تأثير الرش الورقي بحامضي الأسكوربك والسالسلك في نشاط مضادات الأكسدة غير الانزيمية لنباتي C_3 و C_4 تحت اجهاد كلوريد الصوديوم.

اسماعيل خليل السامرائي كلية الزراعة - جامعة بغداد

حسن هادي مصطفى العلوي كلية الزراعة - جامعة ديالى

المستخلص

نفذت التجربة في احد حقول كلية الزراعة- جامعة ديالى للموسم الربيعي 2013 لدراسة تأثير رش حامضي الأسكوربك (AsA) والسالسلك (SA) وبتراكيز 2 و0.2 ملي مول بالتتابع على نباتات زهرة الشمس (C3) والذرة الصفراء (C4) المعرضة لثلاثة مستويات من اجهاد ملح كلوريد الصوديوم (0 و50 و100 ملي مول). أظهرت النتائج أن تعريض النباتات للاجهاد الملحي قد حث نشاط مضادات الأكسدة غير الانزيمية اذ ازداد محتوى الألفا- توكوفيرول (α-Tocopherol) والفينولات الكلية (Total phenol) كما ازداد محتوى بيروكسيد الهيدروجين (H2O2) معنويا بزيادة مستويات الاجهاد الملحي فيما انخفض محتوى البيتا- كاروتين (β-Carotene) معنويا بزيادة تعريض النباتات للاجهاد الملحي ذاته. كما بينت النتائج أن رش حامضي الأسكوربك والسالسلك زاد فعالية الألفا- توكوفيرول والبيتا- كاروتين والفينولات الكلية بشكل معنوي تحت الاجهاد الملحي مما أدى الى تجنب النباتات لآثار الاجهاد الملحي الضارة من خلال خفض محتوى بيروكسيد الهيدروجين في أوراق النباتات التي تم رشها بحامضي الأسكوربك والسالسلك بعد تعريضها لاجهاد ملح كلوريد الصوديوم.

الكلمات المفتاحية: حامض الأسكوربك، حامض السالسلك، الألفا_توكوفيرول، البيتا_كاروتين، الفينولات الكلية، بيروكسيد الهيدروجين.

المقدمة

يؤثر الاجهاد الملحي على ما يقارب 7% من الأراضي في العالم أي ان أكثر من 800 مليون هكتار من الأراضي في العالم هي متأثرة بالملوحة، كون الاجهاد الملحي يثبط انبات البذور ونمو النبات من خلال التأثير في عملية البناء الضوئي وامتصاص الماء وتخليق البروتينات وانتاج الطاقة وأيض الليبيدات (Wang وآخرون ،2013). تزداد مشكلة تملح الترب في المناطق الجافة وشبه الجافة بسبب قلة الأمطار ودرجات الحرارة العالية وارتفاع التبخر– نتح بشكل عال بالتزامن مع ضعف ادارة الترب والمياه (Anwar-ul-Haq وآخرون ،2013). يزداد تركيز أيوني الصوديوم والكلوريد في جميع أجزاء النبات بزيادة الاجهاد الملحي في التربة وبتراكم هذين الأيونين في النبات تتضرر أغشية الجذور ويسببان اختلالا أيونيا يؤثر في امتصاص أيونات مهمة كالبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم (Hussain وآخرون ،2014). ان الاجهاد الملحي كغيره من الاجهادات غير الحيوية يحدث ضررا أكسديا في خلايا النبات من خلال حثه لنشوء أنواع الأوكسجين النشط (ROS) ومنها بيروكسيد الهيدروجين والتي تؤدي دورا مهما من خلال استخدام الخلية لها بوصفها رسولا في اعطاء الاشارات الخلوية أو تعديل حالة الأكسدة والاختزال في الحالة الطبيعية للخلية الا ان الكميات الزائدة منها تعد خطرة على العديد من المركبات الخلوية كالبروتينات والأحماض النووية والدهون (Kim وآخرون ،2005). اذ أشار Hernandez وآخرون (2010) أن موقع زيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين داخل الخلية كان في المايتوكوندريا وذلك عند دراستهم لجذور نبات البروكلي المعرض لإجهاد ملح كلوريد الصوديوم. إن حامض الأسكوربك الذي هو فيتامين C (L-Ascorbic acid) جزيء صغير مضاد للأكسدة ذائب في الماء ويعمل على تحييد (Scavenger) أنواع من الأوكسجين النشط مثل $O_2^{\cdot-}$ و $OH^{\cdot}$ و H_2O_2 و $^1O_2$ باعتباره عاملا مختزلا (الوهيبي ، 2009)، وهو مركب عضوي تحتاجه النبات الراقية بكميات قليلة للمحافظة على نموها الطبيعي (Amin وآخرون ، 2008).

تاريخ تسلم البحث 27 / 5 / 2015 .
تاريخ قبول النشر 12 / 10 / 2015 .
http://www.agriculmag.uodiyala.edu.iq/

يتوافر هذا الحامض في أنسجة النبات جميعها وخاصة في خلايا التمثيل الضوئي والمرستيمات وفي بعض الفواكه يتوافر بنسبة 30- 40 % في الكلوروبلاست وبتركيز يفوق 50 ملي مول في الثغور ويزداد في الأوراق الناضجة اذ يكون الكلوروفيل بأعلى مستوياته (Shao وآخرون، 2008). إن حامض السالسلك (SA) هو أحد منظمات النمو النباتية وذو طبيعة فينولية يعمل مضاداً أكسدياً غير إنزيمي ويشترك في تنظيم عدد من الوظائف الفسيولوجية التي تجري داخل النبات، اذ ينظم عملية فتح الثغور وغلقها وامتصاص الأيونات ونقلها والتمثيل الضوئي والعلاقات المائية والنتح وتخليق الكلوروفيل وتخليق البروتين ونقله، فضلا عن أثره في تنشيط تخليق الكاروتينات والزانثوفيلات، وان تأثيره في تعزيز قابلية التمثيل الضوئي للنبات يمكن أن يجعله مؤثرا في محتوى الصبغات النباتية كالكلوروفيل والأنثوسيانين وتثبيط التخليق الحيوي للاثيلين كما يزيد من معدل النمو والإنتاج وكل هذه الوظائف تعطيه دوراً مهماً في تحمل النبات للملوحة (Purcarea وآخرون، 2010؛ Karim و Khursheed ،2011 ؛ Noreen وآخرون، 2011؛ Dawood وآخرون، 2012).

يعد نبات الذرة الصفراء من نباتات C4 وهو ثالث أهم محصول حبوبي بعد الحنطة والرز وهو من النباتات الحساسة للملوحة (Akram وآخرون ،2007 ؛ Eker وآخرون،2006)، أما نبات زهرة الشمس فهو من نباتات C3 ويعد رابع أهم محصول زيتي بعد فول الصويا والنخيل والكانولا وينخفض حاصله بشكل كبير اذا ما زرع تحت الظروف الملحية (Anwar-ul-Haq وآخرون ،2013).

ان الهدف من هذه الدراسة هو معرفة نشاط مضادات الأكسدة غير الانزيمية كالألفا- توكوفيرول والبيتا- كاروتين والفينولات تحت الاجهاد الملحي وكذلك تاثير الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك في نشاط هذه المضادات غير الانزيمية التي تبطل سمية أنواع الأوكسجين النشط ومنها بيروكسيد الهيدروجين لنباتات C3 وC4.

المواد وطرائق البحث

نفذت التجربة في أحد حقول كلية الزراعة – جامعة ديالى للموسم الربيعي 2013 لدراسة تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في نشاط مضادات الأكسدة غير الانزيمية لمحصولي الذرة الصفراء وزهرة الشمس تحت مستويات مختلفة من إجهاد ملح كلوريد الصوديوم، صممت التجربة وفق تصميم القطع المنشقة المنشقة واستخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة للقطع الرئيسة، وزعت مستويات الملوحة المعاملات الرئيسة وهي ماء النهر و 50 ملي مول و 100 ملي مول من ملح كلوريد الصوديوم ورمز اليها S1 و S2 و S3 بالتتابع، في حين وزعت نباتات زهرة الشمس والذرة الصفراء المعاملات الثانوية ورمز اليها C3 و C4 بالتتابع، بينما مثل حامض الأسكوربك (2 ملي مول) وحامض السالسلك (0.2 ملي مول) والرش بالماء المقطر المعاملات تحت الثانوية ورمز اليها AsA وSA وControl بالتتابع، تضمنت التجربة ثلاثة مكررات لكل معاملة فبلغ العدد الكلي للوحدات التجريبية (3 مستويات ملوحة × 2 من النباتات × 3 من معاملات الرش × 3 مكررات) =54 وحدة تجريبية. أستخدم نظام الري بالتنقيط في عملية الإرواء من خلال منظومة تنقيط شريطية من نوع T.Tape ذات أقطار داخلية 0.5 انج، المسافة الفاصلة بين منقط وآخر 25 سم، جهزت الأنابيب الفرعية بمفاتيح سيطرة للتحكم بري الألواح الرئيسة بالتراكيز الملحية المقررة. زرعت بذور الذرة الصفراء (Zea mays L.) صنف بغداد 3 وزهرة الشمس (Helianthus annuus L.) صنف شموس بتأريخ 10 – 3 – 2013 في خطوط المسافة الفاصلة بين جورة وأخرى 25 سم وبين خط وآخر 75 سم. تم البدء بتعريض النباتات إلى الإجهاد الملحي بعد ظهور الورقة الرابعة ولمدة 14 يوماً متتالية، بعد ايقاف عملية الري بالمستويات الملحية بيومين تم رش النباتات بحامضي الأسكوربك والسالسلك في الصباح الباكر مع تبلل الأوراق بالكامل ثم رويت النباتات بعد هذه المدة بمياه النهر (0.79:EC ديسي سيمنزم-1) لحين انتهاء الموسم في نهاية الشهر السادس. أضيف سماد اليوريا (46% N) وسماد السوبر فوسفات الثلاثي (20% P) وسماد كبريتات البوتاسيوم (43% K) بواقع 200 كغم N هـ-1 و75 كغم P هـ-1 و150 كغم K هـ-1 بالتتابع، اذ أضيفت الدفعة الأولى من سمادي اليوريا وكبريتات البوتاسيوم بعد أسبوع من بزوغ البادرات أما الدفعة الثانية من هذين السمادين فأضيفت بعد شهر من الدفعة الأولى والدفعة الأخيرة بعد شهر من

الدفعة الثانية، أما سماد السوبر فوسفات الثلاثي فقد أضيف دفعة واحدة قبل الزراعة. جمعت عينات التربة من الحقل الذي تمت فيه التجربة من العمق 0– 30 سم بصورة عشوائية، جففت التربة هوائيا وطحنت ومررت من منخل قطر فتحاته 2 ملم وخلطت وأخذت عينة مركبة لغرض إجراء بعض التحاليل الكيميائية والفيزيائية قبل الزراعة كما يبينه الجدول1.

تم استخلاص الألفا_ توكوفيرول اعتمادا على الطريقة الواردة في Ubaldi وآخرون (2005)، وتم استخلاص البيتا _ كاروتين بحسب ما ورد في Oliver وPalou (2000)، أما الفينولات فتم استخلاصها بحسب ما ورد في Suarez وآخرون (2005). وتم قياس المركبات السابقة بجهاز HPLC وحسب المواصفات الآتية:

اسم الجهاز: Shimadzu 10AV-LC , pump model LC-10AV shimadzu .

اظهار القمم: (Peaks) بـ UV-Vis 10 A-SPD Spectrophotometer .

تم قياس الألفا_ توكوفيرول على طول موجي 292 نانوميتر والبيتا_ كاروتين على طول موجي 450 نانوميتر بحسب ما ورد في Gimeno وآخرون (2000).

العمود: STR ODS-II 1 مايكرومل، 3 particle size (column(I. D 4.5 × 50 مليمتر)

الطور المتحرك: (Acetonitrile:2-propanol: water)(V/V/V 39:57:4).

معدل التدفق: 1.5 مل دقيقة -1. ؛ درجة الحرارة : 40 م° .

أما الفينولات فتم قياسها على طول موجي 290 نانوميتر بحسب ما ورد في Pandey وآخرون (2013).

العمود: Phenomenex C-18 DB, مايكرومل 3 particle size (column (I.D 2.0×50 مليمتر)

الطور المتحرك: المذيب A (Actic acid 0.1%)، المذيب B (Acetonitrile :Methanol: Actic acid 0.1% (v/v 1:3:6) . ؛ معدل التدفق : 1.2 مل دقيقة-1.

تم تقدير محتوى بيروكسيد الهيدروجين في الورقة الرابعة بحسب ما ورد في Azzeddine وآخرون (2011).

جدول1. بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية للتربة قبل الزراعة.

الصفة		القيمة	الوحدة
تفاعل التربة pH (مستخلص العجينة المشبعة)		7.48	
الإيصالية الكهربائية EC(مستخلص العجينة المشبعة)		4.84	ديسي سيمنز م$^{-1}$
المادة العضوية		4.4	غم كغم$^{-1}$ تربة
معادن الكاربونات		392	
الايونات الجاهزة	النتروجين	26.8	ملغم كغم$^{-1}$ تربة
	الفسفور	19.0	
	البوتاسيوم	102	
الايونات الذائبة	الكالسيوم	30.8	سنتيمول شحنة كغم$^{-1}$ تربة
	المغنيسيوم	14.0	
	الصوديوم	16.9	
	الكلوريد	3.2	
مفصولات التربة	الرمل	496	غم كغم$^{-1}$
	الغرين	180	
	الطين	324	
النسجة	مزيجة طينية رملية		
الكثافة الظاهرية		1.30	ميكاغرام م$^{-3}$

النتائج والمناقشة

تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى الفينولات الكلية في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت اجهاد كلوريد الصوديوم:

تعد المركبات الفينولية من أبرز مضادات الأكسدة الطبيعية وهي مركبات آروماتية تحمل مجموعة أو أكثر من المجاميع الهيدروكسيلية وتتوافر في أجزاء النبات جميعها ومنها الأوراق (الحلفي والموسوي، 2011). توضح نتائج التداخل بين الاجهاد الملحي والنباتات (S*C) والمبينة في الجدول2 أن الاجهاد الملحي أثر معنويا في زيادة محتوى الفينولات الكلية في نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء بزيادة مستويات ملوحة مياه الري التي عرضت لها، ففي نباتات زهرة الشمس ازداد محتوى الفينولات الكلية بمقدار أكثر من مرتين في المستوى الثاني من الاجهاد الملحي وأكثر من ثلاث مرات في المستوى الثالث من الاجهاد الملحي مقارنة بالمستوى الأول منه، في حين كانت الزيادة في محتوى الفينولات الكلية في نباتات الذرة الصفراء بلغت بمقدار مرة ونصف في المستوى الثاني من الاجهاد الملحي وقرابة الثلاث مرات في المستوى الثالث من الاجهاد الملحي مقارنة بالمستوى الأول منه. توافقت هذه النتيجة مع نتائج الدراسات الحديثة التي أشارت الى زيادة محتوى الفينولات الكلية بزيادة مستويات الاجهاد الملحي في نباتات *Mentha pulegium* (Karray-Bouraoui وآخرون، 2010) ونباتات زهرة الشمس (Rady وآخرون،2011) ونباتات فول الصويا (Verma وآخرون، 2012) ونباتات *Anethum graveolens* L. (Mehr وآخرون، 2012) وعزوا سبب تجمع الفينولات في أنسجة النباتات الى أن الملوحة تحفز(Stimulate) انتاج الفينولات كآلية (Mechanism) يستخدمها النبات لتحييد أنواع الأوكسجين النشط، كما أن الانزيمات المضادة للأكسدة في النباتات يزداد نشاطها استجابة للاجهاد الملحي (Ebrahimian وBybordi، 2012) وان عمل العديد من هذه الانزيمات المضادة للأكسدة مرتبط بمحتوى الفينولات اذ تستخدم الفينولات كركائز لها (Substrate) مما يؤدي الى اكساب النبات تحملا للاجهاد الملحي (Rady وآخرون، 2011).

أدى الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك الى زيادة معنوية في محتوى الفينولات الكلية سواء في نباتات C_3 أوC_4 كما يوضح ذلك التداخل بين النباتات والأحماض (C*A)، فقد ازداد محتوى الفينولات الكلية في نباتات زهرة الشمس بنسبة بلغت 44.47% و37.89% عند استعمال حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة، بينما بلغت نسبة الزيادة في محتوى الفينولات الكلية في نباتات الذرة الصفراء 71.5% و150.91% باستعمال حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة. جاءت هذه النتيجة متشابهة مع نتائج الدراسات الحديثة التي أشارت الى زيادة محتوى الفينولات الكلية باضافة حامض الأسكوربك الى نباتات الحنطة (Farouk،2011) ونباتات *Colubrina asiatica* Brong (Sonar وآخرون،2011) وكذلك باضافة حامض السالسلك الى نباتات زهرة الشمس (Dawood وآخرون ،2012) وذلك بعد تعريضها للاجهاد الملحي؛ فقد ذكر Emam وHelal (2008) أن الفيتامينات ومنها فيتامين C تعمل على تحفيز المركبات الفينولية على التجمع في النباتات المعرضة للاجهاد الملحي وهذه الزيادة في الفينولات هي احدى مظاهر عمل الفيتامينات على تخفيف الآثار الضارة للمستويات العالية من الملوحة من خلال عمل الفينولات على ابطال سمية أنواع الأوكسجين النشط.

جدول2. تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى الفينولات الكلية (مايكروغرام غم$^{-1}$ وزن طري) في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت إجهاد كلوريد الصوديوم.

الأصناف (C)	مستويات الملوحة (S)	الأحماض(A)			المتوسط (S*C)
		Control	AsA	SA	
C_3	S_1	68.84	170.13	152.44	130.47
	S_2	257.38	347.75	346.14	317.09
	S_3	417.55	556.67	526.98	500.40
المتوسط (C*A)		247.92	358.18	341.85	
C_4	S_1	369.33	613.44	834.33	605.70
	S_2	542.09	933.11	1263.75	912.98
	S_3	974.57	1687.86	2634.12	1765.52
المتوسط (C*A)		628.66	1078.14	1577.40	
L.S.D.0.05		S*C*A	S*C	C*A	
		33.205	32.521	19.798	

تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى الألفا_ توكوفيرول في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت اجهاد كلوريد الصوديوم

تعد التوكوفيرولات من مضادات الأكسدة غير الانزيمية اذ تعمل على تحييد أنواع الأوكسجين النشط (ROS) وهي ليبيدات ذائبة تتوافر بكثرة في أغشية الكلوروبلاست ولذلك فهي تشترك في حماية ليبيدات الكلوروبلاست من الضرر الأكسدي الذي تسببه الاجهادات البيئية (Abbasi، 2007). تؤكد نتائج التداخل بين الاجهاد الملحي والنباتات (S*C) في الجدول 3 ان الاجهاد الملحي حث نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء على رفع محتوى الألفا_ توكوفيرول بزيادة مستويات الاجهاد الملحي، اذ ازداد محتوى الألفا_ توكوفيرول في نباتات زهرة الشمس بنسبة بلغت 31.88% و98.41% عند الري بالمستويين الثاني والثالث من الاجهاد الملحي بالتتابع قياسا بالمستوى الأول منه، في حين بلغت نسبة الزيادة في محتوى الألفا_ توكوفيرول في نباتات الذرة الصفراء بنسبة بلغت 15.97% و134.25% عند الري بالمستويين الثاني والثالث من الاجهاد الملحي بالتتابع قياسا بالمستوى الأول منه. اتفقت نتيجة هذه الدراسة مع نتائج الدراسات التي أشارت الى زيادة محتوى الألفا_ توكوفيرول في نباتات زهرة الشمس (Akram وآخرون،2011) ونباتات *Catharanthus roseus* (Abdul Jaleel، 2009) تحت اجهاد ملح كلوريد الصوديوم؛ وهذا يعني أن زيادة مستويات ملح كلوريد الصوديوم يسبب اجهادا يحث (Induce) النباتات على الاستجابة لهذا الاجهاد من خلال زيادة محتوى مضادات الأكسدة ومنها الألفا_ توكوفيرول لمواجهة خطر الاجهاد الأكسدي (الوهيبي، 2009).

أثر الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك ايجابيا في رفع محتوى الألفا_ توكوفيرول في نباتي زهرة الشمس (C_3) والذرة الصفراء (C_4) تحت ظروف الاجهاد الملحي، كما توضحه نتائج التداخل بين النباتات والأحماض (C*A)، ففي نباتات زهرة الشمس كانت نسبة الزيادة في محتوى الألفا_ توكوفيرول قد بلغت 27.60% و75.09% عند اضافة حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة، في حين كانت نسبة الزيادة في نباتات الذرة الصفراء بلغت 62.94% و54.07% عند اضافة حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة. يعود سبب زيادة محتوى الألفا_ توكوفيرول باضافة حامضي الأسكوربك والسالسلك الى النباتات المعرضة للاجهاد الملحي الى أثر هذين

الحامضين في زيادة محتوى الفينول الكلي في هذه النباتات كما يبينه الجدول 2؛ وهذا يتفق مع ما ذكره Farouk (2011) أن الفينولات تثبط أكسدة الليبيدات والدهون من خلال اعطاء (Donor) الجذور الحرة ذرة هيدروجين وجعلها مستقرة أو من خلال تحييدها للجذور الحرة، كما ان الفينولات لها القدرة على تجديد (Regeneration) التوكوفيرول من جذور التوكوفيروكسيل (Reblova وOkrouhla، 2010)، اضافة الى أن حامض السالسلك المستعمل في هذه الدراسة والذي يعد أحد أنواع الفينولات يساهم في تنظيم نفاذية الأغشية من خلال تقليله لأكسدة الليبيدات (Purcarea وCachita-Cosma، 2010) وبذلك فان الفينولات ومنها حامض السالسلك تحمي الليبيدات التي تمثل الألفا_ توكوفيول جزءا منها.

جدول 3. تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى الألفا_توكوفيرول (مايكروغرام غم$^{-1}$ وزن طري) في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت إجهاد كلوريد الصوديوم.

الأصناف (C)	مستويات الملوحة (S)	الأحماض(A)			المتوسط (S*C)
		Control	AsA	SA	
C_3	S_1	145.28	320.57	339.69	268.51
	S_2	314.57	354.77	423.02	364.12
	S_3	408.36	432.46	757.44	532.42
المتوسط (C*A)		289.40	369.27	506.72	
C_4	S_1	147.72	182.36	168.55	166.21
	S_2	160.67	221.79	195.83	192.76
	S_3	229.95	473.03	465.03	389.34
المتوسط (C*A)		179.45	292.39	276.47	
L.S.D.0.05		S*C*A	S*C	C*A	
		10.48	9.55	4.45	

تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى البيتا_ كاروتين في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت اجهاد ملح كلوريد الصوديوم

تعد الكاروتينات بشكل عام صبغات مساعدة في نظام التمثيل الضوئي وتتغير مستوياتها خلال الظروف الفسيولوجية والبيئية المتغيرة ولها وظيفة مهمة أخرى في غشاء الثايلاكويد وهي حماية صبغات الكلوروفيل من الاجهاد الأكسدي (Gomathi وRakkiyapan، 2011) ، ويعد البيتا_ كاروتين من أكثر الكاروتينات أهمية وهو مصدر لفيتامين A اضافة لكونه مضاد أكسدي فعال للأوكسجين المفرد ($^1O_2$) وجذور البيروكسيل (Dauqan وآخرون، 2011). تشير نتائج التداخل بين الاجهاد الملحي والنباتات (S*C) والمبينة في الجدول 4 الى انخفاض محتوى البيتا_ كاروتين في نباتات زهرة الشمس بنسبة بلغت 58.77% و96.53% عند الري بالمستويين الثاني والثالث من الاجهاد الملحي على التوالي قياسا بالمستوى الأول منه، في حين بلغت نسبة الانخفاض في محتوى البيتا_ كاروتين في نباتات الذرة الصفراء 92.96% و137.88% عند الري بالمستويين الثاني والثالث من الاجهاد الملحي على التوالي قياسا بالمستوى الأول منه. اتفقت نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج العديد من الدراسات الحديثة التي أشارت الى انخفاض محتوى الكاروتينات في نباتات الذرة الصفراء تحت اجهاد ملح كلوريد الصوديوم (Tuna وآخرون، 2013؛ Prochazkova وآخرون،2013) كما أشارت نتائج دراسة Norastehnia وآخرون (2014) الى انخفاض محتوى البيتا_ كاروتين في نبات التبغ المعرض الى مستويات متعددة من

تراكيز الكلوريد (10 و20 و40 ملغم لتر$^{-1}$)؛ ان سبب انخفاض محتوى البيتا_ كاروتين يعود الى زيادة تجمع بيروكسيد الهيدروجين في أنسجة النبات بزيادة مستويات الاجهاد الملحي وكما يوضحه الجدول 5 الذي يبين زيادة محتوى بيروكسيد الهيدروجين بزيادة مستويات الاجهاد الملحي، اذ يؤدي زيادة تجمع بيروكسيد الهيدروجين الى تلف أغشية الكلوروبلاست وبالتالي هدم الصبغات النباتية ومنها البيتا_ كاروتين (Tuna وآخرون، 2013).

يبين التداخل بين النباتات والأحماض (C*A) أن صبغة البيتا _ كاروتين تأثرت بشكل ايجابي عند رش حامضي الأسكوربك والسالسلك على نباتات زهرة الشمس والذرة الصفراء النامية تحت ظروف اجهاد ملح كلوريد الصوديوم، اذ تحسن محتوى صبغة البيتا_ كاروتين في نباتات زهرة الشمس بنسبة بلغت 13.97% و44.92% عند رش حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة وكذلك بلغت نسبة التحسن في نباتات الذرة الصفراء في محتوى البيتا_ كاروتين 13.53% و74.39% عند رش حامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة. اتفقت هذه النتيجة مع نتائج الدراسات الحديثة التي أشارت الى تحسن محتوى الكاروتينات باضافة حامض السالسلك في نباتات الذرة الصفراء (Tufail وآخرون، 2013) وزهرة الشمس (Dawood وآخرون، 2012) وباضافة حامض الأسكوربك في نباتات الذرة الصفراء (Hassanein وآخرون، 2009) والحنطة (Farouk،2011) المعرضة للاجهاد الملحي؛ وعزا هؤلاء الباحثون سبب زيادة محتوى الكاروتينات في هذه النباتات المعرضة للاجهاد الملحي باضافة حامضي الأسكوربك والسالسلك الى دور هذين الحامضين كمضادات أكسدة تبطل سمية الجذور الحرة كالأوكسجين المفرد وبيروكسيد الهيدروجين، فضلا عن ان حامض السالسلك ينشط عملية التخليق الحيوي للكاروتينات (Purcarea وآخرون، 2010)، مما أدى الى زيادة محتوى البيتا_ كاروتين في أوراق نباتات زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت ظروف الاجهاد الملحي.

جدول4. تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى البيتا_ كاروتين (مايكروغرام غم$^{-1}$ وزن طري) في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت إجهاد كلوريد الصوديوم.

الأصناف (C)	مستويات الملوحة (S)	الأحماض(A)			المتوسط (S*C)
		Control	AsA	SA	
C_3	S_1	314.74	364.28	547.84	408.95
	S_2	245.25	246.07	281.41	257.58
	S_3	171.13	222.86	230.29	208.09
المتوسط (C*A)		243.70	277.74	353.18	
C_4	S_1	194.73	195.31	416.45	268.73
	S_2	114.60	141.81	161.41	139.27
	S_3	93.58	120.28	125.05	112.97
المتوسط (C*A)		134.30	152.47	234.20	
L.S.D.0.05		S*C*A	S*C	C*A	
		1.66	1.49	1.22	

تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى بيروكسيد الهيدروجين في أوراق نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت اجهاد ملح كلوريد الصوديوم

ان من بين الأنواع المختلفة لأنواع الأوكسجين النشط يعد بيروكسيد الهيدروجين مستقرا نسبيا وله القدرة على اختراق الغشاء البلازمي ، فهو بالرغم من كونه جزيئا معطيا للاشارة ومنظما للتعديلات

الجينية الا انه في المستويات العالية يسبب السمية في الكلوروبلاست ويثبط دورة كالفن (Farouk،2011). يبين التداخل بين الاجهاد الملحي والنباتات (S*C) والمبين في الجدول 5 أن بيروكسيد الهيدروجين ازداد محتواه معنويا في نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء بزيادة مستويات الاجهاد الملحي، اذ ازداد التركيز في نباتات زهرة الشمس بمقدار ثلاث مرات في المستوى الثاني من الاجهاد الملحي وبمقدار خمس مرات في المستوى الثالث من الاجهاد الملحي مقارنة بالمستوى الأول منه، أما في نباتات الذرة الصفراء فقد ازداد محتوى بيروكسيد الهيدروجين بمقدار أكثر من مرة واحدة في المستوى الثاني من الاجهاد الملحي وبمقدار أكثر من أربع مرات في المستوى الثالث من الاجهاد الملحي مقارنة بالمستوى الأول منه. اتفقت هذه النتيجة مع نتائج الدراسات التي أشارت الى زيادة محتوى بيروكسيد الهيدروجين في نباتات الشعير (Kim وآخرون،2005) ونباتات *Spirodela polyrhiza* (Cheng، 2011) ونباتات الكزبرة (Mehr وBahbadi، 2013) بعد تعريض هذه النباتات للاجهاد الملحي.

جدول5. تأثير حامضي الأسكوربك والسالسلك في محتوى بيروكسيد الهيدروجين (مايكرومول غم$^{-1}$ وزن طري) في أوراق زهرة الشمس والذرة الصفراء تحت إجهاد كلوريد الصوديوم.

الأصناف (C)	مستويات الملوحة (S)	الأحماض(A)			المتوسط (S*C)
		Control	AsA	SA	
C_3	S_1	6.64	2.62	4.24	4.37
	S_2	16.49	12.87	14.37	14.57
	S_3	24.62	20.24	22.43	22.43
المتوسط (C*A)		15.78	11.91	13.68	
C_4	S_1	6.12	4.64	4.14	4.97
	S_2	11.81	6.89	10.31	9.67
	S_3	35.18	15.56	20.49	23.74
المتوسط (C*A)		17.70	9.03	11.65	
L.S.D.0.05		S*C*A	S*C	C*A	
		3.35	3.19	2.02	

يبين التداخل بين النباتات والأحماض (C*A) أن بيروكسيد الهيدروجين انخفض محتواه معنويا عند الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك في نباتي زهرة الشمس والذرة الصفراء المعرضة للاجهاد الملحي، ففي نباتات زهرة الشمس انخفض محتوى بيروكسيد الهيدروجين بنسبة بلغت 32.49% و15.35% عند الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة، أما في نباتات الذرة الصفراء فقد انخفض محتوى بيروكسيد الهيدروجين بنسبة بلغت 96.01% و51.93% عند الرش بحامضي الأسكوربك والسالسلك بالتتابع قياسا بمعاملة السيطرة. جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج العديد من الدراسات الحديثة التي أشارت الى انخفاض محتوى بيروكسيد الهيدروجين في النباتات المعرضة للاجهاد الملحي بعد اضافة حامض الأسكوربك لنبات الحنطة (Azzedine وآخرون، 2011 ؛ Farouk ،2011) وحامض السالسلك الى نبات زهرة الشمس (Ebrahimian وBybordi، 2012) والذرة الصفراء (Gautam وSingh، 2011) ونبات *Vicia dasycarpa* (Namdari وBaghbani، 2013)؛ ان سبب انخفاض محتوى بيروكسيد الهيدروجين في أوراق النباتات المعرضة للاجهاد الملحي قيد الدراسة باضافة حامضي الأسكوربك والسالسلك يعود الى عمل هذه الأحماض كمضادات أكسدة فضلا عن حثها لنشاط منظومة الدفاع للنباتات والمتمثلة في هذا البحث بالألفا_ توكوفيرول والبيتا_

كاروتين والفينولات الكلية كما تبينه الجداول 2 و3 و4، اذ اقترح Farouk (2011) أن اضافة حامض الأسكوربك لنباتات الحنطة قد أزالت خطورة أنواع الأوكسجين النشط بسبب زيادة نشاط الفينولات، كما أشار Gautam وSingh (2011) أن معاملة بذور الذرة الصفراء بحامض السالسلك قلل من محتوى بيروكسيد الهيدروجين بسبب زيادته لفعالية انزيم الكاتاليز(Catalase) الذي يحول بيروكسيد الهيدروجين الى ماء وأوكسجين.

المصادر

الحلفي ، سوسن علي حميد وأم البشر حميد جابر الموسوي .2011 . الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات المائية والكحولية لبعض الفواكه. مجلة أبحاث البصرة (العلميات) العدد 37 الجزء الخامس B ص: 82 – 90.

الوهيبي ، محمد بن حمد . 2009. الملوحة ومضادات الأكسدة (مراجعة مختصرة). المجلة السعودية للعلوم البايولوجية . المجلد (16)، العدد (1)، الصفحات: 3-14.

Abdul Jaleel, C. 2009. Changes in non-enzymatic antioxidants and ajmalicine production in Catharanthus roseus with different soil salinity regimes. Bot. Res. Intl. 2 (1): 01-06.

Akram , M., M. Asghar M., M. Yasin A., M. Farrukh S. and M. Hussain. 2007. Competitive seedling growth and K+/Na+ ratio in different maize (*Zea mays* L.) hybrids under salinity stress. Pak. J. Bot., 39 (7): 2553-2563.

Akram, N.A., M. Ashraf and F. Al-Qurainy. 2011. Aminolevulinic acid –induced changes in yield and seed-oil characteristics of sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants under salt stress. Pak. J. Bot.43(6): 2845-2852.

Amin, A.A., El-Sh. M. Rashad and A.E. G. Fatma. 2008. Changes in morphological, physiological and reproductive characters of wheat plants as affected by foliar application with salicylic acid and ascorbic acid. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 2(2): 252-26.

Anwar-ul-Haq , M., A. Sobia, A. Javaid, S. Muhammad, A. S. Zulfiqar, H. A. Ghulam and J.Muhammad. 2013. Morpho-Physiological characterization of sunflower genotypes (*Helianthus annuus* L.) under saline condition. Pak. J. Agri. Sci., Vol. 50(1), 49-54.

Azzedine, F., G. Hocine and B. Mebarek. 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid. J. Stress. Physio. and Bio.Vol.7 (1): 27-37.

Cheng, T., 2011. NaCl-induced responses in giant duckweed (Spirodela polyrhiza). J. Aquat. Plant Manage.49: 62-71.

Dauqan, E., A. S. Halimah, A. Aminah, M. Halimah and A. Gapor M. T., 2011. Vitamin E and beta carotene composition in four different vegetable oils. Am. J. App. Sci., 8(5): 407-412.

Dawood, M. G., S. S. Mervat and M . Hozayen. 2012. Physiological role of salicylic acid in improving performance, yield and some biochemical aspects of sunflower plant grown under newly reclaimed sandy soil. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 6(4): 82-89.

Ebrahimian, E. and A. Bybordi. 2012. Effect of salinity, salicylic acid, silicium and ascorbic acid on lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and fatty acid content of sunflower . Afr. J. Agric. Res. Vol. 7(25): 3685-3694.

Eker, S., C. Gonü, K. Omer, U. Ahmet Can, O. Levent and C. Ismail. 2006 . Effect of salinity stress on dry matter production and ion accumulation in hybrid maize varieties. Turk J Agric, 30: 365-373.

Emam, M.M. and N.M. Helal, 2008. Vitamins minimize the salt-induced oxidative stress hazards. Aust. J. Basic & Appl. Sci., 2(4): 1110-1119.

Farouk, S., 2011. Ascorbic acid and α-tocopherol minimize salt-induced wheat leaf senescence . J. Stress Physiol. and Biochem., Vol.7 (3): 58-79.

Gautam, S. and P.K. Singh. 2011. Effect of salicylic acid on growth and biochemical changes in maize seedling under salt stress . IIOAB, J.,Vol. 2(5): 16-20.

Gimeno, E., E. Calero, A. I. Castellote, R.M. Lamuela-Raventos, M.C. de la Torre and M.C. Lopez-Sabater. 2000. Simultaneous determination of α-tocopherol and β-carotene in olive oil by reversed- phase high-performance liquid chromatography. J. Chromatography A, 881: 255-259.

Gomathi, R. and P. Rakkiyapan. 2011. Comparative lipid peroxidation, leaf membrane thermostability and antioxidant system in four sugarcane genotypes differing in salt tolerance. Int. J.Plant Physio. and Bioch. Vol. 3(4): 67-74.

Hassanein, R. A., F.M. Bassuony, D.M. Baraka and 1R.R. Khali. 2009. Physiological effects of nicotinamide and ascrobic acid on Zea mays plant grown under salinity stress. I-Changes in growth, some relevant metabolic activities and oxidative defense systems. Res. J. Agric. & Biol. Sci., 5(1): 72-81.

Hernandez, M., N. Fernandez-Garcia, P. Diaz-Vivancos and O. Enrique. 2010. A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in Brassica oleracea roots . J. Exp. Bot. Vol. 61(2): 521–535.

Hussain , S., M. Anwar-ul-Haq, A. Zeeshan, A. Muhammad, S. Imran, H. Shahbaz. 2014. Physiological and ionic expressions of different hybrids of maize (*Zea Mays* L.) under different salinity levels. Universal Journal of Agricultural Research 2(5): 168-173.

Karim , F. M. and M. Q. Khursheed. 2011. Effect of foliar application of Salicylic acid on growth, yield components and chemical constituents of wheat (*Triticum aestivum* L. var. Cham 6). Scientific Conference of College of Agriculture -Tikrit University From 26 to 27 April 2011 .

Karray-Bouraoui, N., H. M. Hayfa, R. Mokded, H. Faten, A. Houneida,O. Samia, K. Riadh and L. Mokhtar. 2010. Enzymatic and non- enzymatic antioxidant responses of two Mentha pulegium provenances to salt stress. J. Med. Plant. Res.Vol.,4 (23): 2518- 2524.

Kim, S. Y., L. Jung-Hyun, R. P. Myoung, J. K. Young, I. P. Tae, W. S. Yong, G. C. Kyeong and J. Y. Song. 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. J. Biochem. and Molec. Biol, Vol. 38(2): 218-224.

Mehr, Z. S. and S. E. Bahbadi. 2013. Physiological and antioxidant responses of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to salinity . Int. J. Agri. Crop Sci., Vol.5 (4): 344-348.

Mehr, Z. S., H. Khajeh , S. E. Bahbadi and S. K. Sabbagh. 2012. Changes on proline, phenolic compounds and activity of antioxidant enzymes in Anethum graveolens L. under salt stress. Intl. J. Agron. Plant. Prod.,Vol.3(S) : 710-715.

Namdari, A. and Baghbani. 2013. Seed priming with salicylic acid induces salinity tolerance in Smooth Vetch (*Vicia dasycarpa*) seedling by enhanced antioxidant activities. Intl. J. Agron. Plant Prod. Vol., 4(8): 1798-1805.

Norastehnia, A., M. Niazazari, J. Sarmad and M. Rassa. 2014. Effect of chloride salinity on non-enzymatic antioxidant activity, proline and malondialdehyde content in three flue-cured cultivars of tobacco. J. Plant Develop. 21: 75-82.

Noreen, S., M. Ashraf and A. A. Nudrat, 2011. Does exogenous application of salicylic acid improve growth and some key physiological attributes in sunflower plants subjected to salt stress. J. App. Bot. and Food Quality. 84: 169 – 177.

Oliver, J. and A. Palou. 2000. Chromatographic determination of carotenoids in foods. J. Chromatogr. A,88: 543 – 555.

Pandey, R., A. Singh, S. Maurya, U. P. Singh and M. Singh. 2013. Phenolic acids in different preparations of maize (*Zea mays* L.) and their role in human health. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.,2(6): 84-92.

Procházková, D., R.K. Sairam, S. Lekshmy and N. Wilhelmová. 2013. Differential response of a maize hybrid and its parental lines to salinity stress. Czech J. Genet. Plant Breed. 49: 9–15.

Purcarea, C., P. Adriana, P. Liviu, C. Adriana and E. B. Gheorghe. 2010. Exogenous salicylic acid involvement on some physiological

Parameters amelioration in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* cv.Crisana) plantlets. Analele Universităţii din Oradea, Fascicula : Protecţia Mediului,Vol. XV: 160-165.

Purcărea, C. and D. Cachiţă-Cosma. 2010. Studies regarding the effects of salicylic acid on maize (*Zea mays* L.) seedling under salt stress. Studia Universitatis "Vasile Goldiş", Seria Ştiinţele Vieţii Vol. 20(1): 63-68.

Rady , M.M., M. Sh. Sadak, H.M.S. El-Bassiouny, and A.A. Abd El-Monem. 2011 . Alleviation the adverse effects of salinity stress in sunflower cultivars using nicotinamide and α-tocopherol . Aust. J. Basic & Appl. Sci.5(10) : 342-355 .

Reblova, Z. and P. Okrouhla. 2010. Ability of phenolic acids to protect α-tocopherol. Czech J. Food Sci. Vol., 28(4): 290–297.

Shao, H., C. Z. L. Li-Ye and K. Cong-Min. 2008. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells . Int.J.Biol.Sci.,4 (1):8-14.

Sonar, B.A., N. M. Desai, D.K. Gaikwad and P.D. Chavan. 2011. Assessment of salinity-induced antioxidative defense system in Colubrina asiatica Brong . J. Stress Physi. Biochem., Vol.7(3): 193-200.

Suarez, B., N. Palacion, N. Fragan and R. Rodriguez. 2005. Liquid chromatographic method for quantifying polyphenols in cidres by direct injection. J. Chromatogr. A, 1066: 105- 110.

Tufail, A., A. Muhammad, R.G. Ali, K. Abdullah and B. Asghari. 2013. Salicylic acid induced salinity tolerance in maize (*Zea mays* L.). Pak. J. Bot., 45(S1): 75-82.

Tuna, A. L., C. Kaya, H. Altunlu and M. Ashraf. 2013. Mitigation effects of non-enzymatic antioxidants in maize (*Zea mays* L.) plants under salinity stress . AJCS 7(8):1181-1188.

Ubaldi, A., Dclbono G., A. Fusari and P. Scrventi. 2005. Quick HPLC method to determine vitamin E concentration in cow,s milk. Ann. Fac. Medic. Vet.di Parma. Vol. XXV: 101-110.

Verma, S. K., C. Meetu and P. Veeru. 2012. Study of the alleviation of salinity effect due to enzymatic and non-enzymatic antioxidants in Glycine Max. R.J.P.B.C.S.,Vol.3(2):1177-1185.

Wang , M , Z. Qingsong , S. Qirong and G. Shiwei. 2013. The critical role of potassium in plant stress response . Int. J. Mol. Sci.14: 7370-7390.

EFFECT OF FOLIAR APPLICATION BY ASCORBIC AND SALICYLIC ACIDS IN ACTIVITY OF NON-ENZYMATIC ANTIOXIDANTS OF C_3 AND C_4 PLANTS UNDER SALT STRESS

I. K. Samerria **H. H. M. Al-Alawy**
College of Agriculture- University of Baghdad College of Agriculture- University of Diyala

ABSTRACT

The experiment was conducted in fields of college of Agriculture _ University of Diyala during spring season 2013 to study the impact of exogenous application of ascorbic acid (AsA) and salicylic acid (SA) at concentration 2 and 0.2 mM respectively on sunflower (C3) and maize (C4) plants after exposure them to salt stress using the salt of NaCl were: control, 50 and 100 mM respectively. The results of this experiment were significantly increasing in content of total phenols and α_tocopherol, however the content of β_carotene and H2O2 were decreased under salt stress. Foliar application of AsA and SA on C3 and C4 plants which grow under salt stress induction the non-enzymatic system. The content of total phenols, α_tocopherol and β_carotene increased with foliar application of ascorbic acid and salicylic acid, however the content of H2O2 was decreased.

Key words: Ascorbic acid, Salicylic acid, α-tocopherol, β-carotene, Total phenols.