دراسة الفعّالية الحيوية لحمض السّاليسيليك ومستخلص الألكالوئيدات الغليكوزيدية على استقلاب البروتينات والكربوهيدرات في سويقات الذرة الصفراء(*Zea mays L.*)

محمد هيلم* **د. فرانسوا قره بيت*** **د. سليم زيد****

الملخّص

دُرس تأثير بعض منظمات النمو المألوفة مثل حمض الساليسيليك وحمض الإندول الخلي، كما دُرس تأثير مستخلص الألكالوئيدات الغليكوزيدية الستيروئيدية ،الذي حُصل عليه من الطبقة السطحية لدرنة البطاطا، في استقلاب كلّ من البروتينات ومجموع الكربوهيدرات ضمن خلايا سُوق بادرات نبات الذرة الصفراء(غوطة 82) المستنبتة لمدة 6 أيام في الظلام وبشروط التهوية الجيدة، وباستعمال التراكيز 50ملغ/ل من حمض الساليسيليك و50 و100 و200 ملغ/ل من المستخلص الستيروئيدي، ومقارنة النتائج مع التجربة الشاهدة باستعمال الماء المقطّر.

بيّنت النتائج مساهمة كلٍّ من المستخلص الستيروئيدي وحمض الساليسيليك في زيادة تركيز كلّ من الهكسوزات والبنتوزات والبنتوزانات، وبدلالات معنوية واضحة. لم تظهر تأثيرات ذات أهمية لباقي التراكيز في النشاء والكربوهيدرات البنيوية، في حين زاد حمض الأندول الخلي تركيز الهكسوزات والبنتوزانات، كما أسهم كل من حمض

*قسم الكيمياء – كلية العلوم –جامعة دمشق – سورية

**قسم النبات – كلية العلوم –جامعة دمشق – سورية

الساليسيليك وحمض الأندول الخلي والمستخلص الستيروئيدي عند التركيز 100 ملغ/ل بزيادة في تركيز البروتينات الكلية، وزيادة في نسبة نمو بذور الذرة الصفراء مقارنةً مع التجربة الشاهدة.

الكلمات المفتاحية: منظمات النمو، الذرة الصفراء(غوطة 82)، الكربوهيدرات، البروتينات، الألكالوئيدات الغليكوزيدية.

Studying the biological activity of Salicylic acid and the glycoalkaloids extract on the metabolism of both proteins and carbohydrates in *Zea mays L.* mesocotyl

M. Hailam Dr.Francois Karabit[*] Dr. Salim Zaid[**]

Abstract

The effect of some familiar growth regulators such as salicylic acid and Indole acetic acid, and the effect of extract of steroidal glycoalkaloids obtained from the surface layer of potato tubers had been studied on the metabolism of proteins and carbohydrates within the cells of *Zea mays* mesocotys (Ghouta 82) which were grown for 6 days in the dark and in good ventilation conditions. Salicylic acid was deployed at 50 mg/l and steroidal extract with concentrations 50, 100 and 200 mg/l. the results compared with the initial state of water.

Data were showed that steroidal extract and Salicylic acid significantly increased the concentration of hexose, pentose and pentozanes, but there was no important effects on starch and structural carbohydrates. On the other hand, the Indole acetic acid increased the concentration of hexose and pentozanes. Only the studied compounds and steroidal extract at concentration 100 mg/l increased the concentration of total proteins and the percentage of growth of zea maize kernels compared with the initial state of water.

Key words: growth regulators, *zea mays* (Ghouta 82), carbohydrates, proteins, glycoalkaloids.

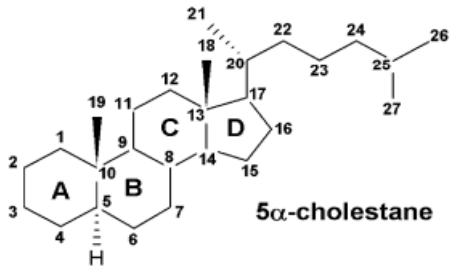
[*] Department of Chemistry - Faculty of Science - Damascus University – Syria
[**] Department of Botany - Faculty of Sciences - Damascus University - Syria

المقدّمة

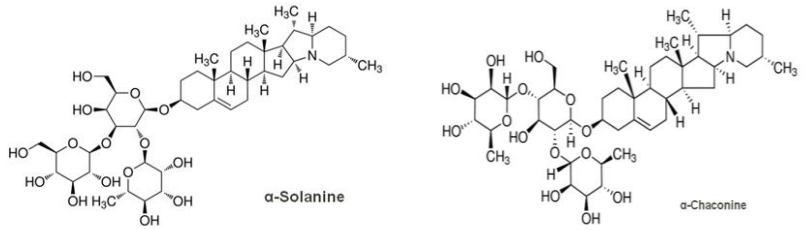
تعدُّ منظمات النمو النباتية الطبيعية مركبات كيميائية عضوية ذات وزن جزيئي صغير نسبياً، تُصنع وتُفرز في أماكن معينة من النباتات ،وتنتقل لتؤثّر في النواحي الفيزيولوجية والتفاعلات البيوكيميائية ضمن النباتات، فهي تسهم في تحديد شكل الأزهار والساق والأوراق والجذور وتطوّر الثمار ونضجها، كما أنّها تؤثّر في نمو البذور ووقت الإزهار وطول عمر النبات، وتعمل منظمات النمو بتراكيز تقلّ عن /1/ميكرو مول حيث تكون قادرة على إحداث الاستجابة الفيزيولوجية لدى النبات (Salisbury and Ross,1992).

تقسّم منظمات النمو النباتية الطبيعية إلى خمس مجموعات وهي: الأوكسينات، والجيبيريلينات، والسيتوكينينات، وحمض الأبسيسيك، والإيثيلين (Marihelen and Rick, 2009). وتبيّن مع تقدّم الأبحاث العلمية وجود مركبات تنتجها النباتات كمستقلبات ثانوية ،تسهم عند تطبيقها بفعالية هرمونية واضحة، مثل حمض الساليسيليك SA الذي يسهم بتنظيم النمو عند بعض النباتات، وقد صُنِّف كهرمون نباتي (Raskin, 1992)، لوحظ أنّ حمض الساليسيليك يزيد من الإنتاجية عند النباتات بشكل عام ،ولم تحدّد الأسس الفيزيولوجية والبيوكيميائية لتلك الزيادة حتى الآن. كما لوحظ زيادة في محتوى الكلوروفيل والسكريدات غير المرجعة والنشاء والبروتينات المنحلّة مقارنة مع الماء (Maity & Bera , 2009)، كما يُخفِّض حمض الساليسيليك الأثر التخريبي لظواهر التملّح والعجز المائي لنمو البادرات ممّا يؤدي إلى تسارع عملية استعادة النمو، كما يُقلّل حمض الساليسيليك التحوّلات لمستويات الهرمونات المختلفة تحت ظروف الإجهاد (Sakhabutdinova *et al* ,2003).

تعدُّ الألكالوئيدات الغليكوزيدية AG من المستقلبات الثانوية التي ينتجها النبات فهي تحتوي على السولانينات ذات البنية الستيروئيدي حيث الهيكل الرئيس المشتقّة منه هو الكولستان (Sinden *et al.*, 1980).



الشكل(1) الصيغة الكيميائية لمركب الكولستان

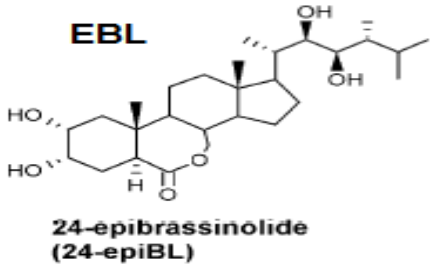


الشكل (2) الصيغة الكيميائية لكل من السولانين والشاكونين

توجد الألكالوئيدات الغليكوزيدية ضمن الفصيلة الباذنجانية *Solanaceae* في درنات البطاطا *Solanum tuberosum* L والباذنجان *Solanum melongena* L، أو ضمن أنواع الفصائل الأُخرى (Eich , 2008)، ومن أهم الألكالوئيدات الغليكوزيدية الموجودة ضمن البطاطا هي السولانين Solanine، والشاكونين Chaconine، وتكون نسبتهما إلى بعض حسب المرجعيات (60:40;solanine:chaconine) (Shiha & kuc 1974;Sinden & Sanford 1981).

وفي دراسة مرجعيّة للمركب EBL، ذي البنية الستيروئيدية المبيّنة في الشكل (3)، تمّت المعالجة بالرشّ المباشر على نبات الذرة تحت أحد ظروف الإجهاد البرودة، لمدّة تتراوح من (11– 25) يوم، وبتراكيز ما بين (10^{-8} –10^{-14}) مول/ل، حيث

لوحظ زيادة في محتوى الكلوروفيل وزيادة في المحتوى البروتيني للنبات المدروس وبعض أنزيمات الأكسدة والإرجاع (Hayay &Aqil, 2007).



الشكل (3) الصيغة الكيميائية لمركب EBL

إضافة لما ذُكر أعلاه بيّنت العديد من الدراسات أنّ هناك مركبات لا تقوم النباتات بتصنيعها، وهي تملك فعالية تؤثر في التفاعلات الكيميائية داخل النباتات الراقية، وتمتاز عن الهرمونات الطبيعية بأنّها ثابتة عند استعمالها في التطبيق العملي لعدم وجود الإنزيمات التي تفكّكها. تتّصف هذه المركبات بأنها رخيصة الثمن ،وسهلة الاصطناع أو الاستخلاص، ومن ثمَّ لها تطبيقات واسعة جداً في الزراعة (Marihelen and Rick ,2009) مثل مركب إندول حمض الزبدة (IBA) المعروف بهرمون التجذير، وحمض الإندول الخلي (IAA) (Marihelen and Rick ,2009). وتؤكّد دراسة دور حمض الإندول الخلي، وذلك عند تركيز /10/ميكرو مول، بحيث يعمل على زيادة سكريد الغلوكوز في جدار خلايا الطحلب *Pellia epiphylla*، وينشّط عمل الإنزيمات العاملة في الجدران الخلوية عدا إنزيم السيلولاز الذي لم يتأثّر بالأوكسين (Robert *et al*.,2006).

مواد البحث وطرائقه:

المواد المستعملة:

حبوب الذرة الصفراء "غوطة-82" التي تمّ الحصول عليها من المؤسسة العامة لإكثار البذار في مدينة حلب، قشور البطاطا الناضجة مكتملة النمو، حمض الساليسيليك النقي إنتاج شركة Merk، حمض الكبريت النقي (97%)، حمض كلور الماء النقي(37%)، ماءات الصوديوم، سكر الغلوكوز وسكر الكسيلوز النقيان (جميعها إنتاج شركة Merk)، إيتانول 99%، ميثانول 95%، خلات الإيتيل 95%، كلوروفورم 98%، نظامي البوتانول 99%، الإيتر البترولي (90%)، الأستون (99.5%)، الإيتر الإيتيلي (95%). (جميعها إنتاج شركة Sigma).

كاشف دراجندورف، يُحضّر حسب (Liu,2011)، ويُحفظ بعيداً عن الضوء.

كاشف ماير، يُحضّر حسب (Liu,2011).

كاشف البيوريت، يُحضّر حسب (**Scopes ,1994**)، ويضاف /1/غ من اليود لحفظ الكاشف من التخرّب.

كاشف الأنثرون، يُحضّر حسب (Chaplin and Kennedy,1996)، ويحفظ في البرّاد.

كاشف الأورسينول (كاشف بيال)، يُحضّر حسب (Chaplin and Kennedy,1996)، ويحفظ في البرّاد.

الأجهزة المستعملة:

جهاز المطياف الضوئي في المجال المرئي (Vis-Spectrophotometer-Vis-7220)، حاضنة هزّازة (G.F.L- 3031)، سخّانة كهربائية ذات محرّك مغناطيسي من نوع (Nuova Stirpate)، مبخّر دوار (R-110) إنتاج شركة BUCHI.

طرائق البحث التجريبيّة:

➢ **استخلاص الألكالوئيدات الغليكوزيدية:**

تُؤخذ طبقة بسماكة /2/مم تقريباً من الطبقة السطحية لدرنة البطاطا وتجفّف وتطحن. يُؤخذ وزن 50 غرام من مطحون قشور البطاطا، وتنقع مدّة /20/ساعة في الإيتر البترولي(300 مل) مع التحريك المستمر، وذلك لاستخلاص المواد الشحميّة من هذا المسحوق، وتُكرّر العملية السابقة حتى الوصول الى الكشف السلبي(اختبار التبقع). يجفّف المسحوق ويضاف إليه الميتانول 95%(300 مل) ،وكذلك مع تحريك مستمر بمعدل /20/ساعة، وتعاد هذه العملية ثلاث مرات. تُجمع كميات الميتانول الناتجة ،ويُهمل الراسب المتبقي. يُبخّر المستخلص الميتانولي على المبخر الدوار ليصبح ربع الحجم. يضاف الكلوروفورم(50 مل) بعدئذ للتخلّص من التربينات واللغنينات وباستعمال قمع الفصل، وتعاد هذه العملية ثلاث مرات. ومن ثمّ تُؤخذ الخلاصة الميتانولية الناتجة عن المرحلة السابقة، وتُعالج باستعمال قمع الفصل أيضاً بواسطة خلات الإيتيل(50 مل) لاستخلاص المركبات الفينولية. وكمرحلة أخيرة يُعالج المستخلص الميتانولي الناتج بنظامي البوتانول(50 مل) عدّة مرّات لاستخلاص الألكالوئيدات الغليكوزيدية.

يتم التأكد بواسطة كاشف دراجندورف وكاشف ماير(**Liu,2011**) من تمام الاستخلاص حسب الطريقة المبينة أدناه. وأخيراً نحصل على الألكالوئيدات الغليكوزيدية بالتبخير باستعمال المبخّر الدوار(Navarro and Quindío,2005).

➢ **الكشف عن الألكوئيدات الغليكوزيدية:**

كُشف عن الألكالوئيدات باستعمال تفاعلات الترسيب. تتفاعل الألكالوئيدات (أيون موجب كبير (Cat^+))، مع الكاشف (أيون سالب كبير (-An)) معطية راسباً عبارة عن معقّد غير منحلّ بالوسط المائي.

$$m(An-) + n(Cat+) \longrightarrow (Cat+)n\ (An-)m$$

حُضِّرت محاليل بتركيز 2% من المستخلص البوتانولي لقشور البطاطا ،وذلك باستعمال الميثانول 95%، ثم يؤخذ ثلاث قطرات من المحاليل السابقة، وتوضع في زجاجة ساعة ،ويضاف إليها قطرة إلى قطرتين من كواشف الترسيب (كاشف دراجندورف، وكاشف ماير على الترتيب). يعد ظهور الألوان التالية: برتقالي ضارب إلى البنّي، والأبيض الضارب إلى الأصفر على الترتيب دليلاً على وجود الألكالوئيدات الغليكوزيدية (Liu,2011).

- **إعداد العينات النباتية لعملية الاستنبات:**

I. عملية نقع حبوب الذرة الصفراء وزراعتها:

تُنقّى حبوب الذرة الصفراء من الشوائب والبذور المكسورة، ثمّ تُغسل بالماء والصابون العادي للتخلّص من آثار الغبار والأتربة، وتُعقّم بمحلول مخفف من هيبوكلوريد الصوديوم، وتُنقع بعدها بماء عادي عند الدرجة 50 م° مدّة ثلاث ساعات، ثمّ تُزرع هذه البذور بترتيبها على شكل صفوف بين ثنيّات من ورق الترشيح، وتُصفّ فوق طبقة من القطن في أوعية خاصة، حيث يتمّ إنباتها في أوساط وأحجام متساوية من محاليل المركبات المدروسة إضافةً للوسط المائي مدّة ستة أيام داخل حاضنة بدرجة حرارة 30 م°، وفي الظلام مع ضمان شروط التهوية الجيدة، مع متابعة تزويدها بمحاليل المركبات المدروسة يوميّاً أثناء نموّها.

II. دراسة النسبة المئوية للإنتاش:

تُعرّف النسبة المئوية للإنتاش بأنّها نسبة عدد الحبوب المنتشة إلى عدد الحبوب الكلية المزروعة، وحسبت بعد /6/أيام من الإنبات من العلاقة الآتية، وذلك وفقاً لطريقة جمعية اختبار الحبوب العالمية (ISTA, 2008):

النسبة المئوية للإنتاش = (عدد الحبوب المنتشة/عدد الحبوب الكلية المزروعة)*100

III. تحضير النسيج النباتي للتحليل:

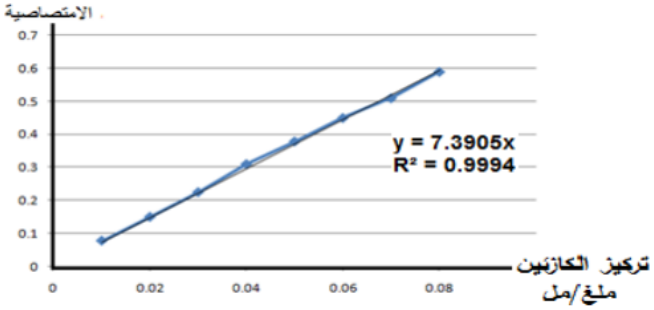
بعد انتهاء مدّة زراعة الحبوب وقبل الوصول إلى مرحلة تمزّق غمد الكوليوبتيل الواقي للأوراق في البادرة النامية، أي قبل الوصول إلى مرحلة استعمال النبات لتفاعلات التركيب الضوئي واعتماده كلياً في نموه على المكونات الادّخارية في البذرة المنتشة (تصل هذه الفترة عادة إلى 6 أيام). تُؤخذ سويقات البادرات النامية وتُقطّع بطول /1/سم أسفل العقدة الفاصلة بين السويقة والكوليوبتيل، مسافة /2/ملم، ويتمّ تثبيتها بالإيتانول المغلي ثمّ تُسحق مباشرة أو حسب خطوات الطريقة المتّبعة في البحث.

- **معايرة البروتينات:**

لمعايرة البروتينات في خلايا سويقة البادرات النامية تُسحق مقاطع سويقة البادرات على مسافة /2/ملم أسفل العقدة الأولى وبطول /10/ملم بعد أن يتمّ تثبيتها باستعمال الإيتانول المغلي، ثمّ تُعالج مقاطع سويقة البادرات المطحونة بالمذيبات العضوية الآتية بالإيتانول والأسيتون والإيتر وفق نسب مختلفة للتخلّص من الشحوم والجزيئات صغيرة الحجم، ويتمّ ترسيب البروتينات بإضافة محلول حمض ثلاثي كلوروالخليك (TCA)، ثمّ تُحلّ البروتينات بواسطة هيدروكسيد الصوديوم 10% (Bergmeyer, 1974).

ولإجراء القياس يُؤخذ /1/ مل من المحلول القلوي، ويضاف إليه /3/مل من محلول البيوريت، ومن ثمّ تقاس شدة لون المعقد الناتج بعد /20/ دقيقة عند الطول الموجي /540/نانو متر.

تُحدّد كمية البروتينات ،مقدرةً بـالـ ملغ/غ من وزن مقاطع البادرات الرطبة، بالاستعانة بمنحني معايرة البروتينات الذي تمّ تحضيره بشكل مسبق (Bradford, 1976).



الشكل (4) منحني محاليل السلسلة المعيارية لبروتين الكازيين

- **استخلاص أنواع الكربوهيدرات من مقاطع البادرات:**

i. الكربوهيدرات المنحلة (الهكسوزات والبنتوزات):

استُخْلِصت الكربوهيدرات المنحلّة على ثلاث مراحل، في المرحلة الأولى تثبّت العينات المدروسة بعد انتهاء فترة الاستنبات بإضافة الإيتانول المغلي 96%، حيث تُغلى العينات في حمّام مائي مدّة نصف ساعة، وفي المرحلتين الثانية والثالثة يُتابَع التسخين، ولكن يُضاف في كلّ مرّة الإيتانول بتركيز 82% مدّة نصف ساعة مرة ثانية.

تُكرّر الخطوات السابقة حتى التأكّد من تمام الاستخلاص بالتفاعل السلبي على الهكسوزات (الانثرون) والبنتوزات (الأورسينول)، ثمّ يُبخّر المحلول الإيتيلي حتّى الجفاف ويُذاب راسب المونوزات المتشكّل بحجم محدد من الماء المقطر (Fouad *et al*., 2015).

ii. استخلاص الكربوهيدرات الادّخارية (النشاء والبنتوزانات):

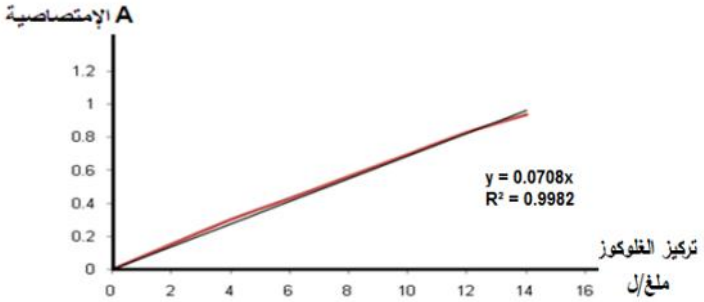
بعد استخلاص السكريات المنحلة تتمّ معايرة النشاء والبنتوزانات في العينات المدروسة عن طريق حلمهتها إلى هكسوزات وبنتوزات بواسطة حمض الكبريت /1.5/ن وتسخينها حتى الغليان عند الدرجة 100°م، عندها يتمّ حلمهة النشاء وثبات تركيز الهكسوزات والبنتوزات في وسط الحلمهة. يُنقل محلول الحمض إلى دورق معايرة /25/مل، ويتمّ الحجم بالماء المقطر (Basu *et al*., 2012).

iii. استخلاص السكريات البنيوية (السلولوز):

تُجفّف المقاطع المدروسة بعد حلمهة الكربوهيدرات الادّخارية باستعمال الإيتر الإيتيلي، ويُضاف إليها حمض الكبريت المركّز بتركيز /80.7%/، وتُنقع حتى انحلال السلولوز كاملاً في الوسط. يُمدّد حمض الكبريت المستعمل إلى تركيز /1.5/ن، ثمّ يُغلى المزيج عند الدرجة 100°سم لإجراء حلمهة السلولوز المنحل ليتمّ بعدها معايرة الغلوكوز المتشكّل (**Chaplin and Kennedy,1996**).

- **معايرة الهكسوزات بطريقة الانثرون:**

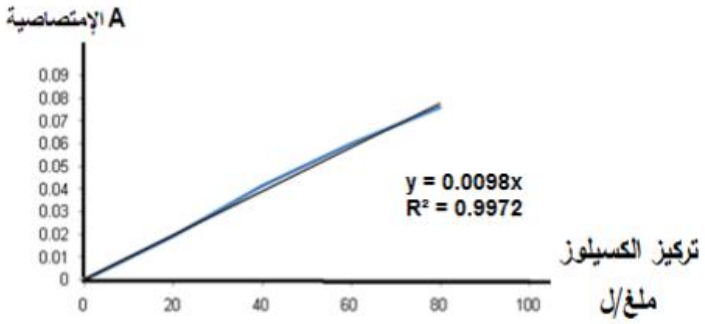
تُعاير الهكسوزات بكاشف الانثرون، حيث يتشكّل معقّد أخضر تقاس كثافته اللونية عند طول الموجة /620/نانومتر، وذلك بعد أخذ /5/مل من الانثرون مع /1/مل من العينة في أنبوب اختبار، وبعد الخضّ الجيّد يوضع في حمّام مائي ويُترك ليغلي مدة /10/دقائق تماماً، ثمّ يُبرّد مباشرة في حمّام ثلجي (Guo,2004).



الشكل (5) منحني محاليل السلسلة المعيارية للغلوكوز

- **معايرة البنتوزات بطريقة الأورسينول:**

تُعاير البنتوزات بكاشف الأورسينول، حيث يتشكّل معقّد أزرق تُقاس كثافته اللونية عند طول الموجة /**660**/نانومتر، وذلك بعد أخذ /3/مل من الأورسينول مع /1/مل من العينة في أنبوب اختبار. وبعد الخضّ الجيّد يوضع في حمّام مائي ليغلي مدة /30/دقيقة تماماً (Guo,2004).



الشكل(6) منحني محاليل السلسلة المعيارية للكسيلوز

- **الدراسة الإحصائية:**

أُنجزت كلّ تجربة ثلاث مرات، ومن ثَمّ أُخذ المتوسط الحسابي وأُدرج في النتائج، كما حُسِب الانحراف المعياري SD لكلّ تجربة، باستثناء دراسة إنتاش البذور فقد أجريت القياسات على /100/حبة منتشة من الذرة الصفراء.

النتائج والمناقشة

دراسة إنتاش بذور الذرة الصفراء:

دُرس تأثير عدة تراكيز من المركبات المدروسة على عملية إنتاش حبوب الذرة الصفراء بعدّة تراكيز موضّحة في الجدول(1)، وبينت النتائج أن نسبة الإنتاش ضمن الماء قد وصلت إلى 69.0%، وتمّ مقارنة نسبة النمو مع الحالة الشاهدة (الإنبات بالماء) وذلك للتأكّد من وجود فعالية حيوية.

الجدول (1) تغيّر نسبة إنتاش الحبوب بتأثير التراكيز المختلفة من المركبات المدروسة مقارنةً مع H_2O

وسط النمو mg/l	H_2O	IAA (حمض الأندول الخلي)		SA (حمض الساليسيليك)		AG (الألكالوئيدات الغليكوزيدية)		
		25	40	25	50	50	100	200
نسبة النمو %	69.0	70.5	78.4	60.4	81.5	70.6	83.9	74.5

يتبيّن لنا من الجدول(1): إنّ منظمات النمو المدروسة بالتراكيز المنخفضة لم تبدِ أية فروق معنوية مقارنة مع الوسط المائي حتى أنّ حمض الساليسيليك ذو التركيز 25ملغ/ل قد حدَّ من نسبة الإنتاش. في حين للتراكيز المرتفعة أثر معنوي، فعند تركيز 100ملغ/ل للمستخلص زادت نسبة الإنتاش إلى ما يقارب 14.5%، وعند حمض الساليسيليك 50ملغ/ل زادت نسبة الإنتاش بحدود 12.5%، أمّا حمض الأندول الخلّي بتركيز 40ملغ/ل فقد زاد من نسبة الإنتاش بنسبة 9.4%.

معايرة تركيز الكربوهيدرات في خلايا سويقة بادرات الذرة الصفراء أثناء النمو في الوسط المائي وفي أوساط محاليل المستخلص الستيروئيدي وحمض الساليسيليك:

معايرة الكربوهيدرات المنحلة بالإيتانول (الهكسوزات والبنتوزات):

تتكوّن الكربوهيدرات المنحلّة في الإيتانول في خلايا سويقة بادرات نبات الذرة من المونوبنتوزات والمونوهكسوزات والتي تمّ استخلاصها بواسطة الإيتانول الساخن 82%، وقد بيّنت نتائج التحليل الواردة في الجدول(2) أنّ المركبات المدروسة في تراكيزها المذكورة زادت وبشكل واضح من كمية الهكسوزات، حيث وصلت كمية الهكسوزات عند تنمية البادرات في وسط من IAA بتركيز 40 ملغ/ل إلى 0.385 ملغ/غ بزيادة وصلت حتى 28.33%، وتتوافق هذه النسبة مع نتائج المرجع (Robert *et al*.,2006). كما زاد حمض الساليسيليك من نسبة الهكسوزات بنسبة 49.33%، في حين وصلت الزيادة في كمية الهكسوزات عند تطبيق المستخلص الستيروئيدي بتراكيز 50، 100، 200ملغ/ل إلى 11.67%، 42.67%، 33.33% على الترتيب مقارنة مع تنمية البادرات في الوسط المائي.

الجدول (2) تغير تركيز الهكسوزات في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	0.3	0.385	0.448	0.335	0.428	0.4
(الانحراف المعياري)	0.003	0.07	0.088	0.0125	0.010	0.0160

بالنسبة لكمية البنتوزات في خلايا سويقة نبات الذرة المزروعة في الوسط المائي وفي أوساط مختلفة التراكيز من المركبات المدروسة، يبيّن الجدول(3) نتائج المعايرة، بيّنت هذه النتائج أنّ المركبات المدروسة في تراكيزها الموضّحة أعلاه قد زادت من كمية البنتوزات وبفروق ذات دلالة معنوية خاصة عند تطبيق AG بتركيز 100ملغ/ل وSA، حيث وصلت نسبة الزيادة إلى 97. 29% و27.44% على الترتيب، كما لم يبدِ حمض الإندول الخلي أثراً واضحاً في زيادة كمية البنتوزات، أمّا التراكيز 50ملغ/ل و200ملغ/ل من المستخلص الهرموني AG فقد أنقصت من كمية البنتوزات في وسط التنمية بنسبة 18% و15% على الترتيب مقارنة مع تنمية في الوسط المائي في الظلام وبشروط التهوية المستمرة .

الجدول(3) تغير تركيز البنتوزات في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	11.88	13.22	15.14	9.7	15.44	10.1
(الانحراف المعياري)	0.147	0.244	0.148	0.125	0.160	0.091

قياس تركيز الكربوهيدرات سهلة الحلمهة (النشاء والبنتوزانات):

بالنسبة لكمية النشاء أدّى وجود SA في وسط تنمية حبوب الذرة الصفراء إلى تفكّك ضئيل في كمية النشاء المتراكمة في خلايا البادرات بعمر /6/أيام مقارنة مع خلايا البادرات النامية في الوسط المائي، حيث وصلت النسبة إلى 4.55%، وهذا يخالف القيم المرجعية (Maity & Bera , 2009). وكذلك الأمر أدى وجود IAA إلى تفكك في كمية النشاء بنسبة 13.64%، وهذا يتوافق مع المرجع (Klerck, 2002). بينما ازدادت كمية النشاء المتفكّكة في خلايا البادرات النامية في وسط من AG بتركيز 50 و200 ملغ/ل ،حيث وصلت إلى 36.36% و50% على الترتيب مقارنة مع البادرات المنماة في الوسط المائي، في حين أدّى وجود المستخلص الستيروئيدي AG بتركيز 100 ملغ/ل في وسط استنبات بذور الذرة الصفراء بعمر /6/أيام إلى ازدياد كمية النشاء المتفكك في البادرات إلى 13.64% مقارنة مع الوسط المائي كما هو مبيّن في الجدول (4).

الجدول(4) تغير تركيز النشاء في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	0.22	0.19	0.21	0.14	0.25	0.11
(الانحراف المعياري)	0.008	0.0098	0.0075	0.0085	0.0069	0.0055

وعند دراسة كمية البنتوزانات حصلنا على النتائج المبيّنة في الجدول(5). نلحظ أنّه أدّت تنمية البادرات بعمر /6/أيام في الوسط المائي وفي الأوساط الحاوية على تراكيز مختلفة من المركبات المدروسة إلى ازدياد في تركيز البنتوزانات بشكل عام، حيث وصلت كمية البنتوزانات في البادرات المنماة في وسط من حمض السالسيليك وحمض الإندول الخلي إلى 21.58 و22.18 ملغ/غ مقارنة مع البادرات المنماة في للوسط المائي، بينما وصلت إلى 20.1 و21.22 و22.09 ملغ/غ عند استنبات الحبوب في وسط من المستخلص من

قشور البطاطا وبتراكيز 50 و100 و200 ملغ/ل على الترتيب وذلك مقارنة مع الوسط المائي.

الجدول(5) تغيّر تركيز البنتوزانات في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	19.5	22.18	21.58	20.1	21.22	22.09
(الانحراف المعياري)	0.147	0.125	0.118	0.083	0.098	0.074

تأثير المركبات المدروسة في تركيز السلولوز:

يعدّ السلولوز من المركبات البنيوية في الجدران الخلوية النباتية، وتتمثّل معايرة الكربوهيدرات البنيوية بمعايرة كمية الهكسوزات الناتجة عن حلمهة السلولوز بعد استخلاصه من خلايا السويقات المدروسة، وذلك بعد تمام عملية استخلاص الهكسوزات الادّخارية والمنحلّة وفق طريقة الاستخلاص المبيّنة، وقد بيّنت النتائج التي تمّ الوصول إليها أنّ منظمات النمو المدروسة لم تبدِ فروقاً معنوية واضحة في زيادة أو نقصان كمية الهكسوزات المعايرة، حيث أبدت زيادة بمقدار 11.4% لمركب IAA، وهذا مايتوافق مع نتائج المرجع (Goodwin & Mercer, 1983). ولكن زاد مركب AG بتركيز 100ملغ/ل من كمية السكريد المعاير بنسبة وصلت إلى ما يقارب 21% وذلك مقارنة مع الإنبات ضمن الوسط المائي، ويلخّص الجدول(7) النتائج التي حصلنا عليها:

الجدول(6) تغير تركيز السلولوز في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	1.4	1.56	1.4	1.24	1.69	0.61
(الانحراف المعياري)	0.025	0.044	0.033	0.038	0.025	0.089

معايرة كمية البروتينات في خلايا سويقة الذرة الصفراء المنماة في الوسط المائي وفي أوساط محاليل المركبات المدروسة:

يبيّن الجدول(8) أنّ وجود منظمات النمو المدروسة في وسط تنمية حبوب نبات الذرة الصفراء قد أدّى بشكل عام إلى ازدياد في كمية البروتينات في خلايا سويقة الذرة النامي في محاليل هذه المركبات مقارنة مع البادرات المنمّاة في الوسط المائي، فقد ازدادت عند تنمية البادرات في وسط من حمض الإندول الخلي بنسبة 23% عن تنميتها في الوسط المائي، ووصلت إلى 14.7% عند تنميتها في وسط من حمض الساليسيليك، وذلك ما يتوافق مع القيم المرجعية(Maity & Bera , 2009)، في حين لم يكن للمستخلص الستيروئيدي أثر معنويّ، فقد اختلف تأثيره في كمية البروتينات بحسب التركيز، فعند تركيز 100ملغ/ل كانت النسبة 5.8%، وعند التركيزين 50، 200ملغ/ل انخفضت النسبة بمقدار 8.8 %، 17.6% على الترتيب ،وذلك بالمقارنة مع السويقات المنمّاة في الوسط المائي.

الجدول(8) تغير تركيز البروتينات في البادرات النامية في المركبات المدروسة مقارنة مع البادرات النامية في الماء

وسط الاستنبات	H_2O	IAA	SA	AG		
		40	50	50	100	200
التركيزالوسطي ملغ/غ	3.4	4.2	3.9	3.1	3.6	2.8
(الانحراف المعياري)	0.01	0.023	0.012	0.025	0.087	0.098

الاستنتاجات:

تمّ في هذا البحث تطبيق منظّم النمو التجاري حمض الإندول الخلّي(IAA)، وحمض الساليسيليك (SA) ومستخلص الألكالوئيدات الغليكوزيدية ذي البنية الستيروئيدية المستخلص من قشور درنة البطاطا وكان التركيز الأمثل للمستخلص هو 100ملغ/ل.

أسهم كلّ من IAA بتركيز 40 ملغ/ل، SA بتركيز 50 ملغ/ل و AG بتركيز 100 ملغ/ل بزيادة نسبة النمو لبادرات الذرة مقارنة مع النمو بالماء، إضافة إلى زيادة كمية البروتينات بفروق معنوية واضحة.

اختلف دور المركبات المدروسة في تأثيرها في الكربوهيدرات، فقد عمل كلّ من حمض الساليسيليك بتركيز 50 ملغ/ل ومستخلص الألكالوئيدات الغليكوزيدية بتركيز 100ملغ/ل بزيادة تركيز كلّ من الهكسوزات والبنتوزات (السكاكر المنحلة) والبنتوزانات (السكاكر الادّخارية)، في حين أسهم حمض الإندول الخلي بتركيز 40 ملغ/ل بزيادة تركيز الهكسوزات والبنتوزانات

المراجع References

1. Basu, S., Roychoudhury, A., Sanyal, S., & Sengupta, D. N., (2012). Carbohydrate content antioxidative potential of the seed of three edible indica rice (Oryza Sativa L.) cultivars, Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 49, pp. 115-123.
2. Bergmeyer, H.U., (1974),"Methods of Enzymatic Analysis 1." Academic Press 2nd Edition, 495.
3. Bradford, M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye-binding. Anal. Biochem. 72, 248-254
4. Chaplin, M., Kennedy, F., (1996), "Carbohydrate Analysis", IRL Press, New York, 22-58.
5. Eich E. Solanaceae & Convolvulaceae , (2008) Secondary Metabolites - Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook). Springer,;14
6. Fouad, A. A., & Rehab, F. M. A., (2015). Effect of germination time on proximate analysis, bioactive compounds and antioxidant activity of lentil (Lens culinaris Medik.) sprouts, Acta Sci Pol Technol Aliment, 14(3), pp. 233-246
7. Guo، W (2004). The Effects of NaCl Stress on Plant Growth,Chlorophyll Fluorescence Characteristics and Active Oxygen Metabolism in Seedlings of Two Cucumber Cultivars. Scientia Agricultura Sinica، 2004-11
8. HAYAT S., AQIL A., (2007). Brassinosteroids: A Class of Plant Hormone. Springer, 1es Ed, India, 461.
9. International Rules for Seed Testing (ISTA), (2008). International Seed Testing Association, Chapter 5, Germination test, pp 1-57
10. Klerck, G.J.,(2002). Rooting of microcuttings: theory and practice. In vitro Cell. Div. Biol, 38:,415- 422.
11. Liu WJH. , (2011) Traditional Herbal Medicine Research Methods: Identification, Analysis. Science; 448.
12. Marihelen Glass, Rick Parker., (2009). Fundamentals of plant science Delmar, Cengage Learning. 124-126

13. Navarro, F. and Quindío, E. (2005). Biologic E Pharmacological Das Species Allemande Blanchet E Allemande Scottie Pohl Para An Obtenção De Fracas E Molecules Bioactive De Potential Therapeutic. Universidad Federal De Santa Catharina Centro De Cadencies Fascias E Mathematics Cursor De Pós-Graduação Em Química; 67.
14. Raskin, I., (1992). Role of salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.,43:439-463.
15. Robert J. T; Fredrich J. B; Craig S. L; Jason J. S;(2006)-Effects of auxin on wall polysaccharide composition and enzyme activity during extension-growth of Pellia (Bryophyta). International jornal of Plant physiology, (60)4,502-506.
16. Sakhabutdinova A.R et al ,(2003) , Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre Russian Academy of Sciences, 12-25
17. Salisbury, F. B., and Ross, C. W. (1992). Plant Physiology. Belmont, CA: Wadsworth. pp. 357-407, 531-548.
18. Scopes K.,R. (1994), Protein purification. Springer-verlag Berlin Heidelberg,1-8.
19. Shih, M. J., & Kuć, J. (1974). α and β-solamarine in Kennebec Solanum tuberosum leaves and aged tuber slices. *Phytochemistry*, *13*(6), 997-1000.
20. Sinden, S.L., Sanford, L.L. & Osman, S.F. (1980). Glycoalkaloids and resistance to the Colorado potato beetle in solanum chacoense Bitter . American Potato Journal 57, 331-343.
21. Goodwin, T. W., and El Mercer. "1. (1983). Introduction to Plant Biochemistry." 1-675.
22. U. Maity and A.K. Bera, (2009) , Effect of exogenous application of brassinolide and salicylic acid on certain physiological and biochemical aspects of green gram(vigna radiatal. Wilczek) , Department of Plant Physiology , india (20).