مقارنة محتوى أربعة اصناف من الرز (*Oryza sativa* L.) في مرحله الازهار لبعض مضادات الاكسدة

ميثاق عبد مسلم جودة اسيل فاضل ايوب

مدرس مدرس

قسم البيئة – كلية العلوم – جامعة الكوفة

البريد الالكتروني Muthikabd1@gmail.com

المستخلص :

يهدف هذا البحث الى تحديد وتمييز اربعة اصناف من الارز(*Oryza sativa* L.) التي تزرع في العراق وايها اكثر تحملا لظروف الاجهاد من خلال قياس محتوى بعض مضادات الأكسدة كدليل مقارنة لنجاح الاصناف (عنبر33 والياسمين والفرات والحبة السوداء) .أجريت الدراسة في حقول مركز دراسات الرز في المشخاب في محافظة النجف الاشرف في 2016 . نفذت بنظام الألواح المنشقة على وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة بثلاثة مكررات واخذت قياسات محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a ,b والكاروتين والبرولين كما وقيست فعالية انزيمات Superoxide dismutase (SOD) و Catalase (CAT) والبروتين الكلي وانزيم Protease .

وقد بينت النتائج ارتفاع محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a , b و الكاروتين و ارتفاع فعالية إنزيمات Superoxide dismutase (SOD) والكتاليز Catalase (CAT) في اصناف الحبة السوداء والعنبر والياسمين ثم اخيرا الفرات بالتتابع . اما كمية البرولين Proline يظهر تفوق صنف العنبر33 يليه الياسمين والحبة السوداء والفرات بالتتابع . اما كمية البروتين فلم تعطي فروقا معنوية بين الاصناف المدروسة في حين انخفضت فعالية إنزيم البروتيز Protease في اصناف الحبة السوداء والعنبر والياسمين والفرات بالتتابع وبفروقات معنوية . ومما سبق من نتائج يمكن الاستدلال على ان مؤشرات محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a ,b والكاروتين والبرولين و فعالية انزيمات Superoxide dismutase (SOD) و Catalase (CAT) يمكن استعمالها لانتخاب افضل الاصناف المقاومة للظروف البيئية المجهدة .

الكلمات المفتاحية : الرز(*Oryza sativa* L.) ، مضادات الاكسدة ، الكلوروفيل ،الكاروتين ،الانزيمات

Comparative between four varieties of rice (*Oryza sativa* L.) in some antioxidants content at flower stage

Muthik Abd Muslim Guda **Aseel Fadel Ayoub**

Lecturer **Lecturer**

Department of Environment /Faculty of Science / University of Kufa

E-mial address: Muthikabd1@gmail.com

Abstracts:

The purpose of this study is to identify and distinguish four varieties of rice (*Oryza sativa* L.) grown in Iraq, which are more resistant to stress by using the measurement of some antioxidants content as a comparative guide to the success of

varieties (amber 33, Jasmine, ferrite and black bean). The field study was conducted at the rice growing center in Mashkhab in Al-Najaf province in 2016. using RCBD in split plots arrangement with three replicates. The study included four varieties of rice to measure total chlorophyll content, chlorophyll a, b, carotene ,proline , activity of Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT) ,protease (pro) and total protein .

The results showed an increase in total chlorophyll, chlorophyll a, b, and carotene, and the high activity of Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in the black bean> amber33> jasmine, and finally the Ferrite cultivars respectively. The amount of Proline shows superiority of Amber 33 > jasmine >black bean > Ferrite, respectively. The protein did not show any significant differences between varieties. While Protease activity decreased in the black bean < amber33 < jasmine < Ferrite cultivars respectively. From the above results it can be used total chlorophyll content, chlorophyll a, b, carotene, proline and the activates of Superoxide dismutase (SOD) and Catalase (CAT) enzymes as indicators to select the most successful to withstand stressful environmental conditions.

Keywords: rice (*Oryza sativa* L.), antioxidants, chlorophyll, carotene and enzyme.

المقدمة :

تختلف النباتات في استجابتها للعامل البيئي إذ يعتمد ذلك على القدرة الوراثية لكل نبات واختلاف العامل الزمني (ليل أو نهار، صيف أو شتاء) واختلاف المراحل العمرية له (بذرة- بادرة- نبات كامل) (28,25,14). فصبغة الكلوروفيل تعدّ مؤشراً حيوياً يعطي علامة على التلوث ويستخدم لتحديد التراجع في النمو قبل أية علامة تظهر على النبات(29) . اثبتت الدراسات ان النباتات ذات محتوى الكلوروفيل العالي تعطي مقاومة اكبر للملوثات من النباتات ذات المحتوى القليل من الكلوروفيل (2). كما إن تركيز البرولين يستعمل في التجارب كمقياس للإجهاد الذي يفرض على النباتات مثل الرز، إذ يتجمع تحت مدى متغاير من الظروف المجهدة مثل الجفاف، الملوحة، درجات الحرارة المتطرفة والكثافة الضوئية العالية (17) زيادة مستوى البرولين الحر إشارة لمقاومة النبات للإجهاد ويحدث على نحو واسع في النباتات الراقية ويتركز بكميات كبيرة وأكثر بمرات من الأحماض الأمينية الأخرى . إن إنزيم CAT يمثل المرحلة الثانية من النظام الدفاعي في الخلايا والأنسجة النباتية لأنه يعمل على سحب وتصريف بيروكسيد الهيدروجين المتولد أثناء الإجهادات المختلفة، إذ يستلم البيروكسيد أما بشكل طبيعي أو نتيجة لفعل ودور إنزيم SOD. وبخصوص ذلك أشار(24) إلى العلاقة الوثيقة بين الإنزيمين في كونهما من أكثر مضادات الأكسدة شيوعاً مع مدى ارتباطهما بنظام واحد يقلل خطورة الجذور الحرة (O_2 , H_2O_2) للتخلص من تأثيرها في سير العمليات الحيوية داخل الخلايا. . اقترحت Guda وجماعتها (4) أن بروتينات الإجهاد يمكن إن تستعمل كمؤشرات جزيئية مهمة لتحسين التحمل الملحي وذلك باستعمال تقنيات الهندسة الوراثية (19)، وقد تم تشخيص البروتينات المحَفزة بالملح في أنواع من النباتات

(5) . إذ يقل محتوى البروتين الكلي في نباتات الرز *Oryza sativa* والطماطم *Lycopersicon ensculentum* والباقلاء *Vicia faba* عند تعرضها لإجهاد ملحي بكلوريد الصوديوم .

. ويكتسب البحث اهميته لان محصول الرز يعد الوجبة الرئيسة المفضلة بالنسبة لمعظم العراقيين وتستورد سنويا كميات كبيرة منه لسد النقص من هذا المحصول. وهو المحصول الحقلي الوحيد الذي ينفرد في خاصيته في النمو والعيش فـي الاراضـي المغمورة وغير المغمورة فهو يتحمل الاراضي الرطبة المغمورة بينما باقي المحاصيل لا يمكن ان تعيش في هذه الظروف . وتعد محافظة النجف في مقدمة المحافظات من حيث المساحة المزروعة وذلك لتوفر المياه وخبرة المزارعين والظروف المناخية الملائمة . في هذه الدراسة زرعت اربعة اصناف من الرز(.L *Oryza sativa*) التي تزرع في العراق وتم اختبار ايها اكثر تحملا لظروف الاجهاد من خلال استخدام قياس محتوى بعض من مضادات الأكسدة كدليل مقارنة لنجاح الاصناف (عنبر33 والياسمين والفرات والحبة السوداء) ،وان دراسة افضل الاصناف للزراعة تعد طريقة جديدة للانتخاب من خلال فحوصات بيوكيميائية يمكن استخدامها لانتخاب افضل الاصناف الناجحة في الزراعة والمقاومة للظروف البيئية المجهدة.

المواد وطرائق العمل:

مصدر البذور استعملت في هذه الدراسة بذور الرز من دائرة البحوث الزراعية /محطة ابحاث الرز في قضاء المشخاب .لمحصول تشرين الثاني – 2016 من محافظة النجف – قضاء المشخاب وقد انتخبت البذور المتماثلة مظهرياً لغرض إجراء التجارب .

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

نفذت تجربة حقلية في محطة ابحاث الرز في المشخاب لموسم 2016 استعمل تصميم القطاعات الكاملة المعشاه بثلاثة مكررات RCBD. حرثت ارض التجربة حراثتين متعامدتين بوساطة المحراث المطرحي القلاب ونعمت بواسطة االامشاط القرصية وتمت التسوية بالة التسوية . زرعت بذور التجربة في تاريخ 15-6-2016 وكان موعد الشتال في 10-7-2016 وحصدت في تشرين الثاني استخدمت طريقة البذار المباشر .سقيت التجربة برية غزيرة عند الزراعة واستمر الري بمعدل ريه لكل يومين او ثلاثه حسب الحاجة. تم تسميد التربة بإضافة سماد يوريا N%46 (وكذلك بالسماد الفوسفاتي باضافة 19 كغم سوبرفوسفات الثلاثي) على ثلاثة دفعات متساوية ، الاولى عند الزراعة والثانية بعد شهر من الدفعة الأولى والثالثة بعد شهر من الدفعة الثانية .نفذت التجربة وفق التصميم تام العشوائية Complete Randomized Design (CRD) بتجربة بأربعة مستويات. وقد تم تحليل النتائج وفق النظام الإحصائي SPSS 17.0 وقورنت المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي .L.S.D عند مستوى احتمال 0.05 .

التقديرات الكيموحيوية.

تقدير محتوى النبات من الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل (a ,b) والكاروتينات:

تم تحديد تركيز الكلوروفيل (a) و(b)على وفق طريقة Arnon (6) حيث تم أخذ عينة مقدارها 150-200 ملغم من الورقة الثالثة للنباتات المدروسة وسحنت مع (10 مل) من الأسيتون يضاف بالتدريج . ثم يؤخذ الراشح وتحضر أنبوبة مدرجة حاوية على أسيتون (80%) للتصفير (Blank) ، وتم حساب المحتوى الكلوروفيلي الكلي mg\g نسيج ورقي و Chl.a و Chl.b و Carotenoid من خلال المعادلات التالية :

Total chlorophyll (µg/gm) = {A645 (20.2) + A633(8.02)} v/w ×1000

(Chl.a(µg/gm)=12.7(A663)-2.69(A645)

Chl.b(µg/gm)=22.9(A645)-4.68(A663)

وتم قياس محتوى الأوراق من الكاروتينات باستخدام معادلة Lichtenthaler and welburn(1983) تحت طول موجي nm470:

Carotenoid (µg/g)=(1000 A 470-3.27 [Chl.a] -104 [Chl.b] /229

حيث ان :A645 الامتصاصية بالطول الموجي 645 نانوميتر .A633 الامتصاصية بالطول الموجي 633 نانوميتر .A470 الامتصاصية الضوئية بطول موجي 470نانو ميتر . Vالحجم النهائي لمستخلص الكلوروفيل .W وزن النسيج الورقي

تقدير محتوى النبات من البرولين Proline

استعملت الطريقة المتبعة من قبلBates (8) في تقدير محتوى النبات من البرولين حيث تم أخذ 0.1 مل من المستخلص النباتي وأضيف إليه 2مل من حامض النهيدرين وحامض الخليك الثلجي، ثم قرأت الامتصاصية بطول موجي 520 nm. وبعد حساب كمية البرولين من المنحني القياسي تم تطبيق القانون التالي -:

$$\mu moles\ \ proline/g = \frac{(\frac{mg\ proline}{ml} \times ml\ toluene)\frac{115.5\ mg}{mg}}{\frac{g\ sample}{5}}$$

إذ أن:-

mg proline.مل$^{-1}$= تركيز البرولين المحسوب من المنحني القياسي

toluene مل = حجم التلوين المستخدم= 1مل

115.5= ثابت و g of sample = وزن العينة النباتية.

المستخلص النباتي لتقدير فعالية إنزيم SOD , CAT (12)

تم وزن 0.5غم من النسيج النباتي الطري وهرس في 5مل من المحلول المكون (PBS 50mM pH7.0, EDTA 0.1mM, PVP %4) بجفنة خزفية ووضعت على جريش من الثلج ليوفر ظروف مبردة، ثم لينبذ في

جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 5000 دورة/دقيقة لمدة 15دقيقة في درجة حرارة 4 مْ، أهمل الراسب وأخذ الراشح ليمثل المستخلص الخام.

تقدير فعالية إنزيم الكتاليز Catalase (CAT)

استعملت الطريقة المتبعة من قبل Aebi (1) في تقدير فعالية إنزيم الكتاليز إذ تم أخذ 20مايكروليتر من المستخلص النباتي وأضيف إليه 1مل من محلول بيروكسيد الهيدروجين 30ملي مولاري H_2O_2، ثم قرأت الامتصاصية بطول موجي 240 nm.

وتحسب فعالية الإنزيم بتطبيق المعادلة الآتية : (20)

$$\textbf{Catalase Activity (unit/g)} = \frac{\frac{\Delta \textbf{abs}}{\textbf{min}} \times \textbf{reaction volume}}{\textbf{0.001}}$$

إذ أن Δabs= :- التغير في الامتصاصية خلال الزمن

min= 1دقيقة reaction volume = حجم المستخلص

وتعرف الوحدة الإنزيمية على إنها كمية الإنزيم القادرة على تغيير الامتصاصية الضوئية بمقدار 0.001عند طول موجي 240 nm لمحلول التفاعل لكل دقيقة تحت الظروف القياسية.

تقدير فعالية إنزيم Superoxide dismutase (SOD)

استخدمت الطريقة المتبعة من قبل marklund and marklund (20) في تقدير فعالية إنزيم SOD حيث تم أخذ 50مايكروليتر من المستخلص النباتي وأضيف إليه 0.2مل من محلول البايراكالول و 2مل من محلول دارئ الترس، ثم قرأت الامتصاصية الضوئية عند الطول الموجي 420 nm.

وتحسب فعالية الإنزيم بتطبيق المعادلة الآتية : (XII)

$$\textbf{SOD Activity (units)} = \frac{\frac{\%\textbf{inhibition of pyragallol reduction}}{\textbf{50\%}} \times \textbf{reaction volume}}{\textbf{total test period (10min)}}$$

إذ أن :-

%inhibition of pyragallol reduction= النسبة المئوية لتثبيط اختزال البايراكالول

reaction volume= حجم المستخلص

total test period (10 min)= فترة التفاعل الكلي (10 دقيقة)

وتعرف الوحدة الإنزيمية على إنها كمية الإنزيم القادرة على أن تسبب تثبيط 50% من مقدار النسبة المئوية لأكسدة المادة الأساس للتفاعل عند الطول الموجي 420 نانومتر لكل دقيقة تحت الظروف القياسية.

تقدير فعالية إنزيم البروتيز Protease

استعملت الطريقة المتبعة من قبل Brock (11) في تقدير فعالية إنزيم البروتيز حيث تم أخذ 0.2مل من المستخلص النباتي وأضيف إليه 1.8مل من محلول التفاعل الأساس (كازئيين Casien)، ثم قرأت الامتصاصية الضوئية عند طول موجي 280 nm.

وتحسب فعالية الإنزيم بتطبيق المعادلة الآتية :-

$$\text{Protease Activity} = \frac{\Delta abs\ (280)}{\text{enzymatic volume} \times \text{time(min)} \times 0.01}$$ (

إذ أن :-

Δabs= التغير في الامتصاصية ، time (min) = زمن التفاعل (الدقيقة)

enzymatic volume= حجم الإنزيم

وتعرف الوحدة الإنزيمية على إنها كمية الإنزيم القادرة على تغيير الامتصاصية الضوئية بمقدار 0.01 على طول موجي 280 nm لمحلول التفاعل لكل دقيقة تحت الظروف القياسية.

المستخلص النباتي لتقدير محتوى البروتين وفعالية إنزيم البروتيز :

وزن 0.5غم من النسيج النباتي الطري ووضع في 5مل من دارئ الفوسفات (PBS 50mM, pH= 6) إذ هرس بجفنه خزفية فوق الثلج للحصول على درجة حرارة واطئة، ثم رشح المستخلص بقماش الشاش ونبذ الراشح في جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 15دقيقة وبدرجة حرارة 4 مْ، أهمل الراشح الذي يمثل المستخلص الخام.

تقدير محتوى البروتين Protein

تم تقدير البروتين حسب طريقة Bishop (9) حيث يؤخذ غرام (1) من الجزء النباتي أوراق ويسحق مع (6)مل من محلول الفوسفيت بفر (pH=5.6)في هاون خزفي ويوضع الهاون على جريش الثلج أثناء السحق لمدة (5 – 10) دقائق للحصول على درجة حرارة منخفضة . يرشح الخليط من خلال طبقتين من الشاش ويجمع الراشح وتجرى عليه عملية الطرد المركزي بقوة (15000) دورة / دقيقة لمدة (15) دقيقة ، يهمل الراسب ويؤخذ الراشح ويكمل إلى (15)مل باستعمال محلول . Phosphate buffer يؤخذ (2)مل من مستخلص البروتين ويضاف إليه (8)مل من كاشف بايوريت ، يرج ثم يترك لمدة نصف ساعة بعدها تقرأ الامتصاصية بجهاز المطياف Spectrophotometerبطول موجي (555) نانومترأم البلانك (Blank) فحضر من (2) مل من Phosphate bufferمع 8مل من البايوريت ويستعمل لمعايرة الجهاز.

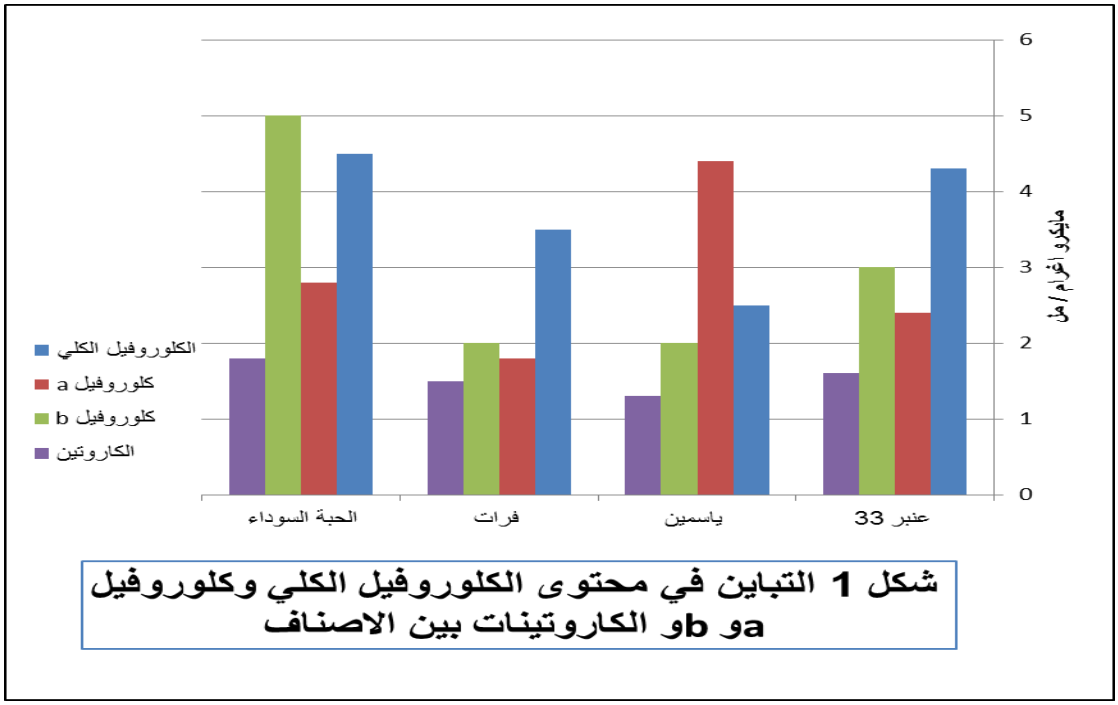
النتائج والمناقشة:

التباين في محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a وb و الكاروتينات بين الاصناف

من ملاحظة شكل 1 نلاحظ ان محتوى النباتات المدروسة من الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل b و الكاروتينات يظهر تفوق صنف الحبة السوداء يليه العنبر33 والفرات ثم الياسمين ووجود فروق معنوية مقدارها (0.84 و0.6 و 0.09) بالتتابع في حين ان كلوروفيل a يظهر اعلى محتوى في صنف الياسمين يليه الحبة السوداء ثم العنبر33 واخيرا الفرات ووجود فروق معنوية مقدارها (1.9) .

ان تباين محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a وb و الكاروتينات بين الاصناف شكل 1 يدل على الاختلافات الجينية بين الاصناف عند ثبوت التغيرات البيئية . ويمكن أن يُنسب إلى انخفاض في معدل عدد ومساحة الأوراق المؤدي لمستوى واطيء من البناء الضوئي كتقرير (7)، لينتهي بتحديد تجهيز الخلايا بالكربوهيدرات

التي تحتاجها خلال النمو (22)، كما ويُعزى إلى قلة امتصاص الماء . كما قد يؤدي الى إنخفاض معدل البناء الضوئي بسبب نقص صبغة اليخضور (الكلوروفيل) في أوراق نبات الرز . فمن المحتمل أن يستجيب النبات للبيئة بدفع العمليات الأيضية نحو إنتاج أكثر للبرولين بالاعتماد على البادئ المشترك الكلوتاميت Glutamate مؤثراً بذلك في محتوى الكلوروفيل كاستنتاج (16)، او كما في دراسة Borsani(10) الذي أضاف لما تقدم زيادة فعالية الإنزيم المحطم للكلوروفيل Chlorophylase وهذه الاسباب تكون ثابته في الاصناف المختلفة .



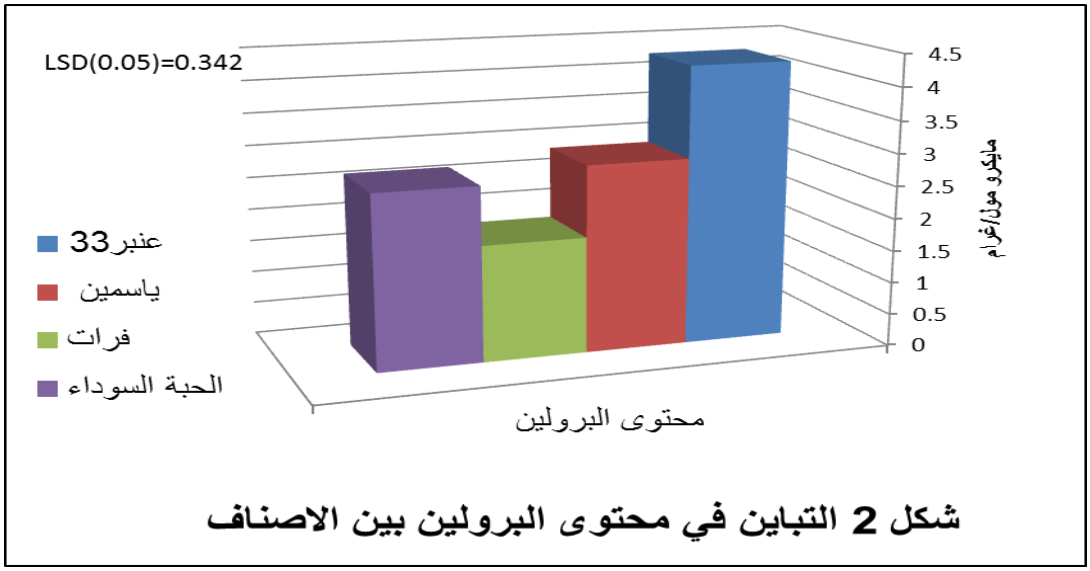
شكل 1 التباين في محتوى الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل aو b والكاروتينات بين الاصناف

L.S.D (0.05) كاروتينات = **0.09** , **L.S.D** (0.05) كلورفيل الكلي = **0.84**

L.S.D (0.05) الكلوروفيل **b** = **0.6** , **L.S.D** (0.05) كلورفيل **a** = **1.9**

التباين في محتوى البرولين بين الاصناف بين شكل (2) التباين في محتوى البرولين في اوراق النباتات المدروسة ، حيث ازداد محتوى البرولين بشكل معنوي مقداره (0.342) وكانت القيم (1.9 و4.3,3.1,2.4) مايكرومول.غم$^{-1}$ بالتتابع يظهر تفوق صنف العنبر33 يليه الياسمين والحبة السوداء والفرات بالتتابع.

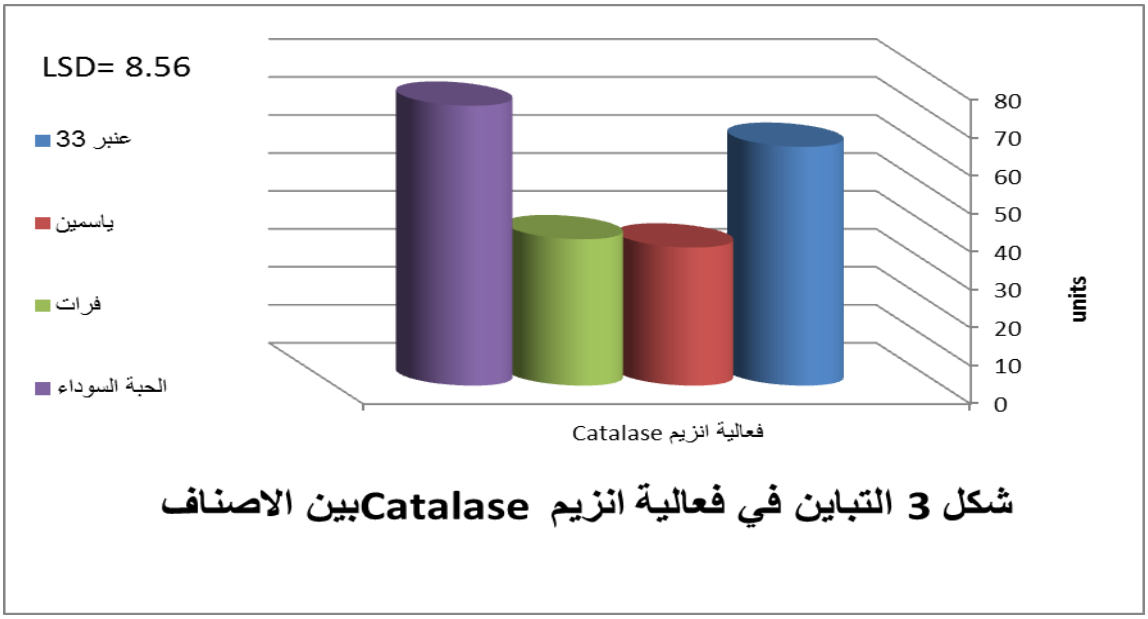
التباين في محتوى البرولين بين الاصناف يدل على تكيف اصناف معينة مثل العنبر33 والياسمين اكثر من بقية الاصناف شكل 2 وذلك لكون هذا الصنف قد تكيف مع ظروف العراق البيئية من ارتفاع درجات الحرارة وملوحة التربة ومياه السقي اكثر من الاصناف الاخرى المستزرعة والمهجنة حديثا في البيئة العراقية ، وبما إن النبات يحتاج البرولين ليعمل على إبقاء الجهد التنافذي متناسب مع استمرارية دخول الماء، إضافة لكونه عاملاً وقائياً لإنزيمات وأغشية العضيات الخلوية. فالإجهاد الأوزموزي يسيطر على تحوير التعبير الجيني المسؤول عن المسار الخاص بإنزيمات تخليق أو أكسدة البرولين وبذلك يتحدد تركيزه في النبات , وبالاعتماد على ما ذُكر أعلاه نجد علاقة طردية بين تجمع البرولين وحساسية النبات للملوحة مثل الرز (21).



شكل 2 التباين في محتوى البرولين بين الاصناف

التباين في فعالية انزيم Catalase بين الاصناف

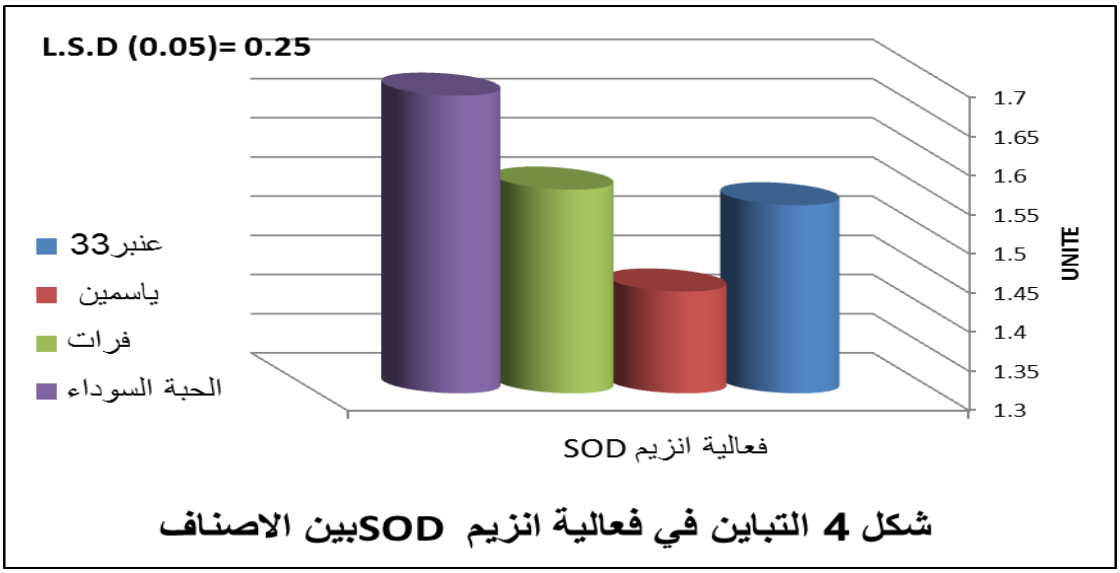
من ملاحظة شكل 3 نلاحظ ان فعالية انزيم الكتاليز للنباتات المدروسة يظهر تفوق صنف الحبة السوداء يليه العنبر33 والفرات ثم الياسمين وبمقدار(70.6و67.3 و45.8 و42.3) وحدة انزيمية بالتتابع ووجود فروق معنوية مقدارها (56. 8) .التباين في فعالية انزيم Catalase بين الاصناف قد يرجع الى فترة النمو السريع في مرحلة الازهار وهي مرحلة توصف بنشاط الخلايا المفرط واختلاف الاصناف يرجع الى اسباب جينية (26) او اختلاف مرحلة النمو وخاصة عند إرتفاع كميته في أوراق النباتات الحساسة مثل الرز أما (27) فقد وجدا إنخفاض في فعالية CAT نبات الفاصوليا المعرض لظروف ملحية، ويوضح بإعاقة الملوحة لعملية البناء الحيوي لإنزيمات جديدة أو نتيجة لزيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يقود إلى تثبيط إنزيمات تحليله مثل CAT .



شكل 3 التباين في فعالية انزيم Catalaseبين الاصناف

التباين في فعالية انزيم SOD بين الاصناف

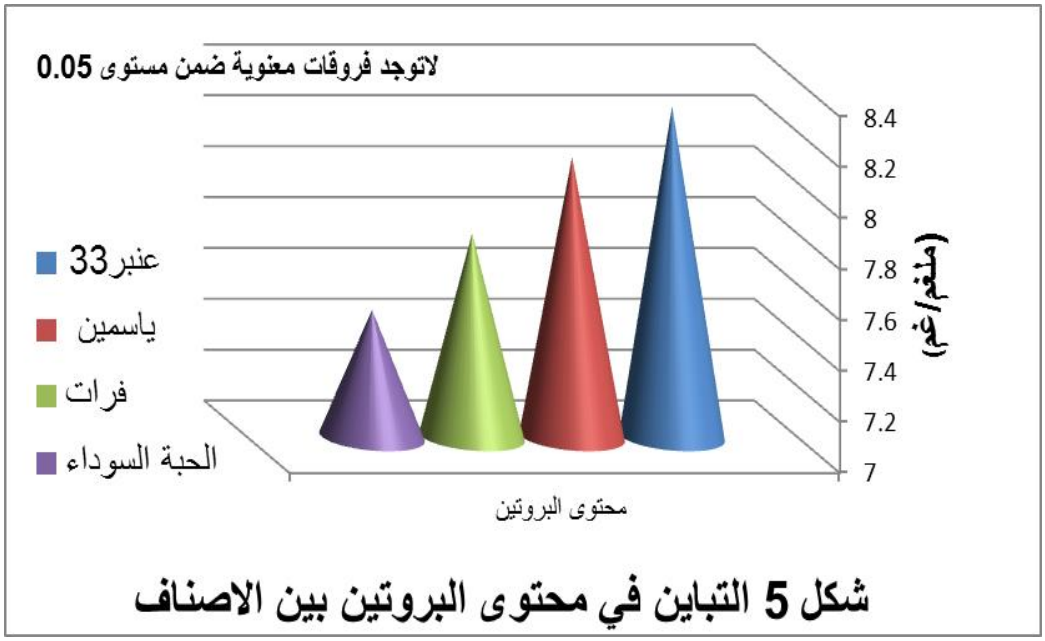
من ملاحظة شكل 4 نلاحظ ان فعالية انزيم الكتاليز للنباتات المدروسة يظهر تفوق صنف الحبة السوداء يليه العنبر 33 والفرات ثم الياسمين وبمقدار (1.69 و 1.56 و 1.49 و 1.47) وحدة انزيمية بالتتابع ووجود فروق معنوية مقدارها (0.25) . التباين في فعالية انزيم SOD بين الاصناف قد يكمن في توليد الجذور الحرة بإنتاج ROS وتحفيز الإجهاد التأكسدي وهذا يرجع الى نشاط الخلايا المفرط، وبمتابعة شكل 3 تظهر زيادة تقدمية هامة في فعالية إنزيم SOD متفق مع نتائج (3). وهنالك دراسة أجراها (13) على الرز تشير إلى فعالية Mn– SOD المايتوكوندريا و Cu/Zn–SOD البلاستيدة الخضراء تتزايد في الأوراق النشطة ، لكونها تُعد كابحات أساسية في إزالة سمية ROS خاصة جذر الأوكسجين الحر O_2^-.



شكل 4 التباين في فعالية انزيم SODبين الاصناف

التباين في محتوى البروتين بين الاصناف

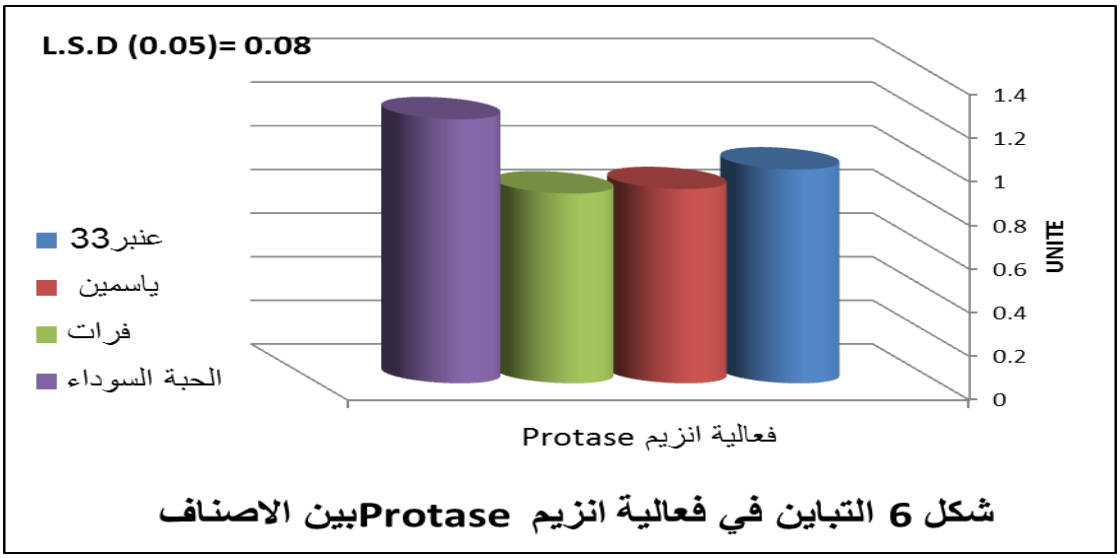
كما اشارت نتائج شكل (5) الى المحتوى البروتيني في اوراق النباتات المدروسة وكان مقداره (8.2 و7.9 و7.6 و7.2) ملغم.غم$^{-1}$ بالتتابع حيث تفوق صنف العنبر 33 والياسمين والفرات ثم اخيرا الحبة السوداء وقد بين عدم وجود اختلافات معنوية بين الاصناف في محتوى البروتين في اوراق النباتات المدروسة ضمن مستوى معنوية 0.05. أوضح شكل 5 حصول فرق غير معنوي في المحتوى الكلي لبروتينات أوراق نباتات التجربة بين الاصناف ، وتؤيد ذلك نتائج (18) إذ أظهرت تباين في المحتوى البروتيني للأصناف حيث اعلى قيمة للعنبر 33 والياسمين ثم الفرات ثم الحبة السوداء شكل 5 وذلك لكون هذا الصنف قد تكيف مع ظروف العراق البيئية من ارتفاع درجات الحرارة وملوحة التربة ومياه السقي اكثر من الاصناف الاخرى المستزرعة والمهجنة حديثا في البيئة العراقية ويُفسر هذا بقلة قابلية الخلايا على البناء الحيوي للبروتين بوصفه هدفاً أساسياً للسمية الملحية وفق (15). وبحسب ما ذكر مسبقاً، فإن الإجهاد الملحي يقلل كمية البروتين من جانب ويزيد تراكم الأحماض الأمينية مثل البرولين من جانب آخر.



شكل 5 التباين في محتوى البروتين بين الاصناف

التباين في فعالية انزيم البروتييز بين الاصناف

من ملاحظة شكل 6 نلاحظ ان فعالية انزيم الكتاليز للنباتات المدروسة يظهر تفوق صنف الحبة السوداء يليه العنبر33 والفرات ثم الياسمين وبمقدار(1.09 و0.97 و0.84 و0.82) وحدة انزيمية بالتتابع ووجود فروق معنوية مقدارها (0.08).التباين في فعالية انزيم البروتييز بين الاصناف وقد يُعزى ذلك إلى ارتفاع فعالية إنزيم بروتيز الورقة تزداد باتجاه الاصناف المتحملة للملوحة العالية وهكذا الحال وفقاً لما نشره Hameed (16) وفي دراسة أخرى قام بها الباحث Simova– Stoliva وجماعته (26) بخصوص نوعين من الحنطة أحدهما متحمل Zalitista والآخر حساس Miziya، فوجد إن تعرض النبات لجفاف حاد يجعل الفعالية الكلية للإنزيمات المحللة للبروتين ترتفع في Miziya دون Zalitista مقارنة بمعاملة السيطرة. فيمكن إيضاح ذلك بمشاركة مثبطات فعالية إنزيم البروتيز في الأنواع النباتية المقاومة للإجهاد الملحي حسب رأي Pernas (22).



شكل 6 التباين في فعالية انزيم Protase بين الاصناف

الاستنتاجات

ومما سبق من نتائج يمكن الاستدلال على

1. ان مؤشرات محتوى الصبغات النباتية (الكلوروفيل الكلي وكلوروفيل a ,b والكاروتين) ارتفعت في صنف معين هو الحبة السوداء .
2. البرولين وهو مضاد الاكسدة المقاوم للملوحة يرتفع محتواه بشكل ملحوظ في صنف العنبر 33
3. فعالية انزيمات مضادات الاكسدة (Superoxide dismutase (SOD و (CAT) Catalase و البروتييز proteaze وهي المرشحة لمقاومة الظروف البيئية المجهدة زادت في صنف الحبة السوداء
4. اما المحتوى البروتيني وهو القيمة الغذائية والاقتصادية المرغوبة في الاصناف فقد زادت في صنف العنبر .

التوصيات

1-يمكن استخدام محتوى مضادات الاكسدة لانتخاب افضل الاصناف الناجحة في الزراعة والمقاومة للظروف البيئية المجهدة كطريقة جديدة وفعالة وغير مكلفة .

2-نوصي بمزيد من البحوث في هذا المجال

References :

1. **Aebi, H. (1984)** Catalase in vitro. In Methods in enzymology *(Vol. 105, pp. 121-126). Academic Press.*
2. **Ahmadpour, A.; Feali, S. and Soltani, S. (2013)** Factors Affecting Farmers' Resistance to Adoption of Land Consolidation Case Study: Paddy Farmers in Mazandaran province, Iran. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5(23), 2871.*
3. **Ali, A.; Jha, P.; Sandhu, K. S. and Raghuram, N. (2008)** Spirulina nitrate-assimilating enzymes (NR, NiR, GS) have higher specific activities and are more stable than those of rice. *Physiology and Molecular Biology of Plants, 14(3), 179-182.*
4. **Ali, A., Sivakami, S. and Raghuram, N. (2007)** Effect of nitrate, nitrite, ammonium, glutamate, glutamine and 2-oxoglutarate on the RNA levels and enzyme activities of nitrate reductase and nitrite reductase in rice. *Physiology and Molecular Biology of Plants, 13(1), 17.*
5. **Arnon, (1949**) Arnon DI Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiol., 24 (1949), pp ... 1-15*
6. **Ashraf, M. P. J. C. and Harris, P. J. C. (2004).** Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science, 166(1), 3-16.*
7. **Bajehbaj, A. A. (2010)** The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions. *African Journal of Biotechnology*, *9*(12).
8. **Bates, L. S.; Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973).** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, *39*(1), 205-207.

9. **Bishop, M. C.; Dben-Von Laufer J. L. and Fody, E. P.** Thirty three contributors-1985.Clinical Chemistry Principles , *Procedures & Correlations , pp. 181 – 182* .
10. **Borsani, O.; Zhu, J.; Verslues, P. E.; Sunkar, R. and Zhu, J. K. (2005)** Endogenous siRNAs derived from a pair of natural cis-antisense transcripts regulate salt tolerance in Arabidopsis. *Cell*, *123*(7), 1279-1291.
11. **Brock, F. M.; Forsberg, C. W. and Buchanan-Smith, J. G. (1982)** Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Applied and environmental microbiology*, *44*(3), 561-569.
12. **Frary, A.; Göl, D.;Keleş, D.; Ökmen, B.; Pınar, H.; Şığva, H. Ö. and Doğanlar, S. (2010)** Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC plant biology*, *10*(1), 58.
13. **Giełwanowska, I.; Szczuka, E.; Bednara, J. and Gorecki, R. (2005).** Anatomical features and ultrastructure of *Deschampsia antarctica* (Poaceae) leaves from different growing habitats. *Annals of Botany*, *96*(6), 1109-1119.
14. **Guda M. A.; Merza T; Almayahi B. (2016)** Response of non-enzymatic antioxidants to *phragmites Australis* (Cav.) Trin. Ex. Steudel Plants of the Environmental Stresses in Baher Alnajaf, Iraq. *Plant Cell Biotech. Molec. Biol. ;17:140-148.*
15. **Guda, M.A. (2016)** Effects of Environmental Stress on Nutrients of Typha domingensis Pers. Plant in Najaf, Iraq, *Annual Research & Review in Biology ,19(3): 1-6,*
16. **Hameed, A.; Naseer, S.; Iqbal, T.; Syed, H. and Haq, M. A. (2008)** Effects of NaCl salinity on seedling growth, senescence, catalase and protease activities in two wheat genotypes differing in salt tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, *40*(3), 1043-1051.
17. **Hassanein, R. A.; Hassanein, A. A.; Haider, A. S. and Hashem, H. A. (2009)** Improving salt tolerance of *Zea mays* L. plants by presoaking their grains in glycine betaine. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *3*(2), 928-942.
18. **Kofidis, G. E. O. R. G. E.; Giannakoula, A. and Ilias, I. F. (2008)** Growth, anatomy and chlorophyll fluorescence of coriander plants (*Coriandrum sativum* L.) treated with prohexadione-calcium and daminozide. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, *50*(2), 55-62.
19. **Mane, A. V.; Deshpande, T. V.; Wagh, V. B.;Karadge, B. A. and Samant, J. S. (2011)** A critical review on physiological changes associated with reference to salinity. *International Journal of Environmental Sciences , 1*(6), 1192.
20. **Marklund, S. and Marklund, G. (1974**) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, *47(3), 469-474.*

21. Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, *25*(2), 239-250.

22. Pernas, M.; Sánchez-Monge, R. and Salcedo, G. (2000) Biotic and abiotic stress can induce cystatin expression in chestnut. *FEBS letters, 467(2-3), 206-210.*

23. Saeed, R., and Ahmad, R. (2009) Vegetative growth and yield of tomato as affected by the application of organic mulch and gypsum under saline rhizosphere. *Pak. J. Bot*, *41*(6), 3093-3105.

24. Shahba, Z.; Baghizadeh, A. and Yosefi, M. (2010) The salicylic acid effect on the tomato (Lycopersicum esculentum Mill.) germination, growth and photosynthetic pigment under salinity stress (NaCl). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, *6*(3).

25. Simova-Stoilova, L.; Vaseva, I.; Grigorova, B.; Demirevska, K. and Feller, U. (2010) Proteolytic activity and cysteine protease expression in wheat leaves under severe soil drought and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(2-3), 200-206.

26. Simova-Stoilova, L.; Vassileva, V.; Petrova, T.; Tsenov, N. ; Demirevska, K. and Feller, U. (2006) Proteolytic activity in wheat leaves during drought stress and recovery. *Gen Appl Plant Physiol Spec*, (91-100).

27. Sun, S. Q.; Wang, D. Y.; He, M. and Zhang, C. (2009) Monitoring of atmospheric heavy metal deposition in Chongqing, China—based on moss bag technique. *Environmental monitoring and assessment*, *148*(1-4), 1-9.

28. Supanjani, L. K. and Lee, K. (2006) Hot pepper response to interactive effects of salinity and boron. *Plant Soil and Environment, 52(5), 227.*

29. Wu, T. M.; Hsu, Y. T. and Lee, T. M. (2009) Effects of cadmium on the regulation of antioxidant enzyme activity, gene expression, and antioxidant defenses in the marine macroalga *Ulva fasciata*. *Bot Stud*, *50*, 25-34.