي المبرمج programmed cell death .(Dat و اخرون ،2000) . كما ان له دور رئيسي بارسال اشارات جزيئية كيمائية لتصحيح نمو و تطور النبات. (Kocsy و اخرون ،Foyer 1996; و Noctor،2000).تهدف الدراسة الحالية الى معرفة تاثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور ببيروكسيد الهيدروجين في بعض مضادات الاكسدة الانزيمية لنبات الماش للعروتين الربيعية و الخريفية.

المواد وطرائق البحث

موقع التجربة:

اجريت تجربتان حقليتان الاولى العروة الربيعية و الثانية العروة الخريفية خلال موسم النمو 2014 ،في الحديقة النباتية التابعة لقسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة –ابن الهيثم /جامعة بغداد لغرض دراسة تاثير الرش الورقي بالكلوتاتون و نقع البذور ببيروكسيد الهيدروجين في بعض مضادات الاكسدة الانزيمية لنبات الماش .Vigna radiata L،تم الحصول على بذوره من الاسواق المحلية

تصميم التجربة:

صممت التجربة وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة Randomized Complete Block Design (R.C.B.D.) كتجربة عاملية 4×5 و بثلاثة مكررات و تضمنت العوامل التالية :

أ- اربع تراكيز من glutathione 0،25،50،75،100 ملغم.لتر$^{-1}$فضلاً عن معاملة المقارنة.

ب-ثلاثة تراكيز من Hydrogen peroxide0،5،10،15 ملي مول .لتر$^{-1}$فضلاً عن معاملة المقارنة كان عدد الوحدات التجريبية 60 وحدة تجريبية لكلا العروتين ،تم اعداد الارض و تجهيزها للزراعة و تسويتها جيدا حيث تم تقسيمها الى وحدات تجريبية بلغت ابعادها 1×1 م2 زرعت على اربعة خطوط و بمسافة 15 سم بين خط و اخر حللت تربة الحقل قبل الزراعة في مختبرات قسم التربة –كلية الزراعة /جامعة بغداد ،و ذلك باخذ عينات على عمق 0-30 سم (جدول 1).

استعمل سماد الداب DAP (21%N – 53%P2O5) (Shukla و Chandel ، 2006) و بمتوسط 140 كغم .هكتار$^{-1}$ (سعد و اخرون، 2000). زرع نبات الماش (الصنف المحلي) بعروتين الاولى (ربيعية) 2014/3/20 و(خريفية) 2014/6/5 و بمتوسط بذار 24كغم .هكتار$^{-1}$ (على و اخرون ، 1990) عشبت ارض التجربة يدويا وسقيت عند الحاجة وحصدت العروة الاولى والثانية في 2014/6/1 ،2014/8/24 بالتتابع .

جدول 1 . بعض صفات التربة الكيميائية و الفيزيائية.

الصفة		القيمة	الوحدة
الخصائص الكيميائية و الخصوبية			
درجة تفاعل pH		7.28	
الايصالية الكهربائية $EC_{1:1}$		1.5	$ds.m^{-1}$
السعة التبادلية للايونات الموجبة CEC			$Cmol_{+}kg^{-1}$ soil
المادة العضوية O.M		0.53	%
معادن الكاربونات		16.2	
النتروجين الجاهز %		0.01	$Mg.kg^{-1}$
الفسفور الجاهز		19.0	
البوتاسيوم الجاهز		150	
نسبة امتزاز الصوديوم SAR		---------	$(mmol.L^{-1})^{1/2}$
الايونات الموجبة الذائبة	الكالسيوم	6.0	$Meq.L^{-1}$
	المغنسيوم	5.3	
	الصوديوم	4.54	
الايونات السالبة الذائبة	الكاربونات	Nil	
	الكبريتات	7.8	
	البيكاربونات	2.0	
	الكلوريدات	6.0	
الخصائص الفيزيائية			
مفصولات التربة	الطين	204	$g.kg^{-1}$
	الغرين	320	
	الرمل	476	
النسجة		100 m	مزيجية
الكثافة الظاهرية		--------	$Mg.m^{-3}$

تحضير تراكيز الرش و النقع:

تحضير الكلوتاثيون

حضر محلول الكلوناثيون بالتراكيز25 ،50 ،75، 100 ملغم.لتر$^{-1}$ فضلاً عن معاملة المقارنة ، و تم رش التراكيز مباشرة بعد تحضيرها عند الصباح الباكر بواسطة مرشة ضاغطة pressing sprayer على النباتات و رشت معاملات السيطرة بالماء المقطر للعروتين الربيعية و الخريفية.

تحضير بيروكسيد الهيدروجين

حضر محلول بيروكسيد الهيدروجين بالتراكيز 5 ، 10 ، 15 ملي مول.لتر$^{-1}$، و تم نقع بذور نبات الماش بهذه التراكيز لمدة 12 ساعة (Gondim و اخرون ،2010) و نقعت معاملات السيطرة بالماء المقطر و زرعت مباشرة بعد النقع و لكلا العروتين الاولى و الثانية .

تقدير فعالية الانزيمات و هي :

الفعالية الكلية لأنزيم Superoxide dismutase (SOD):

قدرت فعالية هذا الانزيم بطريقة النايتروبلوتترازوليم (NBT) والرايبوفلافين وحسب طريقة Beyer و Fridowich (1987) باستخدام جهاز المطياف الضوئي الياباني الصنع عند الطول الموجي 560نانوميتر

الفعالية الكلية لإنزيم Peroxidase (POD):

تم تقدير الفعالية لأنزيم POD وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل Nezih (1985) باستخدام جهاز المطياف الضوئي الياباني الصنع عند الطول الموجي 420 نانوميتر.

فعالية إنزيم Catalase(CAT) :

قدرت بواسطة جهاز spectrophotometerUV- عند الطول الموجي 240 نانوميتر وحسب ما جاء في (Aebi1974)

فعالية أنزيم Glutathione Peroxidase(GPX) :

قدرت فعالية انزيم الـ GPX حسب طريقة Flohe و Gunzler (1984) باستخدام جهاز المطياف الضوئي الياباني الصنع عند الطول الموجي 420 نانوميتر .

النتائج والمناقشة

الفعالية الكلية لانزيم (SOD):

اشارات النتائج الموضحة في الجدولان3 و2 الى حصول زيادة معنوية في متوسط الفعالية الكلية لانزيم SOD فعند زيادة تركيز الكلوتاثيون من صفرملغم .لتر$^{-1}$ الى 100 ملغم .لتر$^{-1}$ ازداد متوسط الفعالية الكلية للانزيم معنويا من 114.29وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 193.52 وحدة . ملغم$^{-1}$ و من 217.90 وحدة . ملغم$^{-1}$الى 307.10 وحدة .ملغم$^{-1}$ و بنسبة زيادة مقدارها 69.32 % و 40.93% و للعروتين الربيعية والخريفية على التتابع، و ربما يعزى سبب الزيادة في الفعالية الكلية لانزيم SOD الى ان الكلوتاثيون يحمي الخلية من التلف الناجم من الجذور الحرة و ايضا يساعد على بقاء الخلايا بشكلها النشيط ، وان اضافة الكلوتاثيون بشكل خارجي بسبب زيادة في نشاط الانزيمات و الهرمونات المهمة (Gilbert و اخرون ، 1990) . كما اوضحت النتائج فيالجدولان3و2 التأثير المعنوي لبيروكسيد الهيدروجين في زيادة متوسط الفعالية الكلية للانزيم فعند رفع تركيز بيروكسيد الهيدروجين الى 15 ملي مول .لتر$^{-1}$ و قياساً الى معاملة المقارنة ازداد متوسط الفعالية SOD من 87.48 وحدة . ملغم$^{-1}$ الى 174.92 وحدة.ملغم$^{-1}$ و من 242.9 وحدة. ملغم$^{-1}$ الى 312.2 وحدة .ملغم$^{-1}$ ، وبنسبة زيادة مقدارها 100% و 28.53% للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع، وربما يعزى سبب الزيادة الى ان اضافة بيروكسيد الهيدروجين يؤدي الى تراكم بيروكسيد الهيدروجين داخل الخلية (Hung و Kao،2007)، او ربما يعزى الى ان بيروكسيد الهيدروجين بالتراكيز المنخفضة يشجع تحمل النبات للاجهاد (Abass و Mohamed ، 2011)، او ان بيروكسيد الهيدرجين يقوم بارسال اشارات كيميائية تحفز الاليات الناقلة لانواع الاجهاد،كما انه ينظم التحكم بالجينات الدفاعية لمضادات الاكسدة الانزيمية و البروتينات الدفاعية و ايضا عوامل الاستنساخ الوراثية (Hung و اخرون ، 2005) اذ يرسل H_2O_2 ايعازات تحفز الية المقاومة المكتسبة الجهازية Systemic acquired resistance (SAR)(Alvarez و اخرون ، 1998)، والية التأقلم المكتسبة الجهازية Systemic acquired acclimation(SAA) (Karpinski و اخرون ، 1999). كما اظهرت نتائج الجدولان3 و2 حصول تأثير معنوي للتداخل بين تراكيز الكلوتاثيون و بيروكسيد الهيدروجين في الفعالية الكلية لانزيم SOD،اما اعلى قيمة بلغت 260.50 وحدة . ملغم$^{-1}$ و 356.5 وحدة .ملغم$^{-1}$عند التركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ من الكلوتاثيون و 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ من بيروكسيد الهيدروجين و للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع .

جدول 2. تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم SODوحدة . ملغم$^{-1}$(العروة الربيعية).

تركيز H_2O_2المنقوعة فيها البذور (ملي مول. لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم .لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	59.58	63.33	136.91	87.08	90.38	87.46
5	119.04	189.29	223.25	122.49	211.49	173.02
10	170.00	250.87	64.04	80.63	211.70	155.45
15	108.56	119.04	135.63	250.87	260.50	174.92
المتوسط	114.29	155.63	139.96	135.15	193.52	
LSD 0.05	0.744 = Glutathione 0.665 = H_2O_2 1.488 = H_2O_2 × Glutathione					

جدول 3. تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم SODوحدة . ملغم$^{-1}$ (العروة الخريفية).

تركيز H_2O_2 المنقوعة فيها البذور (ملي مول. لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	114.2	264.3	282.2	298.1	255.8	242.9
5	253.6	288.9	298.1	278.4	333.0	290.4
10	241.4	143.9	295.3	281.2	283.1	249.0
15	262.4	338.6	310.4	293.1	356.5	312.2
المتوسط	217.9	258.9	296.5	287.7	307.1	
LSD0.05	10.70 = Glutathione 9.57 = H_2O_2 21.40 = H_2O_2 × Glutathione					

الفعالية الكلية لانزيم Peroxidase (POD):

اوضحت النتائج المبينة في الجدولان4،5 حصول زيادة معنوية في متوسط الفعالية الكلية لانزيم peroxidase بزيادة تركيز الكلوتاثيون فعند رفع التركيز الى 100 ملغم.لتر $^{-1}$ و قياساً بمعاملة المقارنة ازداد متوسط الفعالية من 82.91 وحدة .ملغم$^{-1}$الى 107.33 وحدة .ملغم$^{-1}$ و من 96.21 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 175.25 وحدة .ملغم$^{-1}$ و بنسبة زيادة مقدارها 29.45% و 82.15% للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع، و ربما يعزى سبب الزيادة الى ان الكلوتاثيون من مضادات الاكسدة يعمل على حماية الخلايا من التحطم و يحافظ على الخلايا بشكلها النشط فضلاً عن انه يؤدي الى زيادة الانشطة الانزيمية (Mamdouh ،1995) و فضلاً عن انه يعمل على تحسين النمو الخضري و تخليق البروتين الذي يكون الانزيمات و الهرمونات (Gilbert واخرون ، 1990) و هذه النتيجة تتفق مع Akladious و Abbas (2013)على نبات الطماطة.

كما يوضح الجدولان4 و5 حصول زيادة معنوية في متوسط الفعالية الكلية لانزيم peroxidase وحدة .ملغم$^{-1}$ فعند زيادة التركيز الى 15 ملي مول .لتر$^{-1}$ و قياسا بمعاملة السيطرة ازداد متوسط الفعالية من 52.67 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 145.60 وحدة .ملغم$^{-1}$ ومن 113.00وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 158.86وحدة .ملغم$^{-1}$ و بنسبة زيادة مقدارها 175.57% و 40.58% و للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع ،وربما يعزى سبب الزيادة في الى ان بيروكسيد الهيدروجين، الذي يكون اكثر استقرارا في الخلية و له دور في اطلاق اشارات كيميائية تسبب في مقاومة النبات للاجهادات و هذه الاشارات تعمل على تنظيم التعبير الجيني (gene expression) هذه الجينات تعمل على تطوير النظام الدفاعي عن طريق استحثاث نظام المقاومة الجهازية systemic acquired resistance او حث نظام التأقلم الجهازي systemic acquired acclimation(Hung و اخرون ،2005)، او ربما تعزى سبب الزيادة الى مساهمة انزيم POD في العديد من الاليات المقاومة فهو يعمل على تعزيز جدار الخلية عن طريق تكوين اللكنين و هذا المركب مهم لانه وسيلة دفاع ضد الاصابات المرضية (Kawano، 2003) و هذه النتيجة تتفق مع نتيجة الغزي (2013) على نبات الذرة الصفراء.

و وجد من نتائج الجدولان5 و4 تأثير معنوي للتداخل بين تأثير الكلوتاثيون و بيروكسيد الهيدروجين في الفعالية الكلية لانزيم peroxidase،كما اوضح الجدولان 4 و 5 ان اعلى قيمة للفعالية الكلية للانزيم بلغت 192.00وحدة .ملغم$^{-1}$ و 250 وحدة .ملغم$^{-1}$عند التركيز 100 ملغم.لتر$^{-1}$ و 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ من بيروكسيد الهيدروجين و لكلا العروتين على التتابع.

جدول 4.تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم Peroxidaseوحدة . ملغم$^{-1}$ (العروة الربيعية).

تركيز H_2O_2 المنقوعة فيها البذور (ملي مول. لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	41.00	53.00	48.00	58.67	62.66	52.67
5	119.33	44.00	132.00	58.66	62.00	83.20
10	95.33	108.00	59.33	43.33	112.66	83.73
15	76.00	154.66	130.00	175.33	192.00	145.60
المتوسط	82.91	89.91	92.33	84.00	107.33	
LSD0.05	0.805 = Glutathione 0.720 = H_2O_2 1.610 = H_2O_2 × Glutathione					

جدول 5.تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم Peroxidaseوحدة . ملغم$^{-1}$(العروة الخريفية).

تركيز H_2O_2 المنقوعة فيها البذور (ملي مول .لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	40.50	54.22	97.33	176.60	196.33	113.00
5	153.00	196.00	143.33	100.00	156.00	149.67
10	81.33	86.66	143.33	198.33	98.66	121.66
15	110	189.66	160.66	84.00	250.00	158.86
المتوسط	96.21	131.63	136.16	139.73	175.25	
LSD0.05	0.754 = Glutathione 0.674 = H_2O_2 1.508 = H_2O_2 × Glutathione					

الفعالية الكلية لانزيم الكاتليز Catalase:

اوضح الجدولان7و6 حصول تأثير معنوي للكلوتاثيون في فعالية انزيم Catalaseوحدة .ملغم$^{-1}$ وقد اعطى التركيز 25 ملغم.لتر$^{-1}$ اعلى متوسط للفعالية الكلية لانزيم الكاتليز بلغت 17.88وحدة .ملغم$^{-1}$ و بنسبة زيادة مقدارها 55.47 وحدة .ملغم$^{-1}$ للعروة الاولى و ربما يعزى سبب الزيادة في فعالية انزيم الكاتليز الى ان الكلوتاثيون من مضادات الاكسدة ، ويعمل على حماية الخلايا و يحافظ على الخلايا بشكلها النشط ،فضلاً عن انه يؤدي الى زيادة الانشطة الانزيمية (Mamdouh ،1995) ، كما انه يعمل على تخليق البروتين الذي يكون الانزيمات و الهرمونات(Gilbert واخرون ، 1990) وهذه النتيجة تتفق مع Akladious و Abbas (2013) الذي اشار الى ان رش نبات الطماطة المعرضة للاجهاد الملحي بالكلوتاثيون ادى الى الزيادة في الفعالية الكلية لانزيم الكاتليز.

كما اوضح الجدولان6 و7 حصول تأثير معنوي لبيروكسيد الهيدروجين في زيادة متوسط الفعالية الكلية لانزيم الكاتليز، فعند زيادة تركيز البيروكسيد الى 15 ملي مول .لتر$^{-1}$ وقياساً الى معاملة المقارنة ازداد متوسط الفعالية من 10.06 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 21.96 وحدة .ملغم$^{-1}$ ومن 35.05 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 61.93 وحدة .ملغم$^{-1}$و بنسبة زيادة مقدارها 118.29% و 71.78% و لكلا العروتين على التتابع. و ربما يعزى سبب الزيادة في الفعالية الى ان انزيم الكاتليز المضاد للاكسدة يعد احد الاليات الكفؤة في التخلص من التأثير السام لجذر السوبر اوكساید و بيروكسيد الهيدروجين ،وان الموازنة بيم انزيم SOD

وباقي الانزيمات التي تعمل على ازالة H_2O_2 تحدد الحالة المستقرة لمستوى O_2^-،H_2O_2 في الخلايا النباتية(Aseada و Takahashi ، 1987 Bowler; و اخرون ، 1992).

ويعد انزيم الكاتليز من الانزيمات الرئيسية التي تعمل على ازالة H_2O_2 اذ يعمل على تحويل H_2O_2 الى H_2O و O_2 (Heو اخرون ، 2009) كما ان انزيم الكاتليز يقوم بايقاف H_2O_2 المتولدة في المايتوكندريا عن طريق نقل الالكترونات و اكسدة الاحماض الدهنية Boxidation (Scandalios و اخرون ، 1997). و اتضح من نتائج الجدولان7و6 حصول تداخل معنوي بين تأثير الكلوتاثيون و تأثير بيروكسيد الهيدروجين ،اما اعلى قيمة للتداخل فقد كانت 29.33 و 86.66 وحدة .ملغم$^{-1}$ عند التركيز 100ملغم.لتر$^{-1}$ كلوتاثيون و 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ بيروكسيد الهيدروجين.

جدول 6. تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم Catalaseوحدة . ملغم$^{-1}$ (العروة الربيعية).

تركيز H_2O_2المنقوعة فيها البذور (ملي مول. لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	8.66	9.00	12.66	8.00	12.00	10.06
5	11.33	26.00	12.00	16.66	15.00	16.00
10	18.00	14.00	16.00	18.33	8.60	14.39
15	8.00	22.53	23.30	26.66	29.33	21.96
المتوسط	11.50	17.88	15.99	17.41	15.98	
LSD0.05	1.404 = Glutathione 1.256 = H_2O_2 2.809 = H_2O_2 × Glutathione					

جدول 7.تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين والتداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم Catalaseوحدة . ملغم-1 (العروة الخريفية).

تركيز H_2O_2المنقوعة فيها البذور (ملي مول. لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراق بالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	11.60	40.00	26.66	68.66	33.33	36.05
5	66.66	40.00	66.66	66.66	46.66	57.33
10	23.33	53.33	38.66	50.00	40.00	41.06
15	30.00	73.66	46.66	73.33	86.66	61.93
المتوسط	32.90	51.58	44.66	64.66	51.66	
LSD0.05	N.S = Glutathione 0.728= H_2O_2 1.629 = H_2O_2 × Glutathione					

فعالية انزيم Glutathione peroxidase:

اشارت النتائج الموضحة في الجدولان8 و 9 حصول تأثير معنوي لمتوسط الفعالية الكلية لانزيم Glutathioneperoxidase زيادة تركيز الكلوتاثيون الى 100ملغم.لتر$^{-1}$وقياساً الى معاملة المقارنة ازداد متوسط الفعالية الكلية Glutathioneperoxidase من 68.43 وحدة .ملغم$^{-1}$الى 89.58 وحدة

.ملغم$^{-1}$ و من 64.08 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 104.85وحدة .ملغم$^{-1}$ مقدارها 30.90% و 63.62% و للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع، و ربما يعزى السبب الى ان الكلوتاثيون هو مضاد اكسدة يعمل على حماية الخلية من التلف الناجم عن الجذور الحرة ، وكذلك يساعد في بقاء الخلية بشكلها النشط و ان اضافة الكلوتاثيون بشكل خارجي يسبب زيادة في نشاط الانزيمات و الهرمونات المهمة.(Gilbert و اخرون ، 1990). كما اوضح الجدولان 8 و 9 حصول تأثير معنوي لمتوسط الفعالية الكلية لانزيم Glutathione peroxidase بزيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين ،فعند زيادة تركيز الى 15 ملي مول.لتر$^{-1}$ قياساً الى معاملة المقارنة ازداد متوسط الفعالية الكلية لانزيم Glutathione peroxidase من 72.93 وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 82.31وحدة .ملغم$^{-1}$ و من 58.89وحدة .ملغم$^{-1}$ الى 95.05 وحدة .ملغم$^{-1}$ و بنسبة زيادة مقدارها 12.86% و 61.40% و للعروتين الربيعية و الخريفية على التتابع ، و ربما يعزى السبب الى ان بيروكسيد الهيدرجين له دور بارسال اشارات جزيئية كيميائية لتصحيح تطور ونمو النبات كما انه يعمل على ضبط انظمة مضادات الاكسدة عن طريق تغيير تراكيز انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS). (Foyer وNoctor ، 2000). كما بين الجدول 8 حصول تداخل معنوي بين تأثير الكلوتاثيون و تأثير بيروكسيد الهيدروجين وأن اعلى قيمة للفعالية الكلية للانزيم بلغت 115.76 وحدة .ملغم$^{-1}$ بالنسبة للعروة الربيعية، في حين بين الجدول 9 عدم وجود تداخل معنوي بين عاملي التجربة للعروة الخريفية.

جدول 8. تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون ونقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين والتداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيم Glutathione peroxidase وحدة . ملغم$^{-1}$(العروة الربيعية).

تركيز H_2O_2 المنقوعة فيها البذور (ملي مول .لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراقبالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	42.22	59.49	97.77	77.17	88.00	72.93
5	55.92	101.29	75.56	76.27	65.90	74.99
10	71.09	77.52	66.27	74.66	88.66	75.64
15	104.50	72.30	54.66	64.31	115.76	82.31
المتوسط	68.43	77.65	73.57	73.57	89.58	
LSD0.05	0.795 = Glutathione 0.711 = H_2O_2 1.591 = H_2O_2 × Glutathione					

جدول 9.تأثير الرش الورقي بالكلوتاثيون و نقع البذور في بيروكسيد الهيدروجين و التداخل بينهما في الفعالية الكلية لانزيمGlutathione peroxidaseوحدة . ملغم-1(العروة الخريفية).

تركيز H_2O_2 المنقوعة فيها البذور (ملي مول .لتر$^{-1}$)	تركيز رش الاوراقبالكلوتاثيون (ملغم. لتر$^{-1}$)					المتوسط
	0	25	50	75	100	
0	39.00	45.00	81.99	51.45	77.00	58.89
5	76.00	67.52	73.90	72.00	112.50	80.38
10	69.00	71.44	70.00	50.00	51.44	62.38
15	72.30	76.62	57.88	90.00	178.45	95.05
المتوسط	64.08	65.15	70.94	65.86	104.85	
LSD0.05	0.771 = Glutathione 0.690 = H_2O_2 N.S = H_2O_2 × Glutathione					

المصادر

الكاتب ،يوسف منصور. 1988. تصنيف النباتات البذرية .جامعة بغداد ،وزارة التعليم العالي و البحث العلمي .

الغزي ،اسعد كاظم عبد الله مشاور .2013.دور البوتاسيوم في تحمل نباتات الذرة الصفراء(*Zea may* L.) لاجهادي الجفاف و بيروكسيد الهيدروجين .اطروحة دكتواره . كلية الزراعة ،جامعة بغداد.

علي ، حميد جلود ، طالب احمد عيسى و حامد محمود جدعان .1990. محاصيل البقول .مطابع التعليم العالي ،جامعة الموصل.

سعد ،تركي مفتن، سعد فليح حسن و بهاء الراوي .2000 . استجابة الحاصل و مكوناته و صفات اخرى لمتوسطات بذار نبات الماش .مجلة العلوم الزراعية العراقية 3(32): 107- 112.

Abass ، S. M .and H.I. Mohamed . 2011. Alleviation of Adverse effects of Drought stress on Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Exogenous application of hydrogen peroxide.*Bangladesh J. Bot*، 41(1) :75-83.

Aebi،H.E. 1974.Catalase In :Methods of Enzymatic Analysis .(2): 673-684

Akladious ،S.A. and S. M. Abbas . 2013. Alleviation of seawater stress on Tomato by foliar application of Aspartic Acid and glutathione .Journal of Stress Physiology &Biochemistry .;9(3):282-298.

Alvarez ، M. E. ، R. I. Pennell ، Meier P-J،A. Ishikawa ،R . A. Dixon ، and C. Lamb .1998 . Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity . Cell 92 : 773 – 784.

Anwar، H. and F.M. Rashad . 2010 .A supply response of Potato in Bang Ladesh;Avector correction approach . Journal of Applied Sciences 10 (11): 895.

Aseada ، K. and M .Takahashi .1987 . Production and Scavenging active Oxygen in Photosynthesis .In:Kyle DJ،Osmond CB. Amtzenc J ، eds ،photoinhibition .Amsterdum :Elsevier . pp.227- 287.

Beyer، F.W. and I. Fridowich .1987 .Assaying for superoxide dismutase activity.Some Large Consequences of minor changes in conditions.Anal.Biochem.،161:559-566.

Bowler ، C. ،M . Vanmantagu and D. Inze . 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. plant physiol. Plant Mol. Biol ، 43،83-116.

Dat ، J. V. ، S. Enabeele ، E. Vranova ، M. Van Montagu ، D. Inze and F. Vanbreusegem .2000 . Dual action of the active oxyen species during plant stress responses .cell. Mol.Life Sci .57:779-795.

Flohe، L.and W. A. Gunzler .1984 . Assay of glutathione peroxidase. Methods Enzymol 105: 115-121.

Foyer ، C. H. and G. Noctor . 2000 .Transley review No.112. Oxygen processing in photosynthesis:Regulation and signaling .New Phytol.146.539-389.

Gilbert ، H. F. ، V. Mclean and M. Mclean . 1990 .Molecular and cellular aspects of thioldisulphate exchange . Adv. Enzym. 63:169 – 172.

Gondim ، F.A. ، E. G. Filho ، C. F. Lacerda ، J. T. Prisco ، A. D.A. Neto and E. S. Marques، .2010. Pretreatment with H_2O_2 in maize seeds :effects on germination and seedling acclimation to salt stress .Braz. J. Plant Physiol.،22(2):103-112112.

He، L. ، Z. Cao and R. Li. 2009. Pertreatment of seed with H_2O_2 enhances drought to Lerance of Wheat (*Triticum aestivum* L.)seedlings . Afr. J. Biotechnology Vol . 8(22)، pp. 6151 – 6157.

Hung ، K. T. and C. H. Kao .2007 . Hydrogen peroxide ، Calcium and leaf Senescence in Rice.Crop، Environment & Bioinformatics.4:145-150.

Hung، S. ،C. Yu،and C. H. Lin .2005 . Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants . Botanical Bulletin of Acdamia sinika ، 46: 1 – 10.

Karpinski ، S. ، H. Reynolds ، B. Karpinska ، G. Wingsle ، G. Creis – sen and P. Mullineaux . 1999. Systemic signaling and acclimation in response to excess excitation energy in *Arabidopsis* . Science 284 : 654 – 657.

Kawano،T. 2003.Roles of the Reative oxygen species generating peroxidase reactions in plant defense and growth induction . Plant Cell Rep. 21 ، 829 – 937.

Koscy ، G. ، M. Brunner ، A. Ruegsegger ، P. Stamp and C. Brunold .1996 . Glutathione syuthesis in maize genotypes with different sensitivities to chilling .Planta 198 ، 365 – 370.

Mitter ، R. ،S. Vanderauwera ، M. Gollery and F. Vanbareusegem . 2004 . Reactive oxygen gene network of plant .Trends Pl.Tsci.9110:490- 498.

Mamdouh , M. A. 1995. Glutathione regulation of glutathione S- transferase and peroxidase activity in herbicide – treated *Zea mays.* Plant Physiol. Biochem ., 33:185 – 192.

Nezih، M. 1985 .The peroxidase enzyme activity of some vegetables and its resistance to heat. Food Agric. 36:877-880.

Scandalios ، J. G. ،L. M. Guan and A. Polidoros . 1997 . Oxidative stress and the Moleclar biology of antioxidant defenses .cold *Spring Harbar Lab.* Press planvies NY .343-406.

Shukla ، R.S. and P.S. Chandel .2006 . A text book of plant ecology S.chand and Company Ltd .Ramagar ، NewDehi.

Tausz .M. and G. Grill .2000 .The role of Glutathione in stress Adaptation of plants. Phyton (Horn ، Austria) 40(3):111-118.

EFFECT OF FOLIAR APPLICATION AND SOAKING OF SEED WITH H_2O_2 ON SAME ENZYMATIC ANTIOXIDANT *Vigna radiata* L.

Wafik Amjad AL-Kaisy **Eman Hussien AL-Hayani**

*Dept. of biology - College of Education Ibn-Haitham - University of Baghdad-

emanemaneman_h114@yahoo.com

ABSTRACT

Two field experimentswere conducted during spring and autumn seasons of *Vigna radiata* L.in the year 2014 at botanical garden of Department of Biology ،College of Education for Pure Sciences Ibn-Al-Haithem ، University of Baghdad .The experiments aimed to study the effect of different concentrations of glutathione (25 ، 50 ،75،100 $mg.L^{-1}$) added to control treatment and soaking of seed with H_2O_2 5،10،15 $mM.L^{-1}$ on some enzymatic antioxidant of *Vigna radiata* L. . The results showed an increase in total activity of Superoxide dismutase (SOD) with 100 $mg.L^{-1}$ of glutathione by 69.32% ، 40.93% for the two seasons and increased with 15 $mM.L^{-1}$ H_2O_2 by 100% ، 28.53% . The interaction between the two treatments was significant .The activity of Peroxidase (POD) was increased with 100$mg.L^{-1}$ glutathione by 29.45% ، 88.15% and with 15 $mM.L^{-1}$ of H_2O_2 175.57% ، 40.58%،also the interaction between the two treatment was significant .The total activity of Catalase (CAT) increased with 100 $mg.L^{-1}$ of glutathione by 55.47% for first season only and increased with 15$mM.L^{-1}$ of H_2O_2 by 118.29% ، 71.78% .The interaction was significant between the two factors of experiment .The result showed that the total activity of glutathione peroxidase(GPX)increased with 100 $mg.L^{-1}$ of glutathione by 30.905 ، 63.62% also increased with 15$mM.L^{-1}$ of H_2O_2 by 12.86% ، 61.40% for two seasons ، the interaction between the two treatment was significant for the first growth season. All results compared with control plants. The result showed the concentration of 100 $mg.L^{-1}$ glutathione and concentration of 15 $mM.L^{-1}$ hydrogen peroxide caused an increased for most study parameters.

Key words :*Vigna radiata* L. ، Glutathione ، Hydrogen Peroxide.