الضوئى) عن معدل استخدامها. وفى تلك الحالات تتكون مركبات الـ ROS بما فى ذلك فوق أكسيد الأيدروجين ومشتقات الأيدروكسيدات والـ superoxides. وأهم وسائل الدفاع هى: الـ alternative oxidase system، والـ xanthophylls cycle. كما تؤدى أضرار الأوزون والأشعة فوق البنفسيجية إلى إنتاج مركبات الـ ROS التى تتحلل بإنزيمات الـ redox الخلوية بمساعدة جزيئات مضادات الأكسدة (عن Cassells & Doyle ٢٠٠٣).

ولمزيد من التفاصيل حول الاستجابات الجزيئية فى النباتات لمختلف عوامل الشدّ البيئى (شدّ البرودة والتجمد، وشدّ الحرارة العالية، وشدّ الملوحة، وشدّ الجفاف) .. يراجع Shinozaki & Yamaguchi-Shinozaki (١٩٩٩).

تعديل وضبط الضغط الأسموزى

تؤثر خاصية تعديل وضبط الضغط الأسموزى osmotic adjustment فى تحمل عديد من حالات الشدّ، وهى شدّ نقص الرطوبة الأرضية، والشدّ الحرارى، وشدّ البرودة، وشدّ الملوحة.

المركبات العضوية الذائبة المتوافقة

تتراكم فى النباتات لدى تعرضها لشدّ ملحى أو لجفاف أو لحرارة منخفضة مركبات عضوية ذات قدرة عالية على الذوبان وذات وزن جزيئى منخفض تعرف باسم المركبات الذائبة المتوافقة compatible solutes. تتواجد هذه المركبات فى صورة ثابتة داخل الخلايا ولا تدخل فى عمليات الأيض بسهولة، كما لا يكون لها أى تأثير على وظائف الخلية حتى مع تراكمها بتركيزات عالية. ولا تُعرف على وجه التحديد وظائف تلك المركبات فى الكائنات الحية، ولكن نظرًا لأن كثيرًا من حالات الشدّ البيئى تُسبب جفافًا للخلايا، فإن تراكم تلك المواد ربما يلعب دورًا فى زيادة الضغط الأسموزى الداخلى؛ مما يمنع فقد الماء من الخلايا.

ومن أبرز المواد الذائبة المتوافقة المانيتول manitol والتريهالوز trehalose والكحولات

السكرية الأخرى، والأحماض الأمينية مثل البرولين proline، ومشتقات الأحماض الأمينية مثل الجليسين بيتين glycinebetaine. وتتراكم بعض تلك المركبات — مثل البرولين — فى كل الأنواع النباتية تقريبًا، بينما يتواجد بعضها الآخر — مثل الجليسين بيتين — فى النباتات عالية التحمل للملوحة أو للبرودة (Iba ٢٠٠٢).

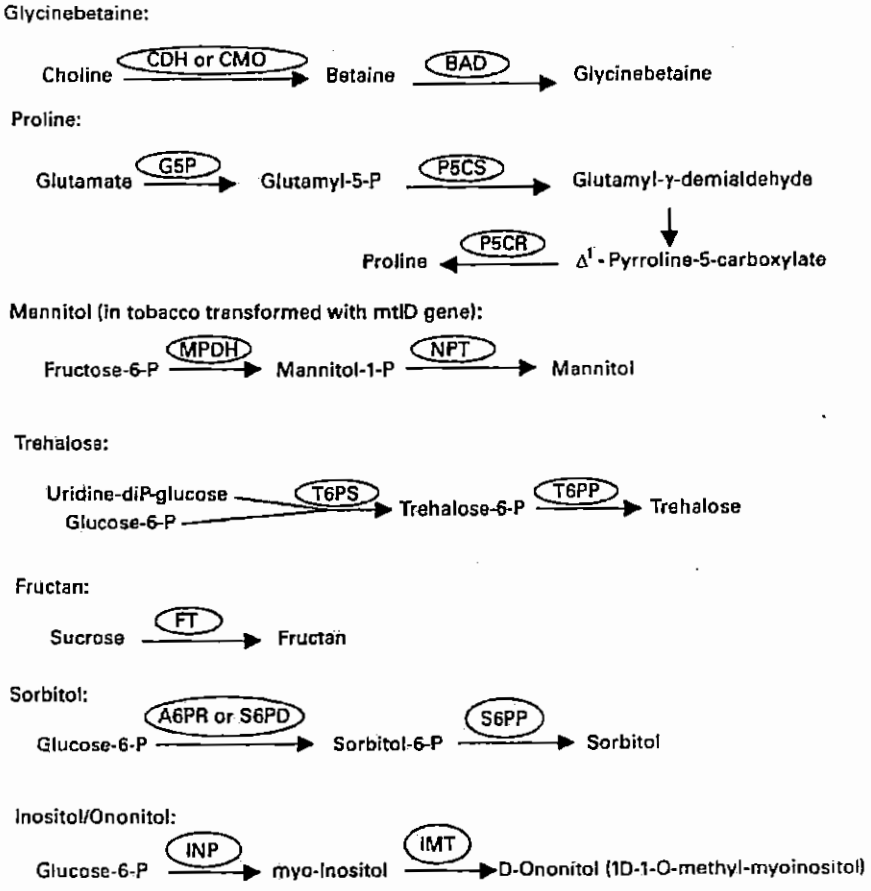
تمثيل المركبات المتوافقة الحافظة للضغط الأسموزى

إن تراكم المركبات المتوافقة الذائبة osmolytes فى النباتات تحت ظروف الشدّ الأسموزى ظاهرة معروفة. وتتضمن تلك المركبات أساسًا: البرولين proline، والتريهالوز trehalose، والفروكتان fructan، والمانيتول mannitol، والجليسين بيتين glycinebetaine. ويتم تمثيل تلك المركبات من خلال المسارات الأيضية المبينة فى شكل (٢-١).

السكريات الذائبة

إن من الاستجابات الشائعة لظروف الجفاف والحرارة المنخفضة والملوحة فى النباتات تراكم السكريات (على الرغم مما يحدثه الشدّ من نقص فى معدل البناء الضوئى) والمواد الذائبة الأخرى المتوافقة. تخدم تلك المركبات كحاميات أسموزية osmoprotectants، كما تقوم — فى بعض الأحيان — بجعل الجزيئات البيولوجية أكثر ثباتًا تحت ظروف الشدّ. ويعد التريهالوز أحد أهم السكريات الذائبة التى تُسهم فى حماية النباتات من حالات الشدّ الأسموزى.

إن التريهالوز trehalose عبارة عن مركب مُختزل يتكون من جزيئين من الجلوكوز disaccharide of glucose ويلعب دورًا فسيولوجيًّا هامًّا كواق ضد حالات الشدّ غير البيولوجى فى عدد كبير من الكائنات، منها البكتيريا والخمائر واللافقاريات. ولقد وجد أن التريهالوز يثبت (يمنع تدهور) الإنزيمات والبروتينات والأغشية الليبيدية التى فقدت رطوبتها، وكذلك حماية التراكيب الحيوية من الأضرار التى يمكن أن تحدث لها أثناء تعرضها للجفاف.



شكل (٢-١): المسارات الأيضية لتمثيل المركبات المتوافقة الذائبة فى النباتات (الـ **osmolytes** أو الـ **osmoprotectants**) (**Zhang** وآخرون ٢٠٠٠).

A6PR: aldose-6-P reductase.
BADH: betaine aldehyde dehydrogenase used by both *E. coli* and plants.
CDH: choline dehydrogenase used by *E. coli.*
CMO: choline monooxygenase used by plants.
FT: fructosyltransferase (levan).
G5P: glutamate-5-phosphotransferase.
IMT1: myo-inositol O-methyltransferase.
INPS:myo-inositol-1-P synthase.
MPDH: mannitol-1-phosphate dehydrogenase.
NPT: a nonspecific phosphatase.

P5CR: Δ^1-pyrroline-5-carboxylate reductase.
P5CS: Δ^1-pyrroline-5-carboxylate synthetase.
S6PD: sorbitol-6-P dehydrogenase.
S6PP: sorbitol-6-P phosphatase.
T6PP: trehalose-6-P phosphatase.
T6PS: trehalose-6-P synthase.

ويبدو أن معظم الأنواع فى المملكة النباتية لا يتراكم فيها التريهالوز بكميات محسوسة، وذلك باستثناء النباتات شديدة التحمل للجفاف التى تُعرف باسم "النباتات التى تبعث فيها الحياة" resurrection plants. هذا .. إلاّ أن الاكتشاف الحديث الخاص بوجود جينات متماثلة (متشابهة homologus) لتمثيل التريهالوز فى *Selaginella lepidophylla*، و *Arabidopsis thaliana*، وعديد من الأنواع النباتية المحصولية يفيد بأن القدرة على تمثيل التريهالوز قد تكون أمرًا شائعًا فى المملكة النباتية.

نجد فى البكتيريا والخمائر أن التريهالوز يتم تمثيله على خطوتين كما يلى: فى البداية يتكون الـ trehalose-6-phosphate من كل من الـ UDP-glucose، و glucose-6-phosphate فى تفاعل يتم تحفيزه بالـ TPS. وفى الخطوة الثانية يتحول الـ trehalose-6-phosphate إلى trehalose بواسطة الإنزيم trehalose-6-phosphate (اختصارًا: TPP).

وقد جرت محاولات للتحويل الوراثى لكل من التبغ والبطاطس لجعلها منتجة بوفرة للتريهالوز بالاعتماد على الجينات trehalose-6-phosphate (اختصارًا: TPS)، و TPP (أحدهما أو كلاهما) من الخميرة *Escherichia coli*، إلاّ أن ذلك التحول نتج عنه — كذلك — تأثيرات متعددة غير مرغوب فيها، منها التقزم والأيض المتحور حتى فى ظروف النمو الطبيعى.

وفى محاولة أخرى تم تحويل الأرز وراثيًّا بجين مندمج fusion gene هو trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase (اختصارًا: TPSP) يتضمن مناطق التشفير لجينى otsA، و otsB (اللذان يشفران للـ TSP، و TPP، على التوالى) فى *E. coli*. يتميز هذه

الاتجاه بالحاجة إلى عمل عملية تحول وراثي واحدة مع زيادة في كفاءة تكوين التريهالوز.

ومقارنة بالأرز غير المحول وراثيًّا فإن عديدًا من السلالات المستقلة المحولة وراثيًّا كان نموها طبيعيًّا، وأظهرت قدرًا أقل من أضرار التأكسد الضوئي photo-oxidative، وتوازنًا معدنيًّا أكثر ملاءمة تحت ظروف كل من شدِّ الملوحة والجفاف والحرارة المنخفضة. واعتمادًا على ظروف النمو، فإن الأرز المحول وراثيًّا تراكم فيه التريهالوز بمستويات بلغت ٣–١٠ أضعاف تلك التي حدثت في النباتات التي لم تحول وراثيًّا. وقد بقيت قمة إنتاج التريهالوز تحت مستوى ملليجرام واحد لكل جرام وزن طازج؛ بما يفيد أن التأثير الأولي للتريهالوز ليس كمادة ذائبة متوافقة، وإنما — على الأصح — أن زيادة تراكم التريهالوز ترتبط بمستويات أعلى من المواد الكربوهيدراتية الذائبة وقدرة أعلى على البناء الضوئي تحت كل من ظروف الشدِّ والظروف الطبيعية؛ مما يتفق مع الدور المقترح لتنظيم التريهالوز للإحساس بالسكر وأيض المواد الكربوهيدراتية (Garg وآخرون ٢٠٠٢).

البروتينات الذائبة

يُعرف عديد من البروتينات النباتية التي يُستحث تكوينها استجابة للشدِّ الملحي، وتقسم تلك البروتينات إلى مجموعتين مختلفتين، هما: بروتينات الشدِّ الملحي التي تتكون استجابة للشدِّ الملحي فقط، والبروتينات المصاحبة للشدِّ، وهي التي تتراكم استجابة — إلى جانب الشدِّ الملحي — لكل من شدِّ الحرارة والبرودة والجفاف والغدق وزيادة ونقص العناصر المغذية.

يمكن أن توفر البروتينات التي تتراكم في النباتات التي تنمو في الظروف المحلية مخزونًا من النيتروجين، يمكن إعادة استخدامه بعد انتهاء حالة الشدِّ، وقد تلعب دورًا في التعديل الأسموزي. وقد يتم تمثيل تلك البروتينات لدى تعرض النباتات لظروف الشدِّ، أو قد تتواجد طبيعيًّا بتركيزات منخفضة، ثم تزداد لدى تعرض النباتات لظروف

الشد. ومن أمثلة تلك البروتينات بروتين الأوزموتين osmotin فى التبغ، وهو ٢٦ كيلو دالتون (26 kDa)، والجرمين germin (وهو أيضًا ٢٦ كيلو دالتون ولكنه مختلف عن الأوزموتين) فى الشعير، وبروتين ٢٢ كيلو دالتون فى الفجل، وبروتينات أخرى عديدة، بالإضافة إلى الأنواع المختلفة من بروتينات الـ LEA فى الأرز على سبيل المثال (Ashraf & Harris ٢٠٠٤).

الأحماض الأمينية والأميدات

تتراكم الأحماض الأمينية فى النباتات الراقية فى ظروف الشدّ الملحى. ومن بين الأحماض الأمينية الهامة: الآلانين alanine، والأرجنين arginine، والجليسين glycine، والسيرين serine، والليوسين leucine، والفالين valine، بالإضافة إلى الحمض الإيمينى imino acid: البرولين proline، والأحماض الأمينية غير البروتينية: الستروليين citroline، والأورنيثين ornithine. كذلك تتراكم الأميدات amides مثل: الجلوتامين glutamine، والأسباراجين asparagine فى النباتات التى تتعرض للشدّ الملحى.

وقد وجد أن الأحماض الأمينية الحرة الكلية فى الأوراق تكون أعلى فى سلالات دوار الشمس والقرطم والجرجير المتحملة للملوحة عما فى السلالات الحساسة للملوحة.

ويعد تراكم البرولين أحد أكثر الظواهر شيوعًا فى كثير من ذوات الفلقتين، ووحيدات الفلقة — تحت ظروف الشد الملحى — على الرغم من أنه لم يتراكم فى بادرات الشعير استجابة لشدّ كلوريد الصوديوم. هذا .. إلاّ أن البرولين يتراكم استجابة لشدّ الجفاف كذلك. ويفيد البرولين فى تنظيم تراكم النيتروجين المستعمل، وهو نشيط جدًّا أسموزيًّا، ويُسهم فى ثبات الأغشية البلازمية، ويخفف من إتلاف كلوريد الصوديوم للأغشية البلازمية، وهو لا يثبط نشاط الإنزيمات حتى ولو تراكم بتركيزات أعلى من التركيزات المثلى.

هذا .. إلا إنه لا توجد تلك العلاقة الموجبة بين تراكم البرولين وتحمل الملوحة فى

بعض النباتات؛ فقد وجد أن تراكم البرولين يزداد فى أصناف الطماطم الحساسة للملوحة عما فى الأنواع البرية، كما لم يمكن الاعتماد على محتوى البرولين كدليل حساس للشدّ الملحى فى فول الصويا؛ ووجدت علاقة عكسية بين تراكم البرولين وتحمل الملوحة فى كل من *Vigna mungo* والأرز والطماطم (عن Ashraf & Harris ٢٠٠٤).

متعددات الأمين

تحتوى المركبات المتعددة الأمين polyamines على مجموعتى أمين أو أكثر، وأكثرها شيوعًا فى النباتات الراقية: البوترسين putrescine، والاسبرميدين spermidine، والاسبرمين spermine، كما تتواجد ثنائيات الأمين: diaminopropane، و cadaverine وإن كانت أقل شيوعًا.

ويمكن بناء على دور متعددات الأمين البيولوجى تقسيمها إلى مجموعتين، هما:

- مجموعة تضم البوترسين والـ cadaverine ودورهما شبيه بدور الأوكسينات والجبريلينات، وذلك فيما يتعلق باستطالة الخلايا وتكوين الجذور.
- مجموعة تضم الاسبرميدين والاسبرمين، وهما — مثل السيتوكينينات — ينظمان انقسام الخلايا وتكوين الأعضاء organogensis، وشيخوخة النبات.

تقوم متعددات الأمين فى الـ pH المتعادل بحماية الدنا DNA والرنا RNA، كما تقوم بحماية البروتوبلازم، وتنشيط انقسام الخلايا أثناء تكوين الأجنة، وتؤخر الشيخوخة فى معظم النباتات، إلاّ إن دورها فى المحافظة على ثبات الأغشية البلازمية مشكوك فيه، كما أن دورها فى التعديل الأسموزى صغير مقارنة بالمركبات النيتروجينية الأخرى.

يتباين تراكم مختلف متعددات الأمين فى مختلف النباتات التى تتعرض للملوحة ما بين التراكم والانخفاض وعدم التأثر. فقد وجد إنه — تحت ظروف الشدّ الملحى — يزداد البوترسين فى كل من الأرز والقطن والفول، بينما لم يتأثر تركيزه فى الشعير، كذلك يزداد الاسبرميدين فى الأرز وإن كان قد وجد أنه ينخفض فى ذات المحصول فى

دراسات أخرى، أما الاسبرمين فقد وجد أنه ينخفض فى الأرز. ويبدو أن تراكم متعددات الأمين لا يكون تحت تأثير الشدّ الملحى فقط، حيث إنه يحدث فى ظروف شد أخرى (Ashraf & Harris ٢٠٠٤).

الجليسين بيتين

يتكون الجليسين بيتين glycine betaine من الكولين choline، حيث يتم تمثيله من خلال خطوتى أكسدة للكولين بواسطة الإنزيمين: cholinemonooxygenase، و betaine aldehyde dehydrogenase، ولقد أمكن عزل الجينين المسئولين عن التشفير لهذين الإنزيمين من بعض النباتات، وجرت محاولات لنقلهما — منفردين — بطرق الهندسة الوراثية لبعض النباتات لتمثيل الجليسين بيتين، إلاّ أن عدم توفر كميات كافية من الكولين والمادة الوسطية: بيتين ألدهيد betaine aldehyde حال دون تحقيق الهدف من عملية التحول الوراثى. هذا إلا إنه عندما حُوِّل الأرز وراثيًّا بالجين الخاص بتمثيل الإنزيم betaine aldhyde dehydrogenase، ثم عُومل الأرز المحول بـ betaine aldehyde خارجيًّا، فإن النباتات تراكم بها كميات كبيرة من الجليسين بيتين، وأظهرت تحملاً جيدًا لكل من الملوحة والحرارة المنخفضة.

ومن خلال مسارات أيضية أخرى، يستطيع نوعا البكتيريا *E. coli*، و *Arthrobacter globiformis* تمثيل الجليسين بيتين من الكولين بواسطة الإنزيمين choline dehydrogenase، و choline oxidase، على التوالى. وعندما نُقِلَ الجين CodA الخاص بتمثيل الـ choline oxidase — بطرق الهندسة الوراثية — إلى التبغ أو *Arabidopsis* فإن النباتات تمكنتا من تمثيل الجليسين بيتين، وتميزت بزيادة قدرتها على تحمل شد الملوحة وشد الحرارة المنخفضة والتجمد. كذلك فإن انخفاض معدل إنبات البذور فى ظروف الحرارة المنخفضة تم التغلب عليه جزئيًّا. هذا إلا أن تراكم الجليسين بيتين كان منخفضًا للغاية (١ ميكرمول/جم وزن طازج) وكان التركيز حوالى ١٪-١٠٪ من تركيز المركب فى النباتات المتحملة للملوحة تحت ظروف الشدّ الملحى (Iba ٢٠٠٢).

البوليولات

تعد البوليولات من المركبات العضوية الذائبة المتوافقة التى تلعب دورًا فى التنظيم الأسموزى تحت ظروف الشدّ الملحى، وهى عبارة عن كحولات polyhydric، وهى تتواجد فى طررز غير حلقية وأخرى حلقية، ويشيع تواجدها فى المملكة النباتية. وأكثرها تواجدًا يتضمن البوليولات غير الحلقية: المانيتول mannitol، والجليسرول glycerol، والسوربيتول، وكذلك البوليولات الحلقية: الـ ononitol، والـ pinitol. وعمومًا .. يُعتقد أن البوليولات تتراكم فى السيتوبلازم فى بعض النباتات المحبة للملوحة للتغلب على الاضطرابات الأسموزية التى تحدثها التركيزات العالية للأيونات غير العضوية التى تتراكم فى الفجوات العصارية. وإلى جانب دور البوليولات فى التنظيم الأسموزى، فإنها تفيد كذلك كمضادات للأكسدة.

تتراكم البوليولات فى عديد من الأنواع النباتية استجابة لظروف الشدّ الملحى وشدّ الجفاف (Ashraf & Harris ٢٠٠٤).

ولقد بُنىَ الاهتمام بالـ polyols فى بادئ الأمر على أساس دورها فى النبات كحاميات أسموزية osmoprotectants، وذلك بسبب كونها من المواد العضوية الذائبة المتوافقة compatible solutes. إلا أنه تبين — فيما بعد — أن الـ polyols تلعب دورًا أكبر فى تحمل عوامل الشدّ البيئى باعتبار فاعليتها الكبيرة كمصادات للأكسدة antioxidants (Williamson وآخرون ٢٠٠٢).

تكوين مضادات الأكسدة

تتوفر أدلة قوية على أن إنتاج المواد النشطة فى الأكسدة reactive oxygen species (اختصارًا: ROS) يزداد ويُحفز فى النباتات استجابة لعوامل شدٍّ بيئى مختلفة، مثل: الملوحة، والجفاف، والغدق، والحرارة الشديدة الارتفاع والشديدة الانخفاض، وشدة الإضاءة العالية، ومعاملات مبيدات الحشائش، ونقص العناصر المغذية، وكذلك استجابة للشدّ الحيوى. وتتميز النباتات ذات المحتوى العالى من مضادات الأكسدة بالمقاومة

العالية لأضرار الأكسدة التى تُحدثها المركبات النشطة فى الأكسدة (عن Ashraf & Harris ٢٠٠٤).

تعمل المركبات النشطة فى الأكسدة (ROS) كجزيئات تعطى الإشارة لقدح وتنسيق استجابات النبات لحالات الشدّ. ويعد تنظيم الجهاز الدفاعى المضاد للأكسدة الذى يعادل تفاعلات الأكسدة والتفاعلات المضادة للأكسدة ضروريًا لتحديد مصير النبات. ويتكون هذا النظام الدفاعى من مدى من مضادات الأكسدة الأولية الإنزيمية وغير الإنزيمية. وهى عبارة عن إنزيمات حامية ومركبات ذات وزن جزيئى منخفض، مثل حامض الأسكوربيك والجلوتاثيون glutathione والمركبات الفينولية (Tseng وآخرون ٢٠٠٧أ).

تتضمن العناصر النشطة فى الأكسدة (الـ ROS) أنيونات السوبر أوكسيد superoxide anions (O_2^-)، وفوق أكسيد الأيدروجين (H_2O_2)، وشق الأيدروكسيل hydroxyl radical ($^{\bullet}OH$)، والـ singlet oxygen ($^1O_2$). تُحدث تلك العناصر أضرارًا للخلايا بأكسدة محتوياتها. وتزيد هذه العناصر فى النباتات عند تعرضها لحالات الشدّ البيئى، مثل الحرارة المنخفضة، والجفاف، وشدة الإضاءة العالية، وغيرها.

تُنتج هذه المركبات (الـ ROS) خلال عمليات الأيض الهوائية الطبيعية عندما تتسرب إليكترونات من سلاسل انتقال الإليكترونات electron transport chains فى الميتوكوندريات والبلاستيدات الخضراء، وتتفاعل مع الأكسجين (O_2) فى غياب مستقبلات أخرى.

تشترك ستة إنزيمات فى وقف التأثير السام للعناصر النشطة فى الأكسدة فى النباتات الراقية، وهى:

superoxide dismutase (SOD)
ascorbate peroxidase (APX)
catalase (CAT)
monodehydroascorbate reductase (MDAR)
dehydroascorbate reductase (DHAR)
glutathione reductase (GR)

وبينما يتواجد الإنزيم CAT فى الجسيمات الصغيرة microbodies لجميع النباتات، فإن باقى الإنزيمات يتوزع وجودها بين البلاستيدات الخضراء، والسيتوبلازم، والميتوكوندريات، والجسيمات الصغيرة (Iba ٢٠٠٢).

تمتلك النباتات القدرة على التخلص من السوبر أوكسيد بمساعدة إنزيم الـ superoxide dismutase (اختصارًا: SOD)، الذى يحفز عملية الـ dismutation للـ superoxide إلى فوق أكسد الأيدروجين والأكسجين، والذى يُعد هامًّا فى منع اختزال الأيونات المعدنية، ومن ثم تمثيل الـ hydroxyl radicals. ويمكن استبعاد فوق أكسيد الأيدروجين بإنزيم الـ ascorbate peroxidase الذى يقع فى أغشية الـ thylakoid.

ويحفِّز إنزيم glutathione peroxidase (اختصارًا: GPx اختزال الـ H_2O_2 والـ hydroperoxides غير العضوية إلى ماء أو الكحولات المقابلة. ولقد وجد أن نباتات الطماطم المحولة وراثيًّا بأحد إنزيمات الـ GPx الحيوانية الأصل غير المعتمد على السيلنيم selenium-independent (وهو Gpx5) — عندما لم تواجه بأى تحد بيئى أو حيوى — أظهرت نشاطًا عاليًّا للـ GPx، بينما لم تظهر عليها أى تباينات مورفولوجية، مقارنة بنباتات الكنترول غير المحولة وراثيًّا. وفى المقابل فإن تعريض النباتات المحولة وراثيًّا لحرارة منخفضة إلى درجة يُعرف أنها تستحث حالة الأكسدة لم يتغير فيها نشاط البناء الضوئى، بينما تأثر سلبًا فى نباتات الكنترول (عن Herbette وآخرين ٢٠١١).

ولقد أظهرت نباتات الطماطم تلك المحولة وراثيًّا بالـ selenium-independent glutathione peroxidase ٥٠٪ زيادة فى نشاط الإنزيم. وعندما عُرِّضت تلك النباتات — وكذلك نباتات كنترول غير محولة وراثيًّا إما لشدٍّ ميكانيكى، أو للعدوى بالفطر *Oidium neolycopersici* (وهو فطر biotrophic) أو لفطر *Botrytis cinerea* (وهو فطر necrotrophic) أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا تحملاً للشدِّ الميكانيكى، ولكنها كانت أكثر قابلية للإصابة بالفطرين (Herbette وآخرون ٢٠١١).