

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/265166058>

Physiology and Molecular Biology of Plants under Water Stress

Book · October 2010

CITATIONS

0

READS

28,706

1 author:



Gaber M Abogadallah

Damietta University

28 PUBLICATIONS 893 CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Analysis of segregation of root and shoot phenotypes in the Moroberekan x PM12 rice hybrids F1, F2 and F3 plants. [View project](#)

فسيولوجيا وبُيولوجيا النبات المجزئية
أثناء الإجهاد المائي

فسيولوجيا وبُيولوجيا النبات الجزيئية أثناء الإجهاد المائي

تأليف

د. جابر مختار أبو جاد الله

قسم النبات - كلية العلوم

جامعة دمياط - مصر



محتويات الكتاب

الصفحة

● توطئة 13

● مقدمة الكتاب 15

الفصل الأول

العلاقات المائية للنبات

1-1 مقدمة 17

2-1 الماء في خلايا النبات 19

3-1 الجهد المائي للخلايا النباتية 19

4-1 امتصاص الماء من التربة 23

5-1 حركة الماء داخل النبات 25

6-1 كيف ينتقل الماء خلال الأغشية البلازمية 34

7-1 دور الأكوأبورينات في امتصاص الماء من التربة 49

8-1 فقد النبات للماء 56

المراجع 59

الفصل الثاني

أثر الإجهاد المائي على النبات

1-2 مقدمة 65

2-2 تأثير الإجهاد المائي على إنبات البذور 66

3-2 تأثير الإجهاد المائي على نمو النبات 69

4-2 أثر الإجهاد المائي على إنتاجية النبات 88

المراجع 91

الصفحة

الفصل الثالث

استشعار النبات للإجهاد المائي

95	1-3 مقدمة
97	2-3 عناصر عملية استشعار الإجهاد المائي
100	3-3 مسار الجينات عالية الحساسية للملوحة لاستشعار الإجهاد الملحي
103	4-3 مسار كابينيز البروتين لاستشعار الإجهاد المائي
106	5-3 استشعار الإجهاد المائي عن طريق الدهون الفسفورية
111	6-3 استشعار الإجهاد المائي عن طريق حمض الأبسيسك
116	7-3 دور شقائق الأكسجين الفعالة في استشعار الإجهاد المائي
117	8-3 دور الكالسيوم في استشعار الإجهاد المائي
122	المراجع

الفصل الرابع

الإجهاد المائي و العلاقات المائية و البناء الضوئي

129	1-4 مقدمة
132	2-4 الإجهاد المائي والحالة المائية للنبات
135	3-4 كيف يحد النبات من فقد الماء أثناء الإجهاد؟
138	4-4 أثر الإجهاد المائي على النفاذية الهيدروليكية للنبات
140	5-4 ماذا بعد غلق الثغور وانخفاض معدل النتح؟
145	6-4 البناء الضوئي الكرازولي والإجهاد المائي
149	7-4 تفعيل جينات البناء الضوئي الكرازولي وعلاقته بالإجهاد المائي
151	المراجع

الفصل الخامس

الاتزان الأسموزي والقصر الأيوني

157	1-5 مقدمة
160	2-5 كيف يعمل الاتزان الأسموزي؟
165	3-5 سكريات الاتزان الأسموزي
171	4-5 دور الأحماض الأمينية في الاتزان الأسموزي
178	5-5 الجلایسین بيتاين والإجهاد المائي

الصفحة

180	 6-5 القصر الأيوني
187	 المراجع

الفصل السادس

الديهيدرينات و استقلاب البروتينات

191	 1-6 مقدمة
192	 2-6 الديهيدرينات
198	 3-6 استقلاب البروتينات أثناء الإجهاد المائي
210	 المراجع

الفصل السابع

الإجهاد المائي و مضادات الأكسدة

213	 1-7 مقدمة
214	 2-7 كيف تنتج النباتات شقائق الأكسجين الفعالة؟
	 3-7 تتحكم النباتات في تركيز شقائق الأكسجين الفعالة بواسطة منظومة
216	 دقيقة
220	 4-7 يزداد تكوين شقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد المائي
222	 5-7 قم شقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد
224	 6-7 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية
225	 7-7 دور التنفس الضوئي في مقاومة التأكسد
227	 المراجع

عندما يموت الناس , ليست أجسادهم التي
تذهب إلى القبور فحسب , بل تذهب أحلامهم
وآمالهم و حتى أسماؤهم ،
ليت شيئاً لي يبقى .

توطئة

اللغة العربية أكرم اللغات قاطبة. ازدهرت لغتنا الجميلة وآدابها مع ازدهار الحضارة الإسلامية، وامتدت من أقصى الشرق في الصين إلى أقصى الغرب في الأندلس. غير أن الأمم شأنها شأن البشر، تولد ثم تشب وتبلغ أشدها ثم تهزم. ومع أقول نجم الأمة يأفل نجم ثقافتها ولغتها. بقدر ما كانت اللغة العربية سائدة في الأوساط العلمية في عصور الحضارة الإسلامية المتتابعة، وبقدر ما كانت لغة غنية متحركة نامية منطلقة بفضل إبداع العلماء المسلمين، سواء كانوا من العرب أو غير العرب، بقدر ما أصبحت اللغة العربية اليوم بعيدة عن الساحات العلمية بسبب تأخر العالم العربي والإسلامي، وإهماله في حق اللغة العربية، وتضاؤل حجم مساهمة علمائه في النمو الحضاري للبشرية.

انزوت اللغة العربية، وحلت محلها اللغة الإنجليزية، التي أصبحت لغة العلم، وليست لغة بعض الشعوب فحسب، وأصبحت لغة التواصل العلمي بين جميع الأمم.

ومجمل الإنتاج العلمي للبشرية حالياً يكتب وينشر باللغة الإنجليزية. لذلك يتطلب الاطلاع على الجديد في البحث العلمي إجابة تلك اللغة، وهي حاجز لا يُستهان به. وأظن أن الكثير من العلماء العرب لو أُتيحت لهم فرصة الاطلاع باللغة العربية، لساهموا بشكل فعال في التقدم الحضاري للأمة العربية بل البشرية جمعاء. ليست هذه دعوة للتعريب، فالوقت مبكر لذلك، ولكن إذا كانت هناك رغبة حقيقية في الرقي بالأمة العربية، فلا بد أن تتسع رقعة الاطلاع العلمي لدى العرب، وهذا يحتاج إلى تذليل عقبة اللغة مع إيجاد شكل للتواصل مع اللغة الإنجليزية من خلال نقل المصطلحات العلمية بدالاتها العلمية وليس بلفظها فقط.

لا أدعي الريادة في هذا المجال، فجهود الكثير من العلماء العرب لا يمكن أن ينكرها أحد، ولكن هذا الكتاب خطوة على الطريق، تستلزم خطوات مكملّة.

وقد فضلت أن يكون أسلوب النقل من الإنجليزية للعربية معتمداً على نقل الدلالة العلمية أساساً، عن طريق شرح معنى المصطلح، ومحاولة إيجاد مقابل له بالعربية.

وحيث لا يكون من الممكن إيجاد لفظ مقابل بالعربية، أو حين يكون استخدام اللفظ العربي غير ممكن، نقلت المصطلح بلفظه دون ترجمة. انتهجت هذا المنهج لأترك الباب مفتوحاً لكل ذي خبرة لغوية وعلمية أن يبدي اقتراحه حول كل لفظ ومصطلح ورد بهذا الكتاب.

كما أن نقل المصطلحات العلمية الإنجليزية بلفظها إلى العربية، يبقى على حد معين من العوامل المشتركة بين اللغتين، لأن الفصل بينهما غير ممكن حالياً (كما أن الفصل بين أي أمة وأخرى غير ممكن). ولا يجب أن نغفل عن أهمية إدخال ألفاظ ومصطلحات جديدة للغة العربية. فاللفظ الجديد قد يبدو شاذاً في بداية الأمر، ولكنه مع كثرة الاستخدام يمتسي كما لو كان عربياً أصيلاً، ولا أدل على ذلك من لفظة قسورة (أسد) التي وردت في القرآن الكريم (كَانَتْهُمْ حُمْرٌ مُسْتَنْفَرَةٌ {50} فَارْتَمَوْا مِنْ قَسْوَرَةٍ) (المدثر 50-51) رغم أنها من أصل فارسي والقرآن عربي.

وأخيراً: لا يفوتني أن أشكر جامعة المنصورة بجمهورية مصر العربية، وجامعة شيفيلد بالمملكة المتحدة، اللتين وفرتا المصادر العلمية من أبحاث وكتب، اعتمدت عليها في تأليف هذا الكتاب.

د. جابر مختار أبو جاد الله

مقدمة الكتاب

النباتات الخضراء هي الحلقة الأساسية في دورة الكربون في الطبيعة، فهي تمتلك منظومة إنزيمية لاختزال ثاني أكسيد الكربون إلى مواد عضوية. والأنشطة البشرية المختلفة تعتمد على الكربون الذي ثبتته النباتات على مدار ملايين السنين من عمر الأرض، وخير مثال على ذلك النفط، وهو القوة الدافعة التي حركت ومازالت تحرك عجلة التقدم الحضاري الإنسانية.

والنباتات الزهرية الأرضية كائنات غير متحركة، بل هي مثبتة في التربة بالجذور، ولهذا تمتلك قدرة على مواسمة التغيرات البيئية، بخلاف الحيوانات التي تفضل التنقل من مكان لآخر بحثاً عن بيئة أفضل. فهي مرغمة على التكيف مع التغير في درجة الحرارة، وشدة الضوء، وطول النهار، وشدة الريح، ونوع التربة ومحتواها المائي، ونسبة ملوحتها، ودرجة حموضتها، ونسب الأملاح المعدنية بها، والكائنات الممرضة من فطريات وبكتيريا وفيروسات وكائنات حيوانية ممرضة أو مغتذية، إلى غير ذلك مما لا نهاية له من العوامل التي لا تكاد تثبت على حال.

ربما يفسر هذا كون النباتات كائنات رائدة في غزو البيئات التي تبدو مستحيلة لبعض الكائنات الأخرى، كالصحاري والمستنقعات الملحية والمرتفعات. وعند استقرارها بتلك البيئات تتبعها الكائنات الأخرى معتمدة عليها كمصدر للغذاء والمأوى.

وتكيف النبات مع البيئة قد يلزمه تغير شكلي وتركيبى، ولكن التكيف الجزئي لا يقل أهمية عن التكيف الشكلي والتركيبى، بل قد يفوقهما أهمية، خاصة في الظروف البيئية الأكثر تطرفاً. بل يمكن القول بأن التكيف الشكلي والتركيبى يعتمدان على آليات جزيئية لإتمامهما. فالأصل في عملية التكيف هو

الحيوانات وما يصاحبها من عناصر منظمة تنشط لتجعل النبات أفضل نموًا في بيئة ما.

و لا ندعي هنا عندما نقول إن النبات ينشط مسارًا وراثيًا معينًا أو يثبط آخر، أن الطبيعة هي كل شيء، وأن الخالق عز وجل ليس لديه ما يفعله في هذا الشأن (سبحان الله العظيم) كما يدعي البعض.

ولكن نقول إن الله خلق كل شيء بحكمة وعلم يفوقان أي علم وأية حكمة، وأنه سبحانه عندما خلق الخلق أودع في كل مخلوق وركب فيه ما يحسن خلقه، ويحفظ عليه حياته: قَالَ فَمَنْ رَبُّكُمَا يَا مُوسَى {49} قَالَ رَبُّنَا الَّذِي أَعْطَى كُلَّ شَيْءٍ خَلْقَهُ ثُمَّ هَدَى (طه 49 و50). قصدنا أن نشير هنا إلى هذا الأمر الجوهري، لأن صلب هذا الكتاب يخلو من الإشارة إليه ليس بقصد إغفاله ولكن بقصد تعزيزه.

فكل عاقل أيًا كانت عقيدته، إذا نظر إلى مخلوق ما، استدل منه أن خلقه لا يمكن أن يكون من صنع حدث عارض في الطبيعة، ولكنه من صنع إله عظيم لا يعجزه شيء ولا حد لعلمه وحكمته، ولا يمكن أن يدع شيئاً في كونه هذا للمصادفة، فكل شيء مدبر ومحكم.

حكمة الله موجودة في كل زمان ومكان، لا تخلو منها لمحة من نظر أو لحظة من زمن.

المؤلف

شيفيلد - بريطانيا

الفصل الأول

العلاقات المائية للنبات Plant-water relations

1-1 مقدمة:

نشأت الحياة على الكرة الأرضية في الماء, وهو الوسط الذي تحدث فيه العمليات الحيوية الأساسية. وتظهر علامات الحياة على البروتوبلاست (المادة الحية في الخلية) فقط عندما يتوفر له الماء. على أن البروتوبلاست لا يموت بالضرورة إذا تعرض للجفاف, ولكنه قد يدخل في حالة من الخمول الحيوي يتم فيها تعليق العمليات الحيوية الأساسية.

وتتركب النباتات بشكل أساسي من الماء, فهو يشكل 80 - 95% من الوزن الغض للأنسجة النشيطة وظيفياً في النباتات العشبية. وتحتوي الأجزاء الخشبية من النبات على كميات أقل من الماء تصل إلى 50% من وزنها الغض. والأعضاء النباتية ذات المحتوى المائي الأقل, هي البذور الناضجة, إذ تحتوي على 10-15% من وزنها ماء. أما البذور ذات المحتوى الدهني العالي فيوجد بها 5-7% ماء.

تنقسم النباتات إلى مجموعتين حسب ثبات محتواها المائي. فهناك النباتات متغيرة المحتوى المائي, وتضم أساساً الكائنات بدائية النواة (بدائيات النواة), والفطريات, وبعض الطحالب والأشن. هذه النباتات لها خلايا صغيرة الحجم, تفتقر إلى الفجوات العصارية. وعندما تجف هذه النباتات تنكمش خلاياها بشكل غير منظم, ولكن دون تأثير سلبي على التركيب الدقيق للبروتوبلاست, ولهذا تبقى الخلايا حية رغم فقدانها للماء. ومع تزايد درجة

الجفاف تتناقص سرعة العمليات الحيوية الأساسية كالبناء الضوئي (إن وجد) والتنفس. وعندما يتوافر الماء تستعيد الخلايا كل مظاهر الحياة مرة أخرى.

أما المجموعة الثانية، فهي النباتات ثابتة المحتوى المائي. تحتوي خلايا هذه النباتات على فجوات عسارية كبيرة. تنظم هذه الفجوات المحتوى المائي للخلايا. ولهذا لا يتأثر المحتوى المائي للبروتوبلاست بتغير الظروف الخارجية مادامت في الحدود المناسبة. إلا أن وجود الفجوات يعنى أن تلك النباتات لا تتحمل الجفاف. فالنبات يبقى حياً مادام هناك مصدر ثابت للماء تعتمد عليه الفجوات في تنظيم المحتوى المائي للخلايا. لعل هذا يفسر نمو الأسلاف الأولى لنباتات هذه المجموعة بجوار الأجسام المائية. على أن هذه المجموعة من النباتات، قد تطورت، بحيث أصبحت لديها آليات للتحكم في معدل فقد الماء، مثل الأدمة التي تغطي السطح الخارجي لأنسجة النبات، وكذلك الثغور التي تتحكم في معدل النتح، بالإضافة إلى ترسانة من الإنزيمات والبروتينات التي تزيد من تحمل النبات للإجهاد المائي (سيرد وصفه في فصول تالية)، مما زاد من قدرة النباتات على النمو في مناطق أكثر تبايناً من حيث كمية الماء المتاحة، بحيث أصبحت النباتات تغطي أجزاء كبيرة من اليابسة.

وعموماً يمكن لبعض النباتات أن تبقى حية حتى لو انخفض محتواها المائي بدرجة كبيرة (10-15%)، غير أن الوظائف الحيوية في النبات لا تتم بشكل طبيعي، إلا إذا كان المحتوى المائي في الحدود الفسيولوجية وهي 85-90% في الخلايا النشيطة فسيولوجياً.

والوظائف المتعددة للماء في الخلايا النباتية تبرر ضرورة وجوده بهذه النسب المرتفعة. فهو على سبيل المثال لا الحصر، يعمل كوسط كيميائي لغالبية التفاعلات الحيوية. ويدخل كمادة تفاعل في بعض التفاعلات الحيوية كالبناء الضوئي، وتفاعلات التحلل المائي الإنزيمي للكربوهيدرات والبروتينات وغيرها. كما يعمل كمذيب للكثير من المركبات الضرورية للخلية كالسكريات والأحماض الأمينية والبروتينات وغيرها. وهو الوسط الكيميائي الذي يضمن أقصى درجة ثبات للأغشية الخلوية والتي يختل تركيبها بشكل ملحوظ إذا انخفض المحتوى المائي للخلية. وهو الوسط الكيميائي الذي يتم فيه امتصاص

العناصر المغذية من التربة بواسطة الجذور ونقلها للمجموع الخضري. كما أنه المذيب الذي توجد به العناصر المغذية للنبات بالتربة.

2-1 الماء في خلايا النبات: Water in plant cells

يوجد الماء في خلايا النبات الحية في عدة صور منها:

- الماء المرتبط كيميائياً: مع بعض المركبات كالألاح المعدنية.
- الماء المتجمع سطحياً: على بعض الجزيئات مزدوجة القطبية كالبروتينات والسكريات البسيطة والمركبة. يشكل هذا النوع 5-10% من إجمالي الماء الموجود في الخلية، غير أن أي تغيير - ولو بنسبة طفيفة به - يؤدي إلى تغييرات تركيبية كبيرة في البروتوبلاست. وترتبط جزيئات الماء هنا بالجزيئات الأخرى عن طريق الخاصة الشعرية، أو قوى التشرب، أو الروابط الهيدروجينية.
- الماء المختزن: وهو النوع الأكثر قابلية للنقل في الأنسجة النباتية. ويمثل أكثر من 50% من إجمالي الماء في النبات. غير أن هذا النوع أيضاً غير قابل للنقل بشكل كامل، إذ إنه يكون مرتبطاً بالقوى الأسموزية نتيجة وجود بعض المركبات مثل السكريات والأحماض الأمينية وغيرها.

3-1 الجهد المائي للخلايا النباتية: Water Potential of plant cells

الجهد المائي (Ψ : Psi) لنظام ما، يعبر عن قدرة الماء الموجود في هذا النظام على بذل الشغل أي الانتقال من نقطة لأخرى داخل النظام أو خارجه، وهو يعتمد على تركيز الماء. ولكي يتضح مفهوم الجهد المائي على أساس هذا التعريف، نعلم أن الماء يتحرك مثلاً في أنبوبة تحت تأثير ضغط ما إما بالسحب أو الدفع. وعموماً عندما يتعرض نظام لضغط زائد يميل الماء إلى الاندفاع خارجاً من ذلك النظام، ولهذا تؤثر زيادة الضغط إيجابياً على الجهد المائي لنظام ما.

كما يتحرك أيضاً في محلول ملحي من نقطة تحتوي على تركيز منخفض من الملح، إلى نقطة أخرى أعلى تركيزاً (أو بالنسبة للماء من نقطة تحتوي على تركيز أعلى من الماء، إلى نقطة أخرى أقل تركيزاً. إذ إن وجود

الملح يخفف الماء). وهذا ما يُسمى الضغط الأسموزي للنظام. وبزيادة تركيز المواد المذابة في نظام ما، أو رفع درجة حرارته، أو كليهما، يزداد ضغطه الأسموزي. ولما كانت زيادة الضغط الأسموزي تحد من حرية الماء في الحركة، إذ تصبح جزيئات الماء مقيدة بجزيئات الملح، فإن زيادة الضغط الأسموزي لنظام ما تؤثر سلباً على جهده المائي.

وعلى سبيل المثال فالضغط الأسموزي لمحلول سكرور تركيزه 1.0 مولار يساوي - 2.5 ميغا باسكال، كما أن الضغط الأسموزي لمحلول كلوريد الصوديوم تركيزه 1.0 مولار يساوي - 4.4 ميغا باسكال عند درجة 25 مئوية. ويعزى الفرق في الضغط الأسموزي للمحلولين رغم تساوي تركيزهما إلى أن كلوريد الصوديوم يتأين في الماء إلى صوديوم وكلور، ولكل منهما نشاط أسموزي مستقل. وبالتالي يتوقع نظرياً أن يكون الضغط الأسموزي لمحلول كلوريد الصوديوم ضعف الضغط الأسموزي لمحلول السكرور عند تساوي التركيز. إلا أن الضغط الأسموزي الفعلي لكلوريد الصوديوم، يكون أقل من المتوقع، نظراً لعدم تأين كلوريد الصوديوم تأيناً كاملاً.

وأخيراً: ينتقل الماء إلى داخل قطعة من الإسفنج أو كمية من النشا أو السكر بخاصية التشرب. ولهذا فإن زيادة قوة التشرب لنظام ما تؤثر سلباً على جهده المائي.

وبالنظر إلى العوامل السابقة، يوصف الجهد المائي لخلية ما (Ψ_{cell}) بالمعادلة:

$$\Psi_{cell} = (-)\Psi_s + (+)\Psi_p + (-)\Psi_m \quad \text{معادلة 1-1}$$

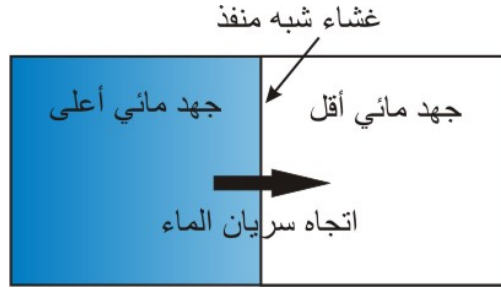
بحيث إن Ψ_s هي الضغط (أو الجهد) الأسموزي وهي سالبة دائماً، و Ψ_p هي جهد الضغط، وهي غالباً موجبة (في الخلايا الممتلئة)، وأحياناً تكون سالبة أو مساوية للصفر (في الخلايا المبلزمة). أما Ψ_m فهي جهد التشرب، وهي دائماً سالبة. على أن جهد التشرب يساهم بقدر ضئيل في التحكم في الجهد المائي للخلية، ويمكن بالتالي حذفه من المعادلة. ووحدة الجهد المائي هي وحدة الضغط سواء البار أو الميجا باسكال، والأخيرة هي الأكثر شيوعاً (1 بار = 0.1 ميغا باسكال).

وبناء على ذلك، فإن حركة الماء من خلية لأخرى، أو من نسيج لآخر، أو حتى من خارج النبات لداخله، تتم من النقطة ذات الجهد المائي الأعلى إلى النقطة ذات الجهد المائي الأقل. وقد اتفق على أن الجهد المائي للماء النقي يساوى الصفر. وبالتالي الجهد المائي لمحلول ملحي مثلاً يكون أقل من الصفر، وبالمثل الجهد المائي للماء النقي عند ضغط أعلى من الضغط الجوي يكون أكبر من الصفر.

ولنا أن نتخيل أن سريان الماء من نقطة لأخرى يشبه سريان التيار الكهربائي، أو انتشار ثاني أكسيد الكربون إلى داخل الورقة. فهو يعتمد على الفرق في الجهد المائي بين النقطتين (وهذه هي القوة الدافعة لانتقال الماء) كما يعتمد على مقاومة الوسط لانتقال الماء. وإذا كان انتقال الماء يتم بين نقطتين أو نظامين يفصل بينهما غشاء شبه منفذ كالغشاء الخلوي مثلاً، فإن هذه العملية تسمى الأسموزية. فالأسموزية هنا هي "عملية انتقال الماء ذاتها خلال غشاء شبه منفذ مدفوعة بالجهد المائي" (شكل 1-1). ويمكن وصف هذه العملية بالمعادلة:

$$R = L (\Delta\Psi/I)$$

بحيث إن R هي معدل سريان الماء، و $\Delta\Psi$ هي الفرق في الجهد المائي بين جانبي الغشاء، و L هي قدرة الوسط على توصيل الماء، و I هي طول مسار انتقال الماء.



شكل رقم (1/1) ينتقل الماء بالأسموزية من وسط ذي جهد مائي أعلى إلى وسط ذي جهد مائي أقل، حتى يحدث الاتزان بتساوي الجهد المائي على جانبي الغشاء.

وينتقل الماء من خلية لأخرى في النبات، حسب كل من الضغط الأسموزي، وضغط الامتلاء للخلايا. إذ يمكن لخلية ما، أن تمتص الماء إذا

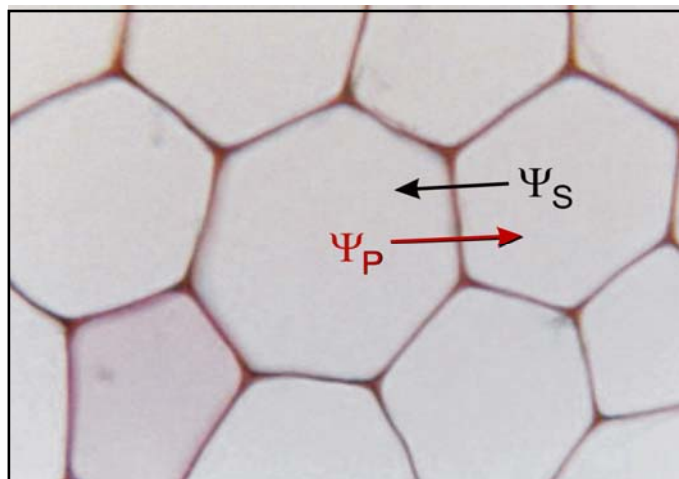
كان جهدها المائي أكثر سالبية (أي أقل) من الوسط المحيط بها (أو الخلايا المجاورة لها). يستمر امتصاص الماء حتى تبلغ الخلية أقصى حجم ممكن. عندئذ يتوقف جدار الخلية عن التمدد - حيث إن امتصاص الماء يؤدي إلى زيادة حجم الخلية- ويقاوم بالتالي عملية انتقال الماء لداخل الخلية حتى لو كان الضغط الأسموزي للخلية يسمح بامتصاص مزيد من الماء، إلا أن مقاومة الجدار للتمدد (ضغط الامتلاء) تعادل قوة الضغط الأسموزي، وبالتالي يتوقف امتصاص الماء. عند هذه النقطة يصبح الجهد المائي للخلية مساوياً للصفر، كما يتساوى الضغط الأسموزي وضغط الامتلاء (شكل 1-2). ويوصف الجهد المائي للخلية بالمعادلتين:

$$\Psi_{\text{cell}} = 0$$

$$(-)\Psi_s = (+)\Psi_p$$

إذا علمنا أن الخلايا الحية تحتوي على العديد من المواد المذابة بتركيزات مختلفة تكفي لأن يكون جهدها المائي أقل دائماً من الجهد المائي لمحلول التربة، فإن الامتصاص المستمر للماء يجعل الضغط داخل تلك الخلايا مرتفعاً باستمرار، بحيث يكون الغشاء البلازمي (وهو الإطار الفسيولوجي للخلية) مضغوطاً باتجاه جدار الخلية. وهذا ما يمنح أنسجة النبات الممتلئة بالماء بعض الصلابة، بحيث تبقى قائمة بخلاف تلك الأنسجة التي تتعرض لفقد مفرط في الماء مما يؤدي إلى ارتخاء جدرها الخلوية نتيجة انكماش البروتوبلاست وهو ما يُعرف بالذبول.

يفسر ذلك جزءاً من الأهمية البيولوجية لجدار الخلية في النبات.
فخلايا النبات - بخلاف خلايا الحيوان - لها جهد مائي أقل من الجهد المائي للبيئة المحيطة، ولذلك تستطيع أن تمتص كميات كبيرة من الماء لو سمح لها بذلك، فيزداد حجمها بشكل كبير، وتتفجر في النهاية. ولكن الجدار الخلوي يوقف امتصاص الماء عند حد معين بحيث لا يحدث ذلك. ويتضح هذا الدور إذا أزيلت الجدر الخلوية من نسيج نباتي ما ثم وضعت الخلايا العارية في الماء، حيث تمتص الخلايا الماء وتتمدد سريعاً ثم تتداعى.



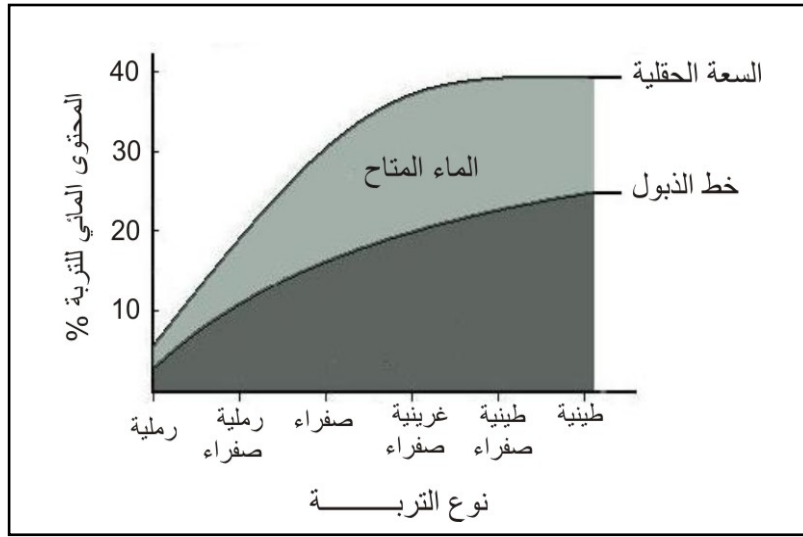
شكل رقم (2/1) يستمر امتصاص الماء في الخلية حتى يتساوى الضغط الأسموزي (Ψ_s) وهو القوة الدافعة لامتصاص الماء و ضغط الامتلاء (Ψ_p) الذي يقاوم دخول مزيد من الماء للخلية، عندئذ يساوي الجهد المائي للخلية الصفر.

4-1 امتصاص الماء من التربة: Uptake of water from soil

تمتص النباتات الزهرية الأرضية الماء من التربة بشكل أساسي عن طريق الجذور. ويختلف امتصاص الماء عن طريق الجذر عن امتصاص الأيونات. ففي الغالب يتم امتصاص الأيونات عن طريق الامتصاص النشط (Active absorption) إلى بروتوبلاست الخلايا، بينما يتم امتصاص نسبة كبيرة من الماء الذي يحتاجه النبات عن طريق الامتصاص الرخو (Passive absorption) من خلال الجذر الخلوية أو بروتوبلاست الخلايا. يحدث ذلك أثناء النتج، فيصبح دور الجذر ليس امتصاص الماء، بل السماح له بالمرور نحو أوعية الخشب تحت تأثير منحدر الجهد المائي الناتج من فقد الماء بالنتج⁽¹⁾.

وتستطيع الجذور سحب الماء من التربة طالما كان الجهد المائي لخلاياها أكثر سالبية من الجهد المائي لمحلول التربة. وتختلف كمية الماء التي يمكن للنبات امتصاصها من التربة (الماء المتاح) حسب نوع التربة (شكل 1-3). فالسعة المائية للتربة (قدرة التربة على الاحتفاظ بالماء، أو بمعنى آخر المحتوى المائي للتربة عند درجة التشبع بالماء وهي السعة الحقلية)، تزداد كلما

صغرت حبيبات التربة. أي أنها أقل ما يمكن في التربة الرملية، وأعلى ما يمكن في التربة الطينية. غير أن النبات لا يستطيع أن يمتص كل الماء الموجود بالتربة أياً كان نوعها. إذ تبقى كمية من الماء في التربة لا يمكن للنبات امتصاصها، لأنها مرتبطة بقوة بحبيبات التربة وعندئذ يتوقف امتصاص النبات للماء تقريباً ويذبل النبات. والفرق بين السعة الحقلية للتربة ومحتواها المائي عند الذبول (نقطة الذبول) يُسمى الماء المتاح للنبات. أما الماء الذي يبقى في التربة بعد ذبول النبات فيُسمى الماء غير المتاح. وتختلف نقطة الذبول من نبات لآخر في نفس نوع التربة، حسب قدرة النبات على امتصاص الماء، ورغم ارتباطه بحبيبات التربة أو ورغم انخفاض الجهد المائي للتربة، بسبب الأملاح المذابة.



شكل رقم (3/1) تختلف كمية الماء المتاح للنبات باختلاف نوع التربة. فالترية الرملية ذات الحبيبات الأكبر حجماً لها سعة حقلية أقل و بالتالي تحتوى على كمية أقل من الماء المتاح مقارنة بالأنواع الأخرى ذات الحبيبات الأصغر حجماً عند درجة التشبع (السعة الحقلية).

يمكن للنباتات المائية مثلاً أن تخفض الجهد المائي لأنسجتها بمقدار 1.0 ميغا باسكال، لتتمكن من امتصاص مزيد من الماء. أما نباتات

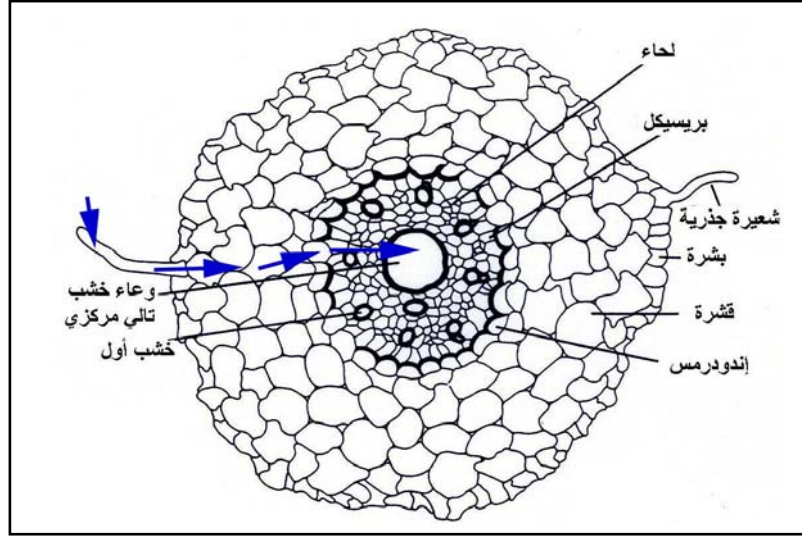
المحاصيل, فيمكن أن تخفض جهدها المائي بمقدار 1.0 - 4.0 ميجا باسكال حسب نوع النبات. بينما النباتات الصحراوية أو الملحية, تستطيع أن تخفض جهدها المائي بمقدار 6.0 ميجا باسكال.

وعند وجود تركيزات مرتفعة من الأملاح المذابة في التربة (خاصة كلوريد الصوديوم), يصبح امتصاص الماء أكثر صعوبة. إذ ترفع الأملاح المذابة الضغط الأسموزي لمحلول التربة, وبالتالي تخفض جهد الماء. وقد يصبح جميع الماء الموجود في التربة غير متاح بسبب الأملاح المذابة حتى لو كانت التربة مشبعة بالماء. في هذه البيئة يصبح على النبات أن يتأقلم لامتناس الماء من تربة ذات جهد مائي منخفض ويتأقلم أيضاً لتحمل الأثر السلبي للأملاح المذابة على جذوره وعلى باقي خلاياه. تصبح هذه المشكلة أكثر تعقيداً إذا كانت التربة المالحة حامضية, فيؤدي ذلك إلى تماسك حبيبات التربة فتضعف التهوية, ولا تتمكن الجذور من النمو أو امتصاص الماء. لهذا السبب تفشل الكثير من النباتات في النمو في بعض أنواع الترب المالحة حتى لو كانت قادرة على تحمل الملوحة بسبب تضاعف حبيبات التربة, ونقص الأكسجين بها.

5-1 حركة الماء داخل النبات: Water movement in plants

يتحرك (يسري) الماء داخل النبات بالانتشار من خلية لأخرى حسب الجهد المائي (النقل لمسافات قصيرة), أو عن طريق أوعية الخشب تحت تأثير قوة السحب الناشئة عن النتج (النقل لمسافات طويلة). ويبدأ مسار الماء في النباتات الأرضية بالجذر. فيمر الماء من خلال خلايا البشرة والإكسودرمس (إن وجدت), والقشرة إما منتشراً (الماء) عن طريق الجدر الخلوية أو من خلال بروتوبلاست الخلايا حتى يصل إلى الإندودرمس. عندئذ يتوقف انتشار الماء خلال الجدر الخلوية, ويمر الماء فقط من خلال بروتوبلاست خلايا الإندودرمس - بسبب وجود شريط كاسببار غير المنفذ للماء - إلى داخل الأسطوانة الوعائية, حيث تقوم أوعية الخشب بنقل الماء بكفاءة إلى المجموع الخضري (شكل 1-4). يمكن إذن أن نقسم سريان الماء داخل الجذر إلى قسمين, أولهما: سريان شعاعي (Radial flow) وهو مرور الماء القادم من التربة خلال أنسجة الجذر

المختلفة بدءًا بالبشرة وانتهاء بأوعية الخشب، وثانيهما: سريان محوري (Axial flow) وهو انتقال الماء خلال أوعية الخشب إلى المجموع الخضري. وسنتناول السريان المحوري أولاً.



شكل رقم (4/1) قطاع عرضي في جذر بادرة القمح (*Triticum aestivum*) يوضح مسار الماء خلال خلايا الجذر وصولاً إلى أوعية الخشب. هذا الجذر لا يحتوي على إكسودرمس إلى الداخل من البشرة. و الخشب التالي يتكون من وعاء واحد مركزي محاط بأوعية عديدة من الخشب الأول⁽²⁾.

1-5-1 السريان المحوري للماء في الجذور:

Axial flow of water in roots

تعتمد النباتات الوعائية على نوعين من الخلايا لتوصيل الماء والأملاح من الجذر إلى المجموع الخضري، هما القصيبات، والعناصر الوعائية. هذه الخلايا لها قدرة عالية على توصيل الماء والأملاح وربما تكون هي الأكثر قدرة على التوصيل في النبات على وجه الإطلاق. والفرق بين القصيبات والعناصر الوعائية، هو أن الجذر العرضية الفاصلة بين الخلايا تتحلل جزئياً أو كلياً في العناصر الوعائية، فتكون كل سلسلة من العناصر الوعائية أنبوبة متصلة بلا

حواجز عرضية بينما تبقى تلك الجذر موجودة في القصيبات، مما يعني أن العناصر الوعائية أكثر قدرة على التوصيل من القصيبات.

وعموماً تعزى قدرة القصيبات والعناصر الوعائية على التوصيل، إلى عدة عوامل أهمها، استطالة الخلايا، مما يقلل من عدد الجذر العرضية، وبالتالي يقلل تأثيرها على القدرة التوصيلية. وفقد البروتوبلاست بما فيه من أغشية خلوية يقلل كثيراً من مقاومة خلايا الخشب لسريان الماء. كما أن قطر الوعاء الخشبي يتحكم بشكل كبير في قدرته على التوصيل. فقد وجد حسابياً أن قدرة أحد أوعية الخشب التالي المتأخر الذي يبلغ نصف قطره 100 ميكرومتر تكافئ قدرة 357 وعاء من الخشب التالي المبكر التي يبلغ نصف قطر أحدها 23 ميكرومترًا. لهذا تزداد كفاءة الخشب في الجذر بزيادة المسافة من القمة النامية (أي بزيادة نضج الأنسجة). فبالقرب من القمة النامية في جذر الذرة (*Zea Mays*) مثلاً يوجد فقط الخشب الأول الذي يبلغ نصف قطر أوعيته 5 - 10 ميكرومترًا. وعلى بعد حوالي 25 ملي مترًا من القمة النامية تتكون أوعية الخشب التالي المبكر البالغ متوسط نصف قطرها 23 ميكرومترًا. أما على بعد 250 ملي مترًا، فتتكون أوعية الخشب التالي المتأخر والتي يبلغ متوسط نصف القطر فيها 100 ميكرومتر.

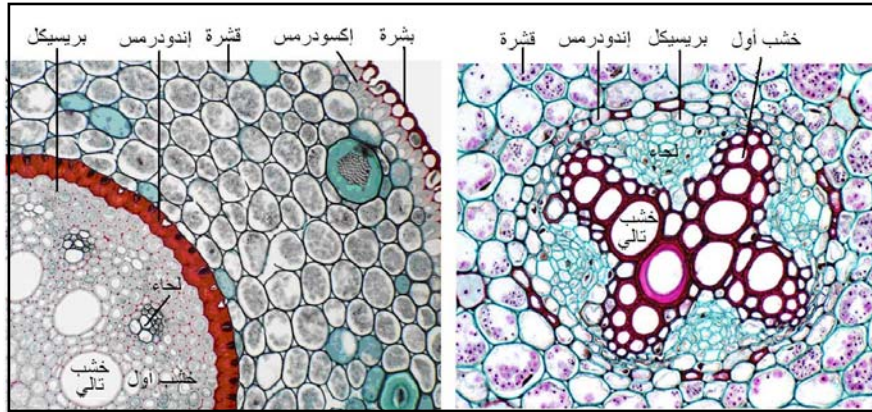
والسبب في الزيادة المطردة في القدرة التوصيلية للخشب في الأجزاء الأكثر نضجاً من الجذر، أن الماء يتجمع من العديد من الجذور الجانبية ليصب في النهاية في أوعية الجذر الرئيسي، ولذلك يجب أن تكون الكفاءة التوصيلية للأخير معادلة أو أكبر من الكفاءة التوصيلية لكل الجذور الجانبية التي يحملها مجتمعة. نظرًا لهذه الكفاءة التوصيلية العالية، فإن العامل المحدد الذي يتحكم في معدل وصول الماء من الجذر إلى المجموع الخضري ليس هو الكفاءة التوصيلية للخشب، بل هو الكفاءة التوصيلية لأنسجة الجذر التي يمر بها الماء قبل دخوله إلى الخشب (أي المسار الشعاعي). فقد وجد أن إزالة القمة النامية لجذور الذرة (أي إزالة مكونات المسار الشعاعي)، وبالتالي تعريض أوعية الخشب التالي المبكر للوسط الخارجي يزيد بشكل كبير من معدل سريان الماء في الجذر. يدل هذا على أن العامل المحدد لسريان الماء

في الجذر هو مقاومة خلايا الجذر في المسار الشعاعي و ليس المسار المحوري⁽³⁾،⁽⁴⁾،⁽⁵⁾.

2-5-1 السريان الشعاعي للماء في الجذور:

Radial flow of water in roots

لكي يصل الماء إلى الأسطوانة الوعائية: لابد أن يمر بأنسجة مختلفة تركيبياً (شكل 1-5)، وبالتالي مختلفة من حيث المقاومة لسريان الماء أو المقاومة الهيدروليكية (Hydraulic resistance). ويختلف تركيب الجذور بشكل كبير حسب النبات، والبيئة، وعمر الجذر. من تلك الاختلافات تكوين البرنشيم الهوائية وتطور البشرة والاندودرمس وموت البشرة وأجزاء من القشرة وتكوين الجذور الجانبية والقلف. هذا يعني أن نتائج الدراسات على نبات ما لا يمكن أن تعمم على كل النباتات، وأن الدراسات التي تصف عملية مرور الماء داخل خلايا الجذر، يجب أن تبدأ بمعرفة التركيب التشريحي للجذر⁽⁶⁾.



شكل رقم (5/1) قطاع عرضي في جذر نبات ثنائي الفلقة (يمينا) و آخر أحادي الفلقة (يسارا) يوضحان التباين في تركيب أنسجة الجذر المختلفة وبالتالي درجة مقاومة كل منها لنفاذ الماء خلالها. يلاحظ تغلظ خلايا الإندودرمس و الإكسودرمس في جذور النباتات أحادية الفلقة بحيث تأخذ الخلايا شكلاً فنجانياً بينما لا يبلغ تغلظ الإندودرمس في النباتات ثنائية الفلقة تلك الدرجة. الأنسجة المغلظة باللجنين أو السوبرين تقاوم نفاذ الماء أكثر من غيرها⁽⁶⁾.

يتحرك الماء شعاعياً خلال الجذر، إما مروراً من خلية لخلية عبر البروتوبلاست، أو مروراً في الأبوبلاست (وهو يشمل الجذر الخلوية والمسافات

البيخلوية وتجاويف أوعية الخشب أي الأجزاء التي تقع خارج الأغشية البلازمية) دون الدخول فعلياً إلى الخلايا. وتفصل الأغشية البلازمية للخلايا بين هذين المسارين. تعتمد حركة الماء عبر البروتوبلاست على كل من القوى الأسموزية والهيدروليكية (قوة السحب أو الدفع)، بينما تعتمد حركة الماء خلال الأبوبلاست على القوى الهيدروليكية فقط (وهي قوى السحب الناشئة عن النتج بشكل أساسي). على أن هذين المسارين ليسا مستقلين أحدهما عن الآخر، بل يتفاعلان، بحيث يحدث اتزان بينهما عند كل نقطة في مسار الماء خلال الجذر. فيمكن للماء أن ينتقل من مسار لآخر عبر الأغشية البلازمية لإحداث هذا الاتزان.

تجدر الإشارة هنا إلى أن الأملاح الذائبة تنتقل أيضاً عبر المسارين - البروتوبلاست والأبوبلاست - مدفوعة خلال البروتوبلاست بالنقل النشط (Active transport) أو الرخو (Passive transport) عبر الأغشية البلازمية، وخلال الأبوبلاست بالانتشار أو الانجراف مع تيار الماء.

يشتمل المسار الشعاعي لسريان الماء على العديد من الأنسجة. ففي جذر حديث لنبات الذرة مثلاً توجد (ترتيباً من الداخل إلى الخارج) جدر أوعية الخشب والبرنشيماء الوعائية والبريسكيل والإنودودرمس والقشرة والإكسودرمس والبشرة. والمناقشة التالية تهدف إلى المقارنة بين أنسجة الجذر المختلفة من حيث مقاومة كل منها لسريان الماء.

مرور الماء خلال جدر أوعية الخشب:

Passage of water through xylem vessel walls

لكي يدخل الماء إلى الوعاء الخشبي، لابد أن يمر خلال جداره. وتتميز جدر أوعية الخشب بأنها مغلظة باللجنين، وبطرق مختلفة منها الحلقي والحلزونى والسلمي والشبكي والمنقر، بحيث تزداد المساحة المغطاة في جدار الوعاء باللجنين من الحلقي إلى المنقر. والخشب الأول (Protoxylem) عادة إما أن يكون حلقياً أو حلزونياً، أما الخشب التالي (Metaxylem) فيكون حلزونياً أو سلمياً أو شبكياً. ويغلب التغلظ الشبكي والمنقر على الخشب الثانوي (Secondary xylem). يحدث التغلظ بإضافة اللجنين على السطح الداخلي للجدار الابتدائي

لوعاء الخشب، بحيث يصبح الوعاء مدعوماً من الداخل فلا يتداعى تحت تأثير قوى السحب الناشئة عن النتج، خصوصاً عندما يعجز الجذر عن امتصاص كمية كافية من ماء التربة.

يفترض أن غالبية الماء ينفذ في جدر أوعية الخشب من خلال المناطق الرقيقة غير الملجننة (النقر). وفي جذور الذرة تشغل تلك المناطق حوالي 15% من مساحة سطح أوعية الخشب التالي المبكر. ونظراً لأن هذه المساحة تعتبر محدودة، فمن المتوقع أن تشكل جدر أوعية الخشب مقاومة هيدروليكية محسوسة⁽⁷⁾. وقد وجد أن جدر أوعية جذور الذرة تشكل 10-30% من إجمالي مقاومة المسار الشعاعي للماء في الجذر، بينما توجد البقية (70-90%) في باقي الأنسجة الواقعة بين الخشب وبشرة الجذر. هذه النسب تختلف من نبات لآخر حسب درجة تغلظ أوعية الخشب، فزيادة مساحة السطح المغطاة باللجنين تزيد المقاومة الهيدروليكية لجدار الوعاء. كما أن وجود نقر مضمفوفة بدلاً من النقر البسيطة يقلل من المقاومة الهيدروليكية، نظراً لأن غشاء النقرة المضمفوفة له مساحة سطح أكبر مما في النقرة البسيطة. بالإضافة إلى أن التغلظ الحلقي والحلزوني يتيحان مساحة أكبر من جدار الوعاء لنفاذ الماء مما يقلل من مقاومته.

مرور الماء خلال البرنشيميا: Passage of water through parenchyma

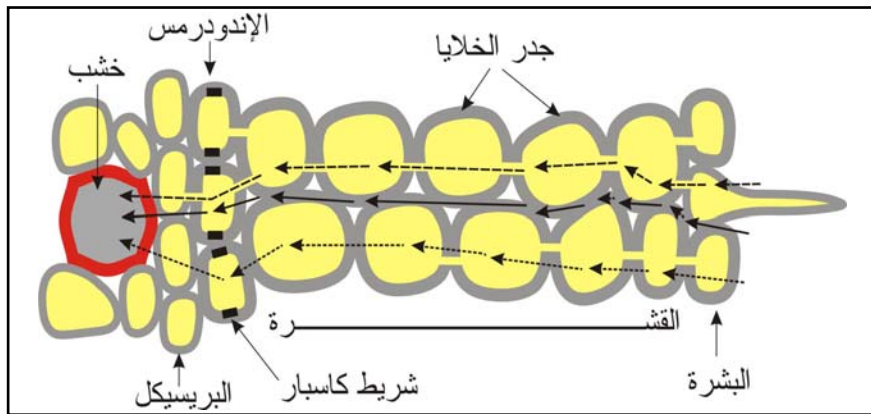
يتكون المسار الشعاعي للماء في الجذر من البرنشيميا بشكل أساسي. وكما أشرنا من قبل، يمكن للماء أن يمر خلال البرنشيميا عبر الأبوبلاست - دون الدخول فعلياً إلى الخلايا - أو عبر البروتوبلاست. ولكي يعبر الماء الخلايا من خلال البروتوبلاست، يجب أن يعبر غشاءين بلازميين لكل خلية (شكل 1-6). هذا يفرض أن الماء يمر في داخل الخلية خلال السيتوبلازم، ولا يخترق أغشية الخلية. على أن المسار البروتوبلاستي للماء يمكن أن يقسم إلى مسارين فرعيين، أحدهما كما ذكرنا. أما المسار الفرعي الثاني فهو يتمثل في مرور الماء خلال سيتوبلازم خلية ما، ثم عبوره إلى الخلية المجاورة عن طريق الروابط السيتوبلازمية، وبذلك لا يحتاج الماء إلى عبور أي أغشية خلوية رغم مروره داخل الخلايا فعلياً. على أن الفصل بين هذين المسارين تجريبياً لقياس مدى مساهمة كل منهما في نقل الماء شعاعياً يبدو غير ممكن حالياً. لهذا

يفضل الحديث عن المسار البروتوبلاستي للماء كوحدة واحدة رغم أن المعلوم أنه يتم بطريقتين ⁽¹⁾.

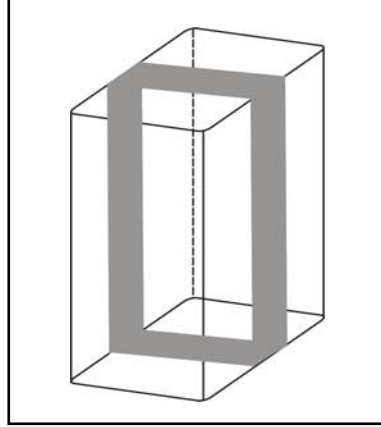
مرور الماء خلال الإندودرمس والإكسودرمس:

Passage of water through endodermis and exodermis

يختلف الأوبلاست في كل من الإندودرمس والإكسودرمس عنه في برنشيمما الجذر، بسبب وجود شريط كاسبار. يتكون هذا الشريط بترسيب السوبرين أو اللجنين أو كليهما بين ألياف السليلوز في الجدر الابتدائية. يتكون هذا الشريط على جميع أوجه جدار الخلية ما عدا الوجهين المماسي الخارجي والداخلي (أي الوجهين المقابلين للقشرة والأسطوانة الوعائية في حالة الإندودرمس والوجهين المقابلين للبشرة والقشرة في حالة الإكسودرمس) (شكل 1-7). وتبقى خلايا الإندودرمس والإكسودرمس على هذه الحالة في النباتات الزهرية التي يحدث بها نمو ثانوي، حيث تتفصل مع القشرة عند حدوث التغلظ الثانوي وتكوين القلف (Periderm). أما في النباتات التي لا يحدث بها نمو ثانوي (كما في النباتات أحادية الفلقة) يستمر التغلظ في جدر الإندودرمس والإكسودرمس بإضافة طبقة كاملة من السوبرين على جميع أوجه الجدار الابتدائي، بما في ذلك شريط كاسبار نفسه. وقد يضاف بعد ذلك وإلى الداخل طبقة من السليلوز على جميع الأوجه، ولكنها تكون أقل سمكاً على الجدار المماسي الخارجي، مما يكسب الخلية شكلاً فنجانياً (شكل 1-5).



شكل رقم (6/1) قطاع عرضي في جذر حديث يوضح المسارين الشعاعيين للماء في برنشيمما الجذر. إما من خلال الأوبلاست (الأسهم المتصلة) أو من خلال بروتوبلاست الخلايا. الماء في المسار البروتوبلاستي يمكن أن يعبر الأغشية البلازمية للخلايا (الأسهم المنقطعة) أو يمر خلال الروابط السيتوبلازمية (الأسهم المتقطعة). المسار الأوبلاستي للماء يتوقف عند الإندودرمس حيث يجب أن يمر الماء من بروتوبلاست هذه الخلايا. حذفت بعض الأنسجة (مثل اللحاء) من المخطط للتبسيط.



شكل رقم (7/1) رسم تخطيطي لخلية إندودرمس يوضح وجود شريط كاسبار (الشريط الرمادي) على جميع أوجه الجدار الخلوي ماعدا الوجهين المماسيين الخارجي والداخلي.

نظراً لوجود مواد كارهة للماء (السوبرين واللجنين) في شريط كاسبار، يفترض أن أبوبلاست خلايا الإندودرمس والإكسودرمس أقل نفاذية للماء. ولكن الدراسات التي أجريت لاستيضاح هذا الأمر باستخدام بادرات الذرة، تشير إلى أن الإندودرمس المغلفة بشريط كاسبار فقط (أي لم يتكون بها طبقة السوبرين أو السليلوز) لا تشكل عائقاً أمام مرور الماء ⁽⁸⁾ ، ⁽⁹⁾ وأن وجود شريط كاسبار لا يزيد المقاومة الإجمالية للخلايا لنفاذ الماء. ربما يعزي السبب في ذلك إلى وجود تفاعل بين المسار الأبوبلاستي والبروتوبلاستي للماء، بحيث يعوض المسار البروتوبلاستي أي عجز في المسار الأبوبلاستي بسبب وجود شريط كاسبار من خلال تبادل الماء فيما بينهما.

على العكس من شريط كاسبار الذي لا يتكون على الوجهين المماسيين لجدار الخلية في الإندودرمس، تتكون طبقة السوبرين على جميع أوجه جدار الخلية سواء في الإندودرمس أو الإكسودرمس. وحيث إن السوبرين كاره للماء، يتوقع أن تزيد مقاومة الخلايا عندما تتكون بها طبقة السوبرين خصوصاً أنها تغلف الخلية من جميع الجوانب. أظهرت الدراسات أن تكوين طبقة السوبرين

يزيد بالفعل من مقاومة الخلايا لنفاذ الماء. ففي جذور البصل (*Allium cepa*) تزداد المقاومة الهيدروليكية في الأجزاء القاعدية من الجذور التي تكونت فيها طبقات السوبرين مقارنة بالأجزاء الطرفية منها ⁽¹⁰⁾.

تفتقر جذور الذرة الحديثة إلى الإكسودرمس. على أن هذه الجذور يمكن أن تحفز لتكوين إكسودرمس بشكل مبكر إذا نمت في مزرعة سائلة ذات تهوية. وجد أن الجذور التي تكونت بها إكسودرمس أكثر مقاومة لنفاذ الماء من تلك التي تفتقر إليها، مما يدل على أن الإكسودرمس إذا وجدت تشكل عائقاً أمام مرور الماء ⁽¹¹⁾. وقد توصلت دراسات أخرى إلى نتيجة مشابهة ⁽¹²⁾، ⁽¹³⁾. على العكس من ⁽¹⁴⁾ الذي استنتج أن وجود طبقة السوبرين يقلل المقاومة لنفاذ الماء في جذور الشعير (*Hordeum vulgare*) وأن تغلظ الجذر هو الذي يزيد المقاومة. ربما يكون السبب في تباين النتائج هو اختلاف نوع النبات أو مرحلة تكوين طبقة السوبرين. ولكن المرجح هنا هو أن تكون طبقة السوبرين يزيد مقاومة الخلايا لنفاذ الماء خاصة عندما يصل تغلظ الجذر إلى مراحل متقدمة.

والخلاصة أن مقاومة المسار الشعاعي لنفاذ الماء في الجذور الحديثة التي لم تتكون في خلايا الإندودرمس أو الإكسودرمس بها طبقات السوبرين تكون موزعة بشكل متجانس بين الخلايا على طول المسار باختلاف أنواعها. ولكن عندما تتكون طبقات السوبرين أو السليلوز في جذر خلايا الإندودرمس أو الإكسودرمس أو كليهما، يتركز فيهما جزء كبير من مقاومة المسار الشعاعي لنفاذ الماء.

دور الإندودرمس في نقل الأيونات:

The role of endodermis in ion transport

رغم أن الإندودرمس (المغلظة بشريط كاسبار فقط) لا تشكل مانعاً أمام نفاذ الماء إلى داخل الأسطوانة الوعائية فإنها تتحكم بالفعل في نفاذ الأيونات. فالأيونات تعبر الإندودرمس عن طريق النقل النشط عبر البروتوبلاست (لا تمر خلال الأبوبلاست بسبب شريط كاسبار) باتجاه الأسطوانة الوعائية، لكنها لا تستطيع العودة إلى القشرة، بمعنى أن الإندودرمس تعمل كصمام أو مضخة ذات اتجاه واحد للأيونات. يساعد ذلك على تراكم تلك الأيونات حول أوعية

الخشب، مما يجعل عملية نقل الأيونات إلى المجموع الخضري أكثر كفاءة. ربما لا يؤثر هذا الأمر في انتقال الماء إلى المجموع الخضري أثناء فترات النتح، نظراً لوجود تيار مستمر من الماء المندفَع لداخل الخشب بفعل الشد الناشئ عن النتح. أما في غياب النتح (أثناء الليل مثلاً) فيؤدي تراكم الأيونات داخل الأسطوانة الوعائية إلى انخفاض جهدها المائي، وبالتالي دخول المزيد من الماء (دون مقاومة من الإندودرمس)، مما يرفع الضغط الجذري فيضخ الماء إلى الأوراق، مما يؤدي إلى حدوث ظاهرة الإدماع (Guttation).

1-6-6 كيف ينتقل الماء خلال الأغشية البلازمية:

How water moves through cell membranes

يساهم كل من المسار الأبوبلاستي والبروتوبلاستي بنسب متفاوتة في نقل الماء حسب النبات والظروف البيئية. ورغم أهمية المسار الأبوبلاستي في نقل الماء خلال الجذر، فإن المسار البروتوبلاستي يصبح أكثر أهمية في حالة انسداد المسار الأبوبلاستي بسبب شريط كاسبار (كما في الإندودرمس والإكسودرمس)، أو عند غياب قوة السحب الناشئة عن النتح ليلاً، أو بسبب نقص الماء المتاح من التربة للنبات. عندئذ لا بد أن يمر الماء خلال الأغشية الخلوية لينتقل من خلية لأخرى.

1-6-1 اكتشاف الأكوابورينات: Discovery of aquaporins

ظل الاعتقاد بأن الماء يعبر الأغشية الخلوية فقط بالانتشار خلال الطبقة الدهنية المزدوجة للغشاء سائداً حتى أوائل تسعينيات القرن العشرين، حيث أعلن العالم الأمريكي بيتر آجر (Peter Agre) (شكل 1-8) اكتشاف الأكوابورينات (القنوات المائية) التي تساهم في إنفاذ الماء خلال الأغشية الخلوية. على أن هذا لا ينفي أن الماء ينتقل بالفعل بالانتشار خلال الطبقة المزدوجة للغشاء.

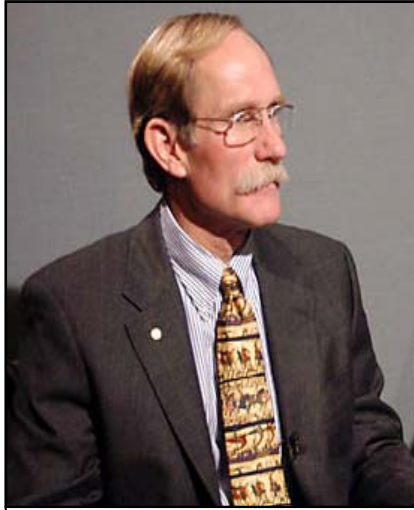
والفرق بين انتشار الماء خلال الطبقة المزدوجة، ومروره خلال الأكوابورينات، أن الأخير يتميز بالاختيارية، فالأكوابورينات تنفذ الماء (والقليل من مركبات أخرى)، بينما لا تنفذ البروتونات (الأحماض) التي يمكن أن تنتشر

خلال الطبقة المزدوجة. والفرق الثاني أنه لا توجد مثبطات معروفة لانتشار الماء خلال الأغشية الخلوية، بينما يمكن لمركبات الزئبق أن توقف عمل الأكوابورينات⁽¹⁵⁾.

حصل بيتر آجر على جائزة نوبل في الكيمياء عام 2003 (بالاشتراك مع آخر) نظير هذا الاكتشاف. وفي خطابه الذي ألقاه بمناسبة تسلمه تلك الجائزة، أوضح كيف تم هذا الاكتشاف⁽¹⁶⁾. فقد بدأ التنبؤ بوجود القنوات المائية عند ملاحظة أن مركبات الزئبق تثبط نفاذ الماء خلال أغشية كرات الدم الحمراء، وأن هذا الأثر يزول بواسطة العوامل المختزلة. و بناء على ذلك، يمكن أن

تكون القنوات المائية عبارة عن بروتينات تحتوي على مجموعات كبريتيد هيدروجين حرة (التي يرتبط بها الزئبق)⁽¹⁶⁾. على أن محاولات التعرف على أي بروتين بهذه المواصفات باءت بالفشل، ووصل البحث في هذا الأمر إلى طريق تكاد تكون مسدودة.

بدأ بيتر آجر بالبحث في ملاحظاته السابقة ربما يجد ما يدل على وجود هذا النوع من البروتينات. الأمر المثير أن بيتر آجر ومعاونيه كانوا يحاولون



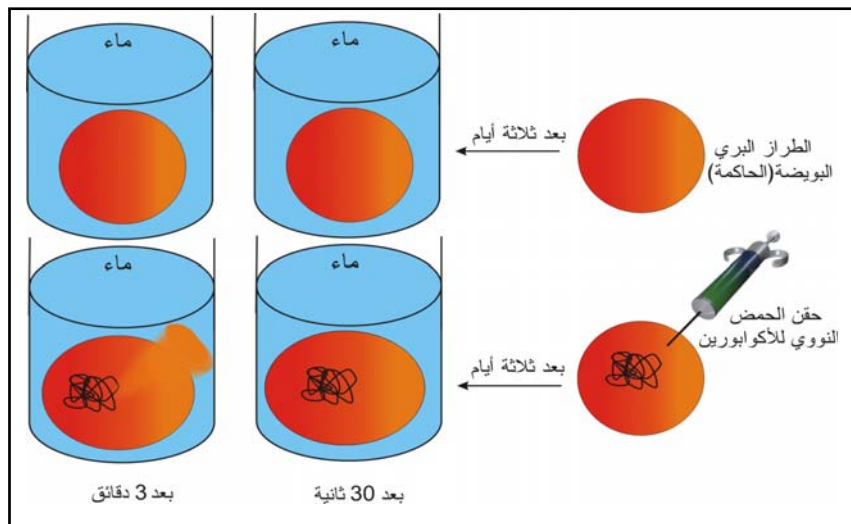
شكل رقم (8/1) بيتر آجر الحاصل على جائزة نوبل لاكتشافه لأكوابورينات.

الحصول على أجسام مضادة من الأرنب ضد أحد البروتينات (وزنه الجزيئي 32 كيلو دالتون) ذات العلاقة بعامل ريساس (RH factor) من كرات الدم الحمراء. وجدوا أن الأرنب ينتج وبقوة أجساماً مضادة لهذا البروتين، غير أن الأجسام المضادة تتفاعل مع بروتين آخر (وزنه الجزيئي 28 كيلو دالتون). كان تفسير هذا أن البروتين الأصغر نتج من تحلل البروتين الأساسي جزئياً، ومن

ثم تفاعل مع نفس الأجسام المضادة. كان المدهش أن هذا البروتين يوجد بكثرة في أغشية كرات الدم الحمراء وبمعدل 200,000 جزئ لكل خلية. بالإضافة إلى ذلك، وجدوا أن هذا البروتين يوجد أيضاً بغزارة في خلايا كلية الإنسان. كما أن تركيب البروتين يدل على أنه يعمل كممر خلال الغشاء البلازمي. ولكن ممر لأي شيء؟

يقول بيتر آجر إنه تحدث مع الكثير من زملائه حول هذا دون أن يجد إجابة، إلى أن افترض التقني جون باركر (1935-1993) أن كلاً من كرات الدم الحمراء، وخلايا الكلية تتميز بقدرة عالية على إنفاذ الماء، وبالتالي يمكن أن يكون لهذا البروتين دور في هذا الخصوص. إضافة إلى ذلك، دلت النتائج من خلال مسار آخر من البحث، أن هذا البروتين يوجد شبيه له في أعضاء كائنات أخرى -تتميز بنفاذيتها العالية للماء - مثل عدسة عين البقر ومخ ذبابة الفاكهة وفي البكتيريا والنباتات. ورغم ذلك لم يتم التعرف على وظيفة أي منها. هذه المقدمات أدت إلى استنتاج أن هذا البروتين ربما يكون قناة مائية⁽¹⁷⁾.

تمثلت الخطوة التالية في دراسة وظيفة هذا البروتين، في بويضات الضفدع زينوبس ليفيس (*Xenopus laevis*). وتتميز بويضات هذا الضفدع بانخفاض نفاذيتها للماء، وبالتالي قدرتها على البقاء حية في برك الماء العذب (لو كانت لها قدرة على إنفاذ الماء لامتصت الماء بالأسموزية وتزايد حجمها حتى الانفجار). نقل العلماء الحمض النووي (cRNA) الخاص بهذا البروتين إلى مجموعة من البويضات، وبعد ثلاثة أيام (خلالها تم تخليق البروتين في البويضات) كان المظهر الخارجي لكل من البويضات الحاملة للجين والحاكمة (Control) متشابهاً. عندئذ نقلت البويضات إلى الماء العذب. وكانت النتيجة المذهلة أن بقيت البويضات الحاملة سليمة، بينما كانت البويضات الحاملة للبروتين أكثر إنفاذاً للماء، ومن ثم انفجرت مثل ذرة الفشار⁽¹⁸⁾ (شكل 1-9). وسمي هذا البروتين منذ هذا اللحظة أكوابورين (Aquaporin or AQP1).



شكل رقم (9/1) بويضات زنبوبس ليفس الحاكمة والمحقونة بجين الأوكابورين بعد وضعهما في الماء العذب لمدة 30 ثانية وقد بدأت الأخيرة في التمدد بسبب امتصاص الماء. بعد مرور 3 دقائق تبقى البويضة الحاكمة دون تأثر بينما تنفجر البويضة المحقونة بالحمض النووي الخاص بالأوكابورين.

وللتأكد من وظيفة الأوكابورين كممر مائي، اختبر بيتر آجر ورفاقه مدى نفاذية الأغشية الاصطناعية للماء عن طريق تخليق حويصلات دهنية في وجود أو غياب الأوكابورين⁽¹⁹⁾. كانت الأغشية الخالية من الأوكابورين ملساء، بينما تميزت تلك المحتوية على الأوكابورين بوجود حبيبات قطرها 0.01 ميكرون (و هي دقائق الأوكابورين). وعند وضع هذه الحويصلات في محلول عالي الأسموزية انكمشت الحويصلات الخالية من الأوكابورين (بسبب خروج الماء منها) ووصلت إلى الاتزان خلال نصف ثانية (500 ملي ثانية). أما الحويصلات المحتوية على الأوكابورين فقد وصلت إلى الاتزان بسرعة (بسبب خروج الماء منها بشكل أسرع) وخلال 20 ملي ثانية فقط⁽²⁰⁾. هذا يعني أن وجود الأوكابورين في غشاء ما يزيد نفاذيته للماء بشكل ملحوظ. وقد وجد أن هذه الزيادة تختفي في وجود الزئبق. وبرغم نفاذية الأوكابورين العالية للماء، فإن بيتر آجر وجد أنه لا ينفذ الأحماض. أكدت هذه النتائج أن البروتين المنفذ للماء الذي طالما كان موضع تفكير الكثير من العلماء، قد تم التعرف عليه.

1-6-2 تركيب الأكوابورين AQP1:

Structure of the aquaporin AQP1

يتكون الأكوابورين AQP1 من 269 حمضاً أمينياً مميزة إلى ستة نطاقات عبرغشائية (Transmembrane domains). يخترق كل من هذه النطاقات الطبقة الدهنية المزدوجة للغشاء (شكل 1-10). ومن الملاحظ أن هناك تناظر داخلي في تتابع الأحماض الأمينية في AQP1. فتتابع الأحماض الأمينية في النطاقات الثلاث القريبة من الطرف الأميني (النطاقات 1 و 2 و 3 وتسمى الشطر الأول من الأكوابورين) يشبه تتابعها في النطاقات الثلاث القريبة من الطرف الكربوكسيلي (النطاقات 4 و 5 و 6 وتسمى الشطر الثاني من الأكوابورين) بنسبة 20%. ويصل بين كل نطاق والذي يليه عروة (Loop) مكونة من عدد من الأحماض الأمينية (A, B, C, D and E). وقد وجد أن العروتين B و E متناظرتان بشكل كبير، وتحتوي كل منهما على التتابع أسبرجين - برولين - ألانين.

في أكوابورينات الغشاء البلازمي يوجد الطرفان الأميني والكربوكسيلي، بالإضافة إلى العروتين B و D مطمورين في السيتوبلازم (شكل 1-10)، بينما العرى A و C و E تواجه خارج الخلية (أو جدار الخلية في حالة النباتات). أما في أكوابورينات العضيات الخلوية كالفجوات العصارية (انظر الجزء 1-6-5) فتوجد العرى A و C و E مواجهة للتجويف الداخلي للفجوة.

1-6-3 كيف يعمل الأكوابورين ولماذا تُوقف عمله أملاح الزئبق

How the aquaporins works and why mercury inhibits its activity

ربما كانت ملاحظة أن الزئبق يوقف عمل الأكوابورين سبباً في فهم آلية عمل الأكوابورين كممر مائي. يمكن للزئبق أن يرتبط بمجموعة الثيول (-SH) الحرة في الحمض الأميني السيستايين (Cysteine). يوجد في الأكوابورين أربع وحدات سيستايين، ولكن واحدة فقط هي التي تتأثر بالزئبق، وهي تلك الموجودة في العروة E (شكل 1-10). أمكن الاستدلال على ذلك بتغيير تتابع الأحماض الأمينية في الأكوابورين بالتطهير الموجه (Site directed

(mutagenesis). فعند إحلال الحمض الأميني سيرين محل السيستايين في العروة E, أمكن الحصول على أكوابورين فعال (أي منفذ للماء), ولكنه لا يتأثر بالزئبق. وعند إحلال سيستايين محل الألانين في العروة B في البروتين المطفر, استعاد الأكوابورين حساسيته للزئبق. على أن إحلال السيستايين محل أي حمض أميني آخر في الأكوابورين لم يغير حساسيته للزئبق⁽²¹⁾.

أدت النتائج السابقة إلى الاعتقاد بأن العروتين B و E تكونان بطريقة ما ممرًا مائيًا حيث إنهما موضع تأثير الزئبق. وبالتالي استنتج العلماء أن الأكوابورين ينطوي بحيث تتطابق العروتان B و E فيكون ما يشبه الساعة الرملية التي يمر فيها الرمل من الحجرة العليا إلى السفلى, وإذا قلبت الساعة انعكس اتجاه مرور الرمل. في هذا النموذج تحيط الست نطاقات العبرغشائية بالممر المائي المكون من العروة B, التي تدخل الغشاء من الجهة السيتوبلازمية, والعروة E التي تدخل الغشاء من الجهة الخارجية. و بجوار هذا الممر المائي, يوجد موضع تأثير الزئبق (شكل 1-10 الجزء السفلي). والأكوابورين يوجد فعلياً في صورة رباعيات (أربعة جزيئات أكوابورين بكل رباعية) أي أن كل رباعية تحتوي على أربعة ممرات مائية⁽²⁰⁾.

كيف إذن لثقب بسيط كهذا أن ينفذ الماء و يمنع الأحماض؟ وكيف يوقف الزئبق عمله؟ يفسر بيتر آجر أن السبب الأساسي لهذا أن الماء إذا كان فعلاً H_2O لكان غازاً وليس سائلاً, ولكن الماء في الحقيقة يوجد في صورة $(H_2O)_n$, بحيث ترتبط جزيئات الماء ببعضها بروابط هيدروجينية. فإذا مر الماء من ثقب الأكوابورين كعمود متصل من الجزيئات, فمن الممكن أن تتركب البروتونات هذا العمود وتمر بالتالي. ولكن ما يحدث أن الثقب المائي للأكوابورين يوجد به اختناق يبلغ قطره عند أضيق نقطة 2,8 أنجستروم (كعنق الزجاج). يتسع هذا الثقب لمرور جزيئ مفرد من الماء. عند هذه النقطة تتكون شحنة موجبة بواسطة الحمض الأميني أرجنين الذي يوجد في العروة E مباشرة بعد التتابع أسبرجين - برولين - ألانين, وشحنة موجبة أخرى على الجانب الآخر من جدار الثقب بواسطة الحمض الأميني هستيدين تتنافران مع

[illegible]

شكل رقم (10/1) الجزء العلوي: يتكون الأكوابورين من ستة نطاقات عبر غشائية (من 1-6) تصل بينها خمس عرى (من A إلى E). وتشبه العروة B العروة E إلى حد كبير و يوجد في كل منهما التتابع أسبرجين N- بروتين P – ألانين A. الدائرة الحمراء في العروة E تشير إلى الحمض الأميني سيستاتين الذي يرتبط به الزنبق موقفاً عمل الأكوابورين. و يشير السهمان إلى اتجاه طي البروتين حتى يكون ما يشبه الساعة الرملية (الجزء السفلي). في هذا النموذج تكون العروتان B و E عند التحامهما الثقب الذي يمر خلاله الماء.

1-6-4 أم أكوابورينات: Aquaporin or aquaporins?

بينما كان بيتر آجر يدرس الأكوابورين AQP1 في الإنسان، لفت هذا الأنظار في العديد من معامل الأبحاث في العالم إلى هذا المجال، فتم التعرف على 12 نظيراً للأكوابورين AQP1 في الثدييات، ومئات من البروتينات ذات الصلة في العديد من الكائنات الحية سواء الفقارية أو اللافقارية أو النباتات، وحتى الكائنات وحيدة الخلية. وكان أول اكتشاف للأكوابورينات كقنوات مائية في النبات في عام 1993⁽²¹⁾.

1-6-5 أكوابورينات النبات: Plant aquaporins

يوجد في النبات العديد من نظائر الأكوابورين (Aquaporin isoforms). جميع الأكوابورينات في النبات تنتمي إلى فصيلة البروتينات الغشائية الأساسية (Major Intrinsic Proteins MIPs). في الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*) يوجد 35 جيناً خاصاً بالأكوابورينات⁽²²⁾، وفي الأرز (*Oryza sativa*) يوجد 33 جيناً⁽²⁴⁾، بينما يوجد 36 في الذرة⁽²⁵⁾. وعموماً تشبه أكوابورينات النبات نظائرها في الحيوان تركيباً ووظيفة، رغم وجود بعض الاختلافات في التفاصيل الدقيقة. فعند حقن mRNA الخاص بأكوابورين نباتي في بويضات الضفدع زينوبس ليفس وجد أن نفاذية البويضات للماء تتزايد بشكل ملحوظ يتراوح بين 2 و20%، مما يدل على أن أكوابورينات النبات تؤدي وظيفة مناظرة لأكوابورينات الحيوان. على أن السيستايين الحساس للزئبق في بعض أكوابورينات الفجوة العصارية يوجد في النطاق عبر الغشائي الثالث بدلاً من العروة E كما في الأكوابورين AQP1. يدل هذا على أن النطاق عبر الغشائي الثالث ربما يبطن الممر المائي (ومن ثم يلعب دوراً في تكوين الممر المائي)، ولذلك يمكن للزئبق أن يوقف عمل الأكوابورين من خلاله⁽²⁶⁾. وخلافاً، لذلك عثر على أحد أكوابورينات الغشاء البلازمي، والذي لا يتأثر بالزئبق في الأرابيدوبسيس. وهذا لأنه يفتقر إلى السيستايين الذي يرتبط به الزئبق. وعند إدخال سيستايين في نقطة قريبة من الممر المائي أصبح الأكوابورين حساساً للزئبق⁽²⁷⁾. كما وجد

أكوابورين مماثلاً (لا يتأثر بالزئبق) في نبات الدخان (*Nicotiana tabacum*), علاوة على أنه ينفذ الجلiserول بالإضافة إلى الماء⁽²⁸⁾.

وبالرغم من أن الجزيئات المفردة من الأكوابورينات تستطيع إنفاذ الماء, حيث إن كل جزيء يكون ممراً مائياً واحداً, إلا أن الأكوابورينات تميل إلى التجمع في رباعيات, كل منها بها أربعة ممرات مائية. والوزن الجزيئي لأكوابورينات النبات (وغيرها من الأكوابورينات) يتراوح بين 25 و 30 كيلو دالتون حسب عدد القواعد النيتروجينية في الأجزاء المترجمة من جينات الأكوابورين⁽²⁹⁾.

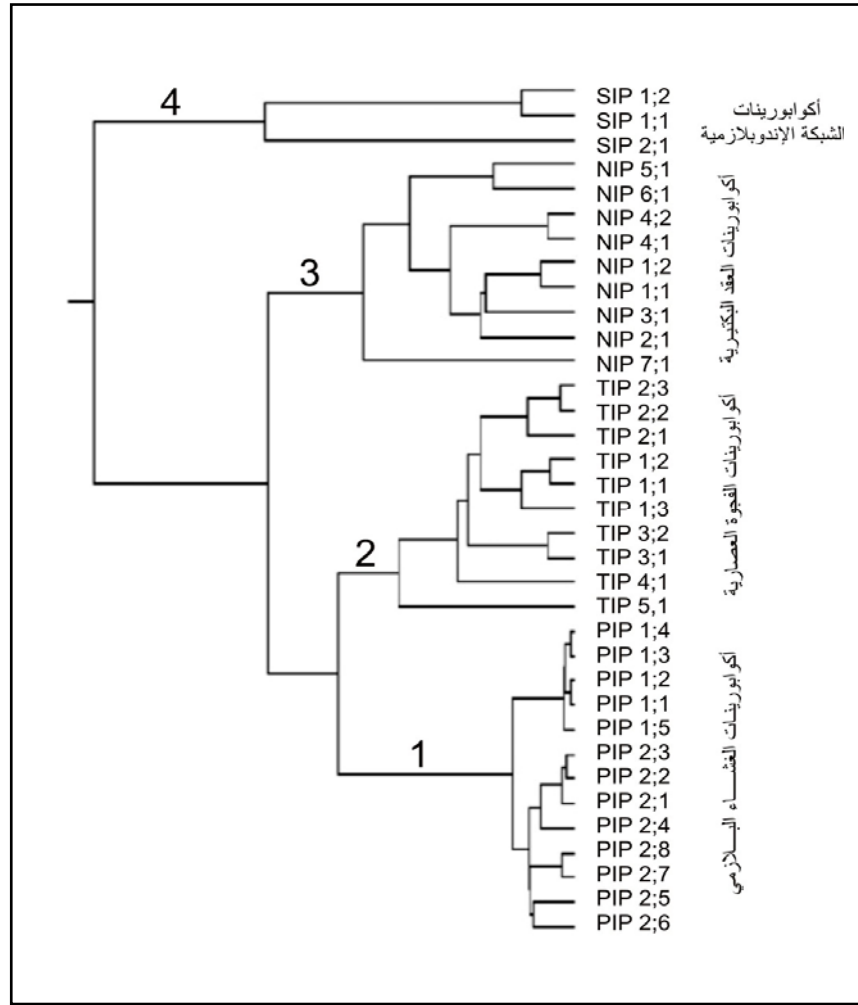
نظراً لتعدد الأكوابورينات التي اكتشفت في النبات أمكن تقسيمها إلى أربعة أقسام. يستند هذا التقسيم إلى مدى التشابه في تتابع الأحماض الأمينية وهو مناظر إلى حد ما إلى توزيع الأكوابورينات في داخل الخلية. توجد الأقسام الأربعة من الأكوابورينات في جميع النباتات التي درست حتى الآن, بداية من الحزازيات وحتى النباتات الزهرية. على أنه ليس من المؤكد أن جميع هذه الأكوابورينات تعمل بالفعل كممرات مائية (شكل 1-11) (30), (31), (32).

1- أكوابورينات الغشاء البلازمي (Plasma Membrane Intrinsic Proteins: PIP): وهي الأكوابورينات التي توجد بغزارة كبروتينات جوهرية (Intrinsic proteins) في الغشاء البلازمي. و تنقسم هذه المجموعة إلى قسمين فرعيين هما PIP1 و PIP2.

2- أكوابورينات غشاء الفجوة العصارية (التونوبلاست): وهي الأكوابورينات التي توجد كبروتينات جوهرية في غشاء الفجوة العصارية (Tonoplast) (Intrinsic Proteins: TIP).

3- أكوابورينات العقد البكتيرية (Nodulin26 like Intrinsic Proteins: NIP): وهي الأكوابورينات قريبة الشبه بتلك الموجودة في الأغشية المحيطة بالبكتيريا المثبتة للنيتروجين في العقد التكافلية في فول الصويا. على أن هذه الأكوابورينات يمكن أيضاً أن توجد في النباتات غير البقولية سواء في الأغشية البلازمية أو أغشية عضيات الخلية.

4- أكوابورينات الشبكة الإندوبلازمية (Small basic Intrinsic Proteins: SIP): وهي تشمل عددًا قليلاً من البروتينات، وتوجد بشكل أساسي في الشبكة الإندوبلازمية.



شكل رقم (11/1) الأقسام الأربعة من أكوابورينات النبات والعلاقة بينها. كلما ازداد طول الخط الواصل بين بروتينين كلما كان الفرق في تتابع الأحماض الأمينية بهما أكبر. الأرقام على الجذوع الرئيسية للشجرة تشير إلى المجموعات الأربع من الأكوابورينات. (الشكل أعيدت صياغته من المرجع⁽³³⁾).

1-6-6 تفعيل جينات الأكوابورينات في أنسجة وأعضاء النبات:

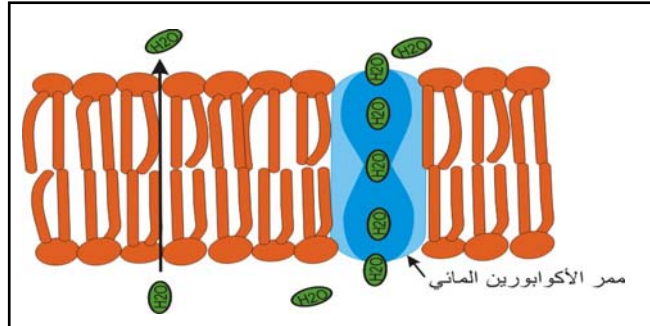
Expression of aquaporins genes in plant tissues and organs

يُقصد بتفعيل الجينات (Gene expression) نسخها وترجمتها إلى بروتينات. توجد الأكوابورينات في أنسجة متنوعة من النبات. في نبات الذرة وجد أن جينات الأكوابورينات بأقسامها الأربعة مفعلة (Expressed) في جميع أنسجة النبات، ولكن بدرجات متفاوتة. تشير هذه الدراسة إلى أن جينات أكوابورينات الغشاء البلازمي هي أكثر الأقسام الأربعة تفعيلاً في النبات تليها أكوابورينات الفجوة العصارية، ثم أكوابورينات العقد البكتيرية، ثم أكوابورينات الشبكة الإندوبلازمية. كما أن أكثر أنسجة النبات احتواءً على mRNA من جينات الأكوابورينات هي الأنسجة التناسلية (الأزهار) تليها أنسجة المجموع الخضري ثم الجذور.

1-6-7 هل يعبر الماء الأغشية الخلوية بالانتشار خلال الدهون أم بالمرور خلال الأكوابورينات؟

Does water cross cell membranes by diffusion through lipids or passage through aquaporins?

تتميز الأغشية الخلوية بالنفاذية المرتفعة للماء. رغم ذلك يصعب تقدير مدى مساهمة الأكوابورينات في هذه النفاذية. تعزى هذه الصعوبة لسببين: أحدهما، أن مرور الماء خلال الأكوابورين لا تصاحبه شحنة كهربائية يمكن قياسها وتقدير كمية الماء على أساسها. والآخر أن معدل انتشار الماء خلال الطبقة الدهنية المزدوجة مرتفع نسبياً، مما يجعل من الصعب التمييز بدقة بين انتشار الماء خلال الدهون، ومروره خلال الأكوابورينات (شكل 1-12).



ينفذ الماء خلال أغشية الخلية بالمرور خلال الأكوابورينات (يمينا) أو بالانتشار خلال الدهون (يسارا).

شكل رقم (12/1)

وعموماً تزيد الأكوابورينات من نفاذية الأغشية للماء. أمكن التعرف على ذلك من خلال قياس النفاذية الانتشارية (Pd) للماء خلال غشاء ما (والتي تعتمد فقط على نفاذ الماء بالانتشار خلال الدهون) والنفاذية الكلية للغشاء (Pos) وهي محصلة كل من نفاذ الماء بالانتشار خلال الدهون، ومروره خلال القنوات المائية بالأكوابورينات. ويتم ذلك بطرق متعددة منها قياس الفرق بين نفاذية الغشاء لمواد لا تمر خلال الأكوابورينات، وتمر فقط خلال الدهون وبين نفاذيته لمواد تمر في كلا المسارين (كالماء). والفرق بين القيمتين يدل على مدى مساهمة الأكوابورينات في إنفاذ الماء. أو بدلالة رياضية إذا كان خارج قسمة Pos على Pd يساوي الوحدة، فهذا يعني أن القنوات المائية بالأكوابورينات لا تشارك في إنفاذ الماء، أما خارج القسمة الذي يزيد على الوحدة، فهو مميز للأغشية التي تشارك فيها الأكوابورينات في إنفاذ الماء.

وجد أن نفاذية الدهون (الأغشية بدون أكوابورينات) للماء تساوي تقريباً 10×10^{-6} متر/ثانية حسب نوع الدهون الموجودة بالغشاء⁽³⁰⁾، بينما تصل نفاذية الأغشية المحتوية على الأكوابورينات للماء إلى $100-200 \times 10^{-6}$ متر/ثانية. علاوة على ذلك، تتراوح نفاذية التونوبلاست في النباتات بين 86 و 600×10^{-6} متر/ثانية والنسبة Pos على Pd تساوي 7، أي أن الأكوابورينات تزيد نفاذية التونوبلاست بمقدار سبعة أضعاف⁽³³⁾ و⁽³⁴⁾. وحسابياً، وجد أن جزيئاً واحداً من الأكوابورين يمكن أن ينفذ 109 جزيئات من الماء كل ثانية إذا كان الفرق في الضغط الأسموزي بين جانبيه 0.1 ميجا باسكال⁽³⁵⁾. هذه القياسات (وغيرها) تمثل دليلاً جيداً على وجود الأكوابورينات في الأغشية الخلوية ومشاركتها فعلياً في إنفاذ الماء على خلاف ما كان متعارفاً عليه سابقاً بأن الماء ينفذ خلال أغشية الخلية حصراً بالانتشار خلال الدهون.

1-6-8 خصائص القنوات المائية بالأكوابورينات

بالإضافة لحساسيتها لمركبات الزئبق ونفاذيتها العالية للماء التي سبق وصفهما، تتميز الأكوابورينات بالخصائص التالية:

- 1- طاقة تنشيط مرور الماء منخفضة:** لكي ينتقل الماء من نطاق لآخر، يحتاج إلى طاقة تدفع هذا الانتقال. هذه الطاقة تنتج من الفرق في الجهد المائي بين النطاقين. فالنطاق ذو الجهد المائي الأعلى يحتوي على جزيئات ماء لها طاقة أعلى من تلك الموجودة في النطاق ذي الجهد المائي الأقل. وبناء على ذلك، تنتقل جزيئات الماء مدفوعة بهذا الفرق في الطاقة. السبب في أن جزيئات الماء تتطلب طاقة للانتقال بين نطاقين أنها تمر خلال طبقة الدهون أي أن جزيئات الماء (القطبية) تعبر وسطاً غير قطبي كاره للماء. ولابد أن تكون الطاقة المتاحة لها أكبر من قوى التناثر بينها وبين الجزء الكاره للماء من الغشاء. هذا في حالة أن الماء يعبر الغشاء بالانتشار خلال الدهون. أما في حالة مرور الماء في الأكوابورينات، فقد وجد أن طاقة التنشيط اللازمة تساوي طاقة التنشيط اللازمة لانتشار الماء في المحاليل المائية، وهي أقل بالطبع من تلك اللازمة لعبوره الطبقة المزدوجة. يدل هذا على أن الماء يعبر الأكوابورين من خلال ممر مائي، أي يشبه في خواصه الكيميائية جزيئات الماء. وبتعبير بيولوجي، إن الماء عندما يمر في الأكوابورين "لا يرى" بيئة مختلفة عن تلك التي يراها في المحاليل المائية بخلاف مروره في الدهون.
- 2- الاختيارية:** تعرف الأكوابورينات على أنها ممرات لنقل الماء بشكل رخوا (لا تستهلك طاقة لنقل الماء) عبر غشاء ما بتأثير الفرق في الجهد المائي بين وجهي الغشاء. ولذلك فهي تزيد التوصيلية الهيدروليكية (انتقال الماء بسبب فرق في الضغط) أو الأسموزية (انتقال الماء بسبب الفرق في الأسموزية) للغشاء. تختلف درجة الاختيارية من أكوابورين لآخر. فبعض الأكوابورينات تتميز باختيارية عالية للماء، بحيث تسمح فقط بمروره دون أي مركبات أخرى، بينما تمرر بعض الأكوابورينات جزيئات مركبات غير أيونية أخرى مثل اليوريا بالإضافة للماء. على العكس من ذلك تتميز بعض الأكوابورينات بتفضيلها توصيل الجليسرول على الماء، كما في الأكوابورين منفذ الجليسرول في الإشريشيا كولاي⁽³⁶⁾ (*Escherichia coli*). وأخيراً تتميز بعض الأكوابورينات باختيارية منخفضة تسمح بمرور

الأيونات بالإضافة للماء, كما في أكوابورينات العقد البكتيرية في فول الصويا⁽³⁷⁾. ورغم ذلك, فإن الأكوابورينات لا تنفذ البروتونات (الأحماض) على الإطلاق. ربما يشير ذلك إلى أن النموذج الذي قدمه بيتر آجر للأكوابورين وكيفية تحكمه في إنفاذ الماء دون غيره لا يوجد بالضرورة في كل الأكوابورينات. كما أنه ليس من الواضح في حالة أكوابورين العقد البكتيرية (NOD26) المنفذ للأيونات إذا كانت هذه الأيونات تمر من نفس الممر الذي يمر منه الماء أم من ممر آخر.

جاءت تسمية الأكوابورينات (القنوات المائية) في الأساس من أن تفعيل جين الأكوابورين AQP1 في بويضات الضفدع زينوبس ليفس يزيد من نفاذية البويضات بشكل كبير (انظر اكتشاف الأكوابورينات: الجزء 1-6). والأقسام الأربعة من أكوابورينات النبات تستطيع إنفاذ الماء, وبالتالي لاتزال هذه التسمية صحيحة في النبات. ولكن بعد سنوات من البحث والدراسة, اكتشف العديد من البروتينات التي تشترك مع الأكوابورينات في الصفات التركيبية أو الوظيفية أو كليهما, ولكن ليس بالضرورة أن كل تلك البروتينات تعمل بشكل مباشر في إنفاذ الماء خلال الأغشية (رغم أن بعضها بالفعل ينفذ الماء). بل قد يكون الواقع على العكس من ذلك. قد يمرر الأكوابورين مواد أخرى أيونية بشكل أساسي, مما يحدث فرقاً في الجهد المائي بين وجهي الغشاء, يؤدي بالتالي إلى مرور الماء مدفوعاً بالفرق في الجهد المائي. أو بمعنى آخر, قد تكون الزيادة في نفاذية الغشاء للماء أمراً ثانوياً وليست وظيفة أساسية للأكوابورين⁽³⁸⁾. ولذلك من الضروري دراسة قدرة الأكوابورينات على إنفاذ مواد أخرى بالإضافة إلى الماء إن وجدت.

3- الآلية الجزيئية لفتح وغلق الممرات المائية في الأكوابورينات: مازالت

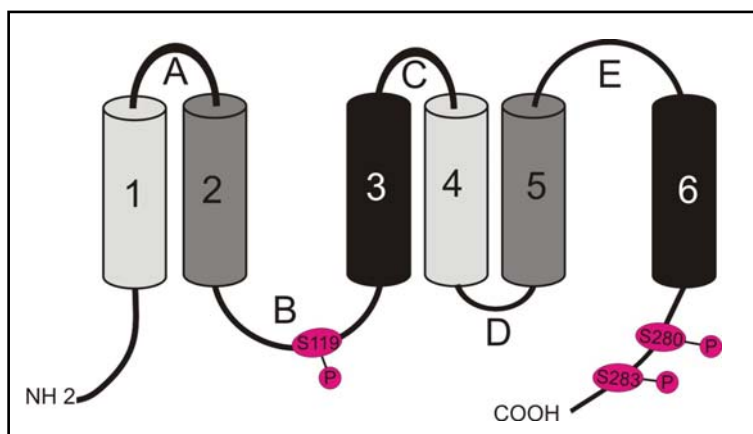
المعلومات المتاحة عن تحكم الخلية في فتح وغلق ممرات الأكوابورين قليلة. دلت بعض الدراسات على أن فسفرة الأكوابورينات تؤثر في قدرتها على إنفاذ الماء. وتشير الدراسات إلى أن أكوابورينات الغشاء البلازمي (PIP) والتونوبلاست (TIP) والعقد البكتيرية (NIP) يمكن فسفرتها في النبات

[(39) و (40) و (41)]. ويوجد موضع يفترض أنه قابل للفسفرة في العروة B في جميع أكوابورينات الغشاء البلازمي في النبات (42) و (43) (شكل 1-13). كما يحتوي الطرف الكربوكسيلي لبعض أكوابورينات الغشاء البلازمي (المجموعة PIP2) على مواضع متعددة قابلة للفسفرة (44) (شكل 1-13). وقد وجد أن تعديل نشاط إنزيمات الفسفرة (Phosphorylases) يغير من قدرة الأكوابورينات على إنفاذ الماء، وأن حذف مواضع الفسفرة في الأكوابورينات يمنع تأثيرها بإنزيمات الفسفرة، وبالتالي لا تستجيب لها.

من ناحية أخرى، دلت الدراسات أن البروتونات والأيونات ثنائية التكافؤ يمكن أن تعمل من السيتوبلازم لتنظيم عمل أكوابورينات الغشاء البلازمي (45) و (46). في أكوابورينات الغشاء البلازمي توجد دائماً لبنة هستدين في العروة D، يفترض أن تلعب دوراً أساسياً في استشعار الحموضة، وربما أيضاً فتح وغلق ممر الأكوابورين. وفي أكوابورين الغشاء البلازمي في نبات السبانخ (*Spinacia oleraceae* SoPIP2;1) وجد أن لبنة لوسين تقع قريباً من لبنة الهستدين تلك (رقم 193) تسد الممر المائي من ناحية السيتوبلازم، فيتوقف مرور الماء به. في هذا الوضع (وضع الانسداد) تبقى العروة D مثبتة في الطرف الأميني للأكوابورين. ويبقى الأكوابورين في وضع الانسداد بفعل شبكة من الروابط الهيدروجينية تساهم في تكوينها اللبنة أسبرجين 28 وجلوتامين 31 وسيرين 115.

وفي وجود الأيونات الثنائية مثل الكاديوم، يصبح تركيب الأكوابورين ذي الممر المسدود أكثر ثباتاً، أي أن تلك الأيونات تثبط الأكوابورينات. وبالمثل تزيد البروتونات (الحموضة) من ثبات الأكوابورين ذي الممر المسدود. وعند استطالة النطاق عبر العشائي الخامس (النطاقات الستة لولبية الشكل ويمكن أن تستطيل)، وتغيير الشكل الفراغي للعروة D يمكن أن تزداد لبنة اللوسين بعيداً عن الممر المائي فينفتح. أما عند فسفرة السيرين 115 في العروة B تتفصل العروة D من الطرف الأميني وينفتح الممر. وما زالت هناك حاجة لمزيد من المعلومات عن الآلية

الجزئية لفتح وغلق مزيد من الأكوابورينات, والإشارات الحيوية التي تحكم تلك العملية.



شكل رقم (13/1) المواضع القابلة للفسفرة في الأكوابورين PIP2;1. ثبت تجريبياً أن لبنتي السيرين رقمي 280 و 283 قابلتان للفسفرة. بينما يفترض أن السيرين 119 قابل أيضاً للفسفرة.

7-1 دور الأكوابورينات في امتصاص الماء من التربة:

نظراً لاعتماد النباتات الأرضية على الجذور في الحصول على الماء, فإن الجذور تشكل عاملاً أساسياً في الاتزان المائي للنبات. ورغم أن نقط المقاومة الرئيسية لسريان الماء في النبات هي الثغور, فإن الجذور تشكل نسبة غير صغيرة (قد تصل إلى 50%) من مقاومة النبات ككل لسريان الماء. لذلك تعتبر الجذور صماماً مهماً في دائرة حركة الماء من التربة إلى النبات, ثم إلى الهواء. يحتم ذلك أن يكون الجذر قادراً على مواكبة التغيرات والمؤثرات التي تطرأ على معدل عملية النتح أو فقد الماء من النبات عموماً. ففي بعض الظروف البيئية التي تزيد معدل النتح, قد يفقد النبات كمية من الماء تعادل محتواه من الماء كاملاً في بضع ساعات. عندئذ على الجذر أن يواكب هذه الظروف, ويزيد من كمية الماء الممتصة من التربة. وعموماً لا بد من حدوث توافق بين قدرة الجذر على نقل الماء, واحتياجات النبات الفسيولوجية.

كما أشرنا سابقاً (الجزء 1-4)، يعتمد النبات في امتصاص الماء من التربة على قوى السحب الناشئة عن النتج. فعند تبخر الماء من الثغور ينشأ ضغط سالب داخل أوعية الخشب قد يصل إلى -1.0 ميجا باسكال يؤدي إلى سحب الماء من الجذر إلى المجموع الخضري. يساهم المسار الأبوبلاستي للماء في الجذر بغالبية الماء الممتص من التربة تحت هذه الظروف، أما في غياب النتج أثناء الليل أو الإجهاد المائي يعتمد النبات في امتصاص الماء على ضخ الأيونات من التربة إلى داخل أنسجة الجذر، مروراً بالصمام ذي الاتجاه الواحد في الإندودرمس، فتتراكم الأيونات داخل الأسطوانة الوعائية، فيخفض جهد الماء فتسحب مزيداً من الماء من التربة إلى الخشب. في هذه الحالة يساهم المسار الخلوي للماء في الجذر بغالبية الماء الممتص. وعموماً تختلف مدى مساهمة كل من المسارين في امتصاص الماء على الظروف البيئية ونوع النبات (انظر الجزء 1-5).

على أن قدرة الجذور على توصيل الماء تتغير بتغيير الظروف البيئية، أو المرحلة التطورية للنبات. فعلى سبيل المثال، تعريض النبات للإجهاد الأسموزي أو الملحي لمدة طويلة (أكثر من ثلاثة أيام) يستحث تكوين شريط كاسبار في الإكسودرمس فتقل إمكانية مرور الماء في المسار الأبوبلاستي وتقل توصيلية الجذر (Hydraulic conductivity or water permeability) للماء. والجذور تستطيع تغيير توصيليتها للماء على المدى القصير عندما تقتضي الحاجة، وحتى قبل حدوث أي تغييرات تشريحية. يتركز هذا التغيير على تعديل قدرة الأغشية البلازمية لخلايا الجذر على إنفاذ الماء من خلال الأكوابورينات.

فالخلية ربما لا تستطيع التحكم في مرور الماء في الأبوبلاست أو انتشاره في الغشاء البلازمي، ولكنها تستطيع أن تتحكم في مروره خلال الأكوابورينات من خلال فتح وغلق القنوات المائية (انظر الجزء 1-6-8 آلية فتح وغلق القنوات المائية)، أو التحكم في كميات الأكوابورينات الموجودة في الغشاء البلازمي. وتشير الدراسات التي استهدفت قياس نفاذية الخلايا المجردة (أي منزوعة الجدر Isolated protoplasts) إلى أن الغشاء البلازمي يشكل عائقاً أمام امتصاص الماء في غالبية أنواع الخلايا الحية، وبالتالي ربما تخضع

نفاذية الغشاء البلازمي للماء لتحكم الخلية من خلال تحكمها في الأكوابورينات (مسح مرجعي في المرجع⁽⁴⁷⁾).

1-7-1 تفعيل جينات الأكوابورينات في خلايا الجذر:

أمكن من خلال العديد من الدراسات، التعرف على وجود العديد من نظائر الأكوابورينات في خلايا الجذر. ورغم أن غالبية هذه النظائر توجد أيضاً في خلايا المجموع الخضري، فإن بعضها يوجد فقط في الجذر مثل أكوابورينات العقد الجذرية في فول الصويا. نظراً لتعدد نظائر الأكوابورينات، وصعوبة التمييز بينها باستخدام الأجسام المضادة. ولا توجد دراسة شاملة حتى الآن لبيان كيفية تفعيل جينات الأكوابورينات في خلايا الجذر المختلفة. وبالرغم من ذلك يمكن القول من خلال الدراسات المتاحة، أن الأكوابورينات توجد بالفعل في جميع خلايا الجذر. فهي توجد في القمة النامية للجذر ومنشآت الأفرع الجانبية، وفي منطقة الاستطالة والتكشف، وفي بشرة الجذر، وفي الشعيرات الجذرية وقشرة الجذر، وفي العديد من خلايا الأسطوانة الوعائية كالأخلايا المصاحبة للخشب واللحاء (مسح مرجعي في المرجع⁽⁴⁸⁾).

1-7-2 ما مدى مساهمة أكوابورينات الجذر في توصيل الماء؟

يمكن تقدير مدى مساهمة الأكوابورينات في توصيل الماء خلال أنسجة وخلايا الجذر، من خلال قياس التوصيلية الكلية للجذر (التي تشمل توصيل الماء خلال الأبوبلاست، وانتشاره خلال أغشية الخلايا، ومروره خلال الأكوابورينات). يلي ذلك معاملة الجذر بأحد مركبات الزئبق التي توقف عمل غالبية الأكوابورينات، ثم قياس توصيلية الجذر للماء. الفرق بين القيمتين يعادل تقريباً ما توصله الأكوابورينات من الماء.

هذا رغم أن نتائج هذا النوع من القياسات ليست دقيقة تماماً لعدة أسباب. السبب الأول: عدم دقة هذه الطريقة في أن الزئبق يهاجم جميع البروتينات التي تحتوي على السيستئين، بما في ذلك الأكوابورينات. فهو غير متخصص، وبالتالي يمكن أن يكون الفرق (النقص) الناتج في التوصيلية بسبب أثر ثانوي لتثبيط عمليات حيوية أخرى مثل التنفس مثلاً، وليس بسبب تثبيط الأكوابورينات

فقط. والسبب الثاني: عدم دقة هذه الطريقة، وهو أن معاملة الجذر بالزئبق لا توقف بالضرورة عمل جميع الأكوابورينات، فقد توجد بعض الأكوابورينات غير الحساسة للزئبق، مما يجعل القيم المقاسة لمدى مساهمة الأكوابورينات في توصيل الماء أقل من الواقع. والسبب الثالث: أن الزئبق لا يصل بالضرورة لجميع أنسجة الجذر، حتى يوقف عمل الأكوابورينات بها، بل ربما لا يتعدى الإكسودرمس وبعض الخلايا الخارجية من القشرة، وفي هذه الحالة أيضاً، ستكون القيم المقاسة أقل من الواقع.

رغم هذا تعد هذه الطريقة مقبولة لتقدير مدى مساهمة الأكوابورينات في توصيل الماء، بشرط استخدام أقل تركيز ممكن من الزئبق (1.0-0.001 ملي مولار) ولأقل فترة زمنية ممكنة (10-60 دقيقة) مع قياس بعض الوظائف الحيوية الأخرى مثل التنفس أثناء المعاملة لأخذ ذلك في الاعتبار. كما يجب قياس توصيلية الجذور للماء بعد إضافة أحد العوامل المختزلة إلى الجذور المعاملة بالزئبق، حيث من المفترض أن العوامل المختزلة (مثل المركبتوايثانول ME) تحرر الأكوابورينات من الزئبق، وبالتالي يستعيد نشاطها.

عند معاملة جذور أنواع مختلفة من النباتات بالزئبق، وجد أن توصيلية تلك الجذور للماء تتخفض بشكل ملحوظ، رغم أن مقدار الانخفاض يختلف من نبات لآخر. فالزئبق يخفض التوصيلية للماء في جذور أحد الصباريات (*Opuntia acanthocarpa*) بمقدار 32%⁽⁴⁹⁾ (ويخفضها في جذور الطماطم (*Lycopersicon esculentum*) بمقدار 57% (شكل 1-14)⁽⁵⁰⁾ وفي الشعير بمقدار 90%⁽⁵¹⁾. تشير دراسة ذات دلالة جيدة في هذا الشأن إلى أن معاملة جذور البصل بالزئبق تخفض التوصيلية للماء بمقدار 82%. وعند الكشف عن مدى تغلغل الزئبق في أنسجة الجذر باستخدام كبريتيد الهيدروجين (H₂S) الذي يكون رواسب سوداء مع الزئبق يمكن رؤيتها في قطاع عرضي في الجذر، وجد أن الزئبق لم يتعد الإكسودرمس! يعني هذا أن الإكسودرمس وربما الطبقات الخارجية من الجذر تلعب دوراً محورياً في امتصاص الماء من التربة (في نبات البصل) وتوصيله لأنسجة الجذر الداخلية. فضلاً عن أن هذا الدور المحوري يعتمد على الأكوابورينات بصفة أساسية. وفي نفس الدراسة وجد

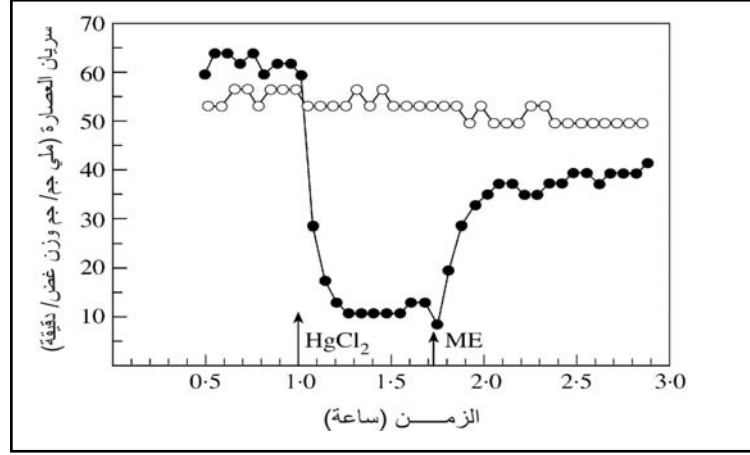
الباحثون أن التوصيلية للماء كانت أقل ما يمكن عند القمة النامية (30-40 مم من قمة الجذر)، بينما بلغت أعلى قيمة لها عند الجزء القاعدي من الجذر (100-110 مم من قمة الجذر). كما أن المعاملة بالزئبق تخفض التوصيلية للماء في كلتا المنطقتين لنفس المستوى. يعني هذا أن الفرق بين توصيلية الأجزاء المختلفة من الجذر للماء يعزى لنشاط القنوات المائية بالأكوابورينات - الحساسة للزئبق - في كل جزء⁽⁵²⁾.

وفي دراسة مماثلة على نبات الصبار (*Opuntia acanthocarpa*)، وجد أيضاً أن الأكوابورينات تلعب الدور الأساسي في امتصاص الماء من التربة وتوصيله عبر أنسجة الجذر، ولكن في هذه الحالة، كان الجزء الحاكم للنفاذية داخل الأسطوانة الوعائية بدلاً من الإكسودرمس كما في البصل. هذه الدراسات في مجملها تشير إلى أن الأكوابورينات تلعب دوراً أساسياً في امتصاص الماء من التربة وتوصيله عبر أنسجة الجذر إلى الأنسجة الوعائية.

1-7-3 دور الأكوابورينات في تعديل التوصيلية الهيدروليكية للجذر حسب الظروف البيئية:

لا يقتصر دور الأكوابورينات على امتصاص الماء من التربة وتوصيله للأنسجة الوعائية، بل يمتد دورها إلى التحكم في توصيلية الجذر للماء حسب ما تمليه الظروف البيئية. منذ أكثر من ثلاثة عقود، وجد أن توصيلية جذور القطن للماء تختلف نهائياً عنها ليلاً. فهي تنخفض ليلاً ثم تزيد نهائياً بما يعادل ضعفين أو ثلاثة أضعاف⁽²⁾. وقد وجدت حالات مشابهة في نباتات أخرى مثل القمح والطماطم وأحد أجناس اللوتس (*Lotus japonicus*).

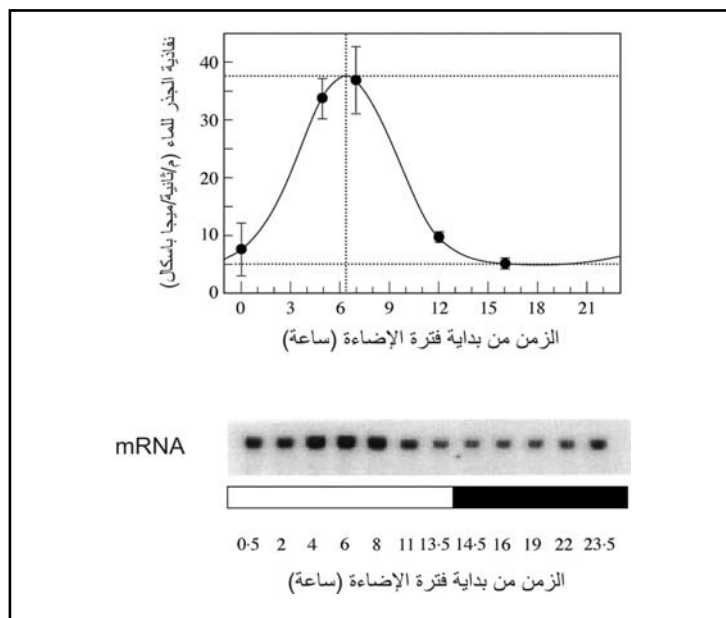
الهدف من هذا التغيير، ربما يكون لتناغم توصيلية الجذر للماء مع احتياجات النبات منه. ففي الليل ينخفض معدل النتج، وبالتالي يقل احتياج النبات للماء، فتتخفض توصيلية الجذر للماء حتى لا يزيد الضغط داخل أوعية الخشب، بينما خلال النهار يزيد النتج، فتزيد توصيلية الجذر للماء حتى لا ينقطع عمود الماء داخل أوعية الخشب.



شكل رقم (14/1) تأثير كلوريد الزئبق على توصيلية جذور الطماطم للماء. عرضت مجموعة من الجذور لكلوريد الزئبق (الخط البياني ذي النقط السوداء) ثم أضيف المركبتوايثانول بعد حوالي 40 دقيقة (السهم الأول يشير إلى إضافة كلوريد الزئبق و السهم الثاني يشير لإضافة المركبتوايثانول)، بينما بقيت المجموعة الحاكمة دون معاملة (الخط البياني ذي النقط الفارغة). عند إضافة كلوريد الزئبق انخفضت التوصيلية بما يقارب 50% مقارنة بتوصيلية الجذور الحاكمة و عند إضافة المركبتوايثانول حدثت زيادة مباشرة في التوصيلية رغم أنها لم تصل للمعدل الأصلي ربما للأثر السلبي غير الرجعي للزئبق على الجذور. بتصريح من Oxford University Press

ومع التغيير في توصيلية الجذر للماء، وجد أيضًا أن درجة تفعيل جينات الأكوابورين في الجذر، تتغير زيادة ونقصانًا بنفس النمط. فكمية mRNA الخاص بجين الأكوابورين PIP2;1 في جذور اللوتس تزيد نهائيًا وتنقص ليلاً متوافقة مع الزيادة والنقصان في توصيلية الجذر للماء (شكل 1-15). يدل هذا على أن النبات يعتمد على الأكوابورينات في تنظيم (توصيلية) نفاذية أنسجته المختلفة للماء عن طريق التحكم في كميات ونشاط الأكوابورينات في تلك الأنسجة.

على أن نشاط الأكوابورينات يتغير استجابة لعوامل متعددة منها مدى إتاحة العناصر المغذية في التربة كالنيتروجين والكبريت مثلاً. وتجدر الإشارة هنا إلى أن الأكوابورينات جذبت انتباه العديد من المجموعات البحثية عالمياً، ولذلك تظهر الأبحاث المزيد من وظائف الأكوابورينات في النبات بشكل متلاحق وسريع يصعب تغطيتها حتى في مسح مرجعي.



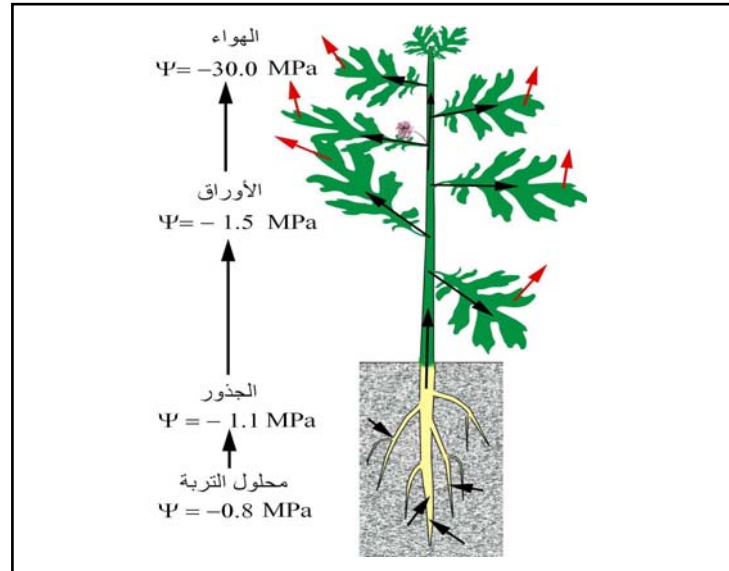
شكل رقم (15/1) تغير نفذية جذور اللوتس للماء خلال الليل والنهار بالتوافق مع مستوى تفعيل جين الأكوابورين PIP2;1. الجزء العلوي من الشكل يوضح معدل نفذية الجذور للماء خلال فترة الإضاءة حيث تزيد خلالها ثم تنخفض أثناء فترة الظلام (بعد حوالي 14 ساعة من بداية فترة الإضاءة). الجزء السفلي من الشكل يوضح تزايد كمية mRNA الخاص بالأكوابورين أيضًا أثناء فترة الإضاءة و انخفاضها أثناء الظلام. بتصريح من Oxford University Press.

8-1 فقد النبات للماء:

تفقد النباتات الماء في صورة بخار عن طريق النتح أو في صورة سائل عن طريق الإدماع. غير أن الإدماع يشكل نسبة ضئيلة من إجمالي ما يفقده النبات من ماء. ومن الغريب أن النبات لا يستخدم كل الماء الذي تمتصه من التربة، بل يفقد غالبه عن طريق النتح أو البخر. فنبات الطماطم مثلاً يستخدم فقط 10% من الماء الذي تمتصه الجذور ويفقد 90% الباقية.

ويمكن أن نشبه عملية امتصاص الماء من التربة وصعوده في أوعية الخشب، ثم فقده عن طريق الثغور بالدائرة الكهربائية، غير أن المادة التي يتم توصيلها أو نقلها هنا هي الماء وليست الإلكترونات. إذ يتحرك الماء مدفوعاً بالفرق في الجهد المائي على طول الدائرة. فالجهد المائي للجذور أقل منه للتربة، كما أن الجهد المائي للمجموع الخضري أقل منه للجذور. والمجموع

الخضري نفسه تختلف أجزاؤه المختلفة في جهدها المائي. فالأجزاء الحديثة (الأوراق) الواقعة قرب قمة الساق النامية جهدها المائي أقل من الجهد المائي للأجزاء المسنة القريبة من الجذر، ولهذا يصعد الماء إلى نهاية المجموع الخضري. غير أن الجهد المائي للهواء الجوي أقل منه في خلايا الأوراق. ومن ثم يتبخر الماء من خلايا الأوراق ويخرج من الثغور. وبناء على ذلك، يتحرك الماء في هذه الدائرة منحدرًا بدلالة الجهد المائي، رغم أنه يتحرك صعودًا بالمعنى الفيزيائي (شكل 16-1).



شكل رقم (16/1) يتحرك الماء من التربة إلى النبات ثم إلى الهواء الجوي عبر منحدر الجهد المائي. قيم الجهد المائي هنا تقريبية وتختلف من نبات لآخر حسب نوع التربة والظروف البيئية.

السبب الأساسي في فقد النبات لهذه النسبة الكبيرة من الماء، يعود إلى أن النباتات الأرضية تكتسب ثاني أكسيد الكربون الجوي اللازم لعملية البناء الضوئي بالانتشار من خلال الثغور. ولكي يحدث ذلك، لابد من فتح الثغور، مما يؤدي إلى حتمية فقد بخار الماء خلالها. إذن هناك علاقة بين ما يفقده النبات من الماء وما يقوم بامتصاصه من ثاني أكسيد الكربون الجوي. ففقد الماء بالنتج، يتم في مقابل اكتساب ثاني أكسيد الكربون الذي يقوم النبات

بتثبيته في الكربوهيدرات. وتعرف النسبة بين كمية الكربوهيدرات التي يثبتها النبات وكمية الماء المفقودة في مقابلها بالكفاءة المائية للنبات.

ويتأثر معدل النتح أساساً بالعوامل البيئية الخارجية، بالإضافة إلى عوامل داخلية في النبات. من العوامل الخارجية درجة حرارة الجو. فزيادة درجة حرارة الهواء تزيد قدرته على حمل بخار الماء، وتقلل بالتالي جهده المائي، فيزيد معدل النتح. كما تؤثر زيادة سرعة الرياح بنفس الكيفية. ويزداد معدل النتح خلال النهار نظراً لكون الثغور مفتوحة مقارنة بالليل. أما زيادة الرطوبة النسبية للهواء، فتقلل من معدل النتح، نظراً لزيادة الجهد المائي للهواء.

ونظراً لأن عملية سحب الماء من التربة وصعوده في أوعية الخشب إلى الأوراق ثم فقده بالنتح تشبه دائرة كهربية. ونظراً لأن الدائرة الكهربية يمكن أن تنهار إذا ازداد الحمل على إحدى نقاطها كذلك يمكن لدائرة سحب الماء وفقده في النبات أن تنهار لنفس السبب. فإذا تعرض النبات لظروف خارجية تزيد معدل النتح بشكل مفرط مثلاً أو إذا انخفض الجهد المائي للتربة لسبب ما، فإن هذا يسبب زيادة الحمل على الدائرة. والجزء المعرض للانهييار في هذه الحالة هو الجزء الأضعف في الدائرة وهو الجذر. يظهر هذه الانهييار في صورة انقطاع عمود الماء داخل أوعية الخشب في الجذر، ووجود فقاعات هواء داخل تلك الأوعية، بخلاف الحالة الطبيعية التي يجب أن يكون فيها عمود الماء داخل وعاء الخشب متصلاً دائماً. كما يمكن أن يحدث في حالة الحمل الزائد أن تتداعى أوعية الخشب وتلتصق جدرانها، مما يؤدي إلى انسدادها بسبب قوى السحب المستمرة والشديدة من الأوراق.

إذن يجب أن يكون هناك اتزان بين ما يمتصه النبات من ماء من التربة وما يفقده ويستخدمه، بحيث لا تزيد كمية الماء المفقودة عن كمية الماء التي يمكن امتصاصها. وفي حالة عجز النبات عن سحب كمية كافية من الماء من التربة سواء بسبب جفاف التربة أو برودتها أو بسبب ارتفاع نسبة الملوحة بها يتعرض النبات حينئذ لنقص في الماء، وهو ما يعرف بالإجهاد المائي. يترتب على ذلك أن يتناقص المحتوى المائي لأنسجة النبات عن الحد الأدنى الضروري لبقاء الخلايا نشطة فسيولوجياً. ونظراً لأهمية الماء لغالبية العمليات

الحيوية في النبات، فإن الإجهاد المائي يترتب عليه الكثير من التغيرات الحيوية، بعضها بهدف التأقلم، وبعضها نتيجة الأثر الضار للإجهاد على النبات. والفصول التالية تتناول استجابات النبات للإجهاد المائي مع محاولة التفريق بين تلك الاستجابات المؤدية لتكيف النبات، وتلك التي تحدث نتيجة الضرر الناتج من الإجهاد.

REFERENCES

المراجع

- (1) Steudle E and Peterson CA (1998). How does water get through roots? *Journal of Experimental Botany* **49**: 775–788.
- (2) Fahh A (1994). Plant Anatomy, Fourth Edition. Pergamon Press.
- (3) Steudle E and Jeschke WD (1983). Water transport in barley roots. *Planta* **158**: 237-48.
- (4) Frensch J and Steudle E (1989). Axial and radial hydraulic resistance to roots of maize (*Zea mays* L.). *Plant Physiology* **91**: 719–26.
- (5) Melchior W and Steudle E (1993). Water transport in onion (*Allium cepa* L.) roots. Changes of axial and radial hydraulic conductivities during root development. *Plant Physiology* **101**: 1305–15.
- (6) Mauseth JD (2003). Plant anatomy laboratory manual. www.mauseth_weblab.com.
- (7) Peterson CA and Steudle E (1993). Lateral hydraulic conductivity of early metaxylem vessels in *Zea mays* L. roots. *Planta* **189**: 288–97.
- (8) Peterson CA, Murrmann M and Steudle E (1993). Location of major barriers to water and ion movement in young roots of *Zea mays* L. *Planta* **190**: 127–36.
- (9) Steudle E, Murrmann M, Peterson CA (1993). Transport of water and solutes across maize roots modified by puncturing the endodermis. Further evidence for the composite transport model of the root. *Plant Physiology* **103**: 335–49.
- (10) Zimmermann HM and Steudle E (1998). Apoplastic transport across young maize roots: effect of the exodermis. *Planta* **206**: 7-19.
- (11) Robards AW, Jackson SM, Clarkson DT and Sanderson J (1973). The structure of barley roots in relation to the transport of ions into the stele. *Protoplasma* **77**: 291–311.
- (12) North GB and Nobel PS (1991). Changes in hydraulic conductivity and anatomy caused by drying and rewetting roots of *Agave desertii* (Agavaceae). *American Journal of Botany* **78**: 906–15.

- (13) Sanderson J (1983). Water uptake by different regions of the barley root. Pathways for radial flow in relation to development of the endodermis. *Journal of Experimental Botany* **34**: 240–53.
- (14) Agre P (2003). Aquaporin water channels. Nobel Lecture, 8th December 2003.
- (15) Macey RI and Farmer REL (1970). Inhibition of water and solute permeability in human red cells. *Biochemica Biophysica Acta* **211**: 104–106.
- (16) Preston, GM and Agre P (1991). Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: member of an ancient channel family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **88**: 11110–11114.
- (17) Preston GM, Carroll TP, Guggino WB and Agre, P. (1992). Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science* **256**: 385–387.
- (18) Zeidel ML, Ambudkar SV, Smith BL and Agre P (1992). Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochemistry* **31**: 7436–7440.
- (19) Zeidel ML, Nielsen S, Smith BL, Ambudkar SV, Maunsbach AB, and Agre P (1994). Ultrastructure, pharmacologic inhibition, and transport selectivity of Aquaporin channel-forming integral protein in proteoliposomes. *Biochemistry* **33**: 1606–1615.
- (20) Preston GM, Jung JS, Guggino WB, and Agre P (1993). The mercury-sensitive residue at cysteine 189 in the CHIP28 water channel. *Journal of Biological Chemistry* **268**: 17–20.
- (21) Maurel C, Reizer J, Schroeder JI and Chrispeels MJ (1993). The vacuolar membrane protein g-TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes. *European Molecular Biology Organization Journal* **12**: 2241–2247.
- (22) Johanson U, Karlsson M, Gustavsson S, Sjovall S, Fraysse L, Weig AR and Kjellbom P (2001). The complete set of genes encoding Major Intrinsic Proteins in *Arabidopsis* provides a framework for a new nomenclature for major intrinsic proteins in plants. *Plant Physiology* **26**: 1358–1369.
- (23) Quigley F, Rosenberg JM, Shachar-Hill Y and Bohnert HJ (2001). From genome to function: the *Arabidopsis* aquaporins. *Genome Biology* **3**: 1–17.
- (24) Sakurai J, Ishikawa F, Yamaguchi T, Uemura M and Maeshima M (2005). Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant and Cell Physiology* **46**: 1568–1577.
- (25) Chaumont F, Barrieu F, Wojcik E, Chrispeels MJ and Jung R (2001). Aquaporins constitute a large and highly divergent protein family in maize. *Plant Physiology* **125**: 1206–1215.

- (26) Daniels MJ, Chaumont F, Mirkov TE and Chrispeels MJ (1996). Characterization of a new vacuolar membrane aquaporin sensitive to mercury at a unique site. *Plant Cell* **8**: 587–99.
- (27) Daniels MJ, Mirkov TE and Chrispeels MJ (1994). The plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* contains mercury-insensitive aquaporin that is homolog of the tonoplast water channel protein TIP. *Plant Physiology* **106**: 1325-1333.
- (28) Biela A, Grote K, Otto B, Hoth S, Hedrich R and Kaldenhoff R (1999). The *Nicotiana tabacum* plasma membrane aquaporin NtAQP1 is mercury-insensitive and permeable to glycerol. *Plant Journal* **18**: 565-570.
- (29) Verkman AS, van Hoek AN, Ma T, Frigeri A and Skach WR (1996). Water transport across mammalian cell membranes. *American Journal of Physiology* **270**: C12–30.
- (30) Maurel C (2007). Plant aquaporins: Novel functions and regulation properties. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **581**: 2227–2236.
- (31) Lande MB, Donovan JM and Zeidel ML (1994). The relationship between membrane fluidity and permeability to water, solutes, ammonia and protons. *Journal of General Physiology* **106**: 67-84.
- (32) Maurel C, Tancet F, Guclu J, Guern J and Ripoche P (1997). Purified vesicles of tobacco cell and vacuolar membranes exhibit dramatically different water permeability and water channel activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **94**: 7103-7108.
- (33) Niemietz CM and Tyreman SD (1997). Characterization of water channels in wheat root membrane vesicles. *Plant Physiology* **115**: 561-567.
- (34) Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, Philippsen A, Grubmuller H, Agre P and Engel A. (2002) Structure and function of water channels. *Current Opinion in Structural Biology* **12**: 509–515.
- (35) Maurel C, Reizer J, Schroeder JI, Chrispeels MJ and Saier Jr MH (1994). Functional characterization of the *Escherichia coli* glycerol facilitator, GlpF, in *Xenopus* oocytes. *Journal of Biological Chemistry* **269**: 11869-11872.
- (36) Weaver CD, Shomer NH, Louis CF and Roberts DM (1994). Nodulin 26, a nodule specific symbiosome membrane protein from soybean, is an ion channel. *Journal of Biological Chemistry* **268**: 17858-17862.
- (37) Tyreman SD, Bohnert HJ, Maurel C, Steudle E and Smith JAC (1999). Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1055-1071.

- (38) Guenther JF, Chanmanivone N, Galetovic MP, Wallace IS, Cobb JA and Roberts DM (2003). Phosphorylation of soybean Nodulin 26 on serine 262 enhances water permeability and is regulated developmentally and by osmotic signals. *Plant Cell* **15**: 981–991.
- (39) Santoni V, Vinh J, Pflieger D, Sommerer N and Maurel C (2003). A proteomic study reveals novel insights into the diversity of aquaporin forms expressed in the plasma membrane of plant roots. *Biochemical Journal* **372**: 289–296.
- (40) Aroca R, Amodeo G, Fernandez-Illescas S, Herman EM, Chaumont F and Chrispeels MJ (2005). The role of aquaporins and membrane damage in chilling and hydrogen peroxide induced changes in the hydraulic conductance of maize roots. *Plant Physiology* **137**: 341–353.
- (41) Johansson I, Karlsson M, Shukla VK, Chrispeels MJ, Larsson C and Kjellbom P (1998). Water transport activity of the plasma membrane aquaporin PM28A is regulated by phosphorylation. *Plant Cell* **10**: 451–460.
- (42) Tornroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, Johanson U, Karlsson M, Tajkhorshid E, Neutze R and Kjellbom P (2006). Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature* **439**: 688–694.
- (43) Johansson I, Larsson C, Ek B and Kjellbom P (1996). The major integral proteins of spinach leaf plasma membranes are putative aquaporins and are phosphorylated in response to Ca^{2+} and apoplastic water potential. *Plant Cell* **8**: 1181–1191.
- (44) Gerbeau P, Amodeo G, Henzler T, Santoni V, Ripoche P and Maurel C (2002). The water permeability of *Arabidopsis* plasma membrane is regulated by divalent cations and pH. *Plant Journal* **30**: 71–81.
- (45) Alleva K, Niemietz CM, Sutka M, Maurel C, Parisi M, Tyerman SD and Amodeo G (2006). Plasma membrane of *Beta vulgaris* storage root shows high water channel activity regulated by cytoplasmic pH and a dual range of calcium concentrations. *Journal of Experimental Botany* **57**: 609–621.
- (46) Maurel C, Javot H, Lauvergeat V, Gerbeau B, Tounaire C, Santoni V and Heyes J (2002). Molecular physiology of aquaporins in plants. *International Review of Cytology* **215**: 105–48.

- (47) Javot H and Maurel C (2002). The role of aquaporins in root water uptake. *Annals of Botany* **90**: 301-313.
- (48) Martre P, North GB and Noble PS (2001). Hydraulic conductance and mercury-sensitive water transport in roots of *Opuntia acanthocarpa* in relation to soil drying and rewetting. *Plant Physiology* **352**-362.
- (49) Maggio A and Joly RJ (1995). Effects of mercuric chloride on hydraulic root conductivity of tomato root systems. Evidence for channel-mediated water pathway. *Plant Physiology* **109**: 331-335.
- (50) Tawaza M, Ohkuma E, Shibasaka M and Nakashima S (1997). Mercurial-sensitive water transport in barley roots. *Journal of Plant Research* **110**: 435-442.
- (51) Barrowclough DE, Peterson CA and Steudle E (2000). Radial hydraulic conductivity along developing onion roots. *Journal of Experimental Botany* **51**: 547-557.
- (52) Parsons LR and Kramer PJ (1974). Diurnal cycling in root resistance to water movement. *Physiologia Plantarum* **30**: 19-23.

الفصل الثاني

أثر الإجهاد المائي على النبات

2-1 مقدمة:

يمكن تعريف الإجهاد على أنه "حيود عن الحالة المثالية لحياة النبات تؤثر بشكل سلبي على وظائفه". والإجهاد المائي على وجه التحديد، هو "الحالة التي يكون فيها معدل فقد الماء بالنتح أو البخر أعلى من معدل امتصاص الماء من التربة مما قد يتسبب في نقص المحتوى المائي لأنسجة النبات عن المستوى الطبيعي". قد يكون تأثير الإجهاد في البداية مؤقتاً وقابلاً للرد، ولكنه يتحول إلى شكل مستديم مع طول تعرض النبات للإجهاد. وتتناسب درجة تأثير مظاهر الحياة المختلفة للنبات مع شدة الإجهاد ومدته. فالإجهاد البسيط يؤدي إلى آثار طفيفة تستطيع غالبية النباتات تحملها، خاصة إذا كان الإجهاد مؤقتاً، بل يمكن أن تتلاشى تلك الآثار بزوال الإجهاد. ومع زيادة الإجهاد يزداد حيود النبات عن الظروف الطبيعية من حيث النمو (يعرف النمو على أنه الزيادة الثابتة في حجم النبات الناتجة من انقسام الخلايا واستطالتها تحت تأثير امتصاص الماء والأملاح وتمدد جدر الخلايا) والتطور والإنتاجية فينخفض معدل النمو وقد يتوقف مع اشتداد الإجهاد. وعند تجاوز الإجهاد الحدود التي تمكن للنبات تحملها يدخل النبات في حالة كمون، أو يشيخ مبكراً ويموت.

ورغم أن النباتات تتعرض للكثير من أنواع الإجهاد خلال دورة حياتها، مثل الإجهاد الضوئي الناتج من زيادة شدة الضوء، أو إجهاد البرودة أو الحرارة الزائدة وغيرها. إلا أننا سنتناول في هذا الكتاب، الإجهاد المائي بنوعيه الملحي (الناتج من زيادة ملوحة التربة) والأسموزي (الناتج من جفاف التربة أو

برودتها). وقد يُستخدم مصطلح الإجهاد على عمومه رغم أن المقصود به في هذا المتن هو الإجهاد المائي دون غيره، إلا إذا نص على ذلك.

وسواء كان سبب الإجهاد المائي هو زيادة ملوحة التربة أو جفافها أو برودتها، فالقاسم المشترك في كل تلك الحالات هو انخفاض قدرة النبات على امتصاص الماء من التربة. وبالتالي تعرضه للإجهاد. فضلاً عن ذلك، تسبب ملوحة التربة نوعاً ثانياً من الإجهاد هو الإجهاد الأيوني الناتج من تعرض أنسجة النبات لتركيزات متزايدة وسامة من الأملاح خاصة كلوريد الصوديوم. كما تتعرض النباتات النامية في التربة الباردة للإجهاد المائي، نظراً لأن انخفاض درجة الحرارة يقلل الجهد المائي للتربة، حتى لو لم يقل محتواها المائي. بالإضافة إلى ذلك، يجب أن يتأقلم النبات تركيبياً ووظيفياً للبرودة نفسها.

2-2 تأثير الإجهاد المائي على إنبات البذور:

تبدأ دورة حياة النباتات الأرضية بإنبات البذرة في التربة. ونظراً لأن غالبية النباتات كائنات ثابتة، لا يمكن أن تتحرك من مكان لآخر، فإن البذرة متى أنبتت، إما أن تكون الظروف البيئية مواتية لنمو البادرة، وإتمام دورة حياة النبات بتكوين البذور، أو أن تكون الظروف غير مواتية، فلا تتمكن من إكمال هذه الدورة ويموت النبات، وربما يختفي من هذه البيئة نظراً لعدم تمكن أفرادها من إتمام دورة الحياة وتكوين البذور. لذلك طورت البذور نظاماً دقيقة لتحديد ما إذا كانت الظروف البيئية مواتية (ومن ثم تنبت البذرة) أو غير مواتية، ومن ثم تبقى كامنة حتى تتحسن الظروف!

تنقسم مراحل إنبات البذور إلى ثلاث:

(أ) **التشرب:** وفيها تمتص البذرة الماء متى أصبح متاحاً، معتمدة على قوى التشرب بشكل أساسي، ولذلك يمكن للبذور الميتة أن تمتص الماء ناهيك عن البذور الحية. وحتى لو كان الجهد المائي للوسط الخارجي منخفضاً يمكن للبذرة أن تمتص الماء نظراً لأن محتواها المائي يكون قليلاً في هذه المرحلة، بما يضمن جهداً مائياً منخفضاً جداً.

- (ب) تحليل الغذاء المدخر في البذرة: (سواء في فلقتي البذرة أو في الإندوسبرم) بواسطة الإنزيمات وتحريكه إلى الجنين.
- (ج) انقسام خلايا الجنين والنمو: وتظهر هذه المرحلة بخروج الجذير من البذرة ونموه.

لا تتأثر عملية التشرب كثيراً بالإجهاد المائي. أما تحليل الغذاء المدخر فيمكن أن يتباطأ في وجود الإجهاد، نظراً للأثر السلبي للإجهاد على الإنزيمات المحللة. وربما يفسر هذا طول الزمن اللازم لإتمام إنبات البذرة في حالة انخفاض الجهد المائي للوسط الخارجي بسبب الملوحة أو المواد النشطة أسموزياً مثل المانيتول أو السوربيتول. على أن الماء ليس هو المتطلب الوحيد لكل تنبت البذرة بل يجب أيضاً أن تكون درجة الحرارة وشدة الضوء وغيرهما من العوامل البيئية في المدى المناسب للبذرة.

ولسنا هنا بصدد سرد العوامل البيئية التي تؤثر في إنبات البذور، ولكن تجدر الإشارة إلى أن تشرب البذرة للماء في وجود مانع للإنبات مثل الأسموزية المرتفعة (بسبب الملوحة أو المانيتول) يسمح بتحليل الغذاء المدخر، ولو بشكل جزئي دون أن يبدأ انقسام الخلايا والنمو. فإذا جفت البذرة عند هذه المرحلة، فإنها تنبت بشكل أسرع عند تشربها مرة ثانية. ربما يلجأ منتجو البذور إلى معاملة البذور بطرق مشابهة بحيث تنبت في زمن أقل وبشكل متجانس (غالبية البذور تنبت في نفس الوقت).

في نبات الدنيبة (*Echinochloa crusgalli*)، تنبت البذور في الماء عند درجة حرارة 25 مئوية بعد 4 أيام. أما في وجود 200 ملي مولار كلوريد صوديوم فتطول هذه المدة إلى 7-9 أيام. وتبقى غالبية البذور دون إنبات (أي دون أن تخرج الريشة من البذرة) في وجود 300 ملي مولار كلوريد صوديوم حتى بعد 15 يوماً. على أن هذه البذور الكامنة إذا نقلت إلى الماء تنبت في فترة وجيزة لا تزيد على 20 ساعة. يدل هذه على أن عمليات تحليل الغذاء المدخر وتحريكه إلى الجنين، تمت بشكل ما في وجود الإجهاد الملحي، ولكن الجنين لم يتم حتى أزيل الإجهاد. قد يكون السبب في ذلك وجود نقطة تحكم لا تسمح ببدا انقسام الخلايا والنمو، إلا إذا كانت الظروف الخارجية تسمح على

الأقل بحد أدنى من النمو، وهذا يضمن أن يستطيع النبات إكمال دورة حياته (المؤلف: بيانات لم تنشر).

كما أن النباتات تختلف في درجة تحملها للإجهاد المائي أثناء النمو الخضري، فإن تحملها للإجهاد أثناء إنبات البذرة يتباين كذلك. والنباتات التي تتحمل الإجهاد أثناء الإنبات ليست بالضرورة قادرة على تحمله أثناء النمو الخضري. فآليات تحمل الإجهاد تختلف بين كلتا المرحلتين. فقد تثبت البذرة في وجود الإجهاد، ولكنها لا تستطيع مواصلة النمو (كما في بذور بعض النباتات الوسطية) وقد تبقى البذور كامنة بسبب الإجهاد، رغم أن النبات يمكنه النمو خضرياً في نفس الدرجة من الإجهاد ولو بمعدل أقل من الطبيعي. وهذا لا يمنع أن بعض الطرز المطفرة يمكن أن تجمع بين صفتي تحمل الإجهاد أثناء الإنبات، وكذلك أثناء النمو الخضري⁽¹⁾.

وعموماً يؤثر الإجهاد المائي (سواء الملحي أو الأسموزي) سلباً في الإنبات حتى لبذور النباتات الملحية⁽²⁾ و⁽³⁾ و⁽⁴⁾ و⁽⁵⁾. ولكن بذور النباتات الملحية أو الصحراوية أكثر تحملاً للإجهاد من بذور النباتات الوسطية. وفي حالة الإجهاد الشديد ربما يكون بقاء البذرة في حالة كمون أفضل من الإنبات، حيث لا تستطيع البادرة مواصلة النمو.

والمعلومات المتاحة عن الآليات التي تحكم إنبات البذرة أثناء الإجهاد قليلة، غير أنه يمكن التنبؤ بأن بداية انقسام الخلايا والنمو ربما تكون هي النقطة الأكثر حساسية للإجهاد، رغم أن عملية تحليل الغذاء المدخر وتحريكه إلى الجنين تتأثر بالإجهاد أيضاً ولكنها ليست حساسة بنفس القدر. في الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*) عزل طراز مطفر يمكنه الإنبات على تركيزات من كلوريد الصوديوم (إجهاد ملحي)، والمانيتول (إجهاد أسموزي) لا يتحملها الطراز البري. هذا الطراز المطفر يفتقر إلى الجين السائد الخاص بكابنيز كاينيز البروتين MKK9. هذا الجين السائد ربما يمنع تنشيط جينات تحمل الإجهاد، وبالتالي يصبح النبات أكثر تحملاً عندما يفقده⁽⁶⁾.

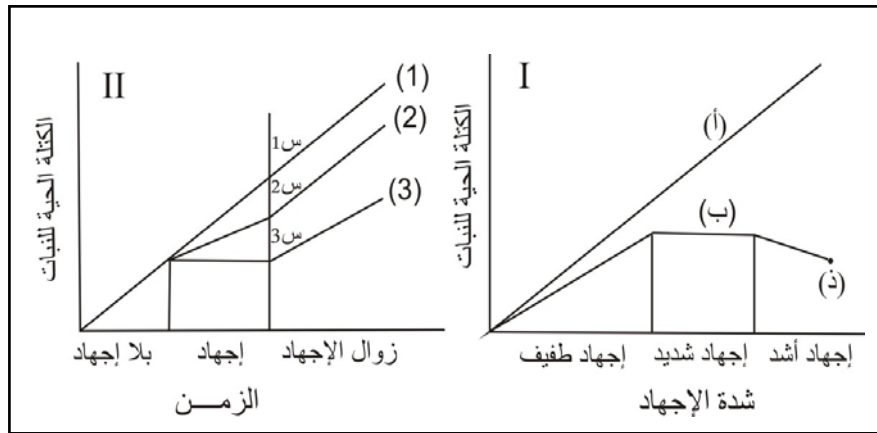
3-2 تأثير الإجهاد المائي على نمو النبات:

تعتمد استجابة النبات للإجهاد المائي من حيث النمو على درجة تحمله. فالنباتات الوسطية عموماً لا تنمو بنجاح في التربة عالية الملوحة أو التربة الجافة بعكس النباتات الملحية التي تفضل النمو في وجود الأملاح في التربة خاصة كلوريد الصوديوم. وتعرف النباتات الملحية على أنها الفلورا الطبيعية للبيئات المالحة⁽⁷⁾. و يطلق على بيئة ما أنها مالحة إذا كانت تحتوي على أملاح تكافئ 70 ملى مولار ملح أحادي التكافؤ⁽⁸⁾. بالمثل تستطيع النباتات الصحراوية النمو في البيئات الجافة رغم أن نموها يتحسن عند زيادة محتوى التربة من الماء بسبب الأمطار مثلاً.

ويمكن إيجاد شكل ما لتأثير الإجهاد على نمو النبات (شكل 2-1). ففي الحالة المثالية (وهي نادراً ما تحدث في الواقع!) تزداد الكتلة الحية للنبات مع الزمن. ولكن في وجود درجات متفاوتة من الإجهاد يبدأ معدل النمو في التناقص، بحيث يكون هذا التناقص قليلاً أثناء الإجهاد الطفيف. في هذه الحالة يكون النبات قد تأقلم للنمو تحت الإجهاد ولو بمعدل أقل من الطبيعي. أما في وجود الإجهاد الشديد فربما يتوقف النمو، ويصبح هدف النبات تحت هذه الظروف هو البقاء حياً فحسب. عندئذ ربما يميل النبات إلى خفض معدلات العمليات الحيوية إلى أقل مستوى ممكن، والبقاء على هذه الحالة حتى زوال الإجهاد⁽⁹⁾. أما إذا استمر الإجهاد الشديد أو أصبح أشد، فربما يتناقص وزن النبات نتيجة الشيخوخة المبكرة للأوراق⁽¹⁰⁾ أو حتى بعض أجزاء الساق، ومن ثم تساقطها، مما يؤدي أخيراً إلى موت النبات.

يحدث هذا إذا تعرض النبات لإجهاد مستديم، أما في حالة الإجهاد المؤقت، فيمكن للنبات أن يستعيد معدل نموه الطبيعي إذا تعرض للإجهاد الطفيف لفترة وجيزة، رغم أن الكتلة الحية الإجمالية ربما تقل عنها في الحالة المثالية. أما إذا تعرض النبات لإجهاد شديد ومؤقت، فغالباً ما يكون معدل نموه فيما بعد أقل من الطبيعي، ويكون الفاقد في الكتلة الحية أكبر مما في حالة الإجهاد الطفيف (شكل 2-1).

تصف المنحنيات في شكل (2-1) نموذجاً تقريبياً لاستجابة النبات للإجهاد. أما تفاصيل تلك الاستجابات، فتختلف من نبات لآخر. فمقدار الإجهاد الطفيف والشديد والأشد يختلف من نبات لآخر. فمثلاً يشعر نبات الأرابيدوبسيس بالإجهاد إذا تعرضت جذوره لتركيز 75 ملي مولار من كلوريد الصوديوم، بينما ينمو نبات مثل الأتريلكس (*Atriplex spp.*) بشكل مثالي عند نفس التركيز من الملح. يرجع ذلك إلى مدى تحمل كل من النباتين للملوحة. فالأول لا يتحملها كونه نباتاً وسطياً (لا يتحمل الملوحة) أما الثاني فهو نبات ملحي متأقلم للنمو في وجود الملح، ليس هذا فحسب، بل إن نموه يتحسن في وجود تركيزات من الملح تتراوح بين 25 و 100 ملي مولار. وقد وجد أن نمو أحد أنواع الأتريلكس (*Atriplex centralasiatica*) يتحسن في وجود كلوريد الصوديوم حتى تركيز 400 ملي مولار مقارنة بالنمو في غياب الملح، ويحقق النبات أفضل نمو في وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم⁽¹¹⁾.



شكل رقم (1/2) (I) أثر الإجهاد المائي المستديم على نمو النبات. (أ) الحالة المثالية للنمو. (ب) النمو في وجود الإجهاد باختلاف درجاته. (ج) النقطة التي يموت عندها النبات. (II) أثر الإجهاد المؤقت على نمو النبات. 1- تتزايد الكتلة الجافة للنبات مع مرور الزمن و بدون إجهاد. 2- يتعرض النبات لإجهاد طفيف ومؤقت فينخفض معدل الزيادة في الكتلة الجافة و عند زوال الإجهاد يستعيد النبات معدل نموه بصورة كاملة مقارنة بالحالة المثالية (الزاوية س2=س1). 3- يتعرض النبات لإجهاد شديد فيتوقف معدل نموه وعند زوال الإجهاد لا يستعيد النبات معدل نموه كاملاً بل يبقى أقل من الطبيعي. لذلك يكون الفاقد في الكتلة الجافة أكثر. (الزاوية س3 أكبر من س1).

ويمكن لنبات الثلج (*Mesembryanthemum crystallinum*) أن ينمو في بيئات عالية الملوحة أو جافة. ليس هذا فحسب، بل يستطيع هذا النبات أن يواصل النمو حتى بعد موت النباتات الأخرى المحيطة به، بفضل قدرته على التكيف الوظيفي، كما سيرد في فصول تالية. من ذلك يمكن القول بأن توقف النمو في نبات ما بسبب الإجهاد، يدل على أن النبات لم يعد قادراً على التكيف، وانتقل إلى مرحلة الصراع للبقاء حياً. ولو تعرض نوعان من النباتات لنفس الدرجة من الإجهاد، فإن أقلهما تحملاً للإجهاد هو الذي يعاني انخفاضاً أكبر في معدل نموه، والعكس صحيح.

2-3-1 لماذا يتأثر النمو سلباً بالإجهاد المائي

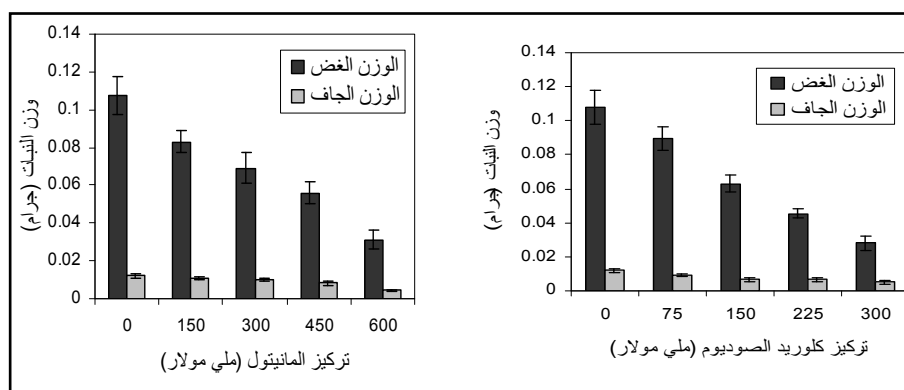
الأثر المباشر للإجهاد المائي على النبات يتمثل في انخفاض معدل النمو بدرجات متفاوتة حسب شدة الإجهاد (شكل 2-2). ولكن أسباب ذلك الانخفاض مازالت غير مفهومة بالكامل. ويصعب التوصل لتفسير عام لسبب أو أسباب انخفاض معدل النمو أثناء الإجهاد المائي رغم كثرة الدراسات والأبحاث التي أجريت لهذا الغرض. ربما يرجع ذلك إلى اختلاف الظروف البيئية أو العملية لكل تجربة، واختلاف النباتات المستخدمة وراثياً، واختلاف طرق القياس وغيرها، مما يجعل من الصعب المقارنة بين نتائج الدراسات المختلفة، والوصول لاستنتاج دقيق وعام. غير أنه يمكن القول إن هناك سببين أساسيين لانخفاض معدل نمو النباتات المجهدتين وهما:

نقص الماء المتاح لخلايا النبات. ويبدو أن هذا هو السبب الرئيسي في نقص معدل النمو في الدقائق أو الساعات القليلة الأولى من تعرض النبات للإجهاد.

الاستجابات التركيبية والوظيفية والجزئية للنبات. وهذه الاستجابات ربما تكون هي العامل الرئيسي الذي ينظم معدل نمو النبات على المدى الطويل. تعتمد هذه الاستجابات على عدة عوامل منها تراكم الأملاح الضارة مثل كلوريد الصوديوم داخل الخلايا، ودرجة جفاف التربة، وعملية الاتزان الأسموزي وغيرها، مما سيرد وصفه لاحقاً.

وليس الهدف هنا هو حصر العوامل المؤثرة والحاكمة لنمو النبات على المدى القصير والمدى الطويل تحت الإجهاد، ولكن الهدف في الأساس هو محاولة فهم متى يبدأ أثر العوامل قصيرة المدى ومتى ينتهي، وبالمثل متى تبدأ العوامل طويلة الأمد في التحكم في نمو النبات. يجب الأخذ في الاعتبار هنا أنه قد يصعب الفصل بين هذين النوعين من العوامل زمنياً، ولكن على الأقل يمكن تحديد الفترة الزمنية التي يكون فيها أحد العوامل أكثر تأثيراً من الآخر.

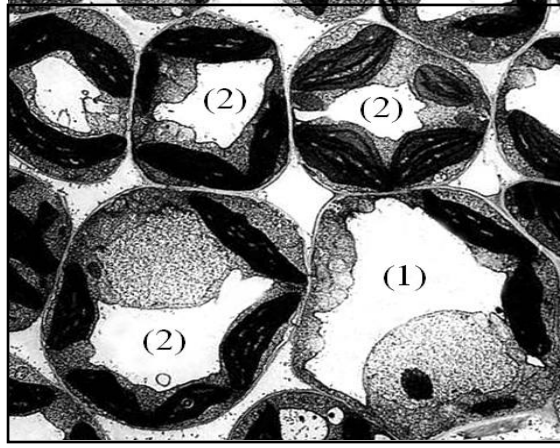
إذن كيف يؤثر نقص الماء المتاح للنبات على النمو؟ تعتمد آلية النمو في النبات على عملية نمو الخلايا بالتمدد، أو زيادة عددها بالانقسام الميتوزي، أو كليهما. ولكي تتمدد الخلايا لابد من زيادة حجم البروتوبلاست (وحدة المادة الحية داخل الخلية). يتم ذلك عن طريق امتصاص الماء ونقله إلى داخل الفجوات العصارية. ولكي تحافظ الخلايا على جهد الماء سالباً تمتص أيضاً بعض الأملاح من التربة مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم وتنقلها إلى الفجوات، مما يؤدي إلى نمو الفجوات العصارية في الحجم، وبالتالي تتمدد الخلايا - بفعل ضغط الامتلاء - وتنمو أنسجة النبات (شكل 2-3).



شكل رقم (2/2) أثر الإجهاد المائي الملحي (باستخدام كلوريد الصوديوم) و الأسموزي (باستخدام المانيتول) لمدة 10 أيام على نمو نبات بصل النرجس (*Pancratium maritimum*) بدلالة الوزن الغض و الوزن الجاف للمجموع الخضري. يتناقص وزن النبات (الأعمدة) كلما زادت شدة الإجهاد (تركيز كلوريد الصوديوم و المانيتول). الخطأ المعياري موضح على كل عمود⁽¹²⁾.

يلاحظ أن النمو بهذه الطريقة لا يرتبط بعملية تخليق مزيد من المادة الحية للخلية باستخدام البروتينات والكربوهيدرات وغيرها, بل يحتاج أساساً إلى امتصاص الماء, والأملاح من التربة. يحدث النمو بهذه الطريقة في الأعضاء التي تقتقر إلى أنسجة إنشائية تساهم في زيادة عدد خلاياها بشكل دائم, أو تلك التي يحتاج النبات إلى زيادة حجمها دون الحاجة إلى تصنيع مزيد من المادة الحية, كما في الأوراق. فنمو الورقة وزيادة مساحة سطحها, يعد عملية مهمة بالنسبة للنبات, بهدف زيادة كفاءة عملية البناء الضوئي. ومن الواضح أن وجود الماء والأملاح هو مفتاح عملية تمدد الخلايا, وبالتالي فقدته يقلل, وربما يوقف هذه العملية. وقد وجد أن حجم الخلايا كاملة النمو, ينخفض إلى الخمس عند تعرض النبات للإجهاد المائي الشديد باستخدام كلوريد الصوديوم أو البولي إيثيلين جلايكول مقارنة بالنباتات غير المجهدة⁽¹³⁾.

وقد يرجع السبب في نقص نمو النباتات المجهدة إلى فقد خلاياها للامتلاء, أو تناقص قدرة تلك الخلايا على التمدد بسبب زيادة صلابة جدرها. من الواضح أن الإجهاد المائي الطفيف يؤثر في النمو من خلال فقدان الخلايا لضغط الامتلاء, وليس من خلال الحد من لدانة جدرها الخلوية (Cell wall extensibility) أي قابليتها للتمدد⁽¹⁴⁾, أو الحد من قدرة البروتوبلاست على زيادة حموضة جدار الخلية التي تعد عاملاً أساسياً لزيادة لدانته⁽¹⁵⁾. بل وجد أن الإجهاد المائي الطفيف لنباتات القمح بواسطة 60 ملي مولار من البولي إيثيلين جلايكول (هذه المادة تقلل الجهد المائي للوسط دون أن يمتصها النبات, وبالتالي تحاكي تأثير الجفاف على النبات) لمدة يوم واحد يزيد من لدانة جدر خلايا الورقة عن طريق تقليل محتواها من حمضي الفيريوليك والداي فيريوليك (Ferulic and diferulic acids) اللذين يزيدان من صلابة الجدر الخلوية, وذلك مقارنة بالنباتات غير المجهدة. وعند إزالة الإجهاد بنقل النباتات إلى الماء المقطر, وجد أن محتوى جدرها من حمضي الفيريوليك والداي فيريوليك يتزايد ليصل إلى مستواه في النباتات غير المجهدة, كما أن النباتات استعادت معدل نموها الطبيعي بإزالة الإجهاد⁽¹⁶⁾. وربما يلجأ النبات المجهد لزيادة لدانة الجدر الخلوية لتعويض النقص في قدرة الخلايا على النمو الناتج من نقص الامتلاء.



شكل رقم (3/2) صورة بالمجهر الإلكتروني لقطاع في ورقة توضح وجود الفجوات العصارية. تنمو خلايا النسيج الوسطي في الورقة عن طريق نمو الفجوات العصارية و لذلك تحتوي الخلايا كبيرة الحجم : (1) على فجوات أكبر من تلك الموجودة في الخلايا الأصغر حجماً: (2).

أما في حالة الإجهاد الشديد الذي يكفي لوقف نمو النبات فقد وجد - فضلاً عن فقد الامتلاء - أن لدانة جدر خلايا الأوراق في بادرات نبات الذرة (*Zea mays*) تقل بشكل واضح، وفي غضون دقائق من تعرض النبات للإجهاد المائي سواء الملحي باستخدام كلوريد الصوديوم⁽¹⁷⁾ ، أو الأسموزي باستخدام البولي إيثيلين جلايكول⁽¹⁸⁾. وتبقى لدانة جدر الخلايا منخفضة ولأسابيع مادام الإجهاد مستمرًا، وتزول فقط بزوال الإجهاد.

2-3-2 تأثير الإجهاد المائي على انقسام الخلايا:

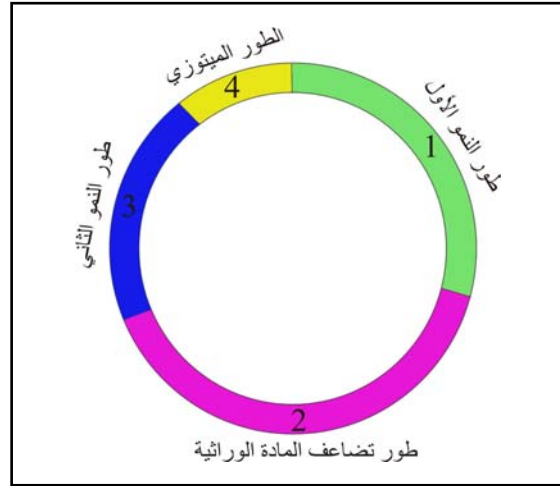
العامل الأساسي الثاني في نمو النبات -بعد نمو الخلايا- هو زيادة عدد الخلايا بالانقسام الميتوزي الذي يحدث بشكل أساسي في الأنسجة الإنشائية. ولكي تنقسم الخلية النباتية، لابد لها من النمو والوصول إلى حجم معين يعادل تقريباً حجم الخلية الأم التي نتجت منها، بالإضافة إلى عمليات أخرى أهمها تضاعف DNA، وتخليق بعض البروتينات (شكل 2-4). فبعد انتهاء عملية الانقسام الميتوزي، تبدأ الخلية في التحضير للانقسام التالي. فتدخل في طور النمو الأول، حيث تخلق البروتينات الضرورية لبناء البروتوبلاست ومن ثم يزداد

حجمها. ثم يبدأ طور تضاعف DNA الذي يستغرق حوالي 50% من الوقت الإجمالي لدورة الخلية. عند انتهاء هذا الطور يكون بالخلية ضعف كمية المادة الوراثية التي كانت بها في طور النمو الأول. ثم تدخل الخلية في طور النمو الثاني، حيث تخلق مزيداً من البروتينات وغيرها من مكونات الخلية. بنهاية هذا الطور، تكون الخلية جاهزة للانقسام مجدداً. وتختلف المدة الزمنية لدورة الخلية من نسيج لآخر. فقد تكون 20-30 ساعة في خلايا القمة النامية للجذر وقد تطول إلى 200 ساعة في المنشئات المرستيمية (Meristem initials) التي تنقسم خلاياها بمعدل أقل.

لا تحتفظ جميع خلايا النبات بقدرتها على الانقسام، بل تقتصر عملية انقسام الخلايا على الأنسجة الإنشائية (المرستيمات: Meristems). وحتى الخلايا القادرة على الانقسام، تمتلك نظاماً دقيقاً للتحكم في عملية الانقسام من حيث انتقال الخلية من طور لآخر، والمدة الزمنية لكل طور. كما يتحكم هذا النظام فيما إذا كانت الخلية ستواصل الانقسام، أم ستتوقف وتتخصص في أداء وظيفة ما. وفي حالة توقف الخلية عن الانقسام تدخل الخلية التي أنهت لتوها آخر انقساماتها طوراً يسمى الطور الصفري، بدلاً من طور النمو الأول. من أهم العوامل التي تلعب دوراً أساسياً في تنظيم انقسام الخلية مجموعة من الإنزيمات تسمى الكاينيزات (Kinases) فهي ضرورية لعملية تضاعف DNA، وكذلك لإتمام الانقسام الميتوزي. وهي تعتمد في نشاطها على بروتينات متخصصة تسمى السيكلينات، ولذلك تسمى الكاينيزات المعتمدة على السيكلينات (Cyclin Dependent Kinases: CDKs).

وتحتاج الخلية في جميع أطوار دورتها، وخصوصاً طوري النمو الأول والثاني إلى الماء الذي يضمن ضغط امتلاء مناسب للخلايا يدفعها للنمو. ومع استمرار دخول الماء للخلية، يتزايد ضغط امتلائها حتى يحدث الاتزان بين ضغط الامتلاء وقوة الامتصاص الأسموزية. غير أن ضغط الامتلاء لا يصل إلى ذروته إذا انقسمت الخلية. فبالخلايا البنيوية تمتلك قدرة أكبر على التمدد، وبالتالي على امتصاص الماء. من ذلك يمكن القول بوجود علاقة شد وجذب بين نمو الخلايا وانقسامها من جهة، والجهد المائي من جهة ثانية. فنمو الخلايا

وانقسامها يخفضان ضغط امتلائها وجهدها المائي، بينما الجهد المائي وضغط الامتلاء يدفعان نمو وانقسام الخلايا.



شكل رقم (4/2) دورة الخلية في نسيج إنشائي. تمر الخلية بأربع مراحل (1-4) تبدأ بطور النمو الأول وتنتهي بالانقسام. يتناسب طول كل مرحلة في الرسم مع المدة الزمنية التي تستغرقها. ويشغل تضاعف DNA الجزء الأكبر من دورة الخلية.

والإجهاد المائي يحد من قدرة الخلايا على الانقسام، رغم أن العلاقة المباشرة بينهما غير مفهومة بوضوح. ويفترض أن الإجهاد المائي يعرقل عملية الانقسام الخلوي على الأقل جزئياً من خلال إعاقة استطالة الخلايا⁽¹⁹⁾. فعند تنمية نباتات الذرة في بيئة ذات محتوى مائي منخفض، يقل معدل انقسام الخلايا الإنشائية في الجذور، كما يقل معدل استطالة الجذور ككل، مقارنة بالنباتات غير المجهد⁽²⁰⁾. كما تستجيب بادرات دوار الشمس (*Helianthus annuus*) للإجهاد المائي الطفيف بشكل مماثل⁽²¹⁾.

وينخفض معدل نمو نباتات الأرابيدوبسيس أثناء الإجهاد الملحي (ببتميته في بيئة تحتوي على 85 ملي مولار كلوريد صوديوم) بسبب نقص حجم الخلايا الناضجة ونقص عددها (أي انخفاض معدل انقسام الخلايا الإنشائية)، رغم أن المدة الزمنية اللازمة لإتمام دورة الخلية لم تتغير، مقارنة بالنباتات غير المجهد! إذن لماذا انخفض معدل انقسام الخلايا رغم أن سرعة الانقسام لم

تنخفض؟ السبب في ذلك هو انخفاض عدد الخلايا القادرة على الانقسام، أو بمعنى آخر نقص حجم المرستيم (النسيج الإنشائي). كما يؤدي الإجهاد الملحي إلى انخفاض نشاط الكاينيزات المعتمدة على السيكلين⁽²²⁾ والتي تعمل على تنظيم دورة الخلية.

يظهر أثر الإجهاد المائي على نمو الخلايا وانقسامها سريعاً. فمعدل استطالة خلايا الورقة في نباتات القمح أثناء الإجهاد الملحي الطفيف (-0.3 ميجا باسكال) ينخفض إلى النصف مقارنة بالنباتات غير المجهددة خلال يوم من تعرض النبات للإجهاد. كما ينخفض معدل انقسام الخلايا إلى 42% خلال نفس المدة. ليس هذا فحسب، بل ينخفض طول المرستيم القاعدي للورقة من 8 ملي متر في النباتات غير المجهددة إلى 4 ملي متر في النباتات المجهددة. ونتيجة لذلك، ينخفض العدد الكلي لخلايا الورقة إلى 85% من العدد الطبيعي. يصاحب ذلك انخفاض نشاط الكاينيز المختص بفسفرة الهستون H1 إلى 50% من المستوى الطبيعي خلال 3 ساعات من بدء الإجهاد (الهستونات ومنها H1 هي بروتينات ضرورية لتعضي DNA في النواة ويتم تخليق معظمها أثناء الانقسام الميوزي أو الميوزي). يدل ذلك على أن الإجهاد المائي ربما يتحكم في معدل انقسام الخلايا من خلال تأثيره في الكاينيزات المعتمدة على السيكلينات⁽²³⁾.

بالإضافة إلى ذلك، ربما يعوق الإجهاد المائي عملية الانقسام الخلوي من خلال تأثيره على بعض الهرمونات، مثل حمض الأبسيسك. فالسيكلينات التي تنظم دورة الخلية بالتعاون مع الكاينيزات يمكن أن يقل نشاطها بسبب بعض البروتينات التي تستطيع أن تثبط الكاينيزات. تُسمى هذه البروتينات مثبطات الكاينيزات. أحد هذه المثبطات (ICK1) يعوق عمل كاينيز الهستون (H1). وجد أن تركيز هذا المثبط يتزايد إذا عومل النبات بحمض الأبسيسك (Abscicic acid). والإجهاد المائي يؤدي أيضاً إلى زيادة تركيز حمض الأبسيسك في الخلايا. وبالتالي ربما يبطئ الإجهاد المائي من معدل انقسام الخلية عن طريق تأثيره في حمض الأبسيسك الذي بدوره يتحكم في مثبطات الانقسام الخلوي⁽²⁴⁾. ليس هذا فحسب، بل إن حمض الأبسيسك يعوق عملية تضاعف المادة الوراثية

(DNA) وبالتالي يمنع الخلايا من الانقسام إذا تعرضت له الخلايا في نهاية طور النمو الأول قبل بدء طور تضاعف DNA⁽²⁵⁾.

2-3-3 هل نقص الماء المتاح، وفقد الامتلاء هو السبب الفوري الوحيد لانخفاض معدل نمو النبات أثناء الإجهاد؟

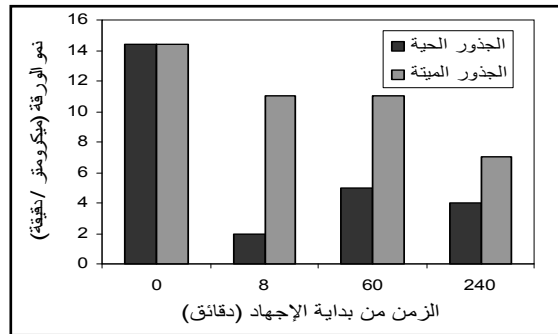
قد يكون نقص الماء المتاح، وفقد الامتلاء، هما السبب المباشر والفوري لانخفاض معدل نمو النباتات المجهدّة خلال الدقائق أو بالأكثر الساعات القليلة الأولى من تعرض النبات للإجهاد. ولكن متى ينتهي (أو يقل) تأثير فقد الامتلاء كعامل محدد للنمو ويبدأ بالتالي تأثير عوامل أخرى؟

في إحدى الدراسات الجيدة التي أجريت للإجابة عن هذا السؤال، تم تعريض بادرات الذرة النامية في مزارع سائلة للإجهاد الملحي والأسموزي باستخدام كلوريد البوتاسيوم والمانيتول، بحيث كان الجهد الأسموزي للوسط حوالي -0.3 ميجا باسكال. كان ضغط امتلاء الخلايا (في منطقة الاستطالة بالجذر) قبل الإجهاد 0.67 ميجا باسكال. وعند إضافة كلوريد البوتاسيوم أو المانيتول للوسط انخفض ضغط امتلاء الخلايا بسرعة إلى أقل من 0.4 ميجا باسكال، وتوقف نمو الجذور عندما وصل ضغط الامتلاء إلى 0.6 ميجا باسكال، مما يدل على أن الحد الأدنى لضغط الامتلاء المطلوب للنمو (أي الحد الحرج الذي يتوقف النمو إذا انخفض عنه ضغط الامتلاء) قريب من القيمة الفعلية لضغط امتلاء الخلايا في غياب الإجهاد. ثم استعادت الخلايا ضغط امتلائها جزئياً خلال النصف ساعة الأولى من الإجهاد، بحيث وصل إلى 0.53 ميجا باسكال. واستأنف الجذر النمو عندما وصل ضغط الامتلاء إلى 0.45 ميجا باسكال. واستغرقت عملية استعادة ضغط الامتلاء إلى قيمة 0.45 ميجا باسكال 10 دقائق ظل خلالها نمو الجذر متوقفاً.

وحسب نتائج التجربة، يرجع السبب في استعادة الخلايا لضغط امتلائها إلى حدوث عملية اتزان أسموزي عن طريق نقل بعض المواد الذائبة إلى الخلايا من خلال اللحاء. حيث إن استعادة ضغط الامتلاء كانت أسرع في الخلايا القريبة من اللحاء منها في الخلايا البعيدة عنه (أي الخلايا الخارجية لقشرة الجذر). ولهذا السبب استبعد الباحثان أن يكون السبب في استعادة

الخلايا لضغط امتلائها بسبب امتصاص الملح أو المانيتول من الوسط. كما استبعد الباحثان أن يكون توقف النمو بسبب زيادة صلابة جدر الخلايا بناء على أن إزالة الإجهاد (باستبدال الوسط الغذائي المحتوي على كلوريد البوتاسيوم والمانيتول بآخر خال من أي منهما) يؤدي إلى زيادة مفاجئة وسريعة في النمو، مما يدل على أن العامل المحدد للنمو خلال هذه الفترة هو، ضغط الامتلاء الناتج من نقص الماء المتاحة⁽²⁶⁾. وقد حصل آخرون على نتائج مشابهة باستخدام القمح، غير أن الخلايا استعادت ضغط امتلائها بعد مدة أطول (ساعتين بدلاً من 30 دقيقة)⁽²⁷⁾.

على العكس من استجابة خلايا الجذر للإجهاد وجد أن معدل نمو أوراق بادرات الذرة أثناء الإجهاد (عن طريق إضافة البولي إيثيلين جلايكول للوسط حتى جهد مائي -0.5 ميجا باسكال) يبقى منخفضاً في الأربع ساعات الأولى من الإجهاد، مقارنة بالنباتات غير المجهد (لا يتوقف النمو كما في الجذر) رغم الزيادة المطردة في الجهد الأسموزي للورقة خلال تلك الفترة. ولمعرفة ما إذا كانت استجابة الورقة هذه ترجع لإشارات حيوية مثل حمض الأبسيسك يرسلها الجذر من خلال الخشب، وتؤدي بالتالي إلى تنظيم معدل النمو، تم قتل الجذور عن طريق تجميدها في النيتروجين السائل. وعند تعريض النباتات التي قتلت جذورها للإجهاد انخفض معدل نمو أوراقها ولكن بدرجة أقل (أي كان معدل النمو أعلى) مما في حالة الجذور الحية، مع العلم بأن قتل الجذور لم يؤثر في نمو النباتات غير المجهد خلال مدة التجربة (شكل 2-5).



شكل رقم (5/2) معدل نمو أوراق بادرات الذرة خلال الأربع ساعات الأولى من تعرضها للإجهاد باستخدام البولي إيثيلين جلايكول (جهد مائي -0.5 ميجا باسكال). ينخفض معدل النمو سواء كانت الجذور حية أو ميتة ولكن مقدار الانخفاض أكبر في حالة الجذور الحية.

والهدف من قتل الجذور - هنا - كان للتمييز بين نوعين من المؤثرات التي يمكن أن يرسلها الجذر للورقة فتؤدي بالتالي إلى الاستجابة بتخفيض معدل النمو. فاستجابة الجذر الفورية للإجهاد، قد تكون مبررة في ضوء أنه يلامس مباشرة التربة الجافة أو المالحة. أما الورقة وباقي أجزاء المجموع الخضري فلا تلامس مصدر الإجهاد، بل تعتمد في استجابتها على مؤثرات (أو إشارات) يرسلها الجذر عن طريق الخشب. الجذور الحية يمكن أن ترسل نوعين من الإشارات:

1- إشارات هيدروليكية (Hydraulic signals): وهو انخفاض ضغط عصارة الخشب نتيجة عجز الجذر عن امتصاص الماء من التربة، مما يؤدي إلى نقص كمية الماء المتاح للورقة من أوعية الخشب.

2- إشارات حيوية: تشمل بعض الهرمونات النباتية، وأهمها حمض الأبسيسك الذي يرسله الجذر أيضاً خلال الخشب إلى الأوراق، ويؤدي إلى العديد من الاستجابات في الأوراق.

أما الجذور الميتة فتُرسل نوعاً واحداً وهو الإشارات الهيدروليكية. وانخفاض معدل نمو الأوراق في النباتات المجعدة التي قتلت جذورها، يدل على أن الإشارات الهيدروليكية تلعب دوراً أساسياً في تنظيم نمو الأوراق في الساعات الأولى للإجهاد. رغم ذلك لا يمكن القول بأن الإشارات الهيدروليكية من الجذر هي العامل الوحيد المتحكم في النمو فوجود فرق في النمو بين النباتات التي قتلت جذورها، والنباتات ذات الجذور الحية، يدل على أن هناك أنواعاً أخرى من الإشارات الحيوية تؤثر في نمو الأوراق أثناء الإجهاد.

من هاتين الدراستين وغيرهما يمكن استنتاج أن فقد الامتلاء يعد عاملاً أساسياً مؤثراً في النمو خلال الدقائق الأولى من الإجهاد، ويستمر هكذا حتى تستعيد الخلايا ضغط امتلائها. عندئذ ربما يصبح فقد الامتلاء عاملاً ثانوياً في التحكم في معدل النمو.

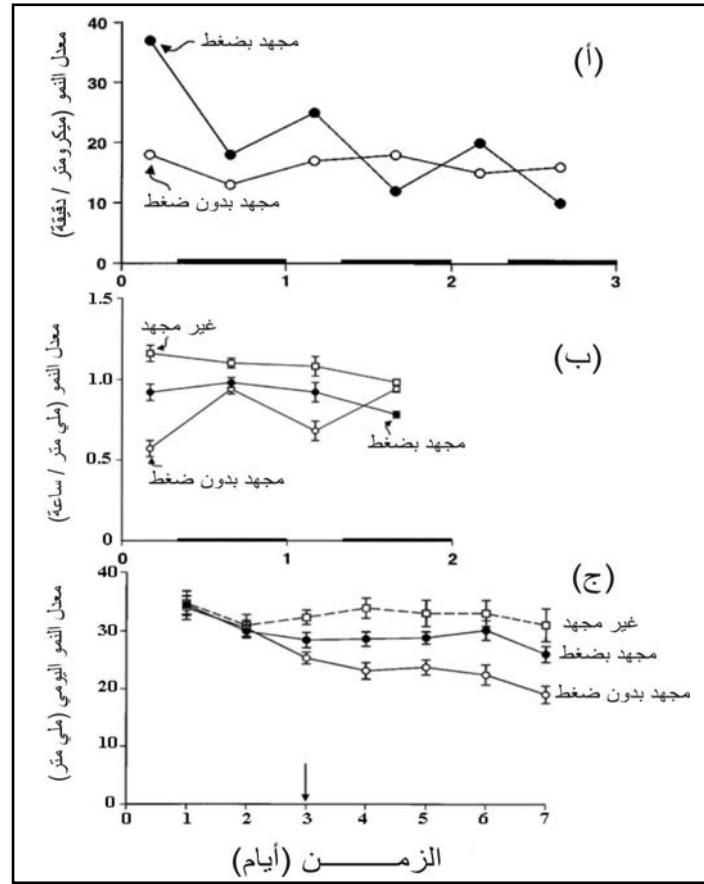
من الدراسات التي تؤيد هذا الاستنتاج، دراسات بنيت على فكرة الفصل بين تأثير كل من ملامسة الجذر للتربة الجافة أو المالحة، الذي يحفز الجذر لإرسال إشارات حيوية إلى الورقة، وتأثير نقص الماء المتاح على الأوراق. عند تعريض التربة والمجموع الجذري للنبات المجهد لضغط مرتفع - عن طريق تنمية النباتات في أصص ثم تعريض الأصص للضغط المرتفع - يتوازن الضغط داخل أوعية الخشب، وبالتالي تزيد كمية الماء المتاح بالنسبة للأوراق .

وتكون استجابة الورقة في هذه الظروف راجعة فقط إلى الإشارات الحيوية التي يرسلها الجذر، إذ إنه مازال ملامساً لمصدر الإجهاد. رغم أن زيادة ضغط التربة قد يدفع ماء التربة إلى داخل الجذور، نظراً لأن زيادة الضغط ترفع الجهد المائي، مما يؤدي إلى زوال مؤقت للإجهاد بالنسبة للأوراق، إلا أنه لا يؤثر في الحالة المائية للجذر. فالزيادة في كمية الماء المتاح، تستفيد منها الأوراق فقط بسبب انخفاض جهدها المائي، مقارنة بالجذر الذي يرتفع جهده المائي بسبب الضغط.

عند تنمية نباتي ذرة في وجود 80 ملي مولار كلوريد صوديوم (جهد مائي حوالي -0.4 ميجا باسكال) لمدة يومين للتأكد من أن معدل نموها متساو أثناء الإجهاد، ثم تعريض أحد النباتين لضغط جوي يعادل الضغط الأسموزي لمحلل الري، بينما بقي الآخر تحت الضغط الجوي. وجد أن نمو النبات المضغوط يزداد خلال النهار، مقارنة بالنبات غير المضغوط. أما خلال الليل فيحدث العكس بحيث يصبح نمو النبات المضغوط أقل. وقد أدت زيادة الضغط إلى تحسن النمو خلال اليوم الأول، مقارنة بالنبات غير المضغوط، ولكن بقي معدل النمو في كلتا الحالتين أقل منه في حالة النباتات غير المجهدة. أما في اليومين الثاني والثالث، فلم يكن هناك فرق في النمو بين النبات المضغوط وغير المضغوط على مدار اليوم. هذا رغم زيادة معدل نمو النباتات المضغوطة خلال النهار في الأيام التالية، ولكن النقص خلال الليل يعادل هذه الزيادة (شكل 2-6 أ). تجدر الإشارة هنا إلى أن تعريض النباتات غير المجهدة للضغط الزائد لا يؤثر في معدل نموها.

و قد حصل الباحثون على نفس النتيجة باستخدام نباتات الشعير (*Hordeum vulgare*) المضغوطة وغير المضغوطة النامية في وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم. كان معدل نمو النباتات المضغوطة وخلال اليوم الأول 23 مم/يوم، وفي اليوم الثاني 20 مم/يوم، بينما كان معدل نمو النبات غير المضغوط 20 مم/يوم في كلا اليومين، أي أن معدل نمو النباتات المجهدة على المدى البعيد لم يتأثر بالضغط (شكل 2-6 ب). كما أن زيادة الضغط هنا لم تحدث تبايناً كبيراً في معدل النمو أثناء الليل والنهار. هذه النتائج حصل عليها الباحثون عند تنمية نباتات الشعير في وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم، أما عند

تتميتها في وجود تركيز أقل (75 ملي مولار) فقد وجدوا أن النمو اليومي للنباتات المضغوطة أفضل منه لغير المضغوطة خلال 7 أيام (شكل 2-6 ج).



شكل رقم (6/2) (أ) يتحسن نمو نبات الذرة المضغوط في اليوم الأول، ثم ينخفض في الأيام التالية ليصبح مساوياً لنمو النبات غير المضغوط. زيادة الضغط تحسن النمو أثناء النهار (الأجزاء غير المظلمة من المحور السيني) ولكنها تثبطه أثناء الليل (الأجزاء المظلمة من المحور السيني) مقارنة بالنبات غير المضغوط. (ب) زيادة الضغط تحسن نمو نباتات الشعير (*Hordeum vulgare*) المجهد فقط في اليوم الأول من الإجهاد. (ج) زيادة الضغط تحسن نمو نباتات الشعير المجهد باستخدام 75 ملي مولار كلوريد صوديوم على مدى سبعة أيام مقارنة بالنباتات غير المضغوطة. تعرضت النباتات لتركيزات متزايدة من كلوريد الصوديوم بحيث يزيد بمقدار 25 ملي مولار يوميا ويشير السهم على محور السينات إلى النقطة التي وصل عندها تركيز الملح إلى 75 ملي مولار⁽²⁸⁾. بتصريح من Oxford University Press.

وعند تنمية نباتات القمح (*Triticum aestivum*) في تربة جافة بضغط أو بدون ضغط، وجد أيضًا أن نمو النباتات المضغوطة يزيد خلال النهار مقارنة بغير المضغوطة، بينما يقل عنها خلال الليل، وأن تطبيق الضغط لم يحسن النمو الإجمالي للنباتات المجهدّة خلال 6 أيام من الإجهاد. وقد افترض الباحثون أن انخفاض معدل نمو النباتات المضغوطة خلال الليل مقارنة بالنباتات غير المضغوطة، ربما يُعزى للهرمونات النابعة من الجذور أو الأوراق، والتي تنظم نمو النبات اليومي، بحيث يصل لنفس المستوى في وجود الضغط أو عدمه. ومن الهرمونات التي يفترض أن تلعب دورًا في ذلك حمض الأبسيسك والجبرلينات والإيثلين. هذا رغم أن آلية تحكم هذه الهرمونات في نمو الخلايا مازالت غير مفهومة.

من هذه الدراسات يمكن استنتاج ما يلي:

- 1- إن تطبيق ضغط مرتفع (وبالتالي إزالة فقد الامتلاء الناتج من نقص الماء المتاح) على النباتات المجهدّة - يزيل بدرجات متفاوتة - الأثر السلبي الفوري للإجهاد على النمو. مما يدل على أن الحالة المائية (درجة الامتلاء) عامل أساسي (وليس وحيدًا، فهناك عوامل أخرى منعت النبات المجهد من استعادة معدل نموه الطبيعي) يتحكم في نمو النبات خلال الساعات الأولى من الإجهاد. وأن العوامل الأخرى مثل الهرمونات أو صلابة الجدر الخلوية أو غيرها أقل تأثيرًا خلال هذه الفترة. وعندما تصبح زيادة الضغط أقل تأثيرًا على النباتات المجهدّة، يدل ذلك على أن الحالة المائية للنبات أصبحت أقل تحكمًا في النمو، كما تصبح العوامل الأخرى أكثر تحكمًا. وعلى سبيل المثال، رغم أن تعريض النباتات المجهدّة بالملوحة أو الجفاف للضغط يزيد كمية الماء المتاح للأوراق، فإنه لا يؤثر في وظائف أخرى متعلقة بالإجهاد مثل فتح وغلق الثغور ومعدل النتح، بل تبقى تلك الوظائف متساوية تقريباً مع النباتات المجهدّة بغير ضغط، مما يدل أنها قد تخضع لعوامل أخرى غير الحالة المائية للورقة (29)، (30)، (31). وبالمثل، وجد أن تعريض نباتات الشعير المجهدّة بالملوحة للضغط لا

يؤثر في تركيز حمض الأبسيسك في الجذور أو الأوراق أو عصارة الخشب⁽³²⁾.

2- إن تحسن النمو أثناء النهار في وجود الضغط، يدل أيضاً أن الحالة المائية هي العامل المسيطر على نمو النبات أثناء فترات النتح المتزايد. أما خلال الليل، حيث معدل النتح أقل، ربما تصبح عوامل أخرى مثل الهرمونات أكثر سيطرة على النمو من الحالة المائية.

3- إن مقدار التغيير في نمو النباتات المجهددة بسبب زيادة الضغط، يعتمد على درجة الإجهاد وعلى النبات. فرغم أن زيادة الضغط تحسن نمو نباتات الشعير المجهددة باستخدام 76 ملي مولار كلوريد صوديوم على مدى 7 أيام مقارنة بالنباتات غير المجهددة، فهو لم يحسن النمو عند وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم. ربما يُعزى هذا إلى أن نقصان كمية الماء المتاح تشكل عاملاً أساسياً وأكثر أهمية أثناء الإجهاد الطفيف منه أثناء الدرجات الأعلى من الإجهاد. كما أن زيادة الضغط لم تحسن نمو بعض النباتات الأخرى أثناء الإجهاد على المدى البعيد مثل الترمس الأبيض (*Lupinus albus*) والبرسيم المصري (*Trifolium alexandrinum*)⁽³³⁾ وأحد أجناس الأتريلكس (*Atriplex spongiosa*)⁽³⁴⁾ مما يدل على أن نقص الماء المتاح لا يتحكم بشكل أساسي في نمو هذه النباتات أثناء الإجهاد بل هناك عوامل أكثر منه تأثيراً.

2-3-4 هل ينخفض معدل نمو النباتات المجهددة حتى لو لم تنخفض كمية الماء المتاح؟

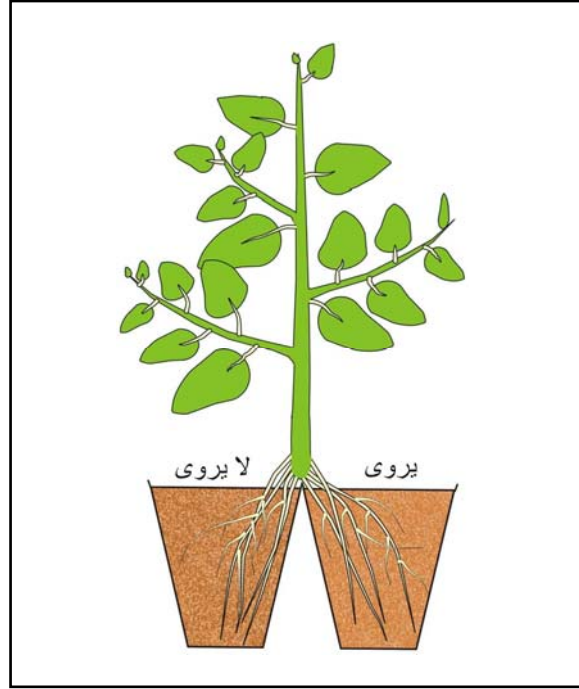
أشرنا فيما سبق، إلى أن للإجهاد المائي عنصرين أساسيين هما:

1- وجود الجذر في التربة المالحة أو الجافة أو الباردة.

2- نقص الماء المتاح للنبات.

في الظروف الحقلية، لا يمكن الفصل بين هذين العنصرين، فالعنصر الأول وهو: نقص الماء المتاح، يحدث نتيجة جفاف التربة الموجود بها الجذر أو زيادة ملوحتها. أما العنصر الثاني: فيعتمد في وجوده على الأول. في

التجارب التي أجريت على النباتات المجهدة النامية تحت ضغط مرتفع، أمكن الاستدلال على أن زيادة كمية الماء المتاح للأوراق - عن طريق زيادة ضغط الجذر - تحسن النمو أحياناً، مما يشير إلى وجود عوامل أخرى تحكم النمو أثناء الإجهاد. تمهد هذه النتائج الطريق إلى افتراض أن الإشارات الحيوية الصادرة من الجذر إلى الأوراق تتحكم في النمو بنسب متزايدة خصوصاً بعد أن يتجاوز النبات الصدمة الناتجة من النقص المفاجئ في كمية الماء المتاح، وتسترد الخلايا امتلاءها.



شكل رقم (7/2) في تجارب التجفيف الجزئي، يقسم المجموع الجذري بين أصيصين يروى أحدهما بانتظام، بينما يترك الآخر ليحف، فيتعرض نصف المجموع الجذري للتربة الجافة دون أن تتغير الحالة المائية للنبات.

تهدف الدراسات التي أجريت على النباتات المجهدة تحت ضغط، إلى الفصل بين عنصري الإجهاد المائي، وهما ملامسة الجذر للتربة المجهدة، ونقص الماء المتاح. إلا أن هذه الظروف العملية لا يمكن أن تتحقق عملياً

في الحقل. أمكن الفصل بين عنصري الإجهاد المائي بتقنية أخرى دون تعريض النبات لظروف استثنائية مثل الضغط الزائد. في هذه التقنية يُنمى النبات بحيث يكون مجموعته الجذري مقسوماً بالنصف بين أصيصين، أحدهما يروى بشكل دوري حسب احتياج النبات من الماء، والآخر يُترك ليُجف. عندئذ يصبح نصف المجموع الجذري معرضاً لتربة رطبة، بينما الآخر يكون معرضاً لتربة جافة (شكل 2-7).

تشير القياسات التي أُخذت من هذا النوع من الدراسات، إلى أن النبات لا يعاني نقصاً في الماء، بمعنى أن نصف المجموع الجذري الموجود في التربة الرطبة قادر على أن يمتص من التربة ما يكفي النبات من الماء، وكذلك الأملاح المعدنية. عند تنمية نبات الذرة تحت هذه الظروف ينخفض معدل استطالة أوراق النباتات المجففة جزئياً (نصف مجموعها الخضري في تربة جافة) بمقدار 35% أثناء النهار و 17% أثناء الليل مقارنة بالنباتات التي روي نصف مجاميعها الجذري بشكل طبيعي. ويبدأ هذا الانخفاض في الظهور، عندما تبدأ التربة في أحد الأصيصين تجف (بعد أربعة أيام من بداية التجربة). وبعد 18 يوماً من بداية التجربة انخفضت المساحة الكلية لأوراق النباتات المعاملة بمقدار 15% مقارنة بالنباتات غير المعاملة. هذا رغم أن الحالة المائية للنباتات المجففة جزئياً لم تختلف عنها في النباتات غير المجففة. فالجهد المائي للنباتات المعاملة لم يختلف عنه في النباتات غير المعاملة. من هذه النتائج استنتج الباحثان أن انخفاض معدل نمو الأوراق يُعزى إلى إشارات حيوية صادرة من الجزء المجفف من الجذر. وأن هذه الإشارات تنتقل مع عصارة الخشب إلى الأوراق. والسبب في زيادة انخفاض معدل النمو أثناء النهار، ربما يرجع إلى أن الجذور المجففة تحصل على بعض الماء من المجموع الخضري أو من الجذور غير المجففة أثناء الليل، حيث ينخفض معدل النتج. يساهم هذا الماء في حمل الإشارات الحيوية من الجذور المجففة إلى الأوراق أثناء النهار عندما يزداد معدل النتج⁽³⁵⁾.

في دراسة أخرى بنفس التقنية على أشجار التفاح (*Malus domestica*) الصغيرة، انخفض معدل نمو أوراق النباتات المجففة جزئياً إلى 65% من

النباتات غير المعاملة (بسبب نقص معدل استطالة الأوراق ونقص عددها) بعد 24 يوماً من بداية التجربة. وانخفض معدل النتح أيضاً إلى 70%, بينما لم يتأثر الجهد المائي للأوراق أو ضغط الامتلاء. وعند قص الجذور الموجودة في التربة الجافة أو ربيها, حدثت زيادة في معدل النمو مقارنة بالنباتات التي بقيت نصف جذورها جافة. بينما لم يحدث تغيير معنوي في معدل النتح نتيجة قص الجذور المجففة. استنتج الباحثون من هذه الدراسة, أن الجذور الجافة تصدر إشارات حيوية إلى الأوراق, من شأنها أن تؤدي إلى خفض معدل النمو حتى لو لم تتغير الحالة المائية للورقة (أي لم تقل كمية الماء المتاح). وأن هذه الإشارات توقفت بقص وزوال مصدرها وهو الجذر. على أن الباحثين لم يستبعدوا أن تكون هناك تغييرات غير ملحوظة في الجهد المائي لأوراق النباتات المعاملة قد يساهم في خفض النمو. ورغم أن هذه الدراسة لم تحدد ماهية الإشارات الصادرة من الجذور المجففة, فإن الباحثين افترضوا أن حمض الأبسيسك ربما يكون هو المسئول⁽³⁶⁾.

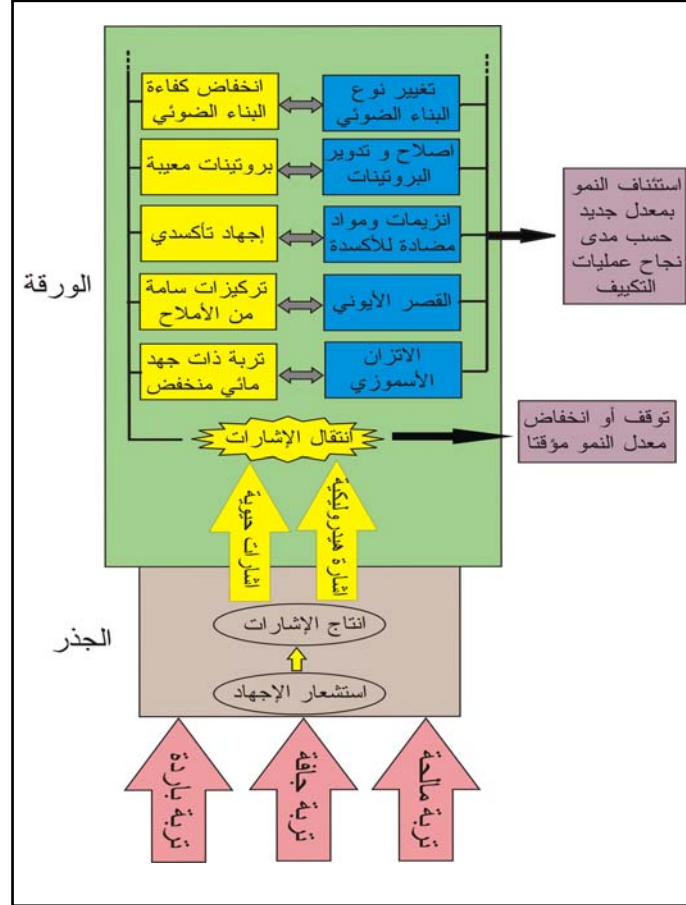
تجدر الإشارة هنا إلى أن استجابة النبات للتجفيف الجزئي للجذور, تختلف باختلاف النوع وظروف التجربة وحتى باختلاف التركيب الوراثي ضمن نباتات النوع الواحد. بعض النباتات مثل العنب (*Vitis vinifera*) تنتج كميات من الأوراق تفوق ما يحتاجه النبات لتكوين الثمار, وبالتالي تحتاج تلك الأوراق إلى كميات زائدة من الماء, والعناصر المغذية دون مردود إنتاجي في صورة ثمار. أي أن الكفاءة المائية (كمية الكربون التي يثبتها النبات منسوبة لكمية الماء المستهلكة) بدلالة الثمار تكون منخفضة. عند تنمية نباتات العنب بالطريقة السابقة, وتجفيف نصف مجاميعها الخضرية, وجد أن النمو الخضري ينخفض دون التأثير على كمية الثمار, بل على العكس, حدث تحسن في نوعية الثمار من حيث محتواها من المواد الصلبة الذائبة وصبغ الأنثوسيانين⁽³⁷⁾. السبب في تأثر النمو الخضري بالإشارات الصادرة من الجذر المجفف دون تأثر الثمار, ربما يرجع إلى أن هذه الإشارات تصل من الجذر إلى الأوراق عبر أوعية الخشب, بينما تتصل الثمار بالنبات عن طريق اللحاء الذي قد لا يحمل نفس الإشارات بنفس التركيز.

وعموماً يمكن القول إن نمو النباتات المجهدة يتأثر في الدقائق الأولى من الإجهاد بفقد الامتلاء الناتج من نقص الماء المتاح، بينما تبدأ الإشارات الحيوية الصادرة من الجذر أو من الأوراق في التحكم في النمو في فترات لاحقة عن طريق تنشيط عمليات من شأنها أن تزيد من قدرة النبات على تحمل الإجهاد. تشمل هذه العوامل (شكل 2-8) عمليات تحدث على مستوى النبات ككل، مثل الاتزان الأسموزي، والقصر الأيوني، وكفاءة البناء الضوئي مثلاً، وأخرى تحدث في الخلايا مثل تكيف الجذر الخلوية، وتدوير البروتينات أو إصلاحها، وإنتاج البروتينات الدفاعية وغيرها من عمليات التكيف الجزيئي، وهذا ما سترد مناقشته بالتفصيل في فصول تالية.

2-4 أثر الإجهاد المائي على إنتاجية النبات:

يصعب إيجاد علاقة رياضية دقيقة بين النمو الخضري والإنتاجية. المقصود بالإنتاجية هنا، هو قدرة نباتات المحاصيل على إنتاج البذور أو الثمار. هذا رغم أن بعض النباتات يزرع بهدف إنتاج المجاميع الخضرية وليس الثمار أو البذور مثل قصب السكر (*Saccharum officinarum*) والبنجر (*Beta vulgaris*) والسبانخ (*Spinacia oleracea*). وقد وصفنا تأثير الإجهاد المائي على النمو الخضري في الأجزاء السابقة. ونظراً لأنه من الضروري للنبات أن يُتم مرحلة النمو الخضري قبل أن يدخل مرحلة الإزهار، ومن ثم تكوين الثمار والبذور، فمن المتوقع أن أي تأثير سلبي على النمو الخضري سوف ينعكس بالسلب على الإنتاجية أيضاً. فقد وجد أن هناك علاقة خطية بين معدل نمو النبات أثناء تكوين البذور وعدد البذور التي تتكون بنهاية النضج في كل من فول الصويا (*Glycine max*) ودوار الشمس والذرة⁽³⁸⁾.

بحيث تزداد قدرة النبات على تكوين البذور بزيادة معدل النمو الخضري وتقل بانخفاضه. من أسباب ذلك أن النبات يكوّن ويراكم المكونات اللازمة لإنتاج الثمار والبذور (من أهمها الكربوهيدرات) خلال مرحلة النمو الخضري، ثم يحرك هذه المكونات من أماكن تخزينها في الأوراق والسيقان إلى الثمار والبذور فيما بعد. فإذا انخفض معدل النمو الخضري كانت كمية المواد المتاحة لتكوين الثمار والبذور أقل، وبالتالي انخفضت الإنتاجية.



شكل رقم (8/2) تنتقل الإشارات الهيدروليكية (بنقص الماء المتاح) والحيوية من الجذر إلى الأوراق عند التعرض للإجهاد فيتوقف معدل النمو أو ينخفض فوراً. ثم تبدأ عمليات التكيف على مستوى النبات والخلايا كرد فعل للإشارات الواردة. تؤدي تلك العمليات إلى استئناف النمو فيما بعد ولكن بمعدل جديد يتناسب مع كفاءة النبات في إتمام عمليات التكيف.

تتأثر إنتاجية النبات بالعديد من العوامل منها التركيب الوراثي للنبات، وموعد الزراعة، ومدى توفر العناصر الغذائية في التربة وغيرها. ويفرض ثبات جميع هذه العوامل، يمكن أن يؤثر الإجهاد المائي على الإنتاجية من خلال تأثيره على قدرة النبات على مراكمة المواد اللازمة لتكوين الثمار والبذور أثناء

النمو الخضري أو قدرة النبات على تحريك هذه المواد في الوقت المناسب من الأجزاء الخضرية إلى الثمار أو كليهما. في الأرابيدوبسيس يكفي وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم في بيئة النمو لمنع النبات من إكمال دورة حياته وتكوين أي بذور. بينما في القمح لا تستطيع الكثير من السلالات إنتاج أي بذور إذا احتوت التربة على 200 ملي مولار كلوريد صوديوم.

ويعتمد تأثير الإجهاد المائي على الإنتاجية على عدة عوامل منها، شدة الإجهاد وتوقيته، أي المرحلة التطورية التي يتعرض فيها النبات للإجهاد ومدته، بالإضافة إلى عوامل تتعلق بالنبات (سترد لاحقاً). وكما أشرنا فيما سبق إلى أن الإجهاد المائي أثناء النمو الخضري يؤثر سلباً على الإنتاجية حسب شدة الإجهاد، بحيث يزداد الفاقد في الإنتاجية كلما ازدادت شدة الإجهاد ومدته. وبخلاف ذلك، وجد أن تعريض نباتات القمح إلى إجهاد مائي طفيف خلال مرحلة تكوين البذور يحسن الإنتاجية من خلال تعجيل نقل الغذاء المدخر إلى الحبوب، مما يعجل أيضاً من امتلاء الحبوب ويزيد الإنتاجية⁽³⁹⁾. ولكن استجابة النباتات عموماً لمثل هذه المعاملة تختلف في القمح، عما في فول الصويا التي تتأثر فيه الإنتاجية سلباً عند التعرض لفترات وجيزة من الجفاف أثناء ملء البذور، حيث تكون البذور أصغر حجماً من تلك الناتجة من نباتات نامية في وفرة من الماء⁽⁴⁰⁾.

REFERENCES

المراجع

- (1) Quesada V, Ponce MR and Micol JL (2000). Genetic analysis of salt-tolerant mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* **154**: 421–436.
- (2) Katembe WJ, Ungar IA and Mitchell JP (1998). Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). *Annals of Botany* **82**: 167-175.
- (3) Song J, Feng G, Tian C, and Zhang F (2005). Strategies for adaptation of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* to a saline environment during seed-germination stage. *Annals of Botany* **96**: 399-405.
- (4) Naidoo G and Kift J (2005). Responses of the saltmarsh rush *Juncus kraussii* to salinity and waterlogging. *Aquatic Botany* **84**: 217–225.

- (5) **Vicente MJ, Conesa , Alvarez-Rogel J, Franco JA and Martinez-Sanchez JJ** (2007). Effects of various salts on the germination of three perennial salt marsh species. *Aquatic Botany* **87**: 167–170.
- (6) **Alzwi IA and Morris PC** (2007). A mutation in the *Arabidopsis* MAP kinase kinase 9 gene results in enhanced seedling stress tolerance. *Plant Science* **173**: 302–308.
- (7) **Jennings D H** (1976). The effect of sodium chloride on higher plants. *Biological Reviews* **51**: 453-486.
- (8) **Greenway H and Munns R** (1980). Mechanism of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology* **31**: 49-90.
- (9) **Netting AG** (2000). pH, abscisic acid and the integration of metabolism in plants under stressed and non-stressed conditions: cellular responses to stress and their implication for plant growth relations. *Journal of Experimental Botany* **51**: 147-158.
- (10) **O'Neill SD** (1983). Role of osmotic potential gradients during water stress and leaf senescence in *Fragaria virginiana*. *Plant Physiology* **72**: 931-937.
- (11) **Qiu N, Lu Q and Lu C** (2003). Photosynthesis, photosystem II efficiency and the xanthophyll cycle in the salt-adapted halophyte *Atriplex centralasiatica*. *New Phytologist* **159**: 479 – 486.
- (12) **Abogadallah GM** (2003). Genetic impact of plant water stress. PhD Thesis, Mansoura University, Egypt.
- (13) **Iraki NM, Bressan RA, Hasegawa PM, and Carpita NC** (1989). Alteration of the physical and chemical structure of the primary cell wall of growth-limited plant cells adapted to osmotic stress. *Plant Physiology* **91**: 39-47.
- (14) **Neumann PM, Volkenburgh EV and Cleland RE** (1988). Salinity stress inhibits bean leaf expansion by reducing turgor, not wall extensibility. *Plant Physiology* **88**: 233-237.
- (15) **Neves-Piestun BG and Bernstein N** (2001). Salinity-induced inhibition of leaf elongation in maize is not mediated by changes in cell wall acidification capacity. *Plant Physiology* **125**: 1419–1428.
- (16) **Wakabayashi K, Hoson T, and Kamisaka S** (1997). Osmotic stress suppresses cell wall stiffening and the increase in cell wall-bound ferulic and diferulic acids in wheat coleoptiles. *Plant Physiology* **113**: 967-973.
- (17) **Neumann PM** (1993). Rapid and reversible modifications of extension capacity of cell walls in elongating maize leaf tissues responding to root addition and removal of NaCl. *Plant, Cell and Environment* **16**: 1107-1114.

- (18) Chasen O and Neumann PM (1994). Hydraulic signals from the roots and rapid cell wall hardening in growing maize leaves, are primary responses to PEG induced water deficits. *Plant Physiology* **104**: 1385 -1392.
- (19) Boyer JS (1970). Cell enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiology* **46**: 233-235.
- (20) Sacks MM, Silk WK, and Burman P (1997). Effect of water stress on cortical cell division rates within the apical meristem of primary roots of maize. *Plant Physiology* **114**: 519-527.
- (21) Robertson JM, Hubick KT, Yeung EC and Reid DM (1990). Developmental responses to drought and abscisic acid in sunflower roots. 2: Mitotic activity. *Journal of Experimental Botany* **41**: 339–350.
- (22) West G, Inze D, and Beemster GTS (2004). Cell cycle modulation in the response of the primary root of *Arabidopsis* to salt stress. *Plant Physiology* **135**: 1050–1058.
- (23) Schuppler U, He P, John PCL, and Munns R (1998). Effect of water stress on cell division and cell-division-cycle 2-like cell-cycle kinase activity in wheat leaves. *Plant Physiology* **117**: 667–678.
- (24) Wang H, Qi Q, Schorr P, Cutler AJ, Crosby WL and Fowke LC (1998). ICK1, a cyclin-dependent protein kinase inhibitor from *Arabidopsis thaliana* interacts with both Cdc2a and CycD3, and its expression is induced by abscisic acid. *Plant Journal* **15**: 501–510.
- (25) Swiatek A, Lenjou M, Bockstaele DV, Inze D and Onckelen HV (2002). Differential effect of jasmonic acid and abscisic acid on cell cycle progression in tobacco BY-2 cells. *Plant Physiology* **128**: 201–211.
- (26) Frensch J and Hsiao TC (1994). Transient responses of cell turgor and growth of maize roots as affected by changes in water potential. *Plant Physiology* **104**: 247-254.
- (27) Pritchard J, Wyn Jones RG and Tomos AD (1991). Turgor, growth and rheological gradients of wheat roots following osmotic stress. *Journal of Experimental Botany* **42**: 1043-1049.
- (28) Munns R, Passioura JB, Guo J, Chazen O and Cramer GR (2000). Water relations and leaf expansion: importance of time scale. *Journal of Experimental Botany* **51**: 1495-1504.
- (29) Termaat A, Passioura JB and Munns R (1985). Shoot turgor does not limit shoot growth of NaCl-affected wheat and barley. *Plant Physiology* **77**: 869-872.

- (30) Gollan T, Passioura JB and Munns R (1986). Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 459-464.
- (31) Passioura JB (1988). Root signals control leaf expansion in wheat seedlings growing in dry soil. *Australian Journal of Plant Physiology* **15**: 687-693.
- (32) Zhao K, Munns R and King RW (1991). Absciscic acid levels in NaCl-treated barley, cotton and saltbush. *Australian Journal of Plant Physiology* **18**: 17-24.
- (33) Munns R. and Termaat A. (1986). Whole-plant responses to salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* **13**: 143-160.
- (34) Munns R (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* **16**: 15-24.
- (35) Saab IN and Sharp RE (1989). Non-hydraulic signals from maize roots in drying soil: inhibition of leaf elongation but not stomatal conductance. *Planta* **179**: 466-474.
- (36) Gowing DJG, Davies WJ and Jones HG (1990). A positive root sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1535-1540.
- (37) Poni S, Bernizzoni F and Civardi S (2007). Response of “Sangiovese” grapevines to partial root-zone drying: Gas-exchange, growth and grape composition. *Scientia Horticulturae* **114**: 96-103
- (38) Vega CRC, Andrade FH, Sadras VO, Uhart SA, and Valentinuz OR. (2001). Seed number as a function of growth. A comparative study in soybean, sunflower, and maize. *Crop Science* **41**: 748-754.
- (39) Yang J, Zhang J, Huang Z, Zhu Q and Wang L (2000). Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil-drying during grain filling of wheat. *Crop Science* **40**: 1645-1655.
- (40) Brevedan RE and Egli DB (2003). Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. *Crop Science* **43**: 2083-2088.

الفصل الثالث

استشعار النبات للإجهاد المائي

1-3 مقدمة:

الماء هو العامل الأساسي الذي حدد وما زال يحدد توزيع النباتات وكثافتها على الكرة الأرضية. ونقص الماء المتاح للنبات سواء بسبب الملوحة أو الجفاف أو البرودة، يسبب العديد من المضاعفات السلبية التي ربما تؤدي في النهاية إلى اختفاء نبات ما من بيئة معينة أو جزء ما من الأرض. كما يحدد الماء نوع وكثافة الغطاء النباتي في كل منطقة جغرافية.

ونظراً لأهمية الماء بالنسبة لغالبية العمليات الحيوية في النبات، فإن نقصه يسبب العديد من المضاعفات السلبية في تلك العمليات. وليست كل النباتات تتأثر بنقص الماء المتاح بنفس الدرجة، فالبعض أكثر تحملاً من الآخر. درجة التحمل هذه لابد أن تكون مرتبطة بوسائل دفاعية معينة يحمي النبات من خلالها آلياته الحيوية من الأضرار الناتجة من نقص الماء المتاح. ولما كانت العمليات الحيوية تختلف في طبيعتها من حيث الإنزيمات المشاركة فيها ونواتجها النهائية والجانبية، فمن المتوقع أن تتنوع الوسائل الدفاعية التي يتبناها النبات لحماية العمليات المختلفة. ليس هذا فحسب، بل تتباين الأهمية النسبية لتلك الوسائل بتباين المرحلة التطورية للنبات.

يمكن أن نتصور أن النبات ينشط وسائله الدفاعية عندما يتعرض للإجهاد المائي. ولكن هل تنشط هذه الوسائل بفعل الإجهاد ذاته؟ أو بتعبير آخر، هل يستلزم مثلاً تنشيط الوسائل الدفاعية للحماية من الإجهاد الملحي، أن يتواجد الملح فعلياً داخل الخلايا أم يكفي لذلك أن يتواجد الملح بتركيزات مرتفعة في محلول التربة على أن تكتشفه خلايا الجذر الخارجية وتنبه باقي خلايا الجذر والنبات ككل بوجود خطر خارجي؟ وبالمثل بالنسبة للإجهاد الأسموزي،

هل يجب أن تعاني أنسجة النبات فعلياً من الجفاف حتى تنشط الوسائل الدفاعية أم يكفي أيضاً أن تلامس الطبقات الخارجية من خلايا الجذر تربة جافة، فتتبه بذلك بقية خلايا الجذر وأنسجة النبات ككل، حتى تتبنى سياسة مائية أكثر اقتصاداً؟

تدل الدراسات على أن تحفيز الوسائل الدفاعية ضد الإجهاد لا يتطلب الوجود الفعلي للملح داخل الخلايا، كما لا يتطلب أن تعاني أنسجة النبات من الجفاف. إذن تستطيع خلايا الجذر بصفتها خط التلامس بين النبات ومصدر الإجهاد وهو التربة، أن تتعرف على الإجهاد - أي تكتشف وجوده - وتنتج إشارة أو إشارات تنتقل إلى باقي الخلايا لتنبيهها بوجود إجهاد.

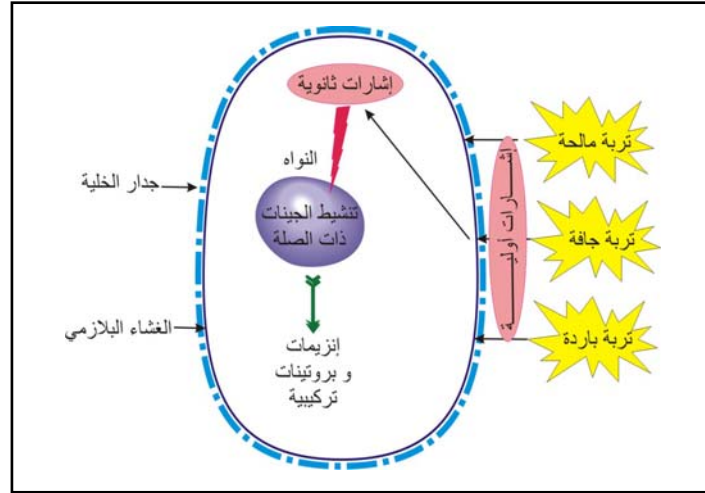
تستطيع خلايا الجذر بالتالي، أن تكتشف الإجهاد بأنواعه، وأن تنتج إشارات تحمل هذا المعنى، تنتقل من نسيج لآخر، بل من عضو لآخر. ولكن ما هي طبيعة هذه الإشارات؟ وهل هي إشارة واحدة أم أن هناك العديد من هذه الإشارات يختص كل منها بتحفيز الوسائل الدفاعية ضد نوع ما من الإجهاد؟ يمكن القول بناء على نتائج الدراسات التي سيرد وصفها، بأن هناك العديد من الإشارات وليست إشارة واحدة. بل يتداخل عمل هذه الإشارات مع بعضها البعض. فالنباتات كونها كائنات ثابتة لا تتحرك، تتعرض لأنواع شتى من الإجهاد، ولا تستطيع أن تغادر مكانها إلى بيئة أخرى مناسبة. فهي تتعرض للإجهاد الضوئي (الضوء الشديد) والأكسجيني (نقص الأكسجين في التربة، بسبب زيادة محتواها المائي مثلاً) والحراري (ارتفاع درجة الحرارة) وغير ذلك. ويمكن أن تعمل الوسيلة الدفاعية ذاتها ضد أنواع شتى من الإجهاد.

إذن تكتشف خلايا الجذر الخارجية وجود الإجهاد (وهو الإشارة الأولية) بواسطة مستقبلات توجد في أغشيتها البلازمية، وتنتج إشارات ثانوية تنتقل لداخل خلايا الجذر، مما يحفز تكوين المزيد من الإشارات الثانوية. هذه الإشارات مع اختلاف طبيعتها تنشط الجينات التي تتحكم في الوسائل الدفاعية ضد الإجهاد. هذه العملية المركبة التي تبدأ باكتشاف الإجهاد ثم إنتاج الإشارات الثانوية وتناقلها بين الأنسجة والأعضاء المختلفة في النبات وتنتهي بتنشيط الجينات ذات الصلة بتحمل الإجهاد، تسمى استشعار النبات للإجهاد (Stress signaling) (شكل 1-3).

2-3 عناصر عملية استشعار الإجهاد المائي:

رغم الدراسات العديدة التي استهدفت التعرف على كيفية استشعار النبات للإجهاد، مازالت هذه العملية غير مفهومة بشكل مفصل. ولكن يمكن التنبؤ بوجود عوامل مشتركة بين استشعار الإجهاد الملحي، واستشعار الإجهاد الأسموزي، فكلاهما يؤدي إلى نقص الماء المتاح للنبات، وقد يكون ارتقاء الأغشية الخلوية بسبب فقد الامتلاء عنصراً فعالاً في استشعار الإجهاد المائي بنوعيه. وربما يتميز استشعار الإجهاد الملحي بوجود شق خاص باستشعار الأملاح الزائدة في التربة وخاصة الصوديوم.

والهدف النهائي من استشعار الإجهاد هو تحفيز العمليات الحيوية التي تؤدي لتكيف النبات للإجهاد. طبيعة هذه العمليات تعتمد على درجة الإجهاد بالنسبة للنبات. فقد تستهدف تلك العمليات تكيف النبات ومواصلة النمو برغم وجود الإجهاد في حالة الإجهاد المائي الطفيف، أو تستهدف بقاء النبات حياً ولكن في حالة كمون وظيفي تعلق فيها الكثير من العمليات الحيوية أو على الأقل تنخفض معدلاتها بشكل كبير إذا كان الإجهاد شديداً. لهذا يُعتبر استشعار الإجهاد خطوة جوهرية في استجابة النبات للإجهاد.



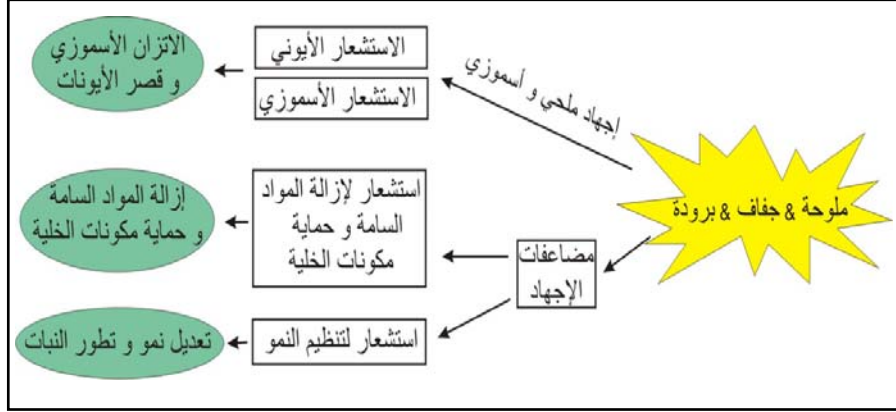
شكل رقم (1/3) استشعار الإجهاد في النبات يبدأ باكتشاف الإجهاد عند سطح الخلية، ثم تكوين الإشارات الثانوية التي تنتقل إلى النواة فتنشط الجينات ذات الصلة بتحمل النبات للإجهاد.

يصف شكل (3-1) عملية استشعار الإجهاد وبشكل مبسط. غير أن الواقع أكثر تعقيداً من ذلك، نظراً لتعدد الرسائل الثانوية وتداخل عملها وعدم توافر معلومات كافية عن الكثير من خطوات تلك العملية. يمكن تقسيم الوسائل الدفاعية للنبات ضد الإجهاد المائي إلى ثلاث مجموعات⁽¹⁾:

- (أ) الاتزان الأسموزي وقصر الأيونات.
- (ب) إزالة المواد السامة وحماية خلايا النبات ومحتوياتها من الإجهاد.
- (ج) تعديل معدل نمو وتطور النبات بما يتناسب مع مدى تكيف النبات للإجهاد.

وبالتالي، يمكن تقسيم عملية استشعار الإجهاد إلى ثلاث عمليات فرعية، يختص كل منها بتحفيز إحدى الوسائل الدفاعية، رغم أنه لا توجد إشارة معروفة على وجه التحديد لكل مجموعة على حدة، وليس معروفاً إذا كانت جميع مكونات كل عملية تستجيب لنفس الإشارة أم لا. فعملية الاستشعار الخاصة بالاتزان الأسموزي وقصر الأيونات تختص بتنشيط الجينات المسؤولة عن زيادة الضغط الأسموزي للخلايا، أي خفض جهد الماء، وطرده الأملاح الزائدة من الخلايا إلى الأبوبلاست أو قصرها في الفجوات العصارية. وعملية الاستشعار الخاصة بإزالة المواد السامة من الخلايا، وحماية محتوياتها، تختص بتنشيط جينات مضادات الأكسدة والديهيدرينات وبروتينات الصدمة الحرارية، ومنظومة تدوير البروتين وغيرها (انظر الفصول التالية). كما أن عملية الاستشعار الخاصة بتعديل النمو والتطور توافق بين مدى تكيف النبات للإجهاد، ومعدل انقسام الخلايا ونموها وتطور النبات ككل (شكل 3-2).

على أن هذا التقسيم لا يعني أن العمليات منفصلة عن بعضها، بل تتأثر كل عملية بالأخرى حسب كفاءة كل عملية. فإتمام عملية الاتزان الأسموزي وقصر الأيونات بكفاءة يقلل من درجة تنشيط الجينات المسؤولة عن إزالة المواد السامة، وحماية مكونات الخلايا، إذ تنخفض عندئذ درجة خطورة هذه المواد. ونقص كفاءة القصر الأيوني وإزالة المواد السامة سيؤدي إلى انخفاض معدل انقسام الخلايا ونمو النبات وتطوره وهكذا.



شكل رقم (2/3) تقسيم وظيفي لاستشعار الإجهاد المائي. تتداخل المجموعات وتؤثر في بعضها سلباً وإيجاباً. المحصلة النهائية هي تعديل النمو والتطور بما يتناسب مع مدى كفاءة عمليات التكيف⁽²⁾.

وعموماً يتوقف مدى تكيف النبات بشكل أساسي على كفاءة عمليات استشعار الإجهاد. فاكتشاف الإجهاد وتنشيط الجينات المسؤولة عن التكيف في الوقت المناسب، والعضو المناسب في النبات في منظومة متكاملة، وتعديل النمو تبعاً لذلك، سوف يحسن من تحمل النبات للإجهاد. كما أن فشل عمليات الاستشعار هذه في تنشيط الجينات المطلوبة في التوقيت المناسب، وبالمعدل المناسب، يعوق تكيف النبات للإجهاد.

تجدر الإشارة هنا، إلى أن تقسيم عملية استشعار الإجهاد المائي إلى عمليات فرعية - كما سبق - ربما تبدو استباقاً لنتائج الدراسات الفعلية، إذ لا يوجد دليل مباشر على هذا التقسيم بل هو لمجرد التبسيط. وربما تتبنى بعض المراجع أساليب أخرى لوصف العملية ككل منها أن تقسم عملية الاستشعار إلى اكتشاف الإجهاد، ثم إنتاج الإشارات الثانوية، ثم تنشيط الجينات ذات الصلة. غير أن هذا التقسيم أيضاً يعد تبسيطاً زائداً لعملية لا تبدو بسيطة أو حتى مفهومة بالكامل. ربما يرجع هذا الاختلاف إلى وجود فجوات معلوماتية كثيرة في فهمنا لعملية استشعار الإجهاد المائي، وربما لوجود تضارب في تسمية عناصر هذه العملية بين المقالات البحثية المختلفة. بما يعني أن مزيداً

من المعلومات ربما يغير بعض النماذج التي وضعت لوصف العملية مسبقاً أو حتى يثبت خطأها.

في هذا الكتاب, حاولنا قدر الإمكان, التوفيق بين المصادر العلمية المختلفة, بما يتيح للقارئ أن يرجع إلى أي منها, سواء كانت تتبنى نفس الأسلوب في وصف عملية الاستشعار المائي, أم تتبنى أسلوباً آخر مع الأخذ في الاعتبار أن التسميات ربما تتباين. ويبدو لنا أن تقسيم عملية الاستشعار إلى مسارات مختلفة وليست منفصلة أو مستقلة عن بعضها - وذلك حسب ما تشير إليه أكثرية المعلومات المتاحة في الوقت الحاضر - أكثر قرباً للواقع من ضمها في مسار واحد. لكل مسار من هذه المسارات مدخل (Input) ومخرج (Output). المدخل هنا يناظر الإشارة الأولية, والمخرج هو تنشيط الجينات ذات الصلة. مع الأخذ في الاعتبار أن مخرجات كل مسار استشعاري ليست بالضرورة وسيلة من وسائل تكيف النبات, بل يمكن أن تكون عرضاً من أعراض مضاعفات الإجهاد.

3-3 مسار الجينات عالية الحساسية للملوحة لاستشعار الإجهاد الملحي:

يختص مسار الجينات عالية الحساسية للملوحة (Salt Overly Sensitive: SOS) باستشعار الإجهاد الملحي. ومدخل هذا المسار هو الأملاح الزائدة (خاصة الصوديوم), سواء في داخل الخلية أو خارجها. أما المخرج فهو تنشيط الجينات المنتجة للإنزيمات الناقلة للأيونات مثل الصوديوم والبروتونات. تعمل هذه الإنزيمات على قصر الأيونات الضارة داخل الفجوة العصارية أو طردها إلى الأبوبلاست.

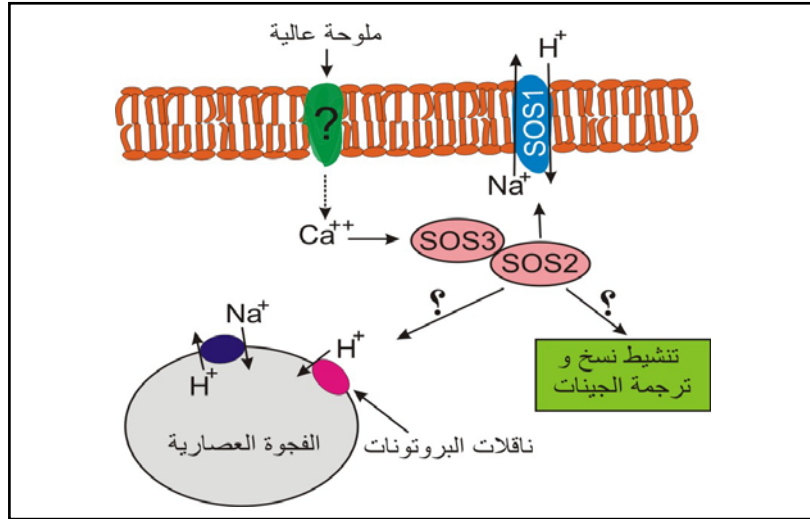
يبدأ مسار SOS عند الغشاء البلازمي, حيث تحفز الأملاح الزائدة تراكم أيون الكالسيوم في السيتوبلازم⁽³⁾. وليس معلوماً كيف يكتشف هذا المسار الإجهاد الملحي وبالمثل كيفية تراكم أيونات الكالسيوم في السيتوبلازم, والتي يمكن أن يكون مصدرها إما الأبوبلاست, أو من داخل عضيات الخلية كالشبكة الإندوبلازمية والبلاستيدات والميتوكوندريا. بديهياً توجد بعض الخطوات الوسيطة عند هذه النقطة التي لاتزال غير مفهومة.

يرتبط الكالسيوم بالبروتين SOS3 الذي ينشط بدوره البروتين SOS2 وهو كايينيز, أي أنه إنزيم يضيف مجموعة فوسفات إلى بروتين ما (Serine/threonine protein kinase) (4) و(5). يحفز كل من SOS2 و SOS3 تفعيل (Expression) الجين SOS1 الذي ينتج إنزيمًا ناقلاً للصوديوم والبروتينات خلال الغشاء البلازمي للخلية. يعمل هذا الإنزيم كمضخة لطرد أيونات الصوديوم خارج الخلية (شكل 3-3). على أن أهمية كل من SOS2 و SOS3 لا تنحصر في تنشيط الجين SOS1 بل هما ضروريان للنشاط الإنزيمي للبروتين الناقل أيضًا. يمكن للجين SOS1 وحده أن يحدث تحسناً طفيفاً في تحمل الخميرة التي تنقل إلى ناقلات الصوديوم للملوحة. ولكن عند نقل الجينات الثلاثة SOS1 و SOS2 و SOS3 إلى هذه السلالة من الخميرة, يحدث تحسن كبير في تحملها للملوحة. مما يدل على وجود علاقة وراثية وفسولوجية بين الجينات الثلاثة, وعلى أهمية وجود كل من SOS2 و SOS3 لتنشيط SOS1.

يصف هذا المسار وبشكل مقبول, كيفية تنشيط عملية طرد أيونات الصوديوم, وربما قصرها في داخل الفجوة العصارية بواسطة ناقل تبادل للصوديوم والبروتينات موجود في غشاء الفجوة العصارية. ولكن لا يعني ذلك أن هذا هو المسار الوحيد الذي ينشط بسبب الإجهاد الملحي. بل ربما يؤدي تراكم الكالسيوم في السيتوبلازم إلى تنشيط مسارات أخرى خاصة بإزالة المواد السامة, وحماية مكونات الخلية, أو ربما ينشط الكالسيوم هذه المسارات بطريق آخر. وقد يكون الحافز لتنشيط هذا المسار الأخير, هو وجود أكسجين نشط في السيتوبلازم وليس الأملاح الزائدة ذاتها. وعموماً لا ينشط هذا المسار بسبب الكالسيوم الناتج من الإجهاد الأسموزي أو إجهاد البرودة, مما يدل على أنه ينشط نتيجة الشق الأيوني للإجهاد الملحي, وليس نتيجة شقه الأسموزي.

ينتمي البروتين SOS3 إلى فصيلة البروتينات المولجة للكالسيوم (Calcium binding proteins) ولديه قابلية تركيبية للتواجد في حيز الغشاء البلازمي, رغم أن بعض جزيئاته قد تتواجد بعيداً عن الغشاء البلازمي. ربما تساعد هذه الخاصية على تواجد SOS3 وبالتالي SOS2 قرب الغشاء البلازمي, حيث يوجد SOS1 الذي ينشطه. وبالإضافة لدوره في تنشيط SOS2 يمكن أن يتفاعل مع البروتينات الشبيهة بالبروتين SOS2 (أي كايينيزات البروتين Protein)

kinases⁽⁶⁾. ربما يؤدي هذا التفاعل إلى تنشيط تخليق حمض الأبسيسك الذي يلعب دوراً محورياً في استشعار الإجهاد المائي (انظر الأجزاء التالية).



شكل رقم (3/3) مسار SOS لطرد وحصر أيونات الصوديوم. يبدأ المسار عند الغشاء البلازمي ربما بمجس (غير معلوم) يستجيب لوجود تركيزات عالية من الأملاح خارج الخلية فيحفز تراكم الكالسيوم الذي ينشط SOS3 وبالتالي ينشط SOS2 الذي يحفز الخلية على إنتاج SOS1 وهو إنزيم ناقل للصوديوم يعمل كمضخة لطرده خارج الخلية. ربما يشتمل هذا المسار أيضاً على آلية لتنشيط ناقل الصوديوم الموجود في الفجوة العصارية الذي يضخ الصوديوم من السيتوبلازم إلى الفجوة العصارية، ولكن هذا الفرض الأخير بحاجة إلى دليل.

أما SOS2 فينتمي إلى مجموعة من كابينيزات البروتين التي اكتشفت فقط في النبات (حتى الآن). يحتوي هذا البروتين على نطاق منظم (Regulatory domain) وآخر محفز (Catalytic domain). في غياب مادة التفاعل SOS3 يتفاعل النطاقان، بحيث يبقى النطاق المحفز خاملاً (Error! Bookmark not defined). وعند ارتباط SOS3 بالنطاق المنظم يتغير الشكل المعماري للبروتين، بحيث ينشط النطاق المحفز (Error! Bookmark not defined).

3-4 مسار كابينيز البروتين لاستشعار الإجهاد المائي:

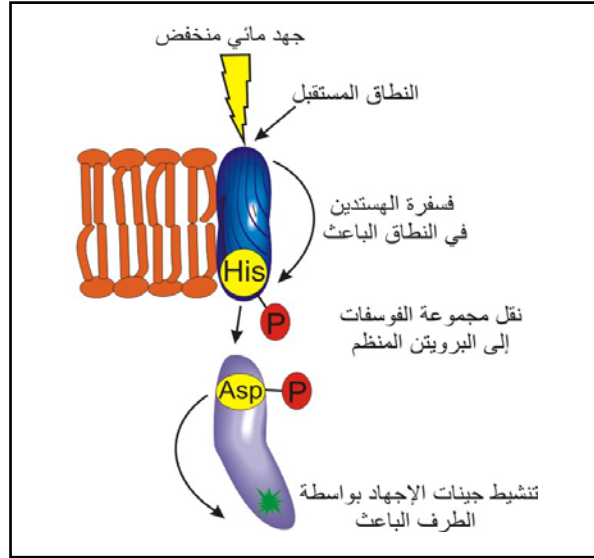
أمكن التعرف على منظومة خاصة باستشعار الإجهاد المائي في الكائنات البسيطة سواء كانت بدائية أو حقيقية النواة. باستخدام الطرز الوراثة المطفرة من

البكتيريا والخميرة أمكن التعرف على المجس الأسموزي (Osmosensor) الذي يتكون من لبنتين. اللبنة الأولى هي كايينيز الهستدين (Histidine kinase) وهو إنزيم ذو نطاق مستقبل عند طرفه الأميني ونطاق باعث عند طرفه الكربوكسيلي. يحتوي النطاق الباعث على الهستدين (بالإضافة لأحماض أمينية أخرى). يوجد هذا الإنزيم كبروتين جوهري في الغشاء البلازمي. أما اللبنة الثانية فهي بروتين منظم يحتوي على حمض الأسبرتيك عند طرفه المستقبل. يكتشف الطرف المستقبل في اللبنة الأولى التغيرات الخارجية في الجهد المائي، وعند انخفاضه تحدث فسفرة ذاتية في الهستدين الموجود بالنطاق الباعث. عندئذ تنتقل مجموعة الفوسفات إلى حمض الأسبرتيك في الطرف المستقبل للبروتين المنظم. يؤدي هذا التغير في الطرف المستقبل إلى تحفيز الطرف الباعث على تنشيط سلسلة من تفاعلات الفسفرة، تؤدي في النهاية إلى تراكم المذابات المتوائمة (Compatible solutes) في الخلايا عن طريق تنشيط الجينات ذات الصلة (شكل 3-4). يُطلق مصطلح كايينيزات البروتين الميتوجينية (Mitogen Activated Protein Kinases: MAPKs) على البروتينات التي تحفز إضافة مجموعة الفوسفات إلى بروتينات أخرى، والتي تنشط بفعل مؤثر خارجي يتحكم في عملية الانقسام الميتوزي (من هنا جاءت التسمية ميتوجينية). وينتمي البروتينان السابقان لهذه المجموعة.

ورغم التعرف على جين مناظر لكايينيز الهستدين والبروتين المنظم (بروتين واحد يؤدي الوظيفتين، ولذلك يُسمى بالبروتين الهجين) في الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*) والذي يمكن أن يحل محل جين المجس الأسموزي في الخميرة، ويؤدي نفس وظيفته⁽⁷⁾ إلا أن إمكانية عمل هذا الجين كمجس أسموزي في الأرابيدوبسيس لم يمكن إثباتها بدليل مباشر، رغم أن البروتين الناتج من هذا الجين يوجد في الغشاء البلازمي (حسب تركيبه الأميني) ويزداد تركيزه عند تعرض النبات للملوحة والجفاف والبرودة. ونظرًا لأن كلاً من الإجهاد الملحي والأسموزي والبرودة يحدث تأثيرات مختلفة في النبات، ربما تكون هناك مجسات متخصصة لكل نوع من الإجهاد وليس مجرد مجس واحد⁽⁸⁾.

يوجد العديد من جينات كايينيزات البروتين في النبات، والتي تنشط أثناء الإجهاد المائي. ولكن ليس واضحًا إن كان أي من هذه الجينات ينشط بسبب الإجهاد المائي بشكل مباشر، أم أنه ينشط بسبب أثر غير مباشر للإجهاد. كما

أنه ليس معلوماً إن كان هذا المسار يؤدي في النهاية إلى تنشيط جينات تخليق المذابات المتوائمة أم إلى تنشيط مجموعات أخرى من الجينات. في البرسيم الحجازي (*Medicago sativa*) ينشط كايينيز بروتين وزنه الجزيئي 46 كيلو دالتون ويُسمى اختصاراً SIMK أثناء الإجهاد الملحي الطفيف للخلايا، بينما عند تعريضها لإجهاد ملحي شديد ينشط بروتين ذو وزن جزيئي أقل بدلاً منه⁽⁹⁾. وفي خلايا نبات الدخان ينشط بروتين (SIPK) شبيه لبروتين البرسيم الحجازي عند تعرض الخلايا للإجهاد المائي أو لأنواع أخرى من الإجهاد مثل البرودة أو الفطريات الممرضة أو حمض الساليسليك⁽¹⁰⁾. كما وجد بروتين شبيه بكايينيز الدخان في الأرابيدوبسيس ينشط أيضاً بسبب الإجهاد المائي⁽¹¹⁾.



شكل رقم (4/3) نموذج مبسط للمجس الأسموزي في البكتيريا والخميرة يتكون من بروتينين، أحدهما يكتشف الانخفاض في الجهد فيفسفر الهستيدين عند طرفه الباعث ثم تنتقل مجموعة الفوسفات إلى البروتين المنظم الذي يحفز جينات الإجهاد.

ولكن مسار كايينيز البروتين لا يبدو بسيطاً لهذه الدرجة (إذا كان موجوداً بنفس الكيفية في النبات). فقد وجد كايينيز يستطيع أن يفسفر كايينيز البرسيم الحجازي SIMK ولهذا يسمى كايينيز الكايينيز⁽¹²⁾. وبالمثل في الدخان وجد كايينيز الكايينيز الذي يفسفر الكايينيز SIPK⁽¹³⁾. وتدل الدراسات أن الكايينيزات تنشط نتيجة العديد من أنواع الإجهاد مثل البرودة والفطريات الممرضة، كما أن

عدد الكاينيزات وطبيعة عملها واعتماد بعضها على البعض الآخر، أكثر تعقيداً مما نعلم. وعلى سبيل المثال، يزداد معدل ترجمة جينات كاينيز البروتين (MAPK) وكاينيز كاينيز البروتين (MAPKK) وكاينيز كاينيز كاينيز البروتين (MAPKKK) عند تعرض الأرابيدوبسيس للإجهاد⁽¹⁴⁾. رغم أنه ليس من الواضح إذا كانت بروتينات هذه الجينات أو نشاطها الفسيولوجي يزداد أيضاً بسبب الإجهاد. وبناء على البيانات الجينومية (الجينات الموجودة بالفعل في النبات بغض النظر إن كانت مفعلة أم لا) يوجد في جينوم الأرابيدوبسيس عشرة جينات يحتمل أن تكون خاصة بالكاينيزات.

على أن نشاط الكاينيزات لا يساعد بالضرورة على تنشيط عمليات تحمل الإجهاد. ففي الأرابيدوبسيس وجد أن إحداث طفرة متتحة (أي إبطال عمل الجين) في أحد الكاينيزات (MKK9) يؤدي إلى زيادة قدرة البذور على الإنبات أثناء الإجهاد الملحي والأسموزي مقارنة بالطراز البري، مما يعني أن جين الكاينيز هذا قد يثبط الاستجابة التكيفية للإجهاد في الأرابيدوبسيس عندما يكون سائداً⁽¹⁵⁾. كما أن بعض هذه الكاينيزات يعتمد على الكالسيوم، والبعض الآخر لا يعتمد عليه. ربما يعكس هذا التباين مدى تعقيد مسار كاينيز البروتين. كما أن مدخلات ومخرجات هذا المسار مازالت غير معلومة. فليس معلوماً كيف يكتشف هذا المسار الإجهاد (ربما يكون لارتقاء الغشاء البلازمي بسبب فقدان الامتلاء دور في هذه العملية) وكيف ينشط الجينات ذات الصلة، بل ليس معلوماً ما هي الجينات التي تنشط استجابة لهذا المسار على وجه التحديد. ومن الواضح أن الكثير من مكونات هذا المسار مازالت غير معلومة، خاصة كيفية تفاعله مع عوامل النسخ الإجهادية (Stress transcription factors) التي بدورها تنشط جينات تحمل الإجهاد.

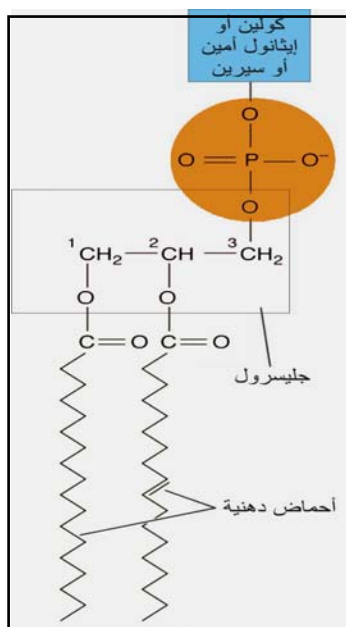
3-5 استشعار الإجهاد المائي عن طريق الدهون الفسفورية:

تشكل الدهون الفسفورية (شكل 3-5) مكوناً تركيبياً ووظيفياً في طبقة الدهون المزدوجة في الأغشية الخلوية (المرجع⁽¹⁶⁾ لوصف تفصيلي). فهي تدخل في البناء الأساسي للغشاء، وتلعب دوراً مهماً في تنظيم خواصه الفسيولوجية. تشمل تلك الخواص درجة سيولة الغشاء، وانتشار الأيونات

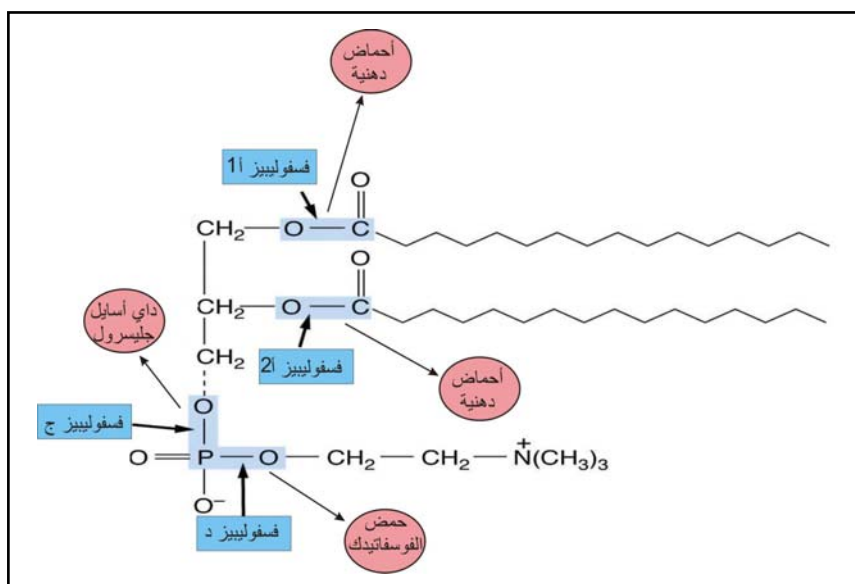
والمركبات المختلفة خلال الطبقة الدهنية المزدوجة. يمكن للخلية أن تغير من درجة سيولة الغشاء البلازمي عن طريق تغيير تركيب الدهون الفسفورية. فزيادة عدد الروابط الثنائية في الأحماض الدهنية يزيد من درجة سيولتها في درجات الحرارة المنخفضة، ويمنع تجمد الغشاء، مما يساهم في أقلمة النبات للبرودة. وبالعكس استبدال الدهون ذوات الأحماض غير المشبعة (أي التي بها روابط ثنائية) بدهون أخرى ذات ذيول مشبعة يقلل من سيولة الغشاء عند درجات الحرارة المرتفعة، مما يساهم في تحمل النبات للحرارة الزائدة.

وتعتبر عملية إحلال وتبديل الدهون في الغشاء البلازمي للخلية من العمليات المهمة المصاحبة للتأقلم للبرودة والحرارة خاصة في نباتات المناطق الباردة التي تنخفض فيها درجة الحرارة في الشتاء إلى ما تحت الصفر المئوي، ثم تعاود الارتفاع في فصل الصيف. وبالإضافة إلى ذلك، فإن انتشار الماء والكثير من العناصر الغذائية العضوية، وغير العضوية يتم أيضاً من خلال طبقة الدهون المزدوجة (انظر الفصل الأول).

والدهون ليست مجرد وحدات بنائية خاملة في الأغشية الخلوية، بل هي أيضاً مكونات فسيولوجية نشيطة، فالدهون الفسفورية يمكن أن تنتج مجموعة من المركبات التي تعمل كإشارات حيوية وذلك بفعل الإنزيمات المحللة للدهون الفسفورية (شكل 3-6). من هذه المركبات الإينوزيتول ثلاثي الفوسفات، وحمض الفوسفاتيدك، والداي أسايل جليسرول. يمكن لهذه المركبات وبتراكيزات منخفضة، أن تعمل كإشارات حيوية تنشط بعض جينات تحمل الإجهاد، ولكن التراكيزات المرتفعة منها يمكن أن تكون علامة على وجود مضاعفات للإجهاد، بل يمكن أن تكون مضرّة للنبات. يذكر هنا أن هذه المركبات أيضاً تولد شقائق أكسجين فعالة (Reactive oxygen species: ROS)⁽¹⁷⁾ وهي تنشط بعض الجينات التي ربما تختص بإزالة المواد السامة من الخلية. شقائق الأكسجين (ROS) بدورها تعمل كإشارات ثانوية بتركيزات منخفضة، بينما عند زيادة تركيزها تضر بالخلية ضرراً بالغاً.



شكل رقم (5/3) الدهون الفسفورية. يتكون الجزيء من رأس قطبي به مجموعة فوسفات يمكن أن يرتبط بها كولين أو إيثانول أمين أو سيرين.

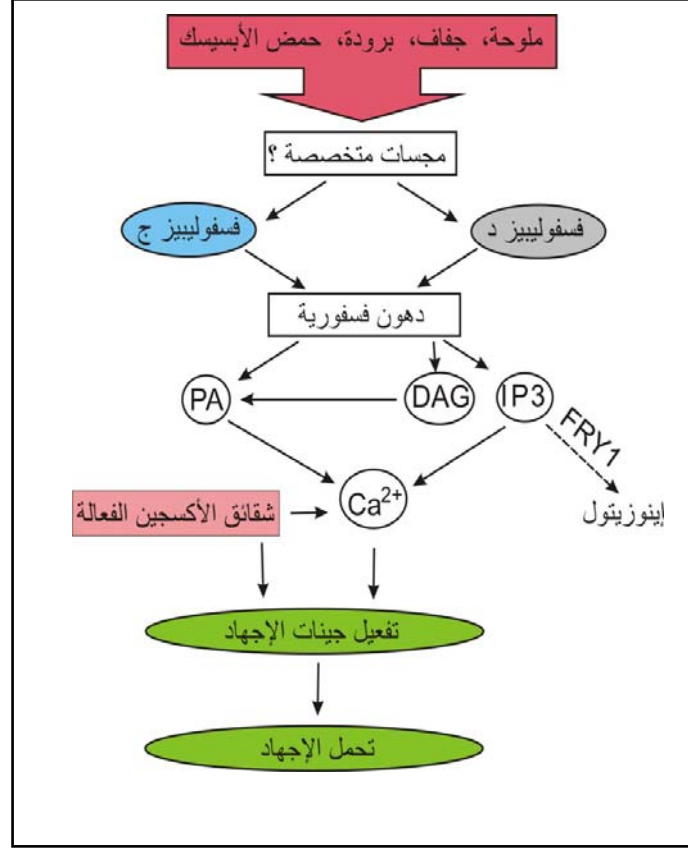


شكل رقم (6/3) تنتج الدهون الفسفورية مركبات متنوعة بفعل إنزيمات تحلل الدهون. توضح المستطيلات الزرقاء الإنزيمات التي تعمل على الدهون الفسفورية، أما الدوائر الحمراء فتحتوي على بعض النواتج الأساسية لعمل كل إنزيم.

تصنف مسارات استشعار الإجهاد من خلال الدهون الفسفورية على أساس الإنزيم الذي يولد الإشارة من الدهن الفسفوري. وبالتالي يمكن أن توجد ثلاثة مسارات (مسار لكل من فسفوليبيز "أ" وفسفوليبيز "ج" وفسفوليبيز "د")، رغم وجود مسارات أخرى تعتمد على الدهون الفسفورية ولكنها مستقلة عن الإنزيمات المحللة للدهون.

والدور الذي يلعبه فسفوليبيز (أ) في تحمل النبات للإجهاد المائي غير واضح في الوقت الحاضر. أما فسفوليبيز (ج) فيحلل الدهن الفسفوري فوسفاتيديل إينوزيتول 5,4 - ثنائي الفوسفات (Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate: PIP2) مكوناً الإشارة الثانوية إينوزيتول 5,4,1 ثلاثي الفوسفات (Inositol 1,4,5-triphosphate: IP3) والداي أسايل جليسرول (Diacylglycerol: DAG). يعمل IP3 على تحرير الكالسيوم من داخل عضيات الخلية كالشبكة الإندوبلازمية والبلاستيدات والميتوكوندريا، بينما يعمل DAG على تنشيط كايينز البروتين (ج). ولكن يبدو أن هذا الإنزيم الأخير لا يوجد في النباتات ولذلك يمكن أن يعمل DAG نفسه كإشارة ثانوية من خلال تحوله إلى حمض الفوسفاتييك.

تشير العديد من الدراسات إلى ارتفاع مستويات IP3 في النباتات أثناء الإجهاد (17) و (18) و (19) و (20). وترتفع أيضاً مستويات IP3 في بروتوبلاست الخلايا الحارسة لنبات الفول (*Vicia faba*) (21) وفي بادرات الأرابيدوبسيس عند المعاملة بحمض الأبسيسك (22). المادة البادئة (Precursor) لتخليق IP3 وهي PIP2 تُخلق عن طرق الإنزيم فوسفاتيديل إينوزيتول 4-ثنائي الفوسفات 5-كايينز (Phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase: PIP5K). هذا بدوره يزيد نشاطه أثناء الإجهاد المائي، وعند المعاملة بحمض الأبسيسك في الأرابيدوبسيس (23). وحين الفسفوليبيز (ج) ذاته ينشط في الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana* phospholipase C: AtPLC1) أثناء الإجهاد المائي سواء الملحي أو الأسموزي (24). يستطيع IP3 أن يحرر الكالسيوم من الفجوات العصارية المعزولة (25). وتدل الدراسات على أن زيادة مستوى الكالسيوم في السيتوبلازم يحفز الجينات ذات الصلة بتحمل الإجهاد (26) (شكل 3-7).



شكل رقم (7/3) استشعار الإجهاد المائي عن طريق الدهون الفسفورية. يؤدي الإجهاد المائي إلى تنشيط العديد من الإنزيمات المحللة للدهون الفسفورية التي تنتج مركبات يمكن أن تحفز جينات تحمل الإجهاد. يهذب الإنزيم FRY1 إشارات الدهون الفسفورية عن طريق التحكم في مستوى IP3 بإزالة مجموعات الفوسفات (بمساعدة إنزيمات أخرى) وتحويله إلى إينوزيتول.

وأظهرت الدراسات التي أجريت على النباتات المعدلة وراثياً، أن تلطيف نشاط الفسفوليبيز (ج) عن طريق إدخال نسخة غير فعالة (Antisense) من الجين تتنافس مع النسخة الأصلية أثناء النسخ والترجمة، مما يقلل النشاط النهائي للإنزيم، أو تخفيض مستويات IP3 عن طريق التفعيل الزائد (Overexpression) لجين الإنزيم الذي يحلل IP3 (IP3 5-phosphatase)، يجعل النباتات أقل استجابة للإجهاد أثناء الإنبات، كما تتباطأ استجابتها للمعاملة بحمض الأبسيسك⁽²⁷⁾. وبالعكس وجد في الطراز المطفر من الأرابيدوبسيس

(fry1) الذي يفتقر إلى الجين الفعال الذي يحلل IP3، أن زيادة نشاط الجينات التي تستجيب للإجهاد ولحمض الأبسيسك يصاحب زيادة مستويات IP3 في النبات.

ومن المدهش أن الطراز المطفر fry1 أكثر حساسية للإجهاد الملحي والأسموزي والبرودة رغم زيادة نشاط جينات تحمل الإجهاد به. ربما يشير هذا إلى أن الجين السائد FRY1 يلعب دوراً مباشراً في تهذيب (Attenuation) إشارات الإجهاد عن طريق التحكم في مستويات IP3 وأن تطفير هذا الجين يضر بهذه العملية، فيصبح النبات أكثر حساسية للإجهاد. وربما كان النشاط الزائد لجينات تحمل الإجهاد محاولة من النبات لإصلاح الضرر الناتج من هذه الطفرة. تحدث استجابة مماثلة في الطرز المطفرة (sos1) والتي تفتقر إلى الإنزيم الفعال الذي يعمل كمضخة للصوديوم. هذه النباتات تراكم المزيد من البرولين ربما لتعويض النبات عن العجز في مواجهة الإجهاد الملحي، ورغم ذلك فالنبات المطفر أكثر حساسية للملوحة من الطراز البري. ويمكن التنبؤ بأن النبات المطفر sos1 ربما كان أكثر حساسية للملوحة لو لم يكن قادراً على زيادة مستويات البرولين.

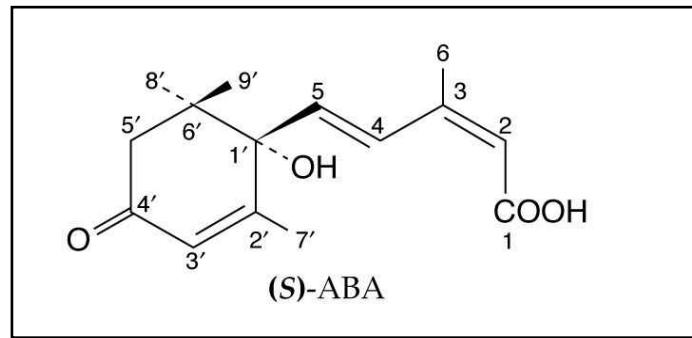
أما الفسفوليبيز (د) فيحلل الدهون الفسفورية، منتجاً حمض الفوسفاتيدك (PA) ومركباً آخر حسب تركيب الدهن (شكل 3-6). ينشط الفسفوليبيز (د) بسرعة أثناء الإجهاد الأسموزي في الأرابيدوبسيس والكراتيروسستجما (*Craterostigma plantagineum*) (28) و (29) بالترتيب). وليست كل جينات الفسفوليبيز (د) تستجيب للإجهاد المائي، ففي الكراتيروسستجما وجد جينان لهذا الإنزيم، أحدهما مفعلاً دائماً (Constitutively expressed)، والآخر ينشط استجابة للإجهاد المائي (Error! Bookmark not defined). غير أن تنشيط الفسفوليبيز (د) في حد ذاته ليس وسيلة للتكيف، بل ربما يكون علامة لحدوث ضرر في الخلايا وتحلل أغشيتها. ففي نبات اللوبيا (*Vigna unguiculata*) وجد أن الفسفوليبيز (د) ينشط بمعدل أعلى في سلالة أقل تحملاً للجفاف منه في السلالة الأكثر تحملاً (30). لهذا ربما يكون وجود PA في الخلية منبهاً (محفزاً)

للإنزيمات المسؤولة عن حماية مكونات الخلية، أو إزالة المواد السامة كطريقة لعلاج الأثر الضار للإجهاد على أغشية الخلية.

6-3 استشعار الإجهاد المائي عن طريق حمض الأبسيسيك:

حمض الأبسيسيك (ABA) هرمون نباتي (شكل 3-8). يلعب هذا الهرمون دوراً في تنظيم نمو وتطور النبات وكمون البذور وإنباتها وانقسام الخلايا واستجاباتها للتغيرات البيئية الخارجية مثل الملوحة والجفاف والبرودة والكائنات الممرضة والأشعة فوق البنفسجية. يوجد ABA في النباتات الدنيا والراقية على السواء. والوظيفة الأهم ربما تكون تنظيم العلاقات المائية للنبات، خصوصاً أثناء الإجهاد المائي. وقدرة ABA على غلق الثغور بشكل فوري ثابتة بشكل مؤكد. رغم أن ABA يمكن أن تكون إشارة ثانوية في المسارات التي سبق وصفها (فهو على سبيل المثال يستطيع تحفيز مسار الدهون الفسفورية لاستشعار الإجهاد المائي، انظر شكل 3-7) إلا أن دوره لا يقتصر على ذلك بل يتعداه. علاوة على أنه ربما توجد مسارات أخرى غير معلومة حالياً تشتمل على ABA.

والمعلومات المتاحة حالياً ربما لا تسمح بوضع تصور دقيق لمسار استشعار يعتمد كلياً على ABA كما في المسارين اللذين سبق وصفهما، نظراً لتعدد الجينات التي تستجيب لهذا الهرمون وتشابك طرق عملها بين الأنواع المختلفة من الإجهاد الحيوي الناتج من عوامل خارجية حيوية مثل تعرض النبات للإصابة بالكائنات الممرضة أو الرعي إلخ، وغير الحيوي الناتج من عوامل بيئية فيزيائية من الملوحة والجفاف والبرودة والأشعة فوق البنفسجية وغير ذلك.



شكل رقم (8/3) التركيب الكيميائي لحمض الأبسيسيك

يتضح الدور المحوري الذي يلعبه ABA في تنظيم استجابة النبات للإجهاد المائي من خلال الطرز المطفرة التي تفتقر إلى ABA في الأرابيدوبسيس⁽³¹⁾, والدخان (*Nicotiana tabacum*), والطماطم (*Lycopersicon esculentum*), والذرة (*Zea mays*)⁽³²⁾. هذه النباتات المطفرة تنمو بشكل طبيعي نسبياً (ليس كالطرز البرية بالضبط) في غياب الإجهاد المائي أو الحراري (Error! Bookmark not defined.). والطرز المطفرة من الأرابيدوبسيس (aba1, aba2, aba3) مثلاً تتميز بالتقزم حتى في غياب الإجهاد. ربما يرجع هذا إلى تعرض النبات لفترات إجهاد وجيزة لا يمكن تفاديها حتى في ظروف النمو المثالية، أو قد يكون السبب هو أهمية ABA في تنظيم النمو وانقسام الخلايا. أما عند التعرض للجفاف، فهذه تذبل وتموت سريعاً إذا طال أمد التعرض للإجهاد، كما أن الإجهاد الملحي يثبط نموها بشكل حاد⁽³³⁾.

3-6-1 تنظيم تخليق حمض الأبسيسك أثناء الإجهاد المائي:

يؤدي الإجهاد المائي إلى زيادة تركيز ABA في النبات. هذه الزيادة ربما تنتج عن تحفيز تخليق ABA، وكذلك تثبيط تكسيره. عملية تخليق ABA متعددة الخطوات، وتشمل تكسير كاروتينويد به 40 ذرة كربون بواسطة داي أكسجينيز لتنتج مركب الزانثونين (15 ذرة كربون) ومركب آخر. يتحول الزانثونين إلى ألدهايد الأبسيسك ثم إلى ABA. والإنزيم 9-سيس إيبوكسي كاروتينويد داي أكسجينيز (9-cis epoxycarotenoid dioxygenase: NCED) يبدو أنه يتحكم في الخطوة المحددة (التي تحكم معدل تخليق ABA ككل). هذا الإنزيم يزداد معدل نسخه أثناء الإجهاد المائي⁽³⁴⁾ و⁽³⁵⁾ و⁽³⁶⁾ وبالمثل بعض الإنزيمات الأخرى التي تساعد في تخليق ABA (Error! Bookmark not defined. و⁽³⁷⁾ و⁽³⁸⁾) رغم أنه لا يوجد دليل مباشر على أن زيادة معدل نسخ هذه الجينات يصاحبه أيضاً زيادة في كمية البروتين الإنزيمي، أو في نشاط الإنزيم الفسيولوجي. وليس مفهوماً بالتحديد طبيعة الخطوات ما بين اكتشاف الإجهاد وتحفيز تخليق ABA.

3-6-2 الجينات التي تنشط استجابة لكل من الإجهاد المائي وحمض الأبسيسك:

يزداد تفعيل العديد من الجينات في النبات أثناء الإجهاد الملحي أو الأسموزي أو كليهما. نسبة كبيرة من تلك الجينات تنشط أيضاً بسبب البرودة، أو عند معاملة النبات بحمض الأبسيسك (ABA). عدد الجينات التي تستجيب للإجهاد يبدو كبيراً كما تشير طرق التحليل الوراثي الحديثة التي تعتمد على استخدام شرائح تحمل نسخاً من جينات نبات ما، وتهجين نواتج النسخ في هذا النبات بتلك الشرائح (Gene microarrays). رغم أنه لا يمكن حصر الجينات التي تستجيب للإجهاد في النبات حالياً حتى في النموذج النباتي الأرابيدويسس. وفي الخميرة يستجيب حوالي 8% من الجينات في الجينوم للإجهاد (39) و (40) و (41).

ويمكن أن تصنف الجينات التي تستجيب للإجهاد إلى مجموعتين حسب طبيعة تفعيلها. فبعضها ينشط بفعل الإجهاد بشكل فوري خلال دقائق من بداية الإجهاد، ولا يتطلب ذلك تخليق بروتينات جديدة، إذ إن مكونات الاستشعار الخاصة بها موجودة بالخلية على الدوام، ولكن قد لا يبقى نشيطاً على المدى البعيد، والبعض الآخر ينشط بشكل أبطأ - خلال ساعات من بداية الإجهاد - ولكنه يبقى نشيطاً طالما بقي النبات معرضاً للإجهاد. تشكل المجموعة الأولى نسبة قليلة من الجينات التي تستجيب للإجهاد، ومنها عوامل النسخ التي تنشط بدورها المجموعة الثانية، والتي تشكل غالبية الجينات التي تستجيب للإجهاد.

أمكن التعرف على عدد من الجينات الخاصة بعوامل النسخ التي تنشط فوراً بفعل الإجهاد أو ABA. ربما تعتمد هذه الجينات على عوامل نسخ أخرى دائمة التفعيل (Constitutively expressed). عوامل النسخ دائمة التفعيل يمكن أن توجد بروتيناتها في الخلية، ولكن في صورة خاملة تنشط بفعل كايينيزات البروتين، فتحفز بدورها تفعيل عوامل النسخ التي تستجيب للإجهاد (Error! Bookmark not defined.) (شكل 3-9).



شكل رقم (9/3) تنشيط الجينات فورية وبطيئة الاستجابة للإجهاد وعلاقتها بـحمض الأبسيسك. يحفز اكتشاف الإجهاد كائينيزات البروتين التي تفسر عوامل النسخ دائمة التفعيل فتتنشط الجينات فورية الاستجابة للإجهاد وهي بدورها تنشط الجينات بطيئة الاستجابة للإجهاد.

وليس كل الجينات التي تنشط بالإجهاد تعتمد على ABA، بل ينشط بعضها مستقلاً عنه. تدل على ذلك الدراسات التي أجريت على النباتات المطفرة التي لا تنتج ABA (ABA deficient mutants) أو التي لا تستشعره (ABA insensitive mutants). على سبيل المثال، يمكن لهذه النباتات أن تنشط الجين RD29A (ولكن بشكل غير كامل) رغم غياب دور ABA. كما أن الجين يحتوي على محفز (Promoter) به تتابع من القواعد النيتروجينية يستجيب للإجهاد المائي، ويكفي لتنشيط الجين حتى في غياب ABA. يسمى هذا التتابع العنصر الداخلي (cis element) المستجيب للإجهاد المائي (Dehydration Responsive Element: DRE). والمقصود بمصطلح عنصر داخلي، أنه يختص بتنشيط ذات الجين الذي يوجد به. أما عناصر التنشيط الخارجية (trans elements) فهي تختص بتنشيط جينات أخرى، علاوة على تلك التي توجد بها. عناصر التنشيط الخارجية قد تكون عوامل نسخ أو أجزاء من DNA. يمكن

لعوامل النسخ DREB2A و DREB2B (Dehydration Responsive Elements Binding factors) أن ترتبط بالعنصر الداخلي المستجيب للإجهاد DRE، وتنشط نسخ الجين RD29A ودون الحاجة إلى وجود ABA⁽⁴²⁾.

ولكن هذا لا يعني أن DRE مستقل تماماً عن ABA. فعامل النسخ CBF4 (Cold Responsive Element Binding Factor) يعتمد في نشاطه على ABA الذي يحفز عملية نسخه. وعند زيادة تفعيل (Overexpression) هذا العامل، تصبح الجينات المحتوية على DRE دائمة التفعيل (عادة لا تكون كذلك، بل ربما تنتمي للجينات فورية الاستجابة للإجهاد)، ويزداد تحمل النبات للجفاف والبرودة⁽⁴³⁾. يدل هذا على وجود علاقة ولو غير مباشرة بين DRE و ABA.

عوامل النسخ ذات مشد اللوسين القاعدية (سُميت بذلك لأنها تحتوي على الحمض الأميني لوسين في تتابع يبدو كأنه عُرى القميص) (Basic leucine zipper transcription factors) ترتبط بالعنصر الداخلي المستجيب لحمض الأبسيسك (ABA Responsive Element: ABRE) فتتنشط الجينات المستجيبة للإجهاد المائي والبرودة المحتوية على هذا العنصر. أمكن التعرف على أربعة من هذه العوامل (ABRE Binding Factors: ABF1, ABF2, ABF3, ABF4) في الأرابيدوبسيس. يمكن لعوامل النسخ هذه أن تساهم في تنشيط الجين RD29A، مما يعني أيضاً وجود علاقة ما بين RD29A و ABA⁽⁴⁴⁾.

في أحد الطرز المطفرة من الأرابيدوبسيس الذي يفتقر إلى أحد إنزيمات تخليق ABA (los5/aba3)، وجد أن تفعيل مجموعة من جينات الإجهاد مثل RD29A و P5CS (جين ينتج أحد إنزيمات تخليق البرولين) ينخفض بشدة، ولكنه يعود إلى مستوى مناظر للطراز البري عند معاملة النباتات بحمض الأبسيسك. يدل هذا على أن ABA ضروري لتنظيم تفعيل جينات الإجهاد حتى لو كان بعضها قابلاً للتفعيل بدون تدخل ABA⁽⁴⁵⁾. ربما يوجد تضارب بين هذا الاستدلال والاستدلال السابق من إمكانية تفعيل RD29A في النباتات التي تفتقر لحمض الأبسيسك أو التي لا تستشعره، والسبب في ذلك قد يكون اختلاف طبيعة الطفرة في كل منهما. وليست كل الجينات التي تستجيب لحمض

الأبسيسيك تحتوي على ABRE, فالجين RD22 يستجيب بالفعل للجفاف ولحمض الأبسيسيك رغم عدم وجود ABRE في محفزه.

ويمكن التوصل لاستنتاج هنا، أن ABA يلعب دوراً مهماً في تنشيط جينات الإجهاد. وأن الجينات التي يمكن أن تنشط دون الحاجة لتدخله ربما تحتاج لوجوده بشكل ما لتنظيم نشاطها. على أن هذه الصورة لا تبدو مكتملة، بل ينقصها الكثير من العناصر التي مازالت بحاجة لفهم أكثر.

3-7 دور شقائق الأكسجين الفعالة في استشعار الإجهاد المائي:

الأكسجين ضروري لنمو النبات بشكل طبيعي، غير أنه يمكن أن يسبب تكوين شقائق فعالة كنواتج جانبية من عمليات حيوية مثل التنفس والبناء الضوئي. يتحول جزئ الأكسجين إلى سوبر أكسيد باكتساب إلكترون واحد. يدخل السوبر أكسيد في سلسلة من التحولات تنتهي بتكوين فوق أكسيد الهيدروجين وشقائق الهيدروكسيل. هذه الجزيئات الثلاثة (السوبر أكسيد، وفوق أكسيد الهيدروجين، وشقائق الهيدروكسيل) تعمل كشقائق أكسجين فعالة (Reactive oxygen species: ROS) يمكن أن تلحق ضرراً بالأحماض النووية والبروتينات والدهون. يمكن أن يزداد معدل تكون هذه الشقائق نتيجة زيادة نشاط بعض الإنزيمات (مثل الأكسيداز والبيروكسيداز) بسبب ظروف الإجهاد الخارجية. وتنتج غالبية شقائق الأكسجين النشط من عضيات الخلية المختلفة، ولكن أيضاً يمكن لإنزيمات موجودة في جدار الخلية (Diamine oxidase) أو الغشاء البلازمي (NADPH oxidase) أن تساهم في ذلك، (انظر الفصل السابع).

توجد في النباتات إنزيمات خاصة لإزالة ROS. مثل الكاتالاز والبيروكسيداز والسوبر أكسيد دسميوتيز. وتزداد مستويات ROS بسبب اختلال الاتزان بين معدل تكون ROS وكفاءة إنزيمات الخلية في إزالتها. يؤدي تعرض النبات للإجهاد المائي إلى الإخلال بهذا الاتزان مسبباً إجهاداً مؤكسداً. يمكن لبعض ROS أن تعمل كإشارات ثانوية خصوصاً فوق أكسيد الهيدروجين الذي يتميز بطول فترة عمر النصف وقدرته على الانتشار خلال الدهون والأوساط المائية. في البكتيريا والخميرة تؤدي عوامل النسخ OxyR و YAP-1 بالترتيب دوراً حيوياً في تحمل إجهاد الأكسدة. تنظم ROS نشاط عوامل النسخ هذه عن

طريق أكسدة مجموعات الثيول (SH) بها مما يوحي بأنه يمكن أن تعمل كإشارات ثانوية بذاتها. وقد أمكن تعريف جين من الأرابيدوسس يلعب دوراً في مقاومة إجهاد الأكسدة عن طريق قدرته على إنقاذ الطرز المطفرة من البكتيريا والخميرة التي تقتقر إلى عوامل النسخ المذكورة (بها طفرات متتالية تمنع عمل عوامل النسخ) ⁽⁴⁶⁾ و ⁽⁴⁷⁾. وربما يكون له دور مشابه في النبات.

بالإضافة إلى ذلك، تستطيع ROS أن تنشط كايينيزات بروتين خاصة. فوق أكسيد الهيدروجين ينشط كايينيزات البروتين 3 و 6 (MAPK3 and MAPK6) في الأرابيدوسس من خلال البروتين ANP1 وهو كايينيز الكايينيز الكايينيز الميتوجيني (MAPKKK) ⁽⁴⁸⁾ و ⁽⁴⁹⁾ و ⁽⁵⁰⁾. والكايينيز ANP1 أساساً يعمل على زيادة تحمل النبات للإجهاد. فنباتات الدخان دائمة التفعيل للجين NPK1 (وهو يناظر ANP1) تتميز بتحملها للبرودة والملوحة والحرارة المرتفعة (Error! Bookmark not defined). ورغم أن كيفية عمل كايينيزات البروتين التي تنشط بفعل ROS غير معلومة فإنه يمكن التنبؤ بأن هذه الكايينيزات قد تنشط إنزيمات إزالة ROS.

يتراكم ABA في الخلايا أثناء الإجهاد المائي. وقد وجد أن ABA يؤدي إلى زيادة ROS أيضاً. ولذلك ربما يعمل ABA من خلال تنظيم كميات ROS في الخلايا. وربما يكون من الصعب الوصول لتصور عام حول علاقة ABA و ROS من حيث نشاطهما في استشعار الإجهاد المائي.

كما سبق القول، إن عملية استشعار الإجهاد المائي معقدة، وتشتمل على العديد من المسارات والعناصر التي يتداخل عملها، وما زالت الصورة بعيدة عن كونها واضحة أو مفهومة بالكامل. كما أن المزيد من الدراسات ربما يغير أجزاء من الصورة الموجودة حالياً، أو على الأقل يغير ترتيب بعض عناصرها.

3-8 دور الكالسيوم في استشعار الإجهاد المائي:

الكالسيوم أحد العناصر الغذائية الكبرى اللازمة لنمو النبات وتطوره، شأنه شأن النيتروجين، والفوسفور، والبوتاسيوم، والمغنسيوم. وكما أشرنا فيما سبق، يدخل الكالسيوم في مسار SOS كعامل أساسي لتفعيل جينات الإجهاد.

كما يمكن أن يؤدي نفس الدور (تفعيل جينات الإجهاد) استجابة لشقائق الأكسجين النشط. ولا يقتصر دور الكالسيوم على هذا، بل إنه يدخل كإشارة ثانوية

في العديد من عمليات الاستشعار ذات الصلة بشتى أنواع الإجهاد، أو عمليات نمو وتطور النبات، والتي تشتمل على تغيير مستويات الكالسيوم في الخلايا. فالكالسيوم يدخل في عمليات تطويرية مثل نمو أنابيب اللقاح أثناء تلقيح الأزهار، وإخصاب البويضات، كما يلزم لنمو الشعيرات الجذرية، والجذور الجانبية، وتكوين العقد الجذرية. ويلعب دوراً بسيطاً في استجابة الخلايا للهرمونات النباتية، مثل استطالة الخلايا وانقسامها، وفتح وغلق الثغور.

ويساهم في العمليات الدفاعية ضد الكائنات الممرضة. علاوة على دوره في استشعار الإجهاد المائي. يشير هذا إلى تعدد العمليات الحيوية التي يساهم فيها الكالسيوم في النبات. ويتضح هذا من خلال وجود عدد كبير من بروتينات النبات التي تحتوى على نطاق قابل للارتباط بالكالسيوم، أو بمعنى آخر، تعتمد في نشاطها على الكالسيوم⁽⁵¹⁾.

وإذا كان الكالسيوم عنصراً في هذه العمليات المتنوعة، والتي تشتمل على العديد من البروتينات التي تستجيب للكالسيوم، كيف إذن يتم التمييز بين الإشارات المختلفة من حيث المنشأ (إجهاد أو هرمونات أو عمليات تطويرية) والمشاركة فيما بينها من حيث اعتمادها على الكالسيوم؟ هذه العملية مازالت تشبه الأسطورة، ولكن يفترض أن كل عملية استشعار تغير مستويات الكالسيوم في الخلية بمعدلات وبطرق مميزة لكل عملية، وبالتالي يكون لكل عملية بصمة كالسيومية (Calcium signature) تميزها عن بصمة باقي العمليات، بحيث تستجيب لهذه البصمة فقط البروتينات المعنية.

ويمكن تقسيم عملية الاستشعار من خلال الكالسيوم إلى ثلاث خطوات⁽⁵²⁾:

- (أ) توليد البصمة الكالسيومية في السيتوبلازم أو النواة.
- (ب) التعرف على البصمة بواسطة مجسات الكالسيوم.
- (ج) تطبيق الإشارة.

تبدأ عملية الاستشعار بتوليد البصمة الكالسيومية في السيتوبلازم، أو النواة عن طريق النشاط المتأزر لمجموعة من قنوات وناقلات ومضخات

الكالسيوم في الخلية ⁽⁵³⁾ و ⁽⁵⁴⁾ و ⁽⁵⁵⁾ و ⁽⁵⁶⁾). قنوات الكالسيوم هي بروتينات غشائية تسمح بمرور الكالسيوم دون التحكم في اتجاه مروره، بل يمر الكالسيوم من الجانب ذي التركيز الأعلى إلى الجانب ذي التركيز الأقل. أما الناقلات، فهي تنقل الكالسيوم من حيز لآخر داخل الخلية، حتى لو كان اتجاه النقل عكس مدرج التركيز، فهي تعتمد على الفرق في الجهد الكهربائي بين جانبي الغشاء الذي تولده ناقلات البروتونات. بينما مضخات الكالسيوم تنقل أيضاً الكالسيوم بغض النظر عن مدرج التركيز، ولكنها لا تعتمد على مدرج الجهد الكهربائي بين جانبي الغشاء، بل تعتمد على الطاقة الناتجة من تحليلها للأدينوسين ثلاثي الفوسفات.

هذه القنوات والناقلات والمضخات تحكم حركة الكالسيوم بين عضيات الخلية والسيتوبلازم، كما تحكم حركته بين الأبوبلاست والبروتوبلاست، مما يسمح لها بالتحكم الدقيق في تركيز الكالسيوم في كل نطاق في الخلية. هذا رغم أن المعلومات المتاحة عن تنظيم نشاط البروتينات الناقلة للكالسيوم بأنواعها خاصة أثناء الإجهاد مازالت قليلة ⁽⁵⁷⁾. ورغم قلة المعلومات المتاحة عن البروتينات التي تخرج الكالسيوم من البروتوبلاست إلى الأبوبلاست إلى أن وجود مثل هذه البروتينات يبدو مهماً للتعامل مع إشارات الكالسيوم، وخصوصاً لتهذيب تلك الإشارات أو إزالتها بالكامل عند انخفاض مستوى الإجهاد أو زواله. فتعرض النبات للإجهاد وانتشار الإشارات الإجهادية غالباً ما ينشأ عنه تباطؤ نمو النبات بما يتناسب مع كمية الماء المتاح للنبات. وعند زوال الإجهاد بتوافر الماء أو بتخفيف الأملاح في التربة، يكون من المهم إزالة إشارات الإجهاد حتى يعاود النبات نموه بمعدل طبيعي.

ويبدو أن مستويات الكالسيوم في كل حيز في الخلية محكومة بنظام دقيق يستجيب لعوامل الإجهاد، بحيث يعدل مستويات الكالسيوم في حيز أو أكثر، مولداً البصمة الكالسيومية. وحدث خلل في هذا النظام، ربما يؤدي إلى اختلال استجابة النبات للإجهاد. عند زيادة تفعيل جين ناقل الكالسيوم والبروتونات التبادلي (Calcium/Hydrogen antiporter) الذي ينقل الكالسيوم إلى داخل الفجوة العصارية، تصبح النباتات أكثر حساسية للإجهاد الملحي

والبرودة⁽⁵⁸⁾. ربما يُعزى هذا إلى أن الاستجابة الطبيعية للإجهاد هي خروج الكالسيوم من الفجوة العصارية إلى السيتوبلازم، كما لوحظ في حالة تعرض الأرابيدوبسيس للبرودة⁽⁵⁹⁾. وزيادة تفعيل ناقل الكالسيوم التبادلي في غشاء الفجوة يعوق زيادة مستوى الكالسيوم في السيتوبلازم، مما يعرقل تنشيط جينات الإجهاد.

وتعتمد طبيعة البصمة الكالسيومية من حيث كيفية توليدها على نوع الإجهاد. فحمض الأبسيسك على سبيل المثال، يخرج الكالسيوم من عضيات الخلية كالبلاستيدات والميتوكوندريا والفجوات العصارية والشبكة الإندوبلازمية إلى السيتوبلازم، بينما التعرض للبرودة يدخل الكالسيوم من الأبوبلاست إلى البروتوبلاست⁽⁶⁰⁾. رغم أن حمض الأبسيسك والبرودة كليهما يزيدان تركيز الكالسيوم في السيتوبلازم فإن مصدر هذا الكالسيوم مختلف.

يستطيع IP3 أن يرتبط بقابلية عالية بمواقع على الشبكة الإندوبلازمية يفترض أن تكون قنوات للكالسيوم. وربما يكون دور IP3 في استشعار الإجهاد الملحي والأسموزي والبرودة من خلال تنشيطه لقنوات الكالسيوم على الشبكة الإندوبلازمية (Error! Bookmark not defined.).

تعمل البصمة الكالسيومية على تنشيط مجسات الكالسيوم (Calcium sensors) عن طريق ارتباط أيونات الكالسيوم بهذه المجسات التي بدورها تنظم عمل البروتينات المستهدفة، والتي تظهر في النهاية استجابة الخلية أو النبات للإشارة الأصلية التي ولدت البصمة الكالسيومية⁽⁶¹⁾ و⁽⁶²⁾. من البروتينات التي تعمل كمجسات للكالسيوم الكالموديولين (Calmodulin) وكاينيزات البروتين المعتمدة على الكالسيوم (Calcium Dependent Protein Kinases: CDPKs)⁽⁶³⁾ و⁽⁶⁴⁾ و⁽⁶⁵⁾. يرتبط الكالموديولين بالكالسيوم، مما يؤدي لحدوث تغير في شكله المعماري، فيكتسب القدرة على تنظيم نشاط البروتينات، وتفعيل الجينات المستهدفة (Error! Bookmark not defined.).

أما كاينيز البروتين المعتمد على الكالسيوم (CDPKs) فيتكون من أربعة نطاقات:

● **النطاق الأول:** طرف أميني يختلف من كايينيز لآخر من حيث التركيب.

● **النطاق الثاني:** نطاق سيرين/ثريونين الحفاز.

● **النطاق الثالث:** نطاق حفز وتنشيط ذاتي.

● **النطاق الرابع:** نطاق شبيه بالكالموديولين.

ويحتوي النطاق الأخير على أربعة نطاقات قابلة للارتباط بالكالسيوم، مما يدل على أن هذا الكايينيز يعتمد على الكالسيوم مباشرة وليس على الكالموديولين. في غياب الكالسيوم يثبط نطاق الحفز والتنشيط الموقع الحفاز للكايينيز، أما عند ارتباط الكالسيوم بالنطاق شبيه الكالموديولين فيحدث تغير في الشكل المعماري لنطاق الحفز والتنشيط بحيث يتحرر النطاق الحفاز ويصبح الكايينيز قادرًا على فسفرة بروتينات محددة⁽⁶⁶⁾ تنظم بدورها نشاط البروتينات، وتفعيل الجينات ذات الصلة بالإشارة الأساسية⁽⁶⁷⁾ و⁽⁶⁸⁾.

تدخل CDPKs في تنظيم استجابة النبات لأنواع شتى من الإجهاد، مثل الإجهاد الملحي، والأسموزي، والبرودة، والكائنات الممرضة. ويتأثر تفعيل جينات CDPKs بفعل هذه الأنواع من الإجهاد في كل من الأرابيدوبسيس والأرز (*Oryza sativa*) والدخان⁽⁶⁹⁾ و⁽⁷⁰⁾ و⁽⁷¹⁾ و⁽⁷²⁾. وفي دراسة تفصيلية على 29 CDPKs وجد أن أربعة جينات منها (OsCDPK6, OsCDPK13, OsCDPK17, OsCDPK25) تتأثر تفعيلًا بالإجهاد الملحي، والأسموزي، والحراري، والبرودة⁽⁷³⁾. ورغم الدراسات العديدة على CDPKs كمجسات للكالسيوم، تبقى كيفية تعامل هذه المجسات وغيرها (مثل الكالموديولين) مع الجينات المستهدفة بحاجة إلى مزيد من الدراسات لفهم الآلية الجزيئية لتنشيط تلك الجينات بواسطة المجسات، إما مباشرة أو من خلال وسائط أخرى.

REFERENCES

المراجع

- (1) Zhu JK (2001). Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6:66-71.

- (2) **Zhu JK** (2002). Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology* **53**: 247-273.
- (3) **Knight H, Trewavas AJ and Knight MR** (1997). Calcium signaling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought and salinity. *Plant Journal* **12**: 1067-1078.
- (4) **Halfter U, Ishitani M and Zhu JK** (2000). The *Arabidopsis* SOS2 protein kinase physically interacts with and is activated by the calcium binding protein SOS3. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA* **97**: 3730-3734.
- (5) **Liu J, Ishitani M, Halfter U, Kim CS and Zhu JK** (2000). The *Arabidopsis thaliana* SOS2 encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA* **97**: 3735-3740.
- (6) **Guo Y, Halfter U, Ishitani M and Zhu JK** (2001). Molecular characterization of functional domains in the protein kinase SOS2 that is required for plant salt tolerance. *Plant Cell* **13**:1383–1400.
- (7) **Urao T, Yakubov B, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki M, Hirayam T and Shinozaki K** (1999). A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as osmosensor. *Plant Cell* **11**: 1743-1754
- (8) **Boudsocq M and Lauriere C** (2005). Osmotic signaling in plants. Multiple pathways mediated by emerging kinase families. *Plant Physiology* **138**: 1185–1194.
- (9) **Munnik T, Ligterink W, Meskiene I, Calderini O and Beyerly J** (1999). Distinct osmosensing protein kinase pathways are involved in signalling moderate and severe hyperosmotic stress. *Plant Journal* **20**: 381–388.
- (10) **Droillard MJ, Thibivilliers S, Cazale AC, Barbier-Brygoo H and Lauriere C** (2000). Protein kinases induced by osmotic stresses and elicitor molecules in tobacco cell suspensions: two crossroad MAP kinases and one osmoregulation-specific protein kinase. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **474**: 217–222.
- (11) **Hoyos ME and Zhang S** (2000). Calcium independent activation of salicylic acid–induced protein kinase and a 40-kilodalton protein kinase by hyperosmotic stress. *Plant Physiology* **122**:1355–1363.
- (12) **Kiegerl S, Cardinale F, Siligan C, Gross A and Baudouin E** (2000). SIMKK, a mitogen- activated protein kinase (MAPK) kinase, is a specific activator of the salt stress-induced MAPK, SIMK. *Plant Cell* **12**: 2247–2258.
- (13) **Liu Y, Zhang S and Klessig DF** (2000). Molecular cloning and characterization of a tobacco MAP kinase kinase that interacts with SIPK. *Molecular Plant Microbe Interaction* **13**: 118–124.

- (14) Mizoguchi T, Ichimura K, Yoshida R and Shinozaki K (2000). MAP kinase cascades in *Arabidopsis*: their roles in stress and hormone responses. *Results and Problems in Cell Differentiation*. **27**: 29–38.
- (15) Alzwyi IA and Morris PC (2007). A mutation in the *Arabidopsis* MAP kinase kinase 9 gene results in enhanced seedling stress tolerance. *Plant Science* **173**: 302–308.
- (16) Buchanan B, Gruissem W and Jones RL (eds) (2000). Biochemistry and molecular Biology of plants. American Society of Plant Biologists.
- (17) Sang Y, Cui D and Wang X (2001). Phospholipase D and phosphatidic acid-mediated generation of superoxide in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **126**: 1449–1458.
- (18) Heilmann I, Perera IY, Gross W and Boss WF (1999). Changes in phosphoinositide metabolism with days in culture affect signal transduction pathways in *Galdieria sulphuraria*. *Plant Physiology* **119**: 1331–1339.
- (19) Drobak BK and Watkins PA (2000). Inositol 1,4,5-trisphosphate production in plant cells: an early response to salinity and hyperosmotic stress. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **481**: 240–244.
- (20) DeWald DB, Torabinejad J, Jones CA, Shope JC and Cangelosi AR (2001). Rapid accumulation of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and inositol 1,4,5-trisphosphate correlates with calcium mobilization in salt-stressed *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **126**: 759–769.
- (21) Takahashi S, Katagiri T, Hirayama T, Yamaguchi-Shinozaki K and Shinozaki K (2001). Hyperosmotic stress induced a rapid and transient increase in inositol 1,4,5-trisphosphate independent of abscisic acid in *Arabidopsis* cell culture. *Plant and Cell Physiology* **42**: 214–222.
- (22) Lee Y, Choi YB, Suh J, Lee J and Assmann SM (1996). Abscisic acid-induced phosphoinositide turnover in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Plant Physiology* **110**: 987–996.
- (23) Xiong L, Lee BH, Ishitani M, Lee H, Zhang C and Zhu JK (2001). FIERY1 encoding an inositol polyphosphate 1-phosphatase is a negative regulator of abscisic acid and stress signaling in *Arabidopsis*. *Genes and Development* **15**: 1971–1984.
- (24) Mikami K, Katagiri T, Luchi S, Yamaguchi-Shinozaki K and Shinozaki K (1998). A gene encoding phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase is induced by water stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal* **15**: 563–568.
- (25) Hirayama T, Ohto C, Mizoguchi T and Shinozaki K (1995). A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress

- in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA* **92**: 3903–3907.
- (26) **Schumaker KS and Sze H** (1987). Inositol 1,4,5-trisphosphate releases Ca^{2+} from vacuolar membrane vesicles of oat roots. *Journal of Biological Chemistry* **262**: 3944–3946.
- (27) **Wu Y, Kuzma J, Marechal E, Graeff R and Lee HC** (1997). Absciscic acid signaling through cyclic ADP-ribose in plants. *Science* **278**: 2126–2130.
- (28) **Sanchez JP, and Chua NH** (2001). *Arabidopsis* PLC1 is required for secondary responses to absciscic acid signals. *Plant Cell* **13**: 1143–1154.
- (29) **Katagiri T, Takahashi S and Shinozaki K** (2001). Involvement of a novel *Arabidopsis* phospholipase D, AtPLD delta, in dehydration-inducible accumulation of phosphatidic acid in stress signaling. *Plant Journal* **26**: 595–605.
- (30) **Frank W, Munnik T, Kerkmann K, Salamini F and Bartels D** (2000). Water deficit triggers phospholipase D activity in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Cell* **12**: 111–123.
- (31) **El Maarouf H, Zuily-Fodil Y, Gareil M, d’Arcy-Lameta A and Pham-Thi AT** (1999). Enzymatic activity and gene expression under water stress of phospholipase D in two cultivars of *Vigna unguiculata* L. Walp. differing in drought tolerance. *Plant Molecular Biology* **39**: 1257–1265.
- (32) **Koornneef M, L’eon-Kloosterziel KM, Schwartz SH and Zeevaart JAD** (1998). The genetic and molecular dissection of absciscic acid biosynthesis and signal transduction in *Arabidopsis*. *Plant Physiology and Biochemistry* **36**: 83–89.
- (33) **Liotenberg S, North H and Marion-Poll A** (1999). Molecular biology and regulation of absciscic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **37**: 341–350.
- (34) **Xiong L, Ishitani M, Lee H and Zhu JK** (2001). The *Arabidopsis* LOS5/ABA3 locus encodes a molybdenum cofactor sulfuryase and modulates cold and osmotic stress responsive gene expression. *Plant Cell* **13**: 2063–2083.
- (35) **Qin X and Zeevaart JAD** (1999). The 9-cis-epoxycarotenoid cleavage reaction is the key regulatory step of absciscic acid biosynthesis in water-stressed bean. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* **96**: 15354–15361.
- (36) **Thompson AJ, Jackson AC, Symonds RC, Mulholland BJ and Dadswell AR** (2000). Ectopic expression of a tomato 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes overproduction of absciscic acid. *Plant Journal* **23**: 363–374.

- (37) Iuchi S, Kobayashi M, Taji T, Naramoto M and Seki M (2001). Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Journal* **27**:325–333.
- (38) Liotenberg S, North H and Marion-Poll A (1999). Molecular biology and regulation of abscisic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **37**:341–350.
- (39) Seo M, Peeters AJM, Koiwai H, Oritani T and Marion-Poll A (2000). The *Arabidopsis* aldehyde oxidase 3 (AAO3) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* **97**:12908–12913.
- (40) Posas F, Chambers JR, Heyman JA, Hoeffler JP, de Nada E and Arino J (2000). The transcriptional response of yeast to salt stress. *Journal of Biological Chemistry* **275**:17249–17255.
- (41) Rep M, Krantz M, Thevelein JM and Hohmann S (2000). The transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to osmotic shock. *Journal of Biological Chemistry* **275**: 8290–8300.
- (42) Yale J and Bohnert HJ (2001). Transcript expression in *S. cerevisiae* at high salinity. *Journal of Biological Chemistry* **276**:15996–16007.
- (43) Yamaguchi-Shinozaki K and Shinozaki K (1994). A novel cis-acting element in an *Arabidopsis* gene is involved in responsiveness to drought, low-temperature, or high-salt stress. *Plant Cell* **6**: 251–64.
- (44) Haake V, Cook D, Riechmann J, Pineda O, Thomashow MF and Zhang JZ (2002). Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **130**: 639-648.
- (45) Choi HI, Hong JH, Ha JO, Kang JY and Kim SY (2000). ABFs, a family of ABA responsive element binding factors. *Journal of Biological Chemistry* **275**:1723–1730.
- (46) Xiong L, Ishitani M, Lee H and Zhu JK (2001). The *Arabidopsis* LOS5/ABA3 locus encodes a molybdenum cofactor sulfurase and modulates cold and osmotic stress responsive gene expression. *Plant Cell* **13**:2063–83.
- (47) Girdol X, Sabelli PA, Fern YS and Kush AK (1996). Anxin like protein from *Arabidopsis thaliana* rescues Delta oxyR mutant of *Escherichia coli* from H₂O₂ stress. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA* **93**:11268-11273.
- (48) Belles-Boix E, Babiychuk E, Van Montagu M, Inze D and Kushnir S (2000). CEO1, a new protein from *Arabidopsis thaliana* protects yeast against oxidative damage. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **482**: 19-24.

- (49) Kovtun, Y, Chiu WL, Tena G and Sheen J (2000). Functional analysis of oxidative stress-activated mitogen-activated protein kinase cascade in plants. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA* **97**: 2940-2945.
- (50) Samuel MA, Miles GP and Ellis BE (2000). Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signaling in plants. *Plant Journal* **23**: 319-327.
- (51) Desikan R, Hancock JT, Ishimura K, Shimozaki K and Neil SJ (2001). Harpin induces activation of the Arabidopsis mitogen-activated protein kinases AtMPK4 and AtMPK6. *Plant Physiology* **126**: 1579-1587.
- (52) Day IS, Reddy VS, Ali GS and Reddy AS (2002). Analysis of EF-hand-containing proteins in Arabidopsis. *Genome Biology* **3**: 56.1–56.24.
- (53) Reddy VS and Reddy ASN (2004). Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry* **65**: 1745–1776.
- (54) Miedema H, Bothwell JH, Brownlee C and Davies JM (2001). Calcium uptake by plant cells—channels and pumps acting in concert. *Trends in Plant Science* **6**: 514–519.
- (55) Reddy ASN (2001). Calcium: silver bullet in signaling. *Plant Science* **160**: 381-404.
- (56) Sanders D, Pelloux J, Brownlee C and Harper JF (2002). Calcium at the crossroads of signaling. *Plant Cell* **14**: S401–S417.
- (57) Scrace-Field SA and Knight MR (2003). Calcium: just a chemical switch? *Current Opinion in Plant Biology* **6**: 500–506.
- (58) Jenks MA and Hasegawa PM (eds) (2005). Plant abiotic stress. Blackwell Publishing.
- (59) Hirschi KD (1999). Expression of Arabidopsis CAX1 in tobacco: altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell* **11**: 2113-2122.
- (60) Knight H, Trewava AJ and Knight MR (1996). Cold calcium signaling in Arabidopsis involves two cellular pools and a change in calcium signature after acclimation. *Plant Cell* **8**: 489-503.
- (61) Wood NT, Allan AC, Haley A, Viry-Moussaid M and Trewava AJ (2000). The characterization of differential calcium signaling in tobacco guard cells. *Plant Journal* **24**: 335-344.
- (62) Luan S, Kudla J, Rodriguez-Concepcion M, Yalovsky S and Gruissem W (2002). Calmodulins and calcineurin B-like proteins: calcium sensors for specific signal response coupling in plants. *Plant Cell* **14**: S389–S400.
- (63) Reddy VS, Ali GS and Reddy ASN (2002). Genes encoding calmodulin-binding proteins in the Arabidopsis genome. *Journal of Biological Chemistry* **277**: 9840–9852.
- (64) Chin D and Means AR (2000). Calmodulin: a prototypical calcium sensor. *Trends in Cell Biology* **10**: 322–328.

- (65) Cheong YH, Kim KN, Pandey GK, Gupta R, Granta JJ and Luan S (2003). CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **15**: 1833–1845.
- (66) Harper JF, Breton C and Harmon A (2004). Decoding Ca^{2+} signals through plant protein kinases. *Annual Review of Plant Biology* **55**: 263–288.
- (67) Christodoulou J, Malmendal A, Harper JF and Chazin WJ (2004) Evidence for differing roles for each lobe of the calmodulin-like domain in a calcium-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry* **279**: 29092–29100.
- (68) Hernandez S, Hardin S, Clouse S, Kieber J and Huber S (2004). Identification of a new motif for CDPK phosphorylation *in vitro* that suggests ACC synthase may be a CDPK substrate. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **428**: 81–91.
- (69) Zhang X and Chollet R (1997). Seryl-phosphorylation of soybean nodule sucrose synthase (nodulin-100) by a Ca^{2+} dependent protein kinase. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **410**: 126–130.
- (70) Urao T, Katagiri T, Mizoguchi T, Yamaguchi-Shinozaki K, Hayashida N and Shinozaki K (1994). Two genes that encode Ca^{2+} dependent protein kinases are induced by drought and high salt stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular and General Genetics* **224**: 331– 340.
- (71) Yoon GM, Cho HS, Ha HJ, Liu JR and Lee HS (1999). Characterization of NtCDPK1, a calcium-dependent protein kinase gene in *Nicotiana tabacum*, and the activity of its encoded protein. *Plant Molecular Biology* **39**: 991–1001.
- (72) Saijo Y, Kinoshita N, Ishiyama K, Hata S, Kyojuka J, Hayakawa T, Nakamura T, Shimamoto K, Yamaya T and Izui K (2001). A Ca^{2+} dependent protein kinase that endows rice plants with cold- and salt-stress tolerance functions in vascular bundles. *Plant and Cell Physiology* **42**: 1228–1233.
- (73) Yang G, Shen S, Yang S and Komatsu S (2003). OsCDPK13, a calcium-dependent protein kinase gene from rice, is induced in response to cold and gibberellin. *Plant Physiology and Biochemistry* **41**: 369–374.
- (74) Bingliang W, Yongjun L and Tongmin M (2007). Expression of rice Ca^{2+} dependent protein kinases (CDPKs) genes under different environmental stresses. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **581**: 1179–1189.

الفصل الرابع

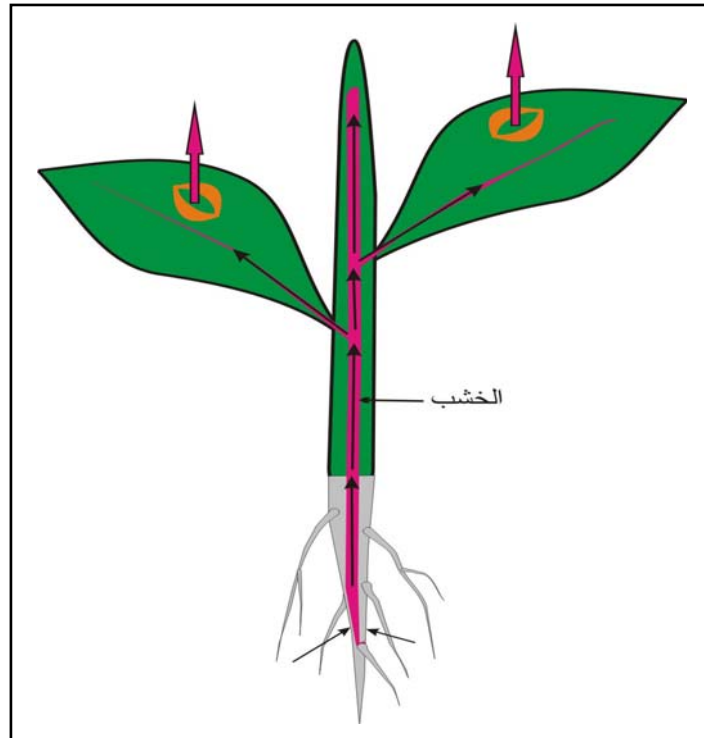
الإجهاد المائي.. والعلاقات المائية.. والبناء الضوئي

1-4 مقدمة:

في التربة موفرة الماء، يدخل الماء جذور النبات مدفوعاً بالفرق في الجهد المائي بين الجذور، ومحلل التربة، وينتقل عبر أوعية الخشب تحت تأثير قوة السحب الناشئة عن النتح إلى الأوراق، حيث يتبخر خلال ثغورها إلى الهواء الجوي. يحتفظ النبات بنسبة قليلة قد تصل إلى 10% فقط من إجمالي ما يمتصه من الماء من التربة، ويفقد النسبة الباقية بالنتح خلال الثغور، أو بالبخر المباشر من أنسجة المجموع الخضري. يفقد النبات غالبية الماء أثناء النهار، نظراً لأن الثغور في الغالب تفتح نهاراً وتغلق ليلاً بالتوافق مع عملية البناء الضوئي (شكل 1-4).

ويبدو أن النباتات الخضراء لا حيلة لها مع فقد الماء من الثغور بهذه الصورة. فالجهد المائي للنباتات الوسطية مثل فول الصويا (*Glycine max*)، والذرة (*Zea mays*) يتراوح بين -0.3 و -0.5 ميجا باسكال. والجهد المائي للهواء الجوي دائماً أقل من ذلك، خصوصاً إذا كانت الرطوبة النسبية منخفضة (جدول 1-4). وقد تصل الرطوبة النسبية في المناطق الصحراوية إلى 50% أو أقل، مما ينشئ فرقاً كبيراً في الجهد المائي بين النبات والجو يحتم سرعة تبخر الماء من النبات. لذلك لا يمكن للنباتات أن تتفادى فقد الماء بالبخر من خلال الثغور، أو مباشرة من الأنسجة المعرضة للهواء الجوي. والثغور هي ممر ثاني أكسيد الكربون إلى الأنسجة التمثيلية، وهو العامل المحدد لمعدل البناء الضوئي. وغلق الثغور معناه إعاقة البناء الضوئي، وتعريض النبات لمضاعفات خطيرة - منها أن الطاقة الضوئية التي يمتصها اليخضور

(Chlorophyll) يمكن أن تتراكم إلى حد يضر بأنسجة النبات ما لم تستهلك في عملية بديلة للبناء الضوئي - وبالتالي تظل الثغور مفتوحة على حساب ميزانية النبات من الماء من أجل البناء الضوئي، طالما كان الماء متاحاً بقدر كاف. ولكن ماذا لو أصبحت كمية الماء المتاحة للنبات من التربة محدودة؟ في هذه الحالة يعدل النبات سياسته المائية، بحيث يصبح الحفاظ على الماء أكثر أهمية من مواصلة البناء الضوئي بالمعدل الطبيعي. وعليه أن يعالج الآثار الجانبية المترتبة على تباطؤ أو حتى توقف البناء الضوئي.



شكل رقم (1/4) في التربة موفرة الماء يسحب النبات الماء عبر أنسجة الجذر إلى الخشب وخلاصه إلى المجموع الخضري حيث يتبخر غالبية إلى الهواء الجوي خلال الثغور أو البشرة بفعل الفرق في الجهد المائي بين الهواء الجوي وأنسجة النبات.

رغم أن الجهد المائي للهواء في المناطق الصحراوية يشكل ضغطاً هائلاً على النبات من حيث خطورة فقد الماء، فإن بعض النباتات تستطيع أن تنمو

بنجاح في البيئة الصحراوية. تلجأ بعض هذه النباتات إلى تكوين مجاميع جذرية كبيرة تصل إلى أعماق بعيدة في التربة، فتتمكن من جمع كميات من الماء تدعم نمو النبات. وقد تكون المجاميع الجذرية لبعض النباتات متشعبة في الطبقة السطحية من التربة لتتمكن من جمع الماء (في موسم المطر) بكفاءة. وتتميز الكثير من النباتات الصحراوية بتغييرات تشريحية في الأوراق والسيقان والجذور تساعد في تحمل الإجهاد (المرجع⁽¹⁾ لشرح مفصل). تعتمد فئة أخرى من النباتات الصحراوية على الهروب من فصول الجفاف عن طريق النمو سريعاً مع بداية فصل المطر، وإتمام دورة حياتها بتكوين البذور بحلول فصل الجفاف التالي. تبقى البذور كامنة في التربة حتى تنبت مع بداية فصل المطر التالي وهكذا.

جدول (1/4) يقل الجهد المائي للهواء الجوي كلما قلت الرطوبة النسبية. البيانات في الجدول عند درجة حرارة 20 مئوية⁽²⁾.

الرطوبة النسبية للهواء (%)	الجهد المائي (ميغا باسكال)
100	0.00
99.6	0.54-
99	1.36-
90	14.2-
80	30.1-
70	48.2-
60	70.0-
50	93.6-
20	217.3-
10	310.8-
0	∞ - (ما لانهاية)

ولكن تشير الدراسات إلى أن التأقلم التركيبي ليس هو الوسيلة الوحيدة للتغلب على الإجهاد المائي، بل يصاحبه تأقلم على المستوى الجزيئي من حيث

فعيل الجينات، والنشاط الفسيولوجي للبروتينات الناتجة، وبخاصة في النباتات الصحراوية المعمرة التي تعيش تحت إجهاد لا يكاد ينقطع. ويمكن القول بأن التأقلم الجزيئي لا يقل أهمية عن التأقلم التركيبي، بل ربما يفوقه أهمية، خاصة إذا كانت قدرة النبات على التكيف التركيبي محدودة.

2-4 الإجهاد المائي والحالة المائية للنبات:

يتراوح المحتوى المائي للأنسجة الغضة غير الخشبية في النبات من 80-95%، ويقل عن ذلك في الأنسجة الخشبية، خاصة الخشب الصميمي (Heart wood) الذي توقف عن أداء وظيفة التوصيل. ويحافظ النبات على هذه النسبة عن طرق الاتزان بين امتصاص الماء من التربة وفقده عن طريق النتح، بحيث يمتص النبات تقريباً عشرة أضعاف ما يحتاجه فعلياً من الماء في حالة نموه في التربة موفرة الماء.

مؤشرات الحالة المائية في النبات:

يمكن تقدير الحالة المائية للنبات - إما إيجابية أي في الحدود الطبيعية أو سلبية أي أقل من الحدود الطبيعية - عن طريق عدة قياسات، منها المحتوى المائي الفعلي (Actual water content) للنبات أو لأجزاء منه، مثل الورقة أو الساق أو الجذر. ويقاس المحتوى المائي الفعلي بتجفيف النبات وإيجاد وزن الماء (الفرق بين الوزن الغض والوزن الجاف) منسوباً إلى الوزن الغض كنسبة مئوية:

$$\text{معادلة 1-4: } \frac{\text{الوزن الغض} - \text{الوزن الجاف}}{\text{الوزن الجاف}} \times 100\% = \text{المحتوى المائي الفعلي}$$

ويمكن تقدير الحالة المائية للنبات عن طريق المحتوى المائي النسبي (Relative water content) وهو مقياس نسبي بين المحتوى المائي الفعلي والمحتوى المائي عند التشبع (الامتلاء التام للخلايا). ويقاس المحتوى المائي عند التشبع بحفظ النبات في ماء مقطر لمدة كافية (24 ساعة) في ظروف تمنع العمليات الأيضية (ظلام ودرجة حرارة منخفضة) حتى تتشبع الخلايا بالماء. ويحسب المحتوى المائي عند التشبع بتجفيف النبات وإيجاد الفرق بين

وزنه الجاف ووزنه عند التشبع. ويحسب المحتوى المائي النسبي من المحتوى المائي الفعلي كنسبة مئوية للمحتوى المائي عند التشبع:

$$\text{معادلة 2-4: } \frac{\text{المحتوى المائي الفعلي}}{\text{المحتوى المائي عند التشبع}} = \text{المحتوى المائي النسبي} \quad \%$$

الحالة المائية السلبية للنبات تحت ظروف ما، تتضح من خلال انخفاض المحتوى المائي الفعلي أو النسبي أو كليهما. والعجز المائي التشبعي (Water saturation deficit) مقياس لمدى العجز في الحالة المائية للنبات تحت ظروف ما مقارنة بالظروف المثالية:

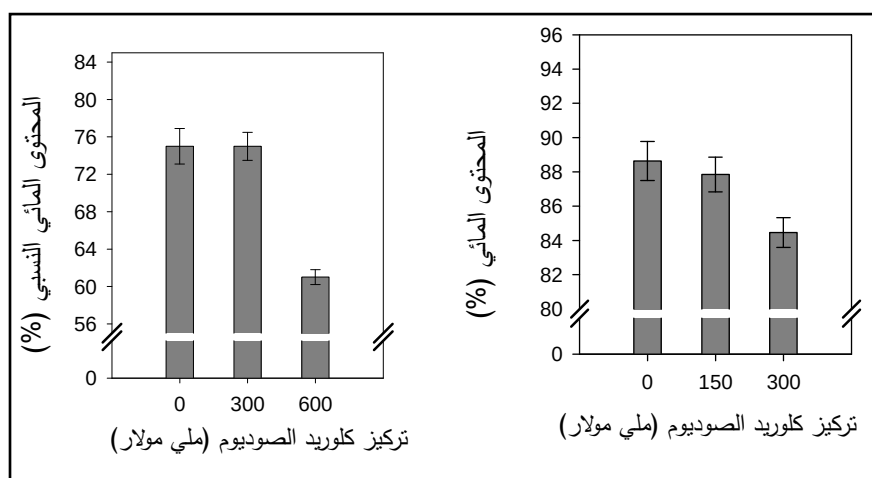
معادلة 3-4:

$$\text{العجز المائي التشبعي} = \frac{\text{المحتوى المائي عند التشبع} - \text{المحتوى المائي الفعلي}}{\text{المحتوى المائي عند التشبع}} \quad \%$$

ويستخدم الجهد المائي أيضاً كمؤشر للحالة المائية للنبات. فالجهد المائي للخلايا ينخفض بشكل واضح عند فقد الماء، بسبب فقد الامتلاء من ناحية، وزيادة تركيز المواد المذابة في العصير الخلوي من ناحية أخرى. وتوجد علاقة بين الجهد المائي لأنسجة النبات ومحتواها المائي. فانخفاض الجهد المائي قد يشير إلى انخفاض في المحتوى المائي والعكس صحيح. ولكن قد يتناقض الجهد المائي دون أن يصاحبه بالضرورة انخفاض المحتوى المائي، وذلك إذا زادت المذابات المتوائمة في النبات عند ثبات ضغط الامتلاء. مما يعني أن انخفاض الجهد المائي قد يكون مؤشراً لانخفاض المحتوى المائي أو لا. أما زيادة الجهد المائي فغالباً ما تدل على زيادة المحتوى المائي للنبات.

وفي وجود الإجهاد المائي، تميل الحالة المائية للنبات نحو السلبية بنسب متفاوتة حسب قدرة النبات على تحمل الإجهاد (شكل 2-4)، فالنباتات الأكثر تحملاً للإجهاد سواء الملحي أو الأسموزي، أكثر قدرة على الحفاظ على محتواها المائي أثناء الإجهاد من تلك الأقل تحملاً. تحاول النباتات عموماً أن تتجنب تناقص محتواها المائي أثناء الإجهاد، ولكن قد يصل الإجهاد إلى حد

يحتّم هذا التناقص، عندئذ تظهر أعراض فقد الماء في صورة ذبول خاصة في الأوراق. والذبول لا يعني فقدان الحيوية بالضرورة، بل يمكن زواله إذا توافر الماء للنبات في مدة وجيزة (ذبول مؤقت). ولكن استمرار تعرض النبات للإجهاد المائي قد يؤدي إلى الذبول المستديم وموت النبات.



شكل رقم (2/4) ينخفض المحتوى المائي لنبات بصل النرجس (*Pancratium maritimum*) (يميناً) والمحتوى المائي النسبي لنبات البروسويس ألبا (*Prosopis alba*) (يساراً) بعد تعرضهما للإجهاد الملحي. ولكن البروسويس أكثر تحملاً للملوحة من بصل النرجس، ولهذا يحتفظ بمحتواه المائي ثابتاً عند 300 ملي مولار كلوريد صوديوم، بينما يتناقص المحتوى المائي لبصل النرجس عند نفس التركيز. ولا يستطيع بصل النرجس أن ينمو في وجود 600 ملي مولار كلوريد صوديوم⁽³⁾ و⁽⁴⁾.

ويمكن هنا أن نميز بين حالتين لنقصان المحتوى المائي في الأنسجة الخضرية للنبات (وليس البذور). إحداها القحول (Desiccation) وهي الحالة التي يفقد فيها النبات كل الماء الحر في البروتوبلاست، بحيث ينخفض محتواه المائي بشدة إلى أقل من 25%. والأخرى هي الرمض (Dehydration) وهي فقد جزئي للماء من البروتوبلاست. وغالبية البذور حسب هذا التعريف، تتحمل القحول حتى بذور النباتات الوسطية. يمكن لبعض النباتات أن تتحمل القحول بأن تدخل في كمون فسيولوجي حتى توافر الماء، عندئذ يتزايد محتواه المائي وتعاود مباشرة وظائفها الفسيولوجية بشكل طبيعي.

ظاهرة تحمل القحول ليست شائعة في المملكة النباتية. ويوجد 330

نوعاً من النباتات الوعائية أي حوالي 0.15% من العدد الإجمالي قادر على تحمل القحول ⁽⁵⁾ و⁽⁶⁾. توجد النباتات القحولية في عشر عائلات من النباتات الزهرية (Angiosperms) وتسع من النباتات السرخسية (Pteridophytes). أما النباتات غير الوعائية كالحزازيات المنبطح (Bryophytes) فغالبيتها يتحمل القحول على الأقل لمدد زمنية وجيزة. والحزازيات القائمة (Mosses) يستطيع بعضها أن يتحمل القحول لمدد طويلة تصل إلى عشر سنوات حتى لو فقدت محتواها المائي بشكل مفاجئ خلال دقائق. قد يبدو النبات القحولي ميتاً في حالة الكمون، وعند اكتساب الماء يعاود النمو بشكل طبيعي كما لو كان بعث من الموت، ولهذا يُطلق مصطلح النباتات المستحياء (Resurrection plants) على تلك النباتات، وهو هنا مناظر لمصطلح النباتات القحولية. ومن أشهر النباتات القحولية الوعائية الكراتيروستجما (*Craterostigma plantagineum*) وهو نبات زهري ثنائي الفلقة ينتمي إلى فصيلة حنك السبع، وهو من النباتات التي خضعت للعديد من الدراسات عن تحمل الإجهاد المائي.

3-4 كيف يحد النبات من فقد الماء أثناء الإجهاد؟

إذا كان نقص المحتوى المائي ذا أثر سلبي على النباتات، فلا بد أن تكون لديها وسائل للحد منه. والوسيلة المباشرة والمنطقية هي التحكم في المنفذ الأساسي الذي يسلكه الماء خارجاً من النبات وهو الثغور. وغلق الثغور أو على الأقل انخفاض نفاذيتها من الآثار المبكرة للإجهاد المائي على النبات حتى في حالة التجفيف الجزئي للنبات. في العنب (*Vitis vinifera*) يقل كل من نفاذية الثغور ومعدل النتج ومعدل النمو الخضري وكذلك معدل البناء الضوئي عند تعرض النباتات للتجفيف الجزئي للجذور (عن طريق فصل المجموع الجذري إلى قسمين، وتنمية كل قسم في أصيص منفصل، وري أحد الأصيصين دون الآخر)⁽⁷⁾. وربما يكون نقص نفاذية الثغور، وبالتالي نقص معدل البناء الضوئي سبباً أساسياً من أسباب نقص معدل النمو الخضري.

على أن نفاذية الثغور تتأثر أيضاً بعوامل بيئية أخرى مثل الضوء، وتركيز ثاني أكسيد الكربون في الهواء وفي أنسجة الورقة وغير ذلك. ولكن

تجدر الإشارة هنا إلى أن غلق الثغور لا يعني توقف فقد النبات للماء تماماً بل يفقد النبات الماء أيضاً عن طريق البخر المباشر من الأوراق أي النتح الأدمي (Cuticular transpiration).

والنتح الأدمي شكل من أشكال انتشار الماء في وسط كاره. فيخار الماء يمر خلال الأدمة الكيوتينية والطبقة الشمعية التي تغطيها لكي يتبخر إلى الهواء. ونفاذية الأدمة لبخار الماء عموماً منخفضة، رغم أنها تختلف من مجموعة نباتية لأخرى (جدول 2-4). ليس هذا فحسب، بل تختلف درجة نفاذية الأدمة لبخار الماء باختلاف ظروف نمو النبات. فأوراق النباتات التي نمت في ظروف أكثر جفافاً تمتلك أدمة أكثر سمكاً ومقاومة لنفاذ بخار الماء من تلك التي نمت في بيئة موفرة الماء. وعلى أي حال، من الصعب التمييز تجريبياً وبشكل كمي بين النتح الثغري والأدمي، وتحديد مدى مساهمة كل منهما في فقد الماء من النبات.

جدول (2/4) تختلف نفاذية الأدمة لبخار الماء من مجموعة نباتية لأخرى.

المجموعة النباتية	نفاذية الأدمة لبخار الماء (ملي مول/م ² /ثانية)
النباتات العشبية	20-10
الأشجار متساقطة الأوراق	10-6
الأشجار دائمة الخضرة والمخروطيات	5-3
النباتات الصحراوية العصيرية	0.5

يرجع تعدد العوامل المؤثرة في نفاذية الثغور، إلى أنها تعمل كمر لبخار الماء والأكسجين وثاني أكسيد الكربون. وبالتالي تتأثر بالعوامل البيئية التي تؤثر في الحالة المائية، ومعدل البناء الضوئي، سواء كانت تلك العوامل خارجية أو داخلية تخضع لتحكم النبات ذاته. هذه العوامل المتعددة لا تؤثر في نفاذية الثغور بشكل منفرد (أي كل على حدة) بل تتداخل مع بعضها. فالحالة المائية السلبية للنبات تخفض نفاذية الثغور مما يعوق عملية البناء الضوئي بسبب نقص ثاني أكسيد الكربون أو تثبيط الإنزيمات. ونقص ثاني أكسيد الكربون ربما يدفع الثغور إلى البقاء مفتوحة ولو بشكل جزئي للإبقاء على حد

أدنى من البناء الضوئي، مما يحتم فقد الماء بالنتح، ويؤثر بالتالي في الحالة المائية.

عند تنمية الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*) في وجود تركيزات مرتفعة من ثاني أكسيد الكربون (740 ميكرو مول/مول) وتعرضه لإجهاد أسموزي تنخفض النفاذية الثغرية سريعاً مقارنة بالنباتات التي نمت في تركيزات أقل من ثاني أكسيد الكربون. ربما يُعزى هذا إلى أن النبات يبقى على مستوى معين من النفاذية الثغرية أثناء الإجهاد المائي لإنفاذ ثاني أكسيد الكربون، ولكنه يقلل هذه النفاذية متى توافر ثاني أكسيد الكربون بسبب زيادة تركيزه في الهواء. هذا يعني أن الكفاءة المائية للنبات أثناء الإجهاد المائي قد تتضاعف في وجود تركيزات عالية من ثاني أكسيد الكربون⁽⁸⁾.

إذا كانت الثغور تستجيب للعديد من العوامل الداخلية والخارجية فهذا يعني أنها تستجيب للإشارات التي تنتجها تلك العوامل، مما يعني أيضاً تعدد الإشارات وتداخل عملها بحيث تكون استجابة الثغور – أي مدى نفاذيتها للماء وثاني أكسيد الكربون تحت ظروف معينة – محصلة لتأثير تلك العوامل بما يتواءم مع مدى تكيف النبات.

واستجابة الثغور للإجهاد المائي تتباين من نبات لآخر، وكذلك حسب ظروف نمو النبات. نباتات الظل على سبيل المثال، تضيق ثغورها وبسرعة عند التعرض لعجز مائي طفيف، بينما نباتات الشمس التي نمت في ضوء أشد، لا تتأثر نفاذية ثغورها بمستويات مماثلة من العجز المائي، بل تحتاج لعجز أكبر لكي تستجيب. ويؤثر الإجهاد المائي أيضاً على تطور الثغور، فالنباتات التي نمت في ظروف أكثر جفافاً تكون ثغوراً أكثر كثافة وأقل حجماً، مقارنة بتلك التي نمت في بيئة موفرة الماء. هذا بالإضافة إلى أن الأولى تكون الأدمة أكثر سمكاً وأنسجة عائلية أكثر كثافة. ربما يساعد ذلك على سرعة تحكم النبات في نفاذية الثغور والنتح الأدمي وتوصيل الماء.

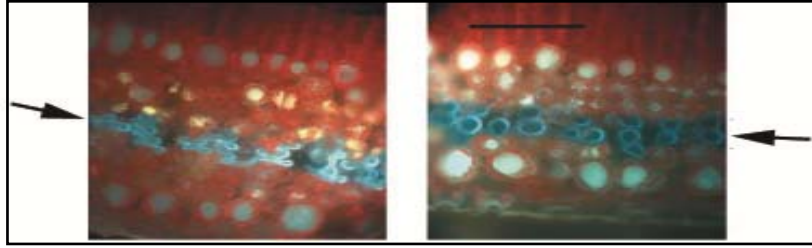
وتتخفض نفاذية الثغور لبخار الماء بسبب فقد الامتلاء في خلايا الورقة، وكذلك استجابة لحمض الأبسيسك القادم من الجذور. فمجرد تعرض الجذور لتربة ذات جهد مائي منخفض، يدفعها لتخليق حمض الأبسيسك ونقله سريعاً

عبر الخشب إلى الأوراق (انظر الفصل الثالث: استشعار النباتات للإجهاد). يستطيع حمض الأبسيسك أن يغلق الثغور أو يقلل نفاذيتها حتى لو لم تتغير الحالة المائية للنبات. وفي تجارب التجفيف الجزئي للنبات بتعريض نصف مجموعته الجذري لتربة جافة، ينخفض معدل النتج إلى 80% مقارنة بالنباتات التي نمت جذورها كلياً في تربة موفورة الماء⁽⁹⁾. ربما يدل هذا على أن فقد الامتلاء الناتج من الإجهاد يقلل بشكل مباشر وسريع من نفاذية الثغور، ثم يتحكم النبات كمياً في معدل النتج على المدى البعيد من خلال حمض الأبسيسك. على أن هذا لا ينفي أن تتداخل عوامل متعددة في التحكم طويل الأمد في معدل النتج، وقد يكون البناء الضوئي ودرجة تحمله للإجهاد من هذه العوامل⁽¹⁰⁾. ويفترض أن تكون نقط التحكم في نفاذية الثغور قريبة من الورقة، نظراً لأن استجابتها لتغير الحالة المائية في التربة سريعة، ربما تفوق سرعة انتقال الإشارات الحيوية أو حتى الهيدروليكية من الجذور إلى المجموع الخضري، ولكن مازالت كيفية تنظيم نفاذية الثغور أثناء الإجهاد المائي غير واضحة تفصيلاً.

4-4 أثر الإجهاد المائي على النفاذية الهيدروليكية للنبات:

يوضح شكل (1-4) أن أوعية الخشب تعمل كممر للماء من التربة إلى المجموع الخضري، ومنه إلى الهواء. تتعرض أوعية الخشب لضغط سالب أثناء النتج، ينتج من قوة الشد الناشئة عن تبخر الماء من الورقة إلى الهواء. وفي بعض النباتات يكون الضغط موجباً داخل أوعية الخشب بسبب الضغط الجذري، وأثناء توقف النتج ليلاً، ولكن هذا الضغط الموجب يزول نهائياً عند زيادة النتج. والضغط السالب يسحب الماء من الجذر إلى المجموع الخضري، مما يمكن الجذر من امتصاص مزيد من الماء من التربة. وعند انخفاض الجهد المائي للتربة، وغلق الثغور، يقل معدل سريان الماء في النبات، وهو ما يعبر عنه بالنفاذية الهيدروليكية للنبات. ويزداد الضغط السالب داخل الأنسجة الوعائية للخشب أثناء الإجهاد المائي لدرجة قد تؤدي إلى تداعي جدرانها⁽¹¹⁾ (شكل 3-4) بسبب وقوع أوعية الخشب بين قوتين هما الشد الناشئ عن النتج في المجموع الخضري، وانخفاض إمداد الجذر بالماء. وربما يساهم غلق الثغور

في تلطيف الضغط السالب داخل أوعية الخشب وبذلك يحميها من التداعي. لهذا تلجأ النباتات الأكثر تحملاً للإجهاد المائي إلى زيادة سمك جدر أوعية الخشب، لتزيد من تحملها للضغط السالب أثناء الإجهاد، بخلاف النباتات الوسطية التي تتميز أوعيتها بجدر أرق، خاصة إذا نمت في وفرة من الماء.



شكل رقم (3/4) قصبيات الخشب (الأسهم) في نبات مخروطي أثناء الإجهاد المائي الطفيف (يميناً) والشديد (يساراً). تظهر القصبيات مستديرة في القطاع العرضي أثناء الإجهاد الطفيف، بينما تتفلطح وتلتصق جدرانها أثناء الإجهاد الشديد. تستعيد القصبيات شكلها الطبيعي بعد أسبوع من زوال الإجهاد. الخط الأسود يساوي 100 ميكرومتر .

وتداعي أوعية الخشب ربما يكون من آثار الإجهاد المائي على تركيب النبات. غير أن الإجهاد أيضاً يؤدي إلى خلل وظيفي في تلك الأوعية دون أن يغير تركيبها بالضرورة. فزيادة الضغط السالب داخل الوعاء، ربما يؤدي إلى انقطاع عمود الماء داخله، بسبب دخول فقائيع الهواء، مما يجعل هذا الوعاء غير قادر على توصيل الماء. يحدث انقطاع عمود الماء داخل الخشب، عندما يتجاوز الإجهاد المائي قدرة مقاومة عناصر الخشب، وخصوصاً أغشية النقر لنفاذ الغازات خلالها، إذ يعتقد أن فقائيع الهواء تنفذ إلى داخل العناصر الوعائية خلال تلك الأغشية ⁽¹²⁾ و ⁽¹³⁾.

والنباتات يمكنها أن تصلح الخلل الناتج من انقطاع عمود الماء داخل عناصر الخشب، رغم أن كيفية حدوث ذلك مازالت محل جدل. ويعتقد أن الضغط الجذري في بعض النباتات يلعب دوراً في ذلك. ولكن ليس كل النباتات تستطيع تكوين ضغط جذري، كما أن الضغط الجذري يتلاشى تدريجياً مع الارتفاع عن سطح الأرض بسبب الجاذبية الأرضية. يعتقد أن الضغط الجذري متى كان متاحاً يساعد على ذوبان فقائيع الهواء في الماء الموجود بعناصر

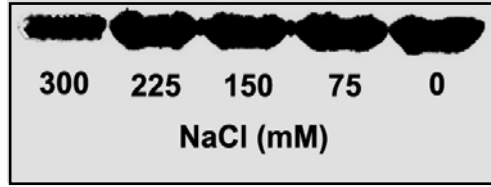
الخشب، وبالتالي يعاود عمود الماء اتصاله. ولكن تجدر الإشارة هنا إلى أن توليد ضغط موجب داخل أوعية الخشب قد يكون مستبعداً في حالة الإجهاد المائي، حتى في النباتات التي يمكنها ذلك في الظروف الطبيعية. لذلك تبدو عملية إصلاح عمود الماء بإزالة فقاعات الغاز غير مفهومة حتى في النباتات التي تستطيع تكوين ضغط جذري.

4-5 وماذا بعد غلق الثغور وانخفاض معدل النتج؟

ربما يكون غلق الثغور وانخفاض معدل النتج حلاً لمشكلة الحالة المائية السالبة أثناء الإجهاد، ولكنه في الحقيقة بداية للعديد من التغييرات الوظيفية التي تترتب على التعرض للإجهاد. فكما أشرنا من قبل، تعمل الثغور كممر لدخول ثاني أكسيد الكربون إلى الورقة، وكذلك لخروج بخار الماء.

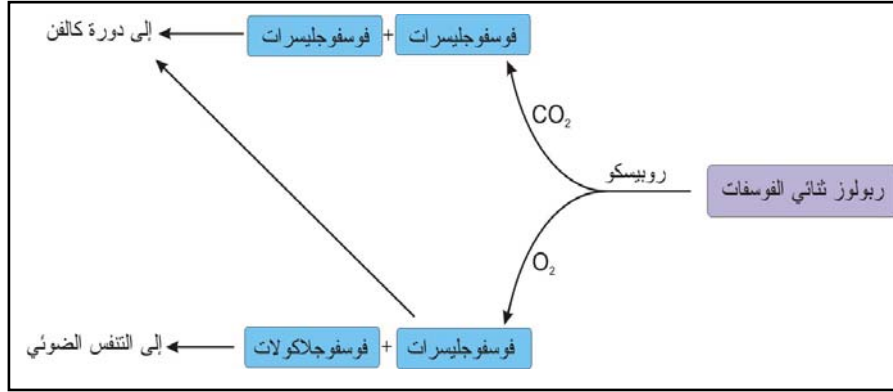
وثاني أكسيد الكربون هو العامل المحدد للبناء الضوئي أثناء الإجهاد المائي الطفيف، أي يتوقف معدل البناء الضوئي، على تركيز ثاني أكسيد الكربون في أنسجة الورقة وليس على نشاط إنزيمات البناء الضوئي وخصوصاً الروبيسكو (Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase: Rubisco). وعند انخفاض نفاذية الثغور ينخفض أيضاً تركيز ثاني أكسيد الكربون في الورقة، فينخفض معدل البناء الضوئي ⁽¹⁴⁾ و ⁽¹⁵⁾ و ⁽¹⁶⁾.

أما أثناء الإجهاد المائي الشديد، فيتأثر معدل البناء الضوئي سلباً بسبب انخفاض نشاط إنزيمات البناء الضوئي ربما نظراً لنقص المحتوى المائي للورقة وزيادة تركيز الأيونات. ويصبح النشاط الإنزيمي عاملاً محدداً أيضاً ربما أكثر أهمية من تركيز ثاني أكسيد الكربون في الخلايا ⁽¹⁷⁾. ولا يقتصر أثر الإجهاد المائي الشديد على الروبيسكو على خفض نشاطه النوعي (النشاط الإنزيمي لكل وحدة بروتين إنزيمي)، بل يؤدي أيضاً إلى نقص كمية الإنزيم (شكل 4-4). وانخفاض معدل البناء الضوئي حتماً يؤثر في معدل نمو النبات ليس فقط من خلال تعثر عملية تكوين المركبات الكربونية التي تدخل في تكوين الكتلة الحية للنبات، بل أيضاً من خلال الشح في الطاقة المتاحة للنبات والتي تكون ضرورية لمعالجة الآثار السلبية للإجهاد، ومنها طرد الأملاح خارج الخلايا أو حصرها في الفجوات العصارية.



شكل رقم (4/4) يقل محتوى الورقة من الرويسكو أثناء الإجهاد الشديد. عوملت نباتات بصل النرجس بتركيزات متزايدة من كلوريد الصوديوم (0-300 ملي مولار) ثم استخلصت بروتينات الورقة وفصلت بالتفريد الكهربائي على البولي أكريلاميد. يشير حجم كل حزمة إلى كمية الرويسكو عند كل معاملة.

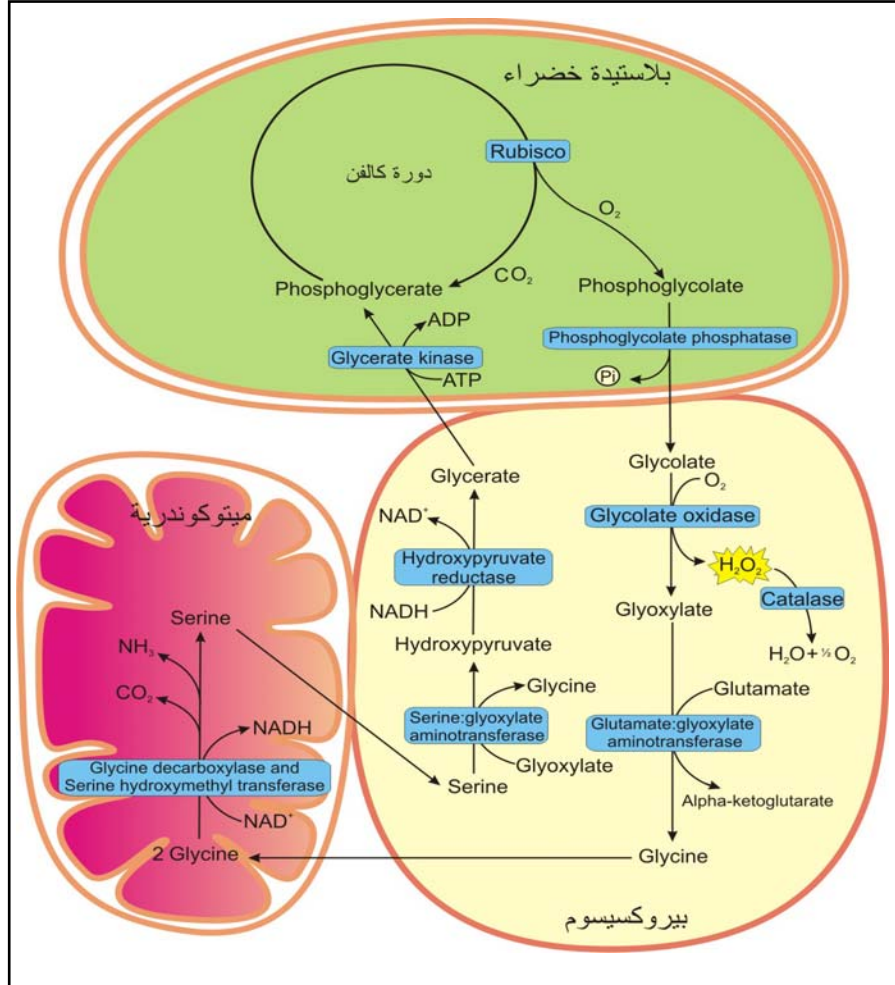
لا يقتصر أثر الإجهاد المائي على منظومة البناء الضوئي على عرقلة عملية البناء الضوئي، بل يتبع ذلك تنشيط عملية بديلة هي التنفس الضوئي (Photorespiration). يُعزى التنفس الضوئي إلى أن الإنزيم الأهم في البناء الضوئي وهو الرويسكو، الذي يحفز الخطوة الأولى في دورة كالفن (Calvin cycle) يستطيع أن يحفز إما كربنة (Carboxylation) أو أكسدة (Oxygenation)، السكر الخماسي ربولوز 1,5-ثنائي الفوسفات (شكل 4-5). وتفاعل الكربنة هو الخطوة الأولى في دورة كالفن التي تؤدي إلى تكوين الفوسفوجليسرates التي بدورها تكمل دورة كالفن، مكونة الكربوهيدرات في النهاية. أما تفاعل الأكسدة فينتج الفوسفوجليسرates (3-Phosphoglycerate)، بالإضافة إلى الناتج الجانبي الفوسفوجلايكولات (2-Phosphoglycolate). لا تدخل الفوسفوجلايكولات في دورة كالفن، ولكنها تدخل مساراً بديلاً هو التنفس الضوئي. الهدف من هذا المسار هو انتشار الكربون الموجود في الفوسفوجلايكولات وإعادة إدخاله إلى دورة كالفن في صورة فوسفوجليسرates. ولكن هذا يصاحبه إعادة إطلاق ثاني أكسيد الكربون بما يعادل 25% من الكربون الموجود في الفوسفوجلايكولات، ولذلك يعد التنفس الضوئي عملية مهددة للكربون (شكل 4-6).



شكل رقم (5/4) تفاعلا الكربنة والأكسدة للسكر الخماسي ربولوز 5,1- ثنائي الفوسفات يحفزهما الروبيسكو حسب النسبة بين تركيز ثاني أكسيد الكربون والأكسجين في الخلية. عندما يتواجد ثاني أكسيد الكربون بتركيزات عالية ينتج تفاعل الكربنة الفوسفوجليسيرات التي تدخل دورة كالفن. وعند زيادة تركيز الأكسجين يزداد تفاعل الأكسدة منتجاً الفوسفوجليسيرات إلى جانب الفوسفوجلاولات والأخيرة لا تدخل دورة كالفن بل تدخل في مسار آخر هو التنفس الضوئي الذي ينتهي بتحويلها إلى فوسفوجليسيرات مع فقد 25% من الكربون الموجود بها في صورة غاز.

تعتمد النسبة بين تفاعل الأكسدة وتفاعل الكربنة على النسبة بين تركيز الأكسجين وتركيز ثاني أكسيد الكربون في الخلية. بمعنى أن زيادة نسبة الأكسجين تزيد من معدل تفاعل الأكسدة على حساب تفاعل الكربنة والعكس صحيح. ونضوب ثاني أكسيد الكربون في الخلايا أو زيادة الأكسجين أو كلاهما يترتب على غلق الثغور أو قلة نفاذيتها أثناء الإجهاد المائي. يشجع هذا عملية التنفس الضوئي فينتج مزيداً من الفوسفوجلايكولات، مما يزيد من كمية الكربون المفقود. ليس هذا فحسب، بل ينتج من التنفس الضوئي أيضاً فوق أكسيد الهيدروجين الذي يولد إجهاداً تأكسدياً في الخلية (انظر الفصل السابع).

وليس واضحاً على وجه التحديد، مدى أهمية التنفس الضوئي أثناء الإجهاد المائي. فرغم أنه يبدو عملية مهددة للكربون فإن بعض الباحثين يفترض أنه يشكل طريقاً لتصرف الطاقة الضوئية التي تمتصها الورقة وتحولها إلى طاقة كيميائية في صورة ATP، والتي لا تستهلك في البناء الضوئي بسبب تعثره، نظراً لنضوب ثاني أكسيد الكربون، إلا أن هذا الدور مازال بحاجة لمزيد من الدراسات لتقييمه.



تفاعلات التنفس الضوئي تتم بالتآزر بين البلاستيدات والميتوكوندريا والبيروكسيسومات.

شكل رقم (6/4)

ينطبق الوصف السابق للتنفس الضوئي على النباتات ثلاثية الكربون (C₃) (Plants). في هذه المجموعة من النباتات، تحدث تفاعلات الظلام، وتفاعلات الضوء مجتمعة في النسيج الوسطي للورقة. والجزء الحساس لتركيز ثاني أكسيد الكربون هو تفاعلات الظلام (أي دورة كالفن). يعني هذا أن النبات لكي يحافظ على معدل أفضل للبناء الضوئي، لابد أن يركز ثاني أكسيد الكربون في جميع أنسجة الورقة، وهذا أمر يبدو صعباً، خاصة أثناء الإجهاد المائي. وحتى في

الظروف الطبيعية، وفي وجود وفرة من الماء يثبط الأكسجين عملية البناء الضوئي بدرجة قد تصل إلى 40%⁽¹⁸⁾.

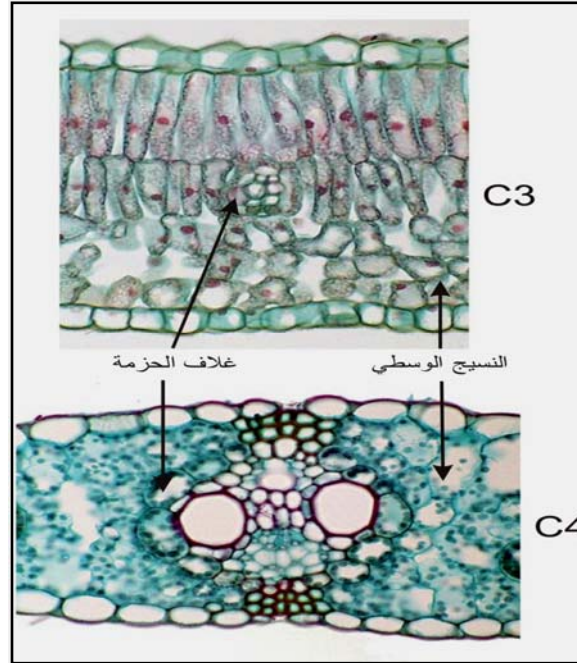
أما النباتات رباعية الكربون (C4 Plants) ففيها تحدث تفاعلات الظلام في جزء محدود ومتخصص من الورقة وهو غلاف الحزمة الوعائية (شكل 4-7). ولذلك يسهل تركيز ثاني أكسيد الكربون في مكان تواجد الروبسكو من خلال منظومة إنزيمية متخصصة لضخه إلى غلاف الحزمة الوعائية في صورة مركبات رباعية الكربون (المالات أو الأسيرتات: ومن هنا جاءت التسمية لأن أول مركب ناتج من تثبيت ثاني أكسيد الكربون الجوي به أربع ذرات كربون، مقارنة بالنباتات ثلاثية الكربون، حيث إن أول مركب ناتج من تثبيت ثاني أكسيد الكربون هو الفوسفوجليسران وبه ثلاث ذرات كربون).

لذلك تتميز النباتات رباعية الكربون بمعدلات أعلى من البناء الضوئي، ونسب أقل من التنفس الضوئي مقارنة بالنباتات ثلاثية الكربون في الظروف الطبيعية. وتتميز النباتات رباعية الكربون بمعدل بناء ضوئي أفضل مما في النباتات ثلاثية الكربون عند درجات الحرارة المرتفعة⁽¹⁹⁾ و⁽²⁰⁾. لذلك تتركز النباتات رباعية الكربون في المناطق الاستوائية من الأرض، حيث الحرارة المرتفعة والضوء الأشد. وهذا لا يمنع أيضاً أن بعضها ينمو في المناطق المعتدلة بخلاف النباتات ثلاثية الكربون، التي تبدو أكثر تكيفاً للنمو في المناطق المعتدلة.

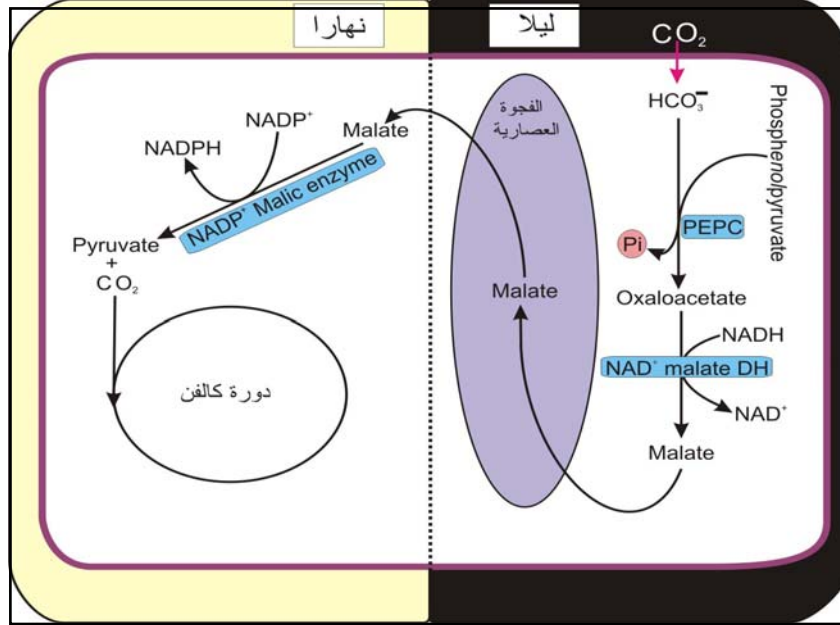
على العكس من النباتات ثلاثية الكربون، التي يزداد بها معدل التنفس الضوئي أثناء الإجهاد المائي. وتشير الدراسات إلى أن هذه العملية لا تتأثر كثيراً بالإجهاد المائي في النباتات رباعية الكربون⁽²¹⁾. ورغم ذلك، لا يبدو أن عامة النباتات رباعية الكربون أكثر تحملاً للإجهاد المائي من ثلاثية الكربون. فكلتا المجموعتين تشتمل على نباتات وسطية، وأخرى ملحية أو صحراوية. قد يكون السبب في ذلك أن التكيف للإجهاد المائي يحتاج إلى عمليات أكثر تعقيداً من مجرد تنظيم التنفس الضوئي. وعلى سبيل المثال، جنس السويدا (*Suaeda spp.*) تتكون غالبية من الأنواع الملحية، بعضها ثلاثي، وبعضها رباعي الكربون. مما يعني أن كون النبات ثلاثياً أو رباعي الكربون ربما لا يؤثر كثيراً في درجة تحمله للإجهاد المائي.

4-6 البناء الضوئي الكرازولي والإجهاد المائي:

يبدو أن البناء الضوئي الأكثر تكيفاً لنقص الماء أو ثاني أكسيد الكربون هو البناء الضوئي الكرازولي (Crassulacean Acid Metabolism: CAM). فالنباتات ذات البناء الضوئي الكرازولي تثبت ثاني أكسيد الكربون ليلاً في مركب رباعي الكربون هو المالات (Malate) التي تحتزن في الفجوات العصارية. أما خلال النهار، فيتحرر ثاني أكسيد الكربون من المالات ليدخل في دورة كالفن. هذا معناه أن فتح الثغور وتبادل الغازات يحدث ليلاً، حيث درجة الحرارة منخفضة، وكذلك شدة الضوء بينما الرطوبة النسبية أعلى، مما يقلل من فقد الماء بالنتح من خلال الثغور، وأن النبات لا يحتاج لفتح الثغور نهائياً نظراً لأن لديه مخزوناً من ثاني أكسيد الكربون في المالات الموجودة في الفجوات العصارية (شكل 4-8).



شكل رقم (7/4) قطاع عرضي في ورقة نبات ثلاثي (C3) وآخر رباعي الكربون (C4). تحدث تفاعلات الظلام في النباتات رباعية الكربون في غلاف الحزمة ولهذا تبدو خلاياه أكبر حجماً وأكثر احتواءً على البلاستيدات الخضراء من نظائرها في النباتات ثلاثية الكربون⁽²²⁾.



شكل رقم (8/4) البناء الضوئي الكرازولي في خلية من النسيج الوسطي. أثناء الليل يثبت النبات ثاني أكسيد الكربون في الأوكسالوأسيتات بواسطة الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز (PEPC) ثم تتحول الأوكسالوأسيتات إلى المالات (Malate) بواسطة المالات ديهيدروجينيز (NAD + Malate DH) وتختزن في الفجوة العصارية. أثناء النهار تغلق الثغور وتخرج المالات من الفجوة العصارية، حيث يتحرر منها ثاني أكسيد الكربون بواسطة إنزيم المالك (NADP+ Malic enzyme) ليدخل في دورة كالفن.

يمكن تقسيم البناء الضوئي الكرازولي إلى أربع مراحل:

المرحلة الأولى: تحدث خلال الليل والثغور مفتوحة، وفيها يثبت ثاني

أكسيد الكربون الجوي أو الناتج من التنفس بواسطة إنزيم الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز (Phosphoenolpyruvate carboxylase: PEPC) إلى الأوكسالوأسيتات - بإضافة ثاني أكسيد الكربون إلى البيروفات - التي تتحول إلى المالات بواسطة إنزيم المالات ديهيدروجينيز وتختزن في الفجوة العصارية.

المرحلة الثانية: تحدث عند الفجر، وفيها يبقى تثبيت ثاني أكسيد

الكربون جارياً، وينشط أيضاً الروبكو مثبثاً ثاني أكسيد الكربون الذي يبدأ تحرره من المالات المخزنة في الفجوة العصارية إلى دورة كالفن.

أما المرحلة الثالثة: فتحدث خلال النهار، وفيها يتحرر ثاني أكسيد الكربون من المالات، ويدخل في دورة كالفن عن طريق الروبسكو. بينما يعاد تخليق الكربوهيدرات وتخزينها باستخدام البيروفات الناتجة.

في المرحلة الرابعة: تكون المالات قد نضبت، مما يسبب نقصاً في تركيز ثاني أكسيد الكربون في الخلايا، فتفتح الثغور، ويعمل الروبسكو على تثبيت ثاني أكسيد الكربون الجوي مباشرة إلى دورة كالفن، وتستمر حتى بداية الليل التالي، أي أن هذه المرحلة تشبه البناء الضوئي في النباتات ثلاثية الكربون، رغم أن الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز قد ينشط قبل بداية الليل (23) و(24).

ولكن البناء الضوئي الكرازولي ليس جامداً على هذه الصورة، بل توجد نماذج متفاوتة. فهناك النباتات إجبارية البناء الضوئي الكرازولي (Obligate CAM plants)، وفيها تحدث غالبية تثبيت ثاني أكسيد الكربون أثناء الليل، بالإضافة إلى تغير تركيزات المالات على مدار اليوم. أي أن ثغور هذه النباتات تبقى مغلقة أثناء النهار، حتى في وجود وفرة من الماء. والنباتات اختيارية البناء الضوئي الكرازولي (Facultative CAM plants) نباتات ثلاثية الكربون في الظروف الطبيعية، ولكنها تستطيع أن تتحول إلى البناء الضوئي الكرازولي عند تعرضها للإجهاد المائي. أما النباتات مكوكية البناء الضوئي الكرازولي (CAM cycling plants) فتتميز بتغير تركيزات المالات على مدار اليوم، شأنها شأن النباتات إجبارية البناء الضوئي الكرازولي، ولكنها لا تكتسب ثاني أكسيد الكربون ليلاً، أي أن تبادل الغازات يحدث نهاراً كما لو كانت ثلاثية الكربون. ويوجد جنس واحد من النباتات يمكنه أن يتحول من البناء الضوئي رباعي الكربون إلى الكرازولي أو يجمع بينهما في نفس الوقت وهو جنس الرجلة (*Portulaca spp.*) (25).

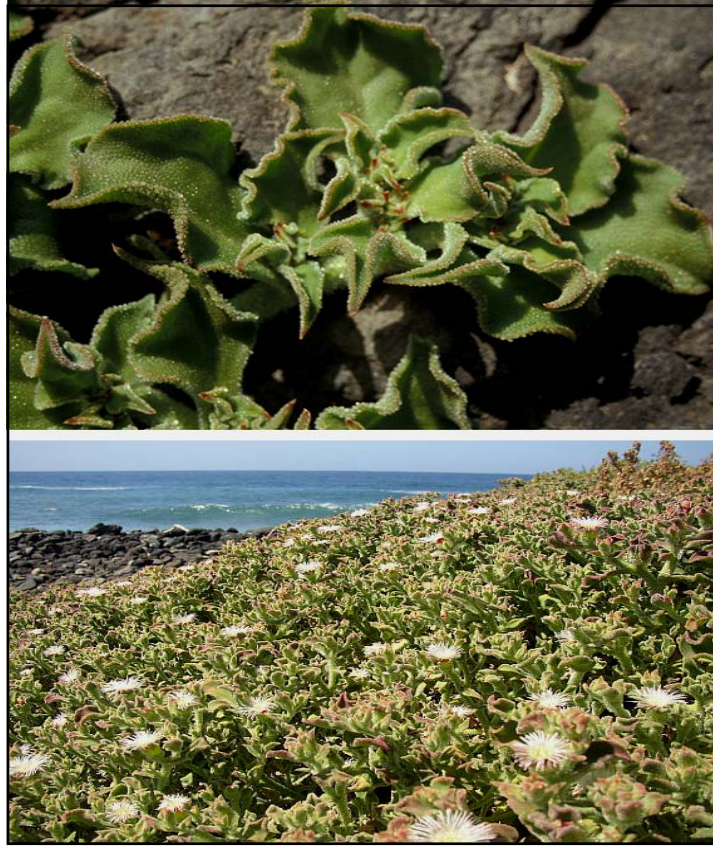
تعيش النباتات الكرازولية في بيئات متغيرة المحتوى المائي بين الوفرة والندرة، وتستفيد من قدرتها على التحول من البناء الضوئي ثلاثي الكربون إلى الكرازولي عند الحاجة، أي عند ندرة الماء في التربة (26). وأثناء الإجهاد المائي الشديد تلجأ بعض النباتات إلى غلق الثغور ليلاً ونهاراً للحفاظ على الماء، بينما

يتغير أيضاً تركيز المالات على مدار اليوم، وبهذا تتجنب تراكم الطاقة، وتلف منظومة البناء الضوئي، كما تضمن سرعة العودة إلى الحالة الطبيعية فور توفر الماء^{(27) و (28) و (29)}.

توجد النباتات ذات البناء الضوئي الكرازولي في المناطق المدارية والمناطق القاحلة، ولكنها تندر في المناطق غزيرة الماء أو الباردة. كما تندر أو تكاد تنعدم في الصحاري الباردة مثل صحراء سيبيريا⁽³⁰⁾. يدل هذا على أن البناء الضوئي الكرازولي ذو علاقة بتحمل الإجهاد المائي. ورغم ذلك، تنمو بعض النباتات ذات البناء الضوئي الكرازولي في بيئات غزيرة الماء العذب مثل الأيزويتس (Isoetes). يثبت هذا النبات ثاني أكسيد الكربون ليلاً عن طريق امتصاص ثاني أكسيد الكربون أو البيكربونات من الماء، ثم يعيد تحريره نهاراً ليدخله إلى دورة كالفن. والهدف من البناء الضوئي الكرازولي هنا ليس التكيف للإجهاد المائي، ولكنه التكيف للتغيرات اليومية لتركيز ثاني أكسيد الكربون في الماء. فخلال النهار ينضب ثاني أكسيد الكربون في الماء نظراً لاستهلاكه بواسطة النباتات الأخرى، بينما يتزايد تركيزه خلال الليل لتوقف تلك النباتات عن تثبيته (إلا إذا كانت كرازولية أيضاً!) فتكون الفرصة مواتية للأيزويتس لامتصاص ثاني أكسيد الكربون ليلاً بلا منازع⁽³¹⁾. لذلك يبدو أن الهدف من البناء الضوئي الكرازولي هو التكيف للإجهاد المائي، وأيضاً التكيف لعوامل بيئية أخرى منها، نقص تركيز ثاني أكسيد الكربون في الوسط المحيط.

تتضح أهمية البناء الضوئي الكرازولي للتكيف للإجهاد المائي من خلال تحول بعض النباتات من البناء الضوئي ثلاثي (مثل نبات الثلج: *Mesembryanthemum crystallinum*) أو رباعي الكربون (نبات الرجل: *Portulaca spp.*) إلى البناء الضوئي الكرازولي عند التعرض للإجهاد المائي. ويمكن أن يلاحظ ذلك من خلال المشاهدات الحقلية للمجتمعات النباتية. في فصل الربيع تنمو العديد من النباتات الحولية في المناطق الصحراوية التي تحظى ببعض المطر. تنمو هذه النباتات سريعاً لتتم دورة حياتها مع بداية الصيف وقبل اشتداد الجفاف. من بين تلك النباتات نبات الثلج. يستطيع الثلج (شكل 4-9) أن يبقى حياً بعد موت غالبية النباتات

المصاحبة له خلال فصل الصيف رغم الجفاف أو الملوحة أو كليهما لمدد قد تصل إلى أسابيع بفضل تحوله من البناء الضوئي ثلاثي الكربون إلى الكرازولي.



شكل رقم (9/4) نبات الثلج (*Mesembryanthemum crystallinum*) (الجزء العلوي) وعشيرة منه نامية في بيئة ساحلية (الجزء السفلي). (35) و(36) بالترتيب.

4-7 تفعيل جينات البناء الضوئي الكرازولي وعلاقته بالإجهاد المائي:

يستلزم تحول النبات من البناء الضوئي ثلاثي أو رباعي الكربون إلى الكرازولي، تنشيط جينات جديدة، أو تجنيد العديد من الجينات التي تعمل عادة ضمن منظومة البناء الضوئي السابقة. توجد عدة نظائر للفوسفينول بيروفات كربوكسيليز تنتجها أربعة جينات، وتسمى فصيلة الفوسفينول بيروفات

كربوكسيليز. تنشط نظائر الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز الخاصة بالبناء الضوئي الكرازولي في النباتات الإجمارية أو الاختيارية، بينما لا يتغير تفعيل جينات النظائر الباقية التي تقوم بوظائف غير متعلقة بالبناء الضوئي ⁽³²⁾ و ⁽³³⁾). وبالمثل توجد عدة عائلات جينية لإنزيمات أخرى يختص بعضها بإنزيمات خاصة بالبناء الضوئي الكرازولي، والبعض الآخر بنظائر تؤدي وظائف دون المشاركة في البناء الضوئي الكرازولي. وعند التحول للبناء الضوئي الكرازولي تنشط النظائر الخاصة به دون غيرها.

في مقابل ذلك، قد يعمل الإنزيم ذاته في كل من البناء الثلاثي الكربوني أو الكرازولي، على سبيل المثال البيروفات أرتوفوسفات داي كاينيز (Pyruvate orthophosphate dikinase: PPK) كما يؤدي التحول إلى البناء الضوئي الكرازولي إلى زيادة نشاط إنزيمات تحلل النشا لتوفير البيروفات كمستقبل لثاني أكسيد الكربون ⁽³⁴⁾.

ينشط الإجهاد الملحي أو الأسموزي النسبة الأكبر من جينات البناء الضوئي الكرازولي، بينما يزداد تفعيل القليل منها استجابة للإجهاد المائي ولمؤثرات أخرى مثل حمض الأبسيسك أو التأقت اليومي (Circadian rhythm) (مسح مرجعي في ⁽³⁷⁾). وتنظيم تفعيل تلك الجينات يشمل بشكل أساسي زيادة نسخها في غضون ساعات من بداية الإجهاد كما في نبات الثلج ⁽³⁸⁾. في هذا النبات، يزداد معدل نسخ جينات البناء الضوئي الكرازولي بمقدار ستة أضعاف أثناء التحول من البناء الضوئي الثلاثي الكربوني إلى الكرازولي عند التعرض للإجهاد الملحي ⁽³⁹⁾ و ⁽⁴⁰⁾ و ⁽⁴¹⁾. ويعتمد مقدار الزيادة في معدل نسخ جينات البناء الضوئي الكرازولي على درجة الإجهاد والمرحلة التطورية للنبات ⁽⁴²⁾ و ⁽⁴³⁾ و ⁽⁴⁴⁾). وفي حالة الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز يعقب الزيادة في معدل النسخ زيادة في معدل الترجمة، وبالتالي في كمية البروتين الإنزيمي. رغم ذلك مازالت المعلومات المتاحة عن الآلية الجزيئية لتنشيط وتنظيم تفعيل جينات البناء الضوئي الكرازولي أثناء الإجهاد المائي محدودة.

لا يقتصر تنشيط جينات البناء الضوئي الكرازولي على زيادة معدل نسخها، بل يمتد أيضًا إلى ما بعد النسخ (Posttranscriptional control) من

خلال التحكم في مدى ثبات mRNA الناتج. فزيادة ثبات mRNA قد يؤدي إلى زيادة كمية البروتين الناتج من الترجمة عن طريق ترجمة نفس جزيء mRNA مرات عديدة. رغم أن معدل تخليق البروتينات عموماً ينخفض أثناء التحول إلى البناء الضوئي الكرازولي، إلا أن معدل تخليق بعض البروتينات مثل الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز الخاص بالبناء الضوئي الكرازولي يزداد.

كما ينظم النبات نشاط البروتين الإنزيمي بعد إتمام عملية الترجمة (Posttranslational control) عن طريق الفسفرة، كما في الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز. فهذا الإنزيم يبقى مفسفراً خلال الليل، مما يجعله أكثر قابلية للبيروفات وأقل حساسية لتراكم المالات (وبالتالي أكثر قدرة على إنتاجها عن طريق تثبيت ثاني أكسيد الكربون في البيروفات)، بينما لاتزال الفسفرة نهائياً، فيصبح الإنزيم أكثر حساسية للمالات، ولذلك يبقى مثبطاً نهائياً طالما لم تستهلك المالات التي أنتجها خلال الليل⁽⁴⁵⁾ و⁽⁴⁶⁾. وبالتوافق مع عملية فسفرة الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز يزداد تفعيل الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز كابينيز (Phosphoenolpyruvate carboxylase kinase) أثناء الإجهاد المائي لنبات الثلج. ليس هذا فحسب، بل يزداد معدل نسخه ليلاً، حيث يجب أن يفسفر الفوسفينول بيروفات كربوكسيليز، بمقدار 20 مرة مقارنة بمعدل نسخه نهائياً⁽⁴⁷⁾.

REFERENCES

المراجع

- (1) Fahn A (1990). Plant Anatomy. Fourth edition. Pergamon Press.
- (2) Jenks MA and Hasegawa PM (eds) (2005). Plant Abiotic stress. Blackwell Synergy.
- (3) Abogadallah GM (2003). Genetic impact of plant water stress. PhD thesis, Mansoura University, Egypt.
- (4) Meloni DA, Gulotta MR, Martinez CA and Oliva MA (2004). The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Brazilian Journal of Plant Physiology* **16**: 39-46.
- (5) Poremski S and Barthlott W (2000). Granitic and gneissic outcrops (Inselbergs) as centers of diversity for desiccation tolerant vacular species. *Plant Ecology* **151**: 19-28.
- (6) Black M and Pritchard HW (eds) (2002). Desiccation and survival in plants: drying without dying. CABI Publishing New York.

- (7) Poni S, Bernizzoni F and Civardi S (2007). Response of “Sangiovese” grapevines to partial root-zone drying: Gas-exchange, growth and grape composition. *Scientia Horticulturae* **114**: 96-103
- (8) Leymarie J, Lasceve G and Vavasseur A (1999). Elevated CO₂ enhances responses to osmotic stress and abscisic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and Environment* **22**: 301-308.
- (9) Gowing DJG, Davies WJ and Jones HG (1990). A positive root sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1535–1540.
- (10) Brodribb TJ and Holbrook NM (2003). Stomatal closure during leaf dehydration, correlation with other leaf physiological traits. *Plant Physiology* **132**: 2166–2173.
- (11) Brodribb TJ and Holbrook NM (2005). Water stress deforms tracheids peripheral to the leaf vein of a tropical conifer. *Plant Physiology* **137**: 1139–1146.
- (12) Zimmermann MH (1983). Xylem Structure and the Ascent of Sap. Springer Verlag, Berlin.
- (13) Sperry JS and Tyree MT (1988). Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**: 581–587.
- (14) Kaiser WM (1987). Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum* **71**: 142-149.
- (15) Cornic G and Briantais JM (1991). Partitioning of photosynthetic electron flow between CO₂ and O₂ reduction in C₃ leaf (*Phaseolus vulgaris* L.) at different CO₂ concentration and during drought stress. *Planta* **183**: 178-174.
- (16) Quick WP, Chaves MM, Wendler R, David M, Rodrigues ML, Passaharinho JA, Pereira JS, Adcock MD, Leegood RC and Stitt M (1992). The effect of water stress on photosynthetic carbon metabolism in four species grown under field conditions. *Plant, Cell and Environment* **15**: 25-35.
- (17) Wingler A, Quick WP, Bungard RA, Bailey KJ, Lea PJ and Leegood RC (1999). The role of photorespiration during drought stress: an analysis utilizing barley mutants with reduced activities of photorespiratory enzymes. *Plant, Cell and Environment* **22**: 361-373.
- (18) Matsuoka M, Furbank R, Fukayama H and Miyao M (1999). Molecular engineering of C₄ photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**: 297-314.
- (19) Bird IF, Cornelius MJ And Keys AJ (1977). Effects of temperature on photosynthesis by maize and wheat. *Journal of Experimental Botany* **28**: 519-524.

- (20) Long SP (1978). The Responses of net photosynthesis to light and temperature in *Spartina townsendii* (sensu lato), a C4 Species from a Cool Temperate Climate. *Journal of Experimental Botany* **29**: 803-808.
- (21) Carom-Silva AE, Powers SJ, Keys AJ, Arrabaca MC and Parry MA (2008). Photorespiration in C4 grasses remains slow under drought conditions. *Plant, Cell and Environment*. **21**: 1123–1131.
- (22) www.naschools.net.
- (23) Griffiths H, Broadmeadow MSJ, Borland AM and Hetherington CS (1990). Short-term changes in carbon isotope discrimination identify transitions between C3 and C4 carboxylation during Crassulacean acid metabolism. *Planta* **181**: 604–610.
- (24) Borland AM and Griffiths H (1997). A comparative study on the regulation of C3 and C4 carboxylation processes in the constitutive crassulacean acid metabolism (CAM) plant *Kalanchoe diargremontiana* and the C3–CAM intermediate *Clusia minor*. *Planta* **201**: 368–378.
- (25) Koch KE and Kennedy RA (1980). Characteristics of Crassulacean acid metabolism in the succulent C4 dicot, *Portulaca oleracea* L. *Plant Physiology* **65**: 193-197.
- (26) Sipes D and Ting IP (1985). Crassulacean acid metabolism and Crassulacean acid metabolism modifications in *Peperomia camptotricha*. *Plant Physiology* **77**: 59–63.
- (27) Ting IP (1985). Crassulacean acid metabolism. *Annual Review of Plant Physiology* **36**: 595–622.
- (28) Bastide B, Sipes D, Hann J and Ting IP (1993). Effect of severe water stress on aspects of crassulacean acid metabolism in *Xerosicyos*. *Plant Physiology* **103**: 1089–1096.
- (29) Borland AM (1996). A model for the portioning of photosynthetically fixed carbonduring the C-3-CAM transition in *Sedum telephium*. *New Phytologist* **134**: 433–444.
- (30) Kluge M and Ting I P (1978). Crassulacean acid metabolism. Analysis of an ecological adaptation. Berlin: Springer-Verlag.
- (31) Keeley J E (1983). Crassulacean acid metabolism in the seasonally submerged aquatic *Isoetes howellii*. *Oecologia* **58**: 157-62.
- (32) Cushman JC, Meyer G, Michalowski CB, Schmitt JM and Bohnert HJ (1989). Salt stress leads to the differential expression of two isogenes of phosphoenolpyruvate carboxylase during Crassulacean acid metabolism induction in the common ice plant. *Plant Cell* **1**: 715–25.

- (33) Gehrig H, Taybi T, Kluge M and Brulfert J (1995). Identification of multiple PEPC isogenes in leaves of the facultative Crassulacean acid metabolism (CAM) plant *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. cv. Tom Thumb. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **377**: 399–402.
- (34) Paul MJ, Loos K, Stitt M and Ziegler P (1993). Starch-degrading enzymes during the induction of CAM in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant, Cell and Environment* **16**: 531–38.
- (35) <http://tncweeds.ucdavis.edu>.
- (36) <http://botany.cz/cs>.
- (37) Cushman JC and Bohnert HJ (1999). Crassulacean acid metabolism: molecular genetics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **50**: 305–332.
- (38) Schmitt JM (1990). Rapid concentration changes of phosphoenolpyruvate carboxylase mRNA in detached leaves of *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant, Cell and Environment* **13**: 845–50.
- (39) Cushman JC (1993). Molecular cloning and expression of chloroplast NADP malate dehydrogenase during Crassulacean acid metabolism induction by salt stress. *Photosynthesis Research* **35**: 15–27.
- (40) Vernon DM, Ostrem JA and Bohnert HJ (1993). Stress perception and response in a facultative halophyte: the regulation of salinity-induced genes in *Mesembryanthemum crystallinum*. *Plant, Cell and Environment* **16**: 437–44.
- (41) Forsthoefel NR, Cushman MAF and Cushman JC (1995). Posttranscriptional and posttranslational control of enolase expression in the facultative Crassulacean acid metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Physiology* **108**: 1185–95.
- (42) Cushman JC, Michalowski CB and Bohnert HJ (1990). Developmental control of Crassulacean acid metabolism inducibility by salt stress in the common ice plant. *Plant Physiology* **94**: 1137–42.
- (43) Piepenbrock M and Schmitt JM (1991). Environmental control of phosphoenolpyruvate carboxylase induction in mature *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Plant Physiology* **97**: 998–1003.
- (44) Schmitt JM and Piepenbrock M (1992). Regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase crassulacean acid metabolism induction in *Mesembryanthemum crystallinum* L. by cytokinin: modulation of leaf gene expression by roots? *Plant Physiology* **99**: 1664–69.
- (45) Nimmo GA, Nimmo HG, Hamilton ID, Fewson CA and Wilkins MB (1987). Persistent circadian rhythms in the phosphorylation state of phosphoenolpyruvate

carboxylase from *Bryophyllum fedtschenkoi* leaves and in its sensitivity to inhibition by malate. *Planta* **170**: 408–15.

(46) **Jiao J-A and Chollet R** (1991). Posttranslational regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase in C4 and Crassulacean acid metabolism plants. *Plant Physiology* **95**: 981–85.

(47) **Hartwell J, Smith LH, Wilkins MB, Jenkins GI and Nimmo HG** (1996). Higher plant phosphoenolpyruvate carboxylase kinase is regulated at the level of translatable mRNA in response to light or a circadian rhythm. *Plant Journal* **10**

الفصل الخامس

الاتزان الأسموزي.. والقصر الأيوني

5-1 مقدمة:

ينتقل الماء من محلول التربة إلى النبات بسبب سالبية جهد النبات المائي بالنسبة لمحلول التربة. والجهد المائي لمحلول التربة، يتغير دائماً نظراً لتغير محتوى التربة من الماء، وتركيز الأملاح المذابة به. الجهد المائي للتربة عند السعة المائية الحقلية يساوي -0.2 ميغا باسكال تقريباً إذا كان تركيز الأملاح الذائبة أقل من 40 ملي مولار. وبالطبع يقل الجهد المائي للتربة بانخفاض محتواها المائي، أو زيادة تركيز الأملاح الذائبة أو كليهما.

تستطيع النباتات أن تغير جهدها المائي، بحيث تبقى قادرة على امتصاص الماء من التربة رغم تغير جهدها المائي. في الظروف الحقلية يتبخر الماء بشكل تدريجي من التربة، ويقل جهدها المائي أيضاً بالتدرج. مواكبة لذلك أن تخفض النباتات جهدها المائي، بحيث يكون أقل من الجهد المائي لمحلول التربة. ومع استمرار انخفاض الجهد المائي للتربة قد لا يستطيع النبات مواصلة خفض جهده المائي، فيعجز عن امتصاص الماء، ويبدأ في الذبول. رغم ذلك إذا توافر الماء في التربة عند هذه المرحلة، قد يعاود النبات امتصاص الماء، وتزول أعراض نقص الماء، فالذبول في هذه الحالة مؤقت. أما إذا بقيت التربة جافة لمدة طويلة، يذبل النبات بشكل مستديم ويموت.

تختلف درجة تحمل النباتات لجفاف التربة. فالنباتات الصحراوية أكثر تحملاً من النباتات الوسطية. ويرجع هذا الاختلاف إلى أسباب عديدة منها، وجود آليات أكثر كفاءة لدى النباتات الصحراوية لخفض الجهد المائي لأنسجة النبات، بحيث تكون متزنة أسموزياً مع محلول التربة، أي قادرة على امتصاص

الماء منها. يحدث الاتزان الأسموزي عن طريق تراكم مركبات خاصة تتميز بصغر أوزانها الجزيئية وشرائتها للذوبان في الماء، مما يمنع دخولها في الأغلفة المائية للبروتينات. لهذا تتميز هذه المركبات بعدم قابليتها للتفاعل مع البروتينات، وهي بالتالي لا تسبب ضرراً للخلية حتى إذا وجدت بتركيزات عالية. هذه المركبات هي المذابات المتوائمة (Compatible solutes).

تؤدي المذابات المتوائمة وظيفتين مهمتين، أولاًهما: خفض الجهد الأسموزي للبروتوبلاست - أي تجعله أكثر سائلة - بحيث ينخفض أيضاً الجهد المائي، فتصبح الخلية بالتالي أكثر قدرة على امتصاص الماء. والوظيفة الأخرى هي: حماية بروتينات وأغشية الخلية من الضرر الناتج عن نقص المحتوى المائي. بعض المذابات المتوائمة تؤدي كلتا الوظائف، خاصة إذا كانت موجودة بتركيزات كبيرة تكفي لتغيير الجهد الأسموزي للخلية، والبعض الآخر الذي يوجد بتركيزات أقل من أن تغير الجهد الأسموزي يعمل كدروع أسموزية تحمي أغشية وبروتينات الخلية.

والعامل الأساسي الذي يحكم الجهد المائي لمحلل التربة بالإضافة إلى محتواها المائي، هو تركيز الأملاح الذائبة. ومساحات الأراضي المتأثرة بالملوحة عالمياً ليست قليلة، إذ تبلغ 800 مليون هكتار، أي حوالي 2000 مليون فدان. هذه المساحة تكافئ حوالي 6% من مساحة اليابسة⁽¹⁾. تنشأ الأملاح نتيجة تعرية الصخور، مما يسبب انطلاق كلوريدات الصوديوم والكالسيوم والماغنسيوم بشكل أساسي، بالإضافة إلى الكبريتات والبيكربونات⁽²⁾. وكلوريد الصوديوم هو الأكثر غزارة بين هذه الأملاح. المصدر الثاني للملوحة هو ترسيب الأملاح المحمولة بالرياح من البحار والمحيطات على الأراضي القريبة من الشواطئ. يحتوي ماء المطر على 6-50 ملي جرام/لتر كلوريد صوديوم، ويقل هذا التركيز بالابتعاد عن الشاطئ. يرسب المطر الذي يحتوي على 10 ملي جرام/لتر كلوريد صوديوم 10 كجم من الملح لكل 100 مم مطر في الهكتار سنوياً، مما يساهم في زيادة ملوحة التربة على المدى البعيد⁽³⁾. على أن النشاط الزراعي يؤدي أيضاً إلى ارتفاع نسبة الملوحة بالتربة نظراً لارتفاع منسوب الماء الأرضي بالري المتكرر، وما يترتب عليه من تبخر الماء،

وبالتالي تركيز الأملاح في الطبقات السطحية من التربة، حيث تنمو جذور النباتات.

يسبب جفاف التربة إجهاداً أسموزياً للنبات، أما ملوحة التربة فتسبب إجهاداً ملحياً، بالإضافة إلى الشق الأسموزي. فوجود تركيزات مرتفعة من الأملاح في التربة يقلل جهدها المائي حتى لو كان محتواها المائي كبيراً. كما أن هذه الأملاح تمتصها الجذور، ومن ثم تنتقل عبر الخشب إلى المجموع الخضري، فتشبط الإنزيمات وتخل بوظائف الأغشية الخلوية. هذا الإجهاد يستلزم بالإضافة إلى الاتزان الأسموزي أن تكون الخلية قادرة على إزالة الأيونات (غالباً أيونات الصوديوم والكلور) من البروتوبلاست، إما بطردها خارج الخلية أو بقصرها في الفجوة العصارية، حتى تقلل من تواجدها في السيتوبلازم.

تزداد مشكلة ملوحة التربة تعقيداً في الأراضي سيئة الصرف، حيث يزداد معدل تراكم الأملاح. توجد هذه المشكلة بوضوح في المجتمعات والدول الفقيرة، حيث يحول الفقر والتخلف التقني دون الإدارة الجيدة للأرض. وتشكل الملوحة المتزايدة مشكلة في حوالي 20% من إجمالي مساحة الأراضي التي تعتمد على الري عالمياً. ورغم أن الأراضي المعتمدة على الري تشكل 15% من إجمالي المساحات المزروعة عالمياً، فإن تنتج حوالي ثلث الغذاء العالمي، نظراً لارتفاع إنتاجيتها مقارنة بالأراضي التي تعتمد على المطر. لذلك تشكل الملوحة المتزايدة بما تسببه من انخفاض إنتاجية الأرض تهديداً حقيقياً، خاصة للدول الفقيرة التي تعاني من نقص مواردها المائية.

والوطن العربي من المناطق التي تعاني بالفعل من جفاف وملوحة الأرض. تقدر المساحة الإجمالية للوطن العربي بحوالي 1402 مليون هكتار (أي ما يعادل حوالي 14 مليون كيلومتر مربع). ولا تتجاوز مساحة الأراضي القابلة للزراعة منها سوى 197 مليون هكتار، وهو ما يعادل نسبة 14.1% من المساحة الكلية للوطن العربي. وتشير الإحصائيات إلى أن المساحة الزراعية الكلية في المنطقة العربية وصلت عام 2000 حوالي 70 مليون هكتار فقط،

ويعني ذلك، أن حوالي ثلثي الرقعة الأرضية القابلة للزراعة في الوطن العربي لا يزالان غير مستغلين.

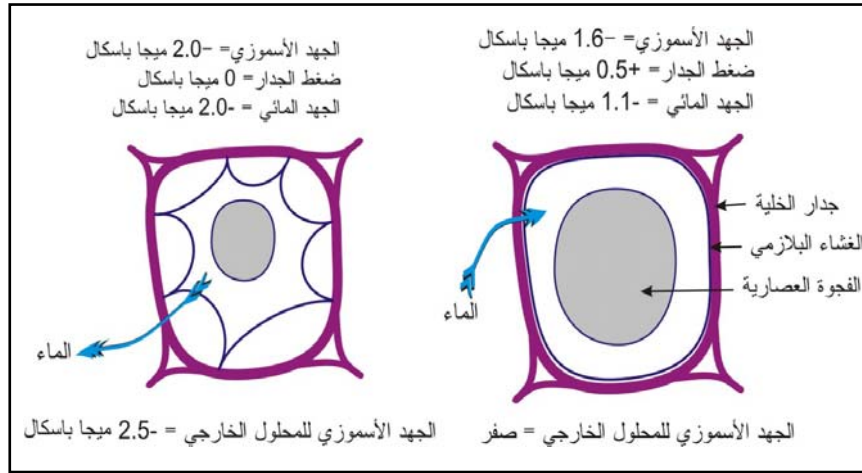
في مصر على سبيل المثال، ينحصر النشاط الزراعي في وادي النيل، ومناطق متفرقة من الصحراء الشرقية والغربية وسيناء. والسبب الرئيسي في ذلك هو نقص المياه، رغم أن الإدارة الجيدة وتوافر الخبرات يمكن أن يؤديا إلى زيادة كبيرة في مساحة الأراضي الزراعية. ليس هذا فحسب، بل تتزايد ملوحة التربة بشكل مزعج في أراضي الدلتا خاصة القريبة من شاطئ البحر المتوسط، مما يقلل إنتاجيتها بل وصلاحياتها لمحاصيل معينة. النتيجة الحتمية لذلك هي نقص موارد الغذاء بشكل حاد. وبحسب إحصائيات مركز التعبئة والإحصاء المصري تستورد مصر حوالي 85% من احتياجاتها من زيوت الطعام، وحوالي 40% من احتياجاتها من القمح.

5-2 كيف يعمل الاتزان الأسموزي؟

إذا وضعت خلية نباتية في ماء نقي تمتص الماء نظرًا للفرق في الجهد المائي بينهما. فالجهد المائي للماء النقي يساوي صفرًا، بينما يزيد على ذلك داخل الخلية بسبب وجود مواد ذائبة في سيتوبلازم الخلية، مما يقلل جهدها الأسموزي (شكل 5-1). ولكن امتصاص الخلية للماء لا يستمر حتى يتعادل جهدها الأسموزي مع الجهد الأسموزي للماء! بل يستمر حتى يتعادل جهدهما المائي. يزيد حجم بروتوبلاست الخلية بدخول الماء، ومن ثم يضغط على جدار الخلية ويدفعه للتمدد. ولكن تمدد جدار الخلية يتوقف عند حجم معين، حيث يزداد ضغط امتلائها فيعادل ضغطها الأسموزي، وتكون الخلية عندئذ في حالة امتلاء تام. عند هذه النقطة يصبح الجهد المائي للخلية صفرًا فيتوقف امتصاصها للماء.

ولكن إذا وضعت هذه الخلية في محلول ملحي مركز، يخرج الماء من الخلية أيضًا بدافع الفرق في الجهد المائي (شكل 5-1). ولكن خروج الماء لا يستمر حتى تجف الخلية تمامًا، بل يتوقف عند حد معين، إذ يؤدي خروج الماء إلى تركيز المواد المذابة في الخلية، مما يقلل جهدها الأسموزي والمائي. وعند تعادل الجهد المائي للخلية مع المحلول الخارجي، يتوقف خروج الماء. يصاحب

خروج الماء من الخلية انكماش البروتوبلاست، ويبدو ذلك واضحاً على حجم الفجوة العصارية، ولذلك يهبط ضغط جدارها إلى الصفر سريعاً، وتكون الخلية عندئذ في حالة بلزمة (Plasmolysis). والبلزمة هي شكل من أشكال الفقد الشديد للامتلاء. على أن ضغط جدار الخلية يصل إلى الصفر قبل أن تبدأ البلزمة.

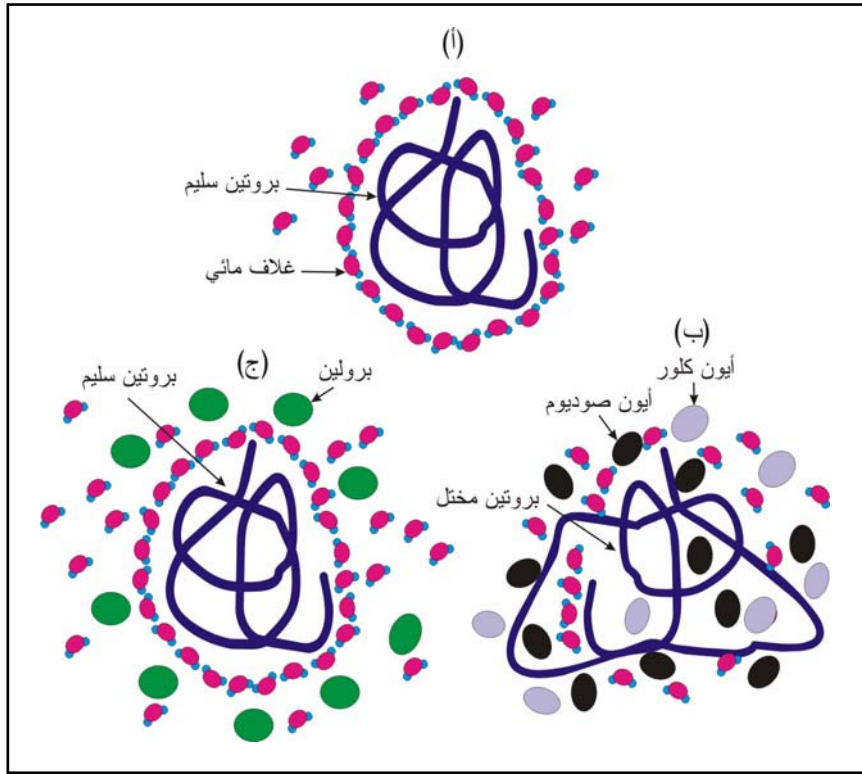


شكل رقم (1/5) يدخل الماء النقي للخلية حتى يصل جهد الماءي للصفر والامتلاء التام، بينما يخرج منها إذا وضعت في محلول ملحي جهده الماءي -2.5 ميغاباسكال حتى يتعادل جهدها الأسموزي مع المحلول الخارجي.

تتعرض النباتات التي تنمو في تربة جافة أو مالحة لظروف مماثلة للخلية التي وضعت في محلول ملحي مركز، من حيث تواجد جذورها في تربة منخفضة الجهد الماءي. يمكن لهذه النباتات أن تتجنب الذبول إذا نجحت في خفض جهدها الأسموزي، بحيث تحافظ على جهد مائي سالب بالنسبة لمحلول التربة، إذ لا يستطيع الجذر امتصاص الماء من التربة ما لم يكن جهده الماءي أقل من جهد محلول التربة الماءي.

في حالة جفاف التربة، يكفي للنبات أن يراكم المذابات المتوائمة في بروتوبلاست الخلايا لخفض جهدها الأسموزي، ومن ثم جهدها الماءي، أما في التربة المالحة فلا بد للنبات - بالإضافة لما سبق - أن يتخلص من أيونات الصوديوم والكلور التي تدخل إلى الخلايا رغماً عنها، إما بإعادة ضخ هذه

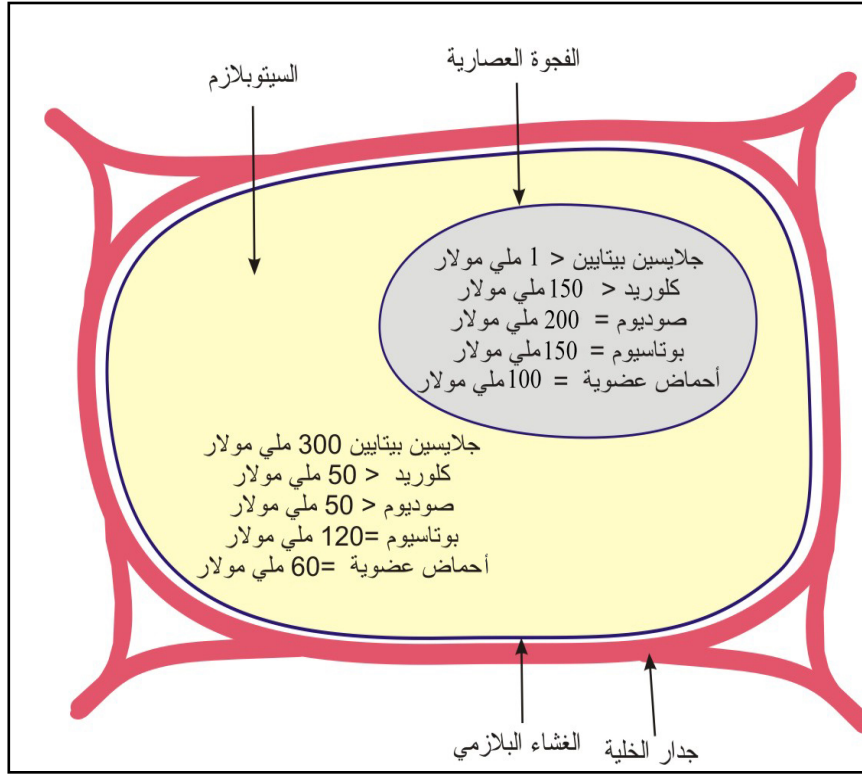
الأيونات إلى خارج النبات أو بحصر هذه الأيونات في الفجوة العصارية عن طريق إنزيمات متخصصة. هذا بهدف الحد من تواجد الأيونات في السيتوبلازم، إذ تخل بالشكل الفراغي للبروتينات بانحشارها في الأغلفة المائية لجزيئات البروتين، فتسبب هبوطاً في نشاطها، بخلاف المذابات المتوائمة التي لا تشكل خطراً بتواجدها مع بروتينات الخلية (شكل 5-2).



شكل رقم (2/5) (أ) بروتين محاط بغلاف مائي ذي شكل فراغي طبيعي. (ب) بروتين مختل الشكل الفراغي بسبب تداخل أيونات الصوديوم والكلور في غلافه المائي. (ج) بروتين سليم رغم وجود جزيئات البرولين حوله لأنها لا تتداخل في غلافه المائي بل تفضل تكوين أغلفة مائية خاصة بها نظراً لذوبانيتها العالية في الماء.

تلجأ الكثير من النباتات الملحية إلى حصر الأيونات في الفجوات العصارية، بل تعتمد عليه في حل مشكلة ملوحة التربة. تمتص هذه النباتات كميات كبيرة من كلوريد الصوديوم، وتدخلها إلى الفجوات العصارية، فينخفض

الجهد المائي للخلايا بشكل كبير، مقارنة بمحلول التربة. ولكن يصبح عندئذ الجهد المائي للفجوة العصارية أقل منه السيتوبلازم، مما يعني أن الفجوة ستجفف السيتوبلازم. ولكي يتعادل الجهد المائي السيتوبلازم مع الفجوة العصارية يراكم النبات المذابات المتوائمة في السيتوبلازم. بذلك يستطيع النبات أن يخفض جهده المائي كلما انخفض الجهد المائي لمحلول التربة، إما بسبب الجفاف أو الملوحة أو كليهما (شكل 3-5).



شكل رقم (3/5) خلية من ورقة نبات السبانخ (*Spinacia oleracea*) المجهد ملحيًا. تتراكم أيونات الصوديوم والكلور بتركيزات كبيرة في الفجوة العصارية وبتراكيز أقل في السيتوبلازم، بينما تتركز المذابات المتوائمة (منها هنا الجلايسين بيتاين) في السيتوبلازم.

ولكن لماذا لا تعتمد النباتات النامية في تربة مالحة على المذابات المتوائمة بشكل كلي لضبط جهدها المائي؟ السبب في ذلك أن تخليق المذابات

المتوائمة يحتاج إلى استهلاك جزء من ميزانية النبات من الطاقة والكربون والنيتروجين، مما يقلل من معدل نمو النبات، خاصة إذا كان الإجهاد شديداً. أما توظيف الأيونات، فهو أقل تكلفة، إذ يستلزم فقط طاقة لضخها إلى الفجوة العصارية، وقدرة على تنشيط الإنزيمات اللازمة لذلك. ربما يفسر هذا زيادة تحمل بعض النباتات الملحية مثل الأتريلكس للجفاف، إذا تواجد كلوريد الصوديوم في التربة ولو بتركيزات قليلة. هذا النبات يمتص الصوديوم سريعاً، ويستخدمه في خفض جهده المائي، فيتحسن معدل امتصاص الجذور للماء، وبالتالي يزداد معدل النمو.

يعتمد الجهد الأسموزي للخلية على محصلة الجزيئات أو الأيونات الموجودة حتى لو كانت لمركبات مختلفة. لذلك تلجأ النباتات أثناء الإجهاد إلى مراكمة أنواع مختلفة من المذابات المتوائمة في السيتوبلازم، وأيضاً في عضيات الخلية مثل البلاستيدات والميتوكوندريا. تعمل هذه المذابات المتوائمة إما لخفض الجهد الأسموزي أي تجعله أكثر سالبية خاصة إذا كانت تركيزاتها مرتفعة أو لحماية البروتينات والأغشية الخلوية، وقد تؤدي كلتا الوظيفتين. تتنوع المذابات المتوائمة من فصيلة نباتية لأخرى، ومن نبات لآخر، وتختلف في ذات النبات حسب نوع الإجهاد، ومن أهمها:

- 1- السكريات البسيطة مثل المانيتول والبنيتول والسكرور وال تريهالوز وغيرها.
- 2- الأحماض الأمينية البروتينية (التي تدخل في تركيب البروتينات) وغير البروتينية ومن أشهرها البرولين.
- 3- المركبات النيتروجينية مثل الجلايسين بيتاين والألانين بيتاين والبولي أمينات. والجزء التالي يصف بعض هذه المركبات ودورها في الاتزان الأسموزي.

5-3 سكريات الاتزان الأسموزي:

السكريات مكون من مكونات الأيض الأساسي في النبات. غير أن بعض السكريات تعمل كمذابات متوائمة أثناء الإجهاد المائي، إما بهدف الاتزان

الأسموزي، أو حماية البروتينات والأغشية الخلوية أو كليهما. تختلف طبيعة السكريات التي تتراكم أثناء الإجهاد من نبات لآخر، بل تختلف في نفس النبات حسب نوع الإجهاد. والهدف هنا ليس حصر هذه السكريات، ولكن سنكتفي بوصف بعض الأمثلة للسكريات الأكثر شيوعاً.

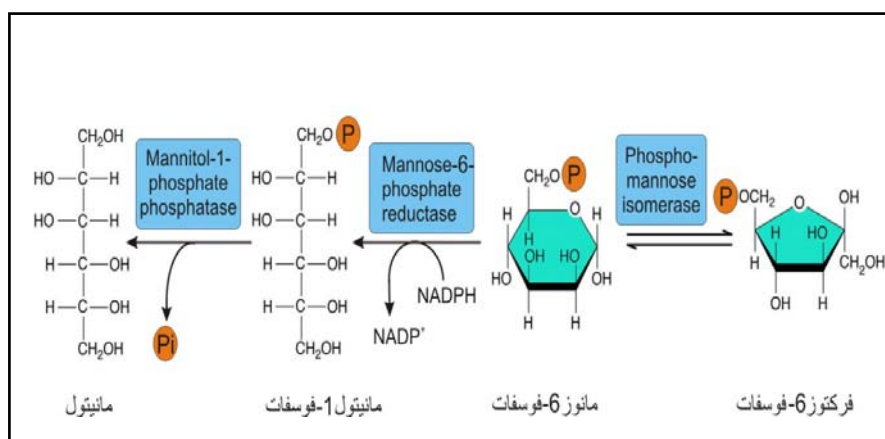
5-3-1 المانيتول:

المانيتول سكر كحولي (Sugar alcohol: Mannitol) ينتج من اختزال السكر السداسي مانوز (Mannose). يوجد المانيتول في الكثير من النباتات، ويزداد تركيزه أثناء الإجهاد الأسموزي. في بعض النباتات يعتمد تراكم المانيتول على تثبيط بعض المسارات المنافسة لتخليقه، والتي تؤدي إلى تخليق سكريات أخرى، كما يعتمد أيضاً على زيادة معدلات تخليقه وتثبيط هدمه. في نبات الكرفس (*Apium graveolens*) (شكل 5-4)، يثبط الإجهاد المائي تخليق السكروز، بينما لا يبدو أنه يؤثر في إنزيمات تخليق المانيتول (شكل 5-5)⁽⁴⁾. في نفس الوقت تتناقص معدلات استهلاك المانيتول في الأوراق والجذور الحديثة. كما يخفض الإجهاد المائي نشاط الإنزيم المؤكسد للمانيتول في الكرفس مانيتول ديهيدروجينيز (NAD-dependent mannitol dehydrogenase).

يتضح دور المانيتول في زيادة تحمل النبات للإجهاد المائي من خلال نقل أحد جينات تخليق المانيتول إلى نبات الدخان (*Nicotiana tabacum*). الطراز البري من هذا النبات لا يتحمل الإجهاد ولا ينتج المانيتول. عند نقل جين الإنزيم مانيتول -1- فوسفات ديهيدروجينيز (NAD-dependent mannitol-1-phosphate dehydrogenase) الذي يحول الفركتوز -6- فوسفات إلى مانيتول -1- فوسفات (بآلية مختلفة عما في شكل 5-5) من البكتيريا إلى الدخان، يصبح النبات قادراً على إنتاج المانيتول، ومن ثم يزداد تحمله للملوحة مقارنة بالطراز البري. رغم ذلك لا يبدو أن المانيتول من السكريات الشائعة في النباتات سواء في الظروف الطبيعية أو أثناء الإجهاد المائي.



شكل رقم (4/5) نبات الكرفس يراكم سكر المانيتول أثناء الإجهاد المائي⁽⁵⁾.



شكل رقم (5/5) أحد مسارات تخليق المانيتول في النبات.

5-3-2 البنيتول:

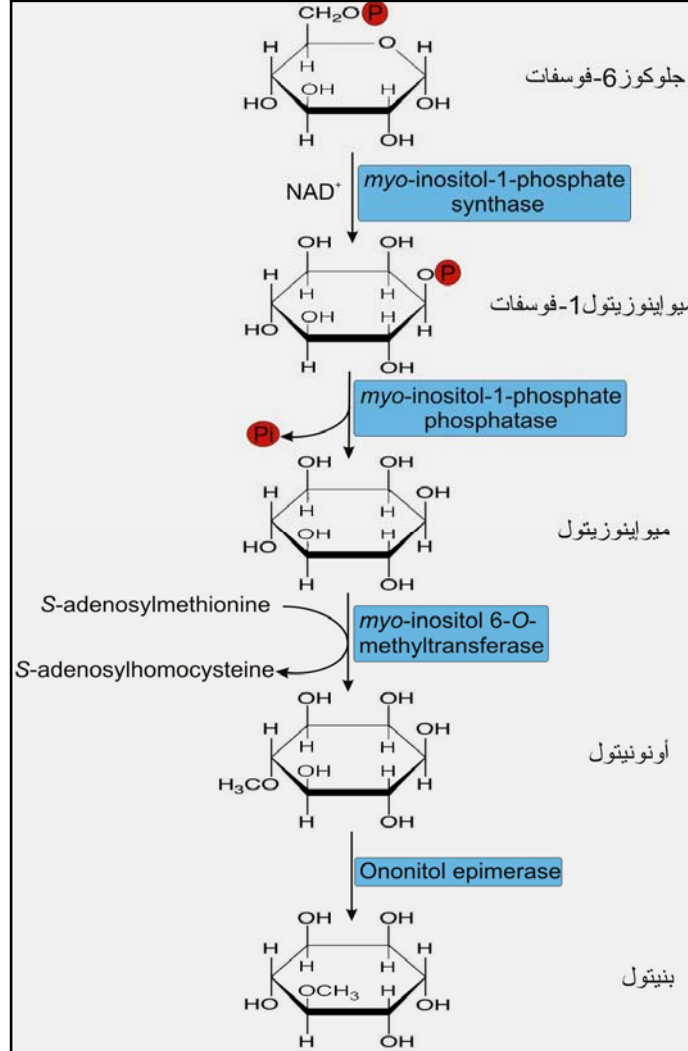
البنيتول سكر كحولي حلقي به سبع ذرات كربون، ويوجد في بعض الفصائل النباتية مثل البقولية والصنوبرية والقرنفلية وغيرها. يفوق تركيز البنيتول في النباتات الملحية والصحراوية تركيزه في النباتات الوسطية. في نبات السيسبان (*Sesbania sesban*) والتلج (*Mesembryanthemum crystallinum*) يزداد تركيز البنيتول عند تعرض النبات للإجهاد الملحي. ويتضح هذا بشكل أكبر في نبات التلج، حيث

يتراكم البنيتول، لدرجة أنه قد يشكل أكثر من 70% من إجمالي السكريات الذائبة عند نمو النبات في وجود 400 ملي مولار كلوريد صوديوم، بينما لا يتجاوز تركيز البنيتول 5% في النباتات غير المجهدة. ويتراكم البنيتول في السيتوبلازم والبلاستيدات الخضراء، وليس في الفجوات العصارية، مما يدل على أنه يعمل كمذاب متوائم.

يعتقد أن تخليق البنيتول يتم عن طريق إضافة مجموعة ميثايل إلى سكر الإينوزيتول بواسطة الإنزيم ميواينوزيتول 6-0-ميثايل ترانسفيراز (myo-inositol 6-O-methyltransferase)، مكوناً الأنونيتول (Ononitol) في النباتات مغطاة البذور أو السكويتول (Sequoyitol) في معرة البذور. كلا المركبين يتحول إلى البنيتول بواسطة إنزيم الإبيمرز (Epimerase) (شكل 5-6). في نبات الثلج يزداد معدل تفعيل جين الإنزيم ميواينوزيتول 6-0-ميثايل ترانسفيراز بمقدار 60 ضعف أثناء الإجهاد الملحي بالترافق مع تراكم البنيتول. كما أن نقل هذا الجين إلى الدخان يزيد كمية الأونونيتول به، مما يؤيد دوره في تخليق البنيتول وربما يحسن ذلك من تحمل النبات للإجهاد.

ومن المهم هنا، أن نشير إلى أن تراكم سكر بعينه لا يعني زيادة تحمل النبات بصورة مطلقة للإجهاد، لأن النباتات تعتمد عموماً على أنواع مختلفة من السكريات وليس سكرًا واحدًا كمذابات متوائمة، بالإضافة إلى مركبات أخرى متعددة (كما سيرد في الأجزاء التالية)، وبالتالي يمكن أن نتوقع أن زيادة قدرة نبات ما على مراكمة أحد السكريات، قد تؤدي فقط إلى زيادة طفيفة في تحمل النبات للإجهاد. كما أن هذه النباتات غالباً ما تختبر في ظروف عملية مختلفة عن الظروف الحقلية أثناء النمو الخضري للنبات، وعلى مدى فترة محدودة من حياته.

ربما تتطلب زيادة تحمل النباتات في الظروف الحقلية أكثر من مجرد زيادة قدرة النبات على مراكمة أحد السكريات. وحتى لو ثبت أن تراكم سكر ما يحسن تحمل النبات للإجهاد بشكل محسوس، فمن المهم اختبار هذا النبات تحت ظروف مماثلة للظروف الحقلية، وعلى مدى دورة حياة النبات كاملة. كما أنه من المهم تقييم أثر أي تعديل وراثي على إنتاجية النبات، سواء بدلالة النمو الخضري أو بدلالة إنتاج البذور أو الثمار.

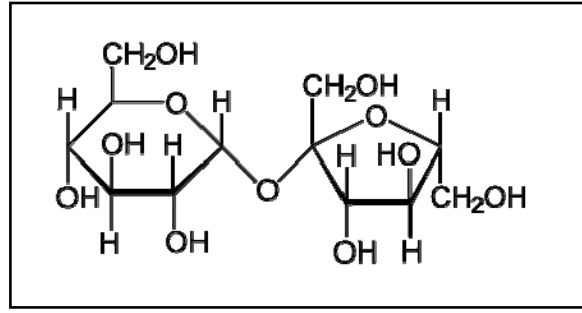


شكل رقم (6/5) تخليق البنيتول في النباتات مغطاة البذور. يزداد تفعيل جين الإنزيم ميوا إينوزيتول 6-0-ميثايل ترانسفيراز (*myo*-inositol 6-O-methyltransferase) أثناء الإجهاد الملحي لنبات الثلج مما يزيد من تراكم البنيتول.

5-3-3 السكروز:

السكروز (شكل 5-7) من أكثر المركبات تراكماً في النبات أثناء الإجهاد المائي. ربما يكون مصدر الكربون اللازم لتراكم السكروز من تحلل النشا. في

بازلاء الحمام (*Cajanus cajan*) وهو نبات بقولي يزداد نشاط الإنزيمات المحللة للنشا، وكذلك نشاط السكروز سينثيز (Sucrose synthase) والسكروز فوسفات سينثيز (Sucrose phosphate synthase) اللذين يشتركان في تخليق السكروز، ويصاحب ذلك زيادة محتوى النبات من السكروز. رغم ذلك لا يمكن القول بأن تراكم السكروز يساعد النبات فعلياً على مواصلة النمو بشكل فعال أثناء الإجهاد. فالسكروز يحتوي على كربون أكثر مقارنة بالسكريات الأبسط تركيباً مثل المانيتول أو البنيتول. وبدلالة الطاقة يعد أيضاً أكثر كلفة للنبات من تلك السكريات. لهذا يؤثر تراكم السكروز سلباً على معدل نمو النبات، رغم أنه يساعد على بقاء النبات حياً أثناء الإجهاد.



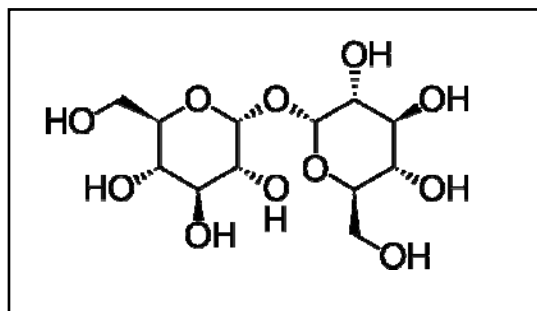
شكل رقم (7/5) السكروز من أكثر السكريات تراكمًا في النباتات أثناء الإجهاد.

5-3-4 التريهالوز:

التريهالوز سكر ثنائي (شكل 5-8)، وهو غير شائع في النباتات الزهرية. وغالبية النباتات الزهرية لا تستطيع مراكمة التريهالوز باستثناء النباتات المستحيا (Resurrection plants)⁽⁶⁾ بخلاف ذلك يلعب التريهالوز دوراً أساسياً في تحمل البكتيريا والخميرة للإجهاد المائي. ورغم وجود جينات تخليق التريهالوز في الأرابيدوبسيس فإنه يخلق كميات ضئيلة من هذا السكر.

تخلق البكتيريا والخميرة التريهالوز من خلال مسار ذي خطوتين. في الأولى يتكون التريهالوز -6- فوسفات من كل من الجلوكوز -6- فوسفات واليوردين ثنائي الفوسفات (Uridine diphosphate: UDP) بواسطة التريهالوز -6-

فوسفات سينثيز (Trehalose-6-phosphate synthase: TPS). وفي الأخرى يتحول التريهالوز -6- فوسفات إلى التريهالوز بعد إزالة مجموعة الفوسفات بواسطة الفوسفاتيز (Trehalose-6-phosphate phosphatase: TPP).



شكل رقم (8/5) التريهالوز يتكون من وحدتي جلوكوز.

كان دور التريهالوز في تحمل الإجهاد المائي في البكتيريا والخميرة دافعاً للباحثين لهندسة جيناته في النباتات الزهرية. غير أن زيادة قدرة بعض النباتات كالدخان والبطاطس على مراكمة التريهالوز، أدت إلى آثار سلبية على نمو النبات أبرزها التقزم. ربما نتج هذا عن أن هندسة جينات التريهالوز أدت إلى تراكم التريهالوز سواء في وجود الإجهاد أو غيابه، وبالتالي استهلاك قدر كبير من الطاقة والكربون في عملية غير ضرورية في حالة زوال الإجهاد. كما أن دور التريهالوز لا يبدو أنه يقتصر على عمله كمذاب متوائم، بل ربما يعمل التريهالوز على تنظيم بعض الأنشطة الأيضية المتعلقة بالكربوهيدرات.

بدلاً من ذلك، أمكن هندسة جيني تخليق التريهالوز في الأرز (*Oryza sativa*) بحيث يتم دمج الجينان تحت سيطرة عنصر يستجيب لحمض الأبسيسك حتى ينشط الجينان فقط في وجود الإجهاد الذي بدوره يدفع النبات إلى تخليق حمض الأبسيسك (انظر الفصل الثالث: استشعار النبات للإجهاد). أدى هذا إلى زيادة محتوى النبات من التريهالوز بمقدار ثلاثة أضعاف مقارنة بالطراز البري. رافق هذا زيادة تحمل الأرز للملوحة والجفاف، والبرودة. رغم ذلك لا يبدو أن التريهالوز يعمل كمذاب متوائم في النباتات الزهرية. فنباتات

الأرز المهندسة هنا رغم أن محتواها من التريهالوز يرتفع أثناء الإجهاد فإن تركيزه يبقى أقل من أن يساهم في الاتزان الأسموزي أو في حماية مكونات الخلية (أقل من 1 مجم/جم وزن غض). ويعتقد أنه ربما يعمل كمنظم لأيض الكربوهيدرات أثناء الإجهاد⁽⁷⁾.

ونظراً لأن النباتات الزهرية عموماً لا تميل لمراكمة التريهالوز، بل تنتج كميات ضئيلة منه، فمن المتوقع أن يكون له دور أكثر دقة مما يعتقد حالياً، وربما يعمل كجزء من مسارات استشعار النبات لعوامل بيئية وفسولوجية معينة. على أن هذا الدور مازال بحاجة للكثير من الدراسات ليفهم.

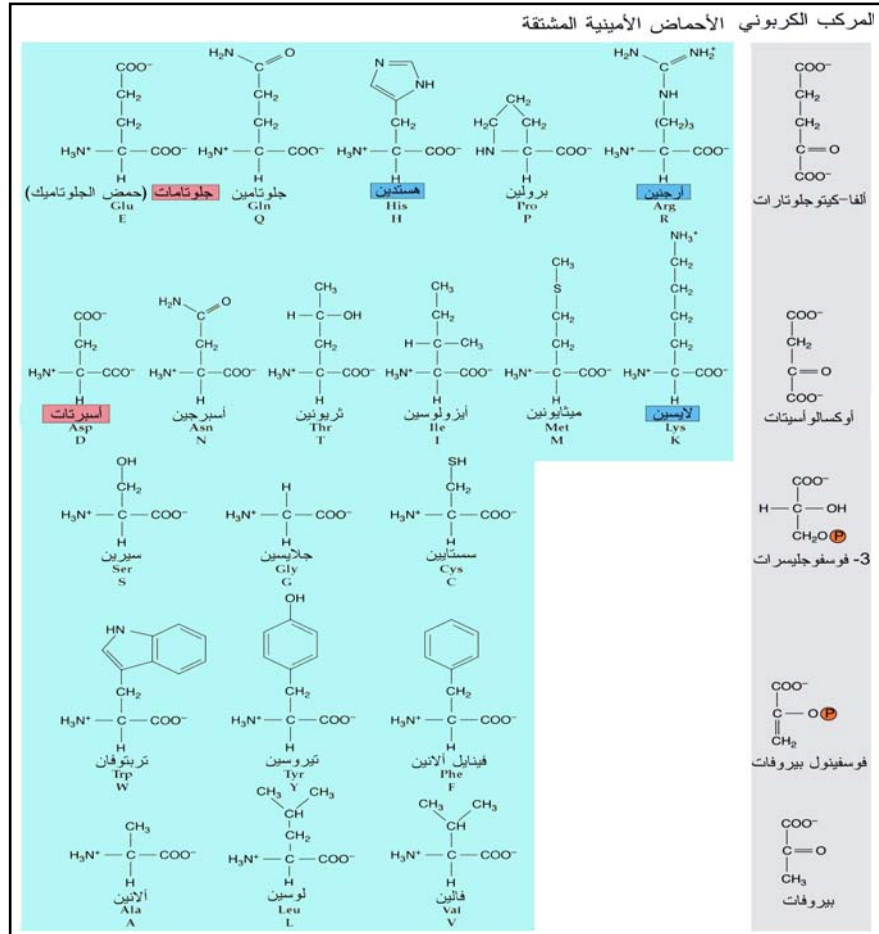
4-5 دور الأحماض الأمينية في الاتزان الأسموزي:

يوجد في الكائنات الحية عشرون حمضاً أمينياً بروتينياً (شكل 5-9). والنباتات تستطيع أن تخلق جميع هذه الأحماض (شكل 5-10) على العكس من الحيوانات التي تقتصر للقدرة على تخليق بعضها، ولابد أن تحصل عليها كجزء من غذائها. يختلف مستوى الأحماض الأمينية المختلفة حسب النبات والنسيج والحالة الفسيولوجية، بل ويختلف أيضاً من وقت لآخر أثناء اليوم.

يتحكم النبات في مستويات أحماضه الأمينية عن طريق التحكم في معدل تخليق كل حمض ومعدل استقلابه (تحويله لمركب آخر). والنبات يخلق هذه الأحماض لكي يبني بها بروتيناته، ولذلك لا تميل غالبية النباتات إلى مراكمة الأحماض الأمينية الحرة في الظروف الطبيعية، رغم وجود بعض الاستثناءات مثل نبات الرجل (Portulaca oleracea)، الذي يحتوي على كميات كبيرة من الأحماض الأمينية في الظروف الطبيعية.

عند التعرض للإجهاد المائي تعدّل النباتات من مستويات الأحماض الأمينية عن طريق تغيير معدل تخليقها أو استقلابها، أو من خلال تغيير معدل تخليق البروتين. وفي غالبية النباتات، يؤدي الإجهاد المائي - خصوصاً الشديد - إلى تباطؤ تخليق البروتين، وزيادة في معدلات استقلابه، أي تكسيره وتحرير الأحماض الأمينية منه. تؤدي هذه العمليات في النهاية إلى زيادة محتوى

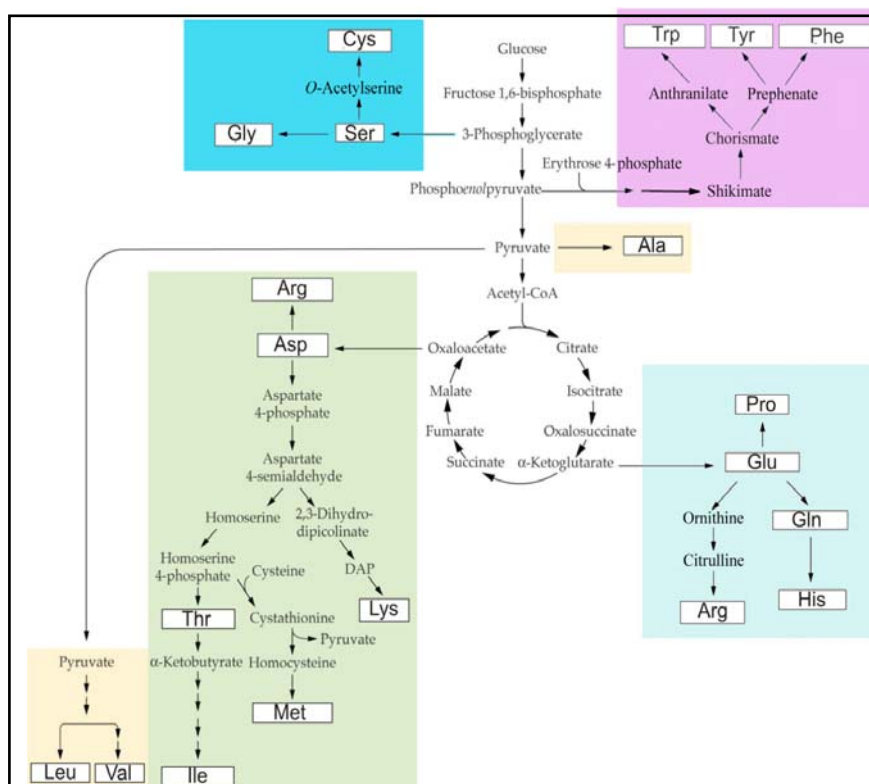
النبات من الأحماض الأمينية الحرة، رغم أن مقدار التغيير يختلف من حمض لآخر (شكل 5-11 و 5-12).



شكل رقم (9/5) التركيب الكيميائي للأحماض الأمينية العشرين التي تدخل في تركيب البروتينات في الكائنات الحية. تخلق هذه الأحماض كمشتقات من مركبات كربونية (على اليمين). الأحماض الأمينية في المستطيلات الزرقاء قاعدية، بينما المستطيلات الحمراء تميز الأحماض الأمينية الحامضية. يرمز لكل حمض إما برمز ثلاثي الأحرف أو رمز من حرف واحد. الرموز بالإنجليزية أسفل الأسماء بالعربية⁽⁸⁾.

يرجع السبب في تباطؤ تخليق البروتين أثناء الإجهاد إلى تغيير نظام تحكم الخلية في تفعيل جيناتها، بحيث تنشط جينات تحمل الإجهاد على حساب

بقية الجينات. كما أن جزءًا ليس بالقليل من ميزانية الخلية من الطاقة والكربون والنيتروجين يخصص لتخليق مركبات بكميات كبيرة مثل السكريات والمركبات النيتروجينية. هذا بالإضافة إلى الأثر السلبي للإجهاد على كفاءة منظومة تخليق البروتين في الخلية، وخصوصاً الريبوسومات. وفي أثناء الإجهاد الشديد، تتعرض بعض البروتينات للتلف بسبب الأملاح الزائدة، أو نقص الجهد المائي للخلية، مما يؤدي إلى سرعة استقلالها بواسطة آليات متخصصة.



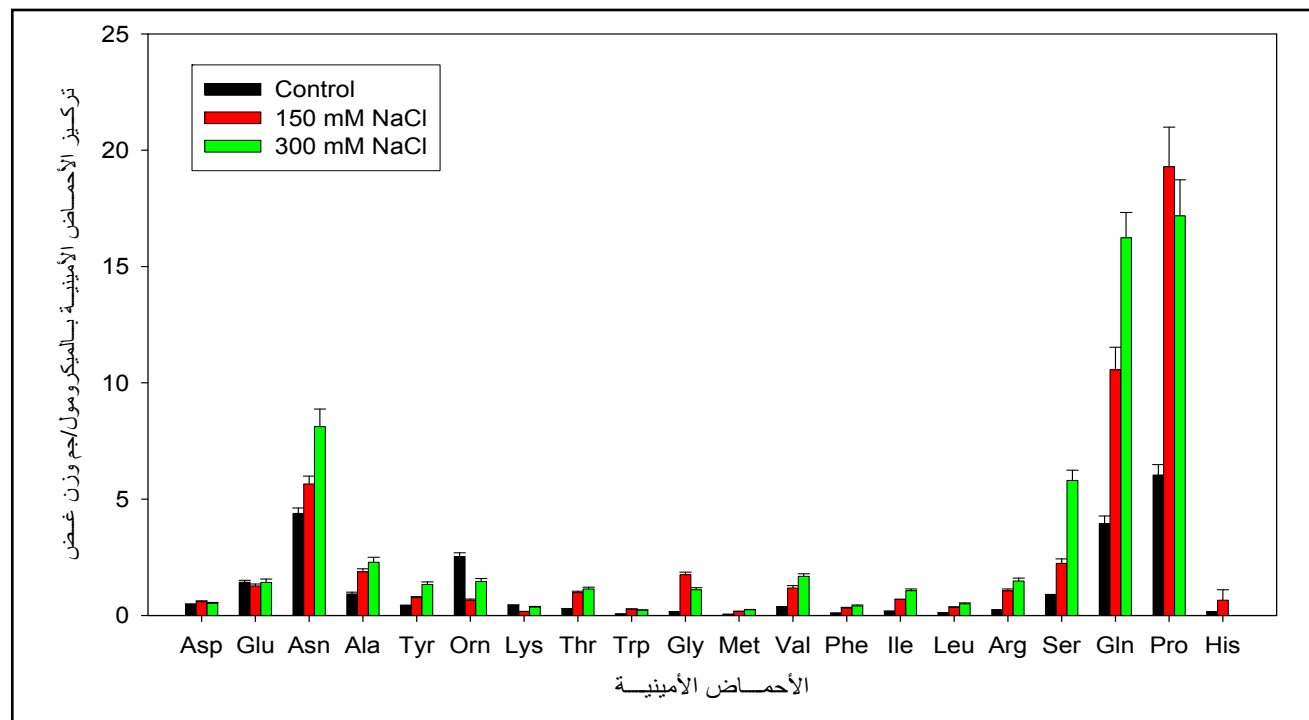
شكل رقم (10/5) تخليق الأحماض الأمينية في النبات مصنفاً حسب المركب الكربوني الأب⁽⁹⁾.

يعتمد مستوى الأحماض الأمينية المختلفة على كل هذه العوامل. ونظرًا لتعددتها وتداخلها، ربما تصعب معرفة مصدر تغيير مستوى الكثير من الأحماض الأمينية أثناء الإجهاد. تتراكم بعض الأحماض الأمينية خصوصاً البرولين والجلوتامين لدرجة يمكن عندها أن تساهم في الاتزان الأسموزي (شكل

5-11 و 5-12). غير أن الزيادة الطفيفة في مستويات بقية الأحماض الأمينية أثناء الإجهاد تجعل مساهمتها كل على حدة في الاتزان الأسموزي مستبعدة، رغم أنها في مجموعها قد تساهم - ولو بقدر ضئيل - في خفض الجهد الأسموزي للخلية.

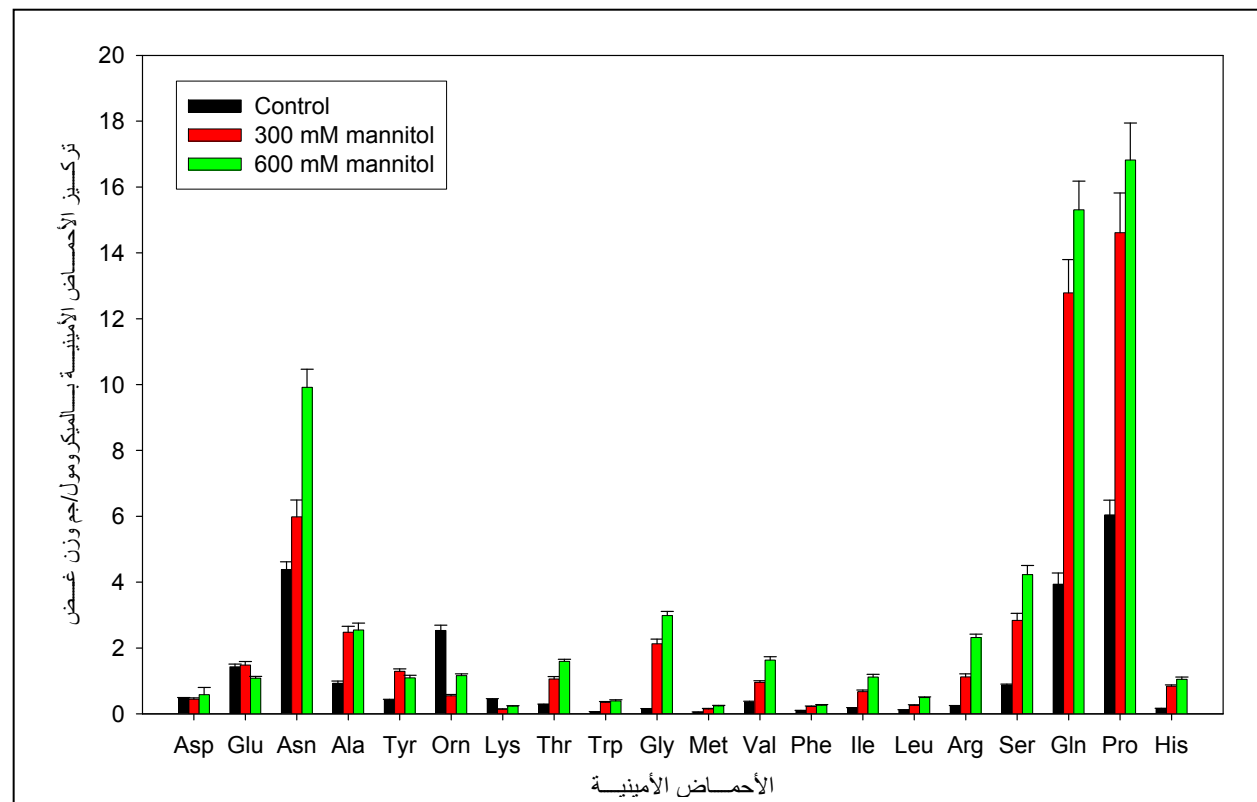
والبرولين أشهر الأحماض الأمينية ذات الصلة بالإجهاد المائي، والذي خضع للعديد من الدراسات (ربما آلاف الدراسات!). يرجع هذا إلى الزيادة الفورية والكبيرة في كميته في الكثير من النباتات عند تعرضها للإجهاد، رغم أن بعض النباتات لا تراكم البرولين أثناء الإجهاد. هذه الزيادة سببها زيادة نشاط جينات تخليقه (شكل 5-13) وانخفاض نشاط البرولين ديهيدروجينيز (Proline dehydrogenase) الذي يؤكسد البرولين.

ينشأ البرولين في النبات من الجلوتامات من خلال مسار مكون من ثلاث خطوات يحفزها إنزيمان (شكل 5-13). الإنزيم الأول هو البيروولين -5- كربوكسيلاط سينثيز (Pyrroline-5-carboxylate synthase) وهو الإنزيم المحدد لمعدل إنتاج البرولين ككل، أي يكفي تنشيط هذا الإنزيم لكي تزيد كمية البرولين التي ينتجها المسار. يحوّل هذا الإنزيم الجلوتامات إلى بيروولين -5- كربوكسيلاط على خطوتين. والإنزيم الثاني هو البيروولين -5- كربوكسيلاط رديكتيز (Pyrroline-5-carboxylate reductase) الذي يختزل البيروولين -5- كربوكسيلاط إلى البرولين. وليس هذا هو المسار الوحيد لتخليق البرولين، بل يمكن أيضاً أن يُخلق البرولين من الحمض الأميني غير البروتيني الأورنيثين (Ornithine) من خلال مسار آخر. ولكن يُعتقد أن مسار الجلوتامات هو المصدر الرئيسي لتخليق البرولين سواء في الظروف الطبيعية أو أثناء الإجهاد. أما استقلاب البرولين فيحدث بأكسدته إلى البيروولين -5- كربوكسيلاط بواسطة البرولين ديهيدروجينيز، وهو عكس التفاعل الأخير في مسار تخليق البرولين.

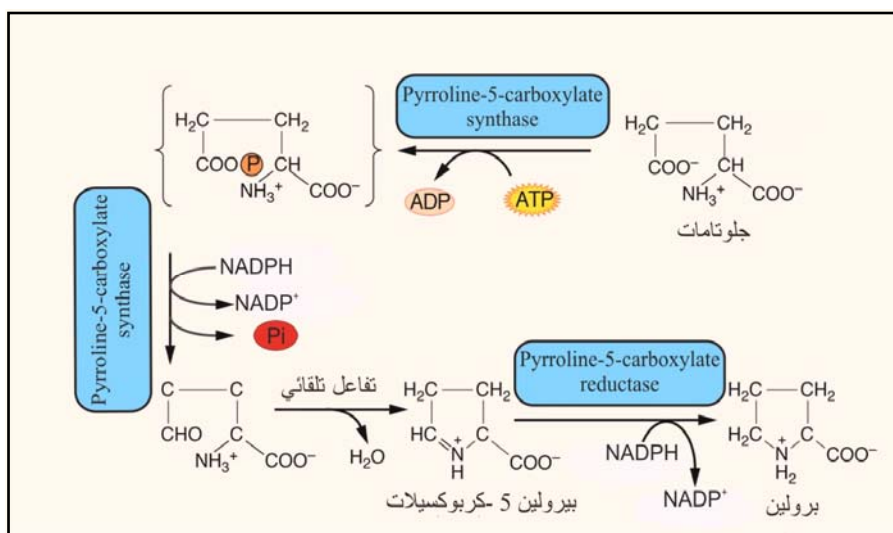


تركيز الأحماض الأمينية في أوراق نبات بصل النرجس (*Pancratium maritimum*) بعد إجهاده ملحيًا بكلوريد الصوديوم لمدة عشرة أيام⁽¹⁰⁾.

شكل رقم (11/5)



شكل رقم (12/5) تركيز الأحماض الأمينية في أوراق نبات بصل النرجس بعد إجهاده أسموزياً بالمانيتول لمدة عشرة أيام.



شكل رقم (13/5) يُخلق البرولين في النبات من الجلوتامات بحفز إنزيمين هما البيروولين-5-كربوكسيلاز سينثيز الذي يحفز الخطوتين الأولى والثانية مكونا بيروولين-5-كربوكسيلاز والبيروولين-5-كربوكسيلاز الذي يختزل البيروولين-5-كربوكسيلاز إلى البرولين. يتحكم الإنزيم الأول في معدل تخليق البرولين من خلال تحكمه في معدل تكوين البيروولين-5-كربوكسيلاز.

يُفترض أن البرولين يعمل كمذاب متوائم لخفض الجهد الأسموزي للخلية وحماية تراكيبها أثناء الإجهاد. لذلك افترض الباحثون أن زيادة قدرة النبات على مراكمة البرولين ربما تحسن نموه أثناء الإجهاد. عند زيادة تفعيل الجين المحدد لمعدل إنتاج البرولين (البيروولين-5-كربوكسيلاز سينثيز) في نبات الدخان، وجد أن قدرة النبات على إنتاج البرولين زادت بشكل كبير، كما أصبحت النباتات أكثر قدرة على خفض جهدها المائي أثناء الإجهاد مقارنة بالطراز البري. كما أدى هذا إلى تحسن في نمو الجذور والإزهار أثناء الإجهاد⁽¹¹⁾.

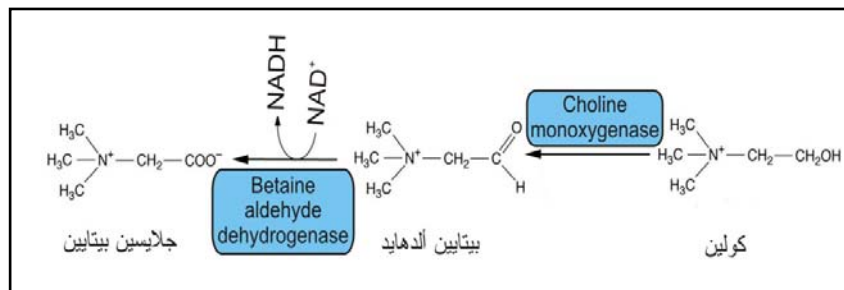
وقد يكون دور البرولين أثناء الإجهاد المائي أكثر من مجرد مذاب متوائم. فعند إمداد نباتات بصل النرجس المجعدة ملحياً أو أسموزياً بالبرولين كأحد مكونات الوسط الغذائي، وجد أنه يزيد من قدرة النباتات على إنتاج البروتينات والإنزيمات ذات الصلة بتحمل الإجهاد مثل الإنزيمات المضادة للأكسدة والديهيدرينات واليوكوتين مقارنة بالنباتات المجعدة بدون برولين. إلا

أن ذلك لم يؤد إلى تحسن ملحوظ في نمو تلك النباتات أثناء الإجهاد رغم زيادة محتواها من البرولين. وبالعكس من ذلك، أدى إمداد نباتات الشعير (*Hordeum vulgare*) المجهدة ملحياً بالبرولين إلى تحسن ملحوظ في النمو سواء بدلالة الوزن الغض أو الجاف دون أن يصاحب ذلك تغيير في معدلات تفعيل جينات الإجهاد السابقة. وحدث تحسن مماثل في نمو النباتات المجهدة عند إمدادها بأحماض أمينية أخرى مثل الجلوتاميك أو الجلايسين. في هذه الحالة ربما يكون النبات قد استخدم البرولين والجلوتاميك والجلايسين كمصدر نيتروجيني، مما ساعد على تحسن النمو.

من ذلك يمكن القول بأن دور البرولين في تحمل الإجهاد يتباين من نبات لآخر، وأن تراكم البرولين لا يؤدي بالضرورة إلى تحسن في تحمل النبات للإجهاد. كما أن تحمل النبات للإجهاد لا يستلزم بالضرورة أن يراكم البرولين كما في نبات الأتريلكس (*Atriplex halimus*) الذي يتحمل الإجهاد الملحي الشديد دون تراكم البرولين إلى حدود تسمح له بالمساهمة في الاتزان الأسموزي، أو حتى حماية تراكيب الخلية.

5-5 الجلايسين بيتاين والإجهاد المائي:

يوجد الجلايسين بيتاين (Glycine betaine) في بعض فصائل النباتات الزهرية. ومن أشهر الفصائل النباتية التي تخلق الجلايسين بيتاين فصيلة قدم الأوزة (*Chenopodiaceae*). وجميع النباتات التي تنتمي لهذه الفصيلة تخلق الجلايسين بيتاين بخلاف الفصائل الأخرى (مثل النجيلية) حيث تقتصر هذه الصفة على بعض الأنواع. يتراكم الجلايسين بيتاين في النباتات عند تعرضها للإجهاد بسبب زيادة نشاط الإنزيمات المخلقة له (شكل 5-14). وبخلاف البرولين الذي تستطيع النباتات أن تستقلبه عند زوال الإجهاد، لا توجد حتى الآن إنزيمات نباتية معروفة يمكنها استقلاب الجلايسين بيتاين.



شكل رقم (14/5) تخليق الجلايسين بيتاين من الكولين في النبات.

يخلق النبات الجلايسين بيتاين من الكولين من خلال مسار ذي خطوتين (شكل 5-14). في السبانخ (*Spinacia oleracea*, Family: Chenopodiaceae) يوجد هذا المسار في البلاستيدات الخضراء. في الخطوة الأولى يحفز الكولين مونوكسجيناز أكسدة الكولين إلى بيتاين ألدهايد. وفي الأخيرة يحفز البيتائين ألدهايد ديهيدروجيناز أكسدة البيتائين ألدهايد إلى الجلايسين بيتاين. أمكن تنقية وتعريف هذين الإنزيمين على وجه التحديد. وعند تعرض نبات مثل بنجر السكر (*Beta vulgaris*) للإجهاد، يزداد معدل تفعيل كلا الجينين بدلالة كمية mRNA وكذلك النشاط الإنزيمي، ويصاحب ذلك زيادة في كمية الجلايسين بيتاين. كما يتراكم الجلايسين بيتاين في نباتات متعددة مثل الذرة (*Zea mays*) والشعير أثناء الإجهاد الملحي والأسموزي والبرودة (12) و (13) و (14).

يشارك الجلايسين بيتاين في الاتزان الأسموزي في النباتات التي تراكمه إلى مستويات عالية، بينما يمكن أن يحمي مكونات الخلية عند التركيزات الأقل. ويمكن للجلايسين بيتاين أن يحمي أغشية النظام الضوئي II (Photosystem II) خارج الخلية أثناء الإجهاد (15) و (16)، كما ساعد على تحمل بادرات الأرز عند هندستها وراثياً لتخليقه. هذا رغم أن كميات الجلايسين بيتاين التي أنتجتها النباتات أثناء الإجهاد أقل من أن تساهم في الاتزان الأسموزي (17).

هذه البيانات تشير إلى أن زيادة قدرة النباتات على مراكمة الجلايسين بيتاين تحسن النمو أثناء الإجهاد في مرحلة نمو محددة (غالباً في البادرات)، ولكن هذا لا يعني أن تلك النباتات يمكن أن تكون بالضرورة أفضل أداء من

الطرز البرية في الظروف الحقلية. يحتاج تخليق الجلايسين بيتاين إلى كمية كبيرة من الكربون والطاقة، وهذا يأتي على حساب نمو النبات وإنتاجيته. كما أن عجز النباتات عن استقلاب الجلايسين بيتاين بعد زوال الإجهاد يؤدي إلى إهدار كمية الكربون والطاقة الموجودة به، وهذا أيضاً يساهم في محدودية القيمة الحقلية لهذا النوع من النباتات المعدلة وراثياً.

5-6 القصر الأيوني:

تحتاج النباتات إلى الاتزان الأسموزي أثناء الإجهاد الملحي والأسموزي والبرودة، نظراً لانخفاض الجهد المائي للتربة في كل تلك الظروف. غير أن النمو في وجود الملوحة يستلزم عملية إضافية مهمة هي قصر الأيونات (Ion sequestration)، وخصوصاً الصوديوم والكلور. رغم أن النمو في البيئة المالحة يؤدي إلى دخول أيونات الصوديوم والكلور بشكل زائد إلى جسم النبات، فإن الصوديوم يصل إلى تركيزات سامة قبل الكلور في غالبية النباتات. هذا رغم أن الكلور يعتبر أكثر سمية من الصوديوم في بعض النباتات مثل فول الصويا (*Glycine max*) والعنب (*Vitis vinifera*) والموالح (*Citrus spp*) (18) و (19).

المقصود بقصر الأيونات هو عزلها في حيز محدد داخل النبات أو العضو أو الخلية يكون أقل حساسية لتراكمها. يرجع هذا لأن الأيض في جميع النباتات الزهرية حساس لتراكم الأملاح، حتى في النباتات الملحية التي تنمو في بيئات عالية الملوحة (بعضها يتحمل 600 ملي مولار كلوريد صوديوم). لا تستطيع إنزيمات النباتات عموماً أن تعمل في وجود تركيزات زائدة من كلوريد الصوديوم (انظر الجزء 5-2). لذلك تلجأ النباتات إلى عزل الأيونات في مواقع أقل نشاطاً من الناحية الأيضية. أهم هذه المواقع هي الفجوة العصارية أو التراكم المتخصصة مثل الشعيرات الغدية إن وجدت.

5-6-1 الأثر السلبي للملوحة على النبات:

الأثر السلبي المباشر للملوحة على النبات، يتمثل في انخفاض الجهد المائي للتربة، ونقص الماء المتاح للنبات. ينتج عن ذلك انخفاض فوري في معدل النمو. مما يعني أن ملوحة التربة تخفض معدل النمو حتى قبل أن تتراكم الأيونات داخل النبات. غير أن للملوحة آثاراً متعددة فضلاً عن ذلك تنتج عن دخول أيونات الصوديوم والكلور بشكل زائد إلى جسم النبات. يثبط كل من

الصوديوم والكلور العمليات الأيضية في النبات. وعموماً يكفي 400 ملي مولار من الأيونات أن تثبط غالبية الإنزيمات بسبب تغير توزيع الشحنات الكهربائية على جزيئات البروتين، مما ينتج عنه انفلات في شكلها الفراغي الذي يعد عماد نشاطها الإنزيمي⁽²⁰⁾. ولكن الصوديوم على وجه الخصوص يثبط الإنزيمات عند تركيزات أقل من ذلك، مما يدل على أن له أثراً أيونياً خاصاً (Specific ion effect) ومباشراً على العمليات الأيضية⁽²¹⁾.

ومن أهم الآثار السلبية للملوحة أنها تعرقل امتصاص البوتاسيوم - وهو أحد العناصر الكبرى- من التربة. يبدو هذا الأثر أكثر وضوحاً في النباتات أحادية الفلقة التي يتطلب نموها طبيعياً أن يكون تركيز البوتاسيوم أعلى من تركيز الصوديوم في الخلية (High K⁺/Na⁺ ratio). وليس المهم هنا هو التركيز المطلق لكلا الأيونين، بل المهم هو النسبة بينهما. بشكل عام يعتمد النبات في امتصاصه للبوتاسيوم على وجود جهد كهربائي سالب داخل الغشاء البلازمي لخلايا الجذر يتراوح بين - 120 و - 200 ملي فولت⁽²²⁾ و⁽²³⁾ و⁽²⁴⁾. هذا الجهد السالب يمكن أن يؤدي إلى تراكم الصوديوم في جسم النبات بالامتصاص الرخو (Passive absorption) إلى ما يقارب 1000 ضعف تركيزه في التربة، مما يترتب عليه آثار بالغة الخطورة على النبات. لكي تتجنب النباتات ذلك، تخفض جهد خلاياها السالب⁽²⁵⁾. وبانخفاض الجهد السالب ينخفض امتصاص الصوديوم من التربة، ولكن في نفس الوقت ينخفض معدل امتصاص البوتاسيوم. ليس هذا فحسب، بل ربما يتسرب البوتاسيوم من خلايا الجذر إلى خارج النبات⁽²⁶⁾ و⁽²⁷⁾ مما يخل بالنسبة بين تركيز البوتاسيوم والصوديوم فيؤثر في النمو بشكل خطير. وفي دراسة على سلاسل من الشعير ذات قدرات مختلفة على تحمل الملوحة، وجد أن السلاسل الأكثر تحملاً للملوحة أكثر قدرة على الاحتفاظ بالبوتاسيوم ومنع تسربه للتربة أثناء الإجهاد الملحي مقارنة بالسلاسل الأقل تحملاً.

5-6-2 دخول أيونات الصوديوم وتناقلها في النبات أثناء الإجهاد الملحي؟

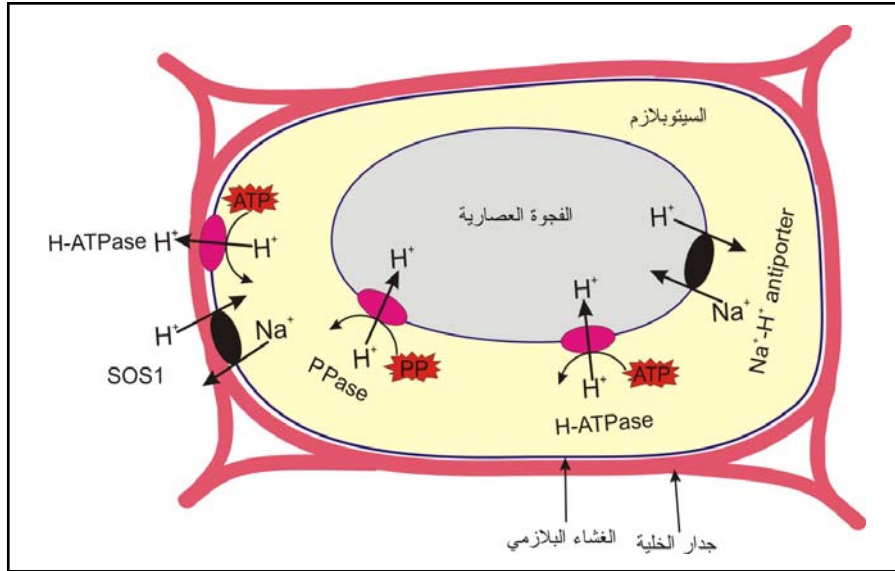
يفترض أن أنظمة امتصاص البوتاسيوم يمكن أيضاً أن تنقل الصوديوم إلى داخل النبات عند زيادة تركيز الصوديوم في التربة نظراً لانخفاض قدرة تلك الأنظمة على التمييز بين كلا الأيونين في البيئة المالحة. ولكن لا يوجد دليل مباشر على

ذلك. في المقابل يمكن أن يكون دخول الصوديوم إلى جسم النبات عن طريق القنوات الكاتيونية غير الانتقائية (Non selective cation channels) بشكل أساسي. تجدر الإشارة هنا إلى أن إمداد النبات بالكالسيوم وبتراكيزات تصل إلى 10 ملي مولار يحسّن تحمله للملوحة من خلال قدرة الكالسيوم على تثبيط القنوات الكاتيونية غير الانتقائية، مما يقلل من كمية الصوديوم التي تنفذ إلى داخل النبات ⁽²⁸⁾ و ⁽²⁹⁾ و ⁽³⁰⁾. بالإضافة إلى ذلك يقلل إمداد النبات بالكالسيوم من معدل تسرب البوتاسيوم الناتج عن الملوحة الزائدة ⁽³¹⁾. هذا فضلاً عن دور الكالسيوم في تنشيط مسار الجينات عالية الحساسية للملوحة الذي يختص بلفظ الصوديوم خلال الغشاء البلازمي إلى التربة (انظر الفصل الثالث: استشعار النبات للإجهاد المائي).

ورغم أن آليات دخول الصوديوم إلى النبات غير مفهومة بشكل تام، فإن آليات نقله داخل النبات مفهومة بشكل أفضل. والهدف من هذه الآليات هو إما طرد وإخراج الصوديوم خارج النبات (Sodium exclusion) سواء بإخراجه من الجذور إلى التربة، أو من الأوراق إلى شعيرات غدية متخصصة تسمى الغدد الملحية إن وجدت، أو حصره داخل الفجوات العصارية (Sodium sequestration) بحيث يبقى تركيزه في السيتوبلازم أقل ما يمكن.

يعتمد الطرد والإخراج والحصر على إنزيم متخصص في نقل الصوديوم، وهو الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين (Sodium/Hydrogen antiporter). يوجد هذا الناقل في الغشاء البلازمي للخلية، وفي غشاء الفجوة العصارية (التونوبلاست). ناقل الصوديوم الموجود في الغشاء البلازمي هو SOS1، ويعمل في إطار منظومي مع بروتينين آخرين هما SOS2 و SOS3 (انظر الفصل الثالث: استشعار النبات للإجهاد). أما الناقل التونوبلاستي فيعمل بشكل أكثر استقلالاً رغم اعتماده على إنزيمات أخرى مثل البيروفوسفاتازات (Pyrophosphatase). ينتمي هذا الناقل إلى فصيلة الناقلات NHX. وتضم هذه الفصيلة ستة نظائر (تسمى NHX1 و NHX2 وهكذا) جميعها تضخ الصوديوم إلى الفجوة العصارية، ولكنها تختلف فيما بينها في النسيج التي تنشط به، فبعضها ينشط في الورقة، والآخر في الثمرة وهكذا. ويبدو من الدراسات أن النظير المسئول عن ضخ الصوديوم إلى الفجوة العصارية في الأجزاء الخضرية، وبالتالي زيادة تحمل النبات للملوحة هو NHX1، أما النظائر الأخرى فوظائفها غير معلومة على وجه التحديد ⁽³²⁾ و ⁽³³⁾.

يعتمد الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين على وجود فرق جهد كهروكيميائي (Electrochemical gradient) على جانبي الغشاء الذي ينقل الصوديوم خلاله (شكل 5-15). ينشأ هذا الجهد عن طريق نقل أيونات الهيدروجين (البروتونات) من جانب لآخر عبر الغشاء البلازمي بواسطة الهيدروجين-أدينوسين تري فوسفاتيز (H-ATPase) وعبر التونوبلاست بنظير تونوبلاستي من نفس الإنزيم، بالإضافة إلى إنزيم الهيدروجين - بيروفوسفاتيز (H-Pyrophosphatase) ⁽³⁴⁾ و ⁽³⁵⁾. لذلك تتطلب عملية لفظ أو حصر الصوديوم تخصيص جزء من ميزانية النبات من الطاقة يتزايد كلما ازدادت شدة الإجهاد الملحي.



شكل رقم (5/15) الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين الموجود في التونوبلاست والغشاء البلازمي (Na⁺-H⁺ antiporter and SOS1) هو المسئول عن تداول الصوديوم في الخلية بضخه إلى الفجوة العصارية أو لفظه خارج الخلية بالاستعانة بالجهد الكهروكيميائي عبر الغشاء الناتج من نشاط الهيدروجين-أدينوسين تري فوسفاتيز والهيدروجين - البيروفوسفاتيز. يوجد الهيدروجين-بيروفوسفاتيز في التونوبلاست دون الغشاء البلازمي.

حاول العلماء وضع نموذج أو نماذج لنقاط تتحكم في تناقل الصوديوم في النبات من الجذر إلى الساق والأوراق. غير أن هذه النماذج يصعب تعميمها، نظرًا لاختلاف استجابة النباتات للإجهاد الملحي، من حيث درجة

تحمّلها، وبالتالي التباين فيما بينها في كيفية تداولها للصوديوم. بعكس النباتات أحادية الفلقة، والنباتات الوسطية التي تحاول جاهدة إخراج وطرد الصوديوم إلى التربة، وقد تضحى بالبوتاسيوم في مقابل ذلك، تسعى النباتات الملحية ثنائية الفلقة إلى امتصاص كميات كبيرة منه ونقلها سريعاً من الجذر إلى المجموع الخضري. هذا الصوديوم يضخ إلى الفجوات العصارية بشكل فعال، مما يساهم في خفض جهد الماء بشكل كبير. بعض النباتات الملحية تحوّل الصوديوم إلى تركيزات تصل إلى 1000 ملي مولار! ونظراً لأن الفجوات العصارية تشغل حيزاً كبيراً من الخلايا خصوصاً الناضجة، يصبح من اليسير للنبات أن يخفض الجهد الأسموزي للسيتوبلازم بمراكمة المذابات المتوائمة التي تصل إلى تركيزات عالية دون استهلاك كميات كبيرة من ميزانية النبات من الكربون والطاقة نظراً لصغر حجم السيتوبلازم مقارنة بالفجوات، فتكون المحصلة النهائية لذلك زيادة قدرة النبات على امتصاص الماء من التربة رغم ملوحتها. لهذا يمكن القول بأن النباتات الملحية تعتمد على الصوديوم ذاته في التغلب على مشكلة الإجهاد الملحي.

فضلاً عن ذلك، تحتاج النباتات الملحية إلى تركيزات من الصوديوم قد تصل إلى تتراوح ما بين 50-150 ملي مولار لكي تنمو بشكل أفضل. ربما يرجع السبب في ذلك إلى أنها تعتمد على الصوديوم كمادة أقل تكلفة من حيث الطاقة مقارنة بالمذابات المتوائمة، في زيادة قدرة الخلايا على امتصاص الماء، وبالتالي على الانقسام والنمو. أمكن الاستدلال على ذلك من خلال ملاحظة أن نمو نباتات الطماطم في وجود كلوريد الصوديوم أفضل من نموها على تركيزات مكافئة أسموزياً من المانيتول الذي يسبب إجهاداً أسموزياً دون أن يمتصه النبات. يرجع ذلك إلى أن الطماطم تعتمد جزئياً على الصوديوم في الاتزان الأسموزي، أما في حالة المانيتول، فلا بد من تخليق كميات أكبر من المذابات المتوائمة تأتي على حساب نمو النبات⁽³⁶⁾.

ومن خلال الدراسات العديدة، اتضح أن الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين (NHX1) يلعب دوراً محورياً في تحمل الملوحة سواء في النباتات الملحية أو النباتات الوسطية. ولكن مادام هذا الناقل يوجد في جميع النباتات

على السواء, فلماذا تتباين من حيث تحملها للملوحة؟ ربما يكون السبب في ذلك عدم قدرة النباتات الوسطية على تنشيط تفعيل الجين في الوقت المناسب, وبالمعدل المناسب عند تعرضها للملوحة, بينما تتجح النباتات الملحية في ذلك. والسؤال المنطقي الذي يترتب على ذلك إذا أمكن هندسة هذا الجين بحيث يزداد تفعيله أثناء الإجهاد هل يتحسن تحمل النبات للملوحة؟

من الرواد في هذا المجال العالم إدواردو بلموولد (Eduardo Bulmwald). تمكن إدواردو بلموولد من زيادة تفعيل الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين في عدد من النباتات, كان أولها الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*)⁽³⁷⁾. وحسب إدواردو تحسن نمو الأرابيدوبسيس في وجود تركيزات من الملوحة وصلت إلى 200 ملي مولار, ومن المعروف أن الطراز البري من الأرابيدوبسيس حساس للملوحة, بحيث لا يستطيع أن يكمل دورة حياته في وجود 100 ملي مولار كلوريد صوديوم. تبع ذلك هندسة عدد من النباتات بنفس الجين منها الطماطم (*Lycopersicon esculentum*)⁽³⁸⁾ والشلجم (*Brassica napus*)⁽³⁹⁾ والقطن (*Gossypium barbadense*)⁽⁴⁰⁾. أدى تفعيل الناقل التبادلي في القطن إلى تحسن في أداء النبات حقلياً وفي إنتاجيته من الألياف. في نفس الوقت حصل علماء صينيون على نتيجة مشابهة بتفعيل نفس الجين, في القمح (في الحقيقة بعضهم كان يعمل مع إدواردو بلموولد)⁽⁴¹⁾ وأيضاً بتفعيل نفس الجين, ولكن من أصل بكتيري في الأرز⁽⁴²⁾. كما تبع ذلك هندسة نباتات متعددة بنفس الجين. وفي نفس السياق, تمكن آخرون من تحسين تحمل الأرابيدوبسيس للملوحة بتفعيل كل من الناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين والهيدروجين, والبيروفوسفاتيز⁽⁴³⁾. في الحالة الأخيرة ربما ساهم البيروفوسفاتيز في زيادة تحمل النبات للملوحة, ولكن ليس من الواضح حجم هذه المساهمة.

وربما يكون من المفيد المقارنة بين النباتات المختلفة التي هندست بالناقل التبادلي بمفرده أو بمصاحبة البيروفوسفاتيز تحت ظروف بيئية موحدة لمعرفة مدى التحسن في كل نبات, وكذلك لمعرفة ما إذا كان العامل المحدد لكفاءة النبات في ضخ الصوديوم إلى الفجوة العصارية هو الناقل التبادلي ذاته, أم

القوة الدافعة التي تحركه. فضلاً عن ذلك، مازالت منظومة تداول الصوديوم في الخلية بحاجة لمزيد من الدراسات لكي تتضح كل تفاصيلها.

فالناقل التبادلي للصوديوم والهيدروجين، يعتمد على فرق الجهد الكهروكيميائي الذي تولده إنزيمات أخرى. من البديهي أن تنشيط هذا الناقل لا بد أن يرافقه تنشيط مماثل لمولدات الجهد الكهروكيميائي في ذات الوقت وبنفس المعدل، إذ إن الناقل التبادلي لا يستطيع نقل الصوديوم دون قوة دافعة. فهل تخضع هذه الإنزيمات لآلية موحدة تعظم نشاطها أثناء الإجهاد، وتوجد في النباتات الملحية التي تضخ الصوديوم بكفاءة إلى الفجوات العصارية دون النباتات الوسطية؟ وما هي هذه الآلية؟ وهل هناك عامل أو عوامل نسخ إجهادية تنظم عمل جينات تداول الصوديوم مجتمعة. ربما تكون الإجابة عن هذه الأسئلة خطوة نحو هندسة النباتات وراثياً وبشكل أكثر فاعلية لتحمل الإجهاد المائي.

REFERENCES

المراجع

- (1) FAO 2007. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. www.fao.org/ag/agl/agll/spush.
- (2) Szabolcs I (1989). Salt-Affected Soils. CRC Press.
- (3) Munns R and Tester M (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–81.
- (4) Buchanan B, Gruissem W and Jones RL (eds) (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists.
- (5) www.aidanbrookspices.blogspot.com.
- (6) Wingler A (2002). The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochemistry* 60: 473–440.
- (7) Garg AK, Kim J-K, Owens TG, Ranwala AP, Choi YD, Kochian LV and Wu RJ (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 99: 15898–15903.

- (8) **Snustad DP and Simmons MJ (2003).** Principles of Genetics. Third edition. John Wiley and Sons Inc.
- (9) **Wang X and Larkin BA (1999).** Genetic analysis of amino acid accumulation in opaque-2 maize endosperm. *Plant Physiology* **125**: 1766–1777.
- (10) **Abogadallah GM (2003).** Genetic impact of plant water stress. PhD thesis Mansoura University Egypt.
- (11) **Kavi Kishor PB, Hong Z, Miao C-H, Hu CA and Verma DPS (1995).** Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* **108**: 1387-1394.
- (12) **McCue KF and Hanson AD (1990).** Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology* **8**: 358–362.
- (13) **Rhodes D and Hanson AD (1993).** Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **44**: 357–384.
- (14) **Kishitani S, Watanabe K, Yasuda S, Arakawa K and Takabe T (1994).** Accumulation of glycinebetaine during cold acclimation and freezing tolerance in leaves of winter and spring barley plants. *Plant, Cell and Environment* **17**: 89–95.
- (15) **Murata N, Mohanty PS, Hayashi H and Papageorgiou GC (1992).** Glycinebetaine stabilizes the association of extrinsic proteins with the photosynthetic oxygen-evolving complex. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **296**: 187–189.
- (16) **Papageorgiou GC and Murata N (1995).** The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving photosystem II complex. *Photosynthesis Research* **44**: 243–252.
- (17) **Shirasawa KA, Takabe Tomoko, Takabe Tetsuko and Kishitani S (2006).** Accumulation of glycinebetaine in rice plants that overexpress choline monooxygenase from spinach and evaluation of their tolerance to abiotic stress. *Annals of Botany* **98**: 565–571.
- (18) **Staples RC (ed) (1984).** Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement, New York: Wiley.
- (19) **Storey R and Walker RR (1999).** Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae* **78**: 39–81.

- (20) **Lauchli A and Bieleckio RL (eds)** (1983). Encyclopedia of plant physiology. New series (158): inorganic plant nutrition. Springer Verlag, Berlin.
- (21) **Serrano R** (1996). Salt tolerance in plants and microorganisms. Toxicity targets and defence responses. *International Review of Cytology* **165**: 1-52.
- (22) **Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM and Pardo JM** (1995). Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology* **109**: 735-742.
- (23) **Hirschi RE, Lewis BD, Spalding EP and Sussmann MR** (1998). A role for AKT1 potassium channel in plant nutrition. *Science* **280**: 918-921.
- (24) **Rubio L, Rosado A, Linares-Rueda A, Barsoni O, Garcia-Sanchez MJ, Valpuesta V, Fernandez JA and Botalla MA** (2004). Regulation of potassium transport in tomato roots by TSSI locus. Implication in salt tolerance. *Plant Physiology* **134**: 452-459.
- (25) **Chen Z, Pottosin II, Cuin TA, Fuglsang AT, Tester M, Jha D, Zepeda-Jazo I, Zhou M, Palmgren MG, Newman IA and Shabala S** (2007). Root Plasma Membrane Transporters Controlling K⁺/Na⁺ Homeostasis in Salt-Stressed Barley. *Plant Physiology* **145**: 1714–1725.
- (26) **Chen Z, Newman I, Zhou M, Mendham N, Zhang G and Shabala S** (2005). Screening plants for salt tolerance by measuring K⁺ flux: a case study for barley. *Plant Cell and Environment* **28**: 1230–1246.
- (27) **Cuin TA and Shabala S** (2005). Exogenously supplied compatible solutes rapidly ameliorate NaCl-induced potassium efflux from barley roots. *Plant Cell Physiology* **46**: 1924–1933.
- (28) **Schachtman DP and Liu W** (1999). Molecular pieces to the puzzle of the interaction between potassium and sodium uptake in plants. *Trends in Plant Science* **4**: 281–287.
- (29) **Davenport RJ and Tester M** (2000). A weakly voltage-dependent, non-selective cation channel mediates toxic sodium influx in wheat. *Plant Physiology* **122**: 823–834.
- (30) **Demidchik V and Maathuis FJM** (2007). Physiological roles of nonselective cation channels in plants: from salt stress to signalling and development. *New Phytologist* **175**: 387–404.
- (31) **Shabala S, Demidchik V, Shabala L, Cuin TA, Smith SJ, Miller AJ, Davies JM and Newman IA** (2006). Extracellular Ca²⁺ ameliorates NaCl-induced K⁺ loss from

- Arabidopsis root and leaf cells by controlling plasma membrane K^+ -permeable channels. *Plant Physiology* **141**: 1653–1665.
- (32) Yokoi S, Quintero FJ, Ruiz MT, Bressan RA, Hasegawa PM and Pardo JM (2002). Differential expression and function of *Arabidopsis thaliana* NHX Na^+/H^+ antiporters in the salt stress response. *Plant Journal* **30**: 529-539.
- (33) Blumwald E (2003). Engineering salt tolerance in plants. *Biotechnology and Genetic engineering reviews* **20**: 261-275.
- (34) Blumwald E, Aharon GS and Apse MP (2000). Sodium transport in plant cells. *Biochemica et Biophysica Acta* **1465**: 140-151.
- (35) Gaxiola RA, Undurraga RS, Dang LM, Allen GJ, Alper SL and Fink GR (2001). Drought and salt tolerant plants result from the overexpression of the AVP1 H^+ -pump. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **98**: 11444-11449.
- (36) Borsani O, Valpuesta V and Botella MA (2002). Tomato *tos1* mutation identifies a gene essential for osmotic tolerance and abscisic acid sensitivity. *Plant Journal* **32**: 905-914.
- (37) Apse MP, Aharon GS, Snedden WA and Blumwald E (1999). Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science* **285**: 1256-1258.
- (38) Zhang H-X and Blumwald E (2001). Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature* **19**: 765-768.
- (39) Zhang H-X, Hodson JN, Williams JP and Blumwald E (2001). Engineering salt-tolerant *Brassica* plants: Characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **98**: 12832–12836.
- (40) He C, Yan J, Shen G, Fu L, Holaday AS, Auld D, Blumwald E and Zhang H (2005). Expression of an *Arabidopsis* vacuolar sodium/proton antiporter gene in cotton improves photosynthetic performance under salt conditions and increases fiber yield in the field. *Plant and Cell Physiology* **46**: 1848-1854.
- (41) Xue Z-Y, Zhi D-Y, Xue GP, Zhang H, Zhao Y-Z and Xia GM (2004). Enhanced salt tolerance of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing a vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene with improved grain yields in saline soils in the field and a reduced level of leaf Na^+ . *Plant Science* **167** : 849–859.

- (42) **Wu L, Fan Z, Guo L, Li Y, Chen Z-L and Qu L-J** (2005). Over-expression of the bacterial *nhaA* gene in rice enhances salt and drought tolerance. *Plant Science* **168**: 297–302.
- (43) **Brini F, Hanin M, Mezghani I, Berkowitz GA and Masmoud K** (2007). Overexpression of wheat Na^+/H^+ antiporter *TNHX1* and H^+ -pyrophosphatase *TVP1* improve salt- and drought-stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Experimental Botany* **58**: 301–308.

الفصل السادس

الديهيدرينات واستقلاب البروتينات

1-6 مقدمة:

تمر النباتات الزهرية بمراحل محددة خلال دورة حياتها. تبدأ هذه المراحل بالبذرة - التي تنبت في الظروف البيئية والفسولوجية المناسبة - إلى النجمة (البادرة) التي تنمو إلى حد كمال الخضرة، ثم تدخل في مرحلة التكاثر، فتكوّن الأزهار، التي تنتج بدورها البذور وهكذا. يختلف مدى تحمل النباتات للإجهاد المائي أثناء النمو الخضري أو التكاثر من نبات لآخر. غير أن غالبية النباتات تشترك في أنها تمر بمرحلة شديدة التحمل للإجهاد المائي وهي البذرة. البقية القليلة من النباتات تكون بذورًا قادرة على الإنبات مباشرة دون أن تجف أو تمر بمرحلة كمون، كما في المانجو (*Mangifera spp.*) إذ تموت البذرة إذا جفت، ولكنها بدلاً من ذلك تستنبت مباشرة بعد إخراجها من الثمرة.

فالبذرة نبات كامن قادر على النمو متى توافرت الظروف الداخلية والخارجية التي تسمح بذلك، ولكنها رغم ذلك تتحمل القحول، بحيث يصل محتواها المائي إلى 20% أو أقل، كما تتحمل البرودة أو حتى التجمد. وأثناء تكوين البذور بعد التلقيح، يبدأ تراكم المواد الغذائية من بروتينات وكربوهيدرات ودهون بالتوازي مع تطور الجنين ونضوجه. وعند اقتراب اكتمال تطور البذرة يبدأ الجفاف التدريجي عن طريق فقد الماء من البذرة أو الثمرة. يحدث هذا الجفاف رغم استمرار العمليات الفسيولوجية المصاحبة لتطور البذرة، بما تشتمل عليه من إنزيمات تحفز عمليات حيوية مختلفة.

كيف إذن يتسنى لتلك العمليات أن تتم رغم الجفاف المتزايد؟ يُعزى تحمّل البذور للجفاف على الأقل جزئياً إلى تنشيط تفعيل فصيلة من البروتينات التي تعمل على حماية مكونات البذرة والإبقاء عليها في شكل نشط رغم الجفاف المتزايد. هذه البروتينات هي بروتينات التخلق الجنيني المتأخر (Late Embryogenesis Abundant proteins: LEA) التي تضم الديهيدرينات (Dehydrins). اكتشفت LEA بداية عند دراسة تخلق بذرة القطن. تشمل LEA على ثماني عشرة فصيلة من البروتينات التي يحتمل أن تؤدي وظائف متنوعة، وبعضها غير معلوم الوظيفة. اكتشفت LEA بعد ذلك في العديد من النباتات لدرجة تسمح بالقول بأنها توجد في غالبية النباتات. أهم ما يميز LEA رغم اختلاف وظائفها أنها تتراكم أثناء جفاف البذرة.

2-6 الديهيدرينات:

الديهيدرينات عائلة من البروتينات غير الإنزيمية (لا تحفز عمليات أيضية) تنتمي إلى فصيلة بروتينات التخلق الجنيني المتأخر، وتُسمى LEA D-11. لا يقتصر تخليق هذه البروتينات على أنسجة البذرة، بل يمتد أيضاً إلى الأنسجة الخضرية كالجذر والساق والورقة عند تعرض النبات للإجهاد الملحي أو الأسموزي أو البرودة، وكذلك عند معاملة النبات بحمض الأبسيسك حتى بدون إجهاد. كما توجد هذه البروتينات في الأنسجة الخضرية لبعض النباتات النامية في ظروف مناسبة وفي وفرة من الماء. يتراوح الوزن الجزيئي للديهيدرينات بين 9 و200 كيلو دالتون على جل الأكريلاميد. ولا يوجد تشابه بين تتابع الأحماض الأمينية في أي من الديهيدرينات وأي من الإنزيمات المعروفة، ولذلك يُستبعد أن تعمل كإنزيمات.

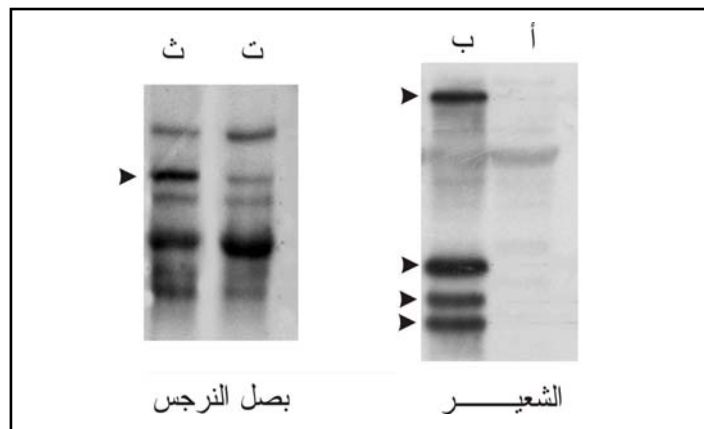
1-2-6 تفعيل جينات الديهيدرينات:

توجد الديهيدرينات في مجموعات مختلفة من النباتات الخضراء بداية من البكتيريا التمثيلية وحتى النباتات مغطاة البذور ⁽¹⁾ و ⁽²⁾ و ⁽³⁾. تم الاستدلال على ذلك عن طريق الكشف المناعي باستخدام أجسام مضادة لفقرّة اللايسين (انظر

الأجزاء التالية). حسب هذه الطريقة تعرف الديهيدرينات على أنها البروتينات التي تحتوي على فقرة اللايسين، وليس بالضرورة تلك التي يراكمها النبات أثناء الإجهاد. وعموماً توجد الديهيدرينات في السيتوبلازم والنواة بشكل أساسي رغم إمكانية تواجدها في أجزاء أخرى من الخلية في بعض النباتات.

ويختلف تفعيل الديهيدرينات من نبات لآخر. في بعض النباتات الوسطية مثل الشعير (*Hordeum vulgare*)⁽⁴⁾ ودوار الشمس (*Helianthus annuus*)⁽⁵⁾، لا توجد كميات محسوسة من الديهيدرينات في الأنسجة الخضرية للنباتات النامية في وفرة من الماء، مما يعني أن جينات الديهيدرينات، إما أن تكون خاملة تماماً في هذه الظروف، أو أن تفعيلها محدود لدرجة لا تسمح بالكشف عنها. وعند التعرض للإجهاد المائي تتراكم العديد من الديهيدرينات خصوصاً في الأوراق (شكل 6-1).

في النباتات المستحياة، وهي مجموعة من النباتات تتحمل فقدان كميات كبيرة من محتواها المائي بحيث تدخل في كمون فسيولوجي ثم تعاود نموها الطبيعي متى توافر الماء، يوجد عدد قليل من الديهيدرينات في الأنسجة الخضرية للنباتات غير المجهد، بينما تظهر العديد من الديهيدرينات الجديدة أثناء الإجهاد. وفي بصل النرجس (*Pancratium maritimum*) (شكل 6-2) توجد مجموعة كاملة من الديهيدرينات في الأنسجة الخضرية للنباتات غير المجهد، ولكن تعرض النبات للإجهاد لا يؤدي إلى تخليق ديهدرينات جديدة بل يغير كميات البروتينات الموجودة (شكل 6-1). وقد يشير هذا إلى أن الديهيدرينات ربما تساهم في الأيض الأساسي للنبات في غياب الإجهاد، ولكن وظيفتها غير معلومة على وجه التحديد. كما أن تحفيز تفعيلها أثناء الإجهاد، خصوصاً في النباتات التي تتحمل الجفاف أو الملوحة، يدل على أنها تؤدي وظيفة مهمة أو أكثر في حماية النبات من الإجهاد.



شكل رقم (1/6) تفعيل الديهيدرينات في الظروف الطبيعية وأثناء الإجهاد الملحي في نباتي الشعير ("أ": بدون إجهاد، "ب": في وجود 200 ملي مولار كلوريد صوديوم) وبصل النرجس ("ت": بدون إجهاد و "ث": في وجود 300 ملي مولار كلوريد صوديوم). تشير الأسهم إلى الديهيدرينات التي ينشط تفعيلها أثناء الإجهاد ويلاحظ أن بعض ديهيدرينات بصل النرجس يقل تفعيلها أيضًا في النباتات المجعدة. تعتمد طريقة الكشف عن هذه البروتينات (الكشف المناعي Immunoblotting) على فصل بروتينات النبات بالتفريد الكهربائي على جل الأكريلاميد ثم نقلها إلى غشاء صناعي من مادة تمتز البروتينات على سطحها. وعند إضافة أجسام مضادة خاصة بالديهيدرينات (تتكون عند حقن الديهيدرينات المنقاة كيميائياً في الفأر أو الأرنب ضد فقرة اللايسين) إلى الغشاء ترتبط تلك الأجسام بالديهيدرينات فقط ويمكن بعد ذلك الكشف عن مترابك الديهيدرينات مع الأجسام المضادة بكواشف كيميائية خاصة.

6-2-2 الملامح التركيبية المميزة للديهيدرينات:

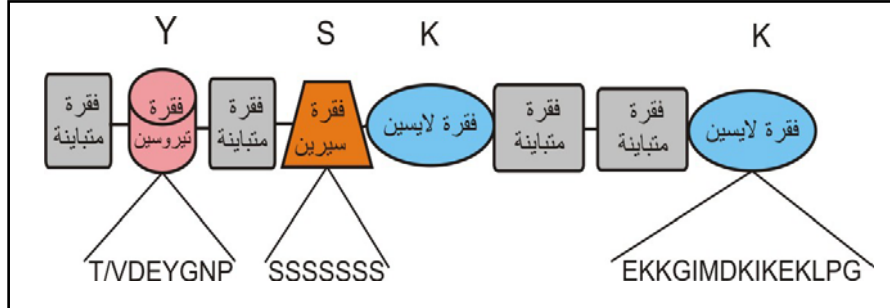
تتميز الديهيدرينات بوجود فقرة مكونة من 15 حمضاً أمينياً غنية باللايسين، ولذلك تُسمى بفقرة اللايسين. تتابع الأحماض الأمينية في فقرة اللايسين كما يلي: جلوتاميك - لايسين - لايسين - جلايسين - أيزولوسين - ميثايونين - أسيرتيك - لايسين - أيزولوسين - لايسين - جلوتاميك - لايسين - لوسين - برولين - جلايسين⁽⁶⁾. يختلف عدد فقرات اللايسين الموجودة في جزئ الديهيدرين من بروتين لآخر، ويتراوح بين فقرة واحدة وإحدى عشرة فقرة. كما تتميز الديهيدرينات بوجود تتابع من السيرين يُسمى فقرة السيرين. هذه الفقرة ربما تكون قابلة للفسفرة كمقدمة لتوجيه الديهيدرين إلى النواة. الفقرة الثالثة هي فقرة التيروسين. تتابع هذه الفقرة كما يلي: فالين أو ثريونين - أسيرتيك -

جلوتاميك - تيروسين - جلايسين - أسبرجين - برولين. توجد هذه الفقرات في جميع الديهيدرينات بشكل عالي الثبات (Highly conserved domains) ويفصل بينها فقرات أقل ثباتاً (شكل 6-3). وللتبسيط عند كتابة تتابع الأحماض الأمينية لبروتين ما، سوف نستخدم الرمز الأحادي أو الثلاثي لكل حمض حسب جدول (6-1).



شكل رقم (2/6) بصل النرجس من نباتات الكثبان الرملية، ويتميز بتحمل الجفاف بدرجة كبيرة نظراً للتكيف الوظيفي والتركيبى. الصورة مهداة من د. ممدوح سراج (كلية العلوم - جامعة المنصورة - مصر).

تتميز الديهيدرينات أيضاً بندرة السيستايين والترينوفان وكثرة الأحماض الأمينية المشحونة والقطبية، مما يجعلها محبة للماء بشكل كبير. لذلك تبقى هذه البروتينات ذائبة في الماء حتى عند درجة حرارة 100 مئوية، وهي خاصية تفتقر إليها غالبية البروتينات المعروفة⁽⁷⁾.



شكل رقم (3/6) تركيب الديهيدرينات. تحتوي الديهيدرينات على فقرات (نطاقات) ذات درجة عالية من الثبات هي فقرات اللايسين (K) والسيرين (S) والتيروسين (Y). توجد فقرة اللايسين عند الطرف الكربوكسيلي للبروتين وتستخدم كهدف لتفاعل الأجسام المضادة للتعرف الكمي والكيفي على الديهيدرينات باستخدام الكشف المناعي. يمكن أن تكون فقرة السيرين هدفاً للفسفرة. والفقرات المتباينة هي تتابعات من أحماض أمينية ليس لها نمط ثابت. يسمح هذا التركيب بمرونة في الشكل الفراغي للديهيدرين تمكنه من التفاعل مع بروتينات الخلية بتكوين أغلفة رطبة حولها.

6-2-3 دور الديهيدرينات في حماية النبات من الإجهاد:

رغم عدم وجود دليل تجريبي مباشر على أن الديهيدرينات تحمي النبات أثناء الإجهاد المائي، فإن شيوعها في النباتات التي تتحمل الإجهاد مقارنة بالنباتات الوسطية وتحفيز تفعيلها أثناء الإجهاد، يدل على أهميتها في هذا الصدد. يفترض أن الديهيدرينات قادرة على الارتباط بالماء بقابلية عالية، مما يمنع فقد الماء من الخلايا حتى درجة الجفاف القاتل للنبات، ويساعد الخلايا على الاحتفاظ بحد أدنى من الماء لتبقى حية (8) و (9).

من الأضرار الخطيرة التي تحدث بالخلايا أثناء الإجهاد المائي الشديد احتمالية حدوث ترسيب لمكونات الخلايا، ومنها البروتينات، مما ينتج عنه ارتباط في وظائف الخلية، والنبات بالتالي. يمكن للديهيدرينات أن تساهم في منع هذا عن طريق عملها كمذابات متوائمة مشابهة في ذلك السكروز. يفترض أن الديهيدرينات تعتمد على مرونة شكلها الفراغي (ليس لها تركيب ثانوي ثابت) بحيث تكون أغلفة رطبة حول بروتينات وأغشية الخلية، مما يقلل من الأثر الضار لنقص المحتوى المائي عليها، ويمنع ترسيبها عند نقص المحتوى المائي للخلية (10) و (11). ربما تتفوق الديهيدرينات على السكروز من هذه

الناحية، حيث تفوق مقاومة الديهيدرينات للترسيب عند نقص المحتوى المائي مقاومة السكروز.

جدول (1/6) الرموز الثلاثية والأحادية للأحماض الأمينية البروتينية.

الرمز الأحادي (حرف واحد)	الرمز الثلاثي (ثلاثة حروف)	الحمض الأميني
G	Gly	جلايسين
P	Pro	برولين
A	Ala	ألانين
V	Val	فالين
L	Leu	لوسين
I	Ile	أيزولوسين
M	Met	مथाيونين
C	Cys	سيستائين
F	Phe	فينايل ألانين
Y	Tyr	تيروسين
W	Trp	ترينوفان
H	His	هستدين
K	Lys	لايسين
R	Arg	أرجنين
Q	Gln	جلوتامين
N	Asn	أسبرجين
E	Glu	جلوتاميك
D	Asp	أسبرتيك
S	Ser	سيرين
T	Thr	ثريونين

أثناء الإجهاد الملحي, تتراكم الأيونات خاصة الصوديوم داخل النبات, لتصل إلى تركيزات مرتفعة تتلف الخلايا, أو على الأقل تخفض من معدل العمليات الأيضية. وفي حالة الإجهاد الأسموزي, تحدث حالة مشابهة نتيجة زيادة تركيز الأملاح في الخلية عند انخفاض المحتوى المائي. يفترض بناء

على الخواص التركيبية للديهيدرينات، أنها تستطيع امتزاز الأيونات على سطحها، مما يقلل من نشاط الأيونات الكيميائي.

ورغم وجود دليل جيد على العلاقة بين تراكم الديهيدرينات في النبات وزيادة تحمله للإجهاد المائي⁽¹²⁾ فإن وظائف هذه البروتينات مازالت غير محددة، والافتراضات السابقة تحتاج إلى إثبات. كما أن الديهيدرينات تضم عدداً كبيراً من البروتينات، وفي كثير من الحالات، يحتاج النبات إلى تغيير معدلات تخليق ديهيدرينات عديدة أثناء الإجهاد وليس ديهيدريناً واحداً. ربما يشير هذا إلى أن الديهيدرينات تعمل في مجموعات وليس بشكل مستقل عن بعضها البعض. ولذلك من غير المنطقي أن تُستخدم جينات الديهيدرينات في هندسة النباتات لزيادة تحملها للإجهاد المائي بنوعيه الملحي والأسموزي على الأقل في الوقت الحاضر، وفي ظل ما هو متاح من معلومات.

3-6 استقلاب البروتينات أثناء الإجهاد المائي:

تتميز النباتات بالمرونة الفسيولوجية والوراثية. هذه المرونة يحتملها كون النباتات كائنات ثابتة لا يمكنها التنقل من مكان لآخر في حال أصبحت الظروف البيئية سيئة. فبدلاً من الانتقال لبيئة أفضل، يتأقلم النبات للتغيرات التي تطرأ على محيطه الخارجي. والتأقلم يستلزم تعديل وظائف النبات الذي يعتمد أساساً على تعديل نشاط جيناته. كما أن النبات يعدل من وظائفه ومن نشاط جيناته حسب المرحلة التطورية وحسب العضو. فالعمليات الفسيولوجية التي تحدث أثناء الإنبات تختلف عن تلك التي تحدث أثناء النمو الخضري وأثناء التكاثر وتكوين البذور. وبالمثل تختلف تلك العمليات من عضو لآخر فما يحدث في الورقة يختلف عما يحدث في الجذر. جميع تلك العمليات تنظمها جينات يختص كل منها بإنزيم أو بروتين ينظم بدوره خطوة في مسار أيضي ما، أو يدخل كعنصر تركيب في جزء ما من الخلية.

يمكن أن نتصور إذن أن نشاط جينات النبات عموماً يخضع لتنظيم محكم يعتمد على نوع العضو، والمرحلة التطورية للنبات والظروف البيئية المحيطة. بمعنى أن الجينات التي يحتاج النبات لتنشيطها أثناء النمو في وبرة من الماء تختلف عن تلك التي تعد مهمة لتحمل الإجهاد الطفيف ومواصلة

النمو أو للبقاء على قيد الحياة دون نمو أثناء الإجهاد الشديد. ويبدو أن كفاءة النبات في تنشيط إحدى المجموعتين من الجينات تنفي كفاءته في تنشيط المجموعة الأخرى، أي أن النباتات التي تتميز بالنمو الجيد في وفرة من الماء، لا تقاوم الإجهاد المائي، ويتأثر نموها بشكل حاد إذا أجهدت. وبالمثل النباتات التي تتحمل الإجهاد لا تنمو بنفس كفاءة الأولى عند توافر الماء. يبدو هذا من خلال ملاحظة تحمل الكثير من نباتات المحاصيل للإجهاد المائي مقارنة بأسلافها البرية. فالكثير من الأسلاف البرية للمحاصيل يتحمل درجات عالية من أشكال شتى من الإجهاد، بما في ذلك الإجهاد المائي كما في الطماطم (*Lycopersicon esculentum*) والقمح (*Triticum aestivum*) والشعير. ويبدو أن عمليات تربية النبات والانتخاب منذ عرف الإنسان الزراعة، ركزت في الغالب على انتخاب السلالات الأكثر إنتاجية دون أن يدرك المربون أنهم في ذات الوقت ينضبون المعين الوراثي (Gene pool) لمحاصيلهم من جينات مقاومة الإجهاد بأنواعه.

رغم ذلك تستجيب النباتات للإجهاد كل حسب قدرته على التحول من حالة النمو الطبيعي في وفرة من الماء إلى حالة تحمل الإجهاد ومواصلة النمو بمعدل أقل يتوافق مع الموارد المتاحة للنبات من ماء وعناصر مغذية أو إلى التوقف عن النمو ومحاولة البقاء على قيد الحياة إذا كان الإجهاد شديداً. يمكن القول بأن هذا يحدث في جميع النباتات، مع ملاحظة اختلاف درجة تحمل كل منها. فالإجهاد الذي يهدد حياة نبات ما، قد لا يشكل شيئاً بالنسبة لنبات أكثر تحملاً.

يعتمد التحول من حالة النمو الطبيعي إلى حالة النمو تحت الإجهاد على إعادة برمجة جينات الخلية، بحيث تكون الأولوية لتنشيط جينات الإجهاد. يستلزم ذلك أيضاً تغيير المنظومة البروتينية (Proteome) بالتناغم مع تعديل النشاط الجيني. أي أن النبات يحتاج عند تعرضه للإجهاد أن يستقلب (يحلل) البروتينات التي لم تعد ضرورية لمواجهة الإجهاد، ويستبدلها ببروتينات أكثر فاعلية في هذا الشأن. كما أنه يحتاج لمواصلة النمو أن يستقلب البروتينات التي تتلف بسبب الإجهاد ليعيد استخدام أحماضها الأمينية في تخليق بروتينات جديدة فعالة. يحدث استقلاب البروتين في النبات بواسطة منظومة متخصصة

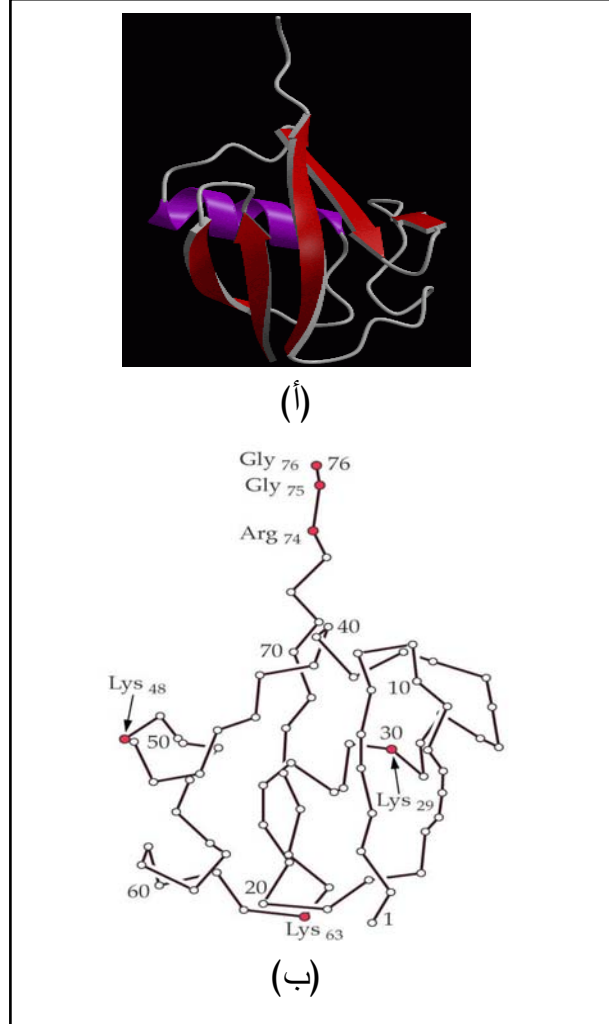
هي منظومة اليوبكوتين (Ubiquitin system). تختص هذه المنظومة باستقلاب البروتين في السيتوبلازم والنواة. ويحتمل وجود آليات أخرى لاستقلاب البروتين في أجزاء أخرى من خلايا النبات، إلا أنها غير مفهومة تحديداً.

6-3-1 منظومة اليوبكوتين لاستقلاب البروتين:

اليوبكوتين بروتين صغير يتكون من 76 حمضاً أمينياً (شكل 6-4). ويوجد هذا البروتين في جميع الكائنات حقيقية النواة، بدءاً بالخميرة وانتهاءً بالإنسان. لا يختلف تتابع الأحماض الأمينية في اليوبكوتين من نبات لآخر. ويختلف يوبكوتين النباتات الزهرية عن يوبكوتين الطحالب في حمض أميني واحد. كما أن الفرق بين يوبكوتين النبات والخميرة حمضان أمينيان. وأخيراً الفرق بين يوبكوتين النبات ويوبكوتين الحيوان ثلاثة أحماض أمينية⁽¹³⁾. يدل هذا التشابه المدهش لجزئ اليوبكوتين في الكائنات حقيقية النواة على أنه يؤدي وظيفة واحدة مشتركة، وأن آلية هذه الوظيفة متشابهة في الكائنات حقيقية النواة قاطبة.

يتكون جزئ اليوبكوتين من نطاق كروي، ونطاق خطي عند الطرف الكربوكسيلي، ينتهي بالحمض الأميني جلايسين. يعتمد ثبات النطاق الكروي على عدد كبير من الروابط الهيدروجينية التي تمنح البروتين ثباتاً كيميائياً مميزاً في المحاليل الحامضية والقاعدية وفي درجات الحرارة المرتفعة. كما تمنح هذه الروابط اليوبكوتين القدرة على أن يستعيد شكله الفراغي (تركيبه الثانوي) في حالة تدممه^{(15) و(16)}.

يعمل اليوبكوتين على وسم (labelling) البروتينات التي تحتاج الخلية إلى استقلابها عن طرق الارتباط بها كيميائياً بمساعدة إنزيمات متخصصة. يتم ذلك عن طرق ربط جزئ يوبكوتين أو أكثر بالبروتين المراد استقلابه. ومجرد ارتباط اليوبكوتين ببروتين ما يوجهه إلى عضوية متخصصة في هضم البروتينات هي رحي البروتين (Proteasome) حجمها 26 سفيدبرج (سفيدبرج وحدة لقياس وزن الجزيئات الحيوية ذات الوزن الجزيئي الكبير التي يصعب قياسها بالدالتون، وهي تعتمد على سرعة ترسيب الجزيء في الطرد المركزي).



شكل رقم (4/6) اليوبكوتين. (أ) رسم مجسم يوضح حلزون ألفا (اللون البنفسجي) وصفائح بيتا (اللون الأحمر). (ب) مخطط لتتابع الأحماض الأمينية من تحاليل الأشعة فوق البنفسجية. الأحماض الأمينية مكتوبة بالرموز الثلاثية و ترتيبها بالأرقام من 1 عند الطرف الأميني إلى 76 عند الطرف الكربوكسيلي⁽¹⁴⁾.

يرتبط اليوبكوتين بالبروتين المستهدف في ثلاث خطوات من خلال العمل التتابعي لثلاثة إنزيمات (شكل 5-6). في الخطوة الأولى، ينشط الجلايسين عند الطرف الكربوكسيلي لليوبكوتين بارتباطه بالإنزيم E1 من خلال رابطة ثيول. يستهلك في هذه الخطوة أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP). في

الخطوة الثانية، ينتقل اليوبكوتين المنشط إلى مجموعة ثيول في لبنة سيستايين في الإنزيم E2، ويُسمى حامل اليوبكوتين. في الخطوة الثالثة ينتقل اليوبكوتين من E2 ويرتبط طرفه الكربوكسيلي بإحدى لبنات اللايسين في البروتين المستهدف بمساعدة الإنزيم E3.

يمكن أن يرتبط جزئ البروتين المستهدف بسلسلة من جزيئات اليوبكوتين وليس فقط بجزئ واحد عن طريق إضافة جزيئات يوبكوتين جديدة، بحيث يرتبط الطرف الكربوكسيلي لجزئ اليوبكوتين القادم بإحدى مجموعات اللايسين في جزئ اليوبكوتين السابق⁽¹⁷⁾. يوجد إنزيم E1 واحد في النباتات، نظرًا لأن وظيفته لا تختلف من نبات لآخر، وهي تنشيط نفس البروتين. ولكن يوجد العديد من إنزيمات E2 والعديد من العائلات من E3. ربما يعزى تنوع الأخيرين إلى أن E3 يعمل على التعرف على البروتينات المستهدفة، وهي متباينة بالطبع، وذلك بمشاركة حامل اليوبكوتين E2.

في غالب الأحيان، تتجه البروتينات الموسومة باليوبكوتين إلى رحي البروتين لتهضم، رغم أنه في بعض الحالات، قد تبقى تلك البروتينات دون هضم، وليس معلوماً سبب ذلك. يزن رحي البروتين 26 سفيدبرج، ويتكون من جوف وزنه 20 سفيدبرج، وغطاء وزنه 19 سفيدبرج، يتحدان سوياً بمساعدة الطاقة من ATP⁽¹⁸⁾ و⁽¹⁹⁾. يحتوي الجوف على الإنزيمات الهاضمة للبروتين، بينما يعمل الغطاء على تنظيم عملية دخول البروتينات الموسومة إلى الجوف. ينفصل اليوبكوتين عن البروتين المستهدف سليماً قبل دخول الأخير إلى الجوف، حيث يهضم ويتحول إلى أحماض أمينية حرة أو إلى ببتيدات قصيرة تخرج إلى السيتوبلازم ليكتمل هضمها بواسطة إنزيمات أخرى هاضمة للبروتين. تعتمد عملية استقلاب البروتين بمنظومة اليوبكوتين على الطاقة من بدايتها حتى النهاية. فالطاقة لازمة لتنشيط اليوبكوتين، وتجميع رحي البروتين، كما أنها مطلوبة أيضاً لهضم البروتينات المستهدفة في جوف الرحي.

قد يبدو أن استقلاب البروتين عملية مهددة للطاقة والمادة في آن واحد، ولكن الحقيقة أن أهمية هذه العملية تبرر ما تستهلكه. فهو يسمح للنبات بأن يغير منظومة بروتينه حسب ما تمليه المرحلة التطورية، أو الظروف البيئية،

كما يسمح أيضاً بإعادة استخدام الأحماض الأمينية الناتجة من ذلك في تخليق بروتينات جديدة. وليس هنا مجال لسرد وظائف استقلاب البروتين في الأيض العام للنبات في الظروف الطبيعية، ولكن الهدف هو التركيز على أهمية استقلاب البروتين أثناء الإجهاد المائي⁽²⁰⁾.

6-3-4 دور استقلاب البروتين أثناء الإجهاد المائي:

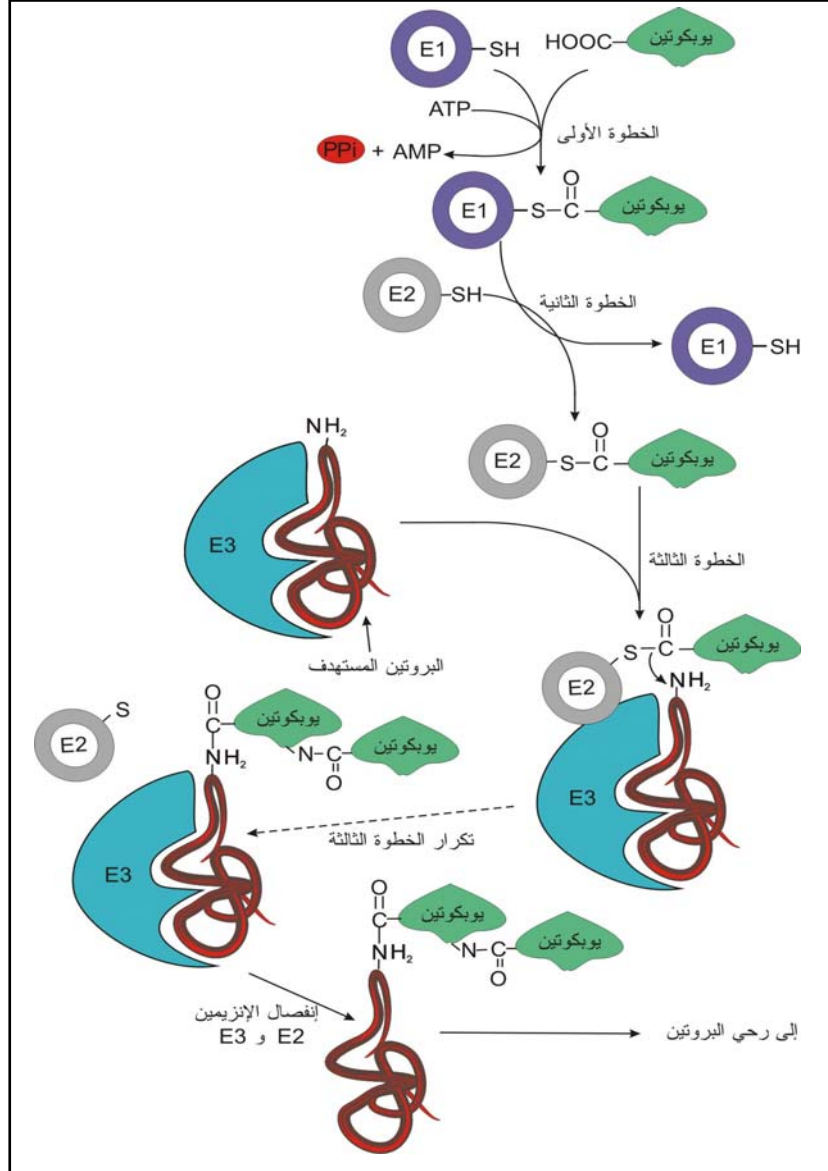
أولاً - التخلص من البروتينات التالفة بسبب الإجهاد:

تتعرض بعض بروتينات النبات للتلف أثناء الإجهاد المائي وغيره من أنواع الإجهاد⁽²¹⁾ و⁽²²⁾. يحدث ذلك لأسباب متعددة منها زيادة شقائق الأكسجين الفعالة⁽²³⁾. كما يمكن أن يؤدي تغير الجهد المائي للخلية بشكل كبير إلى فقدان بعض البروتينات لشكلها الفراغي وتفشل عمليات إصلاحها. وبقاء مثل هذه البروتينات في الخلية يضر بالخلية تركيباً ووظيفة في حالة تراكمها بكميات كبيرة.

في هذه الحالة يجب أن تزال تلك البروتينات حتى لو كان استقلابها مكلفاً بدلالة الطاقة، إذ يتيح إعادة استخدام أحماضها الأمينية في تخليق بروتينات جديدة، ويحمي الخلية تركيبياً ووظيفياً من وجود البروتينات التالفة. تزداد أهمية استقلاب البروتينات التالفة عندما يكون معدل انقسام الخلايا بطيئاً، بحيث لا يسمح بتخفيف هذه البروتينات.

ثانياً - تنظيم الأيض:

يحتاج النبات إلى تعديل نشاط المسارات الأيضية المختلفة أثناء الإجهاد، بما يتيح قدرة أكبر على التكيف. ومن أبرز الأمثلة على ذلك، زيادة تخليق المذابات المتوائمة مثل الجلايسين بيتايين والأحماض الأمينية وبخاصة البرولين في النباتات المجهد. وعند زوال الإجهاد، ينبغي أن يعود النشاط الأيضي في النبات إلى الحالة الطبيعية، إذ إن استمرار تخليق هذه المركبات بمعدلات عالية يستنزف جانباً غير قليل من موارد النبات من الطاقة والكربون والنيتروجين.



شكل رقم (5/6) وسم البروتينات لهضمها بواسطة منظومة اليويكوتين. الخطوة الأولى: ينشط اليويكوتين باتحاده بالإنزيم E1 باستخدام الطاقة. الخطوة الثانية: ينتقل إلى حامل اليويكوتين E2 الذي يربطه بالبروتين المستهدف بمساعدة E3 في الخطوة الثالثة. يمكن أن يضاف بعد ذلك عدد من وحدات اليويكوتين ثم ينفصل الإنزيمان E3 و E2 ويتوجه البروتين الموسوم إلى رحي البروتين لهضم.

رغم أن تنظيم نشاط المسارات الأيضية يشتمل على تنظيم نسخ وترجمة جيناتها، فإن التخلص من الإنزيمات ذاتها يعد طريقة سريعة وفعالة للتنظيم المباشر للأيض. ولو اقتصر تنظيم الأيض على مستويي النسخ والترجمة، لبقيت بعض المسارات الأيضية غير الضرورية نشيطة لمدد غير قصيرة، حتى بعد توقف نسخ وترجمة جيناتها نظراً لبقاء بروتيناتها.

وعموماً تتميز منظومة اليوبكوتين لاستقلاب البروتين بالاختيارية، حيث تتحكم في مدة بقاء كل بروتين في الخلية حسب ما تتطلبه المرحلة التطورية والظروف البيئية. ولذلك ليس غريباً أن فترة بقاء بعض البروتينات في الخلية لا تتجاوز بضع دقائق، بينما تمتد في البعض الآخر إلى أسابيع. والسبب في قصر فترة بقاء بعض البروتينات دون غيرها ليس كونها تالفة بالضرورة، بل يبدو أن فترة بقاء كل بروتين في الخلية محكومة بنظام دقيق تحكمه المرحلة التطورية للنبات والظروف البيئية.

وخير مثال على أهمية استقلاب البروتين تطورياً في البذور الزيتية لبعض النباتات مثل الخروع (*Ricinus communis*). تعتمد البادرة على الدهون المخزنة في الإندوسبروم للنمو في مراحلها الأولى، وقبل أن تبدأ في التمثيل الضوئي وذلك من خلال مسار الجليوجزيلات (Glyoxylate pathway) الذي يحدث الجزء الأساسي منه في عضيات متخصصة هي الجليوكسيسومات (Glyoxysomes). وعند بزوغ البادرة إلى الضوء، وبدء التمثيل الضوئي، تكون البادرة قد أتت على غالبية الدهون المخزنة أو كلها، فيزال مسار الجليوجزيلات بالكامل من الجليوكسيسومات التي تبدأ بدورها في الاشتراك في التنفس الضوئي، فتنحول إلى بيروكسيسومات (Peroxisomes). يحدث هذا التحول عن طريق استقلاب إنزيمات مسار الجليوجزيلات وإحلال إنزيمات التنفس الضوئي محلها. توجد أدلة جيدة على أن منظومة اليوبكوتين تلعب دوراً أساسياً في استقلاب البروتينات بهدف تنظيم الأيض والانتقال من مرحلة تطورية لأخرى، وكذلك بهدف التخلص من البروتينات التالفة بفعل الإجهاد المائي⁽²⁴⁾.

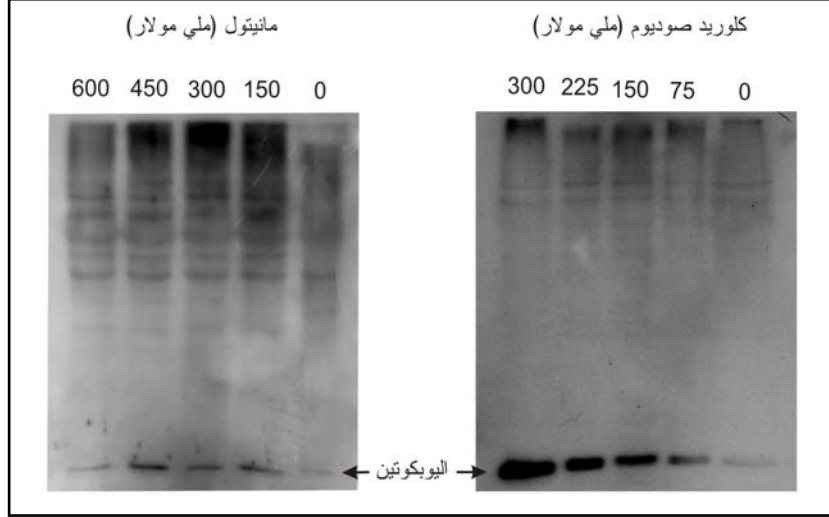
في بصل النرجس، يزداد تركيز اليوبكوتين في النباتات المجعدة ملحياً أكثر منه في النباتات المجعدة أسمورياً (شكل 6-6). قد يكون السبب في ذلك

أن بصل النرجس بطبيعته يتحمل الجفاف ولذلك لا تحدث أضرار بالغة بالبروتينات أثناء الإجهاد، مما لا يستلزم زيادة نشاط منظومة اليوبكوتين. غير أن النبات لا يتحمل الملوحة بنفس القدر، ولهذا يحتاج إلى مزيد من اليوبكوتين لاستقلاب البروتينات التالفة.

رغم ذلك لا يمكن الجزم بأن منظومة اليوبكوتين هي وحدها المسؤولة عن استقلاب البروتين في النبات بل يحتمل أن تشارك إنزيمات أخرى محللة للبروتين (بروتيازات: Proteases) في هذه العملية. هذه الإنزيمات تتميز بانخفاض حساسيتها للرقم الهيدروجيني للوسط (شكل 6-7) وعدم احتياجها للطاقة وتحليلها للبروتينات بشكل غير اختياري (عشوائياً). تشير خواص تلك الإنزيمات إلى تواجدها في الفجوة العصارية.

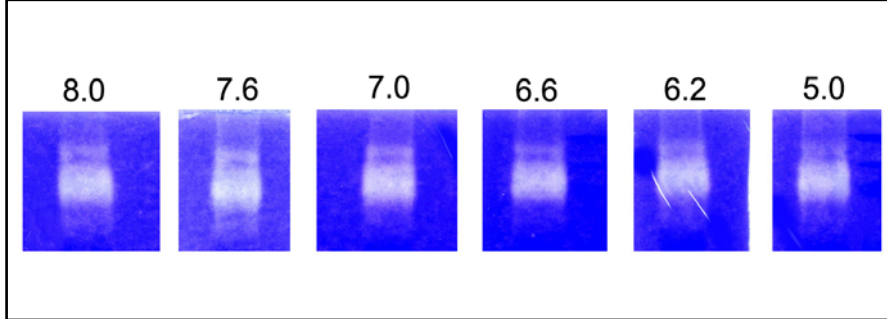
ولكن دور تلك الإنزيمات غير مفهوم تحديداً، فالفجوة العصارية ليست مأوى للكثير من العمليات الأيضية، ولا يوجد بها الكثير من البروتينات، خاصة الإنزيمات، باستثناء الفجوات التي تخزن البروتين. ولا توجد معلومات تشير إلى إمكانية نقل بروتينات من باقي أجزاء الخلية إلى الفجوة العصارية لتستقلب بها. رغم ذلك يوجد العديد من نظائر البروتيازات في نباتات بصل النرجس سواء المجعدة ملحياً أو أسموزياً أو حتى غير المجعدة.

بل يزيد نشاط بعض هذه النظائر خاصة في النباتات المجعدة ملحياً (شكل 6-8). ربما يدل وجود هذه الإنزيمات في النباتات غير المجعدة على أنها تؤدي وظيفة ما في الأيض الأساسي للنبات كما أن بقاءها في النباتات المجعدة يدل على أنها تساهم أيضاً في تحمل النبات للإجهاد.

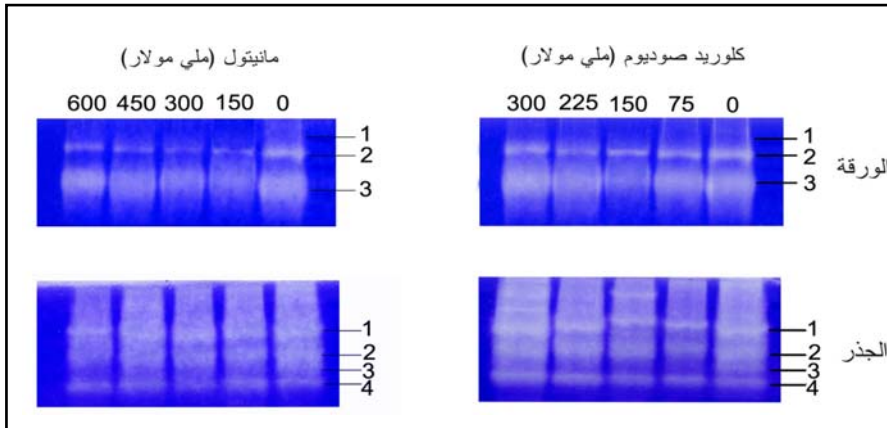


شكل رقم (6/6) أثر الإجهاد الملحي (0-300 ملي مولار كلوريد صوديوم) والأسموزي (0-600 ملي مولار مانيتول) على تفعيل جين اليوبكوتين في بصل النرجس بدلالة كمية اليوبكوتين في الكشف المناعي. تزيد كمية اليوبكوتين في حالة الإجهاد الملحي بشكل ملحوظ بينما لا تكاد تتغير في حالة الإجهاد الأسموزي. ربما يرجع السبب في ذلك إلى أن بصل النرجس يتحمل الإجهاد الأسموزي أكثر مما يتحمل الإجهاد الملحي ولذلك تزداد الحاجة لاستقلاب البروتينات التي ربما تتلف بمعدل أكبر في الحالة الأخيرة.

ومن الواضح أن آليات تحمل الإجهاد مازالت غير مفهومة بالكامل، رغم العدد الهائل من الدراسات التي نشرت حتى الآن. يبدو الأمر أكثر غموضاً في النباتات البرية الأكثر تحملاً للإجهاد، نظرًا لأن الكثير من الباحثين يفضلون استخدام الأرابيدوبسيس (*Arabidopsis thaliana*, family: Cruciferae) كنبات تجريبي أكثر من أي نبات آخر. فالأرابيدوبسيس سهل الاستزراع ودورة حياته قصيرة لا تتعدى بضعة أسابيع، والأهم من ذلك أن جينوم الأرابيدوبسيس معروف بالكامل، ويسهل الدخول إلى قواعد البيانات العالمية للحصول على أي معلومة بخصوصه. ولكن النقطة الأهم في ذلك أن الأرابيدوبسيس حساس للملوحة والجفاف، ومن غير المنطقي البحث عن آليات تحمل الإجهاد المائي في هذا النبات، لأنها لا توجد في الأساس!



شكل رقم (7/6) بروتينيات الورقة في بصل النرجس مفصولة على جل الأكريلاميد الذي يحتوي على الجيلاتين كمادة تفاعل مصبوغاً بالكوماسي. تظهر نظائر البروتينات كحزم شفافة نتيجة هضم الجيلاتين. الحزمة الكبيرة ربما تحتوي على أكثر من نظير. لا تتأثر هذه النظائر بتغير الرقم الهيدروجيني من 5.0 إلى 8.2.



شكل رقم (8/6) توجد عدة نظائر من البروتينات في أوراق (النصف العلوي) وجذور (النصف السفلي) نباتات بصل النرجس غير المجهد. تبقى هذه النظائر نشطة أثناء الإجهاد الملحي والأسموزي بواسطة تركيزات متزايدة من كلوريد الصوديوم والمانيتول بالترتيب. يلاحظ زيادة حجم الحزم في أوراق وجذور النباتات المجهد ملحياً عند 300 ملي مولار كلوريد صوديوم.

من المفيد في هذا الشأن استخدام النباتات الصحراوية أو الملحية التي تتحمل الإجهاد المائي بطبيعتها في دراسة الآليات الفسيولوجية والجزيئية لتحمل الإجهاد. كما أن دراسة النباتات المستحياة تلقي الضوء على كيفية تحمل تلك

النباتات للقوقول، وهي صفة تقتقر إليها الكثير من النباتات، حتى النباتات الملحية أو الصحراوية (شكل 6-9).



شكل رقم (9/6) يتحمل الكراتيروستجما (*Craterostigma plantagineum*) القوقول بحيث يصل محتواه المائي إلى 20% ثم يعاود النمو بشكل طبيعي متى توافر الماء⁽²⁵⁾.

يجب أن نشير هنا إلى أن الإجهاد المائي ينشط مجموعات أخرى من إنزيمات التحلل المائي فضلاً عن البروتينيزات. وإنزيمات التحلل المائي هي التي تحلل جزيئات كبرى مثل البروتينات والنشا والأحماض النووية إلى وحداتها البنائية في وجود الماء. تشمل هذه الإنزيمات النيوكلييزات (Nucleases) والريبونوكلييزات (Ribonucleases) التي تحلل كلا من DNA

و RNA بالترتيب. تكون الزيادة في نشاط هذه الإنزيمات أكبر ما يمكن في حالة الإجهاد الشديد. من المعروف أن الإجهاد الشديد يعجل موت الأنسجة خصوصاً الأوراق، مما يؤدي إلى نفضها. يسبق هذا الموت المبرمج تحلل مكونات الخلايا ونقلها إلى الأنسجة الحديثة قبل أن تتفصل الورقة من النبات.

ربما يكون لإنزيمات التحلل المائي دور في تحليل مكونات الخلايا كجزء من عملية الموت المبرمج. ورغم ذلك لا يمكن الجزم بأن هذه هي الوظيفة الوحيدة لتلك الإنزيمات. كما لا يمكن الجزم بأن هذه الاستجابة علامة على تكيف النبات إذ قد تكون علامة على عدم قدرة النبات على التكيف وتحلل مكونات خلاياه.

REFERENCES

المراجع

- (1) Mundy J and Chua N-H (1988). Absciscic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene. *European Molecular Biology Organization Journal* 7: 2279–2286.
- (2) Schneider K, Wells B, Schmelzer E, Salamini F and Bartels D (1993). Desiccation leads to the rapid accumulation of both cytosolic and chloroplastic proteins in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum* Hochst. *Planta* 189: 120–31.
- (3) Goday A, Jensen AB, Culianez-Macia FA, Alba MM and Figueras M (1994). The maize abscisic acid-responsive protein Rab17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. *Plant Cell* 6: 351–60.
- (4) Abogadallah GM (2003). Genetic impact of plant water stress. PhD thesis, Mansoura University Egypt.
- (5) Cellier F, Conejero G, Breitler JC and Casse F (1998). Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. *Plant Physiology* 116: 319–328.
- (6) Close TJ (1996). Dehydrins: emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum* 97: 795–803.
- (7) Clost TJ (1997). Dehydrins: a commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiologia Plantarum*: 100: 291–296.
- (8) Dure L (1993). A repeating 11-mer amino acid motif and plant desiccation. *Plant Journal* 3: 363–69.
- (9) Ingram J and Bartels D (1999). The molecular bases of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47:377–403.
- (10) Baker J, Steele C and Dure L (1988). Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton. *Plant Molecular Biology* 11: 277–91.

- (11) **Rorat T** (2006). Plant dehydrins - Tissue location, structure and function. *Cellular and Molecular Biology letters* **11**: 536-556.
- (12) **Pinheiro C , de Carvalho MHC , Bartels D , Ricardo AP , Chaves MM** (2008). Dehydrins in *Lupinus albus*: pattern of protein accumulation in response to drought. Source: *Functional Plant Biology* **35**: 85-91.
- (13) **Callis AJ and Vierstra RD** (1989). Ubiquitin and ubiquitin genes in higher plants. *Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology* **6**: 1-30.
- (14) **Vijay-Kumar S, Buggs CE, Wilkinson KD, Vierstra RD, Hatfield PM and Cook WJ** (1987). Comparison of the three dimensional structure of human, yeast and oat ubiquitin. *Journal of Biological Chemistry* **262**: 6396-6399.
- (15) **Vierstra RD, Langan SM, and Haas AL** (1985). Purification and initial characterization of ubiquitin from the higher plant *Avena sativa*. *Journal of Biological Chemistry* **260**: 12015-12021.
- (16) **riggs MS and Roder H** (1992). Early hydrogen bonding events in the folding reaction of ubiquitin. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* **89**: 2017-2021.
- (17) **Hershko A and Ciechanover A** (1998). The ubiquitin system. *Annual Review of Biochemistry* **67**: 425-79.
- (18) **Rechsteiner M, Hoffman L and Dubiel W** (1993). The multicatalytic and 26S proteases. *Journal of Biological Chemistry* **268**: 6065-6068.
- (19) **Rivett AJ** (1993). Proteasomes: multicatalytic protease complexes. *Biochemical Journal* **291**: 1-10.
- (20) **Buchanan B, Gruissem W and Jones RL** (eds) (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists.
- (21) **Vierstra R** (1993). Protein degradation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **44**: 385-410.
- (22) **Gatenby AA and Viitanen PV** (1994). Structural and functional aspects of chaperonin-mediated protein folding. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **45**: 469-491.
- (23) **Iturbe-Ormaetxe I, Escuredo PR, Arrese-Igor C, and Becana M** (1998). Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit and paraquat. *Plant Physiology* **116**: 173-181.
- (24) **O'Mahony PJ and Oliver MJ** (1999). The involvement of ubiquitin in vegetative desiccation tolerance. *Plant Molecular Biology* **41**: 657-667.
- (25) **Bohnert HJ** (2000). What makes desiccation tolerable? *Genome Biology* **1**: 1010.1-1010

الفصل السابع

الإجهاد المائي ومضادات الأكسدة

7-1 مقدمة:

يمثل الأكسجين 21% من مكونات الهواء الجوي. رغم أن الأكسجين في حالته الطبيعية لا يشكل خطراً على النبات، إلا أن حدوث بعض العمليات الأيضية في وجوده يؤدي إلى تكوين العديد من الشقائق شديدة النشاط الكيميائي إذا قورنت بجزء الأكسجين ذاته يطلق عليها إجمالاً شقائق الأكسجين الفعالة (Reactive oxygen species: ROS). من هذه أيونات السوبر أكسيد ($\text{O}_2^{\cdot-}$: Superoxide) وفوق أكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide: H_2O_2) وشقائق الهيدروكسيل ($\text{OH}^{\cdot}$: Hydroxyl radicals) والأكسجين المثار ($\text{Singlet oxygen: } ^1\text{O}_2$). تنتج الثلاثة شقائق الأول من تفاعلات النقل الإلكتروني إذا تمت في وجود الأكسجين⁽¹⁾، بينما ينتج الأكسجين المثار نتيجة امتصاص الطاقة الضوئية بواسطة جزيئات متخصصة مثل الكلوروفيل ونقلها إلى جزئ الأكسجين، مما يغير توزيع إلكتروناته، بحيث يزداد نشاطها الكيميائي مما يجعل الأكسجين المثار عاملاً مؤكسداً شرساً.

النباتات الخضراء مصممة لكي تعيش في وفرة من الماء، أو على الأقل في وجود حد أدنى منه يسمح بنمو النبات بشكل طبيعي. رغم ذلك توجد لدى النباتات آليات للتكيف للإجهاد المائي على الأقل خلال فترات وجيزة من دورة حياتها. تتباين كفاءة هذه الآليات من مجموعة نباتية لأخرى. فالنباتات الصحراوية والملحية تمثل قمة التكيف للإجهاد المائي، ثم تتبعها النباتات الوسطية التي يمكن أن تتحمل درجات طفيفة من الإجهاد لفترات محدودة غير أن ذلك يأتي على حساب نمو النبات وإنتاجيته، ثم ينتهي الأمر بالنباتات

المائية (نباتات الماء العذب) التي ينذر أن يتحمل أحدها الملوحة أو الجفاف ولو بدرجة طفيفة.

من الأعراض الجانبية للإجهاد المائي زيادة تكوين شقائق الأكسجين الفعالة، مما يعرض النبات للإجهاد التأكسدي. يحدث هذا في جميع النباتات بما في ذلك النباتات، الملحية والصحراوية إذا زادت درجة الإجهاد عن حدود تحمل النبات⁽²⁾.

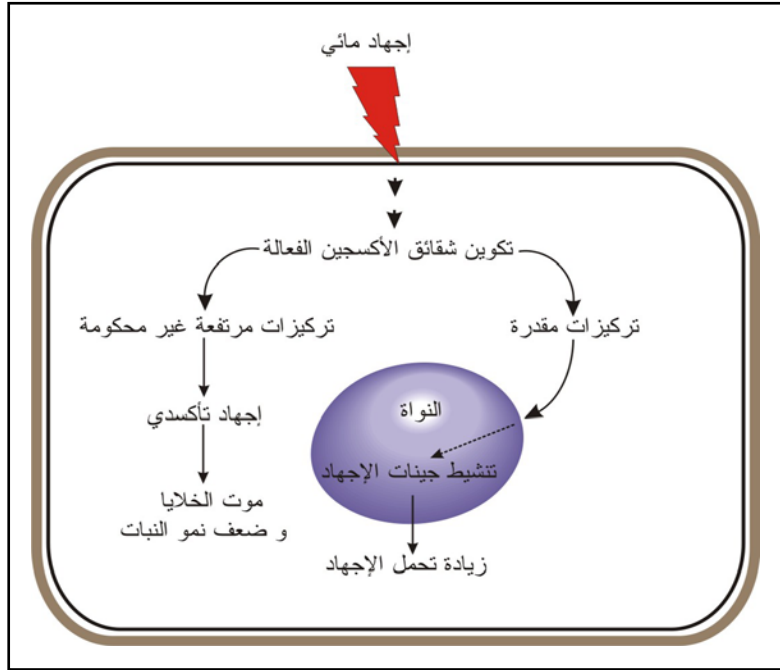
تلعب شقائق الأكسجين الفعالة دوراً في استجابة النبات للإصابة بالكائنات الممرضة، بحيث تحفز عملية موت الخلايا المبرمج (Programmed cell death) كوسيلة لمقاومة تلك الكائنات⁽³⁾. يفترض أن تؤدي شقائق الأكسجين الفعالة وظيفة مزدوجة أثناء الإجهاد المائي. فمن الممكن أن تعمل كإشارة ثانوية للإجهاد إذا تكونت بتركيزات قليلة في الخلايا فتحفز جينات مقاومة الإجهاد⁽⁴⁾ و⁽⁵⁾ (انظر الفصل الثالث: استشعار النبات للإجهاد). ولكن إذا فقد النبات السيطرة على تركيزات هذه الشقائق بحيث تتراكم داخل الخلية لتصل إلى تركيزات عالية، فإنها تعرض النبات حينئذ للإجهاد التأكسدي الذي يؤدي إلى أضرار بالغة في الخلايا وربما موتها⁽⁶⁾ (شكل 7-1).

7-2 كيف تنتج النباتات شقائق الأكسجين الفعالة؟

تتكون شقائق الأكسجين الفعالة في النباتات الخضراء حتى لو كانت نامية في وفرة من الماء وفي ظروف بيئة طبيعية. غير أن تركيزات تلك الشقائق تتباين. فالأكسجين المثار وشقائق الهيدروكسيل تتكون بتركيزات قليلة جداً⁽⁷⁾ بينما تنتج النباتات كلاً من فوق أكسيد الهيدروجين والسيور أكسيد بمعدلات عالية في الظروف الطبيعية⁽⁸⁾.

وبالاستيادات من أكثر عضيات الخلية إنتاجاً لشقائق الأكسجين الفعالة⁽⁹⁾. أثناء عملية البناء الضوئي تقتنص الطاقة الضوئية ثم تنقل إلى النظامين الضوئيين الأول والثاني (Photosystem I and Photosystem II) في أغشية البلاستيدات الخضراء. يعقب ذلك سلسلة من تفاعلات الأكسدة والاختزال (تفاعلات الضوء والظلام) من خلال انتقال الإلكترونات التي تنتهي بوصول الإلكترونات إلى ثاني أكسيد الكربون. غير أن الإلكترونات أحياناً

تنتقل إلى مستقبلات أخرى منها الأكسجين⁽¹⁰⁾. في النظام الضوئي الأول يختزل الأكسجين باكتساب الإلكترونات من بعض مكوناته منتجا فوق أكسيد الهيدروجين والسوبر أكسيد من خلال تفاعل ميلر (The Mehler reaction)⁽¹¹⁾. يسري 10% من إلكترونات البناء الضوئي إلى تفاعل ميلر⁽¹²⁾. رغم أن هذا يعد تسرياً للإلكترونات، فإنه يعتقد أنه يزيد من كفاءة منظومة نقل الإلكترونات الأساسية عن طرق تخفيف العبء عنها بشكل مؤقت. من ناحية أخرى يتكون الأكسجين المثار عن طريق نقل الطاقة من الكلوروفيل إلى الأكسجين⁽¹³⁾.



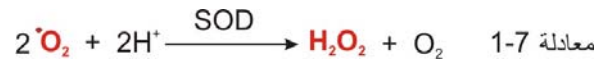
شكل رقم (1/7) أثران مفترضان لشقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد. يمكن أن تعمل كإشارات ثانوية تحفز جينات الإجهاد إذا تكونت بتركيزات قليلة تخضع لتحكم النبات ولكنها تضر بالخلايا إذا تكونت بتركيزات عالية.

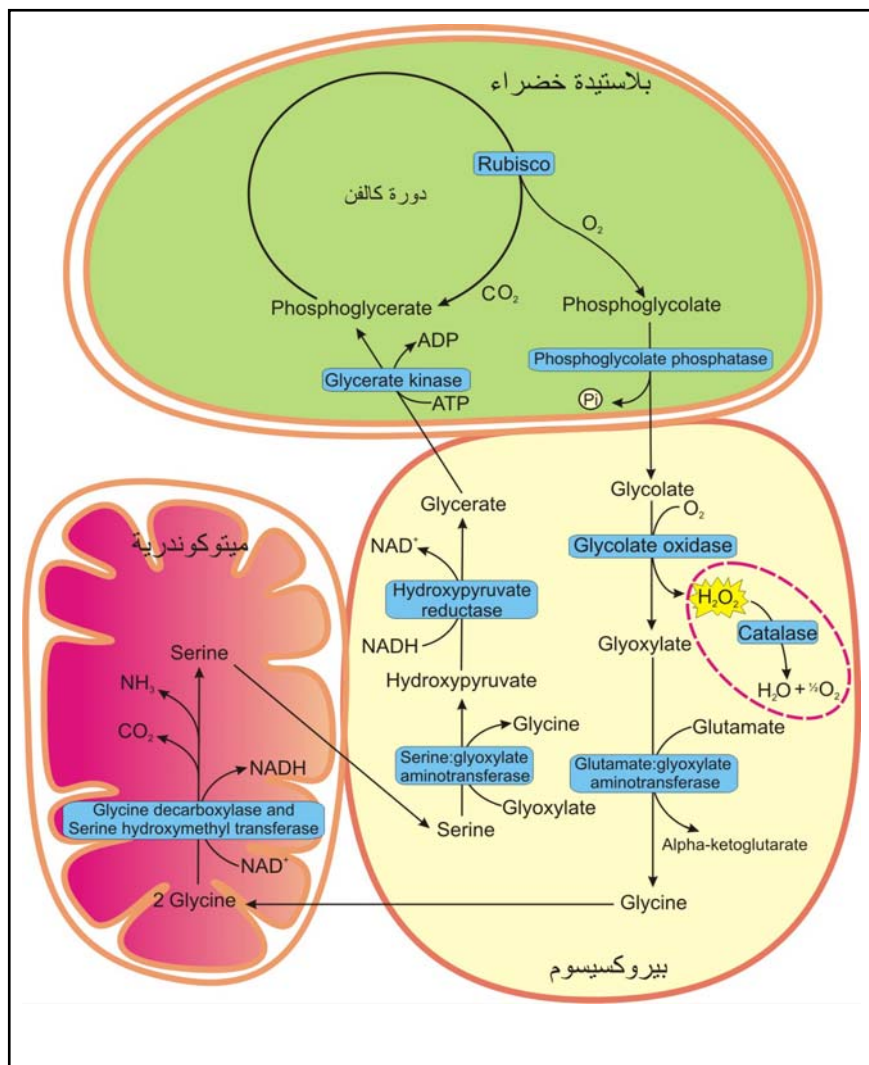
من مصادر شقائق الأكسجين الفعالة أيضاً التنفس الضوئي (انظر الفصل الرابع: الإجهاد المائي والعلاقات المائية والبناء الضوئي). ينتج فوق أكسيد الهيدروجين من أكسدة الجلايكولات في البيروكسيسوم بواسطة

الجلايكولات أوكسيديز (شكل 7-2). والبيروكسيسوم يحتوي على إنزيم الكتاليز الذي يهدم فوق أكسيد الهيدروجين الناتج في الظروف الطبيعية. بالإضافة إلى ذلك، تساهم الميتوكوندريا في إنتاج السوبر أكسيد، ولكن بكميات أقل مما تنتجه البلاستيدات والبيروكسيسومات من شقائق فعالة. ويحتمل أن يتحول 1-2% من الأكسجين الذي يستهلك في التنفس الميتوكونديري إلى سوبر أكسيد⁽¹⁴⁾.

3-7 تتحكم النباتات في تركيز شقائق الأكسجين الفعالة بواسطة منظومة دقيقة: إذا كان تكون شقائق الأكسجين الفعالة أمراً حتمياً، فإن النباتات في المقابل لديها آليات للتحكم في مستويات هذه الشقائق، بحيث لا تصل إلى درجة السمية للخلايا. تتكون هذه المنظومة من حشد من المكونات الإنزيمية وغير الإنزيمية يعمل على قم (Scavenging) شقائق الأكسجين الفعالة بدقة متناهية. تشمل منظومة القم هذه إنزيم السوبر أكسيد دسميوتيز (Superoxide SOD: dismutase) وعناصر دورة الأسكوريات - جلوتاثيون (Ascorbate-glutathione cycle) الإنزيمية وغير الإنزيمية وإنزيم الكتاليز (Catalase: CAT) ⁽¹⁵⁾ و ⁽¹⁶⁾. توجد هذه المكونات في عامة أجزاء الخلية باستثناء الكتاليز، الذي يوجد أساساً في البيروكسيسوم، ويختص بهدم فوق أكسيد الهيدروجين الناتج من التنفس الضوئي.

أهم إنزيمات قم شقائق الأكسجين الفعالة هو SOD نظراً لأن السوبر أكسيد يتكون سريعاً في الخلية. يعمل SOD على إطفاء القوة المؤكسدة للسوبر أكسيد بهدمه إلى أكسجين وفوق أكسيد هيدروجين (معادلة 7-1). و لكن هذا لا ينهي الخطر، فهو يهدم شقاً فعالاً وينتج آخر، وهو فوق أكسيد الهيدروجين الذي يهاجم سريعاً البروتينات التي تحتوي على مجموعات ثيول. لذلك يحتاج الأمر إلى الكتاليز أو الأسكوريات بيروكسيديز (Ascorbate peroxidase: APX) لهدم فوق أكسيد الهيدروجين.

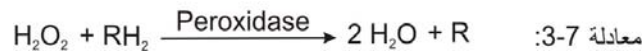
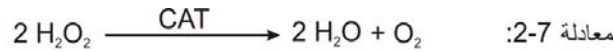




شكل رقم (2/7) ينتج فوق أكسيد الهيدروجين من أكسدة الجلايكولات في البيروكسيسوم كجزء من تفاعلات التنفس الضوئي. ويقم بواسطة الكتاليز (الإطار الأحمر المتقطع).

رغم أن كلاً من الأسكوربات وبيروكسيديز والكتاليز يهدم فوق أكسيد الهيدروجين، فإن خواصهما في هذا الصدد تختلف. فالكثاليز أقل قابلية لفوق أكسيد الهيدروجين مقارنة بالبيروكسيديز، بمعنى أن الأول يحتاج إلى تركيزات أعلى من فوق أكسيد الهيدروجين (ملي مولات) لكي يبدأ في هدمه، بينما الأخير يستطيع أن يهدمه حتى لو كان تركيزه قليلاً وفي حدود ميكرو مولات.

الفرق الثاني أن الكتاليز لا يحتاج إلى مادة مختزلة لينقل إليها القوة المؤكسدة من فوق أكسيد الهيدروجين، فهو يحول فوق أكسيد الهيدروجين إلى ماء وأكسجين (معادلة 2-7). أما البيروكسيديز فيحتاج إلى مادة مستقبلة للأكسدة و هي الأسكورات (معادلة 3-7).



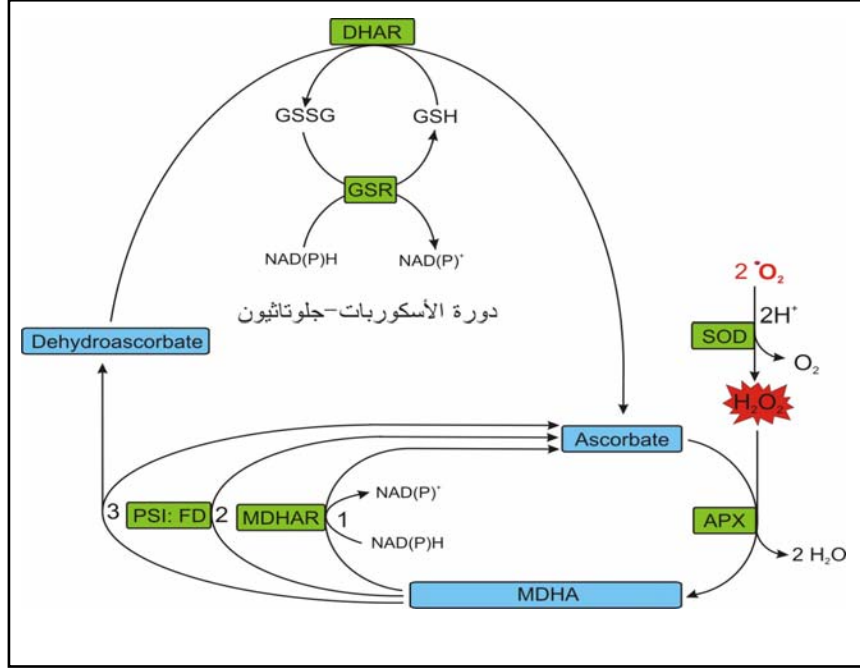
يوجد العديد من إنزيمات البيروكسيديز في النباتات كلها تهدم فوق أكسيد الهيدروجين بنقل القوة المؤكسدة منه إلى مادة ما. بعض هذه الإنزيمات يعمل على نقل القوة المؤكسدة من فوق أكسيد الهيدروجين إلى مادة مستقبلة بعينها كما في الأسكورات بيروكسيديز، بينما يستطيع بعضها أن يستخدم مواد متنوعة لهذا الغرض. توجد إنزيمات المجموعة الأولى بشكل أساسي في البلاستيدة والسيتوبلازم. بينما توجد إنزيمات المجموعة الأخيرة عادة في جدار الخلية، وتعمل على استخدام فوق أكسيد الهيدروجين لأكسدة مواد متنوعة لتنتج مركبات فينولية تتشابه جزيئاتها فيما بعد لتكون مواد معقدة مثل اللجنين الذي يعد مكوناً أساسياً من مكونات جدار الخلية⁽¹⁷⁾. لذلك يبدو أن للبيروكسيديز وظائف متنوعة في النبات لا تقتصر فقط على قم شقائق الأكسجين الفعالة عندما تتواجد بتركيزات قليلة أو كبيرة في الخلية، بل تمتد أيضاً إلى التحكم الدقيق في مستوياتها، بالإضافة لتوظيف تلك الشقائق لبناء الجدر الخلوية. أما الكتاليز فربما يقتصر دوره على قم تلك الشقائق عندما توجد بتركيزات كبيرة في الخلية خصوصاً أثناء الإجهاد. قد يكون هذا سبباً في تعدد نظائر البيروكسيديز مقارنة بالكتاليز⁽¹⁸⁾.

لا يحتاج الكتاليز إلى مواد أخرى ليهدم فوق أكسيد الهيدروجين بينما يحتاج الأسكورات البيروكسيديز إلى الأسكورات كمستقبل للقوة المؤكسدة من فوق أكسيد الهيدروجين. والأسكورات التي تتأكسد تحتاج إلى آلية خاصة لاختزالها بحيث يمكن إعادة استخدامها كمستقبل. يسمى مسار هدم فوق أكسيد الهيدروجين بواسطة الأسكورات بيروكسيديز وإعادة اختزال الأسكورات بمسار الأسكورات-جلوتاثيون (شكل 3-7).

ينتج من أكسدة الأسكوريات بواسطة الأسكوريات بيروكسيداز مونوديهدرو أسكوريات (MDHA: Monodehydroascorbate) التي يعاد ترتيب ذراتها، بحيث ينتج من كل جزيئين منها جزيء واحد من الأسكوريات، وجزيء آخر من الديهيدرو أسكوريات. تختزل الديهيدرو أسكوريات خلال دورة الأسكوريات-جلوتاثيون بواسطة الديهيدرو أسكوريات رديكتيز (DHAR: Dehydroascorbate reductase) وهو الإنزيم الذي يحفز اختزال الديهيدرو أسكوريات على حساب أكسدة مادة أخرى هي الجلوتاثيون. ويعاد اختزال الجلوتاثيون بواسطة الجلوتاثيون رديكتيز في وجود NAD(P)H.

دورة الأسكوريات-جلوتاثيون ليست هي الخيار الوحيد لإعادة اختزال المونوديهدرو أسكوريات، بل يمكن أيضاً أن تختزل في النظام الضوئي الأول بواسطة الفيريدوكسن (FD: Ferredoxin) كناقل للإلكترونات (شكل 3-7) مما يضمن هدم فوق أكسيد الهيدروجين في مكان تكونه وعدم انتشاره لأجزاء أخرى من الخلية. ورغم ذلك يمكن أن ينتشر فوق أكسيد الهيدروجين من البلاستيدة إلى السيتوبلازم نظراً لثباته النسبي. في هذه الحالة، يمكن أن يهدم بواسطة الأسكوريات بيروكسيداز الموجود في السيتوبلازم الذي يهدم أيضاً فوق أكسيد الهيدروجين الذي ينتجه السوبر أكسيد دسميوتيز السيتوبلازمي⁽¹⁹⁾. بالإضافة إلى ذلك يستطيع إنزيم المونوديهدرو أسكوريات رديكتيز أن يختزلها إلى الأسكوريات في وجود NAD(P)H (شكل 3-7).

لا يقتصر دور الجلوتاثيون على إعادة اختزال الأسكوريات، بل يمكن أن يعمل بشكل مباشر في قم شقائق فعالة مثل الأكسجين المثار أو شقائق الهيدروكسيل أو فوق أكسيد الهيدروجين. كما تعمل أصباغ مثل الكاروتين الموجودة في أغشية البلاستيدات (حيث يتكون الأكسجين المثار) على قم الأكسجين المثار بكفاءة كبيرة⁽²⁰⁾. تجدر الإشارة هنا إلى أنه لا يوجد تفاعل إنزيمي معروف لقم شائق الهيدروكسيل في النبات، مما يوحي بخطورتها على الخلية خصوصاً إذا تواجدت بتركيزات كبيرة⁽²¹⁾.



شكل رقم (3/7) إطفاء السوبر أكسيد بواسطة السوبر أكسيد دسميوتيز (SOD) ينتج فوق أكسيد الهيدروجين الذي يهدم بواسطة الأسكورات بيروكسيداز (APX) ويؤكسد الأسكورات إلى المونوديهيدرو أسكورات (MDHA). يعاد اختزال المونوديهيدرو أسكورات إلى أسكورات بطرق ثلاث: إما: 1: بواسطة المونوديهيدرو أسكورات رديكتيز (MDHAR) أو 2: بواسطة الفيريدوكسن (FD) في النظام الضوئي الأول أو 3: من خلال دورة الأسكورات-جلوتاثيون.

7-4 يزداد تكوين شقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد المائي:

الجذور هي الخط الأمامي للنبات الذي يكتشف نقص الماء في التربة بسبب الملوحة أو الجفاف أو البرودة أو جميع ذلك. يتبع ذلك تكون رسائل ثانوية من أهمها حمض الأبسيسك الذي ينتقل عبر الخشب إلى المجموع الخضري حيث يؤدي مباشرة إلى غلق الثغور، وبذلك يحدث تعديل في الأيض العام في النبات، بحيث يكون الهدف هو الحد من فقد الماء.

يمكن للنبات أن يحد من فقد الماء بغلق الثغور تمامًا أو بتقليل نفاذيتها، ولكن هذا أيضًا يقلل تركيز ثاني أكسيد الكربون المتاح لعملية التمثيل الضوئي، مما يؤثر سلباً على كفاءتها، ويحفز تكوين شقائق الأكسجين الفعالة ((22) و (23)

و⁽²⁴⁾ و⁽²⁵⁾ و⁽²⁶⁾ و⁽²⁷⁾). يزداد معدل تكوين شقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد المائي بعدة طرق. من أهم هذه الطرق زيادة معدل تفاعل ميلر الذي يسرب الإلكترونات إلى الأكسجين. في نبات القمح (*Triticum aestivum*) تقدر الزيادة في معدل تفاعل ميلر في النباتات المجهدة بحوالي 50% مقارنة بالنباتات غير المجهدة⁽²⁸⁾. كما يزيد أيضاً معدل تفاعل ميلر في نباتات دوار الشمس (*Helianthus annuus*) أثناء الجفاف⁽²⁹⁾.

الطريقة الثانية لزيادة تكوين شقائق الأكسجين الفعالة هي التنفس الضوئي. غلق الثغور أو انخفاض نفاذيتها يقلل تركيز ثاني أكسيد الكربون المتاح لإنزيم الروبيسكو، مما يزيد معدل تفاعل الأكسدة مقارنة بتفاعل الكربنة (انظر الفصل الرابع). تحتم الزيادة في معدل تفاعل الأكسدة زيادة معدل التنفس الضوئي وما يصاحبه من تكوين فوق أكسيد الهيدروجين في البيروكسيسومات (شكل 7-2). تقدر كمية فوق أكسيد الهيدروجين الناتجة من التنفس الضوئي بحوالي 70% من إجمالي فوق أكسيد الهيدروجين الذي يكونه النبات أثناء الإجهاد⁽³⁰⁾. ولكن من الصعب تحديد مصدر فوق أكسيد الهيدروجين أثناء الإجهاد بدقة بسبب كونه قادراً على الانتشار من مكان لآخر داخل الخلية.

بالإضافة إلى فوق أكسيد الهيدروجين، يمكن أيضاً للبلاستيدات أن تكون شقائق الهيدروكسيل أثناء التحولات الكيميائية لفوق أكسيد الهيدروجين. يمكن لشقائق الهيدروكسيل أن تؤكد غالبية مكونات الخلية رغم أن فترة بقائها في الخلية (عمر النصف) قصيرة بالمقارنة بغيرها من الشقائق الفعالة (1 ميكرو ثانية تقريباً).

7-5 قم شقائق الأكسجين الفعالة أثناء الإجهاد:

يحتمل أن تستخدم النباتات شقائق الأكسجين الفعالة وبتراكيزات قليلة كمؤشرات لدرجة الإجهاد تحفز الوسائل الدفاعية بالقدر المطلوب. ويجب أن تبقى تراكيزات تلك الشقائق تحت سيطرة الخلية، إذ إن زيادتها يخرّب الخلية، ويعجل عمليات الشيخوخة. وللكشف عن معدل تكوين شقائق الأكسجين الفعالة

يمكن قياس بعض الأعراض المصاحبة لتراكمها مثل أكسدة الدهون. على أن غياب تلك الأعراض لا يعني بالضرورة عدم زيادة تكوين الشقائق، بل يمكن أن تحدث تلك الزيادة ويلازمها زيادة في كميات الإنزيمات القمامة.

يدل مدى تفعيل جينات إنزيمات قم شقائق الأكسجين الفعالة أو نشاط الإنزيمات ذاتها على مدى كفاءة النبات في مقاومة الإجهاد التأكسدي المترتب على التعرض للإجهاد المائي. فزيادة تفعيل تلك الجينات أو زيادة النشاط الإنزيمي أو كليهما يعد دليلاً على قدرة النبات على مقاومة الإجهاد التأكسدي. رغم ذلك تتضارب نتائج الدراسات في هذا الصدد، فالبعض يشير إلى نقص نشاط إنزيمات القم، والبعض الآخر يشير إلى زيادتها أثناء الإجهاد. ولتفسير هذا يجب أن نأخذ في الاعتبار أن استجابة جينات أو إنزيمات القم يقيم في ضوء استجابة النبات ككل. قد تكون لدى النبات قدرة على التكيف والنمو في ظروف الإجهاد بسبب أنه بطبيعته يتحمل الإجهاد كما في النباتات الملحية والصحراوية، وهذا غالباً يصاحبه تحسن في قدرة النبات على التخلص من شقائق الأكسجين الفعالة يستدل عليها من زيادة نشاط الجينات والإنزيمات الضرورية لذلك. وعلى الجانب الآخر، قد يفقد النبات القدرة على التكيف للإجهاد ومواصلة النمو إما بسبب زيادة شدة الإجهاد بحيث تتعدى قدرة النبات على التحمل، أو بسبب أن النبات بطبيعته لا يتحمل الإجهاد كما في النباتات الوسطية. في هذه الحالة قد تتناقص درجة تفعيل جينات ونشاط إنزيمات القم ليس لأن النبات لا يحتاج إليها، بل لأنه لم يعد قادراً على التحكم فيها، وأن إنزيمات القم نفسها تضررت بفعل الإجهاد شأنها شأن بقية الإنزيمات.

ويبدو أن تنشيط السوبر أكسيد دسميوتيز أثناء الإجهاد يعد وسيلة مهمة لتكيف النبات. يتضح هذا من خلال زيادة تفعيل (Overexpression) جين السوبر أكسيد دسميوتيز (Manganese Superoxide dismutase: MnSOD) في البلاستيدات في كل من البرسيم الحجازي (*Medicago sativa*)⁽³¹⁾ والأرز (*Oryza sativa*)⁽³²⁾ يحسن تحملهما للجفاف. هذا رغم أن بعض الدراسات تشير إلى تناقص نشاط السوبر أكسيد دسميوتيز أو عدم تغيره في بعض النباتات مثل القمح⁽³³⁾ والأرز⁽³⁴⁾ ودوار الشمس⁽³⁵⁾ والبرسيم الحجازي⁽³⁶⁾ أثناء الإجهاد.

أما إنزيم دورة الأسكوريات - جلوتاثيون (الأسكوريات بيروكسيديز والجلوتاثيون رديكتيز) فتشير الكثير من الدراسات إلى تزايد نشاط أحدهما أو كليهما أثناء الإجهاد في نباتات متعددة مثل القمح⁽³⁷⁾ والفاصوليا (*Phaseolus vulgaris*)⁽³⁸⁾ و⁽³⁹⁾ والأرز⁽⁴⁰⁾ وغيرها. ولكن كما في حالة السوبر أكسيد دسميوتيز يشير عدد قليل من الدراسات إلى عدم تغير نشاط الأسكوريات بيروكسيديز أو حتى إلى تناقصه أثناء الإجهاد.

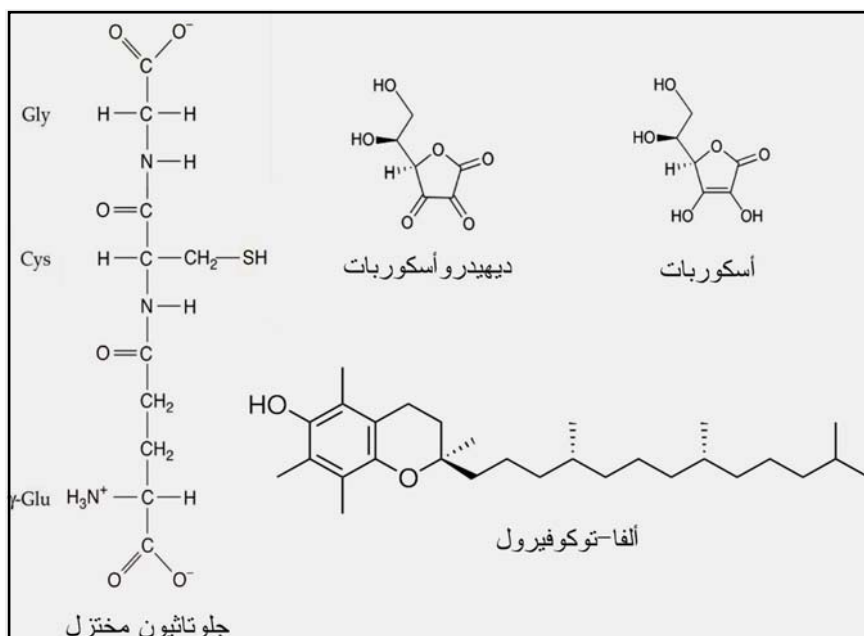
من الصعب إيجاد تفسير لهذه النتائج المتضاربة نظراً لاختلاف النباتات التي أجريت عليها الدراسات. وحتى في حالة استخدام النبات ذاته في أكثر من دراسة، يصعب أيضاً مقارنة الدراسات ببعضها، نظراً لاختلاف الظروف التجريبية لكل دراسة، والتركيب الوراثي للنباتات المستخدمة. ولكن استناداً إلى نتائج الدراسات التي أجريت على نباتات البطاطس (*Solanum tuberosum*) المعدلة وراثياً بزيادة تفعيل جيني الأسكوريات بيروكسيديز والسوبر أكسيد دسميوتيز في البلاستيدات والتي تميزت بقدرة أكبر على تحمل الإجهاد المائي⁽⁴¹⁾ يمكن استنتاج أن تحسين كفاءة إنزيمات قم شقائق الأكسجين الفعالة يحسّن من تحمل النبات للإجهاد المائي.

لا يختلف الأمر كثيراً بالنسبة للكتاليز عنه بالنسبة لكل من السوبر أكسيد دسميوتيز وإنزيمي دورة الأسكوريات - جلوتاثيون. فبعض الدراسات تشير إلى زيادة نشاطه أثناء الإجهاد، بينما يسير البعض الآخر إلى تناقصه. ولكن وجد أيضاً أن نباتات الدخان المعدلة وراثياً بزيادة تفعيل الكتاليز البكتيري، تتحمل بشكل أفضل الضوء الشديد أثناء الإجهاد المائي. كما يفترض أن الكتاليز أكثر ثباتاً من البيروكسيديز أثناء الإجهاد المائي⁽⁴²⁾.

من ذلك يمكن الاستنتاج بأن النباتات تعتمد على البيروكسيديز في ضبط مستويات فوق أكسيد الهيدروجين عند تركيزات منخفضة. في هذه الظروف، ربما يكون الكتاليز أقل أهمية، نظراً لانخفاض قابليته لهدم فوق أكسيد الهيدروجين، بينما يصبح الكتاليز أكثر أهمية إذا كان معدل تكوين فوق أكسيد الهيدروجين كبيراً، بحيث يفوق قدرة البيروكسيديز على ضبطه، وذلك

أثناء الإجهاد المائي الشديد. عندئذ يكون الكتاليز مهماً في حماية مكونات الخلية، بما في ذلك البيروكسيدز نفسه من فوق أكسيد الهيدروجين. 6-7 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

وصفنا فيما سبق، دور الإنزيمات الأساسية في قم شقائق الأكسجين الفعالة. على أن تلك الإنزيمات لا تعمل بدون مواد مستقبلة للقوة المؤكسدة باستثناء الكتاليز. فكل من الأسكورات والجلوتاثيون ضروريان لإتمام عملية القم من خلال الدورة التي تحمل اسميهما. وبديهي أن توافر كل منهما بتركيزات مناسبة أثناء الإجهاد ضروري أيضاً لهذه العملية. علاوة على ذلك، يلعب مركب ألفا - توكوفيرول (Alpha-tocopherol) دوراً مهماً في قم شقائق الأكسجين الفعالة. يمنع ألفا - توكوفيرول تكوين شقائق الهيدروكسيل والأكسجين المثار، كما يستطيع قم شقائق الدهون البيروكسيلية (Lipid peroxy radicals)⁽⁴³⁾ (شكل 4-7). ويعتبر ألفا - توكوفيرول من العناصر الأساسية في حماية الأغشية الخلوية وخصوصاً البلاستيكية، لذلك يتراكم هذا المركب في النبات أثناء الإجهاد المائي⁽⁴⁴⁾. هذا بالإضافة إلى دور الكاروتين في قم الأكسجين المثار. ولسنا هنا بصدد سرد مضادات الأكسدة في النبات، بل هذه مجرد أمثلة، والواقع أن النباتات تحتوي على مواد متنوعة تعمل لهذا الغرض.

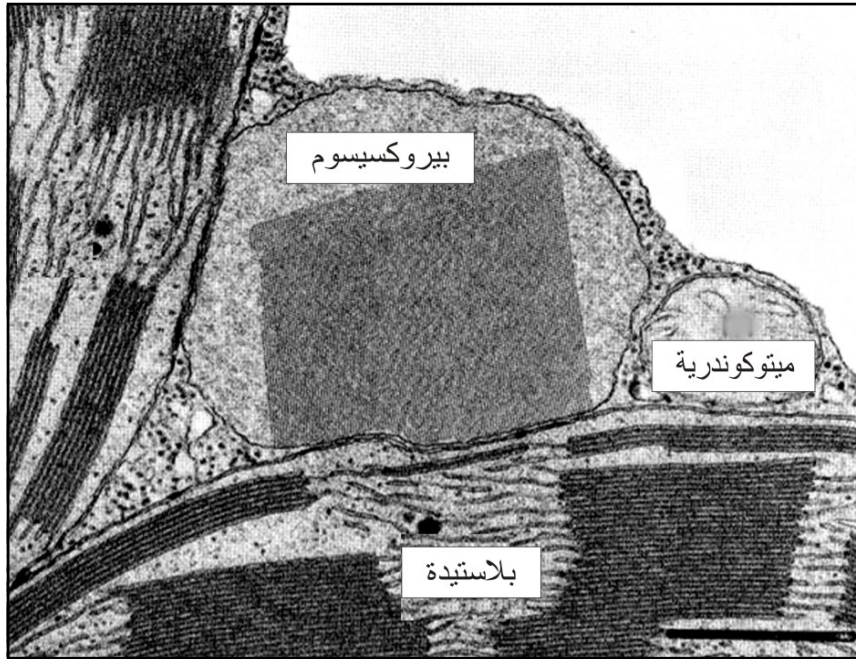


شكل رقم (4/7) بعض مضادات الأكسدة غير الإنزيمية في النبات. الأسكورات هي المستقبل الأساسي للقوة المؤكسدة من فوق أكسيد الهيدروجين حيث تتحول إلى مونوديهيدرو أسكورات ومنها إلى ديهيدروأسكورات. الجلوتاثيون المكون الثاني من مكونات دورة الأسكورات جلوتاثيون يتكون من ثلاثة أحماض أمينية هي الجلایسین والسیستائین والجلوتامیک (في الحالة المختلة). عند تأكسد الجلوتاثيون تنزع ذرة هيدروجين من جزيئين منه ويرتبطان من خلال مجموعتي الثيول. وأخيراً الألفا - توكوفيرول يعمل بكفاءة على حماية الأغشية الخلوية من التأكسد أثناء الإجهاد.

7-7 دور التنفس الضوئي في مقاومة التأكسد:

رغم كون التنفس الضوئي (شكل 7-5) من المصادر الأساسية لتكوين فوق أكسيد الهيدروجين أثناء الإجهاد، فإنه يعتبر وسيلة لتلطيف الإجهاد التأكسدي الناتج من التعرض للإجهاد المائي عندما يقل نشاط الروبيسكو بسبب نضوب ثاني أكسيد الكربون. فهو في المقام الأول وسيلة لتصريف الطاقة الضوئية التي يمتصها الكلوروفيل ويتعسر استخدامها في البناء الضوئي نظراً لتباطئه بسبب الإجهاد. هذه الطاقة قد تتلف منظومة البناء الضوئي ما لم تصرف في طريق بديل⁽⁴⁵⁾. كما أن التنفس الضوئي ينقل مكان تكوين فوق أكسيد الهيدروجين من البلاستيدة إلى البيروكسيسوم الذي يعد أكثر تحملاً لهذا

المركب المؤكسد من البلاستيدة نظراً لوجود الكتاليز الذي يهدمه دون الحاجة إلى مادة مستقبلية للقوة المؤكسدة. يمكن أيضاً أن تشترك نظائر الأسكوريات بيروكسيدز البيروكسيسومية في عملية هدم فوق أكسيد الهيدروجين في البيروكسيسوم. والتنفس الضوئي ينتج الجلايسين الذي يدخل في تخليق الجلوتاثيون⁽⁴⁶⁾ كما يمكن أن يعمل كمذاب متوائم.



شكل رقم (5/7) صورة بالمجهر الإلكتروني لقطاع في ورقة نبات ثلاثي الكربون. في هذه النباتات تكثر البيروكسيسومات وتشترك في عملية التنفس الضوئي مع البلاستيدات والميتوكوندريا. يعمل التنفس الضوئي كمسار بديل لتصريف الطاقة التي يتعسر تصريفها عبر التمثيل الضوئي نظراً لنضوب ثاني أكسيد الكربون وانخفاض المحتوى المائي للنبات. البيروكسيسومات عضيات خلوية بسيطة ليس بها تراكيب غشائية داخلية ومحاطة بغشاء مفرد. وفي الصورة يظهر البيروكسيسوم وبه جسم بللوري عبارة عن إنزيم الكتاليز. يندر وجود مثل هذه الثلاثية في النباتات رباعية الكربون لوجود آلية بديلة لتركيز ثاني أكسيد الكربون حول الروبسكو مما يقلل من معدل التنفس الضوئي بشكل كبير.

فوق كل ذلك، تتميز البيروكسيسومات بمرونتها وقدرتها على التكيف لمتطلبات النبات الفسيولوجية والبيئية⁽⁴⁷⁾. فهي تغير وظيفتها بتغير المرحلة التطورية للنبات، كما في حالة تحول الجليوكسيسومات أثناء إنبات البذور الدهنية إلى البيروكسيسومات عندما تتم البذرة عملية الإنبات وتبدأ في التمثيل الضوئي. ثم إنها تتكاثر عند تراكم فوق أكسيد الهيدروجين في النبات، وهو أيضًا ما يمكن أن يحدث أثناء الإجهاد المائي⁽⁴⁸⁾.

REFERENCES

المراجع

- (1) Halliwell B and Gutteridge JM (1998). Free radicals in biology and medicine, third edition. Oxford: Oxford University Press.
- (2) Mittler R, Merquiol E, Hallak-Herr E, Rachmilevitch S, Kaplan A and Cohen M (2001). Living under a 'dormant' canopy: a molecular acclimation mechanism of the desert plant *Retama raetam*. *The Plant Journal* **25**: 407-416.
- (3) Levine A, Tenhaken R, Dixon R, and Lamb C (1994). H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* **79**: 583-93.
- (4) Dat J, Vandenabeele S, Vranová E, Van Montagu M, Inzé D and Van Breusegem F (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* **57**: 779-795.
- (5) Vranova E, Inzé D and Van Breusegem F (2002). Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany* **53**: 1227-1236.
- (6) Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* **7**: 405-410.
- (7) Jakob B and Heber U (1996). Photoproduction and detoxification of hydroxyl radicals in chloroplasts and leaves in relation to photoinactivation of photosystems I and II. *Plant and Cell Physiology* **37**: 629-635.
- (8) Noctor G and Foyer CH (1998). Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **49**: 249-279.
- (9) Foyer CH, Descourvières P and Kunert KJ (1994). Protection against oxygen radicals: An important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell and Environment* **17**: 507-23.

- (10) **Baker NR** (1991). A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* **81**: 563-70.
- (11) **Mehler AH** (1951). Studies on reactivity of illuminated chloroplasts. I. Mechanism of the reduction of oxygen and other Hill reagents. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **33**: 65-77.
- (12) **Foyer CH and Noctor G** (2000). Oxygen processing in photosynthesis: Regulation and signalling. *New Phytologist* **146**: 359-88.
- (13) **Krieger-Liszkay A** (2005). Singlet oxygen production in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. **56**: 337-346.
- (14) **Puntarulo S, Sanchez RA and Boveris A** (1988). Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. *Plant Physiology* **86**: 626-30.
- (15) **Bowler C, Van Montagu M and Inzé D** (1992). Superoxide dismutases and stress tolerance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **43**: 83-116.
- (16) **Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Inzé D and Van Camp W** (1997). Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *European Molecular Biology Organization Journal* **10**: 1723-32.
- (17) **Greppin H, Penel C and Gaspar T (eds)** (1986). Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases. Geneve: University of Geneva.
- (18) **Khedr AA, Abbas MA, Abdel-Wahid AA, Quick WP and Abogadallah GM** (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adoption of *Panocratium maritimum* L. to salt stress. *Journal of Experimental Botany* **54**: 2553-2562.
- (19) **Cruz de Carvalho MH** (2008). Drought stress and reactive oxygen species production, scavenging and signalling. *Plant Signaling and Behaviour* **3**: 156-165.
- (20) **Knox JP and Dodge AD** (1985). Singlet oxygen and plants. *Phytochemistry* **24**: 889-96.
- (21) **Yokota A, Kawasaki S, Iwano M, Nakamura C, Miyake C and Akashi K** (2002). Citrulline and DRIP-1 protein (ArgE homologue) in drought tolerance of wild watermelon. *Annals of Botany* **89**: 825-32.
- (22) **Sgherri CLM, Pinzino C and Navari-Izzo F** (1993). Chemical changes and O₂ – production in thylakoid membranes under water stress. *Physiologia Plantarum* **87**: 211-216.
- (23) **Moran JF, Becana M, Iturbe-Ormaetxe I, Frechilla S, Klucas RV and Aparicio-Tejo P** (1994). Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta* **194**:346-52.

- (24) Sgherri CLM and Navari-Izzo F (1995). Sunflower seedlings subjected to increasing water deficit stress: Oxidative stress and defense mechanisms. *Physiologia Plantarum* **93**: 25-30.
- (25) Wellburn FAM, Lau KK, Milling PMK and Wellburn AR (1996). Drought and air pollution affect Nitrogen cycling and free radical scavenging in *Pinus halepensis* (Mill.). *Journal of Experimental Botany* **47**: 1361-7.
- (26) Loggini B, Scartazza A, Brugnoli E and Navari-Izzo F (1999). Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. *Plant Physiology* **119**: 1091-1099.
- (27) Boo YC and Jung J (1999). Water deficit-induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. *Journal of Plant Physiology* **155**: 255-261.
- (28) Biehler K and Fock H (1996). Evidence for the contribution of the Mehler-Peroxidase reaction in dissipating excess electrons in drought-stressed wheat. *Plant Physiology* **112**: 265-72.
- (29) Sgherri CLM, Pinzino C and Navari-Izzo F (1996). Sunflower seedlings subjected to increasing stress by water deficit: Changes in O₂ - production related to the composition of thylakoid membranes. *Physiologia Plantarum* **96**: 446-52.
- (30) Noctor G, Veljovic-Jovanovic S, Driscoll S, Novitskaya L and Foyer C (2002). Drought and oxidative load in the leaves of C₃ plants: A predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* **89**: 841-50.
- (31) McKersie BD, Bowley SR, Harjanto E and Leprince O (1996). Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology* **111**: 1171-1181.
- (32) Wang FZ, Wang QB, Kwon SY, Kwak SS and Su WA (2005). Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide. *Journal of Plant Physiology* **162**: 465-72.
- (33) Lascano HR, Antonicelli GE, Luna CM, Melchiorre MN, Gomez LD, Racca RW, Trippi VS and Casano LM (2001). Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: Field and in vitro studies. *Australian Journal of Plant Physiology* **28**: 1095-102.
- (34) Guo Z, Ou W, Lu S and Zhong Q (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry* **44**: 828-36.
- (35) Quartacci MF and Navari-Izzo F (1992). Water stress and free radical mediated changes in sunflower seedlings. *Journal of Plant Physiology* **139**: 612-25.

- (36) Rubio MC, González EM, Minchin FR, Webb KJ, Arrese-Igor C, Ramos J and Becana M (2002). Effects of water stress on antioxidant enzymes of leaves and nodules of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutases. *Physiologia Plantarum* **115**: 531-40.
- (37) Keles Y and Oncel I (2002). Response of the antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings. *Plant Science* **163**: 783-90.
- (38) Turkan I, Bor M, Ozdemir F and Koca H (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science* **168**: 223-31.
- (39) Torres-Franklin ML, Contour-Ansel D, Zuily-Fodil Y and Pham-Thi AT (2007). Molecular cloning of glutathione reductase cDNAs and analysis of GR gene expression in cowpea and common bean leaves during recovery from a moderate drought stress. *Journal of Plant Physiology* **165**: 514-521.
- (40) Sharma P and Dubey RS (2005). Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation* **46**: 209-21.
- (41) Tang L, Kwon SY, Kim SH, Kim JS, Cho KY and Sung CK (2006). Enhanced tolerance of transgenic potato plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against oxidative stress and high temperature. *Plant Cell Reports* **25**: 1380-6.
- (42) Shikanai T, Takeda T, Yamauchi H, Sano S, Tomizawa KI, Yokota A and Shigeoka S (1998). Inhibition of ascorbate peroxidase under oxidative stress in tobacco having bacterial catalase in chloroplasts. *Federation of European Biochemical Societies Letters* **428**: 47-51.
- (43) Munné-Bosch S (2005). The role of alpha-tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology* **162**: 743-748.
- (44) Munné-Bosch S, Schwarz K and Alegre L (1999). Enhanced formation of α -tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water stressed rosemary plants. *Plant Physiology* **121**: 1047-52.
- (45) Smirnoff N (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist* **125**: 27-58.

- (46) Noctor G, Arisi ACM, Jouanin L and Foyer CH (1999). Photorespiratory glycine enhances glutathione accumulation in both the chloroplastic and the cytosolic compartments. *Journal of Experimental Botany* **50**: 1157-1167.
- (47) Yan M, Rayapuram N and Subramani S (2005). The control of peroxisome number and size during division and proliferation. *Current Opinion in Cell Biology* **17**: 376-383.
- (48) Lopez-Huertas E, Charlton WL, Johnson B, Graham IA and Baker A (2000). Stress induces peroxisome biogenesis genes. *European Molecular Biology Organization Journal* **19**: 6770-6777.