هل لحامضي السالسليك و الاسكوربيك فعلاً تآزرياً مع الاوكسين في تكوين الجذور العرضية لعقل الماش ؟

عبد الله ابراهيم شهيد اسراء عبد الامام الرياحي
جامعة بابل / كلية العلوم

الخلاصة :
تهدف هذه الدراسة لمعرفة دور حامض الاسكوربك (AsA)و السالسليك (SA) التآزري في تكوين الجذور العرضية في عقل الماش من خلال الاختلاف في وقت تجهيزهما مع الاوكسين (IAA) تحت ظروف قياسية . فقد وجد ان تراكيز حامض الاسكوربك المحفزة لاستجابة التجذير مع بقاء المظاهر المورفولوجية السليمة للعقل كانت 50، 100، 200 جزء بالمليون الا ان افضلها كان التركيز 200 جزء بالمليون اذ رفع استجابة التجذير بمقدار 2.3 مرة مقارنة بعينة السيطرة . سجل افضل تركيز لحامض السالسليك عند 10^{-6} مولاري و الذي كشف زيادة معنوية في عدد الجذور 17 جذر مقارنة بالسيطرة 10.4 جذر . ان عدد وطول الجذور في العقل ازداد باستخدام حامض الاسكوربك مع محلول هوكلاند بنصف القوة عند التراكيز 100 و 200 جزء بالمليون مقارنة بتلك التي جهزت بحامض الاسكوربك وحده الا ان اضافة محلول هوكلاند مع حامض السالسليك لم يكن مؤثرا. و على الرغم من ان AsA لم يعمل بشكل تعاضدي مع IAA (5×10^{-4} مولاري) الا ان افضل استجابة تجذير تتطلب تجهيزه بعد المعاملة بالاوكسين . اظهر تجهيز SA بعد المعاملة بـ IAA فعلا تعاضديا و ان هذه الحالة رفعت معدل عدد الجذور الى 80 جذر مقارنة SA 17 جذر او الاوكسين 70 جذر لوحدهما .

Does Salicylic and Ascorbic acids acts synergistically with auxins in Adventitious Root Formation of Mung Bean Cuttings?

Abstract :
The aim of this study is to elucidate the synergistic role of ascorbic (AsA) and salicylic acids (SA) through different timing of their supplying with auxin (IAA) in adventitious root formation of mung bean cuttings under controlled conditions . AsA concentrations that stimulates rooting response with healthy features were 50,100,200 ppm but the best rooting response occurred at 200 ppm , that raised the rooting response to 2.3 times compared to control .The best SA concentration recorderd at 10^{-6} M which developed significant increase in root number 17 root compared to control 10.4 root. Using Hoaglands solution in half strength with AsA increased roots number and length in the cuttings that treated with AsA at 100 , 200 ppm compared to AsA alone whereas Hoagland´s solution with SA has no significant affect . AsA didn´t act synergistically with IAA , 5×10^{-4} M but the best rooting response required, supplying AsA after IAA (posttreatment).SA has a synergistic action with IAA when supplied after IAA (posttreatment) .The later case raised the root numbr to 80 root comparing to SA (17 root) or IAA (70

ISSN 2072-3875

root) when supplied as indivisual for both .

Key words: Adventitious root formation Antioxidant defense mechanism, Ascorbic acid , Auxin , Mung bean , Salicylic acid and Synergism.

المقدمة :

ان المصدر الرئيس لإنتاج انواع الاوكسجين الفعالة Reactive oxygen species (ROS) في النبات هو عملية التنفس الضوئي Photorespiration في البلاستيدات و البروكسيزومات خلال النهار وفي المايتوكوندريا خلال الظلام (Moller,2001). و ان انتاج ROS يكبح و يقيد بنظام مضادات الأكسدة الذي يتضمن : **1)** مركبات مضادة للأكسدة لاأنزيمية مثل حامض الاسكوربيك (AsA) و المركبات الفينولية (SA) و الگلوتاثيون (GSH) و التوكوفيرولا ت Tocopherols. **2)** مركبات مضادة للأكسدة أنزيمية مثل superoxide dismutase (SOD) و ascorbate peroxidase (APX) و catalase (CAT) (Foyer and Noctor,2003) .

ان معظم الكائنات حقيقية النواة تنتج حامض الأسكوربيك ASA (vit.c) وهو مضاد اكسدة ذائب في الماء عالي الفعالية ككاسح للجذور الحرة و يمنع او يخفف التأثيرات الضارة لل ROS بسبب قابليته على منح الكترونات في عدد من التفاعلات الأنزيمية و اللاأنزيمية وباستطاعته ان يكسح الـ singlet oxygen و الـ super oxide و hydroxyl radical مباشرة (Thomas *et al.*,1992) و الـ hydrogen peroxide بشكل غير مباشر من خلال فعالية الأنزيمAsA peroxidase (Foyer & Halliwell,1976 ;Asada,1992).

يعد حامض الأسكوربيك مضاد اكسدة اولي primary antioxidant (و هو الذي يقوم بأزالة الجذر الحر free radical مباشرة بمنح الكترون او ذرة هيدروجين) و مضاد اكسدة ثانوي secondary antioxidant (و هو الذي يمنع نشوء الاكسدة بأزالته العامل المحفز للأكسدة oxidative catalyst) و يلعب دور مهم في توليد α-tocopherol (فيتامين E) من جذر tocopheroxyl (TO˙H) في الأغشية و الدهون البروتينية lipoproteins و بهذا يوفر حماية للأغشية الخلوية (Liebler *et al.*,1986;Thomas *et al.*, 1992;Foyer and Noctor,2005) و يشارك AsA في بناء الجدار الخلوي و ربما الأنقسام الخلوي (Conklin,2001) و في دورة AsA-GSH وفي وقاية فعالية الأنزيمات و حفظها التي تحتوي ايونات المعادن الأنتقالية ضمن تركيبها prosthetic transition metal ions (Noctor and Foyer,1998).

ان تركيز AsA في الاوراق اعلى من بقية اجزاء النبات و يفوق تركيز GSH بحوالي 5-10 مرات (Smirnoff,2005) وان تركيزه في الاوراق البالغة اكبر من تركيزه في الاوراق الفتية حيث يكتمل نمو البلاستيدات الخضراء ويزداد تركيز الكلوروفيل . و في الظروف الفسيولوجية الاعتيادية يتوفر AsA غالبا بشكله المختزل في الاوراق (Smirnoff,2000) ويعمل AsA كعامل مرافق للأنزيم violaxanthin de-epoxidase في البلاستيدات الخضراء ، و بهذا يساهم في تبديد طاقة الأثارة الزائدة excess excitation energy (Eskling *et al.*,1997; Davey *et al.*,2000) وينظم AsA قابلية البناء الضوئي بالسيطرة على حركة الثغور (Chen and Gallie,2004) . و ان النقص في محتوى حامض الأسكوربيك يسبق حدوث تحلل الكلوروفيل، ويرتبط بزيادة monodehydro ascorbate (MDA) في الاوراق Chao *et al.*, 2010) و يسبب تجمع الأوكسين في قمم الجذور زيادة في مستويات الأنزيم ascorbate peroxidase مما يقلل من محتوى AsA (Kerk and Feldman,1994). و ربما يتطلب الأبقاء على المستويات المختزلة لل AsA وجود الأوكسين (Conklin,2001).

يعد حامض السالسليك كمادة شبيهة بالهرمون hormone like substance ، وتلعب دور رئيسي في نشوء جهاز المقاومة المكتسب systemic aquaired resistance (SAR) ضد الممرضات بمختلف اشكالها Gaffney *et al.*,1993). و ان الشكل المخزون لـ SA في النبات هو salisylic acid β-glycosid الذي يحرر الـ

ISSN 2072-3875

مظهريا حسب طريقة (Hess,1961) ، و التي تمتاز بأحتوائها على برعم طرفي terminal bud و زوج من الاوراق الاولية كاملة الاتساع و سويقة جنينية فوق الفلق epicotyl و سويقة جنينية تحت الفلق hypocotyl بطول 3 سم تحت موقع ندب الفلق cotyledonary nodes و ذلك بعد ازالة المجموع الجذري.

يعامل الجزء القاعدي للعقل بمحاليل الأختبار ، و ذلك بوضع العقل في اقداح زجاجية صغيرة ، كل معاملة تتضمن ثلاث اقداح صغيرة و يتسع كل قدح لاربع عقل أي بواقع 12 عقلة للمعاملة الواحدة. يتطلب غمر السويقة تحت الفلقية hypocotyl التي طولها 3 سم محلول حجمه 32 مل من محاليل الأختبار ، وتعامل العقل لمدة 24 ساعة في الماء المقطر او محاليل الأختبار ، بعدها تنقل الى حامض البوريك H_3BO_3 (10 µg/ml) لمدة ستة ايام .

تحضير محاليل :

التجذير :

يحضر الأوكسين الصناعي indol acetic acid (IAA) بتركيز 5×10^{-4} مولاري وقت المعاملة ، و هو التركيز الامثل لتجذير النوع نفسه من عقل الماش (Shaheed, 1987) اضافة لحامض البوريك بتركيز 10 µg/ml و استخدم كوسط للتجذير و ذلك لدور البورون الضروري في نمو البادئات الجذرية و تكشفها الى جذور مرئية (Middleton *et al.*, 1978b) . و استعمل محلول حامض الاسكوربيك بالتراكيز الآتية 50 - 1000 جزء بالمليون و كذلك محلول حامض السالسليك بالتراكيز 10^{-3} -10^{-9} مولاري .

اما حساب عدد الجذور والتحليل الاحصائي فقد تضمن استخراج قيمة L.S.D. للمقارنة بين المعاملات على مستوى احتمالية (0.05) بأستعمال تحليل التجارب analysis of variance (ANOVA) و انجزت ببرنامج SPSS ver.10 لجميع التجارب.

SA لتلبية حاجات النبات ، وان زيادة مستواه في النبات تستحث موت الخلايا المحدد موضعيا locally restricted cell death والتي تعقب حدوث الـ oxidative burst و تدفق ايونات الكالسيوم (Kawano *et al.*,2004) اذ اشارت العديد من البحوث الى ان الـ Ca^{+2} ضرورية لفعالية الـ SA في دفاعات النبات ، اذ يعمل كمراسل ثانوي secondary massenger في الميكانيكيات الدفاعية للنبات) Knight *et al.*,1991; Sanders *et al.*,1999) .

ان عملية التجذير هي عملية معقدة وتتأثر بعدة عوامل كمستويات الهرمون النباتي والمركبات الفينولية والضوء إضافة للتجريح،ويعتبر الاوكسين أحد العوامل الداخلية الرئيسية التي تلعب دوراً مهماً في التجذير العرضي حيث يظهر أستحثاثا فعالا للجذور العرضية في العديد من الأنواع الخشبية (Gold fard *et al*,1998;Deklerk *et al*, 1999) و يشترك الاوكسين في عمليات الاستنساخ والترجمة فهو يسهل زيادة محتوى البروتينات الذائبة التي تعد تعبيرا لارتفاع كمية النتروجين و دليلاً اخر على دور الاوكسين في زيادة فعالية مختلف الانزيمات (Ali *et al.*,2008)، ويسهّل الاوكسين انبات البذور في الظروف الاعتيادية (Ahmed *et at.*, 2001) وتحت ظروف الإجهاد (Ali *et at*., 2007).

المواد و طرائق العمل :

استعملت في هذه الدراسة بذور الماش المحلية من صنف *Vigna radiata* L. Wilczek للموسم الزراعي 2009- 2010 من محافظة بابل - قضاء المحاويل و غسلت البذور لعدة مرات بماء الحنفية الجاري ثم نقعت لمدة 12 ساعة (over night) و زرعت في نشارة الخشب sawdust (المغسولة و المعقمة مسبقا) بأستعمال احواض بلاستيكية مثقبة بابعاد 19 ×14×6 سم. أجريت التجارب تحت الظروف المختبرية القياسية بأضاءة مستمرة و شدة ضوئية 1500-1800 لوكس و درجة حرارة 1±25 مْ و رطوبة نسبية 60-70 ٪ في الغرفة البيئية للنمو growth cabinet نوع Binder GMbH .

تركت البادرات تنمو لـ 10 ايام (مرحلة الاتساع التام للاوراق الاولية) ثم انتخبت البادرات المتماثلة

ISSN 2072-3875

ppm فقد كشف جذور قصيرة وكثيفة فوق الفلق، اما استعمال التركيز 500 ppm أدى إلى تهرؤالهايبوكوتيل وظهور الجذور فوق الفلق.
الرجوع إلى قيمة LSD على مستوى احتمالية (0.05) نجد ان التركيز 300 ppm غير مؤثر معنوياً في استجابة التجذير مقارنة بعينه السيطرة وقد أسفر عن جذور قصيرة فوق الفلق وتحتها. ان معاملة العقل بالتراكيز العالية من حامض الاسكوربك أدى إلى انخفاض معنوي في استجابة التجذير يرافقها جذور قصيرة جداً 3-6 ملم وظهور ندب في الـ epicotylsعند التراكيز 600 ppm، 700، 800 ، والجذور طولها نصف ملم او اقل في التركيز 900 ppm وتكسر السويق فوق الفلقية وتهرؤ الساق تحت الفلقية وذبول الاوراق في التركيز 1000 ppm وعدم ظهور الجذور بالكامل.

النتائج :

استجابة تجذير عقل الماش المأخوذة من بادرات نامية بالماء القطر لمدة عشرة أيام والمعاملة بتراكيز مختلفة من محلول حامض الاسكوربك AsA :

يبين الجدول 1 تأثير حامض الاسكوربك في استجابة التجذير لعقل الماش حيث أحدث زيادة معنوية في استجابة التجذير عند التراكيز 50 ppm، 100، 200، 400، 500 مقارنة بعينه السيطرة 9.5 جذر، و كان معدل عدد الجذور للتراكيز المحفزة هي 2522.3,22.8 ,18.9,21جذر على التتالي.
لوحظ ان العقل المعاملة بالتركيزين 50 ppm، 100 قد كشفت جذور طويلة 1 سم تقريباً وتظهر معظمها في جزء السويقة تحت الفلقية Hypocotyls، بينماعند التركيز 200 ppm قد كشفت جذور بنفس طول جذور التراكيز السابقة الا انها موزعة فوق وتحت الفلق . وبالنسبة للتركيز 400

جدول 1: تكوين الجذور العرضية في عقل الماش المعاملة بحامض الاسكوربك (بدون محلول هوكلاند)

Ascorbic acid concentration (ppm)	Mean root number / cutting
0.0	9.5
50	22.8
100	22.3
200	`25
300	15.7
400	21
500	18.9
600	9
700	6.3
800	8.4
900	2.3
1000	0
LSD(0.05)	6.7

جهزت عقل الماش بتراكيز مختلفة من حامض الاسكوربك لمدة24ساعة ثم نقلت الى حامض البوريك كوسط للتجذير.

ISSN 2072-3875

ان التراكيز التي تميزت بانخفاض معنوي شديد في استجابة التجذير مقارنة بعينة السيطرة بدأت من التركيز 500 ppm ولغاية اعلى تركيز ppm 1000الذي ثبط التجذير بالكامل، وتميزت هذه التراكيز بأظهار علامات مورفولوجية تبين حدوث تسمم بالعقلة وابرزها تهرؤ السويقة تحت الفلقية للعقلة وإجبار الجذور على الخروج من السويقة فوق الفلقية وبطول يقارب 0.5 ملم او اقل وظهور ندب على بشرة السويقة فوق الفلقية ، ومن التراكيز العالية 800، 900، 1000 ppm تكسرت السويقات فوق الفلقية حيث حدثت هشاشه في انسجتها و ما هو ملفت للنظر هو بقاء الاوراق خضراء ونظرة عند جميع التراكيز.

استجابة تجذير عقل الماش المشتقة من بادرات نامية بالماء المقطر لمدة عشرة ايام والمعاملة بحامض الاسكوربك ومحلول هوكلاند (بنصف القوة) ولمدة 24 ساعة

يشير الجدول 2 إلى تأثير محلول هوكلاند (بنصف القوة) مع حامض الاسكوربك سوية في استجابة تجذير عقل الماش، حيث لوحظ زيادة معنوية في استجابة التجذير عند التراكيز 200,100 ppm بلغت 29.9، 29.3 جذر مقارنة بعينة السيطرة 15.4 جذر، وتميزت هذه الجذور بطولها 1- 1.5 سم وظهورها من أسفل السويقة تحت الفلقية Hypocotyl. اما التراكيز 50، 300، 400 ppm فكانت غير مؤثرة معنوياً في استجابة التجذير وتميزت بجذور طولية 1 سم تقريباً ظاهرة من أسفل الـ Hypocotyl.

جدول 2: تكوين الجذور العرضية في عقل الماش المعاملة بحامض الاسكوربك و محلول هوكلاند بنصف القوة

Ascorbic acid concentration (ppm)	Mean root number / cutting
0	15.4
50	17.6
100	29.9
200	29.3
300	11
400	11.3
500	3.8
600	2
700	3.6
800	2.2
900	1.2
1000	0
LSD(0.05)	4.5

جهزت عقل الماش بتراكيز مختلفة من حامض الاسكوربك ومحلول هوكلاند بنصف القوة لمدة 24 ساعة ، ثم نقلت الى حامض البوريك كوسط للتجذير.

استجابة تجذير سجلت للتركيز M 10^{-6} إذ انها كشفت زيادة معنوية في معدل عدد الجذور 17 جذر مقارنة بعينة السيطرة 10.4 جذر. ان جميع التراكيز الاخرى من حامض السالسليك لم تعطي فرق معنوي في معدل عدد الجذور مقارنة بعينة السيطرة وكشفت

استجابة تجذير عقل الماش المأخوذة من بادرات نامية بالماء المقطر لمدة عشرة ايام والمعاملة بمحلول حامض السالسليك SA لمدة 24 ساعة.

يوضح الجدول 3 تأثير حامض السالسليك salicylic acid في استجابة تجذير العقل حيث ان افضل

ISSN 2072-3875

موقع اتصالها بالساق بلون اصفر يميل إلى الابيضاض مع بقاء مسافة 4.5 سم من طول الساق (من نقطة اتصال الورقة بالساق) طرية وخضراء اما باقي الساق فقد اظهر تيبس واصفرار واضحين.

جميعها جذور طويلة تماثل طول جذور عينة السيطرة فيما عدا التركيز M 10^{-3} حيث ثبط تماماً ظهور الجذور وتميز بعلامات مورفولوجية تشير إلى تسمم العقلة تضمنت تحلل الكلوروفيل وتبقع الاوراق في

جدول 3: تكوين الجذور العرضية في عقل الماش المعاملة بحامض السالسليك (بدون محلول هوكلاند)

Salicylic Acid concentration (M)	Mean root number / cutting
0	**10.4**
10^{-9}	**11.5**
10^{-8}	**13.3**
10^{-7}	**9**
10^{-6}	**17**
10^{-5}	**13.3**
10^{-4}	**9.8**
10^{-3}	**0**
LSD (0.05)	**3.8**

جهزت عقل الماش بتراكيز مختلفة من حامض SA لمدة 24 ساعة ثم نقلت الى حامض البوريك كوسط للتجذير.

M 10^{-3} الذي سجل انخفاض معنوي في استجابة التجذير للعقل(2.5 جذراً مقارنة بعينة السيطرة 18.8 جذر) وان الجذور في جميع التراكيز كانت ذات اطوال تماثل طول عينة السيطرة 1-1.5سم فيما عدا التركيز M 10^{-3} اذ أعطى جذور قصيرة جداً عند او فوق الفلق اضافة إلى تكسر و تهرؤ الهايبوكوتيل.

استجابة تجذير عقل الماش المأخوذة من بادرات نامية بالماء المقطر لمدة عشرة ايام والمعاملة بحامض السالسليك SA مع محلول هوكلاند (بنصف القوة).

يبين الجدول 4 حصول زيادة غير معنوية في معدل عدد الجذور لجميع التراكيز المستخدمة من حامض السالسليك SA مع محلول هوكلاند باستثناء التركيز

جدول 4 : تكوين الجذور العرضية في عقل الماش المعاملة بحامض السالسليك ومحلول هوكلاند (بنصف القوة)

Salicylic Acid concentration (M)	Mean root number / cutting
0	**18.8**
10^{-9}	**22.5**
10^{-8}	**21.4**
10^{-7}	**20**
10^{-6}	**25**
10^{-5}	**22.5**
10^{-4}	**26.3**
10^{-3}	**2.5**
LSD (0.05)	**7.9**

جهزت عقل الماش بتراكيز مختلفة من حامض السالسليك مع محلول هوكلاند بنصف القوة لمدة (24) ساعة ثم نقلت لحامض البوريك لمدة (6) ايام .

ISSN 2072-3875

زيادة معنوية عند الرجوع الى قيمة L.S.D (10.2)على مستوى احتمالية 0.05 مقارنة بعينة السيطرة لحامض الاسكوربك 23.9 جذر، حيث اعطت 62.3، 70.8، 62.6 جذر على التتالي الا ان هذه المعدلات لم ترتقي الى مستوى الجذور المستحثة بالمعاملة الاوكسينية (88.8جذر)، وذلك باعتبار أولوية التجذير تعود للاوكسينات، وكاستنتاج فأن الفيتامينات (وخصوصاً vit.c على ما يبدو) لا تعمل سوية او بشكل تآزري مع الاوكسينات و مع ذلك فأن أفضل استجابة تجذير لعقل الماش المعاملة بحامض الاسكوربك تتطلب تجهيزها بعد المعاملة بالاوكسين (Post-treatment) .

التوقيت الأفضل لإضافة AsA للعقل المعاملة بالاوكسين IAA لغرض تحديد افضل استجابة تجذير لعقل الماش.

تم تحديد توقيت اضافة الاسكوربيت AsA إلى عقل الماش المعاملة بالأوكسين indole acetic acid في الجدول 5 ، حيث بلغ عدد الجذور التي تكشفت عن المعاملة بالاوكسين (IAA, 5×10^{-4} M) لوحده الى 88.8 جذر و للعقل المعاملة بالتركيز الامثل لحامض الاسكوربيك 200 ppm وحده 23.9 جذر . وبالنسبة للعقل المعاملة بالاوكسين والاسكوربيت و بنفس التراكيز اعلاه و بتوقيتات مختلفة (قبل المعاملة بالاوكسينpre-treatment وبعده pos-treatment و سوية Simultenously) فقد كشفت

جدول 5: تحديد توقيت اضافة AsA الى العقل المعاملة بالاوكسين لغرض ايجاد افضل استجابة تجذير

First day treatment	Second day treatment	Mean root no./cutting
D.W	H_3BO_3	7.6
AsA	H_3BO_3	23.9
IAA	H_3BO_3	88.8
AsA	IAA ($5x10^{-4}$M)	62.3
IAA	AsA (200 ppm)	70.8
AsA (200 ppm)+ IAA ($5x10^{-4}$M)	H_3BO_3	62.6
LSD (0.05)	10.2	

معدل عدد الجذور لعقل الماش المأخوذة من بادرات نامية بالماء المقطر لمدة عشرة ايام، العقل في المعاملة الرابعة والخامسة و السادسة نقلت في اليوم الثالث إلى حامض البوريك .

اوسوية simultenously أدت الى انخفاض معنوي في استجابة التجذير لعقل الماش مقارنة بعينة سيطرة الاوكسين 70 جذر حيث اعطت 36.8، 59.4 جذر على التتالي. و كأستنتاج فأنه عند معاملة العقل بـ IAA و SA للحصول على افضل استجابة تجذير لعقل الماش يتوجب المعاملة بالاوكسين اولاً حيث يستحث العمليات الايضية الخاصة بنشوء الجذور في العقلة ثم المعاملة بحامض السالسليك (Post-treatment).

التوقيت الأفضل لإضافة حامض السالسليك إلى العقل المعاملة بالاوكسين لغرض تحديد افضل استجابة تجذير العقل الماش.

الجدول 6 يبين ان تجهيز SA (10^{-6} M) بعد المعاملة الاوكسينية المستحثة (Post treatment) (IAA, 5×10^{-4}) و لمدة 24 ساعة لكليهما قد كشفت اعلى استجابة تجذير 82 جذر وبزيادة معنوية مقارنة بعينة السيطرة IAA 70 جذر وعينة سيطرة SA 17.3 جذر . الا ان المعاملة بحامض السالسليك SA قبل المعاملة بالاوكسين pre treatment

ISSN 2072-3875

جدول 6: تحديد توقيت إضافةSA الى العقل المعاملة بالاوكسين لغرض ايجاد أفضل استجابة لتجذير عقل الماش

First day treatment	Second day treatment	Mean root no./cutting
D.W	H_3BO_3	8.3
SA(10^{-6}M)	H_3BO_3	17.3
IAA	H_3BO_3	70
SA(10^{-6}M)	IAA ($5x10^{-4}$M)	36.8
IAA	SA(10^{-6}M)	82
SA (10^{-6}M))+ IAA ($5x10^{-4}$M)	H_3BO_3	59.4
LSD (0.05)	8.3	

معدل عدد الجذور لعقل الماش المأخوذة من بادرات نامية بالماء المقطر لمدة عشرة ايام، العقل في المعاملة الرابعة والخامسة نقلت في اليوم الثالث إلى حامض البوريك .

التراكيز الاعلى 500-1000 جزء بالمليون ثبطت استجابة التجذير وتميزت بعلامات التسمم على السويقة تحت الفلقية و دفعت الجذور على الظهور من السويقة فوق الفلقية وبطول يقارب 0.5 ملم او اقل وظهور ندب على بشرة السويقة فوق الفلقية وتكسر الساق، ويبدو ان التراكيز العالية من AsA بالرغم من وجود الاملاح المغذية في محلول هوكلاند قد سبب حالة الاجهاد للعقلة (مقارنة بالجدول 1) ، الا ان دور الـ AsA في حماية جهاز البناء الضوئي يعلل بقاء الاوراق خضراء عند جميع التراكيز (Smirnoff 2000a) , و يستنتج من دراستنا قلة صعوده للاوراق و احتجازه في الهايبوكوتيل.

كما وجد ان المعاملة بحامض السالسليك SA ادت الى زيادة معنوية في عدد الجذور عند التركيز 10^{-6} مولاري حيث سجلت 17 جذر مقارنة بعينة السيطرة 10.4 جذر (جدول3) الا ان استخدام محلول هوكلاند بنصف القوة مع حامض السالسليك لم يسجل زيادة معنوية في عدد الجذور لجميع التراكيز المستخدمة (جدول4)،غير انه لوحظ ان محلول هوكلاند قد خفض من حدة اعراض تسمم العقلة عند التركيز 10^{-3} مولاري .

وبالنظر لكون الاوكسينات لها الاولوية في تكوين الجذور العرضية، فقد تم اجراء تجربة تضمنت دراسة الفعل المزدوج بين AsA (200 ppm) والـ IAA ($5x10^{-4}$M) في تكوين الجذور العرضية (جدول5) وتجربة اخرى تضمنت الفعل المزدوج بين

المناقشة :

يشير الجدول 1 الى تاثير المعاملة بحامض الاسكوربيك في استجابة تجذير عقل الماش، ادت المعاملة بجميع التراكيز قيد الدراسة الى زيادة معنوية في استجابة التجذير و خصوصاً التركيز 200 جزء بالمليون الذي كشف اعلى استجابة تجذير من حيث العدد والطول اضافة الى توزيع الجذورفي منطقة الهايبوكوتيل فقط. و علاوة على ذلك ، فكلما ازداد تركيز حامض الاسكوربيك كلما ابتعدت الجذور عن الظهور في منطقة السويق تحت الفلقية واتجهت الى الاعلى (السويقة فوق الفلقية) مع تناقص اطوال الجذور وصولا الى التركيز الاعلى 1000 جزء بالمليون المثبط بالكامل لأستجابة التجذير، مع ذبول الاوراق وتكسر الساق مما يدل على ان التراكيز العالية من AsA تسبب التسمم للعقل على الرغم من كونه مضاد للاكسدة و يقلل التاثيرات الهدمية لانواع الاوكسجين الفعالة (ROS) وقابليته على اختزال جذر superoxide الى بيروكسيد الهيدروجين.

ان استخدام محلول هوكلاند بنصف القوة مع AsA (جدول2) ادى الى زيادة في عدد الجذور وطولها مقارنة بالعقل التي جهزت بحامض الاسكوربيك وحده (جدول1) عند التركيزين 100 ، 200 جزء بالمليون اضافة الى ظهورالجذور عند قاعدة الهايبوكتيل عند التراكيز 50-400 جزء بالمليون ، وهذا يدل على ان وجود المغذيات قد عمل تآزريا في اعطاء افضل استجابة تجذير ، الا ان

ISSN 2072-3875

و ما هو آثر للاهتمام ، فان تجهيز الـ (10^{-6} M) SA بعد المعاملة الاوكسينية ($5x10^{-4}$M) IAA posttreatment قد كشفت اعلى استجابة تجذير82 جذر وبزيادة معنوية عن عينة السيطرة IAA لوحده 70جذر و عينة الـ SA 17.3جذر مما يشير الى ان الـ SA يعمل تعاضديا مع الاوكسين في زيادة استجابة تجذير عقل الماش عندما يجهز بعد الاوكسين حصرا post-treatment الا ان بقية التوقيتات لتجهيز SA مع الـ IAA لم تعمل بهذا الاتجاه (جدول6) . لقد بين Shaheed و Mohammad (2010) ان افضل استجابة لتجذير النوع نفسه من عقل الماش تتطلب تجهيز SA خلال 48 ساعة الاولى و بالذات خلال المدة المحصورة بين 36-40 ساعة من وقت تهيئة العقل المعاملة مسبقا بالاوكسين(خلال 24 ساعة الاولى) ، و ذلك لضرورته خلال طور النمو و التكشف للبادئات الجذرية .

(10^{-6} M) SA والـ IAA ($5x10^{-4}$M) في تكوين الجذور العرضية (جدول6) وبتوقيتات مختلفة (قبل المعاملة بالاوكسين pre treatment وبعده post-treatment وسوية simultaneously). حيث وجد ان العقل المعاملة بـ AsA وعند جميع التوقيتات مع الاوكسين كشفت زيادة معنوية مقارنة بعينة السيطرة لحامض الاسكوربيك الا ان هذه المعاملات لم ترتقي الى مستوى الجذور المستحثة الاوكسين وعلى ما يبدو ان AsA لا يعمل بشكل تآزري مع الاوكسين. الا انه عزز استجابة التجذير مقارنة بسيطرة الماء المقطر D.W حيث يعرف بكونه أهم مضادات الأكسدة التي تحمي النباتات من الإجهاد التاكسدي (Sminoff,2005) و ينظم قابلية البناء الضوئي والإزهار والشيخوخة (Davey *et al.*,2000) ، وبعض الدراسات السابقة قدمت أدلة حول تسريع AsA للانقسام الخلوي واستطالة الخلايا في البزاليا (Cabo,1996) ونبات *Lupinus albus* (Citterio *et al.*,1994)

المصادر :

Ahmed, A., Hayat, S. & Fariduddin, Q. (2001) Photosynthetic efficiency of plants of *Brassica juncea* treated with chloro substituted auxins. Photosynthetica, 39:565-568.

Ali, B., Hayat, S. & Hayat, S.A. (2008) Acomparative effect of IAA and 4-Cl-IAA on growth, nodulation and nitrogen fixation in *Vigna radiate* L. Wilczek .Acta Physiol.Plant,30:35-41.

Ali, B., Rani, I. & Hayat, S.(2007) Effect of 4-Cl-indole-3-acetic acid on the seed germinationof *Cicer arietinum* exposed to Cd .Acta.Bot.Croat.,66:57-65.

Asada, K. (1992) Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide- scavenging enzyme in plants. Physiologia Plantarum.85:235-241.

Cabo, R.C., Gonza-Lez-Reyes, J.A., Cordoba, F. & Navas, P.(1996) Rooting hastened in onions by ascorbate and ascorbate free radical.J.Plant Growth Regul.,15:53-56.

Chao, Y.Y. and Hong, C.H. & Kao, C.H.(2010) The decline in ascorbic acid contents is associated with cadmium toxicity of rice seedlings. Plant Physiol.Biochem., 48:374-381.

Chen, Z. & Gallie, D.R.(2004) The ascorbic acid redox state controls guard cell signalling and stomatal movement.Plant Cell,16:1143-1162.

Conklin, P.L.(2001) Recent advancesin the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants.Plant Cell and Environment,24:383-394.

ISSN 2072-3875

Davey, M., Montagu, W.M.V., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N. & Benzie, I.J.J.(2000) Plant L-ascorbic acid chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing .J. Sci.Food Agric.,80:825-860.

De Klerk, G.J., Van Der Krieken, W.M. & De Jony, J.C.(1999) The formation of adventitious roots, new concepts , new possibilities.In Vitro Cell Dev. Biol.,35:189-199.

Eskling, M., Arvidsson, P.-O. & Akerlund, H.-E.(1997) The xanthophylls cycle . its regulation and components. Physiol.Planta, 100:806-816.

Foyer,C.H. & Halliwell, B. (1976) The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplast : A preposed role in ascorbic acid metabolism. Planta ,133:21-25.

Foyer, C.H. & Noctor, G. (2003) Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplast, peroxisomes and mitochondria. Physiol. Plant, 119:355-364.

Foyer, C.H. & Noctor, G. (2005) Redox homeostasis and antioxidant signalling: A metabolic interface between stress perception and physiological responces. Plant Cell, 17:1866-1875.

Gaffney, T., Friedrich, L., Vernooij, B., Negrotto, D., Nye, G., Uknes, S., Ward, E., Kessmann, H. & Ryals, J.(1993) Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance.Science, 261:754-756.

Goldfard, B., Hacket, W.P., Furnier, E.R., Mohn, C.A. & Plietzsch, A.(1998) Adventitious root initiation in hypocotyls and epicotyl cuttings of eastern white pine (*Pinus strobes*) seedlings . Physiol. Plant, 102:513-522.

Hess, C.E.(1961) The mung bean bio assay for detection of root promoting substances. Plant Physiol., 36: suppl. 21.

Kawano, T., Tanaka, S., Kadono, T. & Muto, S.(2004)Salicylic acid glucoside acts as a slow inducer of oxidative burst in tobacco suspension culture .Z.Natur Forsch, 59:684-692.

Kerk, N.M. & Feldman, L.J.(1994) The quiescent center in the roots of maize:initiation, maintenance and role in organization of the root apical meristem.Protoplasma,183:100-106.

Knight, M.R., Cambell, A.K., Smith, S.M. & Trewaves, A.J.(1991) Transgenic plant aequiron reports the effects of touch and cold shock and elicitors on cytosolic calcium, Nature,352:524-526.

Liebler, D.C., Kling, D.S. & Reed, D.J.(1986) Antioxidant protection of phospholipid bilayers by α-Tochopherol. Control of α-Tochopherol by ascorbic acid and glutathione. J. Biol.Chem., 261:12114-12119.

Middleton, W., Jarvis, B.C. & Booth, A.(1978b) The effect of ethanol on rooting and carbohydrate metabolism in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. New Phytol., 81:279-285.

Moller, I.M.(2001) Plant mitochondria and oxidative stress. Electron transport,NADPH turnver and metabolism of reactive oxygen species. Annu.Rev.Plant Physiol.Plant Mol.Biol.,52: 561-591.

ISSN 2072-3875

Noctor, G. & Foyer, C.H.(1998) Ascorbate and glutathione :Keeping active oxygen under control. Annu.Rev.Plant Physiol.Plant Mol. Biol., 49:249-279.

Sanders, D., Brownlee, C. & Harper, J.F.(1999) Communicating with calcium. Plant Cell, 11:691-706.

Shaheed, A.I. & Mohammad, A.J. (2010) The role of Salicylic acid in alleviating boron toxicity in mung bean cuttings. Nat. J.Chem.,39:589-604.

Smirnoff, N.(2000a) Ascorbate biosynthesis and function in photoprotection.Biol.Sci.,355:1455-1465.

Smirnoff, N.(2005)Ascorbate,tocopherol and carotenoides : Metabolism, pathway engineering and functions.In:Smirnoff, N.(ed.) Antioxidant and reactive oxygen species in plants.Blackwell publishing Ltd.,Oxford, UK, Pp:53-86.

Thomas, C.E., Mclean, L.R., Parker, R.A. & Ohlweiler, D.F.(1992) Ascorbate and phenolic antioxidant interaction in prevention of liposomal oxidation .Lipids,27:543-550.

ISSN 2072-3875