تأثير عدد من الشوارد الأحادية وثنائية التكافؤ في الفعالية الإنزيمية لعدد من إنزيمات الأكسدة والإرجاع

نسرين حمزة[1] و أحمد مالو[2]

تاريخ الإيداع 2014/03/26
قبل للنشر في 2014/06/30

الملخص

هَدف البحث المقدم إلى دراسة التغيرات التي تطرأ على فعالية عدد من إنزيمات الأكسدة والإرجاع في خلايا بادرات نبات الذرة الصفراء عند تنميتها بمحاليل الشوارد الأحادية والثنائية الآتية Na^+، K^+، Mg^{2+} و Ca^{2+}.

استخدمت في العمل بذور الذرة الصفراء من النوع غوطة 82 بعد تنميتها مدة 6 أيام في الوسط المائي وفي أوساط تحوي على تراكيز مختلفة من محاليل الشوارد المدروسة.

تتلخص مراحل المعالجة والمعايرة باستخلاص المستحضرات الإنزيمية المدروسة من خلايا ساق البادرات بواسطة المحاليل الموقية (في قيم pH الملائمة لكل إنزيم).

بينت النتائج التي تم الوصول إليها أن فعالية الإنزيمات المدروسة تتزايد بارتفاع تراكيز الشوارد المدروسة من 1 إلى 6 غ/ل مقارنة بفعاليتها في العينات المنماة في الوسط المائي. في حين أظهر استخدام تراكيز من العناصر الأحادية بين 6 و9غ/ ل اختلافاً في الفعالية.

الكلمات المفتاحية: شوارد Na^+، K^+، Mg^{2+}، Ca^{2+}، إنزيمات الأكسدة والإرجاع، بادرات نبات الذرة.

[1] طالبة ماجستير، [2] أستاذ، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

Mono and bi-cationic influence on the enzymatic activity of many oxidoreductaze enzymes

N. Hamza[(1)] and A. Malo[(2)]

Received 26/03/2014
Accepted 30/06/2014

ABSTRACT

This research aims to study the effects of some oxidoreductase enzymes activity in the seedlings of maize plant stem cells, which Cultured in the present of the following cations: Na^+, K^+, Mg^{2+}, and Ca^{2+}.

(GHOTA 82) yallow corn seeds were used, and cultured for six days in water and in solution of cations with different concentrations.

In brief, preparation and titration processes consist of extraction of enzymatic solutions from plant stem cells seedlings by buffer solutions (at appropriate PH for each enzyme).

The results show that the activity of used enzymes increases with the increasing concentrations of the used cations from 1 to 6 g/l by comparison with those of cultured samples in water.

Besides the difference in the effect of cations was limited by the concentrations range between 6-9 g/ l.

Keyword: Cations**:** Na^+, K^+, Mg^{2+}, and Ca^{2+}, Oxidoreductase enzymes, Seeds.

[(1)] Master Student, [(2)] Professor, Department Of Chemistry, Faculty Of Sciences, Damascus University, Syria.

المقدمة

تؤدي الشوارد المعدنية دوراً مهماً في حياة النبات [1،2]، إذْ لايمكن أن تستمر حياة النباتات دون توافر تشكيلة معينة من الشوارد الكيميائية المنحلة التي تسمى الأغذية اللاعضوية mineral nutrients (أو النسغ الناقص)، والتي يمتصها النبات من التربة على شكل أملاح منحلة عن طريق الحلول.

تصنف الشوارد اللاعضوية التي تسهم في تغذية النباتات إلى عدة مستويات، بحسب حاجة النبات إليها[1]:

أغذية ماكروئية (Macronutrients):

يحتاج إليها النبات بكميات كبيرة خلال نموه وهي ستة عناصر: [1، 3، 4] (N, P, K, Ca, Mg, S) موجودة في التربة، وتسهم بأدوار وسائطية وبنيوية وطاقية في تفاعلات الاستقلاب، وبناء الجزيئات الحيوية الأساسية اللازمة لحياة النبات، فضلاً عن الهيدروجين والكربون والنتيتروجين والأكسجين، وهي التي تدخل في بنية الماء والمركبات العضوية الرئيسة في النبات.

أغذية ميكروئية (Micronutrients):

يحتاج إليها النبات بكميات صغيرة بحدود 0.2% إلى 4.0% ملغ/ل خلال حياته [3، 4]، وهي تحقق عنده عدداً من الوظائف البنيوية والوسائطية، كما تسهم بالتفاعلات الطاقية أيضاً، يبلغ عدد هذه العناصر، بحسب (Bonner *et al.*, 1965). [1، 3، 4] تسعة عناصر هي: (Fe – Cu – Zn – B – Cl – Mn - Ni - S - Mo).

هناك أيضاً مجموعة من العناصر التي توجد بتراكيز منخفضة جداً، ويحتاج إليها النبات في حياته ويطلق عليها اسم العناصر فوق الميكروئية ultamicroelements، وتسهم هذه العناصر بعدد من الوظائف أهمها كعوامل متممة للإنزيمات cofactors. من هذه العناصر (السيليسيوم Si، الفاناديوم V، كوبالت Co، النحاس Cu) [3، 4].

تتباين حاجة النباتات المختلفة من العناصر اللاعضوية فيما بينها بحسب شروط حياتها، إذا انخفض تركيز أي عنصر عن حد أدنى معين تظهر حالات خلل في مواصفات النبات النامي (William; Hopkins Huner)[10].

إذْ إنّ حدوث نقص في شوارد (البوتاسيوم، الصوديوم، الكالسيوم، المغنزيوم) يؤدي إلى حدوث تغيرات في محتوى الكلوروفيل ونمو النبات، ولكن لم يؤدِ نقص هذه الشوارد إلى تغيرات ملموسة في فعالية إنزيمات الأكسدة والإرجاع [12, 13, 14].

ولكن ازدياد تركيز هذه الشوارد في وسط النمو على الحد الطبيعي يؤدي [10,11] إلى ظهور معاناة عند النبات ينعكس في توقف النمو.

كما بيّنت الدراسات أن التراكيز المرتفعة لشوارد الصوديوم تؤدي إلى تحريض فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة في نبات الفاصولياء.*Phaseolus vulgaris* L [5]، وفي بادرات نبات القمح .*Triticum aestivum* L [6]، كما ازدادت فعالية هذه الإنزيمات بازدياد تركيز شوارد البوتاسيوم في الوسط في أوراق نبات عباد الشمس *Helianthus annuus* L. [7]، وفي بادرات نبات الفصة .*alfalf M. sativa L* [8].

أما شوارد الكالسيوم فإن ازدياد تركيزها في وسط النمو أدى إلى ازدياد فعالية الإنزيمات المضادة للأكسدة في أوراق نبات .*Dioscorea rotundata* [9]، وفي جذور نبات الفول البلدي وبراعمه .*Vicia faba* L [10].

ولهذه الأسباب كان من الضروري دراسة تأثير التغيرات في تراكيز هذه الشوارد في الفعاليات الوظيفية لإنزيمات الأكسدة والإرجاع في هذه النباتات.

وفي البحث المقدم اختير كل من شوارد الصوديوم Na، البوتاسيوم K، الكالسيوم Ca، المغنزيوم Mg لدراسة تأثير تراكيزها المختلفة في خلايا بادرات ساق الذرة الصفراء عند انتاشها ونموها في الأوساط الملحية المدروسة على فعالية كل من إنزيمات الأكسدة والإرجاع الآتية:

إنزيم اسكوربات الاوكسيداز Ascorbate oxidase

إنزيم الغوياكول بروكسيداز Guaiacol peroxidase

إنزيم الكاتلاز Catalae

مواد البحث وطرائقه

اِستُخدمت في البحث المحاليل الملحية الآتية:

كلوريد المغنزيوم $MgCl_2$ بتراكيز 1 و2 و3 و6 و9غ/ ل؛ كلوريد البوتاسيوم Kcl بتراكيز 1 و2 و3 و6 و9 غ/ل، كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ بتراكيز 1 و2 و3 و6 و9 غ/ ل؛ كلوريد الصوديوم NaCl بتراكيز 1 و2 و3 و6 و9غ/ل.

- بذور الذرة الصفراء "غوطة" 82 التي تم الحصول عليها من مؤسسة إكثار البذور في مدينة حلب.

اِستُخدمت في البحث الأجهزة الآتية:

- محلول الغوياكول GuaiacoL.
- مقياس الطيف الضوئي في المجال المرئي (Vis-Spectrophotometer-Vis-7220)
- مقياس الطيف الضوئي في المجال فوق البنفسجي Secomam-(Aethelie) UV
- مقياس PH (Orion-420A)

- حاضنة (Philipharris)
- حاضنة هزازة (G.F.L- 3031)
- مثقلة مبردة (Boeco - U32R)

طرائق البحث

تحضير البذور: تغسل بذور الذرة بالماء ثم تنقع مدة 3 ساعات عند الدرجة 50 Cº بالماء العادي وبمحاليل الأملاح المدروسة عند تراكيز محددة، وتستنبت مدة 6 أيام في المحمات عند الدرجة 30 Cº في الظلام مع التهوية المستمرة.

تحضير النسيج النباتي: تقطع البادرات بعد انتهاء مدة الاستنبات وتؤخذ مقاطع من الساق بطول 1.5 سم وعلى بعد 2 ملم أسفل منطقة العقدة، ثم تسحق وتجرى عليها عمليات استخلاص ومعايرة الإنزيم الموضحة فيما يأتي:

1- **فعالية إنزيم أسكوربات أوكسيداز (EC 1.10.3.3)**

تغسل بذور الذرة الصفراء بالماء ثم تنقع مدة 3 ساعات عند الدرجة 50Cº بالماء العادي وبمحلول الملح المدروس عند التراكيز المطلوبة، وتستنبت مدة 6 أيام في المحمات الحرارية عند الدرجة 30Cº في الظلام مع التهوية المستمرة.

تحضير الأنسجة النباتية للتحليل:

تقطع البادرات بعد انتهاء مدة الاستنبات وتؤخذ مقاطع من الساق بطول 1.5 سم وعلى بعد 2 ملم أسفل منطقة العقدة، ثم تسحق وتجرى عليها عمليات استخلاص الإنزيم المدروس ومعايرته.

1- **فعالية إنزيم أسكوربات أوكسيداز (EC 1.10.3.3)**

يقوم هذا الإنزيم بأكسدة حمض الأسكوربيك محولا إياه إلى أسكوربات منزوع الهيدروجين والماء كنواتج لتفاعل نزع الالكترونات من المركب:

$$2L\text{-ascorbate} + O_2 \rightarrow 2\ dehydroascorbate + 2H_2O$$

ولمعايرة الإنزيم، يؤخذ غرام واحد من مقاطع ساق البادرات النباتية النامية بمحاليل الأملاح المدروسة، ويجمد في الثلاجة، ثم يسحق في هاون مبرد، مع إضافة 10 مل من موقي الفوسفات (0.1 M و PH=7).

يحرك المزيج المسحوق على البارد مدة 30 دقيقة باستخدام خلاط مغناطيسي، ثم يثفل مدة ربع ساعة عند الدرجة 4^+ C° وبسرعة 5000 دورة/ دقيقة.

تحوي الرشاحة الناتجة عن التثفيل على البروتين الإنزيمي لأسكوربات أوكسيداز [15].

ولإجراء القياس يؤخذ في كل من أنبوبين زجاجيين سعة 5 مل أحدهما للتجربة (العينة المدروسة)، والثاني للعينة الشاهدة، 2 مل من موقي الفوسفات/EDTA، ثم يضاف في كل منهما0.1 مل حمض الأسكوربيك (الركيزة) المحضر طازجاً ذو التركيز 0.005 M.

يضاف إلى أنبوب التجربة فقط 0.1 مل من المستحضر الإنزيمي، ويضاف إلى الأنبوب الشاهد 0.1 مل من الموقي الفوسفاتي بدلاً من المستحضر الإنزيمي.

يحضن الأنبوبان الشاهد والتجربة مدة دقيقة واحدة في الدرجة $30C^{\circ}$، وتقاس امتصاصية المحاليل الناتجة عند الموجة 265nm، ثم تحسب فعالية الإنزيم من العلاقة الآتية:

$$u/ml = \frac{A_{265}/\min . vt . d}{V_s . E}$$

إذْ:

u/ml: الفعالية الإنزيمية مقدرة بالوحدات الإنزيمية في وحدة الحجم، وتسمى كمية الإنزيم اللازمة لأكسدة 1 ميكرومول من حمض الأسكوربيك بالوحدة الإنزيمية.

A_{265}: الفرق بين امتصاصية الشاهد مطروحاً منها امتصاصية العينة الإنزيمية.

V_t: حجم العينة المحضونة، d: عامل التمديد، E: معامل الإطفاء النوعي وقيمته 13.386، V_s: حجم مستحضر الإنزيم (15).

2- تعيين فعالية إنزيم الكاتلاز (EC 1.11.1.6)

ينتمي إنزيم الكاتلاز لإنزيمات الصف الأول (الأكسدة والإرجاع)، كما يعدُّ من البروتينات الهيمية التي فيها تحمل زمرة الهيم أيون الحديد، ويعتمد مبدأ معايرة فعالية الإنزيم على تحديد كمية الماء الأكسجيني المتفككة خلال 30 دقيقة بتأثير هذا الإنزيم [16].

تحضير المستحضر الإنزيمي للتحليل:

يُستخلص الكاتالاز بسحق 5 غ من المادة النباتية مع 0.3 غ من كربونات الكالسيوم و20 مل من الماء المقطر، حتى تتشكل كتلة متجانسة، ثم ينقل المزيج إلى دورق سعة 100 مل، و يكمل الحجم بالماء المقطر، يترك المزيج مدة 40 دقيقة ثم يرشح، وتستعمل الرشاحة بوصفها مستخلصاً إنزيمياً.

ولمعايرة فعالية الإنزيم تؤخذ عينتان من الرشاحة الإنزيمية (20 مل) وتصب في دورقين سعة 100 مل، تغلى إحدى العينتين مدة 3 دقائق لتخريب البروتين الإنزيمي فيها بوصفها عينة شاهدة، ثم يضاف إلى كل من الدورقين 20 مل ماءً مقطراً و3 مل من الماء الأكسيجيني ذي التركيز1%، ثم يحضن الدورقان في الدرجة $40C^{\circ}$ مدة 30 دقيقة في حاضنة هزازة، وبعد انتهاء مدة الحضن يضاف 5 مل من حمض الكبريت H_2SO_4 (10%) لتثبيط الإنزيم.

يعاير الماء الأكسجيني المتبقي (غير المتفكك) بمحلول برمنغنات البوتاسيوم ذي التركيز 0.01N حتى ظهور اللون الوردي الخفيف الذي يجب أن يثبت مدة دقيقة [17].

وتحسب فعالية إنزيم الكاتالاز مقدرة بعدد ميلي غرامات H_2O_2 المتفككة في زمن الحضن بتأثير الإنزيم الموجود في 1غ من المادة النباتية المدروسة وفق المعادلة الآتية:

$$p = \frac{(A-B) \cdot 0.17}{T \cdot H}$$

إذْ:

P: فعالية الكاتالاز ملغ/د

A: حجم برمنغنات البوتاسيوم (0.01N) المستهلك لمعايرة الماء الأكسيجيني في التجربة الشاهدة مقدراً بالـ مل.

B: حجم برمنغنات البوتاسيوم (0.01N) المستهلك لمعايرة الماء الأكسيجيني المتبقي في تجربة العينة مقدراً بالـ مل.

H: وزن العينة النباتية المأخوذة لدراسة الإنزيم فيها [بلشكوف، 1968]

0.17: عدد الميلي غرامات من H_2O_2 المكافئة إلى 1 مل من $KMnO_4$ (N 0.01)

T: زمن الحضن [17].

- فعالية إنزيم غوياكول بيروكسيداز (EC 1.11.1.7)

يقوم هذا الإنزيم بنزع الإلكترونات من مركب الغوياكول ونقله إلى الماء الأكسجيني، كما توضّح المعادلة:

$$4\ guaiacol + 4H_20_2 \xrightarrow{Peroxidase} Tetraguaiacol + 8H_20$$

يُعاير هذا الإنزيم بتحديد كمية الغوياكول المتحلقة التي لها فعالية ضوئية عند الطول الموجي 436 نانو متراً، تحدد فعاليته بكميته التي تفكك 1 ميكرو مول من الماء الأكسيجيني (الركيزة) عند الدرجة $25C^{\circ}$ وذلك خلال دقيقة واحدة [18].

تحضير المستحضر الإنزيمي

يُستخلص إنزيم غوياكول بيروكسيداز من مقاطع بادرة الذرة وفق الطريقة المتبعة لاستخلاص إنزيم أسكوربات أوكسيداز.

ولمعايرة فعالية الإنزيم يُقاس الامتصاص اللوني للمعقد المتشكل تترا غوياكول عند طول الموجة 436 nm إذْ يضاف إلى أنبوب العينة 2.8 مل من موقي الفوسفات (PH=7) تركيزه M 0.1، و0.05 مل من محلول الغوياكول Guaicol ذي التركيز M 0.018، و0.05 مل من الماء الأكسيجيني 30% و0.1 مل من المستحضر الإنزيمي المستخلص، ويحضر الأنبوب الشاهد بإضافة المكونات السابقة كلّها عدا المستحضر الإنزيمي الذي يستعاض عنه بإضافة الحجم نفسه من موقي الفوسفات السابق (PH=7, M 0.1)، وبعد ذلك يحضن المزيج المتفاعل مدة دقيقة واحدة عند الدرجة 25°C ثم تقاس الامتصاصية

على جهاز الامتصاص اللوني عند الموجة 436 نانو متراً، وتحسب الفعالية الإنزيمية وفق العلاقة الآتية:

$$u/ml = \frac{\Delta A/\min . 4 . vt . d}{V_s . E}$$

U/ml: تعبّر عن الفعالية الإنزيمية مقدرة بالوحدات الإنزيمية في وحدة الحجم، تسمى كمية الإنزيم اللازمة لتفكيك 1 ميكرومول من الماء الأكسيجيني بالوحدة الإنزيمية.

ΔA: الفرق بين امتصاصية الشاهد مطروحاً منها امتصاصية العينة الإنزيمية.

Vt: حجم العينة المحضونة، d: عامل التمديد، E: معامل الإطفاء النوعي وقيمته 25.5

Vs: حجم مستحضر الإنزيم [18].

النتائج ومناقشتها

1- إنزيم أسكوربات أوكسيداز Ascorbate oxidase

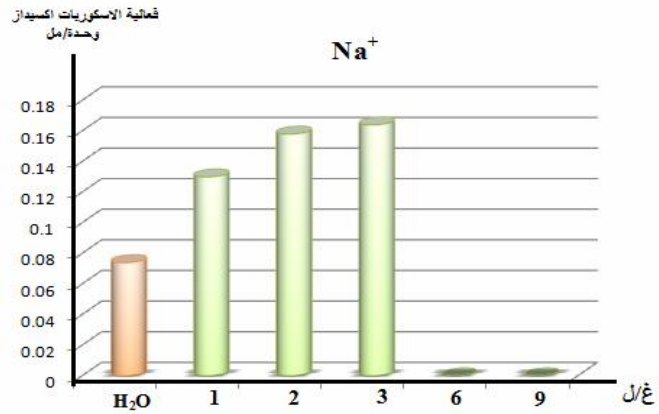
تقارن فعالية هذا الإنزيم بالحالات الآتية:

في خلايا بادرات الذرة النامية في الوسط المائي، في الوسط النامية في شوارد والصوديوم عند التركيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ ل، وتبيّن الجداول والأشكال الآتية نتائج المعايرة.

يبيّن الجدول والشكل (1) أنَّ وجود شوارد الصوديوم بالتراكيز المدروسة في وسط النمو قد أدى إلى ازدياد فعالية إنزيم اسكوربات اوكسيداز في البادرات النامية مقارنة بفعاليتها في البادرات النامية في الوسط المائي، وأن هذه الزيادة في الفعالية الإنزيمية تتناسب طرداً مع تركيز الشاردة المدروسة إذ ازدادت الفعالية الإنزيمية بمقدار 1.76، 2.14، 2.22 مرة عند التراكيز 1, 2, 3 غ / ل على الترتيب

الجدول (1) تأثير شوارد الصوديوم عند التركيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ل في فعالية الأسكوربات أكسيداز في البادرات النامية

وسط النمو	H2O	Na^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.074	0.13	0.158	0.164	0	0

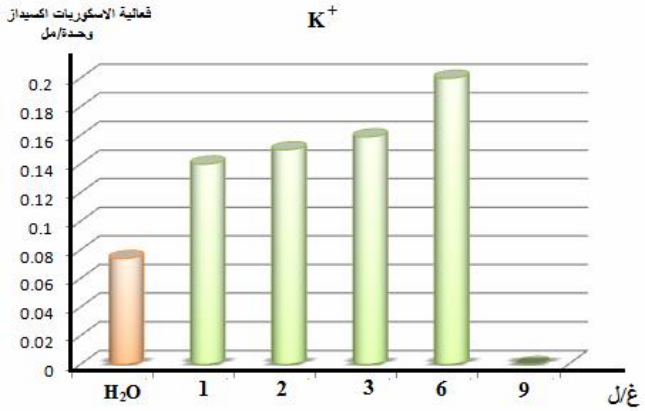


الشكل (1) تأثير شوارد الصوديوم عند التركيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ل في فعالية الأسكوربات أكسيداز في البادرات النامية

تظهر النتائج المبيّنة بالجدول والشكل (2) أن ارتفاع الفعالية الإنزيمية للاسكوربات أوكسيداز تدريجياً من 1.89، 2.03، 2.15، إلى2.7 مرة عند ارتفاع تراكيز شوارد البوتاسيوم من 1غ/ ل إلى 6 غ/ ل.

الجدول (2) تأثير شوارد البوتاسيوم بتراكيز، 1، 2، 3، 6، 9 غ/ل في فعالية الأسكوربات أكسيداز في البادرات النامية.

وسط النمو	H2O	K^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.074	0.14	0.15	0.159	0.2	0



الشكل (2) تغير فعالية الأسكوربات أكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد البوتاسيوم مقارنةً بالماء.

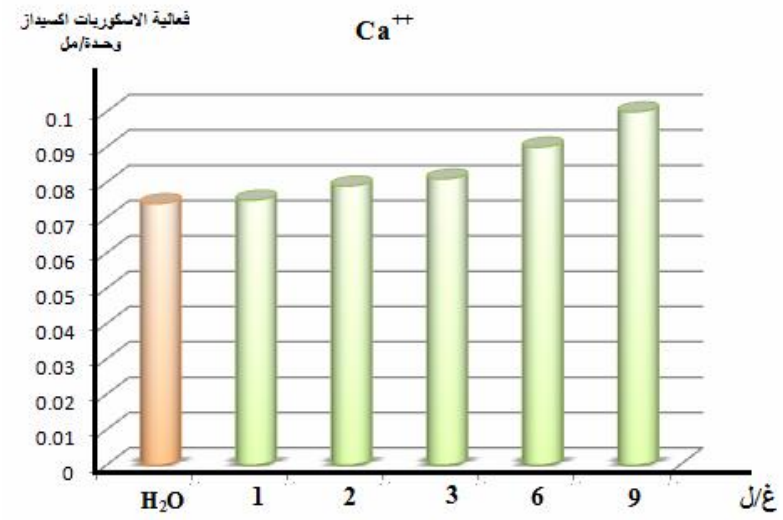
كما بيّنت النتائج أن ارتفاع تركيز الشوارد عن 6 غ/ ل أدى إلى تثبيط إنتـــاش بـــذر النبات ونموه بشكل كامل.

أمَّا فيما يتعلق بفعالية إنزيم اسكوربات اوكسيداز في مقاطع النبات النامية في الأوساط الحاوية على محاليل شوارد الكالسيوم بتراكيز متدرجة من 1، 2، 3، 4، 6، و9غ/ ل، فقد تبيّن أنّ فعالية هذا الإنزيم تزداد تدريجياً بشكل مشابه لفعالية شوارد البوتاسيوم إذ ازدادت من 1.01، 1.07، 1.09، 1.22 و1.35 مرة مقارنةً بالفعالية في بادرات الوسط المائي.

إلا أنَّ التركيز 9 غ/ل من هذه الشوارد لم تبدِ أثراً مثبطاً في إنتاش بذور الذرة ونموها معاكسة بذلك تأثير شوارد البوتاسيوم وهذا مايوضّحه الجدول والشكل (3).

الجدول (3) تأثير شوارد الكالسيوم عند التركيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ل في فعالية الأســـكوربات أكسيداز في البادرات النامية

وسط النمو	H2O	Ca^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.074	0.075	0.079	0.081	0.09	0.1

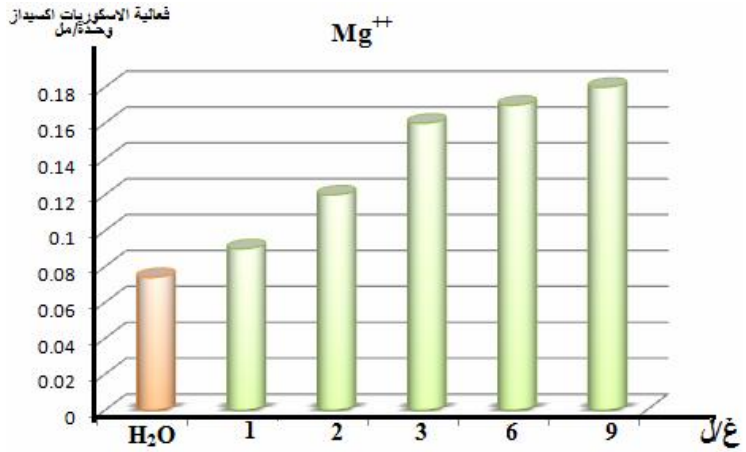


الشكل (3) تغير فعالية الأسكوربات أكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل الشواردالكالـــسيوم مقارنةً بالماء.

أمَّا بالنسبة إلى فعالية إنزيم الاسكوربات اكسيداز في مقاطع النبات النامية في الأوساط الحاوية على شوارد المغنزيوم بالتراكيز المتدرجة من 1، 2، 3، 6، و9غ/ ل فتبـيّن أن فعالية هذا الإنزيم تزداد بدءاً من 0.09 عند التركيز 1غ/ل، و0.12، 0.16، 0.17، 0.18 مـرة عند التراكيز المتدرجة من 2، 3، 6، و9غ/ ل. وهذا مايوضّحه الشكل والجدول (4).

الجدول (4) تغير فعالية الأسكوربات أكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد المغنيزيوم مقارنةً بالماء

وسط النمو	H2O	Mg^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.074	0.09	0.12	0.16	0.17	0.18



الشكل (4) تغير فعالية الأسكوربات أكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد المغنزيـوم مقارنةً بالماء.

- **إنزيم الغوياكول بيروكسيداز Guaiacol peroxidase**

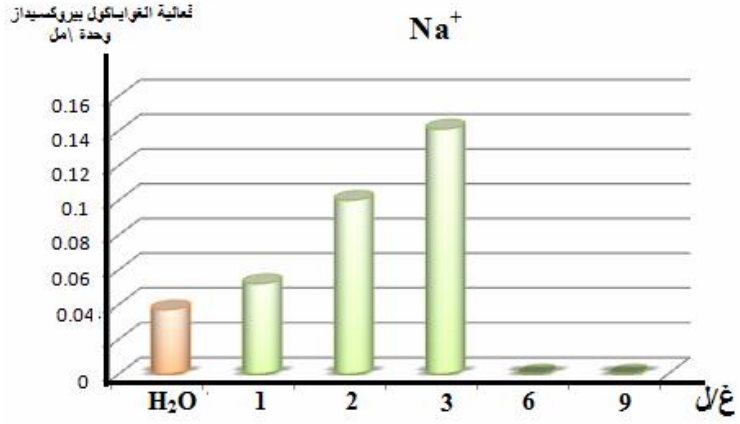
تقارن فعالية هذا الإنزيم بالحالات الآتية:

في خلايا بادرات الذرة النامية في الوسط المائي، وفي وسـط الـشوارد الكالـسيوم والمغنزيوم والبوتاسيوم والصوديوم عند التراكيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ ل، وتبيّن الجـداول والأشكال الآتية نتائج المعايرة.

وفي الشكل والجدول (5) أدت المعالجة بملح كلوريد الصوديوم بـــالتراكيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ ل إلى ازدياد هذه الفعالية بنسب تصل إلى 1.41، 2.7، 3.81 مرة علـــى الترتيـــب، مقارنة بما هو في خلايا الساق النامية في الوسط المائي، في حـــين أدى اســـتخدام محلـــول كلوريد الصوديوم بالتراكيز 6 و9 غ/ ل إلى تثبيط إنتاش بذور النبات ونموها بشكل كامل.

االجدول (5) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الصوديوم مقارنةً بالماء

وسط النمو	H_2O	Na^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.037	0.132	0.147	0.161	0	0

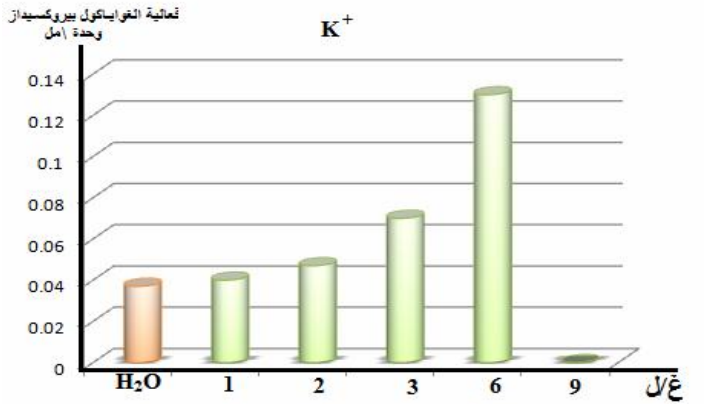


الشكل (5) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الصوديوم مقارنةً بالماء

وعند دراسة فعالية هذا الإنزيم في خلايا الساق النامية في الوسط المائي، والأوســـاط الملحية لكلوريد البوتاسيوم عند التراكيز المذكورة سابقاً، تبـــين أيـــضاً ازديـــاد الفعاليـــة الإنزيمية للغوياكول في مقاطع خلايا الساق بتأثير شوارد البوتاسيوم بمقدار 1.08, 1.27, 1,89, 4.32 مرة، في حين أدّى استخدام محلول كلوريد البوتاسيوم عند التركيـــز 9 غ/ل، إلى تثبيط نمو البذور وإنتاشها بشكل كامل، كما هو مبيّن بالجدول والشكل (6).

الجدول (6) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شواردالبوتاسيوم مقارنةً بالماء

وسط النمو	H2O	K^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.037	0.04	0.047	0.07	0.13	0

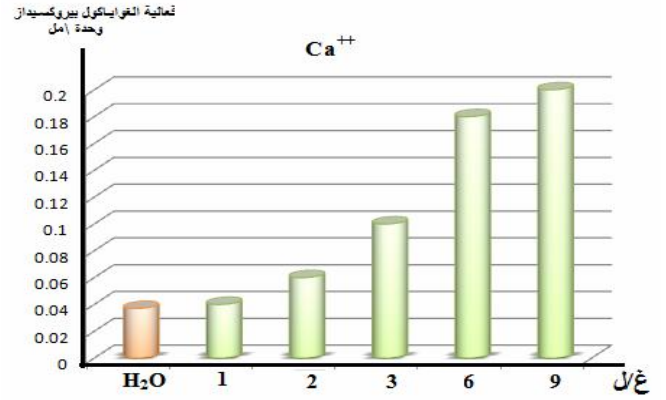


الشكل (6) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد البوتاسيوم مقارنةً بالماء.

يتبين من الشكل والجدول (7) أن تأثير شوارد الكالسيوم في فعالية إنزيم الغواياكول كان مشابهاً لتأثير كل من شوارد الصوديوم والبوتاسيوم إذ ازدادت هذه الفعالية بمقدار 1.08، 1.62، 2.7، 4.86، 5.41 مرة، عند استخدام محاليل شوارد الكالسيوم بتراكيز 1، 2، 3، 6 و9 غ/ل على الترتيب. ومن الجدير بالملاحظة أنه لم يبدِ التركيز 9 أي تأثير مثبط في نمو بذور النبات وإنتاشها.

الجدول (7) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الكالسيوم مقارنةً بالماء

وسط النمو	H_2O	Ca^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.037	0.04	0.06	0.1	0.18	0.2

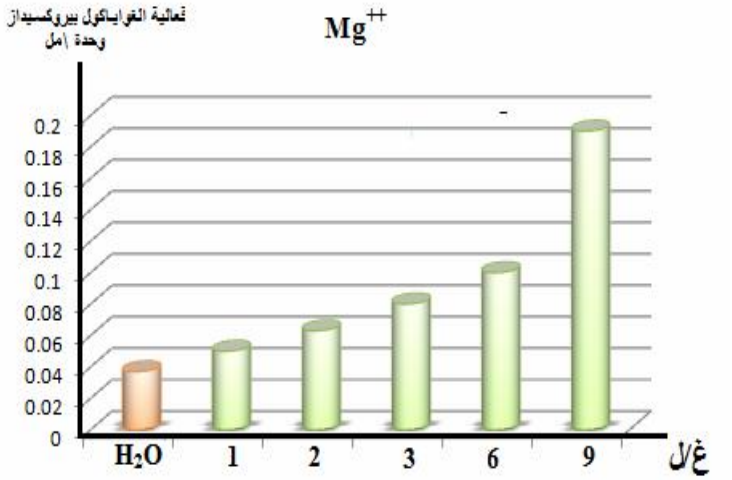


الشكل (7) تغير فعالية الغوياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الكالسيوم مقارنةً بالماء.

كما أبدت تنمية بذور الذرة في أوساط من شوارد المعنزيوم تغيرات في فعالية إنـــزيم الغواياكول مشابهاً لما أبدته شوارد الكالسيوم، إذْ ازدادت فعالية هذا الإنزيم بمقدار 1.35، 1.7، 2.16، 2.7 و5.14 عند استخدام تراكيز متدرجة 1، 2، 3، 6، 9 غ/ل فضلاً عـــن التشابه في كون التركيزين 6 و9 لم يبديا أي تأثير مثبط في نمو بذور الذرة وإنتاشها وهو ما يتضح بالجدول والشكل (8).

الجدول (8) تغير فعالية الغواياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شواردالمغنزيوم مقارنةً بالماء.

وسط النمو	H_2O	Mg^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.037	0.05	0.063	0.08	0.1	0.19



الشكل (8) تغير فعالية الغواياكول بيروكسيداز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد المغنزيـــوم مقارنةً بالماء.

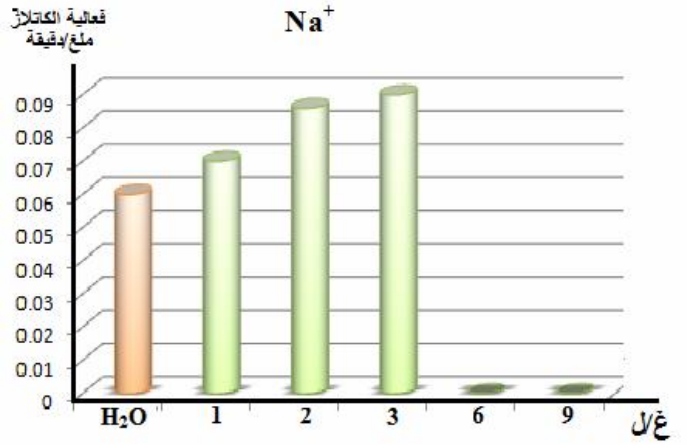
إنزيم الكاتلاز

عند دراسة فعالية إنزيم الكاتلاز في خلايا مقاطع ساق الذرة المنماة علـــى الـــشوارد المذكورة سابقاً كانت لها تأثيرات مشابهة فيما بينها، إذْ أدت التراكيز المرتفعة فـــي هـــذه الشوارد إلى ارتفاع الفعالية الإنزيمية تدريجياً، وأدّى التدرج في تركيـــز الـــشوارد إلـــى

ارتفاع فعالية الإنزيم تدريجياً من 1 إلى 3 غ/ ل، أمّا التركيزان 6، 9غ/ ل فكان هنـــاك اختلاف في تأثير هذه الشوارد في نمو بذور النبات وإنتاشها وفعالية الإنزيم فيها، إذْ أدى استخدام شاردة الصوديوم بالتركيزين 6 و9 غ/ ل إلى تثبيط النمو، وشـــاردة البوتاســـيوم عند التركيز 9غ/ ل إلى تثبيط النمو في حين كانت فعالية الإنزيم بتأثير فعاليـــة شـــوارد الكالسيوم والمغنزيوم عاليةً ومستمرةً في الزيادة عند التراكيز 1، 2، 3، 6، 9 غ/ ل، وهـــذا ماتوضّحه الجداول والأشكال (9)، (10)، (11)، (12):

الجدول (9) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شواردالصوديوم مقارنةً بالماء

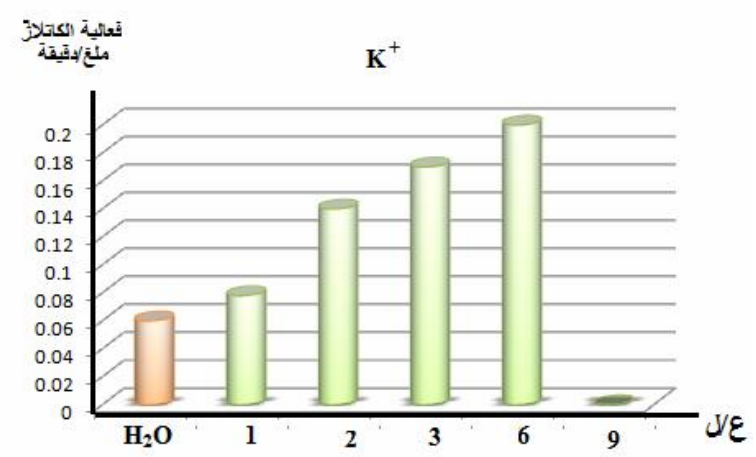
وسط النمو	H2O	Na^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.06	0.07	0.086	0.09	0	0



الشكل (9) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شواردالصوديوم مقارنةً بالماء

الجدول (10) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد البوتاسيوم مقارنةً بالماء

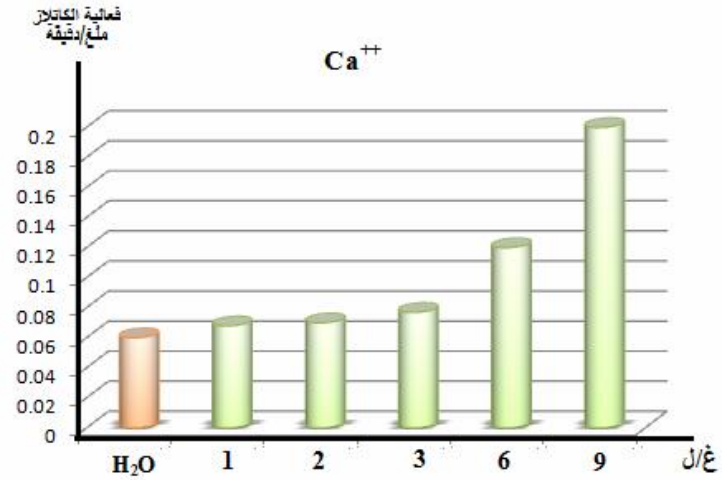
وسط النمو	H_2O	K^+				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.06	0.078	0.14	0.17	0.2	0



الشكل (10)تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد البوتاسيوم مقارنةً بالماء

الجدول (11) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الكالسيوم مقارنةً بالماء

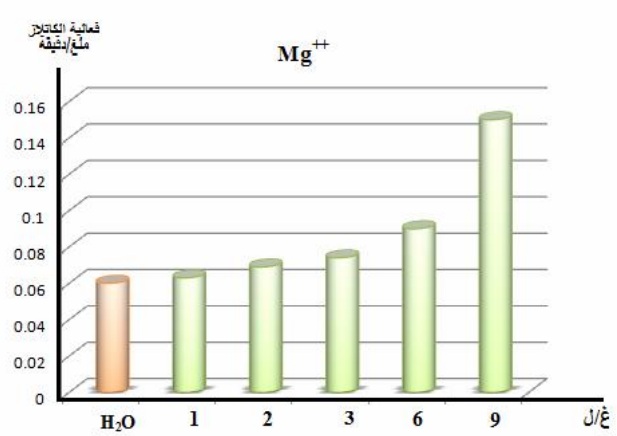
وسط النمو	H_2O	Ca^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.06	0.068	0.07	0.077	0.12	0.2



الشكل (11) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد الكالسيوم مقارنةً بالماء

الجدول (12) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد المغنزيوم مقارنةً بالماء

وسط النمو	H_2O	Mg^{++}				
التركيز غ/ل		1	2	3	6	9
الفعالية وحدة/مل	0.06	0.063	0.069	0.074	0.09	0.15



الشكل (12) تغير فعالية الكاتلاز في مقاطع السويقة في محاليل شوارد المغنزيوم مقارنةً بالماء

REFERENCES المراجع

1- Silva, J. A., Uchida, R. 2000. Essential Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa.

2- Plant Nutrition. 2011. Innovate to Conserve Natural Resources MGP Inc, 1(800), 574-7248 23/3/2013.

3- Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. 2009. Emanuel Epstein – 12/1/2012

4- http://aesl.ces.uga.edu/publications/plant/Nutrient.htm,Retrieved Jan, 2010. 7/4/2013

5-Arkadiusz, T. 2001. Effect of soil salinity on activity of antioxidant enzymes and content of ascorbic acid and phenol hn Bean plants,Emanuel Epstein.

6-Ezatollah, E., Fariborz, S., Farid, S. 2007. The effect of salt stress of antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling, Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj ,35(1),48-56.

7- Soleimanzadeh, H., Habibi, D., Ardakani, M. R., Paknejad, F., Rejal, F. 2010. Effect of Potassium Levels on Antioxidant Enzymes and Malondialdehyde Content under Drought Stress in Sunflower (Helianthus annuus L.), American Journal of Agricultural and Biological Sciences 5 (1), 56-61.

8- Gholizadeh, S., Nemati, I., Moradim F. 2012. Effect of supplemental calcium and potassium on organic and inorganic solutes and antioxidant enzymes activity in NaCl stressed alfalfa seedlings, International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4 (7),377-385.

9- Jaleel, C., Gopi, M., R., Gomathayam, M., M. 2008. Effects of calcium chloride on metabolism of salt stressd (Dioscrea Rotundata), acta biologica cracviensla *Series Botanica*, 50(/1), 63–67.

10- Norman, P. A., Hopkins, W. 2011. Introduction to Plant Physiology.

11- Alex. CW. 2006. Plant nutrition, Magnesium Mineral, The Green world ISBN 0-7910-8564-3.

12-Chun-Hsin, L., Yun-Yang, C., Ching Huei, K. 2013. Effect of potassium deficiency on antioxidant status and cadmium toxicity in rice seedlings, Liu *et al.*. Botanical Studies,54(2).

13- Anza, M., Riga, P. 2009. Effect of magnesium defiency in antioxidant anzymes from pepper plants (*CAPSICUM ANNUUM* L.), acta biologic carcoviensia, *Series Botanica* 50/1: 63–67.

14-Ezatollahe, E. 2010. Effect of Mg Deficiency on Antioxidant Enzymes Activities and Lipid Peroxidation, Journal of Agricultural Science, 2(3),131-136.

15- Oberbacher, M. F., Vines, H. M. 1963. "Assay Procedure for Ascorbate Oxidase" Nature 197, 1203.

16- Brenda, 2009. EC 1.11.1.6 - catalase.: The Comprehensive Enzyme Information System. Department of Bioinformatics and Biochemistry, Technische Universität Braunschweig.

17 - بلشكوف. 1968. كتاب العملي في بيوكيمياء النبات . مؤسسة العلوم، موسكو.

18- Bergmeyer, H. U. 1974. Methods of Enzymatic Analysis 1, Academic Press, New York. 2nd Edition, page 495.