تأثير سمية الصوديوم في سلامة الاغشية الخلوية وبعض المعايير الفسلجية في عقل الخيار *Cucumis sativus* L.

ايفان ابراهيم مرهج عبد الله ابراهيم شهيد
قسم علوم الحياة-كلية العلوم-جامعة بابل

الملخص

درس تأثير سمية الصوديوم (بهيئة ملح كلوريد الصوديوم NaCl) في مؤشرات سلامة الاغشية الخلوية (MDA وLOX والبروتين وإنزيم البروتيز ومحتوى البوتاسيوم والصوديوم) وكذلك في بعض المؤشرات الفسلجية (إستجابة التجذير وEC وكلوروفيلات a وb والكلي والمساحة الورقية ومعدل النتح والوزنين الطري والجاف). عوملت العقل بتراكيز مختلفة من NaCl (0, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250) ملي مكافئ/لتر لمدة 24 ساعة. وكان التركيز (75 ملي مكافئ/لتر) هو التركيز السام بدلالة إستجابة التجذير. سبب الصوديوم السام ضرراً في سلامة الاغشية وأضطراب النفاذية بدلالة الزيادة في محتوى Malondialdehyde (MDA) وفعالية إنزيمي Lipoxygenase (LOX) والبروتيز وإنخفاضاً في محتوى البروتين وكذلك زيادة في محتوى الصوديوم وإنخفاضاً في محتوى البوتاسيوم. بالاضافة الى ذلك إنخفاضاً معنوياً في محتوى الكلوروفيل a وb والكلي والمساحة الورقية ومعدل النتح والوزنين الطري والجاف.

Effect of Sodium Toxicity on The cellular membranes Integrity and Some Physiological Parameters in *Cucumis sativus* L. Cuttings

Evan Ibrahim Merhij Abdullah I. Shaheed
Biology Department-College of Science-Babylon university

Abstract

The effect of sodium toxicity (NaCl) on cellular membranes integrity (MDA, LOX, protein, protease, potassium & sodium contents) as well as some physiological parameters (rooting response, EC, chlorophylls a, b and total, leaf area, transpiration rate and fresh and dry weight) was studied. Cuttings were treated with different concentration of NaCl (0, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 & 250) meq/L for 24 hours. 75 meq/L was the toxic level of sodium in terms of rooting response. This level causeddamage of cellular membranes and permeability perturbation through increasing of MDA content, LOX and protease activities. Whereas, decrease in protein content as well as increase of Na^+ and decline of K^+ concentration. In addition, significant decrease of a, b and total chlorophyll, leaf area, transpiration rate, fresh and dry weight were .

Keywords: EC, LOX, MDA, permeability, potassium, protease, protein, sodium, toxicity

المقدمة

تسبب الملوحة نوعين من الاجهادات للنبات اولاً: إجهاد نقص الماءWater-deficient stress أو مرحلة الاجهاد الاوزموزي السريع (Rapid Osmotic Phase) وتكون ناتجة من زيادة تراكيز الذائبات في التربة وثانياً: الإجهاد الإيوني البطيء Slow Ionic Stress وتنتج من تغيير نسبة $Na^+\backslash K^+$ وكذلك أيونات الصوديوم والكلور التي تكون مضرة للنبات (Hamdia & Shaddad, 2010). وبالرغم من التأثير السلبي لنقص الماء الذي يسببه الاجهاد الملحي الا ان النباتات تتحسس اكثر لزيادة الصوديوم بسبب تأثيره السلبي على توفر البوتاسيوم وفعالية الانزيمات الخلوية والبناء الضوئي والايض الخلوي (Abdi *et al*., 2011). وأوضحت Hamdia (1994) ان الاجهاد الملحي يؤثر في النمو ومحتوى الكلوروفيل والسكريات ومحتوى النتروجين وبعض المغذيات الاخرى (كالبوتاسيوم والفسفور والمغنسيوم والكالسيوم) في نبات الخيار. كما أشار Wang وجماعته (2013) ان نمو الجذور في النباتات المعرضة للاجهاد الملحي يكون مقيداً بفعل التأثيرات الاوزموزية والسمية للايونات التي تسبب قلة إخذ المغذيات خصوصاً البوتاسيوم. كما تختزل الملوحة قابلية النباتات لأخذ الماء (Blumwald *et al*., 2000).

الصوديوم عنصر غير ضروري لمعظم النباتات ويعد من العناصر المفيدة Beneficial elements (إي انه عنصر وظيفي Functional nutrient) بإستثناء دوره المهم لمعظم النباتات المتحملة للملوحة Halophyta وبعض أنواع نباتات C4 (من خلال نقله للبايروفيت Pyruvate عبر غشاء

الكلوروبلاست). كما يسبب تراكم ملح كلوريد الصوديوم بيئة غير مفضلة ويختزل التنوع الحياتي ويقلل نمو وانتاج النباتات وقد يؤدي الى السمية في النباتات غير المتحملة للملوحة Glycophyta (Turan *et al*., 2009). ومن التأثيرات السلبية الاخرى لزيادة الصوديوم هو قلة توفر مغذيات أخرى (من خلال تثبيط أخذها من قبل النبات).

تكون الاوراق أكثر عرضة للصوديوم من الجذور وذلك بسبب تراكم الصوديوم بتراكيز عالية في المجموع الخضري. وقد أقترح ان نقل الصوديوم يكون بإتجاه واحد Unidirectional عن طريق مجرى النتح في الخشب ولهذا نلاحظ تراكمه في الاوراق مع تقدم العمر (Kronzucker & Britto, 2011).

يسبب الاجهاد التأكسدي حدوث عملية Lipid Peroxidation في النباتات إذ تتأكسد الدهون الموجودة في الاغشية البايولوجية منتجة Malondialdehyde (وهو الناتج النهائي لهذه العملية) (Hernandez *et al*., 2000). وتكون هذه العملية مسؤولة عن تلف الغشاء والمتضمن تغيرات في خصائص الغشاء مثل السيولة، نقل الايونات ، هذه التغيرات في النهاية تؤدي الى موت الخلية (Sharma *et al*., 2012). وقد أشار Wang وجماعته (2013) الى حصول زيادة في محتوى MDA في جذور نبات *Kandelia candel* مع زيادة تراكيز NaCl.

المواد وطرائق العمل

زراعة البذور وتهيئة العقل

أستعلمت بذور الخيار(*Cucumis sativus* L.) من صنف Alpha Beth 1 حيث نُقعت بماء الحنفية الجاري لمدة 12 ساعة وزرعت في خطوط متوازية على نشارة الخشب المعقم Sterile sawdust كوسط للزراعة باستخدام أحواض بلاستكية. وأضيف محلول هوكلاند بربع القوة ووضعت في غرفة النمو Plant Growth Chamber من نوع Binder KBW 700 والتي تمتاز بظروف قياسية من أضاءة مستمرة وبشدة 1600-1800 لوكس ودرجة حرارة 25 ±1 °م ورطوبة نسبية 60-70%. ويضاف محلول Hoagland بحسب الحاجة لغاية عمر عشرة أيام بعدها انتخبت البادرات المتماثلة لتهيئة العُقل وإجراء التجارب. هيئت العُقل من بادرات متماثلة بعمر عشرة ايام 10-day-old seedlings التي تمتاز باحتوائها على بُرعم طرفي صغير Terminal Bud، وزوج من الأوراق الأولية كاملة الاتساع Pair of Fully Expanded Primary Leaves والساق (الهيبوكوتيل) بطول 3 سم أسفل الاوراق الاولية، بعد إزالة المجموع الجذري. ثم عوملت العقل بتراكيز مختلفة من NaCl (0, 15, 20, 25, 50 ملي مكافئ/لتر لمدة 24 ساعة. بعدها نقلت الى وسط التجذير الحاوي على Boric acid (5 مايكروغرام /مل) لمدة ستة أيام وهي تحت نفس الظروف التي استخدمت لتنمية البادرات أي في غرفة النمو بعدها تم حساب معدل عدد الجذور في كل عُقلة.

تم قياس الضرر المتسبب عن الصوديوم السام للاغشية السايتوبلازمية بشكل غير مباشر وبدلالة التوصيلية الكهربائية Electrical conductivity (EC) في العقل والبادرات حسب طريقة (Lutts *et al*., 1996) ، فضلاً عن الضرر اللاحق بمكونات الاغشية من الدهون المفسفرة والبروتينات بدلالة محتوى Malondialdehyde (MDA) حسب طريقة Heath & Packer, 1968) والبروتينات والتي قيست حسب طريقة (Bishop *et al*., 1985)، فضلاً عن الانزيمات المحللة لها كـ Lipoxygenase (LOX) حسب طريقة Axelrod *et al*., 1981) وكذلك Protease حسب طريقة (Kunitz, 1947).

أما فيما يتعلق بالمؤشرات الفسلجية فقد تم قياس الوزن الطري وذلك بأخذ عُقل مباشرة من كل معاملة والتي تشمل السيطرة (الماء المقطر)، وبالتركيز السام من الصوديوم لمدة 24 ساعة. بعدها جُففت العُقل في فرن كهربائي على درجة حرارة 70 مْ لحين ثبات الوزن بعد ذلك سجل الوزن الجاف للعُقل. كما قِيس محتوى أوراق العُقل من الكلوروفيل باستخدام طريقة (Lichtenthaler, 1987). أما بخصوص المساحة الورقية فقد قيست بالطريقة البيانية اذ اخذت عقل من بادرات الخيار بعمر 5 أيام وعُوملت لمدة 24 ساعة بالماء المقطر وبالتركيز السام من الصوديوم ثم نُقلت العقل الى حامض البوريك (5مايكروغرام/مل) لمدة ثلاثة أيام بعدها تم حساب مساحة الأوراق الأولية طبقاً لـ (Marshall, 1986). كما قيس معدل النتح بالطريقة الوزنية Weight method أي وزن الماء المفقود بالمايكروليتر لكل عُقلة بالساعة من خلال:

Transpiration rate (µl/ h /cutting) =(Weight loss × 1000) / 24hour / No.cuttings

وأخيراً تم قياس تركيز الصوديوم والبوتاسيوم إعتماداً على طريقة (Rashid, 1986).

النتائج

تحديد التركيز السام لكلوريد الصوديوم عند تجهيزه للعقل

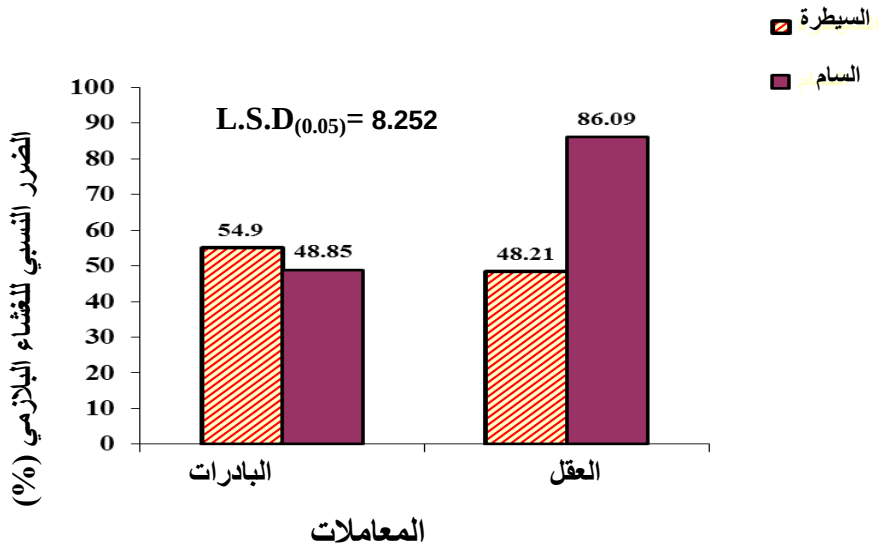
يشير الجدول (1) الى تأثير تراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم في إستجابة تجذير عقل الخيار. حيث كانت جميع التراكيز مثبطة وأن نسبة التثبيط تزداد مع زيادة التركيز ولغاية 125 ملي مكافئ/لتر، حيث كشفت العقل عند التركيز الاخير (6) جذور. أما التراكيز العالية من (150-250) ملي مكافئ/لتر فكانت قاتلة Lethal. وعلى هذا الاساس تم أختيار التركيز 75 ملي مكافئ/لتر هو التركيز السام .Toxic con والذي أدى الى اختزال معدل التجذير الى النصف تقريباً (15.3) جذر وبنسبة أنخفاض 47.36% أي بعبارة أخرى اختزال معدل النمو بدلالة عدد الجذور الى النصف 50% تقريباً وأعتمد في التجارب اللاحقة.

الجدول (1): تحديد التركيز السام لملح كلوريد الصوديوم المجهز لعقل الخيار المأخوذة من بادرات نامية في محلول هوكلاند (ربع قوة) بدلالة استجابة التجذير.

المعاملة بملح كلوريد الصوديوم (ملي مكافئ/لتر) لمدة 24 ساعة	معدل عدد الجذور (جذر/عقلة)
الماء المقطر	32.3
15	27.6
20	25.6
25	23.0
50	17.0
75	**15.3**
100	5.0
125	6.0
150	0
175	0
200	0
225	0
250	0
LSD (0.05)	**3.441**

تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم الضار في الاغشية السايتوبلازمية

يشير الشكل (1) الى تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في النسبة المئوية لضرر الغشاء البلازمي (بدلالة EC) لبادرات وعقل الخيار، إذ لوحظ عدم وجود فرقاً معنوياً بنسبة الضرر للبادرات المعاملة بالتركيز السام إذ بلغت (48.85%) مقارنة بالسيطرة (54.9%) في البادرات. أما بالنسبة للعقل فقد ازدادت النسبة المئوية للضرر معنوياً عند معاملتها بالتركيز السام وبلغت (86.09 %) مقارنة بالسيطرة (48.21%).



الشكل (1): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في النسبة المئوية لضرر الغشاء البلازمي لبادرات وعقل الخيار.

تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في محتوى الكلوروفيل

يبين الجدول (2) تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في محتوى الكلوروفيل a و b والكلوروفيل الكلي لعقل الخيار المأخوذة من بادرات نامية في محلول هوكلاند (ربع قوة) لمدة عشرة إيام ثم معاملتها بالتركيز السام (75 ملي مكافئ/لتر) لمدة 24 ساعة. إذ سببت المعاملة المذكورة إنخفاضاً معنوياً في محتوى الكلوروفيل وسجل (19.36

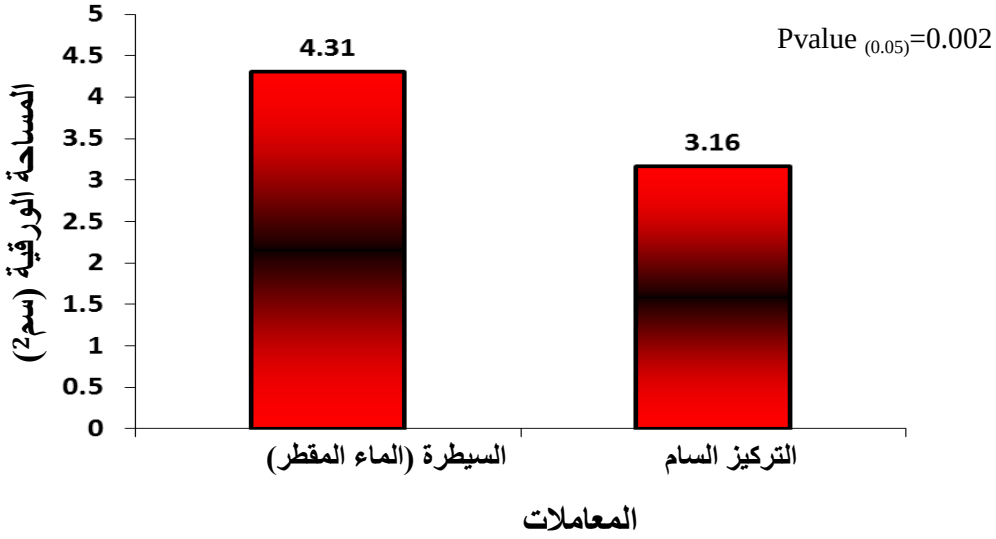
و10.93 و34.10) مـايكروغرام لكـل مـن كلوروفيـل a و b والكلوروفيل الكلـي علـى التـوالي مقارنـة بالسيطرة (25.38 و21.30 و43.77) مـايكروغرام/غم نسـيج طـري إي بنسـبة إنخفاض 23.40 و21.17 و21.18% على التوالي.

الجدول (2): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في محتوى الكلوروفيل a و b والكلوروفيل الكلي (مايكروغرام\غم نسيج طري).

المحتوى (مايكروغرام/غم) / المعاملات	الكلوروفيل a	الكلوروفيل b	الكلوروفيل الكلي
السيطرة (ماء مقطر)	25.38	21.30	43.77
التركيز السام (75 ملي مكافئ/لتر)	19.36	10.93	34.10
P<(0.05)	**0.001**	**0.002**	**0.008**

تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في المساحة السطحية للاوراق الاولية للعقل

يشير الشكل (2) الى تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في المساحة السطحية للاوراق الابتدائية لعقل الخيار وبعمر 5 أيام، إذ لوحظ إختزالاً معنوياً في المساحة السطحية لاوراق العقل المعاملة بالتركيز السام وبلغ (3.16 سم^2) مقارنة بالسيطرة (4.31 سم^2) وبنسبة إختزال (26.68%).



الشكل (2): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في المساحة الورقية (سم^2) للاوراق الابتدائية لعقل الخيار.

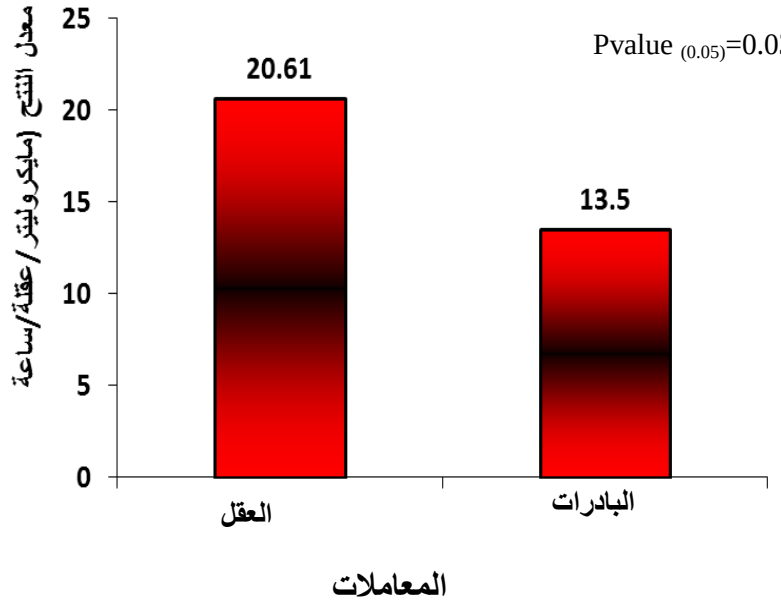
تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في معدل النتح للعقل

يشير الشكل (3) الى تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في معدل النتح لعقل الخيار المأخوذة من بادرات نامية في محلول هوكلاند (ربع قوة) لمدة عشرة إيام ثم معاملتها بالتركيز السام لكلوريد الصوديوم (75 ملي مكافئ) لمدة 24 ساعة. إذ لوحظ إنخفاضاً معنوياً في معدل النتح للعقل المعاملة بالتركيز السام وبلغ (13.5 مايكروليتر/عقلة/ساعة) مقارنة بالسيطرة (20.61 مايكروليتر/عقلة/ساعة) وبنسبة إنخفاض (34.49%).

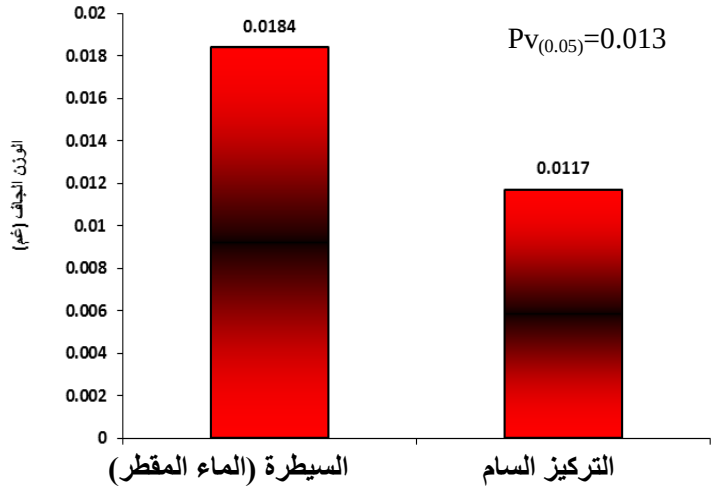
تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في الوزنين الطري والجاف

يشير الشكل (4) الى تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في الوزن الطري لعقل الخيار بعد معاملتها بالتركيز السام لكلوريد الصوديوم (75 ملي مكافئ) لمدة 24 ساعة. إذ لوحظ إنخفاض الوزن الطري معنوياً للعقل المعاملة بالتركيز السام وبلغ (0.163 غم) مقارنة بالسيطرة (0.259 غم) وبنسبة إنخفاض (37.06 %).

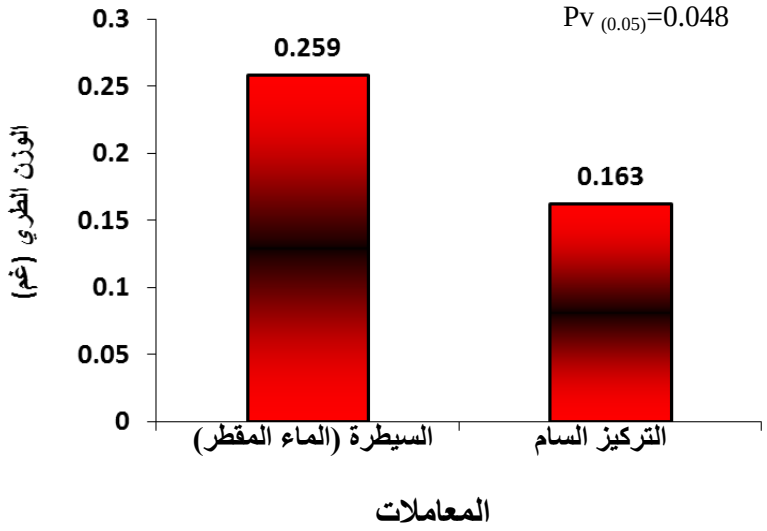
يشير الشكل (5) الى تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في الوزن الجاف لعقل الخيار حيث لوحظ إنخفاض الوزن الجاف معنوياً للعقل المعاملة بالتركيز السام وبلغ (0.0117 غم) مقارنة بالسيطرة (0.0184 غم) وبنسبة إنخفاض (36.41%).



الشكل (3): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في معدل النتح مايكروليتر/عقلة/ساعة لعقل الخيار.



الشكل (5): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في الوزن الجاف (غم) لعقل الخيار.



الشكل (4): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في الوزن الطري (غم) لعقل الخيار.

تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في مؤشرات سلامة الاغشية الخلوية (MDA وLOX والبروتين وأنزيم البروتيز) في عقل الخيار

يشير الجدول (3) الى زيادة معنوية في محتوى MDA عند معاملة العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم (8×10^{-3}) ملي مول/غم. وزن طري مقارنة بالسيطرة (2×10^{-3}) ملي مول/غم. وزن طري إي إزدادت بنسبة 400%. كما إزدادت فعالية أنزيم LOX الى (3.93) وحدة عند معاملة العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم مقارنة بالسيطرة (2.78) وحدة إي أزدادت بنسبة 41.4%. كما بين الجدول نفسه انخفاض محتوى البروتين عند معاملة العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز

السام من كلوريد الصوديوم الى (1.93) ملغم/غم نسيج طري مقارنة بالسيطرة (3.08) ملغم/غم نسيج طري إي بنسبة انخفاض 37.3%. بينما إزدادت فعالية إنزيم البروتيز معنوياً وبنسبة زيادة 200% ليكون (323.33) وحدة وهذا ما أشارت اليه نتائج الجدول (4) عند تجهيز العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم عن مقارنة السيطرة (107.78) وحدة.

الجدول (3): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في مؤشرات سلامة الاغشية الخلوية.

المعايير المدروسة / المعاملات	محتوى MDA (mmole/g.F.W)	فعالية LOX (U)	محتوى البروتين (mg/g.F.W)	فعالية إنزيم البروتيز (U)
السيطرة (الماء المقطر)	2×10^{-3}	2.78	3.08	107.78
NaCl (75 ملي مكافئ/لتر)	8×10^{-3}	3.93	1.93	323.33
قيمة Pvalue(0.05)	**0.0007**	**0.0006**	**0.001**	**0.004**

تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في محتوى الصوديوم والبوتاسيوم في عقل الخيار

يتضح من ملاحظة نتائج الجدول (4) أن تركيز الصوديوم في الساق والاوراق الاولية لعقل السيطرة (1.58 و5.30) جزء بالمليون وقد إزداد معنوياً الى (7.80 و11.85) جزء بالمليون عند معاملة العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم إي بنسبة زيادة (393.7 و123.6)% لكل جزء على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة، بينما كانت الزيادة في العقلة الكاملة بنسبة 185.5% ليكون محتوى الصوديوم (19.65) جزء بالمليون مقارنة بالسيطرة (6.88) جزء بالمليون.

وكان تركيز البوتاسيوم في الساق والاوراق الاولية لعقل السيطرة (15.30 و16.20) جزء بالمليون وقد إنخفض معنوياً الى (2.79 و10.50) جزء بالمليون عند معاملة العقل لمدة 24 ساعة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم إي بنسبة إنخفاض (81.8 و35.2)% لكل جزء على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة، بينما كان الانخفاض في العقلة الكاملة بنسبة 57.8% ليكون محتوى البوتاسيوم (13.29) جزء بالمليون مقارنة بالسيطرة (31.50) جزء بالمليون. أما بدلالة نسبة $Na^+\backslash K^+$ فقد أنخفضت من 4.57 في السيطرة الى 0.67 في العقلة كاملة والمجهزة بالتركيز السام من NaCl.

الجدول (3): تأثير التركيز السام لكلوريد الصوديوم في محتوى الصوديوم والبوتاسيوم.

المعايير المدروسة / المعاملات	محتوى Na (ppm)			محتوى K (ppm)			نسبة $Na^+\backslash K^+$
	الساق	الاوراق الاولية والبرعم الطرفي	العقلة الكاملة	الساق	الاوراق الاولية والبرعم الطرفي	العقلة الكاملة	
السيطرة (الماء المقطر)	1.58	5.30	6.88	15.30	16.20	31.50	**4.57**
NaCl (75 ملي مكافئ/لتر)	7.80	11.85	19.65	2.79	10.50	13.29	**0.67**
قيمة t(0.05)	**0.0001**	**0.009**	**0.0002**	**0.0003**	**0.0004**	**0.0006**	

المناقشة

تم دراسة تأثير سمية الصوديوم بهيئة ملح كلوريد الصوديوم NaCl في الضرر المتسبب للاغشية السايتوبلازمية وبعض المعايير الفسلجية لنبات الخيار، إذ يعد الاخير من النباتات الحساسة للملوحة فينمو في الترب التي تتراوح قيمها التوصيلية EC من (2-3) ديسيسنميز\سم، فقد أشار Trajkova وPapadantonakis (2006) الى كون نبات الخيار حساس بشكل محدد للـ NaCl. تحتوي الترب المالحة على العديد من الاملاح ولكن كلوريد الصوديوم هو السائد (Rengasamy, 2006). إذ تختلف النباتات الحساسة عن المتحملة للملوحة بعدم قدرتها على منع تراكم الايونات الى دون مستويات السمية في الاوراق (Munns *et al.*, 2006). تم تحديد التركيز السام للصوديوم في عقل الخيار اعتماداً على أنخفاض مؤشرات النمو بدلالة عدد الجذور العرضية المتكشفة في العقل الى النصف (50%)، إذ أختزل عدد الجذور بنسبة 47.36% في التركيز (75ملي

مكافئ/لتر) مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-1) وهذا يتفق مع (Hasegawa *et al*., 2000) إذ بين أن الصوديوم يكون سام وضار جداً في معظم الخلايا النباتية عندما يكون موجوداً بتراكيز أكثر من (1-10) ملي مولار. وهذا ما أشار اليه (Turan *et al*., 2009) أيضاً من ان تراكم كلوريد الصوديوم في الاراضي الزراعية يؤدي الى السمية في النباتات الحساسة Glycophytes منها الخيار. وكذلك ماتت أكثر من 50% من عقل *Casuarina equisetifolia* بتعريضها لتراكيز عالية من NaCl والذي يعزى الى عدم قدرة العقل للتجذير في البيئة المجهدة فضلاً عن أمتصاص كميات سامة من Na^+ وCl^- (Kuligod *et al*., 1995).

ومن الدلائل المورفولوجية التي تؤكد إنخفاض مؤشرات النمو الى النصف (50%) هي محتوى الكلوروفيل، حيث تم قياس محتوى الكلوروفيل a وb والكلي وذلك لان الكلوروفيل هو مؤشر مهم لضرر عملية البناء الضوئي المستحث بسبب الاجهادات البيئية (Maxwell & Johnson, 2000)، حيث إنخفض محتواه بنسب 21.18 و23.4 و21.17% على التوالي في العقل المعاملة بالتركيز السام مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-2)، وهذا يتفق مع ما توصل اليه Jaleel وجماعته (2008) عند معاملة نبات *Catharanthus roseus* بكلوريد الصوديوم بتركيز 100 ملي مولار مما تسبب في خفض محتوى كلوروفيل a وb والكلي. وكما يتفق مع نتائج (اليساري، 2016) من أن سمية البورون سببت أنخفاض في مؤشرات النمو المتمثلة بمحتو الكلوروفيل والمساحة الورقية والوزن الطري والجاف. ان الانخفاض في محتوى الكلوروفيل من المحتمل أن يعزى الى التأثير التثبيطي للايونات المتراكمة خلال التخليق الحيوي للكلوروفيل، كما تؤثر هذه الايونات على قوة ربط الصبغة بالبروتين في تركيب الكلوروبلاست (Ali *et al*., 2004).

ومن التأثيرات السلبية الاخرى للصوديوم هو أختزال المساحة الورقية بنسبة 26.68% عند معاملة العقل بالصوديوم السام مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الشكل-2). ان تراكم الصوديوم في الاوراق يؤدي الى أختزال المساحة الورقية (Munns, 2002). إذ تتضرر الاوراق leaf injury بسبب زيادة تركيز الملح بما يتجاوز قابلية الخلية على أحتجازه في الفجوات مسبباً تجمعه في السايتوبلازم (Munns, 2005). كما أن لأيونات الصوديوم تأثير سلبي مباشر في أتساع الخلية (Hu *et al*., 2005). وما يؤكد الحالة الاخيرة (إتساع خلايا الورقة) هو إنخفاض مستوى الاوكسين (IAA) في العقل المجهزة بالصوديوم السام (شهيد ومرهج، 2016؛ Hopkins & Huner, 2009).

علاوةً على ما تقدم، فقد بينت النتائج أنخفاض معدل النتح في العقل المعرضة لسمية الصوديوم وبنسبة (34.49%) مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر)(الشكل-3). يعزى هذا الانخفاض الى ان الملح يقلل التوصيلية الثغرية Stomatal conductivity وبالتالي أختزال معدل النتح، إذ يسبب انخفاض الجهد المائي في الجذور نقل أشارة الى المجموع الخضري (متمثلة بالـ ABA) لغلق الثغور (Hasegawa *et al*., 2000). وفي دراسة حديثة على نفس النوع من العقل (الخيار) بينت أن أنخفاض معدل النتح يعود الى اختزال عدد الحزم الوعائية وأقطار أوعية الخشب مما يتناغم مع خفض معدل Na^+ المنتقل والمتجمع في الاوراق كألية تشريحية لخفض ضرر الصوديوم السام (شهيد ومرهج، 2016). بالاضافة الى ذلك، فقد سببت سمية الصوديوم أنخفاض الوزنين الطري (بنسبة 37.06%) والجاف (بنسبة 36.41%) في العقل المعرضة للاجهاد مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الاشكال-4،-5 على التوالي). وهذا ما يتفق مع (Trajkova & Papadantonakis, 2006). وأن الملوحة العالية تسبب أختزالاً في الوزنين الطري والجاف لسيقان واوراق نبات الخيار المعرضة للاجهاد الملحي. فضلاً عن الادلة التي توصل أليها Turan وجماعته (2009) من حصول أختزال في الوزن الجاف والكلوروفيل الكلي لنبات الذرة بسبب الاجهاد الملحي.

ان القاعدة الاساسية لتكيف النباتات للاجهاد الملحي هي السيطرة على النقل عبر الغشاء الخلوي (Lüttge, 1993). حيث أقترحت العديد من الدراسات السابقة ان الغشاء البلازمي هو الموقع الابتدائي primary site لضرر (جرح) الملح salt injury (Mansour, 1997). وعلى هذا الاساس يعتمد فقدان الالكتروليتات electrolyte leakage أو EC كدليلاً لتقييم نفاذية الاغشية الخلوية، على الرغم من كونها طريقة غير مباشرة لتحديد سلامة الغشاء الخلوي. إذ بينت النتائج زيادة قيمة EC في العقل المعاملة بالتركيز السام من كلوريد الصوديوم وبنسبة (86.09 %) مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الشكل-1). على الرغم من عدم حصول تأثير معنوي فيما يتعلق بالبادرات (حاوية على الجذور) مما يشير الى دور الجذور في حجز العناصر السامة ومنع أنتقالها للاوراق أو كبديل طردها من الجذور خارج النبات بعد أمتصاصها (Abdi *et al*., 2011). وهنالك العديد من العوامل التي تسبب فقدان الايونات من ضمنها التحطيم التأكسدي لطبقتي الدهون في الغشاء الخلوي (الناتج النهائي هو MDA) (الجدول-3) وكذلك العيوب الميكانيكية Mechanical defects. ومع ذلك فقد برهنت ان القنوات المسؤولة عن فقدان البوتاسيوم من الخلية هي الميكانيكية السائدة (Demidchik, 2010).

ومن المؤشرات الاخرى المهمة لضرر سمية الصوديوم حول تلف الاغشية الخلوية هو حصول عمليات الاكسدة ونشاط ROS وبالتالي زيادة محتوى MDA (Lipid peroxidation) (Eraslan *et al*., 2007)، إذ أزداد محتواه في العقل المعاملة بالصوديوم السام بنسبة (400%) مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (جدول-3). فقد أشار Hasegawa وجماعته (2000) ان أيونات الصوديوم تدخل الى الخلايا بعد تأثيرها على الاغشية الخلوية (Wang *et al*., 2013)وكذلك على الفعاليات الايضية Metabolic activities في الخلية وهذه التأثيرات الابتدائية تسبب تأثيرات ثانوية مثل أختزال أتساع الخلايا وأنتاج ROS (حدوث الاجهاد التأكسدي) ونتيجة لهذه التأثيرات تموت الخلايا في الحالات القصوى.

ولكون الاجهاد الملحي هو من الاجهادات التأكسدية، فأن الاليات المضادة للاكسدة وبالخصوص الانزيمية منها ستنشط مثال على ذلك فعالية أنزيم Lipoxygenase (LOX) والذي يعمل على انتاج الانواع الاوكسجينية الفعالة عن طريق أكسدة الاحماض الدهنية غير المشبعة والتي تكون مميتة للنبات عند زيادة تركيزها ، فلوحظ زيادة الفعالية بنسبة (41.4%) في العقل المعاملة بالصوديوم السام مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-3). وهذا يتفق مع ما وجده Kotapati وجماعته (2014) من أن الاجهادات البيئية كالاجهاد المائي تسبب زيادة فعالية أنزيم اللايبوكسجينيز وتعبيره الجيني في أوراق نبات Finger millet *(Eleusine coracana (L.) GAERTN)*. كما يعمل الاجهاد الملحي على زيادة فعالية أنزيم 9-lipoxygenase في الحمضيات (Ben-Hayyim *et al*., 2001).

تعد البروتينات من المكونات الاساسية للاغشية الخلوية، وقد إنخفض محتوى البروتين في العقل المعاملة بالصوديوم السام بنسبة 37.3% مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-3). يعمل الاجهاد الملحي على أختزال محتوى البروتين (Yousuf *et al*., 2015)، وذلك نتيجة لزيادة فعالية إنزيم البروتيز Protease في العقل المعاملة بالصوديوم السام بنسبة 200% مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-3). وهذا يتفق مع Rafique وجماعته (2011) حول زيادة فعالية البروتيز في بادرات Pumpkin المجهدة ملحياً. كما أوضح Taiz وZeiger (2002) أنخفاض محتوى البروتين بسبب الاجهاد والذي يعزى الى زيادة فعالية البروتيز.

أنخفض تركيز البوتاسيوم في إجزاء العقلة (الساق والاوراق الاولية) وكذلك على مستوى العقلة الكاملة المعاملة بالصوديوم السام بنسبة (81.8 و35.2 و57.8)% على التوالي مقارنة بالسيطرة (الجدول-4)، وهذا يتفق مع ما أوضحه Satti وAl-Yahyai (1995) من أنخفاض تركيز البوتاسيوم في نبات الطماطم بسبب الملوحة، وكذلك في نباتي الخيار والسبانخ. حيث يحصل فقدان الأيونات مباشرة بعد التعرض للاجهاد منذ الدقائق الاولى ولعدة ساعات في نباتات الحنطة (Bajji *et al*., 2002)، وخصوصاً أيون البوتاسيوم الذي يكون الجزء الرئيسي من الايونات المفقودة من الخلية، إذ أفترض الاخير وجود قنوات تكون مسؤولة عن فقدان K^+ (وأن هذا الفقد يحفز موت الخلية المبرمج programmed cell death (PCD)، والتي تحفز بفعل ROS كجذور الهيدروكسيل وH_2O_2 والتي تنظم ضخ K^+ الى خارج الخلية النباتية (Demidchik *et al*., 2014). كما أن زيادة تركيز الصوديوم في إجزاء العقلة (الساق والاوراق الاولية) وكذلك على مستوى العقلة الكاملة المعاملة بالصوديوم السام بنسبة (393.7 و123.6 و185.5)% على التوالي مقارنة بالسيطرة، يؤكد ما أشار أليه Turan وجماعته (2009) الى زيادة تركيز Na^+ في النباتات المعرضة لملح NaCl. كما وأن زيادة تراكيز الصوديوم العالية في الخلية تسبب عدم توازن أيوني وسمية أيضية عن طريق التنافس بين Na^+ وK^+ على مواقع الارتباط للعديد من الانزيمات (Tester & Davenport, 2003). كما أن زيادة أخذ الصوديوم وفقدان البوتاسيوم من الخلايا يسبب أختلال في نسبة $Na^+\backslash K^+$ في الخلية وبالتالي أختلال التفاعلات في الخلية ونتيجة لهذه التأثيرات يولد تأثيرات ثانوية كالاجهاد التأكسدي. أما فيما يتعلق بنسبة البوتاسيوم\الصوديوم فقد سبب الصوديوم السام إنخفاضاً في تلك النسبة في العقل كاملة بنسبة 60.7% مقارنة بالسيطرة (الماء المقطر) (الجدول-4). وهذا يتفق مع ما أشار اليه (Hosseini *et al*., 2010) من أنخفاض نسبة $Na^+\backslash K^+$ تحت الاجهاد الملحي في نبات العصفر Safflower.

يستنتج من الدراسة أن سمية الصوديوم تؤثر بشكل رئيسي على نفاذية الاغشية السايتوبلازمية من خلال أستحثاث عملية أكسدة الدهون وتكوين MDA وكذلك تحطيم البروتين من خلا ل تنشيط أنزيمات اللايبوكسجنيز والبروتيز مؤدياً الى أضطراب النفاذية وبالتالي تراكم أيونات الصوديوم داخل الخلايا وفقدان البوتاسيوم مما يؤدي الى سمية أيضية مسببة بذلك أختزال المساحة الورقية مضافاً اليه أختزال في محتوى الكلوروفيل والوزن الطري والجاف وبالتالي أنخفاض النمو بدلالة أستجابة التجذير.

المصادر

اليساري، خالد علي حسين (2014). دراسة فسلجية تشريحية بايوكيميائية لنباتات مختلفة التحمل لسمية البورون ومعالجتها بأملاح الزنك بدلالة استجابة التجذير. أطروحة الدكتوراه. جامعة كربلاء، كلية التربية للعلوم الصرفة – قسم علوم الحياة.

شهيد، عبد الله ابراهيم ومرهج، ايفان ابراهيم (2016). معالجة سمية الصوديوم في عقل الخيار *Cucumis sativus* L. بأضافة حامض الهيوميك بدلالة الحالة الهرمونية ومضادات الاكسدة الانزيمية واللانزيمية. مجلة الفرات للعلوم الزراعية. (قيد النشر)

Abdi, G.; Mohammadi, M. & Hedayat, M. (2011). Effect of salicylic acid on Na^+ accumulation in shoot and roots of tomato in different K^+ status. J. Biol. Environ. Sci., 5 (13): 31-35.

Ali, Y.; Aslam, Z.; Ashraf, M.Y. & Tahir, G.R. (2004). Effect of salinity on chlorophyll concentration, leaf area, yield and yield components of rice genotypes grown under saline environment. Int. J. Environ. Sci & Techn. 1(3): 221-225.

Axelrod, B.; Cheesbrough, T.M. & Laaskso,S. (1981). Lipoxigenases from Soybeans, Methods Enzmol., Lowenstein,J,.M., Ed.,New York:Academic,pp:441-451.

Bajji, M.; Kinet, J.M. & Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a

peroxidation. Arch. Biochem. Biophys., 125: 189.198.

Hernandez, J.A.; Jimenez, A.; Mullineaux, P. & Sevilla, F. (2000). Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. Plant Cell Environ., 23: 853-862.

Hopkins, W.G. & Hüner, N.P.A. (2009). Introduction to plant physiology. 4th ed. John Wiley & Sons, Inc.

Hosseini, T.; Shekari, F. & Ghorbanli, M. (2010). Effect of salt stress on ion content, proline and antioxidative enzymes of two safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.). J. Food, Agricult. & Environ., 8 (2): 1080 - 1086.

Hu, Y.; Fromm, J. & Schmidhalter, U. (2005). Effect of salinity on tissue architecture in expanding wheat leaves. Planta, 220:838–848.

Jaleel, C.A., Sankar, B., Murali, P.V., Gomathinayagam, M., Lakshmananm, G.M.A. & Panneerselvam, R. (2008).Water Deficit Stress Effects on Reactive Oxygen Metabolism in Catharanthus Roseus; Impacts on Ajmalicine Accumulation. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 62: 105-111.

Kotapati, K.V.; Palaka, B.K.; Kandukuri, A.; Ramachandra Reddy Pamuru, R.R. & Ampasala, D.R. (2014). Response of antioxidative enzymes & lipoxygenase to drought stress in Finger millet leaves (*Eleusine coracana* (L.) GAERTN) Int. J. Plant, Animal & Environ. Sci., 4: 645-653

Kronzucker, H.J. & Britto, D.T. (2011). Sodium transport in plants: a critical review New Phytologist,189: 54–81.

Kuligod, V.; Doddamani, V.S. & Paul, S.G. (1995). Effect of soil salinity on growth of *Casuarina equisetifolia.* Current Agriculture, 19: 51-53.

Kunitz, M., (1947). Crystalline soyabean trypsin inhibitor II. General properties. J. Gen. Physiol. 30, 291–310.

Lichtenthaler H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Meth Enzym 148: 331–382.

water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth* Regul., 36: 61–70.

Ben-Hayyim, G.; Gueta-Dahan, Y.; Avsian-Kretchmer, O.; Weichert, H. & Feussner, I. (2001). Preferential induction of a 9-lipoxygenase by salt in salt-tolerant cells of *Citrus sinensis* L. Osbeck. Planta, 212: 367–375.

Bishop, M. C., Dben-Von Laufer, J. L., Fody, E .P., Thirty, T. C. U. (1985). Clinical Chemistry Principles, Procedures and Correlations: pp: 181-182.

Blumwald, E.; Aharon, G.S. & Apse, A.M. (2000). Sodium transport in plant cells. Biochimica et Biophysica Acta, 1465: 140-151.

Demidchik, V. (2010). Reactive oxygen species, oxidative stress and plant ion channels. In: Demdichik V, Maathuis FJM, eds. *Ion channels and plant stress responses*. Heidelberg: Springer-Verlag, 207–232.

Demidchik, V.; Straltsova, D.; Medvedev, S.S.; Pozhvanov, G.A.; Sokolik, A. & Yurin, V. (2014). Stress-induced electrolyte leakage: the role of K+-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. J. Exp. Bot. Advan., 11: 1-12.

Eraslan, F.; Inal, A.; Gunes, A. & Alpaslan, M. (2007). Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. Scientia Horticul. turae, 113: 120-128.

Hamdia, M.A. & Shaddad, M.A.K. (2010). salt tolerance of crop plants. J. Stress Physiol. & Biochemist., 6: 64-90.

Hamdia, M.A. (1994). The effect of NaCl salinity and sodium pyruvate on growth of cucumber plant. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 63: 299-302.

Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.K. & Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 51: 463–499.

Heath, R.L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid

Satti, S.M.E. & R.A., Al-Yahyai. (1995). Salinity tolerance in tomato: implications of potassium, calcium and phosphorus. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 26 (17–18), 2749–2760.

Sharma, P.; Bhushanm, A.; Dubey, R.S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage and Antioxidant Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. Journal of Botany, 26, Article ID: 217037.

Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). Plant Physiology. 3rd ed. Sinauer Associates Inc Publishers, Massachusetts.

Temminghoff, E.E.J.M. & Houba, V.J.G. (2004). Plant Analysis Procedures. 2nd ed. Kluwer Academic Publishers

Tester, M. & Davenport, R. (2003). Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany, 91: 503-527.

Trajkova, F. & Papadantonakis, N. (2006). Comparative effects of NaCl & $CaCl_2$ salinity on cucumber grown in a closed hydroponic system. Hort. Sci., 41 (2): 437-441.

Turan, M.A.; Awa, Elkarim, A.H.; Taban, N. & Taban, S. (2009). Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. Afr. J. Agric. Res., 4 (9): 893-897.

Wang, M.; Zheng, Q.; Shen, Q. & Guo, S. (2013). The critical role of potassium in plant stress response. Int. J. Mol. Sci., 14: 7370-7390.

Yousuf, P.Y.; Hemant, A.A.; Ganie, A.H.; Aref, I.M. & Iqbal, M. (2015). Potassium and Calcium application ameliorates growth and oxidative homeostasis in salt-stressed indian Mustard (*Brassica juncea*) plants. Pak. J. Bot., 47(5): 1629-1639.

Lüttge, U. (1993). Plant cell membranes and salinity: Structural, biochemical and biophysical changes. R. Bras. Fisiol. Veg., 5(2):217-224.

Lutts, S.; Kinet, J.M. & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differenting in salinity resistance. Ann. Bot.,78:389-398.

Mansour, M.M.F. (1997)**.** Cell permeability under salt stress. In: Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants. Eds. P.K. Jaiwl, R.P. Singh, A. Gulati. Science Publ., Enfield, U.S.A, 87-110.

Marshall, J. K. (1986). Methods for Leaf area Measurement of Large and Small Leaf Samples. Photosynthetica, 2: 41-47.

Maxwell, K. & Johnson, G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence-a practical guide. J. Exp. Bot., 51: 659–668.

Munns, P.R; James R.A. & Läuchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *J. Exp. Bot.* 57:1025–43 Physiol. Plant., 61:231-235.

Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environment 25: 239-250.

Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: Bringing them together. New Phytol., 167: 645–663.

Rafique, N.; Raza, S.H.; Qasim, M. & Iqbal, N. (2011). Pre-sowing application of ascorbic acid and salicylic acid to seed of Pumpkin and seedling response to salt. *Pak. J. Bot*., 43(6): 2677-2682, 2011.

Rashid, A. (1986). Mapping zinc fertility of soils using indicator plants and soils-analyses. Ph. D. Dissertation, university of Hawaii, HI, USA.

Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. J. Exp. Bot., 57:1017–1023.