تأثير حامض الساليسلك في نشاط مضادات الأكسدة الإنزيمية والبرولين في الذرة الصفراء تحت إجهاد NaCl .

إسماعيل خليل إبراهيم السامرائي* **زكريا حسن حميد العبيدي ****

* أستاذ - قسم علوم التربة والموارد المائية - كلية الزراعة – جامعة بغداد. ismeal _1950 @yahoo.com

** مدرس - قسم علوم الحياة - كلية العلوم – جامعة ديالى .

المستخلص

لدراسة تأثير مستويات مختلفة من حامض الساليسلك في نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمية والبرولين في النمو الخضري لنبات الذرة الصفراء تحت الإجهاد الملحي ، نفذت تجربة أصص في البيت الزجاجي التابع لقسم علوم التربة والموارد المائية في كلية الزراعة جامعة بغداد في تربة Typic Torrifluvent ذات نسجة مزيجة طينية غرينية ، صممت تجربة عاملية وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة Randomized Complete Block Design وتضمنت استخدام ثلاثة مستويات ملوحة لماء الري شملت C_1 0.5 و C_2 5.0 و C_3 9.5 ديسي سيمنزم$^{-1}$ و خمسة تراكيز لحامض الساليسلك 0 ، 250، 500 ، 1000 ، 1500 مايكرومول. لتر$^{-1}$ و بثلاثة مكررات. أظهرت نتائج التجربة أن زيادة الإجهاد الملحي تسببت في زيادة معنوية في فعالية مضادات الأكسدة الإنزيمية (SOD و POD و CAT) و زيادة تركيز الحامض الأميني البرولين . الرش بحامض الساليسلك بدوره تسبب في انخفاض معنوي في فعالية مضادات الأكسدة الإنزيمية وفي تركيز البرولين .

الكلمات المفتاحية : إجهاد ملحي ، حامض الساليسلك ، الذرة الصفراء ، SOD ، POD، CAT ، برولين .

المقدمة

تتعرض النباتات إلى أنواع مختلفة من الإجهادات البيئية (حيوية وغير حيوية) ، ويعد الإجهاد الملحي من أخطر أنواع الإجهادات غير الحيوية التي تؤثر في نمو النباتات . يمكن تعريف الإجهاد الملحي Salt stress بأنه زيادة تركيز الأملاح الذائبة في وسط نمو النبات (التربة) ينتج عنها اضطراب وخلل في العمليات الأيضية يؤدي إلى انخفاض النمو وربما موت النبات . بصورة عامة يصاحب زيادة تركيز الأملاح الذائبة في وسط نمو النبات خمسة أنواع من الاجهادات تشمل (الإجهاد الأزموزي و السمية النوعية للأيونات و إختلال التوازن الأيوني و الإجهاد الأكسدي و الإجهاد الناتج عن إختلال هرمونات النمو (Zhu، 2002) .

يعد الإجهاد الأكسدي (زيادة إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال) Reactive oxygen Species (ROS) ومنها السوبرأوكسيد ($O_2^{\bullet-}$) و بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 أحد أهم أنواع الإجهادات المصاحبة للإجهاد الملحي ، ففي الظروف الطبيعية يكون هناك توازن بين ما ينتج وما يهدم من تلك الأنواع من الأوكسجين ، لكن عند تعرض النبات إلى الإجهاد الملحي يزداد معدل إنتاج تلك الأنواع من الأوكسجين الفعال ، هذه الأنواع من الأوكسجين شديدة الأكسدة ، فهي تستطيع أكسدة البروتينات ، والأحماض النووية ، والدهون مما يسبب أضراراً كبيرة في الخلية الحية (Zhu ، 2002) .

تاريخ تسلم البحث 30 / 6 / 2013 .
تاريخ قبول النشر 27 / 11 / 2014 .
البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثاني
http://www.agriculmag.uodiyala.edu.iq/

تلجأ النباتات إلى العديد من الآليات التي تساعدها على تحمل الإجهاد الملحي من تلك الآليات إستحثاث إنتاج مضادات الأكسدة (الإنزيمية و غير الإنزيمية) و زيادة إنتاج المنظمات الأزموزية (Parida و Das ، 2005) . تعد إنزيمات السوبر أوكسيد دسميوتيز Superoxide dismutase (SOD) و البيروكسيديز Peroxidase (POD) والكاتليز Catalase (CAT) من أهم مضادات الأكسدة الإنزيمية التي تعمل على التخلص من أنواع الأوكسجين الفعال (Wu وآخرون ، 2006) ، في حين يعد الحامض الأميني البرولين من أهم أنواع المنظمات الأزموزية التي تعمل على المحافظة على الجهد الأزموزي داخل الخلايا النباتية (Yamada و آخرون ، 2005) ، كما يؤدي دوراً مهماً كمضاد للأكسدة وحماية البروتينات والأغشية الخلوية والتراكيب الخلوية المختلفة مثل المايتوكوندريا والبلاستيدات الخضر تحت الظروف البيئية السيئة (Ashraf وFoolad ، 2007) .

أعتمدت العديد من الإستراتيجيات سواء التقليدية أو الحديثة للحد من التأثيرات السلبية للإجهاد الملحي ، من هذه الإستراتيجيات غسل الأملاح من التربة عن طريق إنشاء منظومات ري وبزل تعمل على غسل الأملاح من المنطقة الجذرية ، فضلاً عن استعمال المصلحات الكيميائية مع الغسل خصوصاً مع الترب القلوية والملحية القلوية ، و استنباط أصناف نباتية متحملة للملوحة عن طريق الانتخاب والتهجين ، و التقنيات الحديثة المتعلقة بالهندسة الوراثية ونقل الجينات الخاصة بتحمل الملوحة من النباتات المتحملة إلى النباتات غير المتحملة للملوحة . هذه التقنيات جميعاً تتطلب إمكانيات مادية وبشرية وأحياناً كميات كبيرة جداً من المياه ، لذلك يصعب في كثير من الأحيان اللجوء إلى قسم من هذه الإستراتيجيات (Ashraf وآخرون ، 2008) .

في العقود الأخيرة حاول العديد من الباحثين إستخدام إستراتيجيات سهلة التطبيق وقليلة التكلفة وآمنة من الناحية البيئية تضمن زراعة مستدامة من هذه الإستراتيجيات إستخدام منظمات النمو وتشمل العديد من منظمات النمو كالأوكسينات ، والجبرلينات ، والسايتوكاينينات ، وحامض الأبسيسك .

حامض الساليسلك Salicylic acid من المركبات الفينولية التي بدأت تأخذ مساحة واسعة من اهتمام الباحثين في هذا المجال ، ففي العقدين الأخيرين أجرى الباحثون العديد من الدراسات حول إمكانية إستخدام هذا الحامض في الحد من الآثار الضارة الناتجة عن أنواع عديدة من الإجهادات البيئية سواء الحيوية أو غير الحيوية ، النتائج التي تحققت في هذا المجال ولاسيما في مجال إستخدام حامض الساليسلك في تقليل الآثار الضارة الناتجة عن الإجهاد الملحي كانت مشجعة جداً (Khodary ، 2004).

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة مدى إمكانية إستخدام حامض الساليسلك في تقليل الآثار الضارة للإجهاد الملحي على نبات الذرة الصفراء *Zea mays* L. من خلال تأثيره في بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية (SOD و POD و CAT) وغير الإنزيمية (البرولين) .

المواد وطرائق البحث

نفذت تجربة أصص عاملية وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) في البيت الزجاجي التابع لقسم علوم التربة والموارد المائية باستخدام ثلاثة مستويات ملوحة لماء الري شملت C_1 0.5 و C_2 5.0 و C_3 9.5 ديسي سيمنز م$^{-1}$ جرى إعدادها بإذابة ملح كلوريد الصوديوم في ماء الإسالة بواقع 0 و 2.9 و 5.8 غم. لتر$^{-1}$ و خمسة تراكيز لحامض الساليسلك 0 و 250 و500 1000 و 1500 مايكرومول. لتر$^{-1}$ وثلاثة مكررات . نفذت التجربة للفترة من 17/ 1/ 2011 ولغاية 2011/3/24 . بتأريخ 17 / 1/ 2011 زرعت 10 بذور من الذرة الصفراء *Zea mays* L. صنف 5018 في أصص بلاستيكية جرى تعبئتها بـ 6 كغم من تربة Typic Torrifluvent ذات نسجة مزيجة طينية غرينية ، والجدول (1) يوضح بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لتربة الدراسة . خفت النباتات إلى 6 نباتات بعد بزوغ البادرات . أضيف السماد المركب 20-10-20 بواقع

1غم لكل أصيص مع ماء الري بعد عملية الخف دفعة واحدة . تمت عمليات ري النباتات يومياً لمدة أربعة أسابيع (باستخدام ماء الإسالة) والجدول 2 يبين بعض صفات ماء الإسالة المستخدم في التجربة ، واعتمدت الطريقة الوزنية في تحديد متطلبات الري وصولاً إلى 75% من الماء الجاهز . بعد أربعة أسابيع من الزراعة بدأت عملية تعريض النباتات إلى الإجهاد الملحي باستخدام المحاليل الملحية التي تم إعدادها مسبقاً في عمليات الري بدلاً من ماء الإسالة . بعد مرور أسبوعين من بدء التعريض للإجهاد الملحي تمت عملية رش النباتات بمحاليل حامض الساليسلك مع إضافة مادة tween 20 كمادة ناشرة بتركيز 0.1 % مع محاليل الرش . استمرت عمليات الري باستخدام المحاليل الملحية لمدة خمسة أسابيع حتى إنهاء التجربة التي استمرت لغاية 2011 /3/24 .

جدول 1. بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربة الدراسة قبل الزراعة .

الصفة	القيمة		الوحدة
تفاعل التربة pH (مستخلص 1:1)	7.63		
الإيصالية الكهربائية (Ec) (مستخلص 1:1)	3.5		ديسي سيمنز م$^{-1}$
السعة التبادلية الكتيونية (CEC)	21.8		سنتيمول شحنة كغم$^{-1}$ تربة
المادة العضوية	14.1		غم كغم$^{-1}$
الجبس	0.35		
معادن الكاربونات	243		
النتروجين الجاهز	36.5		ملغم كغم$^{-1}$
الفسفور الجاهز	21.2		
البوتاسيوم الجاهز	173		
مفصولات التربة	155	الرمل	غم كغم$^{-1}$
	536	الغرين	
	309	الطين	
النسجة	مزيجة طينية غرينية		
الكثافة الظاهرية	1.35		ميكاغرام م$^{-3}$

جدول 2. بعض التحاليل الكيميائية لماء الإسالة المستخدم في التجربة.

الصفة	القيمة	الوحدة
الايصالية الكهربائية	0.5	ديسي سيمنز م$^{-1}$
pH	7.6	–
الكالسيوم	4.0	ملي مول لتر$^{-1}$
المغنيسيوم	3.6	ملي مول لتر$^{-1}$
الصوديوم	1.3	ملي مول لتر$^{-1}$
نسبة إمتزاز الصوديوم SAR	0.9	
صنف الماء	C_2S_1	

في نهاية التجربة أخذت عينات الأوراق لغرض تقدير فعالية مضادات الأكسدة الإنزيمية (السوبرأوكسيد دسميوتيز SOD والبيروكسيديز POD والكاتليز CAT) والحامض الأميني البرولين . تم هرس 1غم من الأوراق الطرية في 10 سم^3 من (0.1 مول .لتر$^{-1}$) فوسفات البوتاسيوم الدارئ ذو أس هيدروجيني (pH 7.8) باستخدام هاون خزفي وفي حمام ثلجي وبعد هرس العينة و ترشيحها من خلال قطعة قماش أخضع الراشح لعملية النبذ المركزي باستخدام جهاز نبذ مركزي مبرد على درجة 4 م ° بسرعة 4000 دورة. دقيقة$^{-1}$ لمدة نصف ساعة . أخذ الراشح لتقدير الفعالية الإنزيمية (Pitotti وآخرون ، 1995) . قدرت فعالية إنزيم SOD بطريقة النايتروبلوتترازوليم (NBT) والرايبوفلافين وحسب طريقة Beyer و Fridovich (1987) ، في حين قدرت فعالية POD وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل Nezih (1985) ، أما فعالية إنزيم CAT فقدرت حسب طريقة Aebi (1974) . قدر الحامض الأميني البرولين باستخدام جهاز المطياف الضوئي و حسب طريقة Bates وآخرون (1973) .

النتائج والمناقشة

تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم السوبرأوكسيد دسميوتيز SOD

تظهر النتائج في الجدول 3 حصول زيادة معنوية في فعالية إنزيم SOD بزيادة الإجهاد الملحي فقد بلغ متوسط فعالية الإنزيم 84.89 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ للمستوى الملحي C_1 وقد إرتفع إلى 101.35 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ للمستوى الملحي C_2 ، و إلى 112.05 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ للمستوى الملحي C_3 . نتائج الدراسة جاءت متفقة مع العديد من نتائج الدراسات السابقة ومنها نتائج Ali(2011) . إنزيم SOD يعد الخط الدفاعي الأول ضد إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال إذ يعمل على تحويل السوبرأوكسيد $O_2^{\cdot-}$ إلى أوكسجين وبيروكسيد الهيدروجين ، بيروكسيد الهيدروجين يتم التخلص منه من خلال عمل إنزيمي POD و CAT . زيادة الإجهاد الملحي تعمل على إستحثاث الجينات المسؤولة عن إنتاج هذا الإنزيم ومن هذه الجينات *Sod4* و *Sod4A* (Boldt و John ، 1995) .

إستخدام الرش بحامض الساليسلك للتراكيز جميعاً حقق إنخفاضاً معنوياً في متوسط فعالية إنزيم SOD قياساً بمعاملة عدم الرش بالحامض التي بلغ متوسط فعالية إنزيم SOD فيها 109.27 وحدة ملغم بروتين-^{1} . أقصى إنخفاض في متوسط فعالية إنزيم SOD حققته معاملة الرش بحامض الساليسلك

جدول 3. تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم السوبرأوكسيد دسميوتيز SOD (وحدة ملغم بروتين$^{-1}$) لنبات الذرة الصفراء صنف 5018 تحت الإجهاد الملحي .

تراكيز حامض الساليسلك SA (مايكرومول. لتر$^{-1}$)	مستويات ملوحة ماء الري (ديسي سيمنزم-^{1})			المتوسط
	C_1	C_2	C_3	
	0.5	5.0	9.5	
	فعالية إنزيم SOD (وحدة ملغم بروتين$^{-1}$)			
0	89.61	112.53	125.67	109.27
250	84.99	106.18	117.58	102.92
500	82.50	99.18	109.67	97.12
1000	82.52	93.61	102.00	92.71
1500	84.84	95.24	105.34	95.14
المتوسط	84.89	101.35	112.05	
$L.S.D_{0.05}$	C	SA		C * SA
	1.77	2.28		3.96

بتركيز 1000 مايكرومول. لتر$^{-1}$ محققة 92.71 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ قياساً بمعاملة عدم الرش بانخفاض معنوي وصلت نسبته إلى 15.2 % . نتائج الدراسة تتفق مع نتائج Khodary (2004) ؛ Fahad و Bano (2012) التي بينت أن الرش بتراكيز منخفضة من حامض الساليسلك كان فعالاً في خفض فعالية إنزيم السوبرأوكسيد دسميوتيز SOD .

إن إستخدام المستوى الملحي الأول C_1 مع تركيزي 500 أو 1000 مايكرومول. لتر$^{-1}$ حامض الساليسلك حققتا أقل قيم لفعالية إنزيم السوبرأوكسيد دسميوتيزSOD بلغت 82.50 و 82.52 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ بالتتابع في حين المستوى الملحي الثالث C_3 مع عدم الرش بحامض الساليسلك تسبب في زيادة فعالية الإنزيم معطياً أعلى قيمة بين بقية المعاملات وصلت إلى 125.67 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$.

بين Khodary (2004) في تفسيره لتأثير الرش بحامض الساليسلك في خفض فعالية إنزيم السوبرأوكسيد دسميوتيز SOD أن الرش بحامض الساليسلك قد تسبب في تقليل إنتاج أنواع الأوكسجين الفعال ومنها السوبرأوكسيد ($O_2^{\bullet -}$) مما تسبب في خفض فعالية إنزيم السوبر أوكسيد دسميوتيز SOD ، كما أدى إلى زيادة تركيز صبغات التمثيل الضوئي (كلوروفيل a وكلوروفيلb والكاروتينات) في الأوراق و حسن مقدرة النبات على التمثيل الضوئي مما إنعكس على زيادة تركيز الكربوهيدرات و قد أثبت ذلك باستخدام $^{14}CO_2$.

تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم البيروكسيديز POD

تبين نتائج الجدول 4 أن الإجهاد الملحي نتج عنه زيادة معنوية في فعالية إنزيم البيروكسيديز POD ، فقد زاد متوسط فعالية إنزيم البيروكسيديزPOD إلى 37.73 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$بالمستوى الملحي الثاني C_2 بزيادة معنوية نسبتها 53.6% عن متوسط فعالية الإنزيم بالمستوى الملحي الأول C_1 ، و إلى 51.74 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ بالمستوى الملحي الثالث C_3 بزيادة معنوية 110.6 % عن متوسط فعالية الإنزيم باستخدام المستوى الملحي الأول C_1 البالغة 30.72 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$. نتائج الدراسة تتفق مع نتائج الجشعمي (2010) ؛ Fahad و Bano (2012) التي أكدت زيادة فعالية إنزيم البيروكسيديز في نباتات الذرة الصفراء عند تعرضها للإجهاد الملحي .

إستخدام الرش بحامض الساليسلك وبالتراكيز جميعاً حقق إنخفاضاً معنوياً في فعالية إنزيم البيروكسيديز POD وقد تراوحت نسبة الانخفاض بين 12.8% في معاملة الرش باستخدام 250 مايكرومول. لتر$^{-1}$ و 24.4 % في معاملة الرش بـ 500 مايكرومول. لتر$^{-1}$.

إستخدام مياه ري ذات ملوحة منخفضة C_1 مع 1500 مايكرومول. لتر$^{-1}$ حامض ساليسلك حقق أكبر إنخفاض معنوي في فعالية إنزيم البيروكسيديز POD بلغ 26.2% قياساً بمعاملة المقارنة (الري باستخدام مياه ذات ملوحة منخفضة C_1 ومن دون رش بحامض الساليسلك) ، في حين أن معاملة الري باستخدام مياه ذات ملوحة مرتفعة C_3 ومن دون رش بحامض الساليسلك نتج عنها أعلى قيمة لفعالية إنزيم البيروكسيديز POD بلغت 61.45 وحدة .ملغم بروتين$^{-1}$ بزيادة نسبتها 112 % قياساً بمعاملة المقارنة التي أعطت بدورها 28.97 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$.

أظهرت النتائج أن الرش بحامض الساليسلك سبب إنخفاضاً معنوياً في فعالية إنزيم البيروكسيديز حتى مع إستخدام ماء ري ذو ملوحة منخفضة . إن حامض الساليسلك فضلاً عن تأثيراته الإيجابية في تحسين كفاءة التمثيل الضوئي وانعكاساتها على الحالة العامة للنبات ، من الممكن أن يؤدي دوراً مباشراً كمضاد أكسدة غير إنزيمي أسوة بأنواع أخرى من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية ، أو كعامل إستحثاث لعدد من مضادات الأكسدة الإنزيمية وغير الإنزيمية (Waseem، 2006) .

جدول 4. تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم البيروكسيديز POD(وحدة ملغم بروتين$^{-1}$) لنبات الذرة الصفراء صنف 5018 تحت الإجهاد الملحي .

تراكيز حامض الساليسلك SA (مايكرومول. لتر$^{-1}$)	مستويات ملوحة ماء الري (ديسي سيمنز م$^{-1}$)			المتوسط
	C_1	C_2	C_3	
	0.5	5.0	9.5	
	فعالية إنزيم POD (وحدة ملغم بروتين$^{-1}$)			
0	28.97	46.43	61.45	45.62
250	26.13	39.72	53.47	39.77
500	23.19	35.03	45.29	34.50
1000	23.21	33.20	47.39	34.690
1500	21.37	34.29	51.08	35.58
المتوسط	30.72	37.73	51.74	47.52
L.S.D.0.05		C	SA	C * SA
		1.92	2.49	4.30

تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم الكاتليز CAT

تظهر نتائج الجدول 5 أن الإجهاد الملحي نتج عنه زيادة معنوية في فعالية إنزيم الكاتليز CAT ، فالمستوى الملحي الثاني C_2 زاد معدل فعالية هذا الإنزيم ليصل إلى 41.45 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ بزيادة معنوية 22.1 % عن معدل فعالية الإنزيم باستخدام المستوى الملحي الأول C_1 ، و إلى 49.46 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ باستخدام المستوى الملحي C_3 بزيادة معنوية 45.7 % عن معدل فعالية الإنزيم في المستوى الملحي C_1 الذي بلغ 33.95 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$. نتائج الدراسة جاءت مؤكدة لنتائج Fahad و Bano (2012) الزيادة الحاصلة في فعالية إنزيم الكتاليز هي نتيجة إستحثاث الجينات المسؤولة عن إنتاج هذا الإنزيم وقد أمكن تشخيص ثلاثة أنواع منها في الذرة الصفراء هي *CAT1* و*CAT2* و *CAT3* (Boldt و John ، 1995) .

إستخدام الرش بحامض الساليسلك وبالتراكيز جميعاً في التجربة حقق إنخفاضاً معنوياً في فعالية إنزيم الكاتليز CAT وقد تراوحت نسبة الانخفاض بين 13.5 % في معاملة الرش بـ 250 مايكرومول. لتر$^{-1}$ و 35.8 % في معاملة الرش بـ 1000 مايكرومول. لتر$^{-1}$.

إستخدام المستوى الملحي الأول C_1 مع الرش بـ 1000 مايكرومول. لتر$^{-1}$ حامض الساليسلك حقق أكبر إنخفاض معنوي في فعالية إنزيم الكاتليز إذ بلغت فعالية الإنزيم 21.62 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ قياساً بمعاملة المقارنة التي أعطت فعالية إنزيمية مقدارها 34.85 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$.

جدول 5. تأثير حامض الساليسلك في فعالية إنزيم الكاتليز CAT (وحدة ملغم بروتين $^{-1}$) لنبات الذرة الصفراء صنف 5018 تحت الإجهاد الملحي .

تراكيز حامض الساليسلك SA (مايكرومول. لتر$^{-1}$)	مستويات ملوحة ماء الري (ديسي سيمنز م$^{-1}$)			المتوسط
	C_1	C_2	C_3	
	0.5	5.0	9.5	
	فعالية إنزيم الكاتليز CAT (وحدة ملغم بروتين $^{-1}$)			
0	34.58	41.94	49.19	41.90
250	28.28	37.30	43.17	36.25
500	26.68	31.23	38.26	32.06
1000	21.62	26.43	32.72	26.92
1500	24.64	28.90	34.52	29.35
المتوسط	33.95	41.45	49.46	41.62
L.S.D.0.05	C	SA	C * SA	
	2.05	2.64	4.57	

معاملة الري بالمستوى الملحي الثالث C_3 ومن دون الرش بحامض الساليسلك نتج عنها أعلى زيادة معنوية في فعالية إنزيم الكتاليز بلغت 49.19 وحدة ملغم بروتين$^{-1}$ بزيادة نسبتها 42.2 % قياساً بمعاملة المقارنة . الدور الذي يمكن أن يؤديه حامض الساليسلك كمضاد للأكسدة ، فضلاً عن دوره في إستحثاث إنتاج هرمونات النمو ومنها أندول حامض الخليك IAA وحامض الأبسيسك و دوره في منظومة نقل الإشارة المرتبطة بفعالية هرمون حامض الأبسيسك ABA كل هذه العوامل ممكن أن تفسر دور حامض الساليسلك في خفض فعالية إنزيم الكاتليز CAT (Hamdia و Shaddad ، 2010) .

تأثير حامض الساليسلك في تركيز البرولين في الأوراق

توضح نتائج الجدول 6 أن الإجهاد الملحي سبب زيادة معنوية في تركيز البرولين في الأوراق بلغت نسبته 20 % للمستوى الملحي الثاني C_2 ، و 40 % للمستوى الملحي الثالث C_3 ، فقد زاد تركيز البرولين من 0.10 مايكرومول .غم$^{-1}$ للمستوى الملحي C_1 إلى 0.12 مايكرومول . غم $^{-1}$ للمستوى الملحي C_2 وإلى 0.14 مايكرومول . غم$^{-1}$ للمستوى الملحي C_3. نتائج الدراسة الحالية تتفق مع نتائج الجشعمي (2010) التي أكدت تأثير الإجهاد الملحي في تحفيز زيادة تركيز البرولين في نبات الذرة الصفراء ، فالإجهاد الملحي شجع إستحثاث الجين *P5CS* المسؤول عن تصنيع البرولين (Yamada و آخرون ، 2005) . البرولين بحد ذاته يؤدي دوراً مهماً في إستحثاث الجينات الخاصة بتحمل الاجهادات البيئية (Johari-pireivatlou و آخرون ، 2010) .

الرش بحامض الساليسلك حسن الحالة الوظيفية لنبات الذرة الصفراء مسبباً إنخفاضاً معنوياً في تركيز البرولين في المجموع الخضري وللتراكيز المستخدمة جميعاً قياساً بعدم إستخدام حامض الساليسلك .

أعطت معاملتا الرش بحامض الساليسلك للتركيزين 1000 و 1500 مايكرومول. لتر$^{-1}$ أكبر إنخفاض في تركيز البرولين وصلت نسبته إلى 21.4 % قياساً بعدم الرش بحامض الساليسلك . معاملة المستوى الملحي الأول C_1 مع الرش بحامض الساليسلك للتركيز 1000 مايكرومول. لتر$^{-1}$ وكذلك معاملة المستوى الملحي الأول C_1 مع الرش بحامض الساليسلك للتركيز 1500 مايكرومول. لتر$^{-1}$ حققتا أقل تركيز للبرولين في الأوراق بلغ 0.09 مايكرومول غم $^{-1}$ بانخفاض

معنوي نسبته 18.1 % قياساً بمعاملة المقارنة (الري باستخدام المستوى الملحي الأول C_1 و من دون رش بحامض الساليسلك (التي أعطت تركيزاً للبرولين بلغ 0.11 مايكرومول غم-^{1} ، على العكس من ذلك إزداد تركيز البرولين ليصل إلى أعلى قيمة له في معاملة المستوى الملحي الثالث C_3 ومن دون الرش بحامض الساليسلك ليبلغ 0.17 مايكرومول غم -^{1}.

نتائج الدراسة الحالية جاءت متوافقة مع نتائج Saeidnejad و آخرون (2012) ، التي أكدت حصول إنخفاض معنوي في تركيز البرولين في المجموع الخضري للذرة الصفراء عند الرش بتراكيز منخفضة من حامض الساليسلك . لقد عزا بعض الباحثين مقدرة حامض الساليسلك على خفض تركيز البرولين في النبات تحت الإجهاد الملحي إلى مقدرة هذا الحامض على خفض الجهد الأزموزي للخلية وزيادة المحتوى المائي النسبي للخلية ، و إستحثاث إنزيمات التمثيل الضوئي ، وزيادة إنتاج صبغات التمثيل الضوئي (كلوروفيل a وكلوروفيل b والكاروتينات) وتثبيط إنزيمات بناء البرولين ، وزيادة إنتاج البروتين الكلي (Shekoofeh و Shahla، 2012).

جدول 6. تأثير حامض الساليسلك في تركيز البرولين (مايكرومول غم-^{1}) في المجموع الخضري لنبات الذرة الصفراء صنف 5018 تحت الإجهاد الملحي .

تراكيز حامض الساليسلك SA (مايكرومول. لتر-^{1})	مستويات ملوحة ماء الري (ديسي سيمنزم-^{1})			المتوسط
	C_1	C_2	C_3	
	0.5	5.0	9.5	
	تركيز البرولين (مايكرومول غم-^{1})			
0	0.11	0.14	0.17	0.14
250	0.10	0.13	0.16	0.13
500	0.10	0.12	0.14	0.12
1000	0.09	0.11	0.12	0.11
1500	0.09	0.11	0.13	0.11
المتوسط	0.10	0.12	0.14	0.12
	C	SA	C * SA	
L.S.D.0.05	0.02	0.03	0.04	

المصادر

الجشعمي ، مهند محمد صاحب . 2010. تأثير المستحضر الحيوي Bacitrin As وتداخله مع الإجهاد الملحي والسماد الكيميائي في الإنبات والنمو وبعض الصفات التشريحية لنبات الذرة الصفراء .L *Zea mays* . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة الكوفة .

Aebi, H. 1974.Catalase In :Methods of Enzymatic Analysis volume2 pp.673-684.

Ali,Q.2011. Exogenous use of some potential organic osmolytes in enhancing drought tolerance in maize (*Zea mays* L.).Ph.D. Thesis. University of Faisalabad.

Ashraf, M., H.R. Athar , P.J.C. Harris and T.R. Kwon. 2008. Some Prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron*. 97: 45-110.

Ashraf, M. and M.R. Foolad . 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. *Environ. Exp. Bot*. 59:206-216.

Bates, L. S., R. P. Waldren and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Sci*. 39: 205-207.

Beyer , W.F. and I. Fridovich . 1987. Assaying for superoxide dismutase activity : some large consequences of minor changes in conditions. *Anal. Biochem*. 161: 559 – 566.

Boldt,R. and G.S.John .1995. Circadian regulation of the *Cat3* catalase gene in maize (*Zea mays* L.) : entrainment of the circadian rhythm of *Cat3* by different light treatments. *The Plant Journal*.7(6):989-999.

Fahad , S and A. Bano. 2012. Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of Maize grown in saline area. *Pak. J. Bot*. 44(4): 1433-1438.

Hamdia,M.A and M.A.K. Shaddad. 2010.Salt tolerance of crop plants. *Journal of stress physiology & biochemistry*. 6.3: 64- 90.

Johari-Pireivatlou, M., N. Qasimov and H. Maralian. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. *Afri. J. Biotech*. 9: 36-40.

Khodary ,S.E.A. 2004. Effect of Salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize Plants.*Int. Agri. Biol*. 6 (1) : 5-8.

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

Parida SK and A.B. Das . 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol. Environ. Safety*. 60 (3) : 324-349.

Pitotti,A.,B.E.Elizalde and M.Anese. 1995. Effect of caramellzation and maillard reaction products on peroxidase activity. *J. Food Biochem*.18:445-457.

Saeidnejad ,A.H., H. Mardani and M. Naghibolghora .2012. Protective effects of salicylic acid on physiological parameters and antioxidants response in maize seedlings under salinity stress *J. Appl. Environ. Biol. Sci*.2(8): 364- 373.

Shekoofeh,E. and S. Shahla.2012. Influence of salicylic acid on growth and some biochemical parameters in a C4 plant *(Panicum miliaceum* L.) under saline conditions. *Afr. J. Biotechnol*.11(13):621-627.

Waseem,M.2006.Influence of Exogenously Applied Salicylic Acid on drought tolerance of hexaploid wheat. Ph.D. Thesis .University of Agriculture. Faisalabad.

Wu, Q.S.,Y.N. Zou and R.X.Xia . 2006. Effect of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by *(Citrus tangerine)* roots. *European Journal of Soil Biology*. 42: 166-172.

Yamada, M., H. Morishita , K. Urano, N. Shiozaki, K. Yamaguchi-Shinozaki, K. Shinozaki and Y. Yoshiba. 2005. Effects of free proline accumulation in petunias under drought stress. *J. Exp. Bot*. 56:1975–1981.

Zhu, J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Annu.Rev *Plant Biol.M*. 53: 247-273.

EFFECT OF SALICYLIC ACID ON THE ACTIVITY OF ENZYMATIC ANTIOXIDANTS AND PROLINE IN VEGETATIVE GROWTH OF MAIZE PLANT UNDER NaCl STRESS .

Ismail Khalil Ibrahim al-Samarrai * **Zakaria Hassan Hamid al-Obeidi ****

*Department of Soil Sci. and Water Res. - College of Agriculture - University of Baghdad .
** Biology Science Department - College of Science - University of Diyala .

ABSTRACT

To study the effect of different levels of salicylic acid on the activity of enzymatic antioxidants and proline in the vegetative growth of maize plant under NaCl stress . A pot experiment was carried out in the greenhouse of the Department of Soil Sciences and Water Resources in the College of Agriculture, University of Baghdad in a silt clay loam soil classified as Typic Torrifluvent . A factorial experiment based on a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replicates was used . Treatments consisted of three salinity levels (0.5, 5.0, 9.5 dS m^{-1}) and five salicylic acid concentrations (0,250,500,1000,1500) µ*M* SA . Results showed significant increase in SOD , POD,CAT activity and proline concentration with the increasing of salinity levels . Foliar applications of salicylic acid significantly reduced the activity of antioxidant enzymes (SOD, POD,CAT) and proline concentration in Maize plants leaves .

Key words : Salt stress, Salicylic acid , *Zea mays* L., SOD, POD, CAT, Proline .