الأوكسينات
Auxins

تعتبر كيفية أكتشاف الهرمونات النباتية هي كيفية أكتشاف الأوكسينات:

كيفية اكتشاف الهورمونات النباتية (منظمات النمو) :

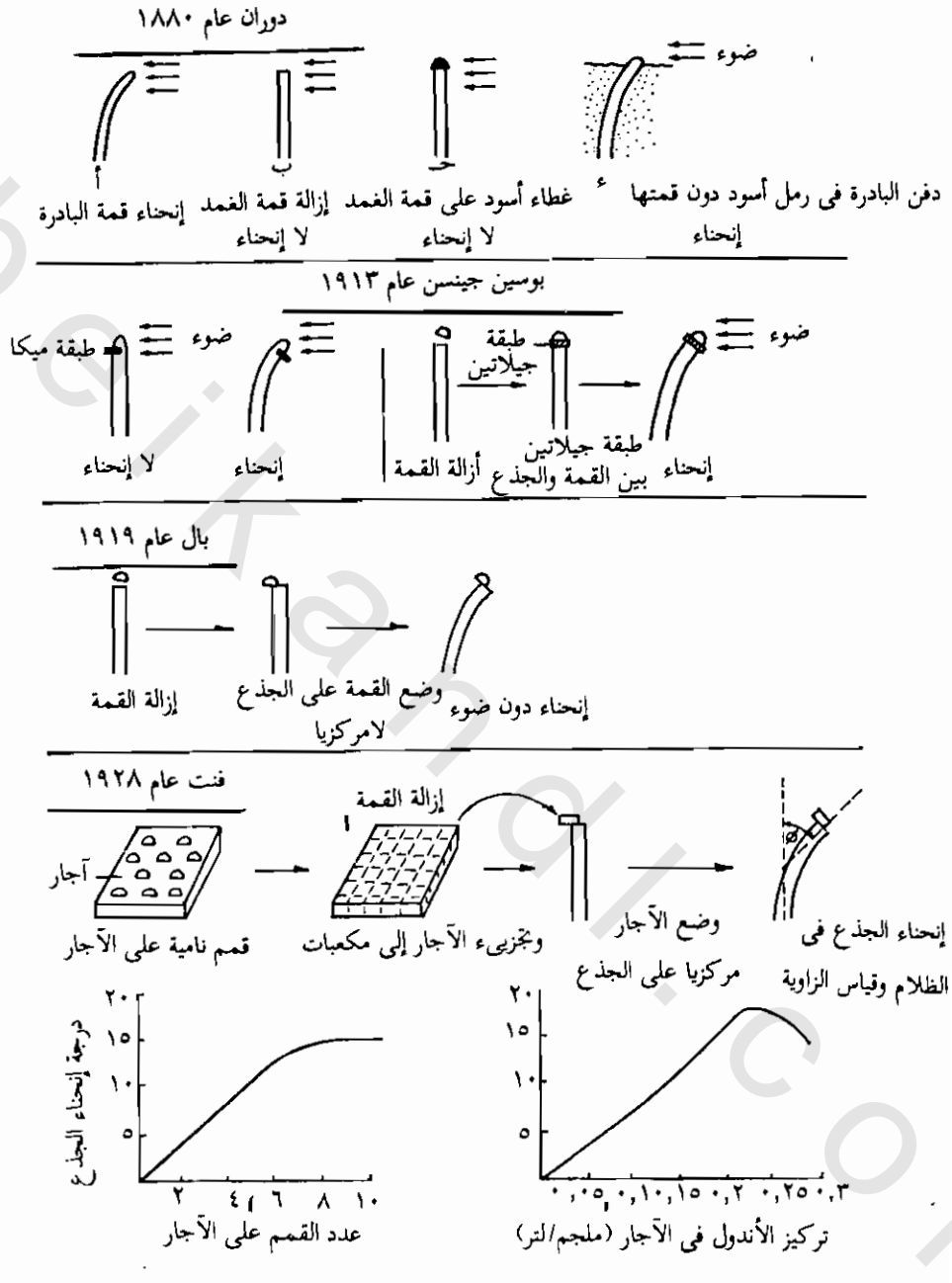
كان أول دليل على وجود الهرمونات النباتية هو نتيجة لبحوث وتجارب العلامة داروين Charles Darwin وابنه Francis أثناء تجاربهم على نبات من العائلة النجيلية (شكل ٤٥) هو نبات *Phalaris Canariensis* فقد وجدا أن تعريض غمد الريشة coleoptile إلى إضاءة جانبية يؤدى إلى إنحناء الغمد فى إتجاه الضوء. كما وجدا أن تغطية الغمد بغلاف معتم منع إنحناء قمة البادرة. كما وجد أن تغطية منطقة تحت القمة دون القمة بغلاف معتم لم يمنع إنحناء الغمد وأدى ذلك إلى حدوث إنحناء للغمد. وقد إستنتجوا من ذلك أن قمة الغمد فقط هى القادرة على إستقبال الضوء وتحويله إلى حالة نشطة حيث يظهر تأثيره أسفل القمة، وذكر دارون ذلك فى كتابه الذى ألفه سنة ١٨٨١ وأسم الكتاب the power of movement in plants قوة الحركة فى النبات. وقد ذكر فى هذا الكتاب نتيجة للتجربة السابقة أنه يوجد مادة أو مواد منشطة تنقل من قمة الغمد إلى أسفل حيث تظهر تأثيرها فى حدوث الإنتحاء (الإنحناء فى هذه الحالة يسمى إنتحاء ضوئى موجب phototropism أى أن الغمد ينمو فى إتجاه الضوء) . وتلى ذلك كثير من العلماء ومن أهمهم ما يأتى:

Boysen – Jensen الدانمركى سنة ١٩١٣ حيث أنه وجد أن وضع طبقة من المايكا mica أسفل القمة النامية فى الغمد فى الناحية البعيدة عن الضوء فإنه لا يحدث إنحناء وعندما وضع هذه الطبقة فى الجانب القريب من الضوء حدث إنحناء. وعندما وضع بين القمة المقطوعة والجذع stump طبقة من الجيلاتين حدث إنحناء. الجذع وهو الجزء المتبقى من الغمد بعد إزالة القمة النامية (شكل ٤٥).

ومن النتائج السابقة نستنتج أنه يوجد منشط stimulus مادة أو مواد منشطة تنتقل من القمة إلى أسفل وتنتشر خلال الجيلاتين وذلك فى الجزء البعيد من الضوء . يمكن أن تنتشر هذه المادة فى الجيلاتين دون أن تفقد خصائصها.

وجد العالم Paal المجرى سنة ١٩١٩ أن قطع القمة النامية ووضعها على أحد جانبى الجذع فى الظلام سبب حدوث إنحناء للجذع. وأجرى تجارب أخرى فى الظلام أيضاً حيث أن أزالة جزء من الغمد أسفل القمة النامية سبب ذلك أيضاً حدوث إنحناء للجذع وفى تجربة ثانية قام بملىء مكان القطع بالجيلاتين فإن إنحناء الجذع لم يحدث وفى تجربة ثالثة أزال القمة النامية ووضع على قمة الجذع على أحد نصفيه طبقة ميكا ووضع على النصف الآخر طبقة جيلاتين ثم أعاد وضع القمة النامية فحدث إنحناء للجذع فى أتجاه طبقه الميكا تماماً كما لو وضعت القمة النامية على أحد جانبى قمة الجذع. (شكل ٤٥).

وجد سودنج Soding عام ١٩٢٥ عندما أزال قمة الغمد عدة ملليمترات فإن قمة الجذع تنمو ببطء ويسمى فى هذه الحالة الجزء القمى بالقمة الفسيولوجية physiological tip عند إعادة وضع القمة فأن الجذع ينمو عادياً وإذا أعيد قطع الجذع مرة ثانية لعدة ملليمترات فإن نموه يتوقف تماماً. ومن هذه التجارب استنتج أنه يوجد فى القمة مركبات نشطة تنتقل من القمة إلى القاعدة لكى تظهر تأثيرها وأن عدم وجود جزء كبير من القمة يسبب عدم نمو الجذع. حيث أن إستطالة الغمد تحدث فى الجزء القاعدى منه أساساً (شكل ٤٥).



(شكل ٤٥) : أهم التجارب التى أثبتت وجود الأوكسين .

وجد العالم الهولندى فنت Went من ٢٨ ـ ١٩٣٥ أن وضع القمم النامية بعد قطعها من بادرات الشوفان على طبقة رقيقة من الآجار بتركيز ٣٪ وبعد ساعة أزال القمم وقطع طبقة الآجار إلى مكعبات صغيرة متساوية فى أعدادها لأعداد القمم النامية وعند وضع هذا المكعب على الجذع فإن الجذع ينمو إلى أعلى نمو عادى وعند وضع مكعب آجار لم يوضع عليه قمم نامية فإنه لا يحدث نمو للجذع وعندما وضع مكعب الآجار على منتصف الجزء البعيد من الجذع حدث نمو وإنحناء للجذع، ومن هذه التجارب استنتج Went بطريقة لا تقبل الشك أن القمة النامية تنتج مركبات تنتقل إلى الجذع وتنتشر فى الآجار دون أن تفقد خصائصها مسببة نمو الجذع وذلك باستطالة خلاياه ولذلك يتم نمو الغمد إلى أعلى (شكل ٤٥).

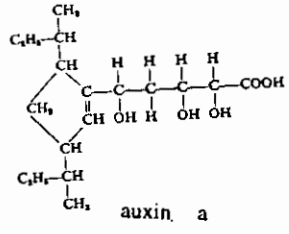
جميع التجارب السابقة للعلماء السابقين كانت على غمد الريشة لنبات الشوفان ماعدا تجارب دارون فإنها كانت على غمد الريشة لنبات الفلارس. وقد أختير غمد الريشة فى هذه التجارب لأن غمد الريشة فى نباتات العائلة النجيلية ينمو فى الضوء العادى حتى طول ١,٥ إلى ٢ سم ولكن فى الظلام يصل إلى ٦ سم. وجد أيضا أن نمو الغمد يرجع لإنقسام وإستطالة خلاياه حتى ربع طول الغمد أما الطول الباقى ($\frac{٣}{٤}$ طوله) يكون راجع إلى إستطالة الخلايا فقط، ومن ذلك فإن جميع التجارب السابقة يكون النمو راجع لإستطالة الخلايا فقط وتأثير المركبات المنشطة للنمو هى نتيجة لتأثيرها الفعال على إستطالة الخلايا. وجدت هذه التأثيرات أيضا على جميع النباتات البذرية وعلى أجزاء أخرى وهى السيقان وأعناق الأوراق وأعناق الأزهار. وأجريت بعد ذلك تجارب لعزل هذه المركبات.

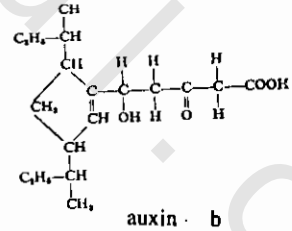
عزل الهرمون النباتي:

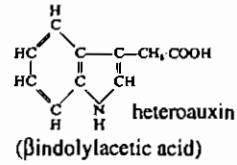
أجريت فى هذا الموضوع تجارب كثيرة لاستخلاص هذه المركبات من النباتات إلا أن كثيراً من هذه التجارب باءت بالفشل حيث أن تركيز هذه المركبات فى النباتات العادية تكون ضئيلة جدا وصعب فصلها أو عزلها حينئذ. تمكن سنة ١٩٣٤ العالم كوجل Kogl وآخرون من عزل ثلاثة مركبات نقية فى صورة بللورية ووجد أن هذه المركبات تعطى نفس التأثير فى التجارب السابقة على غمد الريشة لنبات الشوفان

وذلك من مصادر طبيعية وهذه المصادر هى زيوت نباتية مختلفة والمولت malt وأيضا من بول الإنسان. وهـذه المركبات الثلاثة سميت باسم auxin a وتركيبه C_{18} H_{32} O_5 و auxin b وتركيبه C_{18} H_{30} O_4 والمركب الثالث heteroauxin (والترجمة الحرفية لهذا الإسم هو auxin و other) وتركيبه C_{10} H_9 O $_2$N ، وأتضح فيما بعد أن المركب الأخير هو عبارة عن اندول حامض الخليك Indole acetic acid (IAA) والاسم الكيماوى للمركب الأول auxentriolic وللمركب الثانى auxenolonic (شكل ٤٦).

عزل auxin a من بول الإنسان وعزل كل من auxin a و auxin b من زيوت نباتية مختلفة والمولت، أما heteroauxin فقد عزل من بول الإنسان كما عزل أيضاً من بعض أنواع الخميرة والفطريات. وفى ذلك الوقت أعتقد أن هذا المركب الأخير لا يوجد فى أنسجة النباتات الزهرية وأن الأساس فى حدوث ظاهرة الإنتحاء هى أوكسين a. وقد أجريت كثير من التجارب فى هذا الموضوع فى تلك الفترة وقد أثبتت الغالبية العظمى من التجارب أن أوكسين a على وجه الخصوص هو المسئول عن الإنتحاء. يرجع الفضل فى التعرف على التركيب الكيماوى لهذه المركبات للعالم Kogl ومساعدوه (شكل ٤٦).







(شكل ٤٦) : أوكسينات مختلفة معزوله بواسطه الرواد الأوائل.

أما عن كيفية إثبات وجود الأوكسين فى بول الإنسان فقد تم تجميع ١٥٠ لتر من بول الإنسان من أحد المستشفيات وبعد سلسلة من طرق الإستخلاص تم الحصول على أربعون ملليجرام من مادة فى صورة بلورية وقد سببت هذه المادة حدوث إنحناء لغمد الريشة لنبات الشوفان. أستخدمت أيضاً نفس طرق الإستخلاص فى حالة المصادر النباتية الأخرى مثل مستخلص الشعير malt والخميرة والفطريات وهو فطر *Rhizopus suinus* وذلك لإستخلاص الأوكسينات السابقة وإختبار نشاطها بطريقة غمد الريشة أيضاً. وبعد ذلك وبتقدم طرق الإستخلاص والفصل للمركبات ثبت وجـود بعض أخطاء لما سبق. فقد تمكن هاجن سميت Haagen Smit عام ٤٢ ـ ١٩٤٦ من عزل مركب heteroauxin أى أندول حامض الخليك ولأول مرة من النباتات الزهرية وكان ذلك من حبوب الذرة الشامية وبعد ذلك ثبت وجود هذا المركب فى كثير من النباتات الزهرية بل وأصبح الآن يعتبر أندول حامض الخليك هو الأوكسين الرئيسى بل قد يكون الوحيد الموجود طبيعياً فى النباتات الزهرية بل إن إنتشاره عام أيضاً فى النباتات البذرية والسرخسية والحزازية والطحالب والفطريات. ومما هو جدير بالذكر أيضا إتضح أن أوكسين a وأوكسين b ليس لهما وجود حيث لم يتمكن أحد بعد ذلك وحتى الآن من عزل هذه المركبات من النباتات وأصبح heteroauxin أى أندول حامض الخليك هو الأوكسين الطبيعى المنتشر والموجود فى النباتات وذلك على العكس تماما مما كان هو معروف فى فترة الثلاثينيات وأوائل الأربعينيات.

يعتبر إكتشاف أندول حامض الخليك هو أول إكتشاف للأوكسينات حيث يعتبر هذا المركب هو أول أوكسين طبيعى اكتشف وبعده حدث اكتشاف لمركبات أوكسينات عديدة أخرى كما سيلى شرحه بالتفصيل عند الحديث عن الأوكسينات. يعتبر أيضا أول هورمون نباتى تم إكتشافه.

أوضحت التقديرات أنه يلزم عشرون ألف طن من قمم أغماد الريشة لأنتاج جرام واحد من أندول حامض الخليك.

الترجمه الحرفيه لكلمة أوكسين:

كلمة أوكسين هى مشتقة من اللغة اليونانية حيث أنه باللغة اليونانية Auxin معناها To grow أى لكى ينمو.

مقدمة تاريخية عن الأوكسينات:

تعتبر مقدمة الهورمونات النباتية التى ذكرت سابقا هى مقدمة للأوكسينات وكيفية اكتشافها وبالفعل فإن أول مركب مكتشف من هذه المجموعة هو مركب أندول حامض الخليك Indole acetic acid (IAA) وقد سبق شرح تفصيلى لكيفية الاستدلال على وجوده وكيفية عزله والتعرف على تركيبه.

تعريف الأوكسينات:

الأوكسين هى تسمية عامة لأى مركب يسبب إستطالة فى خلايا الساق المقطوعة.وقد يكون له تأثيرات أخرى حيوية مثل التأثير على إنقسام الخلايا أو تشكل الخلايا وغيرها من الظواهر الحيوية للنبات.

وفى التجارب المعملية لاثبات نشاط وفاعلية الأوكسين تستعمل أجزاء من غمد الريشة للنباتات النجيلية أو من السيقان فإذا تم حدوث نمو طولى لهذه الأجزاء المقطوعة فيكون ذلك دليل كبير على أن المركب أوكسين.

الحالات المختلفة التي توجد عليها الأوكسينات:

١ - الأوكسين الحر Free Auxin

وهو عبارة عن أوكسين قابل للإنتشار. وهو بالفعل ما وجد فى تجارب فنت Went حيث أنه قام بفصل الأوكسينات من القمم النامية نتيجة لانتشارها من القمم إلى طبقة الآجار أو الجيلاتين وهذا هو الحال فى جميع الأوكسينات الحرة أنها قابلة للإنتشار. يفضل أسم الأوكسين الحر حيث أن الأكسين الحر لا ينتشر فى جميع

الإتجاهات بل ينتقل إنتقال قطبى فى إتجاه واحد فقط أى ينتشر فى إتجاه واحد فقط كما سيلى شرحه.

٢- الأوكسين المقيد Bound Auxin

توجد الأوكسينات فى صورة أخرى غير حرة وتكون مرتبطة بمكونات الخلية أو محجوزه داخل الفجوه العصاريه ولذلك تكون غير قابلة للإنتشار ولذلك لعزل وفصل هذه الأوكسينات لابد من سحق العضو النباتى المراد استخلاص الأوكسين منه. وتحدث عملية الإستخلاص للأوكسين من العضو النباتى بواسطة مذيبات عضوية معينة مثل الكلوروفورم وكحول الميثيل أو الإيثيل و diethyl ether. ومن المعروف أن النباتات تحتوى على الحالتين السابقتين من الأوكسينات ولكن من الثابت أن نسبه الأوكسينات الحرة لاتتجاوز ١٠٪ من التركيز الكلى للأوكسينات أى أن تركيز الأوكسين المقيد والمرتبط هو ٩٠٪. يتكون الأوكسين الحر من الأوكسين المقيد أو المرتبط أو من مركب بدائى الأوكسين precursor وفى الحالة الأولى والثانية يتم تحرره من المكونات أو المركبات المرتبط بها ويصبح حر وفى الحالة الثالثة يتكون بواسطة تفاعلات وسطية من الحامض الأمينى تربتوفان.

من عيوب إستخلاص الهورمون الحر أنه قد ينتشر مع الهورمون مركبات مثبطة للهورمون وبذلك تقلل من نشاطه وتوجد هذه المثبطات inhibitors فى القمم النامية أيضاً.

وأيضاً عيوب الإستخلاص بالمذيبات العضوية وجود أنزيمات تؤثر على الأوكسين وتغير تركيبه وتقلل من نشاطه مثل إنزيم أندول حامض الخليك أوكسيديز ولذلك يجب حفظ المستخلص فى درجة حرارة صفر درجة مئوية. يمكن أيضاً أن يفسد أو يتغير تركيب أندول حامض الخليك أثناء الإستخلاص.

أنواع الأوكسينات:

تقسم الأوكسينات أيضاً إلى أوكسينات طبيعية وهى الأوكسينات التى تتكون وتتوزع فى النبات ومثال ذلك أندول حامض الخليك Indole acetic acid (IAA)،

وإكسينات تركيبية أو تخليقية synthetic وهى التى لاتوجد فى النباتات ولكن يتم تصنيعها فى المصانع والمعامل لما لها من خصائص المركبات الأوكسينية. وهذه المركبات كثيرة وعديدة وتنتمى إلى مجاميع كيماوية محددة وسيتم ذكر أمثلتها مع شرح تفصيلى لعلاقة تركيب الأوكسين بنشاطه الحيوى وكفاءته كمركب أوكسين.

التركيب الجزيئي وعلاقته بنشاط الأوكسينات:

من المعروف أن أندول حامض الخليك يتوفر فيه خصائص معينة من ناحية تركيبه فهو أولا مركب حلقى وثانياً يحتوى على روابط مزدوجة غير مشبعة وثالثاً أنه حامض يحتوى على مجموعة كربوكسيل ورابعاً أنه مركب حلقى له سلسلة جانبية. وقد دعى ذلك كثير من علماء فسيولوجيا النبات إلى تجربته وحصر كثير من المركبات الأخرى التى لها نفس الخصائص وكذا المواصفات من ناحية التركيب الجزيئى.

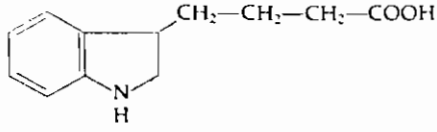
وقد أختبرت هذه المركبات التى فيها الخصائص السابقة وذلك لتقدير كفاءتها من حيث نشاطها كأكسينات وذلك بإختبارها على غمد الريشة لنبات الشوفان وقياس درجة الإنحناء فى حالة هذه المركبات ونتيجة لذلك الحصر لهذه المركبات أمكن تحديد خمسه مجاميع رئيسية من المركبات وكل مجموعة تحتوى على عديد من المركبات (شكل ٤٧ و ٤٨) وهذه المركبات هى:

١ - مشتقات الفينوكسى **Phenoxy**:

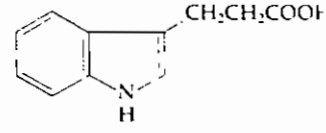
ومن أمثلتها 2- Chlorophenoxy acetic acid and 2,4 - Dichlorophenoxyacetic acid

فى مجموعة الفينوكسى لابد أن يكون أحد مواقع الوضع أورثو Ortho فارغ ولذلك فإن كلا من المركبين chlorophenoxyacetic acid و dichlorophenoxyacetic acid أى (2,4 - D) ذو فاعلية كبيرة وأن وجود ذرتى كلور أحداهما فى غير أحداهما فى غير الموضع أورثو يزيد من كفاءة المركب عنه فى حالة وجود ذرة كلور واحدة

Indoles

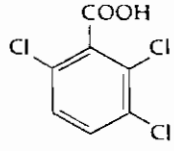


indole-3-propionic acid

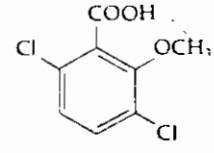


indole-3-butyric acid

Benzoic acids

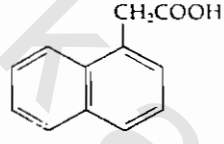


2,3,6-trichlorobenzoic acid

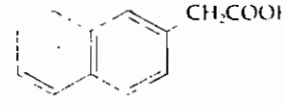


2-methoxy-3-6-dichlorobenzoic acid
(dicamba)

Naphthalene acids

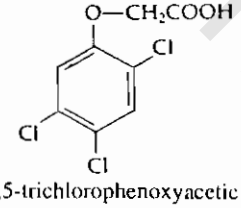


α -naphthalene acetic acid

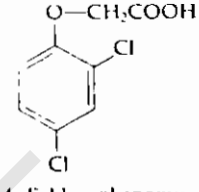


B -naphthalene acetic acid

Chlorophenoxy acids

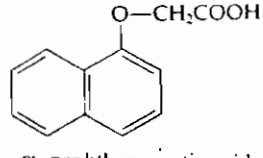


2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid
(2, 4, 5 - T)

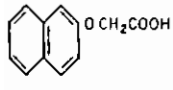


2,4-dichlorophenoxyacetic
acid (2,4-D)

Naphthoxy acid

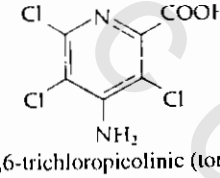


α -naphthoxyacetic acid



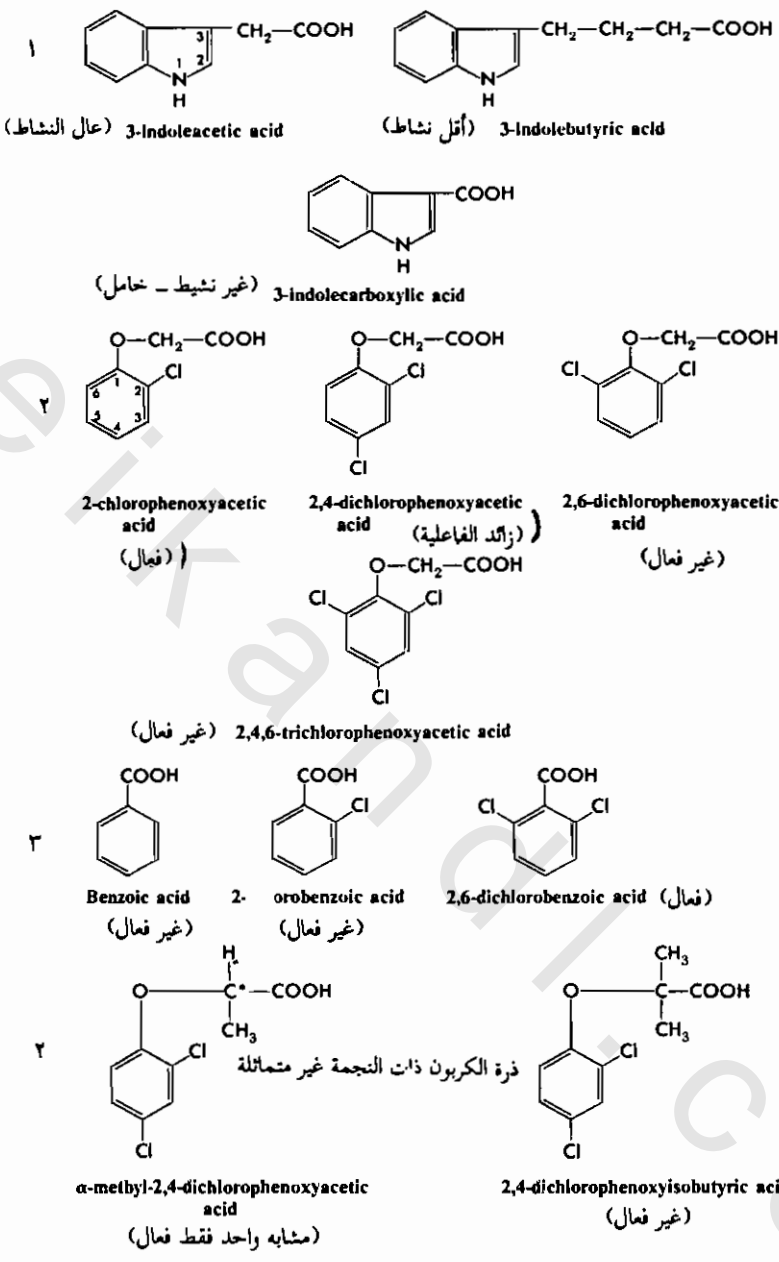
B-Naphthoxyacetic acid

Picolinic acid



4-amino-3,5,6-trichloropicolinic (tordon)
acid (tordon or pichloram)

(شكل ٤٧) : التركيب الجزيئي للأوكسينات .



(شكل ٤٨) : تركيب الأوكسينات الطبيعية والتركيبية ومشتقاتها الفعالة والغير فعالة .

بمعنى أن المركب الثانى أكثر كفاءة من الأول أى أن الأثنين يمكن استعمالهما ولكن هناك واحد أفضل من الأخر. وأيضاً المركب 2,4,5-T فعال (شكل ٤٧). وفى حالة وجود ذرتى كلور فى الوضع أورثو يسمى 2,6- Dichlorophenoxyacetic acidوفى هذه الحالة موضعى الأورثو بهما ذرتى كلور ولذلك فإن هذا المركب عديم الفاعلية كأوكسين تماماً. يكون المركب فعال عند إحلال مجموعه ميثيل بدلاً من الكلور على الذره رقم ٢ وينتج عن ذلك المركب- 4 - Methyl - 2 chlorophenoxyacetic acid. وجد أن استبدال ذرة H بمجموعة ميثيل ينتج مركب يسمى .Methy l-2,4 -dichlorophenoxyacetic acid

هذا المركب وجد أن الحالة النشطة له كأوكسين هو الحالة D أما الحالة L فتكون خاملة أو غير فعالة. حيث أن ذرة الكربون الأولى فى السلسلة الجانبية تكون غير متماثلة asymmetric .

أما فى حالة استبدال ذرتى الأيدروجين بمجموعتى ميثيل فإن المركب الناتج غير نشط تماماً. ومثال ذلك 2,4-dichlorophenoxyisobutyric acid .

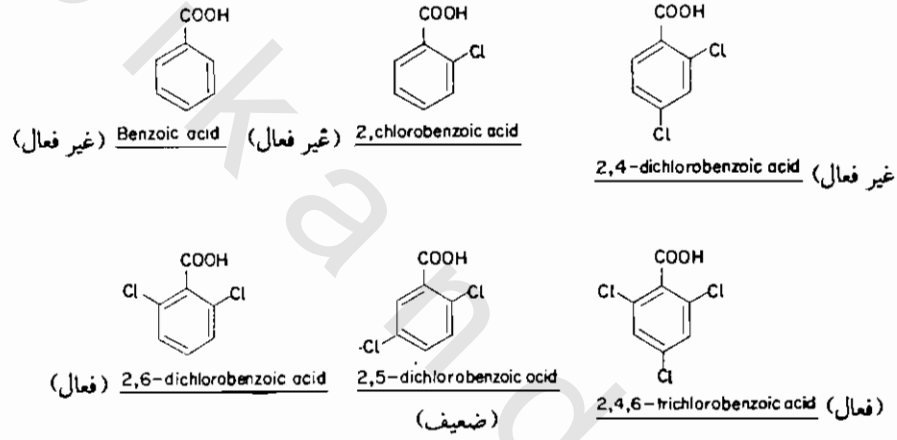
ومما سبق يتضح أن التغير فى تركيب الحلقة يؤثر على فاعلية الأوكسين وأيضا التغير فى تركيب السلسلة الجانبية يؤثر على كفاءة الأوكسين.

٢ ـ مشتقات الأندول Indole :

يعتبر الأندول مركب حلقى به روابط غير مشبعة يتكون من حلقة سداسية (بنزين) وحلقة خماسية بها مجموعة ن يد NH . وجد أن زيادة أو نقص عدد ذرات الكربون فى السلسلة الجانبية عن ذرتين يقلل من كفاءة المركب ولذلك فإن إندول حامض البيوتريك والبروبيونيك أقل كفاءة وفاعلية من إندول حامض الخليك Indole acetic acid (IAA)كما وجد أيضا أن إندول حامض الكربوكسليك عديم الفاعلية تماما. ولذلك فإن الحالة المثالية لمركبات الإندول كأوكسين هى أن تكون حلقة الإندول لها سلسلة جانبية مكونة من ذرتين كربون كما فى إندول حامض الخليك.

٣ - مشتقات حامض البنزويك Benzoic acid:

يتكون حامض البنزويك من حلقة سداسية ومجموعة كربوكسيل وهذا المركب غير فعال كأوكسين ولكن ملء موضعى الأورثو ortho بذرتى كلور يسبب نشاط كبير للمركب ويصبح فعال كأوكسين. ولكن ملء موضع أورثو واحد فقط بذرة كلور واحدة يصبح المركب غير نشيط وغير فعال كأوكسين وبذلك تكون عكس حالة مركبات الفينوكسى. يعتبر مركب 2,6-dichlorobenzoic acid كأوكسين وأيضاً المركبات 2,3,6- trichlorobenzoic acid و 2,4,6-trichlorobenzoic acid و 2-methoxy-3,6-dichlorobenzoic acid (dicamba) فعالة (شكل ٤٩).



(شكل ٤٩) : مشتقات حامض البنزويك الفعالة وغير الفعالة.

٤ ـ مشتقات النفثالين Naphthalene:

يتكون النفثالين من حلقتين سداسيتين ويضاف إليه سلسلة جانبية من حامض الخليك أو أوكسى حامض الخليك وبذلك يصبح النفثالين فعال كأوكسين ومثال ذلك ألفا وبيتا نفثالين حامض الخليك naphthalenacetic acid (NAA) وأيضاً ألفا وبيتا نفثوكسى حامض الخليك naphthoxyacetic acid. تستعمل المركبات السابقه بكثرة كأوكسينات شديدة الفاعلية (شكل ٤٧).

٥ ـ مشتقات حامض البيكولينيك Picolinic Acid:

وأهم مركب فى هذه المجموعة هو (4 - amino 3, 5, 6 - trichloropicolinic acid) وهو فعال وله نشاط ملحوظ (شكل ٤٧).

فى جميع الحالات السابقه تشبيع الحلقه وعدم وجود روابط مزدوجه يفقد الجزىء نشاطه.

وعامة فإن جميع المركبات المذكورة سابقا تعتبر أوكسينات تركيبية عدا IAA وعامة فإن عدد الأوكسينات التركيبية كبير جداً وهى المستعملة عادة فى الإستعمالات الإقتصادية فى علوم البساتين والمحاصيل ولكن عدد الأوكسينات الطبيعية قليل جداً.

نظرية مناطق الإستقبال وفاعلية الأوكسين:

وجد إعتقاد مؤخراً أنه بالإضافة إلى ما سبق فإنه يوجد شرط آخر لابد أن يتوفر فى الأوكسينات وهو أنه لابد من وجود أحد موقعى الأرثو ortho على الحلقة القريبة من السلسة الجانبية والتى تنتهى بمجموعة الكربوكسيل قادر على تكوين رابطة تعاونية بسهولة. ولكن بدلاً من هذا الشرط والذى لايؤخذ فى الإعتبار كثيراً الآن فإنه لابد من وجود شحنة موجبة على موقع معين من الحلقة.

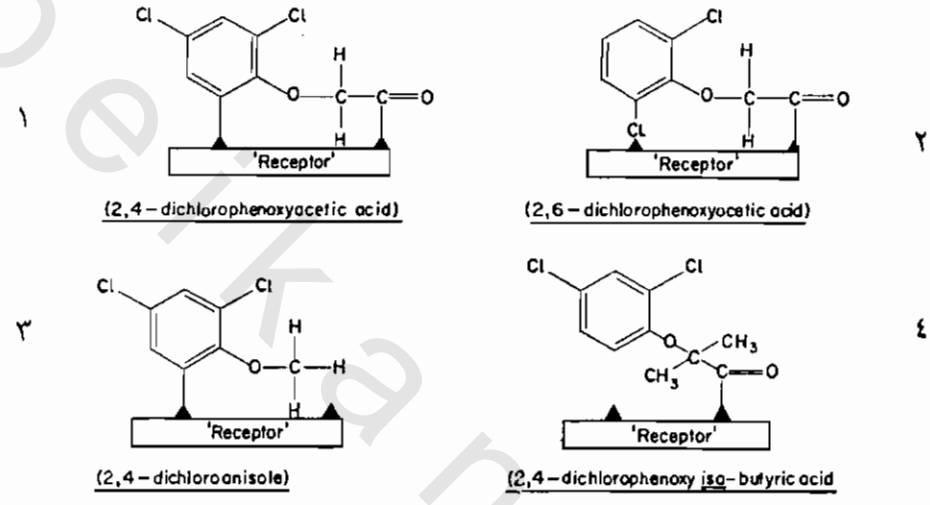
should be a fractional positive charge at a specific point on the ring.

وفى حالة الأخذ فى الإعتبار أنه لابد من وجود سلسلة جانبية تنتهى بمجموعة كربوكسيل ووجود موقع ortho فارغ على الحلقة لكى يصبح الأوكسين فعال كما فى حالة مجموعة الفينوكسى وقد دعى ذلك إلى أفتراض أن التفاعل الأساسى للأوكسين فى داخل الخلية يشمل جزئين وهما مجموعة الكربوكسيل الموجودة على السلسلة الجانبية وأيضاً موضع ortho على الحلقة وقد دعى ذلك إلى إفتراض نظرية تسمى نظرية موقعى الإلتحام two point attachment theory for auxin action

لعمل الأوكسين (شكل ٤٩ أ) auxin action أى أنه لابد منه لكى يعمل الأوكسين ويكون نشط لابد من توفير موقعين للألتحام. وقد تم إقتراح أنه لابد من وجود رابطة تعاونية بين هذين الموقعين على الأكسين وبعض مكونات الخلية مثل البروتين. أى يتحد الأوكسين برابطتين تعاونيتين مع بعض مكونات الخلية مثل البروتين وبذلك يصبح الأوكسين نشط وفعال ومؤثر فى أداء وظائفه. أمكن إثبات هذه النظرية بإستخدام مركبات مختلفة من الفينوكسى حيث أنه فى حالة 2,4 -D يوجد موقعين يتصلان بالمستقبل فى الخلية وقد يكون البروتين وأحد الموقعين عبارة عن مجموعة الكربوكسيل والموقع الآخر ortho على الحلقة ولذلك يصبح المركب فعال ولكن فى حالة 2,6-D يحدث نفس الشيئ من حيث الإلتحام كما فى 2,4-D تماماً إلا أن الموقع ortho الثانى مشغول بالكلور ولذلك يصبح المركب غير فعال كأوكسين لأن الموقعين مشغولين بالكلور ولايوجد موقع ortho حر. وفى حالة مركب 2,4 - dichloroanisole فإن غياب مجموعة الكربوكسيل الطرفية فى السلسلة الجانبية يجعل المركب غير قادر على الإلتحام فى موقعين نتيجة لغياب مجموعة الكربوكسيل الطرفية وبذلك يصبح المركب غير كفء فى آداء عمله كأوكسين. وفى حالة 2,4 - dichlorophenoxy iso-butyric acid فإن التوزيع الفراغى للجزيئ يكون غير مناسب ولذلك لايحدث الإلتحام فى موقعين ويحدث الإلتحام فى موقع واحد فقط هو موقع الكربوكسيل ولذلك يصبح المركب غير فعال كأوكسين (شكل ٤٩ أ).

بعد إكتشاف التركيب الجزيئى لإندول حامض الخليك عام ١٩٣٤ فقد حاول الباحثون تحديد الجزء الخاص فى الجزيئ الذى يسبب فاعلية وتأثير هذا الأوكسين فى عمل وإنجاز العمليات الحيوية المختلفة

What was "special" in the chemical structure of IAA to impact such profound influences on growth and developmental processes.



(شكل ٤٩ أ) : نظرية موقعى الأرتباط أو الألتحام

١ ـ D - 4 و 2 مرتبط بموقعى أستقبال ولذلك فهو فعال

٢ ـ D - 6 و 2 غير فعال حيث أن موقعى ortho بها ذرتى كلور.

٣ ـ dichloroanisole - 4 و 2 غير فعال لغياب مجموعة كربوكسيل طرفيه.

٤ ـ dichlorophenoxy iso butyric acid - 4 و 2 غير فعال حيث أن التوزيع الفراغى للجزيئى. يمنع الألتحام أو الأرتباط بين الموقع ortho الخال من الكلور وبين موقع الأستقبال النشط.

obeikandl.com

وقد ساد الإعتقاد بأنه إذا أمكن معرفة ذلك فإن ذلك سيوضح ميكانيكية تأثير الأوكسين فى دخال الخلايا. وقد حاول الباحثون أيضاً عمل نفس الشيئ بعد إكتشاف الجبريللينات والسيتوكينينات.

ولدراسة ذلك لتوضيح الجزء الفعال فى الجزيئ فقد تم إختبار كثير من المركبات بواسطة إختبارات حيوية مناسبة suitable bioassay لتحديد مدى صلاحية أو كفاءة هذه المركبات المختبرة أن تعمل كأوكسينات. وقد وجد أن بعض من المركبات المختبرة تكون مشابه فى تأثيرها لتأثير أندول حامض الخليك عند أستعمالها بتركيزات منخفضة جداً وقد أمكن تخليقها بالمعامل ولذلك سميت بالأوكسينات التركيبية. وجد أن هذه الأوكسينات التركيبية متباعدة ومختلفة إختلافاً كبيراً فى تركيبها الكيماوى ولايمكن وضعها فى مجموعة واحدة حيث أنها إذا كانت متقاربة التركيب كان من السهولة بمكان تحديد الجزء الفعال فى الجزيئ المحدد والمسئول عن صفات الأوكسين للمركب. وبالرغم من إختلاف التركيب فإن المحاولات جارية للتعرف على ماهى الصفات التى تضفى على المركب صفة الأوكسين أو بمعنى آخر ماهو الجزء الخاص فى الأوكسين الذى يسبب فاعلية كأوكسين. وإذا تم تحديد ذلك فإنه سيوضح بكفاءة ميكانيكية عمل الأوكسين فى خلايا النبات. وقد تم بالفعل نتيجة لهذه الإختبارات إكتشاف أندول حامض البيوتريك وإندول حامض البروبيونيك وبعد ذلك تم إكتشاف الأوكسينات الأخرى مثل 2,4-D و 2,4,5-T و MCPA.

نتيجة مقارنة التركيب الجزيئى لهذه المركبات فقد أمكن تحديد صفات الجزيئى والتى تكسبه خصائص الأوكسينات. وهذه الصفات مايأتى :

١ ـ تركيب حلقى يحتوى على رابطة واحدة مزدوجة على الأقل.

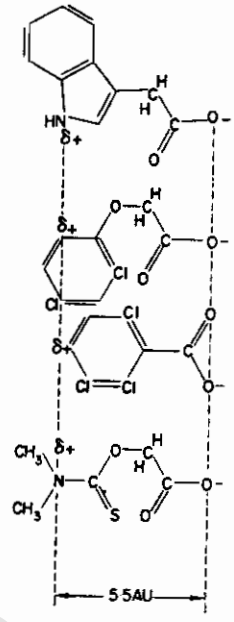
٢ ـ سلسلة جانبية تحتوى على مجموعة كربوكسيل أو مجموعة من السهل تحويلها إلى كربوكسيل.

٣ ـ وجود ذرة كربون على الأقل بين الحلقة وبين مجموعة الكربوكسيل.

٤ ـ يوجد توزيع فراغى خاص particular spatial relationship بين الحلقة ومجموعة الكربوكسيل.

يلائم ذلك الغالبية العظمى من الأوكسينات ولكن وجد بعض شواذ لهذه القاعدة حيث وجد أن بعض مشتقات حامض البنزويك أوكسينات نشطة وليس لها سلسلة جانبية.

لابد من توضيح أن الشروط اللازم توافرها فى الأوكسينات والسابق ذكرها وأيضاً نظرية موقعى الإلتحام أو الإرتباط لعمل الأوكسين (لنشاط الأوكسين) تعتبر غير كافية أو غير شاملة لجميع الأوكسينات حيث تشذ بعض منها كما فى حالة مشتقات حامض البنزويك حيث لايلائمها شروط الأوكسينات السابق ذكرها كما لا يلائمها نظرية موقعى الإلتحام أو الإرتباط لعمل الأوكسين. وذلك مما دعى بعض علماء فسيولوجيا النبات إلى عدم قبول هذه النظرية. ولذلك توجد الآن نظريات مشابها هى three point attachment theory وأيضاً نظرية multi-point attachment theory أى نظرية مواقع الإرتباط الثلاثة ونظرية مواقع الإرتباط أو الإلتحام العديدة. وقد نشأ أعتراض آخر على طريقة ألتحام المركب بالمستقبل البروتينى فى الخلية هل الأرتباط بواسطة رابطة تعاونية أو بروابط من أنواع أخرى أو حالات أخرى ومنها فان درفالس Van der Waals والروابط الإلكتروستاتيكية electrostatic forces. حيث وجد بإختبار ومقارنة مركبات كثيرة أن المركب الفعال كأوكسين يكون ذو شحنة سالبة قوية تنشأ نتيجة تأين مجموعة الكربوكسيل والتى تبعد عن شحنة موجبة ضعيفة على الحلقة بمسافة قدرها ٥ر٥ أنجستروم (شكل ٤٩ ب). وقد أقترح أن ذلك هو الأساس لنشاط أى مركب كأوكسين. يمكن أن توضح هذه النظرية النشاط النسبى والمختلف للأوكسينات المختلفة وأن الإختلاف فى نشاط وكفاءة الأوكسينات المختلفة والمتشابهة فى تركيبها يكون راجع إلى الإستبدال على الحلقة فى موقع الشحنة الموجبة وأيضا حجم الشحنة الموجبة غير معروف حتى الآن طبيعة المستقبل فى الخلية للأوكسين وأيضاً غير معروف موقعة بالخلية. وحتى الآن غير معروف بالضبط ما هى المواصفات الهامة والأساسية فى الجزيئ لكى يصبح فعال كأوكسين.



(شكل ٤٩ ب) : تأثير المسافة بين الشحنه الموجبه والسالبه على الجزيئ وفاعلية الأوكسينات.
المسافة بين الشحنه السالبة القوية أو الشحنه الموجبة الضعيفة على الجزيئ هى ٥,٥ أنجستروم وذلك للمركبات من القمه إلى القاعدة على الترتيب التالى أندول حامض الخليك و 2, 4 - D و2, 5, 6 - trichorobenzoic acid و carboxymethylthiocarbamate.

الأوكسينات الطبيعية والأوكسينات التركيبية:

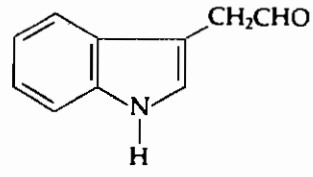
جميع الأوكسينات التى سبق ذكرها فى الجزء السابق تعتبر تركيبية عدا إندول حامض الخليك فهو يعتبر أوكسين طبيعى. كان إلى عهد قريب يعتبر إندول حامض الخليك هو الأوكسين الطبيعى الوحيد ولكن حديثا أمكن إثبات وجود إثنان آخران وهما فينيل حامض الخليك Phenylacetic acid وإندول حامض الخليك الكلورى chlorinated IAA.

تمكن Wightman and Lighty عام ١٩٨٢ من إثبات أن فينيل حامض الخليك عبارة عن أوكسين طبيعى. تعتبر كفاءة ونشاط هذا المركب أقل من إندول حامض

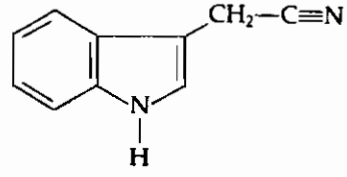
الخليك ولكن عادة توجد بتركيزات كبيرة نسبيا فى النبات تفوق تركيز إندول حامض الخليك. وجد هذا الأوكسين فى عديد من النباتات منها الطماطم والتبغ وعباد الشمس والبسله والشعير والذره الشامية. يعتبر المركب الذى يتكون منه فينيل حامض الخليك هو الحامض الأمينى فينيل ألانين. يتم تحول الحامض الأمينى phenylalanine إلى حـامض فينيل بيروفيك phenylpyruvic acid فى وجود إنزيم أمينو ترانسفيريز غير متخصص nonspecific aminotransferase ثم يتم تحول الأخير إلى فينيل حامض الخليك وذلك نتيجة لحدوث أكسدة مع نزع أو إزالة جزيئ ك أ٢ oxidative decarboxylation . للتأكد من أهمية فينيل حامض الخليك وإندول حامض الخليك لابد من حدوث طفرة فى النبات فى أحدهما ينتج عنها عدم تكوين فينيل حامض الخليك وطفرة أخرى فى نبات آخر ينتج عنها عدم تكوين إندول حامض الخليك وبالتالى يمكن ملاحظة التغيرات والأضرار التى تحدث فى نمو النبات فى كل حالة وبذلك يمكن إثبات أهمية كل من المركبين فى نمو النبات وأيهما يفوق الآخر.

تمكن Nitsch و Gander عام ١٩٦٧ وأيضا Larsen و Egsgaard و Engvild عام ١٩٨٠ من إثبات أن المركب 4 - chloro-3-indoleacetic acid يعتبر أوكسين طبيعى وهو يوجد فى البذور الغير ناضجة للبسلة فى الجنسين *Pisum* و *Lathyrus* وأيضا فى الجنس *Vicia*. وجد أن هذا المركب أكثر فاعلية من أندول حامض الخليك عند أستعمال إختبار النمو الطولى لغمد الريشة لنبات الشوفان Avena straight growth test

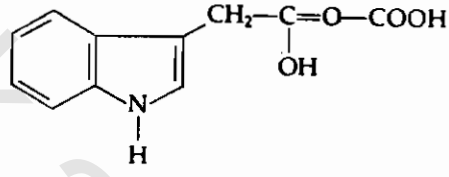
أما عن المركبات الأندولية الحرة السائدة خلاف الـ IAA التى توجد فى مختلف النباتات هى إندول ٣ـ أسيتالدهيد indole-3- acetaldehyde (IAALD) وإندول ٣ـ حامض البيروفيك Inacid indole-3-pyruvic ، وإندول أسيتونيتريل indole-3 (IAN) acetonitrile ، وإندول ٣ـ أيثانول indole-3- ethanol ، والتركيب الكيميائى لهذه المركبات موضح (شكل ٥٠). وبالرغم من أن الباحثين قد عزلوا جميع هذه



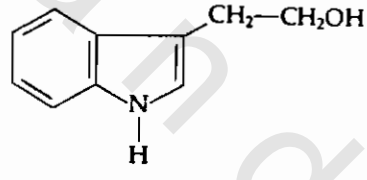
indole-3-acetaldehyde (IAALD)



indole-3-acetonitrile (IAN)



indole-3-pyruvic acid



indole-3-ethanol

(شكل ٥٠) : التركيب الجزيئى للمركبات الأندوليه الحرة خلاف أندول حامض الخليك.

المركبات الأندولية الحره من النبات، إلا أن معظم الدراسات تؤكد فكرة أن جميعها تتحول إلى IAA وجميعها غير ذى نشاط حيوى، على سبيل المثال إنزيم الدهيد دى هيدروجينيز aldehyde dehydrogenase هذا الأنزيم الذى يحفز تحولIAALD إلى IAA نشط فى الأنسجة والتى وجد فيها الباحثون IAALD. وبالمثل فقد وجد IAN فى كلا من العائلة الصليبية والعائلة النجيلية والتى يصاحبه فيهما إنزيم نيتريليز nitrilase والذى يشترك فى تحويل الـ IAN إلى IAA، وبالتالى فإن هذه الحالات

المتماثلة فى عديد من النباتات يدل على أن الـ IAA هو الأوكسين الحر النشط الأعظم فى النباتات ، وفوق ذلك فإن الصورة الحرة للأوكسين تستخدم بواسطة النبات فى عمليات النمو. بعض الأوكسينات التركيبية (كيماويات لا توجد طبيعياً) النشطة ظاهرياً تظل على الأقل جزئياً حرة عندما تمتص بواسطة النباتات. وربما مع ذلك تصبح مرتبطة أو تصبح غير سامة .

أماكن تكوين وتخليق الأوكسينات:

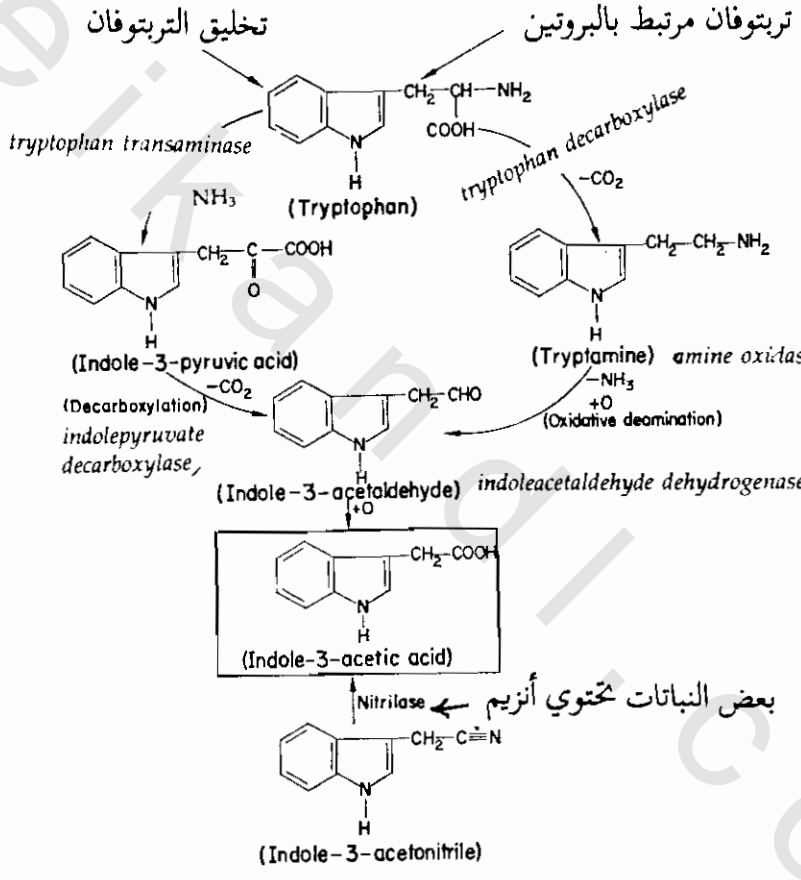
من المعروف أن الأوكسينات تتكون أو تخلق فى القمم النامية وفى الأنسجة المرستيمية ومناطق أستطالة الخلايا على وجه الخصوص ومثال ذلك القمم النامية للساق ولغمد الريشة والأوراق الصغيرة والبراعم الخضرية والزهرية وجنين البذرة والثمار الصغيرة بمعنى أن الأجزاء النشطة فى الإنقسام وهى الأجزاء الميريستيمية يكون عادة فيها تركيز الأوكسينات عال بالمقارنة بالأجزاء البعيدة عنه. تخليق الأوكسينات فى القمم النامية للجذور مثار للجدل .

كيفية تخليق وتكوين أوكسين أندول حامض الخليك :

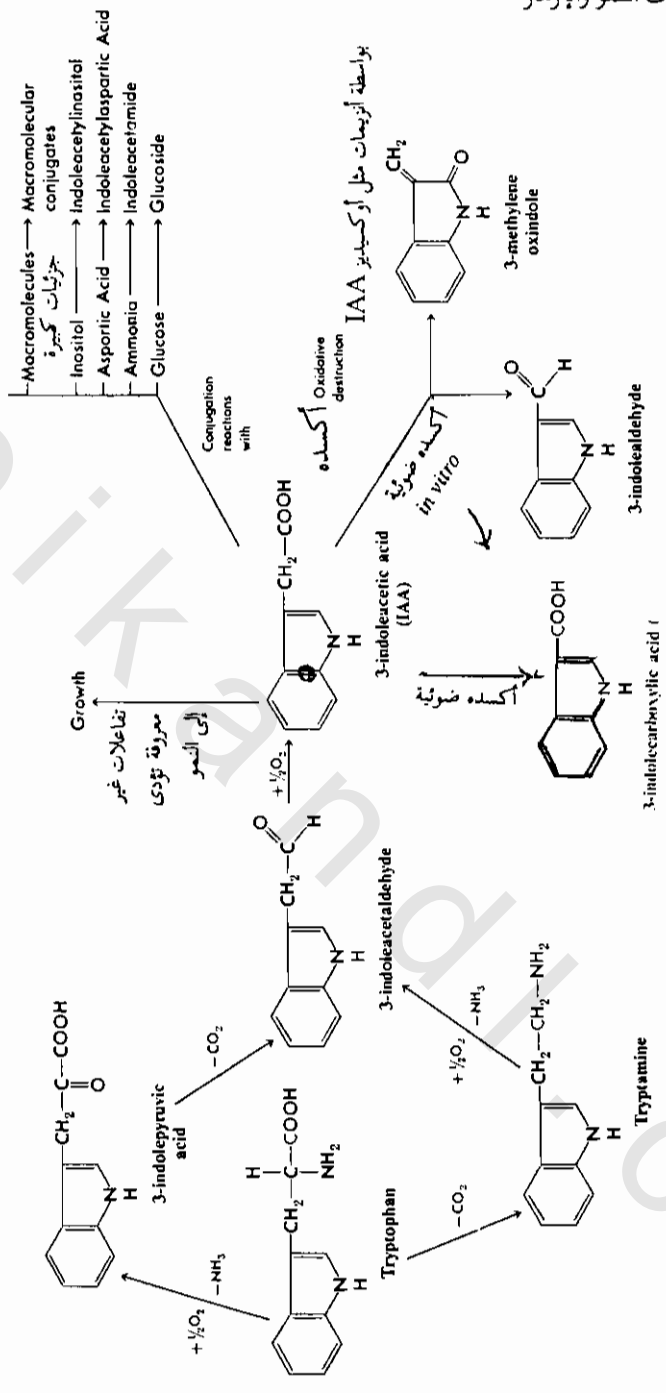
من المعروف أن النباتات تحتوى على أحماض أمينية كثيرة ولكن يهمنا فى هذا المجال الحامض الأمينى تريبتوفان tryptophan حيث أن هذا الحامض يعتبر المركب الأصل Precursor الذى يتكون منه IAA وذلك عن طريق تفاعلات إنزيمية يتحول هذا الحامض الأمينى إلى مركبات وسطية، ومن هذه المركبات يتكون أندول حامض الخليك وذلك نتيجة لتفاعلات إنزيمية أى يدخل فيها الإنزيمات. ومن الشكل يتضح أن التربتوفان يمكن أن يتحول إلى إندول بيروفيك أسد indole pyruvic acid وذلك بـواسطة عملية oxidative deamination ومعناه إعطاء الأوكسيجين وأخـذ ن يد٣ ، وأن المركب الأخير فى حدوث Decarboxylation يتحول إلى مركب indole acetaldehyde ، وكلمة Decarboxylation تعنى نزع ثانى أكسيد الكربون.

ويمكن أن يتحول التريبتوفان بواسطة decarboxylation إلى مركب tryptamine والمركب الأخير فى وجود oxidative deamination يتحول إلى مركب indole

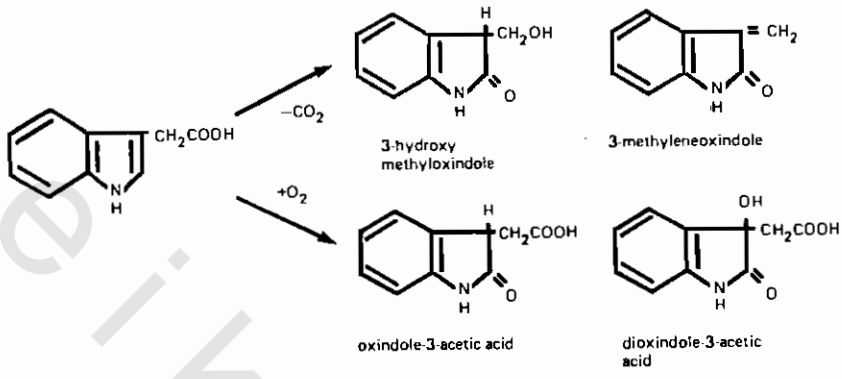
acetaldhyde ولذلك فإن الناتج النهائي لكل من هذين الطريقين هو تكوين الإندول أسيتالدهيد وهذا المركب الأخير وفي حدوث الأكسدة oxidation وذلك بإعطاء الأكسجين يكون الناتج هو مركب إندول حامض الخليك (IAA). ويعتبر ما سبق هى أهم طرق تكوين هذا الهورمون. يقوم بهذه التفاعلات أنزيمات مختلفة (شكل ٥١ و ٥٢).

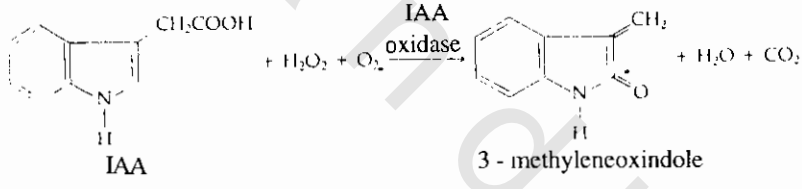


(شكل ٥١) : تخليق Indole-3- acetonitrile وأندول حامض الخليك.



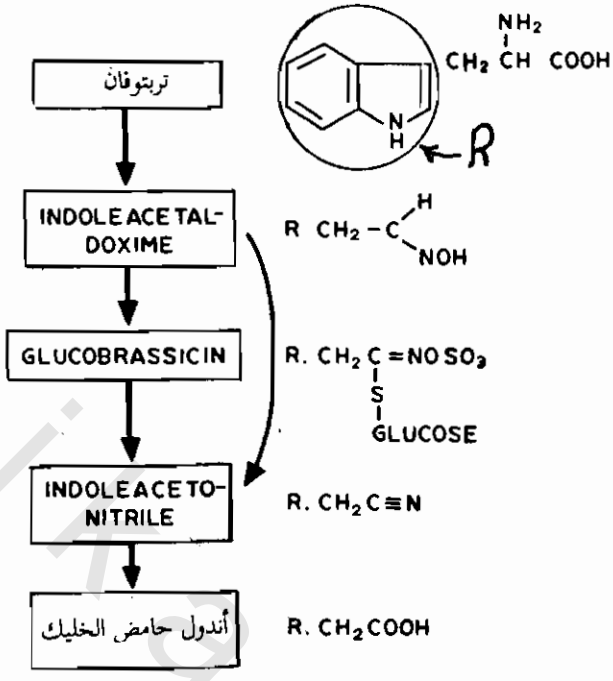
(شكل ٥٢) : تخليق وهدم ورأتباط أندول حامض الخليك .





(شكل ٥٢ أ) : خطوات هدم أندول حامض الخليك ونشاط أنزيم IAA oxidase.

يوجد طريق آخر يتم فيه تحويل التربتوفان إلى أندول حامض الخليك ويحدث ذلك فى بعض نباتات من العائلة الصليبية مثل الكرنب والخردل mustard. حيث يتم تحويل التربتوفان إلى indole acetaldoxime ثم يتحول الأخير إلى مركب أندول أسيتونيتريل indole acetonitrile (IAN) مباشرة أو عن طريق تكوين مركب glucobrassicin. ثم يتحول مركب IAN إلى إندول حامض الخليك (شكل ٥١ و ٥٤) تحدث هذه التفاعلات بواسطة الأنزيمات (شكل ٥٤).

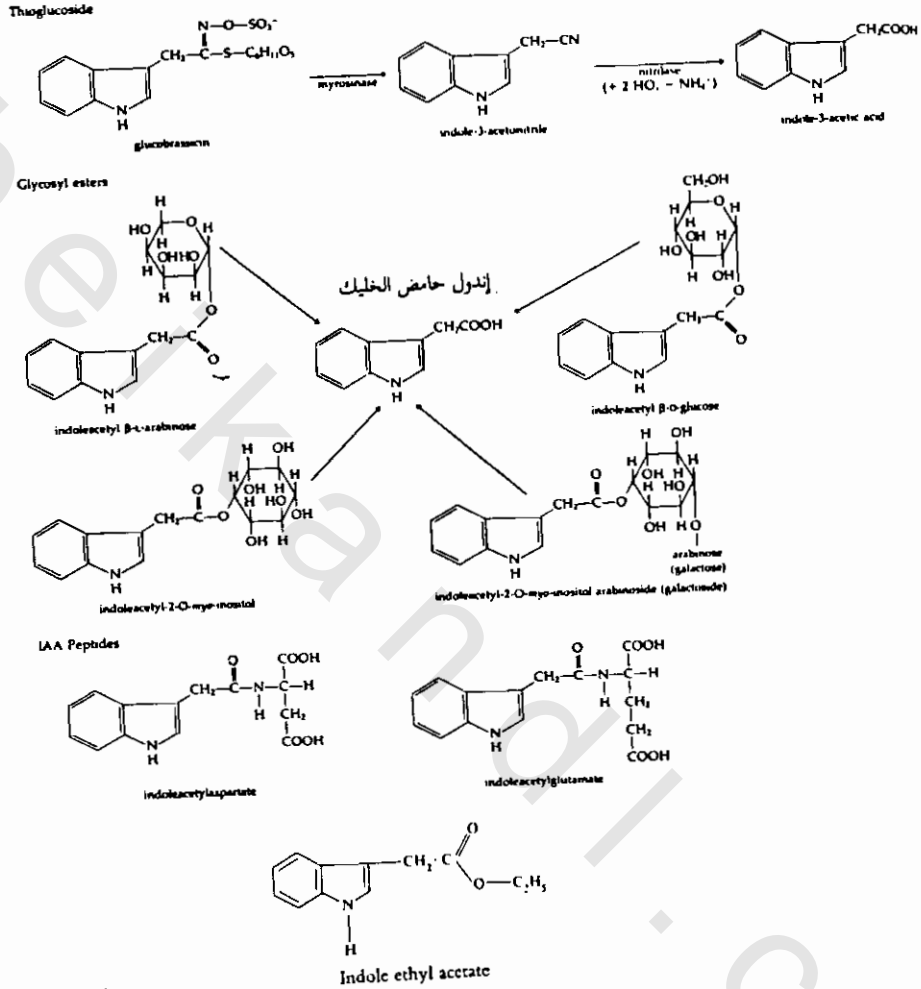


(شكل ٥٣) : خطوات تكوين إندول حامض الخليك من glucobrassicin.

تثبيط فاعلية جزيىء أندول حامض الخليك:

من المعروف أن التركيز الزائد من إندول حامض الخليك يسبب ضرر لأنسجة النبات.

ولذلك يوجد فى النبات ميكانيكية معينة تساعد على ثبات تركيز إندول حامض الخليك نسبياً فى النبات وفى حدود معينة وتمنع من زيادة تركيزه بدرجة غير مرغوبة بالنسبة للنبات. يوجد ثلاث طرق يمكن بها تثبيط نشاط هذا الأوكسين وهى ما يأتى:



(شكل ٥٤) : بعض مركبات الأكسين المرتبطة.

١ ـ الأكسدة الضوئية Photo - oxidation: تمتص جزيئات إندول حامض الخليك الأشعة فوق البنفسجية فى التجارب المعملية وذلك عند تعريض محلول هذا الأوكسين إلى هذه الأشعة. نتيجة لذلك يتكون مركب غير نشاط كيماوياً وحيوياً كأوكسين أى عديم الفاعلية من الناحية الفسيولوجية وهو إندول حامض الكربوكسليك indolecarboxylic acid. تثبط أشعة X وأشعة جاما نشاط هذا الأوكسين أيضاً. لا تمتص جزئيات إندول حامض الخليك النقى الضوء المنظور أى الضوء العادى ولذلك فإنه توجد صبغات متخصصة فى النبات تعمل كمستقبل photoreceptive أى لإستقبال الضوء العادى وإمتصاصه ومثال ذلك صبغة الريبوفلافين riboflavin ولذلك فإن تعريض محلول من إندول حامض الخليك نقى وبه جزيئات صبغة الريبوفلافين فإن الأوكسين يتأكسد ويفقد نشاطه. يتحول الأوكسين أثناء عملية الأكسدة أى فى وجود الأوكسجين وحيث يدخل الأوكسجين فى التفاعل إلى إندول حامض الكربوكسليك وأيضاً إلى indoleglycolic acid. يعتبر الضوء الأزرق فى الضوء العادى هو المؤثر والفعال فى أكسدة هذا الأوكسين وذلك بالمقارنة بألوان الطيف الضوئى الأخرى حيث أن الريبوفلافين يمتص الضوء الأزرق بشدة. ينتشر الريبوفلافين بكثرة فى النباتات ولذلك فإنه المسئول عن أكسدة هذا الأوكسين فى الطبيعة وفى المستخلصات. يعتقد أيضاً أن صبغة أخرى لها دور فى ذلك وهى صبغة بيتاكاروتين وهى أيضاً شائعة الوجود فى النبات وتمتص الضوء الأزرق بشدة.

وجد أن الأكسدة الضوئية *in vitro* لإندول حامض الخليك ينتج عنها مركبات لم يتم تعريفها وأيضاً مركبين هما إندول ألدهيد indolealdehyde و3-methylene oxindole

٢ ـ الأكسدة الأنزيمية Enzyme oxidation: أى الأكسدة بواسطة الأنزيمات. يتم أكسدة الأوكسين بكفاءة عالية بواسطة أنزيم أوكسيديز إندول حامض الخليك IAA oxidase. يعتبر هذا الأنزيم واسع الإنتشار فى النباتات المختلفة مثل القمح وعباد الشمس. يستهلك ويستعمل الأوكسجين فى التفاعل ويخرج ك أ٢ oxidative

decarboxylation. يتحول الأوكسين إلى عديد من المركبات أهمها methyleneoxindole و hydroxymethyloxindole (شكل ٥٢).

يحتاج هذا الإنزيم إلى عاملين مساعدين Co- Factors لنشاطه وهما أيون المنجنيز ومركب فينول أحادى monophenol مثل حامض الكوماريك coumaric acid. من المعروف أن المركبات أحادية الفينول تسبب نمو النبات وقد يكون ذلك فى أنها تسبب نشاط هذا الإنزيم وبالتالى فإنه يقلل من تركيز إندول حامض الخليك وبالتالى يؤثر على نمو النبات. والعكس صحيح فى حالة مركبات polyphenols وdiphenols حيث أنهما يثبطان نشاط هذا الإنزيم ومثال لهذه المركبات حامض الكافيك caffeic acid والبيروجالول pyrogallol. ولذلك فإن المركبات الأخيرة تحمى الأوكسين من الأكسدة، ولذلك توجد حالة من المعاونة والتأثير التعاونى synergesticبين الأوكسين و diphenols فى نمو غمد الريشة لنبات الزمير وأيضاً تشجيع تكوين الجذور على عقل السويقة الجنينية السفلى لنبات mungbean. توجد مركبات diphenols و monophenols بكثرة فى النباتات المختلفة وهى قابلة للتحول بسهولة من مركب إلى آخر وأيضاً بكثرة interconvertible. ولذلك فإن هذه المركبات المختلفة وأيضاً هذا الإنزيم لهم القدره على التحكم فى تركيز إندول حامض الخليك فى النباتات المختلفة فى الأنسجة المختلفة وفى مختلف البيئات وفى الأزمنة المختلفة وفى الأعمار المختلفة. عادة يكون تركيز هذا الإنزيم فى أنسجة النباتات المسنة كبير وبالتالى فإن تركيز الأوكسين قليل . يمكن أن يتكون نتيجة للأكسدة مركب indolealdehyde (شكل ٥٢).

يمكن أن يتأكسد إندول حامض الخليك إلى المركبات السابقة بواسطة إنزيم البيروكسيديز peroxidase ولابد أن يكون ذلك فى وجود فوق أكسيد الإيدروجين eroxidative decarboxylation. تعتبر كفاءة هذا الإنزيم فى أكسدة الأوكسين أقل كفاءة بالمقارنة بالإنزيم السابق، تعتبر مشابهات isoenzymes إنزيم البيروكسيديز فعالة أيضاً ولكنها تختلف فى درجه فاعليتها.

والفرق الأساسى بين نشاط البيروكسيديز والأوكسيديز هو أن تفاعل الأوكسيديز يحتاج إلى أوكسجين الهواء الجوى وأنزيم البيروكسيديز يحتاج إلى أوكسجين من أى فوق أوكسيد مثل فوق أكسيد الإيدروجين يد٢ أ٢. إلا أنه فى تكسير الـ IAA فإن الإنزيم الذى يظهر نشاط البيروكسيديز يعمل أيضاً كالأوكسيديز ويستهلك الأوكسجين الجوى فى التفاعل. وخطوات تفاعل إتلاف الـ IAAبواسطة الأوكسيديز يمكن تلخيصها كما هو موضح فى التفاعل (شكل ٥٢ أ). والنواج النهائية الرئسية لإتلاف الأوكسين هى ٣ ميثيلين أوكسينى إندول (3 - methyleneoxindol) أو إندول الدهيد indolealdehyde، والإنتاج النسبى لكل منهما ربما يختلف من نبات لأخر.بعض حالات الأنزيم ـ تحتاج لأيونات ومركب فينولى مثل ٢ ـ ٤ ـ داى كلورفينول dichlorophenol. أوضحت الدراسات المبكرة إختلاف واتساع مدى الـ pH الأمثل للإنزيمات المتحصل عليها من مصادر نباتية مختلفة مما يرجح وجود صور متعددة إنزيمية، تلك الحقيقة التى عرفت الآن من دراسات الفصل الكهربى electropheresis على إنزيمات أكسيديزات الـ IAA، قد عرفت منتجات طبيعية وكيمائية معينة خاصه بتثبيط ومنع تفاعلات أكسدة الـ IAA وهى عباره عن فينولات ثنائية أو عديده الأيدروكسيد مثل حمض الكلوروجينيك chlorogenic، وحمض الكافيك caffeic acid.

كما يمكن أن تحدث الأكسده oxidation عن طريق أضافه الأوكسجين ويتكون نتيجه لذلك مركبات كثيره أهمها oxindole-3-acetic acid وdioxindole-3-aceticacid وذلك فى أندوسبرم وجذور والمجموع الخضرى للذره وأيضا فى أجزاء من نبات الأرز (شكل ٥٢أ).

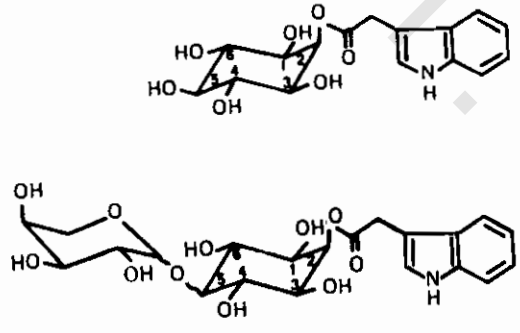
٣ ـ الإرتباط Conjugation: يمكن أيضاً أن يدخل IAA فى تفاعل مع مركبات أخرى أى يرتبط مع مركبات أخرى (شكل ٥٤ و ٥٥) بواسط رابطه أميديه أو إستريه amide and ester linkages عاده ويصبح عديم الفاعلية وفى صورة غير فعالة والبعض يعتبر هذه التفاعلات detoxification reaction حيث أنها تقلل من تراكم IAA. حيث أن تراكم هذا الأوكسين لدرجة كبيرة جداً نسبياً تسبب ضرر للنبات أو

النسيج النباتى الموجودة فيه ولكن عند ارتباط الأوكسين بالمركبات المختلفة التى سيلى ذكرها فإنه يصبح عديم الفاعلية ولا يحدث تأثير ضار فقد يتفاعل مع الجلوكوز فيكون IAA - glucoside أو سلسلة من سكر الجلوكوز فيسمى IAA - Glucan وقد يتفاعل IAA مع الأمونيوم ليكون Indoleacetamide أو قد يتفاعل مع حامض الاسبارتيك ليكون Indoleacetylaspartic أو قد يتفاعل مع Inositol ليكون Indoleacetylinositol أو يتفاعل مع سكريات أخرى غير الجلوكوز ليكون IAA - glycosides أو مشتقات لهذه المركبات والسكريات. وقد يتفاعل أو يدمص على جزيئ البروتين ويصبح غير فعال . يمكن تحرير الأوكسين من هذه المركبات بواسطة تفاعلات إنزيمية مختلفة أنزيمات hydrolases ويصبح الأوكسين حر نشط فعال.

وجد الأن بعض من أنزيمات hydrolase مثل IAA-myo-inositol hydrolase فى بارات الذره وأيضا أنزيم IAAlysine hydrolase فى خلايا أورام مرض تعقد الزيتون حيث توجد أورام على أفرع نبات الزيتون، شكل (٢١٥أ) تقوم بتحرير الأوكسين.

ولذلك فإن الإرتباط أيضاً يعتبر طريقة يمكن بها المحافظة على تركيز الأوكسين فى الأنسجة المختلفة فى النباتات المختلفة فى الظروف البيئية المختلفة فى أعمار النبات المختلفة. يتراوح تركيز الإندول المرتبط فى الأنسجة بين ٥٠ – ٩٠ ٪.

وجد أن المرتبطات conjugates مع إندول حامض الخليك فى حبوب الذرة



(شكل ٥٥) : التركيب الجزيئى الفراغى لمركب.
indole -3- acetyl -2-0- myo-inositol ومركب (العلوى) indole-3-acetyl 2-0 myo- inositol -5-0- arabinoside (السفلى)

الشامية كثيرة ونصفها أى ٥٠ ٪ منها تقريباً عبارة IAA-glucan وأما الباقى فهو عبارة عن IAA- *myo* -inositol و IAA -*myo*-inositol-arabinose و IAA - *myo* - inositol - galactose وآثار من IAAglucose. يوجد مركب IAA- *myo* -inositol علاوة على ذلك فى الأنسجة الخضرية للذرة الشامية وحبوب الأرز. وجد أن حبوب الزمير تحتوى على ٨٠ ٪ أندول حامض الخليك مرتبط فى صورة IAA glucoprotein . وجد أن IAA-1- aspartate هو الحالة الرئيسية التى يوجد فيها إندول حامض الخليك فى بذور فول الصويا وأوراق بادرات البسلة. وقد أمكن تخليق المرتبطات IAA conjugates خارج النبات *in vitro* وذلك بإستعمال إنزيم من حبة الذرة الشامية وفيما يلى خطوات تخليق المرتبطات المختلفة (شكل ٥٦).

يعتبر glucobrassicin و ascorbigen من الأوكسينات المرتبطة وبالمثل بعض

IAA + UDP-glucose
⇌ IAA-1-*O*-β-D glucose + UDP
IAA-glucose + *myo*-inositol
→ IAA-*myo*-inositol + glucose
IAA-*myo*-inositol + UDP-galactose
→ IAA-*myo*-inositol-galactoside + UDP
or
IAA-*myo*-inositol + UDP-arabinose
→ IAA-*myo*-inositol-arabinoside + UDP

(شكل ٥٦) : خطوات تخليق مركب
IAA - *myo* - inositol - arabinoside

الأوكسينات التركيبيه ربما ترتبط كمعقدات مع الأحماض الأمينية (والشائع الإرتباط مع حمض الأسبرتك والجلوتاميك) وإسترات الجليكوسيل.

يوجد عامة ثلاثة أنواع من الأوكسينات فى النباتات وهى الحرة والمقيدة والمرتبطة. تتضمن الأوكسينات الحرة تلك الأوكسينات القابلة للإنتشار، والتى تتحرك خارجة من النسيج فى الحال على سبيل المثال الأوكسينات التى تنتشر خارجة من قمة غمد الريشة إلى الآجار، وتلك الأوكسينات المقيدة ومن أمثلتها IAA الموجود بالفجوه العصارية ويكون من الصعب خروجه من الفجوه والأستفادة منه والتى يمكن استخلاصها فى المذيبات المختلفة على سبيل المثال داى إيثيل إيثر diethyl ether عند

درجة صفر إلى ٥م وعلى النقيض، الأوكسينات المرتبطة هى تلك الأوكسينات التى تتحرر (تنطلق) من الأنسجة النباتية بعد تعريضها إما للتحلل المائى hydrolysis أو بالتحلل الذاتى autolysis أو التحلل الإنزيمى enzymolysis. على سبيل المثال تسخين أوراق السبانخ فى محلول قلوى ضعيف أو معاملتها بالإنزيمات المحللة مائياً للبروتين (حيث يمكن أن يرتبط الأوكسين) تعطى كمية أكبر من الأوكسين عن تلك التى توجد فقط بالإستخلاص المباشر عند اتباع الطريقة العادية.

ومما هو جدير بالذكر أنه قديماً أمكن إثبات إرتباط الأوكسين بالمركبات المختلفة فى حبوب النجيليات وحيث لا يوجد أوكسين حر. ولكن عند معاملة هذه الحبوب بقلوى مخفف فإنه يتكون أوكسين حر. وقد أتضح أن هذا الأوكسين يوجد فى صورة جليكو سيدات glycosides حيث يرتبط الأوكسين مع مشتقات السكريات، وعند الإنبات تنتقل هذه المركبات الأخيرة من الحبة إلى قمم غمد الريشة وفى منطقة قمة الغمد تحدث تفاعلات إنزيمية عن طريقها يتم تحرر الأوكسين من مشتقات السكريات فى المركبات الجليكوسيدية.

وقد إتضح حديثاً أن ما سبق صحيح تماماً حيث وجد أثناء إنبات حبوب الذرة يتحول ٩٠ ٪ من المرتبطات مع إندول حامض الخليك عن طريق التحلل hydrolysis إلى إندول حامض خليك حر. وجد أيضاً أن جزء من IAA - myo - inositol ينتقل من الحبة إلى المجموع الخضرى حيث يتحلل وينتج إندول حامض خليك حر. ولذلك فإن للمرتبطات مع إندول حامض الخليك وظائف فسيولوجية عديدة وهى:

١ ـ تعمل المرتبطات كإحدى صور تخزين IAA. حيث يتم تخزين IAA أثناء نضج الحبوب والبذور ويستعمل أثناء الإنبات.

٢ ـ تعمل على نقل IAA من الحبة إلى المجموع الخضرى.

٣ ـ تقاوم تأثير إنزيم البيروكسيديز peroxidase ولا تتأثر به بذلك تعمل على

حماية الأوكسين من التحلل بالبيروكسيديز حيث أن IAA يمكن أن يتأثر بإنزيم البيروكسيديز ويصبح مركب آخر عديم الفاعلية.

٤ ـ عندما يحدث تثبيط لنمو البادرة فإن IAA الحر يختفى و يزداد تركيز IAA المرتبط.

يتضح مما سبق أن تكون IAA المرتبط ثم تحلله ليصبح حر ونشط هى عبارة عن عملية لتنظيم تركيز IAA فى النبات.

يختلف تركيز IAA الحر والمرتبط فى خلايا النخاع عنه فى خلايا الإسطوانة الوعائية وأيضاً تختلف سرعة التحول الغذائى لهذا الأوكسين فى النخاع عنه فى خلايا الإسطوانة الوعائية فى جذور الذرة.

كيف يؤثر الأوكسين على خلايا النبات لحدوث الإستطالة:

من المعروف أنه فى الحشرات وبعض الحيوانات الأخرى أنه لكى يحدث نمو فلابد للحشرات من أن تنسلخ وقد يحدث عدة انسلاخات لكى تتمكن من الكبر فى الحجم. أما فى حالة الخلايا النباتية فإن كل خلية يكون لها جدار خلوى سميك نسبياً وصلب نسبياً وبذلك يمنع الخلية من التمدد أو الإستطالة ولكن من المعروف أن خلايا النبات تستطيل ومعنى ذلك أنه لابد من حدوث تغيرات فى تركيب الجدار الخلوى لكى يسمح باستطالة وتمدد الخلايا.

ويمكن تمثيل هذه الحالة بواسطة بالون، فعند نفخ هذا البالون إلى أقصى حد يمكن عمل زيادة فى حجم هذا البالون زيادة على الحد المعتاد وذلك بمعاملة جدار البالون بأى مذيب عضوى مناسب يساعد على تمدد جدار البالون وبذلك تكبر البالون فى الحجم دون نفخ للهواء ، وهذا ما يحدث أيضاً فى حالة الخلية النباتية حيث أن الأوكسينات هامة وضرورية لزيادة حجم وإستطالة الجدر الخلوية. وقد أمكن إثبات ذلك كما هو معروف أنه باستخدام مكعب من الآجار به أوكسين ووضعه على قمة الساق أو الغمد بعد إزالة الجزء القمى فإن الساق يحدث له نمو باستطالة

خلاياه وقد وجد أن إستطالة الخلايا فى النبات وكبرها فى الحجم ترجع إلى حالتين هما:

١ ـ ترجع لوجود ضغط الإنتفاخ Turgor pressure .

٢ ـ ترجع لوجود مطاطية لجدار الخلية Extensibility of cell well .

يمكن تصنيف المطاطية إلى نوعين من الخلية وهما:

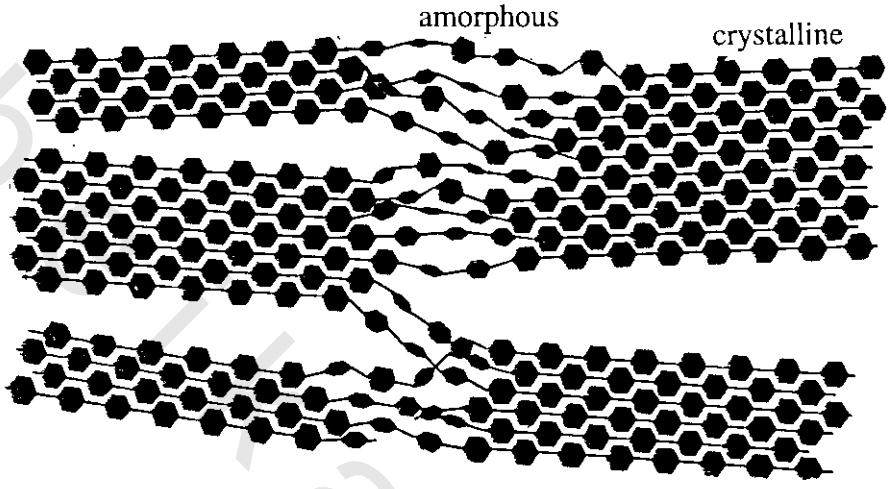
أ ـ مطاطية عكسية Elastic Extensibility وهى عبارة عن مطاطية reversible عكسية أى مثل الاستيك تعتبر المطاطية نتيجة لضغط الإنتفاخ من هذا النوع.

ب ـ مطاطية غير عكسية Plastic Extensibilityوهى عبارة عن مطاطية غير عكسية irreversible أى يتمدد الجدار ولا ينكمش مرة أخرى مثل البلاستيك تعتبر المطاطيه نتيجه للنمو والهورمونات من هذا النوع.

يتكون الإطار التركيبى لجدار الخلية النباتية من السليلوز، والوحدة الأساسية لهذا الإطار هى جزئ السليلوز. وجزئيات السليلوز عبارة عن سلاسل طويلة تتكون من تكاثف مئات كثيرة من جزئيات الجلوكوز وليست جزيئات السليلوز وحدات ذات وزن جزيئى معين، وذلك لأن طول السلاسل غير ثابت. فكثير من جزيئات السليلوز بجدر الخلايا النباتية الحية تبلغ قدراً من الطول بحيث تحتوى على ٥٠٠٠ على الأقل من جزيئات الجلوكوز، بينما يكون غيرها أقصر من ذلك بكثير.

وقد أماطت الدراسة بالأشعة السينية والضوء المستقطب اللثام عن التنظيم الهندسى لجزيئات السليلوز الطويلة فى الجدار الخلوى. ففى بعض المناطق تكون جزيئات السلسلة متوازية تماماً بحيث تكتسب الكثير من خواص البلورات وتسمى بالسيليلوز البلورى crystalline cellulose وتكون أقل تنسيقا فى مناطق أخرى، مكونة ما يعرف بالسليلوز اللابلورى amorphous cellulose. وقد يوجدالجزئ السليلوزى نفسه كجزء من منطقة متبلورة بدرجة كبيرة، ثم يمر بمنطقة غير متبلورة، ثم يستمر فيدخل منطقة أخرى متبلورة (شكل ٥٧) ولا يكون التحول فجائيا بين المناطق المتبلورة (وتسمى هذه المناطق المتبلورة بالجسيمات micelles) والمناطق غير المتبلورة،

وهكذا يكون الجدار عبارة عن نسيج من جزيئات سلسلية طويلة من السليلوز تكون متوازية بدرجات متفاوتة فى أجزاء مختلفة من الجدار.



(شكل ٥٧) : جزء صغير من micelle لويفة صغيرة للجدار الخلوي يتكون من سيليلوز crystalline وسيليلوز amorphous.

ويؤخذ من قياس مخططات الأشعة السينية لبعض ألياف النبات الطبيعية أن للمناطق المتبلرة سمكاً محدوداً إلى حد ما. ويمكن اعتبار الجسيم الواحد كمعين يبلغ سمكه نحو ٥ ـ ٦ ملليميكرونات وطوله ٦٠ ملليميكرونا على الأقل ومعنى هذا بمدلول جزيئات السليلوز أن كل جسيم متبلر عبارة عن حزمة من نحو ١٠٠ ـ١٧٠ من الجزيئات المتوازية، وأن أجزاء الجزئ التى تقع داخل الجسيم تتكون من ١٢٠ وحده على الأقل من الجلوكوز . وقد يرتبط بجزيئات السليلوز فى كثير من الجدر الخلوية جزيئات سلسلية طويلة مكونة من تكاثف سكريات أخرى.

وتتفاوت نسب السليلوز البلورى وغير البلورى على نطاق واسع فى جدر الخلية النباتية. ففى الجدر المغلظة لبعض الألياف النباتية يصل السليلوز المتبلر إلى نحو ٩٠

فى المائة، بينما لا يكون السليلوز المتبلر فى الخلايا الحديثة سوى نسبة صغيرة مما يوجد فى جدرها الآخذه فى الكبر ويبدو أن السيليلوز البلورى لايوجد بتاتاً فى جدر بعض الخلايا الحديثة. ولما كانت التفرقة بين السليلوز البلورى وغير البلورى إنما تتوقف بصفة أساسية على درجة ترتيب الجزيئات، فإن شد الجدار الخلوى أو تجفيفه من شأنه أن يزيد نسبة السليلوز البلورى زيادة كبيرة فى العادة.

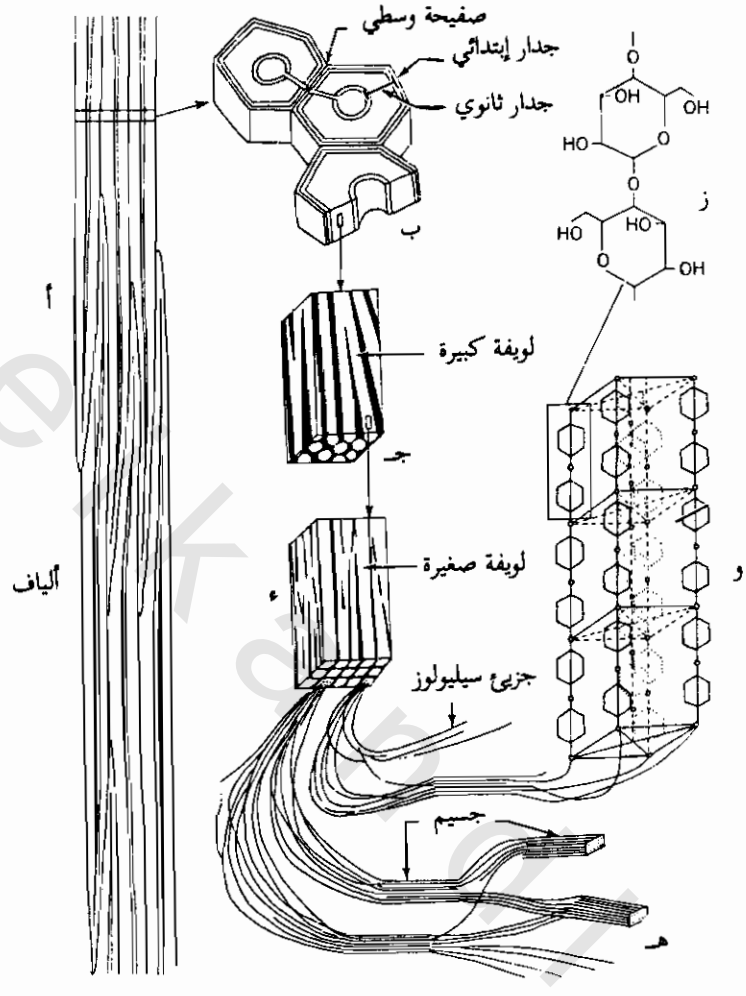
ويؤخذ من شتى الأدلة أن الجسيمات تفصلها فراغات دون مجهرية تؤلف نظاماً متشابكاً يمتد خلال الإطار السليلوزى (شكل ٥٨).

ويتراوح اتساع هذه الفراغات من ملليميكرون واحد إلى نحو ١٠٠ من الملليميكرونات، وهكذا تتألف منها ممرات هائلة نسبياً ينساب خلالها ماقد يخترق أجزاء الجدر السيلولوزية من جزيئات منتشرة. وهذه الفراغات مملوءة بمركبات بكتينية فى الجدر الخلوية الإبتدائية، وباللجنين فى الأنسجة الخشبية وبالشموع والكيوتين فى الجدر الكيوتينية. أما الجدر التى تكاد تكون سليلوزية بحتة، كالجدار الثانوى لألياف القطن ، فالفراغات فيها مملوءة بالماء.

وأصغر الوحدات المرئية من الجدر السليلوزية عبارة عن جدائل خيطية دقيقة من الليفات fibrils وهذه الليفات هى حشود من جزيئات وجسيمات كثيرة من السليلوز مرتبة معاً بحيث تتوازى محاورها الطولية مع محور الليفة الطولى.

وتكون هذه الليفات فى الجدر الإبتدائية شبكة دقيقة متواصلة (شكل ٥٨) تملأ فراغها مركبات بكتينية غروية. أما فى الجدر الثانوية فكثيراً ما تتجمع الليفات فى جدائل أغلظ تتفرع وتلتف حول الخلية بصورة (لولب) حاد قد تتباين زاويته فى طبقات مختلفة، بل وفى مختلف أجزاء الطبقة نفسها (شكل ٥٨).

ولقد كان من المتعذر إدراك التفاصيل الدقيقة لتركيب الجدار الخلوى بسبب القيود التى تصادفنا حتى مع أدق الميكروسكوبات البصرية. فحدود القوة النهائية للميكروسكوب البصرى تحددها أطوال موجات الضوء المستعمل، وكلما كان طول



(شكل ٥٨) : تركيب الجدار الخلوي

أ ـ مجموعة من خلايا الألياف .

ب ـ قطاع عرضي في ثلاثة خلايا ألياف ويتكون الجدار الثانوي من ثلاث طبقات .

جـ ـ جزء من الجدار يحتوي علي عدد من اللويفات الكبيرة .

ء ـ جزء من لويفة كبيرة يحتوي علي عديد من اللويفات الصغيرة ..

هـ ـ جزء من لويفة صغيرة يتكون من جسيمات عديدة وجزيئات سيليلوز .

و ـ جزء مكبر من جسيم يوضح الترتيب المعيني لجزيئات الجلوكوز .

ز ـ جزيئ سيللوبيوز يتكون من وحدتين جلوكوز.

الموجة أقصر كانت القوة النهائية أكبر. ولذلك فإنه يمكننا أن نرى أو نصور الأشياء التى كان يتعذر رؤيتها فى المجهرا لمركب المعتاد لو أننا أستطعنا أن نوجد طريقة نستخدم بها أطوالا موجية من الإشعاع أقصر بكثير من أطوال موجات الطيف الضوئى. وقد تحققت مثل هذه الطريقة فى الميكروسكوب الإلكترونى. ففى هذه الحاله نستخدم بدلا من الضوء حزماً من الإلكترونات يتم تجميعها فى البؤرة مغناطيسياً. وتقل الأطوال الموجية للحزم الإلكترونية التى تستخدم بكثرة عن جزء من أربعة آلاف من طول أقصر أطوال موجات الطيف المرئى. ولما كانت الأطوال الموجية التى نستخدمها فى الميكروسكوب الإلكترونى قصيرة للغاية، فإننا نستطيع أن نحصل على صور واضحة لأشياء أدنى بكثير من القوة النهائية لأفضل الميكروسكوبات البصرية. وتؤكد الصور الضوئية المأخوذة بالميكروسكوب الإلكترونى لجدر الخلية النباتية الأشكال التركيبية العامة التى تم أستنباطها من مصادر استدلال أخرى (شكل ٥٨).

تختلف الخواص الفيزيقية للجدر الخلوية الإبتدائية اختلافا واضحاً عن خواص الجدر الثانوية. فالجدر الإبتدائية فى العادة طيعة مرنة للغاية. والمعروف مثلا أن خلايا الميزوفيل لبعض أنواع تعانى تغيرات انعكاسية فى الحجم تبلغ ٣٠ فى المائة أو أكثر نتيجة لتغيرات ضغط الإمتلاء. ويرجع الفضل فى طواعيه الجدر الإبتدائية إلى الكمية الكبيرة من السليلوز اللابلورى فى هذه الجدر وإلى المجموعة الواسعة من المسافات التى بين الخلايا والليفات المملوءة بمركبات جيلاتينية بكتينية محبة للماء. وتتميز الجدر الثانوية بانخفاض المرونة ونقص الطواعية، خلافاً لما سبق وصفه من خواص تعتبر نموذجية بالنسبة للجدر الإبتدائية. وترجع قوة الجدر الثانوية وصلابتها إلى وجود السليلوز فى هذه الجدر بكميات أكبر وإلى النسبة العالية من السليلوز المتبلر. والجدر الإبتدائية والثانوية كلاهما شفافة بالنسبة لأطوال موجات الطيف المرئى.

يمكن تلخيص ما سبق أن الجدار الخلوى عبارة عن هيكل شبكى من سلاسل من السليلوز تتجمع كل مجموعة من هذه السلاسل فى حزمة bundle و وفى كل

حزمة مناطـــق للسيليلوز البلورى أى المتبلور crystalline ومناطق أخرى للسيليلوز غير البلورى amorphous cellulose. تتجمع هذه الحزم فى مجاميع وكل مجموعة تسمى لويفة صغيرة microfibril وتسمى أيضاً لييفة fibril ولكن الآن يفضل التسمية لويفة صغيرة عن تسمية الليفة. تفصل اللويفات الصغيرة عن بعضها فراغات.

كما قد تتجمع اللويفات الصغيرة فى الجدر الثانوية فى لويفات كبيرة macrofibrils (شكل ٥٨) تفصلها أيضا فراغات تترسب بهذه الفراغات المختلفة مواد مختلفة تختلف حسب نوع و عمر الخلية، ففى الجدر الإبتدائية تمتلئ الفراغات أساساً بمركبات بكتينية وفى جدر الأنسجة الخشبية والأسكلر انشيمية تمتلئ الفراغات أساساً باللجنين وفى جدر البشرة يترسب الكيوتين وفى جدر خلايا الفلين يترسب السيوبرين.

وظيفة الجدار الخلوى هو حفظ مكونات الخلية بداخلة كما أنه يعطى الخلية صلابة ومتانة.

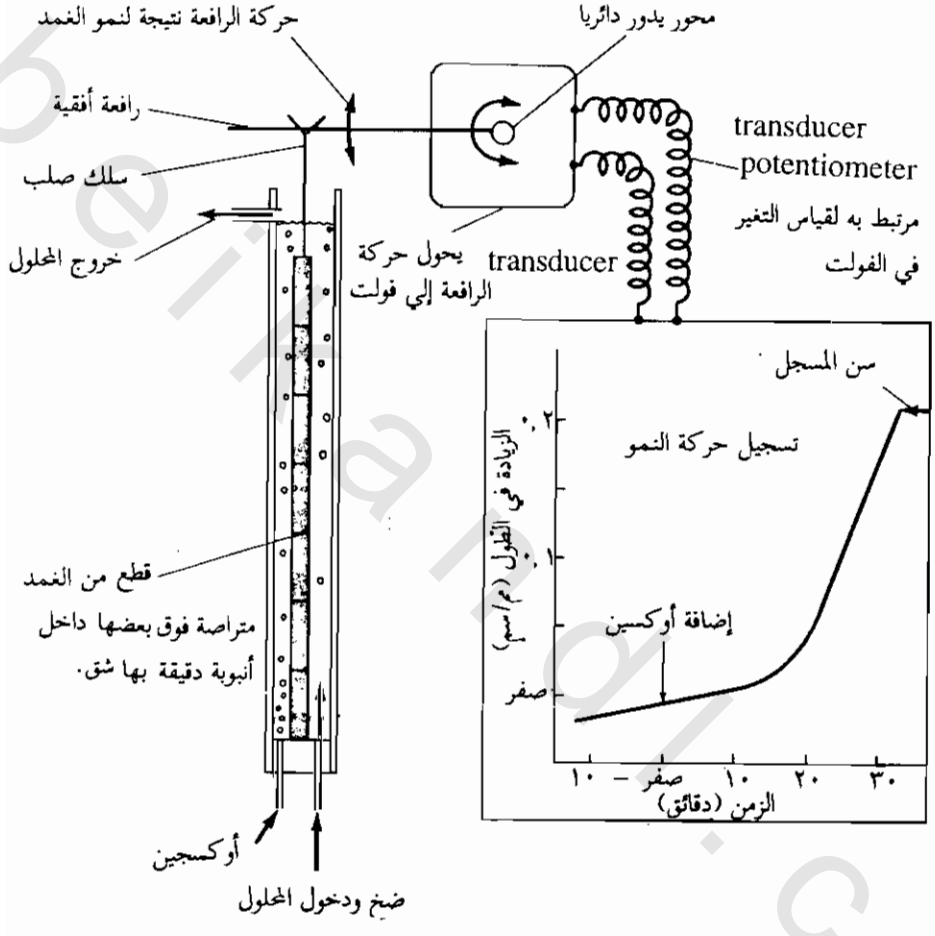
تعتبر مطاطة الخلية نتيجة لضغط الإنتفاخ أى ضغط الإمتلاء (كلاهما يستعمل بكثرة لوصف إمتلاء الخلية بالماء وضغطها على الجدار الخلوى فتسبب تمدده وإنتفاخ الخلية) هى نتيجة تمدد جدار الخلية وتعتبر هذه الحالة هى مطاطية أستيكية أى عكسية أى رجعية elastic or reversible extensibility ويحدث ذلك نتيجة لشد أو لفرد جزيئات السيليلوز غير البلورى وعند زوال ضغط إنتفاخ أى ضغط إمتلاء الخلية على الجدار يتم إرتخاء جزيئات السيليلوز مرة أخرى. وهكذا يحدث إنكماش لجدار الخلية ويقل إنتفاخ الخلية. يمكن أن يحدث ذلك مرات كثيرة فى عمر الخلية فى النبات نتيجة لتغير العلاقات المائية للخلية. مما سبق يتضح أن ضغط الإنتفاخ أى ضغط الإمتلاء ينتج عنه مطاطية أستيكية أى عكسية.

وقد وجد أن تأثير الأوكسينات على جدار الخلية هو من النوع البلاستيك أى مطاطية غير عكسية أى غير رجعية أى بلاستيكية plastic extensibility.

وقد ساد الإعتقاد بأن تكون الإستطالة نتيجة لنشاط أنزيم السيليوليز ولكن ثبت خطأ هذا الإستنتاج حيث أن الخلية تستطيل فعلاً قبل حدوث أى نشاط لأنزيم السيليوليز ويحدث ذلك النشاط لهذا الأنزيم بعد ساعة أو بعد ساعات قليلة من المعاملة بالأوكسين. ومن الثابت أن هذا الإنزيم له تأثير على عملية الاستطالة ولكن هذا التأثير فى مرحلة متأخرة من عملية استطالة الخلايا حيث يبدأ أولا استطالة للخلايا ثم يلى ذلك نشاط الإنزيم. ولقياس النمو الفعلى وبأسرع ما يمكن بعد إضافة الأوكسين فقد صمم جهاز لذلك كما فى الشكل (شكل ٥٩). وبهذا الجهاز يمكن دراسة التغيرات التى تطرأ على النمو الطولى مباشرة وفى حدود ثوانى من حدوث النمو. فقد وجد بواسطة هذا الجهاز أنه لا يوجد نمو محسوس بعد ١٠ ـ ١٥ دقيقة من إضافة الأوكسين وبعد ذلك تزداد سرعة النمو حتى أقصى سرعة بعد ٣٠ دقيقة ولذلك فإن أى تغيرات لا يمكن ملاحظتها فى حدود أقل من ساعة من زمن المعاملة لا يمكن أن تعتبر ضمن تأثير الأوكسينات على حدوث النمو وذلك على الأقل فى المرحلة الأولى.

وشرح هذا الجهاز هو عبارة عن أنبوبة اسطوانية يوجد لها سدادة من أسفل تخترق هذه السدادة أنبوبتين أحدهما لإدخال الأوكسجين والأخرى لإدخال محلول الأوكسين وبداخل هذه الأنبوبة توجد أنبوبة أخرى بها شق طولى ويوضع بداخلها أجزاء من أغماد مقطوعة مرتبه فوق بعضها والجزء الطرفى من الغمد يتصل بسلك وهذا السلك يتصل برافعة أفقية. وهذه الرافعة متصلة بجهاز transducer ليسجل حركة الرافعة ويحولها إلى فرق فى الجهد والفولت ولذلك يتصل هذا الـ transducer بـ potentiometric recorder ليسجل الإختلاف فى الجهد أو الفولت. يتم تسجيل ذلك بواسطة رسم منحنى على ورقة رسم بيانى بواسطة سن للريكوردر به مداد. ويتضح من رسم المنحنى وحيث أنه على المحور الصادى يوجد الزيادة فى النمو الطولى للأغماد بالمللى لكل سم من الغمد، والمحور الصادى الزمن بالدقائق بعد وضع الأوكسين. يتضح من المنحنى أنه بعد ١٠ دقائق إلى ١٥ دقيقة

من وضع الأوكسين فإنه لا يحدث زيادة محسوسة فى النمو أو الإستطالة ولكن بعد ذلك تزداد سرعة الإستطالة والنمو بدرجة كبيرة حتى تصل أقصى سرعة لها بعد ٣٠ دقيقة.



(شكل ٥٩) : جهاز لقياس التغيرات السريعة للنمو في غمد الريشة لنبات الشوفان نتيجة إضافة إندول حامض الخليك إلي محلول منظم عند درجة pH ٦,٥

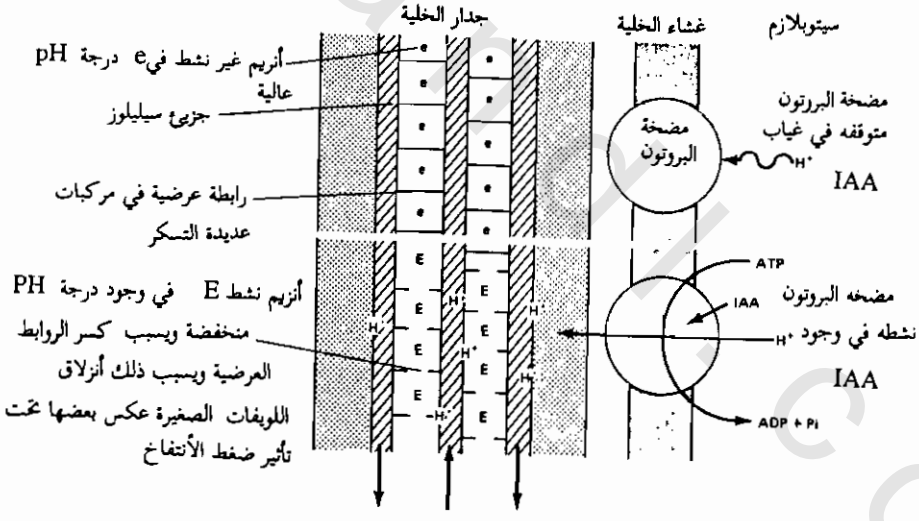
ماهى التغيرات التى تحدث فى هذا الوقت القصير نسبياً ليحدث إستطالة فى الخلايا؟

للإجابة على هذا السؤال لوحظت إحدى الظواهر وذلك فى الثلاثنيات، وقد أهملت طول هذه الفترة ولكن أعيد اكتشافها فى السبعينيات. وأن هذه الظاهرة هى أن البيئة الحامضية تساعد على استطالة الخلايا فإذا وضع قطع من الساق أو الغمد فى الجهاز السابق وأحيط بوسط حامضى فإن النمو يزداد وإذا عمل سلخ لبشرة هذه الأجزاء لتسهل دخول السائل الحامضى الموجود فى البيئة إلى الأجزاء النباتية وفى pH حوالى ٥,٠ فإن النمو يكون أسرع ما يمكن بإستطالة الخلايا. وإذا قتلت هذه الأجزاء النباتية واختبرت ميكانيكيا فى درجة قابليتها للاستطالة وذلك بشد طرفيها فإن الاستطالة تكون أسهل عند وجودها فى بيئة حامضية عند حوالى PH = ٣,٥ بينما تكون هذه الإستطالة أصعب فى بيئة فيها PH =٠٧,٠ ومن ذلك يتضح أن تأثير الحموضة على الخلايا لا يحتاج إلى خلايا نشطة ولكنها حالة مباشرة لتأثير أيونات الأيدروجين على مكونات جدار الخلية. أما العلاقة بين الحموضة والأوكسين فقد وجدت أنها علاقة واحدة حيث أن كلاهما يؤثر على إستطاله الخلايا ولكن وجد أن الحموضة تؤثر مباشرة على جدار الخلية بينما الأوكسين يؤثر على البروتوبلازم والأجزاء الحية فى الخلية وأن تأثير الحامض فى الإستطالة ينتهى بعد مدة وجيزة بينما تأثير الأوكسين على الإستطالة ينتهى بعد عدة ساعات على الأقل.

ويمكن شرح ذلك حيث وجد أن الأوكسين يجعل بيئة الجدار الخلوى حامضية وأن الحموضة تسبب بطريقة معينة فك السلاسل من بعضها للجدار وهذا الإستنتاج لا يفسر إستطالة الخلايا تماماً بل يفسر فقط الخطوات الأولى لأن الإستطالة تسبب رقة فى الجدار لذلك لابد من تخليق مركبات أخرى ليحافظ الجدار على سمكه، وهذه الحالة غير موجودة إذا استعمل الحامض فقط حيث أنه لا يسبب تخليق مركبات جديدة بل أن تخليق مركبات جديدة لابد أن يحدث فى وجود الأوكسين الذى يساعد فى ذلك.

ومن المعروف أن العناصر والسكريات والهورمونات وأيونات الأيدروجين تدفع إلى داخل الخلية وذلك بواسطة النقل النشط وقد وجد أيضا أن الجزء المسئول والذى

يعمل على ضخ أيونات الأيدروجين من داخل الخلية ودفعها إلى الخارج أى إلى جدار الخليه هو عبارة عن مضخة تتكون من البروتين موجوده فى غشاء الأكتوبلاست ولكن هذه العملية تحتاج إلى طاقة. تنتج هذه الطاقة من هدم أو تكسير ATP الذى يوجد فى الخلية إلى ADP ثم يتحرر المركب الأخير وفى الخلية يتحول مرة أخرى إلى ATP نتيجة لعمليات التحول الغذائى (شكل ٦٠). وأهمية الأوكسين هنا وهو IAA بالتحديد هو أنه يرتبط بهذه المضخة البروتينية ويعمل كمنشط لهذه المضخة البروتينية وفى عدم وجود الأوكسين فإن المضخة تتوقف عن العمل ويكون تأثيرها ضعيف أو معدوم. إرتباط IAA بالمضخه أو إنفصاله عنها وبحرية تامه وذلك تبعا لإحتياج الخليه. وهذه النظرية صحيحة حيث وجد أن غمر أجزاء الساق المسلوخة (أى التى نزعت بشرتها فقط) فى محلول لايوجد حولها بيئة حامضية إلا عند معاملتها بإندول حامض الخليك ولكن حتى الآن لم يتم الإجابة عن السؤال الآتى وهو.



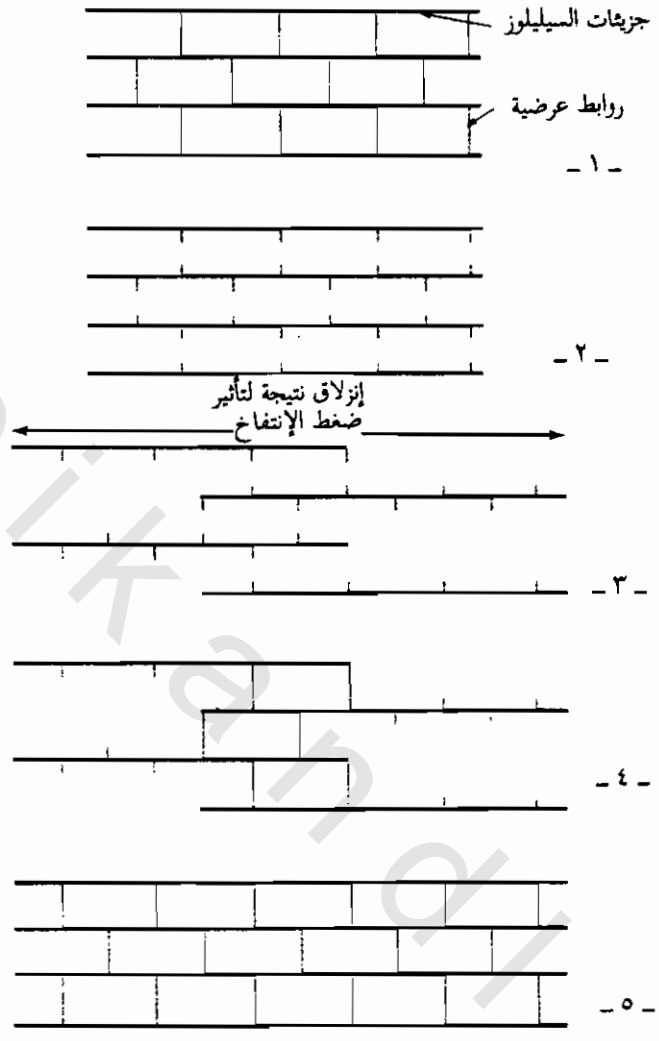
(شكل ٦٠) : نظرية مضخة البروتون proton pump توضح دور أندول حامض الخيك في مطاطية وأستطالة جدار الخلية.

ما السبب فى أن الحموضة تسبب إستطالة الخلايا ؟

من المعروف أن الجدار الخلوى يتكون أساساً من مركب السيليلوز وهو عبارة عن سلاسل طويلة من السيليلوز متصلة ببعضها بواسطة روابط عرضية عديدة التسكر polysaccharides وهذه الروابط تتكون أساساً من مركب هيميسيليلوز hemicellulose حيث أن هذا المركب عبارة عن خليط من سلاسل من السكريات مثل الجالكتوز والأرابينوز والزيلوز ولأن سلاسل السيليلوز مرتبطة ببعضها بهذه الروابط ولذلك فإن الجدار صلب. لكى يتمدد جدار الخلية وينمو فإنه لابد من كسر هذه الروابط لكى تنزلق كل سلسلة على الأخرى خلف خلاف ليحدث تمدد وإستطاله الجدار ثم تتكون جزيئات سيليلوز جديدة ثم تتكون الروابط مرة أخرى (شكل ٦١).

وقد اقترح لكسر الروابط أنزيم يعتمد على درجة pH يكسر هذه الروابط العرضية بين جزيئات السيليولوز ويكون هذا الأنزيم غير نشط فى pH من ٦ ـ ٧ ولكن أقصى نشاط يكون pH = ٥ ولذلك فإنه عند ضخ أيونات الأيدروجين بواسطة البروتين فى وجود الأوكسين من السيتوبلازم إلى الجدار ينشط الأنزيم ويكسر الروابط العرضية ونتيجة لوجود ضغط الإنتفاخ فى الخلية فإن سلاسل السيليلوز تكون حرة فى أن تنزلق خلف خلاف أى كل جزئ ينزلق فى اتجاه عكسى للجزيء الذى يليه وبذلك يحدث النمو وتستطيل الخلية ولكن للأسف حتى الآن لا نعرف شئ عن طبيعة هذا الأنزيم وهذا هو الجزء الإفتراضى الوحيد فى هذه النظرية (شكل ٦٠ و ٦١).

وجد أن إستطالة الخلايا تحدث لمدة صغيرة نتيجة لوجود الحموضة المناسبة أما فى وجود الأوكسين فإن الإستطالة تحدث لمدد طويلة أى عدة ساعات ولذلك ماهى المدة التى يمكن أن يحدث فيها عملية تنشيط إستطالة الخلايا بكفاءه فى وجود الأوكسين ؟



(شكل ٦١) : كيفية إستطالة جدار الخلية تحت تأثير الأوكسين.

١ ـ جدار خلوى عادى.

٢ ـ كسر الروابط العرضية فى الجدار.

٣ ـ تنزلق جزيئات السليلوز خلف خلاف على بعضها نتيجة لوجود ضغط الإنتفاخ.

٤ ـ تكوين الروابط العرضية مرة أخرى فى الأجزاء المتقابلة بعد الإنزلاق.

٥ ـ تخليق المركبات اللازمة لأكتمال تركيب الجدار وبحيث يصبح الجدار له نفس السمك ولكنه أكثر طولا.

وجد أنه عند معاملة الغمد بمادة مثبطة لتكوين البروتين مثل سيكلوهكسيميد cycloheximide عند معاملة الغمد أو أجزاء الساق بهذا المركب وبعد فترة طويلة نسبيا يضاف الأوكسين فإن الأخير ينشط نمو الخلايا وذلك بحدوث عملية ضخ الأيدروجين للجدار الخلوى لمدة حوالى ١٥ دقيقة وقد وجد أن المعاملة العكسية وهى المعاملة بالأوكسين للغمد وبعد زمن معين يوضع المركب المثبط لتكوين البروتين وهو cycloheximide وفقد وجد أيضا أن ذلك يحتاج إلى ١٥ دقيقة ومن ذلك يتضح أن كفاءة الأوكسين تستمر لمدة ١٥ دقيقة سواء عومل الغمد به قبل المعاملة بالسيكلوهكسيميد أو عومل الغمد به بعد المعاملة بالسيكلوهكسيميد. ومن ذلك يتضح أن توقف هذه العملية راجع إلى توقف مضخة البروتين الموجودة فى الغشاء البلازمى حيث أن المدة ١٥ دقيقة ثابتة فى كلا الحالتين. يتضح مما سبق أن المركب المثبط لتخليق البروتين وهو سيكلوهكسيميد يمنع تخليق بروتين جديد ولكنه لا يؤثر على البروتين الموجود فعلا ولذلك فإن دور الأوكسين فى هذه العملية يمتد لمدة ١٥ دقيقة حيث أنه ينشط بروتين المضخة لفترة وجيزة لمدة ١٥ دقيقة فقط وكان يمكن أن تزيد المدة عن ذلك. ويتضح من ذلك أيضاً أنه لكى تستمر عملية إستطالة الخلايا فلابد من وجود إستمرارية لتخليق البروتين والذى يتكون منه بروتين المضخة الموجود فى الغشاء البلازمى أى الإكتوبلاست وأيضاً باقى أنواع البروتين فى الخلية وأيضاً إستمرارية لتخليق إندول حامض الخليك. يتضح أيضاً أن حيوية مضخة البروتين فى الغشاء البلازمى تكون محدودة بمدة وجيزة وأنها تفسد وتحتاج إلى بروتين متجدد بإستمرار لكى تعمل المضخة على الوجه الأمثل فى ضخ أى نقل أيونات الأيدروجين فى عكس منحدرات التركيز من داخل الخلية إلى الخارج أى إلى الجدار. مما سبق يتضح أن عمر بروتين المضخة قصير حوالى ١٥ دقيقة وأن هذا البروتين متجدد بإستمرار لتكوين بروتين المضخة والدليل على ذلك أن منع تخليق بروتين جديد بواسطة المثبط منع عمل بروتين المضخة بعد فترة وجيزة يعنى ذلك أن بروتين المضخة قصير العمر والحيوية short - lived وحتى فى وجود الأوكسين.

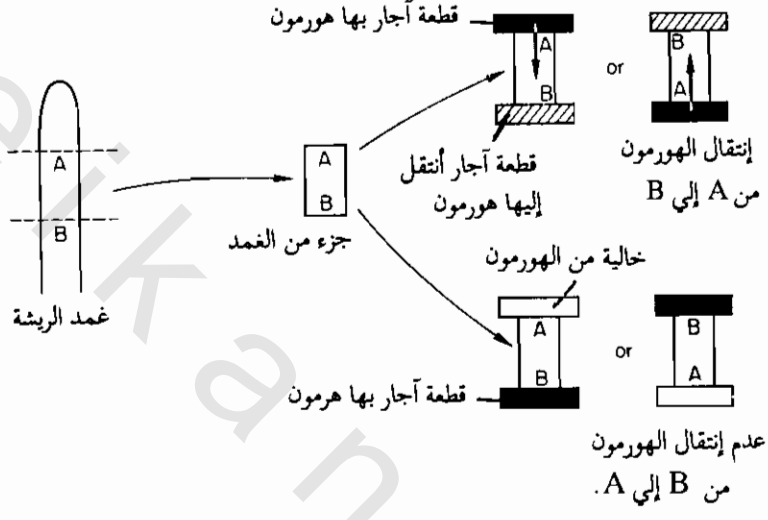
يمكن القول أيضاً أن الأوكسين له دور فى تنشيط الأنزيمات التى تشترك فى تخليق مركب السيليلوز وأن هذه الأنزيمات موجودة فى غشاء الخلية وفى أغشية حوصلات جهاز جولجى dictyosome vesicles. ولذلك فإنه فى حالة الخلايا التى تستطيل طوليا فلابد من وجود جزيئات سيليلوز جديدة لكى تملأ الأماكن الفارغة فى جدار الخلية وذلك لكى يحافظ جدار الخلية المتمدد أى النامى على سمكه. وإذا لم يحدث ذلك فإن الجدار المتمدد لدرجة كبيرة يمكن أن يتمزق وتصبح الخلية عديمه الجدار بالطبع لا يحدث ذلك فى الخلية حيث أنه تتكون وحدات جديدة لبناء الجدار والمحافظة على سمكه (شكل ٦١) وأيضاً لابد من تكوين جزئيات هيميسيليلوز جديده لتتكون الروابط العرضيه.

ولذلك يمكن القول أن الأوكسين أيضاً له دور فى تخليق مركبات جديدة ومنها جزيئات السيليلوز الجديدة التى ستحل محل الفراغات الموجودة فى الجدار الجديد الرقيق. كما وجد أيضاً للأوكسين تأثير فى تكوين أنواع معينة من RNA وأن هذه المركبات الأخيرة هامة فى تكوين البروتين اللازم للإنزيمات واللازم أيضاً لتكوين البروتينات الأخرى. ومن المعروف أن جزء كبير جداً من كل إنزيم عبارة عن بروتين، ولذلك فهو لازم أيضاً لتخليق البروتين الذى يتكون منه مضخة أيونات الأيدروجين الموجودة فى الغشاء البلازمى. يؤثر الأوكسين على زيادة وتنشيط تخليق البروتين وذلك بتنشيط تخليق mRNA فى النواه.

كيفية إنتقال إندول حامض الخليك:

من المعروف أن إنتقال الأوكسينات الطبيعية ومنها IAA هو إنتقال قطبى polar translocation. والإنتقال القطبى معناه إنتقال الأوكسين فى إتجاه واحد فقط وليس فى الاتجاه العكسى. ومن التجارب السابقة جميعها يتضح أن إنتقال الأوكسين قطبى من أعلى إلى أسفل فقط وليس فى الإتجاه العكسى وأن ذلك غير راجع للجاذبية الأرضية على الإطلاق بل هو نتيجة لعوامل فسيولوجية معقدة ويوجد لذلك نظريات ولكن من الثابت أن هذه العملية لها علاقة بعمليات التحول الغذائى الهوائية

aerobic metabolism وأيضاً لابد من وجود خلايا حية بها أغشية خلوية وعامة فإن النقل النشط active transport له دور فى هذه العملية (والنقل النشط معناه نقل الجزيئات أو الأيونات فى عكس منحدر تركيزها وذلك يحتاج إلى طاقة تستمد من التنفس ولذلك يسمى بالنقل النشط). وفيما يلى تجربة تثبت أن الإنتقال قطبى غير راجع للجاذبية الأرضية وذلك كما فى الرسم (شكل ٦٢).



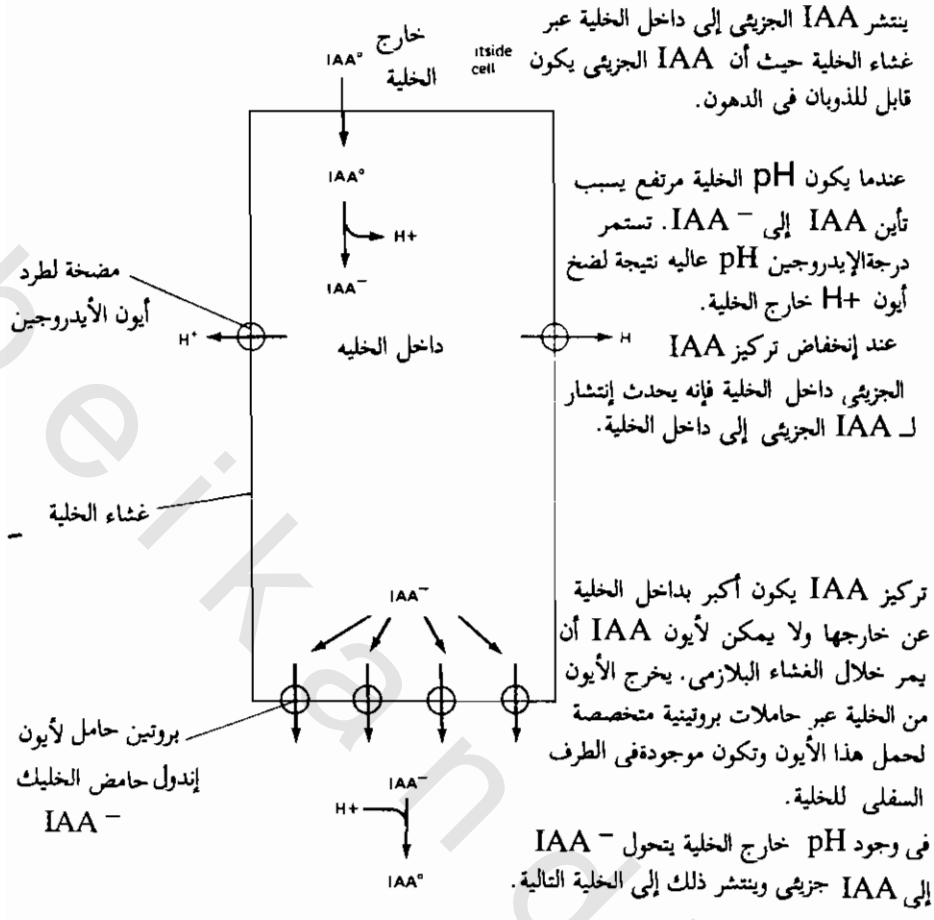
(شكل ٦٢) : القطبية في إنتقال أندول حامض الخليك .

يلاحظ أن الأوكسين ينتقل في إتجاه واحد من A إلي B وليست العكس دون تأثير للجاذبية الأرضية أو الإتجاه جزء الغمد .

ولإثبات ذلك أنه عند إزاله قمة الغمد وأخذ الجزء التحت طرفى subapical من الغمد وعند وضع هذا الجزء المقطوع بوضعه الطبيعى نعطى للجزء العلوى الحرف A والجزء السفلى الحرف B وبعد ذلك نستعمل مكعب من الآجار به IAA ففى الرسم العلوى يوجد حالتين عند وضع الآجار المحتوى على الأوكسين على الطرف A سواء هذا الجزء من الغمد فى وضعه العادى أو فى وضعه المقلوب فإن الأوكسين ينتقل فى كلا الحالتين من الطرف A إلى الطرف B دون أى تأثير للجاذبية الأرضية. وفى الحالتين الأخيرتين فى الجزء السفلى من الرسم عند وضع الآجار المحتوى على

الأوكسين على الطرف B وذلك فى الجزء من الغمد فى الوضع العادى أو فى الوضع المقلوب فإنه لن يحدث إنتشار للأوكسين من طبقة الآجار إلى طبقة الآجار الخالية منه وهاتين التجربتين تثبتا بما لا يدعو إلى الشك أن IAA وأيضا الأوكسينات الطبيعية تنتقل قطعياً فى إتجاه واحد من أعلى إلى أسفل فى الخلايا البارنشيمية والمرستيمية وليس فى الإتجاه العكسى مطلقاً ذلك غير راجع أو متأثر بالجاذبية الأرضية بل أنه نتيجة لعوامل فسيولوجية معقدة. هذا الإنتقال القطبى واضح فى الغمد والساق وبدرجة أقل فى أعناق الأوراق.

غير معروف بالضبط ميكانيكية الإنتقال القطبى للأوكسينات ولكن يمكن أن تشمل مايأتى. ينتشر الأوكسين من قاعدة خلية إلى قمة خلية ملاصقة لها أسفلها (شكل ٦٣) فى الخلايا البارنشيمية فى صورة جزيئات. وحيث أن سيتوبلازم الخلية متعادل تقريباً وأن الجدار الخلوى حامضى قليلاً فإن إندول حامض الخليك بداخل الخلية يصبح أيون يحمل شحنه سالبة نتيجة لخروج أيون أيدروجين موجب. ولذلك يتكون فرق أى منحدر إنتشار وينتشر إندول حامض الخليك الجزيئى من خارج الخلية إلى داخلها حيث أن تركيز هذا الأوكسين الجزيئى خارج الخلية أكبر من تركيزه داخل الخلية ويتبع ذلك قوانين الإنتشار العادية. إندول حامض الخليك الأيونى غير قابل للذوبان فى الدهون ولذلك لا ينتشر إلى خارج الخلية بينما يستمر إنسياب وإنتشار إندول حامض الخليك الجزيئى إلى داخل الخلية. يمكن نقل أيونات إندول حامض الخليك من داخل الخلية إلى خارجها وذلك بواسطة حوامل بروتينية متخصصة specific carrier proteins موجودة فى الغشاء البلازمى فى الجزء القاعدى من الخلية. حيث أن هذه الحوامل تلتقط إندول حامض الخليك الأيونى من داخل الخلية وتحملها عبر الغشاء البلازمى إلى خارج الخلية. وحيث أن تركيز الأوكسين الأيونى عال بداخل الخلية ومنخفض خارجها فإن الحامل البروتينى يعمل كممر turnstiles ينساب خلاله الأوكسين الأيونى من الداخل إلى الخارج إلى خلية أخرى سفلية حيث أن هذه حوامل البروتين إفتراضية (لم يثبت وجودها حتى



(شكل ٦٣) : تفسير الإنتقال القطبي للأوكسين.

الآن) توجد فى قاعدة الخلية فقط فإن الأوكسين ينساب من قمة الخلية إلى قاعدتها. تحتاج هذه العملية نقل نشط للمحافظة على pH معتدل للخلية وليست حامضى ولذلك فإن نقل أيونات الإيدروجين إلى خارج الخلية يحتاج إلى طاقة عالية تستمد من جزيئات ATP. فى pH خارج الخلية يتم تحول إندول حامض الخليك الأيونى خارج الخلية إلى إندول حامض الخليك جزيئى نتيجة إتحاد الأوكسين الأيونى مع أيون أيدروجين.

أما عن مكان إنتشار الأوكسين فى النبات فهو الخلايا البارنشيمية للقشرة أو النخاع كما ينتقل أيضا عن طريق الأنسجة الوعائية وفى اللحاء والكمبيوم على وجه التحديد حيث أن إنتقال الماء والذائبات يكون فى الخشب من أسفل إلى أعلى وذلك على العكس تماماً من إنتقال الأوكسين من أعلى إلى أسفل وعلاوة على ذلك فإن نسيج الخشب نسيج ميت لايوجد به أى تفاعلات حيوية أو حتى أغشية بلازمية وهى من لوازم هذا الإنتقال. لذلك لايمكن أن يكون نسيج الخشب هو المسئول عن إنتقال الأوكسين حيث أن الخشب نسيج ميت فإنه لا يتحكم فى الإنتقال ولذلك إذا كان الإنتقال عن طريق الخشب فيكون إنتقال الأوكسين فى إتجاهين وهذا خطأ. ولذلك فإنه يعتقد أن الإنتقال يحدث أيضا فى نسيج اللحاء وهو نسيج حى خلاياه حية بها تفاعلات غذائية هوائية تحدث فى ظروف هوائية وعلاوة على ذلك فإنه به أغشية خلوية كثيرة وفيه أيضاً ظاهرة النقل النشط موجودة وواضحة. الإنتقال القطبى واضح فى الساق وأيضا فى حاله الجذر سرعة إنتقال الأوكسين تصل ١ ـ ١,٥ سم/ساعة فى الساق وحوالى ١,. -٢,. سم/ساعة فى الجذر. إتجاه إنتقال الأوكسين فى الجذر من قاعدة إلى قمة الجذر عادة وبذلك يكون قطبى فى إتجاه القمه.

تركيز أندول حامض الخليك النشط فى النبات:

من المعروف أن حبوب النجيليات لا تحتوى على أوكسين حر وقد وجد أن معاملة هذه الحبوب بمركب قلوى يساعد على ظهور الأوكسين ولكن ما يحدث فى الإنبات يختلف عن ذلك ففى الحبة العادية يوجد إندول حامض الخليك على هيئة IAA-glycosides وهى عبارة عن مركبات تتكون من إتحاد إندول حامض الخليك مع سكريات أو مشتقاتها ولذلك فإنه عند الإنبات تنتقل هذه المركبات IAA-glycosides إلى القمة النامية لغمد الريشة ونتيجة تفاعلات أنزيمية فى هذه المنطقة يتحرر IAA ويظهر تأثيره كما سبق ذكره وشرحه فى تجارب الرواد الأوائل لاكتشاف الهرمونات النباتية ومن هنا يجب التنويه على أن مصدر IAA فى غمد

الريشة لنبات الشوفان وغيرها من النباتات النجيلية هو جليوكوسيدات إندول حامض الخليك الموجودة فى الحبة وإما قمة الغمد فإنها فعالة فى عمل تفاعلات إنزيمية لتحرر IAA وبذلك يتضح أن الهورمون الحر القابل للانتشار هو الفعال فى حدوث الإنتحاء.

وقد وجد أيضا أن أوكسين IAA وشأنه شأن المركبات الهرمونية الأخرى قد يوجد فى السيتوبلازم فى صورة حرة ولكن قد يوجد فى الفجوة العصارية فى حالة غير قابلة للحركة immobile حيث ثبت أنه فى بعض النباتات يوجد هذا المركب أيضاً علاوة على السيتوبلازم فى الفجوة العصارية ويكون من الصعب خروجه من الفجوة والاستفادة منه ولذلك فإن تقدير التركيز الكلى للهرمونات أو الأوكسينات غير هام لدراسة تأثيرها بالمقارنة إلى مكان وجود الأوكسين فى الخلية وهذا ما يطلق عليه compartmentlization أى مكان وجود الأوكسين، ولذلك فإن استخلاص الأوكسينات بطريقة المذيبات العضوية يعمل على استخلاص الأوكسين الكلى وقد يكون هذا التركيز الكلى مضلل إذا لم يؤخذ فى الاعتبار مكان وجود هذا الأوكسين فى أجزاء الخلية المختلفة.

ولذلك فإن تركيز الأوكسين فى نسيج معين من النبات يتوقف على عدة عوامل وهى كما يأتى:

١ ـ سرعة وكمية تخليق الأوكسين فى القمم النامية أو المناطق الميريستيمية.

٢ ـ سرعة إنتقال وكمية إنتقال الأوكسين إلى المكان المحدد.

٣ ـ حالة وجود الأوكسين ومدى وجود وحدوث حالة compartmentlization.

٤ ـ مدى كفاءة ونشاط الإنزيمات المحللة لـ IAA.

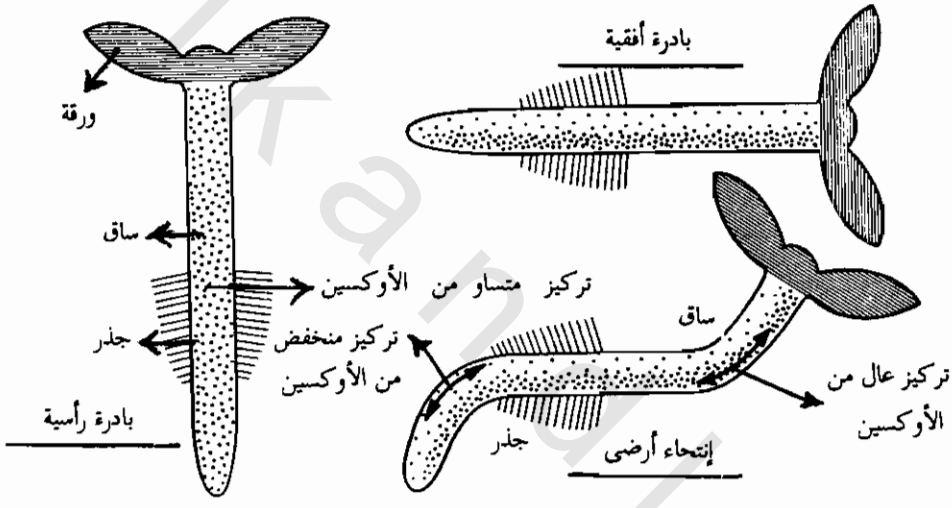
٥ ـ مدى وكفاءة وسرعة حدوث عمليات إزالة السمية detoxification reactions.

وعامة فإنه من المعروف أن تركيز الهرمونات يكون عالى فى القمم النامية للساق والفروع والمناطق القريبة منها ويقل تركيزه كلما ابتعدنا عن هذه المناطق ويكون

للجذر حالة خاصة حيث أن الأوكسين ينتقل من الساق إلى الجذر ولذلك يكون تركيز الأوكسين مرتفع فى قاعدة الجذر ويقل تركيزه كلما إتجهنا إلى القمم النامية للجذر أى حالة عكسية للساق.

الإنتحاء الأرضى Geotropism :

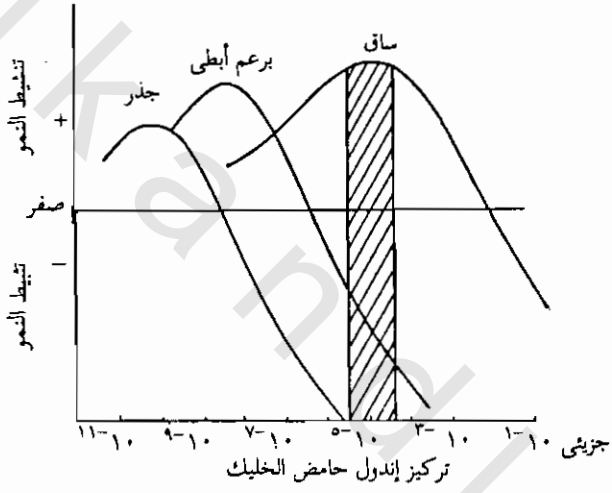
عند إنبات البذور أياً كان وضعها فى التربة فنجد دائماً أن الجذير ينمو إلى أسفل أى ينتحى إنتحاء أرضى موجب وأن الريشة تنمو إلى أعلى أى تنتحى إنتحاء أرضى سالب (شكل ٦٤) والسبب فى ذلك هو الهورمونات وعلى وجه الخصوص الأوكسينات.



(شكل ٦٤) : إنتحاء أرضي موجب للجذر وسالب للساق.

من المعروف أنه بازدياد تركيز الأوكسين تزداد سرعة النمو وسرعة استطالة الخلايا وذلك حتى تركيز معين هو التركيز الأمثل للأوكسين وهو التركيز الذى يكون فيه سرعة النمو أسرع ما يمكن وإذا زاد التركيز عن هذا الحد فإن سرعة النمو تقل وبزيادة التركيز عن حد معين يسبب تثبيط وضرر للجزء النباتى الموجود فيه وهذه القاعدة عامة وتنطبق على الجذور والسيقان والبراعم الزهرية ولكن من المعروف أن التركيزات اللازمة لتنشيط الساق هى أكبر بكثير من التركيزات اللازمة

لنمو الجذر بمعنى أنه عند تركيز ١٠-٧ جزيئ من IAA فإن هذا التركيز يحدث تنشيط لانسجة الساق وتثبيط لانسجة الجذر وذلك كما يتضح من المنحنى (شكل ٦٥) وقد أجريت هذه التجارب على أغماد ريشة مقطوعة أو على أجزاء سيقان تحت طرفية مقطوعة. ومن المعروف أن الأوكسين يتكون فى القمة النامية للساق وينتقل إلى القمة النامية للجذر وفى الساق ينتقل الأوكسين من القمة النامية إلى منطقة الإستطالة وفى الجذر تحتوى منطقة الإستطالة على أوكسين. فى منطقة الإستطالة فى الساق يكون تركيز الأوكسين أقل من الأمثل أما فى حالة الجذر فيكون تركيز الأوكسين أكثر من الأمثل. وعند وضح البادرة أفقيا أو حتى مائلة فإن



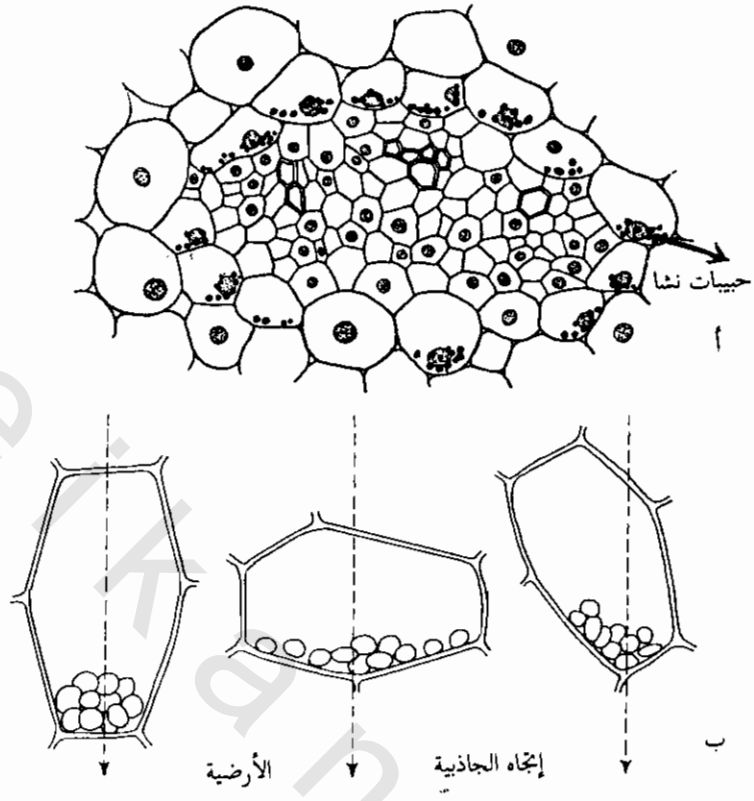
(شكل ٦٥) : تأثير تركيز إندول حامض الخليك على نمو الأجزاء المختلفة للنبات.

الجزء المشرط عبارة عن التركيز الأمثل لنمو الساق.

الأوكسين ينتقل من الجزء العلوى لمنطقة الإستطالة إلى الجزء السفلى لمنطقة الإستطالة وذلك نتيجة لعوامل فسيولوجية معقدة كنتيجة مباشرة للجاذبية الأرضية وتفسير ذلك غير معروف حتى الآن بالضبط وبوجد لذلك نظريات أهمها نظرية حبيبات النشا وتسمى بالـ statoliths theory ولو أن هذه النظرية هى من أكثر النظريات قبولاً إلا أنها لا تفسر الحالة بالتفصيل. وفحوى هذه النظرية أن أنواع خاصة

من حبيبات النشا تسمى statoliths تعتبر فعالة فى حساسيتها للجاذبية الأرضية. حيث أن حبيبات النشا تسقط أو تنتقل من الجزء العلوى إلى الجزء السفلى للخلية وتستقر على الجدار السفلى للخلية. وعند عمل دوران لهذه الخلايا وبحيث يصبح الجدار العلوى سفلى وأيضاً الجدار السفلى علوى فإنه فى هذه الأثناء تتجمع هذه الحبيبات على الجزء السفلى من الخلية بإستمرار وفى النهاية تستقر على الجزء السفلى من الخلية مرة أخرى (شكلى ٦٦ و ٦٧)، وجد أن هذه الحبيبات توجد فى الخلايا الحساسة لإستقبال الجاذبية الأرضية وهى خلايا القلنسوه للجذور وذلك فى نباتات كثيرة منها الذرة الشامية. وجد أن إحتكاك هذه الحبيبات من النشا بالجدار السفلى لخلية النبات قد يساعد على سهولة نفاذية الغشاء البلازمى لهذه الخلايا للأوكسينات. ولكن كيف ينتقل الإحساس بذلك أى بالجاذبية الأرضية من خلايا القلنسوه إلى منطقة الإستطالة للجذر فيوجد لذلك نظريتين أحدهما أن إنتقال حبيبات النشا على الجزء السفلى للخلية فى القلنسوه يولد إختلاف فى الجهد الكهربائى على جهتى منطقة الإستطالة فى الجذر bioelectric potentials قدره ٣٠ مللى فولت ويسبب ذلك إنتقال الأوكسين من أعلى إلى أسفل تبعا لإختلاف الجهد الكهربائى.

والنظرية الثانية وهى الأكثر قبولا أن هذه الخلايا من نسيج القلنسوه تفرز مركب مثبط لخلايا الجذر ينتشر فى الجزء السفلى من الجذر فى منطقة الإستطالة ويسبب تثبيط سرعة إستطالة الخلايا فى هذا الجزء ويعتقد أن ذلك المركب هو حامض الأبسيسك ومما يدعم أهمية القلنسوه فى إنتحاء الجذور الأرضى أن إزالة النصف الطولى للقلنسوه يسبب إنحناء للجذر فى إتجاه الجزء المتبقى من القلنسوه . ولكن لازال على هذه النظرية إعتراضات كثيرة وأهم هذه المآخذ أن الجذور الهوائية للأوركيد ليليا *Laelia* لا يتكون بها حبيبات نشا على الإطلاق وبالرغم من ذلك فإن لها إنتحاء أرضى موجب.

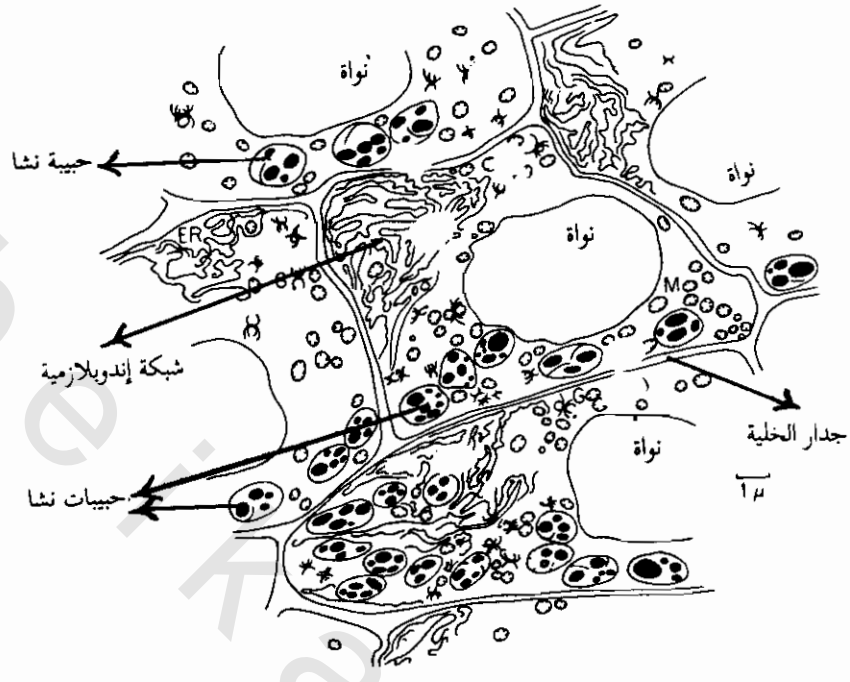


(شكل ٦٦) : تأثير الجاذبية الأرضية على حركة حبيبات النشا فى خلية نبات.

أ ـ جزء من قطاع عرضى فى فلقه البصل يوضح وجود حبيبات النشا فى الجزء السفلى من خلايا تحيط بنسيج وعائى.

ب ـ تأثير الجاذبية الأرضية على حركة حبيبات النشا فى خلايا نبات.

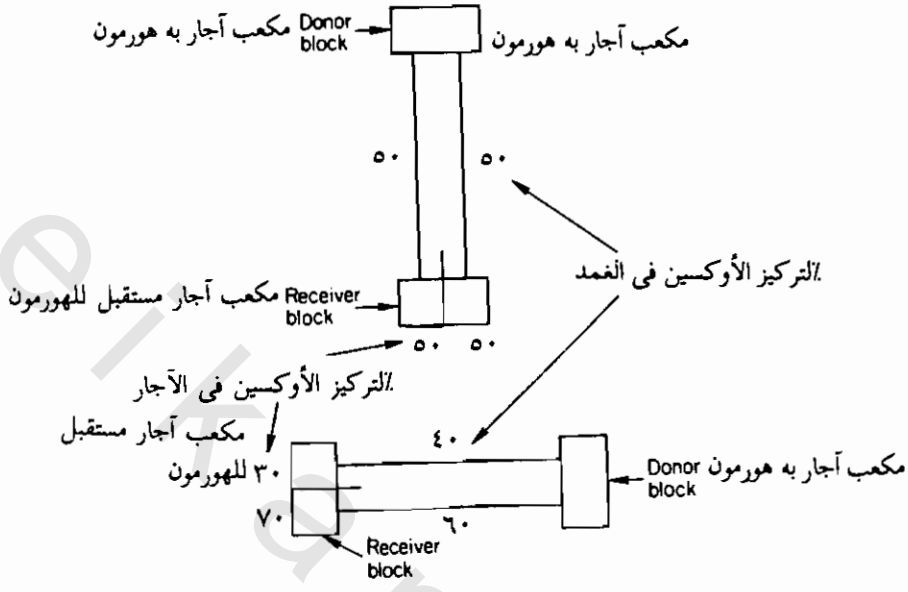
مما سبق نجد دائما أن الجزء السفلى من منطقة الإستطالة يحتوى على تركيز أعلى من الجزء العلوى. ومما يثبت ذلك التجربة التى أجريت على غمد الريشة لنبات الذرة فعند وضع كمية من الأوكسين فى الآجار ولتكن ١٠٠ ٪ ثم وضع الآجار على قمة الغمد المقطوع وعند استقبال هذا الأوكسين فى الآجار الموجود تحت الجزء السفلى فوجد أن النصف الأيمن من الآجار يحتوى على ٥٠ ٪ والنصف الأيسر يحتوى على ٥٠ ٪ من الأوكسين المستعمل فى بداية التجربة وعند وضع



(شكل ٦٧) : قطاع في جذر فول يوضح تحرك حبيبات النشا إلي الجزء السفلي من الخلايا.

هذا الجزء من الغمد فى حالة أفقية وتكرار ما سبق فقد وجد أن الجزء السفلى للآجار المستقبل يحتوى على ٧٠٪ والجزء العلوى يحتوى على ٣٠٪ (شكل ٦٨) وقد أمكن إثبات ذلك أيضا بواسطة IAA مشع. وفى حالة الساق نجد أن تركيز الأوكسين فى الجزء السفلى من منطقة الاستطالة قريب من التركيز الأمثل بينما الجزء العلوى من منطقة الإستطالة للساق يكون التركيز فيها أقل من الأمثل بكثير ونتيجة لذلك ينمو الجزء السفلى أسرع من الجزء العلوى ونتيجة لذلك يحدث إنحناء ويتجه الساق فى نموه إلى أعلى أى ينتحى إنتحاء أرضى سالب. ويتضح أن إنحناء الساق هنا ليس له علاقة بالضوء وليست للضوء أى ميكانيكية للتأثير. أما فى حالة الجذر فإن الجزء السفلى من منطقة الإستطالة يزيد عن التركيز الأمثل بكثير والجزء العلوى يكون قريب من الأمثل فينمو الجزء العلوى أسرع من الجزء السفلى ونتيجة لذلك ينحنى الجذير إلى أسفل وينتحى إنتحاء أرضى موجب إلا أنه فى

النظريات الحديثة الآن علاوة على ذلك يعتقد أن لحامض الأبسيسيك دور فى هذه الحالة حيث يوجد أيضا هذا الحامض بتركيز كبير على الجزء السفلى من الجذر. يعتبر هذا الحامض مثبط لنمو للخلايا.

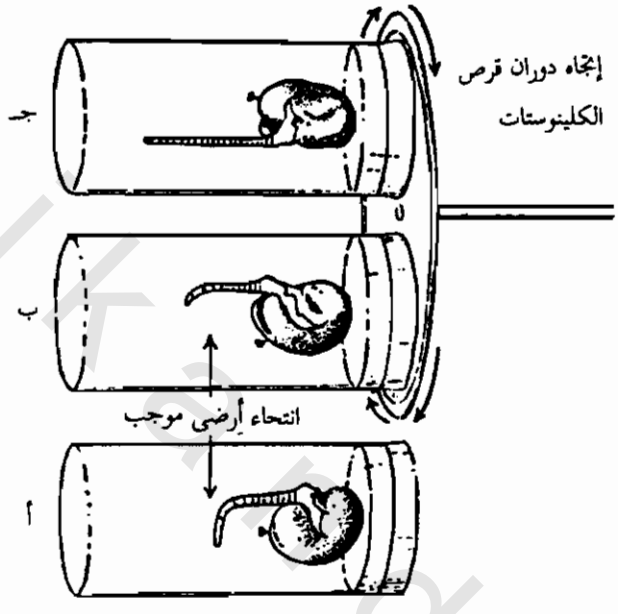


(شكل ٦٨) : التأثير الواضح للجاذبية الأرضية على إنتقال الأوكسين إلى الجزء السفلى من غمد الريشة النامى أفقيا أو الموضوع أفقيا.

وجد بإستعمال طرق radio-immunoassay أن تركيزات IAA و GA و ABA إختلفت فى الجزئين العلوى والسفلى من السويقة الجنينية السفلى لبادرة عباد الشمس الأفقية وذلك فى حدود ساعتين بعد وضعها أفقيا. يلاحظ أيضاً أن هذا الزمن كاف لحدوث الإستجابة لتأثير الجاذبية الأرضية gravitropic-response.

وإذا منعنا الإختلاف فى تركيز الهرمونات على جانبى منطقة الإستطالة فى كل من الساق والجذر بحيث أن يكون تركيز الأوكسين فى أي جزء من منطقة الإستطالة للساق هو تركيز موحد وأيضاً بالنسبة للجذر فإن كل من الساق والجذر سينمو نمواً أفقياً ولن يحدث له أى إنتحاء ويمكن إثبات ذلك بواسطة جهاز الكلينوستات klinostat.

والفكرة فى الجهاز أنه يتكون من قرص فللينى ويثبت على هذا القرص بواسطة دبوس بادرة ملفوفة بجزء من قطن مبلل وأن هذا القرص له غطاء بلاستيك ومتصل بموتور كهربائى والموتور وظيفته هو عمل دوران للقرص بسرعة منتظمة فى اتجاه واحد وذلك يمنع الإختلاف فى تركيز الهرمونات فى منطقة الإستطالة وبالفعل ينمو كل من الجذر والساق أفقياً (شكل ٦٩).



(شكل ٦٩) : رسم يوضح تأثير دوران النبات بانتظام فى وضع أفقى على الانتحاء الأرضى فى جذور الفول.

أ ـ بادرة ثبتت أفقيا دون دوران فانتحى الجذر أرضيا.

ب ـ بادرة ثبتت أفقيا دون دوران فانتحى الجذر فى فترة من الزمن ثم وضعت على كلينوستات لتدور، فانتحى الجذر أرضيا.

جـ ـ بادرة ثبتت أفقيا على كلينوستات لتدور باستمرار فلا ينتحى الجذر ويستمر فى النمو أفقيا.

يحتاج الإحساس بالجاذبية الأرضية إلى وقت معين. تسمى أقل فترة لازمة لكى يحدث الإنتحاء الأرضى بإسم فترة التعريض presentation time. تختلف فترة التعريض بإختلاف النبات فقد تكون الفترة قصيرة بضع دقائق كما فى كثير من الحالات ولكن فى حالات أخرى تحتاج إلى فترات أطول.

وحديثاً وباستعمال الأقمار الصناعية وعند إجراء التجارب على حيوانات التجارب وغيرها ومنها الانسان فقد استعملت أيضا النباتات لاجراء التجارب عليها وجد أنه عند خروج الأقمار الصناعية من مجال الجاذبية الأرضيةوفى اتجاهها إلى الأقمار المختلفة أنه يحدث نمو للبذور والحبوب ولكن نجد أنه لايوجد اتجاه معين لنمو الجذور أو السيقان كما هو الحال على الكرة الأرضية حيث وجد أن الجذور والسيقان فى هذه الحالة تتجه فى أى اتجاهات وليست فى اتجاه معين. ولذلك فى الحالة الأخيرة وحيث أن اتجاه الهرمون من أعلى إلى أسفل فى منطقة الإستطالة هو نتيجة لعمليات فسيولوجية معقدة نتيجة تأثير الجاذبية الأرضية وبذلك يكون للجاذبيه الأرضيه تأثير فعال واضح فى حدوث عملية الإنتحاء الأرضى الموجب والسالب. ينمو الجذر الأصلى أو الوتدى مواز لاتجاه الجاذبية الأرضية ويسمى ذلك إنتحاء orthogeotropic وقد ينمو الجذر بميل كما فى الجذور الثانوية والجانبية ويسمى ذلك إنتحاء أرضى plagiogeotropic وتنمو السوق الجارية والريزومات أفقياً أى عمودى على الجاذبية الأرضية ويسمى إنتحاء أرضى diageotropic.

من المعروف أن الجزء من الجذر الذى يستقبل الإحساس بالجاذبية الأرضية هو قلنسوة الجذر root cap وقد وجد أنه بإزالة قلنسوة الجذر فإنه لا يحدث إنتحاء أرضى. ويستمر ذلك فترة من الزمن طويلة أو قصيرة حتى يتمكن الجذر مرة أخرى من تكوين قلنسوة جديدة. ومن ذلك يتضح أن القلنسوة وكما سبق ذكره تفيد فى حماية الجذر أثناء نموه بين حبيبات التربة وتستعمل كغطاء واقى لقمة الجذر الرهيفة وبذلك تساعدها على اختراق التربة دون تأثير ضار عليها. ولكن من المعروف أيضا وكما سبق ذكره أن قلنسوة الجذر هى التى تستقبل الحساسية للجاذبية الأرضية وهى المسئولة عن إظهار تأثير الجاذبية الأرضية فى حدوث الإنتحاء الأرضى للجذر وأن غياب القلنسوه يفقد الجذر حساسيته للإنتحاء الأرضى.

وجد أيضا أن التحول الغذائى فى الخلايا ذات النشا statocytes و المناطق المحيطة بها يختلف فى سرعته فى الجزء العلوى عن الجزء السفلى فى عقد نبات القمح

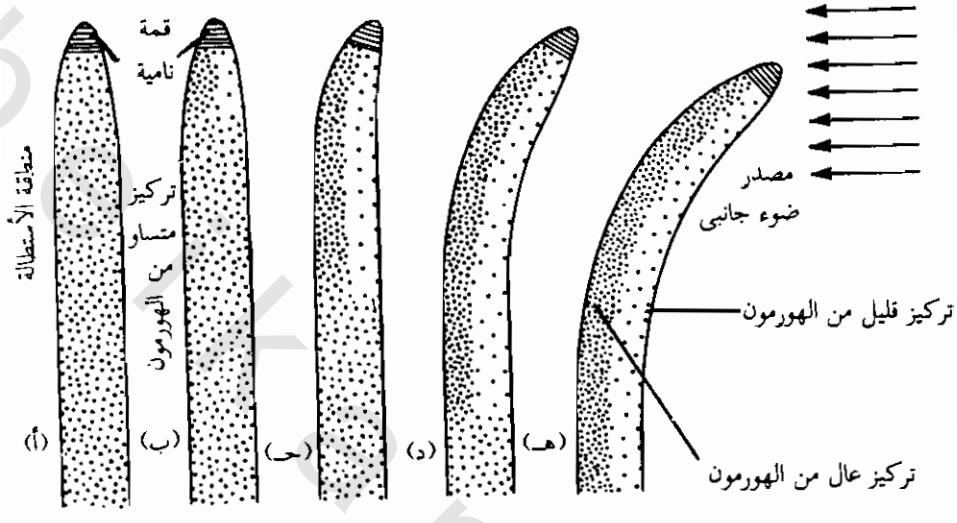
الأفقى حيث أتضح أن للجاذبية الأرضية تأثير على بعض الإنزيمات وعلى الأقل إنزيم واحد حيث وجد أن تركيز السكريات المختزلة فى النصف السفلى من العقدة الأفقية أعلى ٣ إلى ٤ مرات من النصف العلوى يدل ذلك على حدوث تحلل للسكروز بواسطة إنزيم السكريز (أنفرتيز) بدرجة أكبر فى الجزء السفلى عنه فى الجزء العلوى. وجد أيضا أن المستخلصات من النصف السفلى تحتوى على تركيز عال من هذا الأنزيم بالمقارنة بالنصف العلوى. ويعتبر ذلك أتجاه جديد فى تفسير الأنتحاء الأرضى حيث يعتقد أن الجاذبية الأرضية تؤثر على تخليق أو نشاط أو تحرر الأنزيم ويكون له دور فى حدوث الإنتحاء الأرضى. أيضاً يمكن أن يكون للإنزيمات التى لها دور فى طرد البروتون خلال الغشاء البلازمى الإكتوبلاست. proton extrusion through plasmalemma لها دور فى الإنتحاء الأرضى. أى يكون دور الجاذبية الأرضية فى الإنتحاء عن طريق هذه الأنزيمات أيضاً ولكن لازال هذا الإستنتاج يحتاج إلى دراسات كثيفة.

الإنتحاء الضوئى Phototropism :

وهو تفسير بعض تجارب الرواد الأوائل فى اكتشاف الهرمونات النباتية أى الأوكسينات.

فى حالة وجود إضاءة متساوية أو ظلام فإن نمو غمد الريشة لنبات الشوفان أو الساق يكون نمو رأسى ولا يوجد فيه أى إنحناء. ولكن عند تعريض الأجزاء السابقة لمصدر ضوئى من جهة واحدة unilateral light نجد أن الغمد أو الساق ينحنى ويتجه فى نموه ناحية مصدر الضوء، وهذا ما يسمى بالانتحاء الموجب positive phototropism ويحدث هذا الإنتحاء نتيجة لإختلاف فى تركيز الأوكسينات على جانبى الساق فنجد أن جزء من الساق المواجه للضوء يحتوى على تركيز ضئيل من الأوكسينات بينما الجزء البعيد عن الضوء يحتوى على تركيز كبير أو أمثل (شكل ٧٠) ونتيجة لذلك يحدث إختلاف فى سرعة نمو كل من جزئى الساق أو الغمد حيث نجد أن سرعة نمو الجزء البعيد عن الضوء أسرع بكثير من سرعة نمو الجزء

المواجه للضوء ونتيجة لذلك يحدث الإنحناء فى إتجاه مصدر الضوء. وقد إختلفت التفسيرات لتفسير إختلاف تركيز الأوكسينات على جانبى الساق أو الغمد فى حالة وجود مصدر ضوئى جانبى. وتوجد لذلك نظريات كثيرة أهمها:



(شكل ٧٠) : إنتحاء ضوئى موجب للساق أو غمد الريشة.

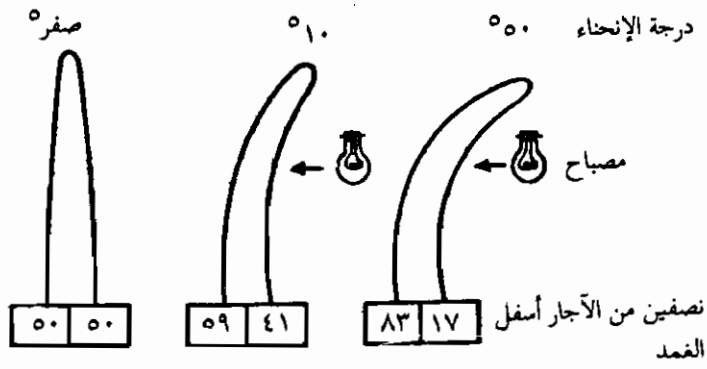
١ ـ أن الأوكسين يفسد فى الجزء المواجه للضوء بينما يكون بحالة نشطة فى الجزء البعيد عن الضوء. ومما يدعم هذه النظرية أنه من المعروف أن مركب IAA حساس للضوء وفى وجوده فى الإضاءة لمدة طويلة يتسبب فساده وتوقف فاعليته.

٢ ـ أما عن النظرية الثانية فإنها تعتقد أن الهرمون ينتقل من الجزء القريب من الضوء إلى الجزء البعيد عن الضوء. وهى النظرية الأكثر قبولا فى الوقت الحاضر.

٣ ـ وأن النظرية الثالثة تفترض أن الجزء من القمة النامية القريب من الضوء غير قادر على تخليق الأوكسين أما الجزء من القمة النامية البعيد عن الضوء وهو القادر على تخليق الأوكسين.

عند معاملة قمة غمد الريشة للذرة بواسطة إندول حامض خليك مشع ^{14}C-IAA ثم شق الجزء القاعدى من الغمد طولياً لمسافة ١ مم ثم وضع الغمد على طبقة آجار. ثم تعريض الغمد لضوء من ناحية واحدة ويتم تجميع الأوكسين المشع فى الآجار فنجد أن التركيز فى الآجار المواجه للضوء هو ٢٥٪ بينما التركيز فى الآجار البعيد عن الضوء هو ٧٥٪ كما أن كمية الأوكسين المشع فى الآجار لم تتأثر حيث أنها نفس الكمية المعامل بها الغمد وذلك دليل على أن إختلاف التركيز غير راجع إلى فساد الأوكسين بل نتيجة لإختلاف فى تركيز الأوكسين فى نصفى الغمد. وذلك يعضد صحة النظرية الثانية.

ولإثبات أن تركيز الأوكسين يكون أعلى فى الجانب البعيد عنه فى الجانب المواجه للضوء وذلك فى غمد الريشة لنبات الشوفان فإنه عند تعريض الغمد لإضاءة متساوية أو إضاءة من جانب واحد وجمع الأوكسين المنتقل من القمة إلى منطقة الإستطالة فى مكعب للآجار أسفل الغمد المقطوع فنجد أن تركيز الأوكسين على ناحيتى الغمد فى حالة الإضاءة المتساوية يكون متساوٍ حيث أن تركيز الأوكسين يكون متساوٍ فى ناحيتى قطعة الآجار. أما فى حالة الإضاءة من جانب واحد فإن درجة إنحناء الغمد تزداد بإزدياد مدة التعريض للإضاءة الجانبية وقد وجد إختلاف فى تركيز الأوكسين على جانبى الغمد حيث يزداد تركيزة فى الجانب البعيد من الضوء بالمقارنة بتركيزه فى الجانب المواجه للضوء ويتضح ذلك من تركيز الأوكسين على جهتى مكعب الآجار. حيث أنه فى حاله ميل أو إنحناء قمة الغمد بزاوية قدرها عشر درجات فإن الأوكسين إختلف تركيزه حيث أصبح ٥٩٪ فى الجانب البعيد و٤١٪ فى الجانب القريب من الضوء وفى حالة ميل قمة الغمد بزاوية قدرها خمسون درجة فإن تركيز الأوكسين يكون ٨٣٪ فى الجانب البعيد و١٧٪ فى الجانب المواجه للضوء (شكل ٧١).

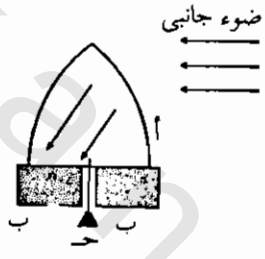


(شكل ٧١) : التغيير فى تركيز الأوكسين على جانبى الغمد لنبات الشوفان عند تعريضه لإضاءة جانبية.

أما عن النظريات المختلفة لتفسير ذلك فإن لكل نظرية ما يؤيدها وأيضاً عليها مآخذ. ففى حالة النظرية الأولى فإنه من المعروف أن الريبوفلافين يسبب فساد إندول حامض الخليك فى التجارب المعملية فى أنابيب الإختبار *in vitro* عند تعريضه للضوء. وحيث وجد أن الريبوفلافين يسبب تثبيط نمو بادرات البنسلة فى الضوء فقط وليس له أى تأثير فى الظلام.

أما فى النظرية الثانية وهى الأكثر قبولا فقد ثبت حدوثها فى كثير من التجارب ومنها ما يأتى. تجربة فنت Went عام ١٩٢٨ حيث أزال القمة النامية لغمد الريشة لنبات الشوفان (الزمير) بعد تعريضها لأضاءة من جانب واحد لفترة كافية. وضع هذه القمة على مكعبين آجار يفصلهما لوح معدنى رقيق ثم أختبر كل مكعب على حده بإستخدام طريقة غمد الريشة لنبات الشوفان وقد أتضح أن المكعب الملاصق للجزء المواجه للضوء يحتوى على تركيز أقل من الأوكسين بالمقارنة بتركيز الأوكسين فى مكعب الآجار الملاصق للجزء البعيد عن الضوء (شكل ٧٢) وأيضاً إن هجرة وإنتقال الأوكسين من جانب الغمد المواجه للضوء أعلى منه فى الجزء البعيد عن الضوء. وقد أستنتج فنت أن الإضاءة من جانب واحد تسبب هجرة جزء من الأوكسينات من الجانب المواجه للضوء إلى الجانب البعيد عن الضوء فى غمد

الريشة. تمكن Boysen - Jensen من إثبات هذه النتيجة ولكن بطريقة أخرى حيث أنه قام بعمل شق طولى فى قمة غمد الريشة لنبات الشوفان ووضع فى الشق لوح زجاجى رقيق ثم قام بتعريض الغمد إلى إضاءة من جانب واحد وذلك فى معاملتين. فى المعاملة الأولى يكون الضوء مواز للوح الزجاجى فيحدث إنتحاء ضوئى وفى المعاملة الثانية يكون الضوء عمودى على اللوح الزجاجى فلم يحدث إنتحاء ضوئى للغمد وأستنتج من هذه التجربة أن الأوكسين ينتقل من الجانب المواجه للضوء إلى الجانب البعيد للضوء ومما يثبت ذلك حدوث الإنتحاء فى المعاملة الأولى وعدم حدوث الإنتحاء فى المعاملة الثانية حيث أن اللوح الزجاجى منع إنتقال الأوكسين من الجانب المواجه للضوء إلى الجانب البعيد عن الضوء فى الحاله الثانيه ولم يؤثر على إنتقاله فى الحاله الأولى. وبذلك أثبت نفس النتيجة التى أثبتها فنت.



(شكل ٧٢) : تأثير الإضاءة الجانبية علي إنتقال الأوكسين في قمة غمد الريشة لنبات الشوفان.
ـ تشير الأسهم داخل قمة الغمد إلي إتجاه إنتشار الأوكسين.
أ ـ قمة الغمد.
ب ـ قطعتين من الآجار.
حـ ـ رقيقة من المعدن.

أما النظرية الثالثة فإنها غير مقبولة حيث أنه من الثابت أن الضوء يشجع التخليق الحيوى biosynthesis للأوكسينات وخاصة أن إزالة القمة النامية لغمد الريشة لنبات الشوفان وإحلال مكعب آجار به أوكسين مكان القمة النامية فإن الإنتحاء الضوئى الموجب للغمد يتم حدوثه تماماً كما فى حالة وجود الغمد.

أما عن مدة التعريض للإضاءة الجانبية اللازمة لحدوث الإنتحاء الضوئى الموجب فقد أثبت بلاو Blaauw فى بداية القرن العشرين أن هذه المدة وجيزة. وحيث أن

الإضاءة نتيجة لشدة الإضاءة ومدة الإضاءة فإنه فى حالة شدة إضاءة مرتفعة تكون مدة الإضاءة قصيرة والعكس صحيح. وقد وجد أن شدة إضاءة قدرها ٠,٠٠٠١٧ متر/ شمعة لمدة ٤٣ ساعة لازمة لحدوث إنتحاء ضوئى موجب لغمد الريشة لنبات الشوفان والعكس صحيح فى حالة شدة إضاءة قدرها ٢٦٥٢٠ متر/شمعة لمدة ٠,٠٠١ ثانية كافية لحدوث الإنتحاء الضوئى فى النبات المذكور. وأن أقل كمية ضوء تسبب حدوث الإنتحاء الضوئى تسمى قيمة المدخل threshold value وأن هذه القيمة تختلف بإختلاف النبات وعمر النبات والجزء المعرض من النبات. حيث أنه من المعروف أن حساسية النبات للإنتحاء الضوئى الموجب يقل عادة بزيادة عمر النبات أى أن النبات المسن أقل حساسية للإنتحاء الضوئى من النبات الصغير السن. أما عن حساسية الجزء المعرض لقيمة المدخل فإن حساسية ٠,٢ مم الطرفية من غمد الريشة لنبات الشوفان تفوق حساسية الجزء من الغمد الذى يبعد عن القمة النامية بمقدار ٣مم بمقدار ستة آلاف مرة أى أن قيمة المدخل فى الحالة الثانية تزيد بمقدار ستة آلاف مرة عنها فى الحالة الأولى.

أما عن سبب إنتقال الأوكسين من الجانب المواجه للضوء من الغمد إلى الجانب البعيد من الضوء وذلك فى غمد الريشة لنبات الشوفان وأيضا فى غمد الريشة لكثير من نباتات العائلة النجيلية وأيضا فى السيقان فهو غير معروف بالضبط حتى الآن. ولكن فى بعض الحالات عند تعريض الغمد لمصدر ضوئى جانبى فإنه يتكون على جانبى الغمد المعامل فرق فى الجهد الكهربائى أمكن قياسه ويعتقد أنه يمكن أن يكون ذلك سبب فى هجرة الأوكسين من الجانب المواجه للضوء إلى الجانب البعيد للضوء. ولكن حتى الآن هذه النظرية غير مؤكدة وعليها مآخذ. ولازال السبب فى ذلك غير معروف.

ومما جدير بالذكر أن غمد الريشة والساق يظهر إنتحاء ضوئى موجب والعكس صحيح فى الجذر فإنه يظهر إنتحاء ضوئى سالب. حيث أنه عند تعريض الجذر لإضاءة من مصدر جانبى فإن الجذر يظهر إنتحاء ضوئى سالب وينمو فى إتجاه

عكسى مصدر الضوء. تعتبر هذه القاعدة والأساس فى حالة الجذور ولكن توجد حالات نادرة يمكن أن يظهر فيها الجذر إنتحاء ضوئى موجب.

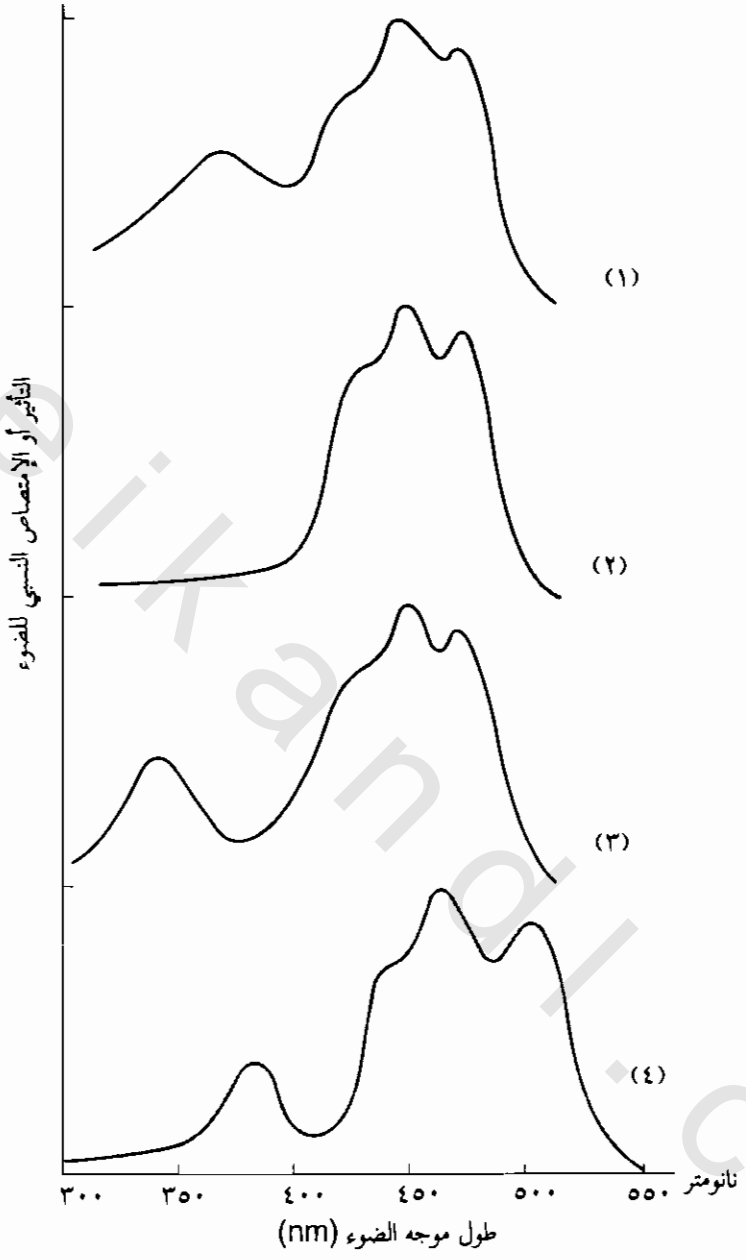
أما عن أنواع الضوء التى تسبب الإنتحاء الضوئى الموجب فقد وجد أن الضوء العادى يسبب هذا الإنتحاء ولكن من المعروف أن الضوء العادى يتكون من عديد من الألوان ولذلك فقد أجريت إختبارات لإختبار تأثير كل لون من ألوان الطيف الضوئى كلا على حده. فقد وجد أن جميع ألوان الطيف الضوئى مثل الأصفر والأحمر والأخضر والبرتقالى ليس لها أى تأثير على الإنتحاء الضوئى وأن الضوء الوحيد المؤثر على حدوث الانتحاء الضوئى هو اللون الأزرق وجزء من الأشعة فوق البنفسجية ولذلك فإن الجزء الفعال فى الضوء العادى هو اللون الأزرق وجزء من الأشعة فوق البنفسجية، وإذا أستخدمت جميع ألوان الضوء العادى عدا النوعين المذكورين أخيرا من الضوء فإنه لن يحدث أى إنتحاء ضوئى. يمكن الحصول على ألوان مختلفة من الضوء العادى بإستعمال مرشحات ضوئية filters ذات ألوان مختلفة مثل الأحمر والأخضر والأزرق والأصفر والبرتقالى.

من المعروف أنه لكى يحدث للضوء تأثير فى النبات فلابد أن يمتص أولاً ويحدث إمتصاص للضوء فى النبات بواسطة الصبغات والصبغة المسئولة عن الإنتحاء الضوئى الموجب للساق أو قمة الغمد هى ليست صبغة الكلوروفيل حيث أن صبغة الكلوروفيل تمتص بشدة كل من اللونين الأحمر والأزرق. بينما الإنتحاء الضوئى لا يتأثر بذلك كما ثبت من التجارب وأن المؤثر هو اللون الأزرق وجزء من اللون البنفسجى، لذلك فقد إختبرت صبغات أخرى لتقدير كفاءتها فى إمتصاص الضوء، ومن هذه الصبغات الكاروتينات carotenoids والفلافينات flavins وقد وجد أن صبغة trans-B carotene لا تمتص الضوء الأزرق أو الفوق بنفسجى عند طول موجة ٣٧٠ نانومتر وأن هذه الصبغة موجودة بكثرة فى النبات ولكن وجد أن المشابه لهذه الصبغة isomer هو عبارة عن cis-B carotene يمتص الضوء الأزرق وجزء من اللون الفوق البنفسجى عند طول موجة ٣٤٠ نانومتر ولكن من المعروف أن الصبغة الأخيرة لاتوجد فى النباتات طبيعياً ولذلك يوجد اعتقاد أن هذه الصبغة تنشأو توجد فى

النباتات وهذه عند عزلها يحدث لها عملية isomeration فتتحول من حالة إلى أخرى وينتج عن الصبغة الأصلية مركب آخر شبيه بها. أى أن المركب الأخير يفقد فى النبات أثناء الإستخلاص والعزل والتنقية وقد يوجد أصلا فى النبات، ومن جهة أخرى فقد وجد أن الفلافينات flavins الذائبة فى الدهون تمتص أيضا الضوء الأزرق وجزء من الضوء فوق البنفسجى وتشابه فى منحنى إمتصاصها المنحنى(١). يعتبر المنحنى ١ هو المنحنى الذى يوضح درجة الإنتحاء الضوئى للغمد فى كل طول موجه معين ويسمى بمنحنى طيف التأثير action spectrum وتتم المقارنة على أساس هذا المنحنى.

تسمى المنحنيات الأخرى (٢و٣و٤) بمنحنيات طيف الإمتصاص absorption spectrum. حيث أنه فى كل صبغة على حده لها طيف إمتصاص خاص بها أى أنه منحنى يوضح درجة إمتصاص الصبغة لأطوال الضوء المختلفة المختبرة ولذلك فإن المنحنى ٢ هو طيف أمتصاص trans B-carotene والمنحنى ٣ هو طيف أمتصاص cis B-carotene والمنحنى ٤ هو طيف إمتصاص الريبوفلافين الذائب فى زيت الخروع (شكل ٧٣) يعتبر منحنى الريبوفلافين الأقرب إلى منحنى طيف التأثير ويليه منحنى cis.

من المعروف أن الكاروتينات والريبوفلافين شائعة الوجود فى النبات ويوجد ان مع بعضها دائماً ولذلك فإنه لم يمكن إجراء التجارب على أى منهما على حدة فى النباتات لتقدير أيهما أهم أو أكثر فاعلية. ولذلك يجب إستخدام كائنات طفره لا تحتوى أحدهما وتحتوى الآخر. ولم يمكن عمل ذلك . ولكن أمكن فى بعض الكائنات تثبيط تكوين B-carotene حتى ٢٠ ٪ أو أقل من التركيز الأصلى وقد وجد أن هذه النباتات قادرة على إظهار الإنتحاء الضوئى تماماً كما لم يحدث تثبيط لتكوين هذه الصبغات. وهذه التجارب تثبت أن الكاروتين قد يكون غير فعال أى ليس له دور فى الإنتحاء إطلاقاً أو أن تركيز قليل منه كاف لحدوث الإنتحاء الضوئى. أما فى حالة الفلافينات فلم يمكن حتى الآن عمل تجارب لتثبيط تكونيه كما هو الحال فى الكاروتين.



(شكل ٧٣) : مقارنة بين منحني طيف التأثير action spectrum للإنتحاء الضوئي(١).

ومنحني طيف الأمتصاص للضوء لكل من *trans* بيتاكاروتين(٢).

و*cis* بيتاكاروتين (٣) والريبوفلافين (٤).

ومما سبق يتضح أن الصبغة الرئيسية الفعالة فى حدوث الإنتحاء الضوئى الموجب غير معروفة بالضبط ولكن هى بالقطع كاروتين أو فلافين أو مركبات شبيهة بهما وقد تكون الريبوفلافين حيث أن جميع المنحنيات السابقة لا تماثل تماما منحنى طيف التأثير.

الأنتحاء الضوئى فى الأوراق والأزهار:

إن إنحناءات الإنتحاء الضوئى معروفة لمن يشاهدون النباتات عن كثب، وتكون ظاهرة بشكل خاص فى النباتات التى تنمو فى أماكن تكون معرضة فيها لإضاءة غير متساوية على جانبيها المتقابلين. وتنحنى السوق عادة فى مثل هذه الظروف فى اتجاه الضوء الأقوى، كما أن الأوراق تتخذ هى الأخرى وضعاً معيناً بالنسبة لمصدر الضوء، بغض النظر عن مواضع اتصالها بالساق. وعندما تنمو النباتات المتسلقة مثل حبل المساكين *Hedera helix* على جدار بحيث يسقط الضوء عليها أساساً فى اتجاه واحد فإن أنصال الأوراق تشغل السطح المعرض كله تقريباً بحيث تتفادى التراكب بقدر الإمكان. وتبدو أنصال الأوراق وكأنها معشقة بعضها فى بعض بشكل جعلها تعرف leaf mosaics بالأوراق الموزايكية. وبالمثل، توجد الأوراق الموازيكية فى معظم النباتات التى تحمل أعداداً كبيرة من الأوراق، وإن كان تداخلها أقل إتقاناً من حبل المساكين. وأى شخص يقف تحت شجرة إسفندان أو بلوط كبيرة لا يسعه إلا أن يبهر بالطريقة التى بها تحجب الأوراق الشمس حجباً كاملاً. وكثيراً ما تتخذ أوراق بعض النباتات العشبية مثل الخس وسيلفيم *Silphium* الخ أو ضاعاً بحيث تواجه أنصال الأوراق الشرق والغرب ولا يواجه الشدة الكاملة لشمس الظهيرة سوى حواف الأنصال. ويكون هذا الوضع واضحاً جداً حتى إن هذه النباتات تعرف باسم نباتات البوصلة compass plants وأنصال أوراق البلوط التركى *Quercus catesbei* تتخذ هى الأخرى وضعاً رأسياً مميزاً فى الضوء الشديد.

ومن أحسن الأمثلة لذلك هى تجارب *Brauner* على أوراق نبات أبوخنجر *Tropaeolum majus* حيث وجد أن الأوراق تكون دائماً عمودية على أشعة الشمس فإنها تظهر إنتحاء ضوئى موجب من النوع diaphototropic حيث تكون

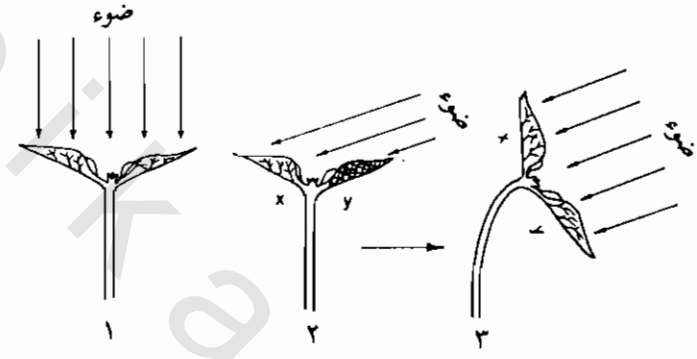
الأوراق الدرعية للنبات متجهة لأعلى لإستقبال أشعة الشمس وإذا كانت الإضاءة جانبية فإن الأوراق تواجه مصدر الإضاءة الجانبية. وقد وجد أن السبب فى هذه الحالة هو عنق الورقة وليست النصل أى أن الإنتحاء الضوئى يحدث فى عنق الورقة فقط دون النصل وأيضاً أن الجزء الحساس للإنتحاء الضوئى هو عنق الورقة دون النصل ومما يثبت ذلك أنه فى حالة تعريض عنق ونصل الورقة للضوء يحدث إنتحاء ضوئى موجب وفى حالة تعريض العنق للضوء والنصل للظلام يحدث أيضاً إنتحاء ضوئى موجب والعكس صحيح فى حالة تعريض العنق للظلام والنصل للضوء حيث لا يحدث إنتحاء ضوئى.

أما فى حالة الأزهار فإن نورة عباد الشمس من أدق وأفضل الأمثلة لذلك ونتيجة لأن النورة دائماً تكون فى مواجهة مصدر الضوء أى أن الإنتحاء الضوئى موجب ولذلك فقد وصف بأنه يعبد الشمس ومنه أشتق اسم النبات. كما أن المحور الحامل للنورة هو الجزء الذى يستجيب لتأثير الضوء ويحدث فى هذا المحور أى الساق الإنحناء والإنتحاء الضوئى الموجب ولذلك تصبح النورة مواجهة تماماً لمصدر الضوء. ومن أمثلة ذلك أيضاً نورة نبات جربيرا *Gerbera* حيث وجد المؤلف أن لها حساسية فائقة للإنتحاء الضوئى الموجب. وفى الحالتين السابقتين فإن المسئول عن الإنتحاء هو ساق النبات الحامل للنورة. ويمكن أن يكون نفس الشيئ بالنسبة لعنق الزهرة حيث ينتحى إنتحاء ضوئى موجب وموجها الزهرة لمصدر الضوء كما فى أحد أنواع نبات حبل المساكين وهو ivy-leaved toadflax. ووجد المؤلف ذلك فى زهره البنسيه.

ومما هو جدير بالذكر أنه فى حالة نبات الأيفى وبعد الإخصاب وأثناء تكوين الثمار يتحول إتجاه العنق إلى الإتجاه العكسى حيث يصبح إنتحاء ضوئى سالب للثمرة وغير معروف تفسير لذلك ولكن قد يكون نتيجة لزيادة تخليق وإنتقال وتركيز الأوكسين بعد الإخصاب وأثناء تكوين الثمار. ومثال آخر من البيئة المصرية هو أزهار نبات الفول السودانى حيث أنها تنتحى إنتحاء ضوئى موجب وذلك بالطبع نتيجة لحساسية عنق الزهرة ولكن بعد الإخصاب مباشرة فإنها تنتحى إنتحاء ضوئى سالب

حيث يستطيل العنق ويتم دفن الثمرة الصغيرة فى التربة وحيث يتم تكوين الثمار فى التربة. وقد يكون تفسير ذلك كما فى الزهرة السابقة.

يمكن أن تؤثر شده الضوء على ساق عباد الشمس ويسبب إنتحاء موجب حيث أن شدة الإضاءة على الورقة x أكبر من شد الإضاءة على الوزقة y ولذلك تنتج الورقة x تركيز أعلى من إندول حامض الخليك بالمقارنة بالورقة y ولذلك يحدث الإنتحاء (شكل ٧٤).



(شكل ٧٤) : تأثير الضوء على الإنتحاء الضوئى الموجب لساق عباد الشمس.

١ ـ الإضاءة متساوية على الأوراق.

٢ ـ الإضاءة غير متساويه على الأوراق حيث أن شده الإضاءه على الورقة x أعلى من شدة الإضاءة على الورقة y. ولذلك تنتج الورقة x إندول حامض الخليك أكثر من الورقة y.

٣ ـ نتيجة لما سبق يحدث إنحناء للساق فى إتجاه الضوء.

طرق تقدير تركيز الأوكسينات:

توجد طرق عديدة لتقدير تركيز الأوكسينات ويمكن تقسيم هذه الطرق إلى نوعين وفى كل نوع يوجد عديد من الطرق وهما كما يلى:

أولا: طرق حيوية (بيولوجية) Bioassay

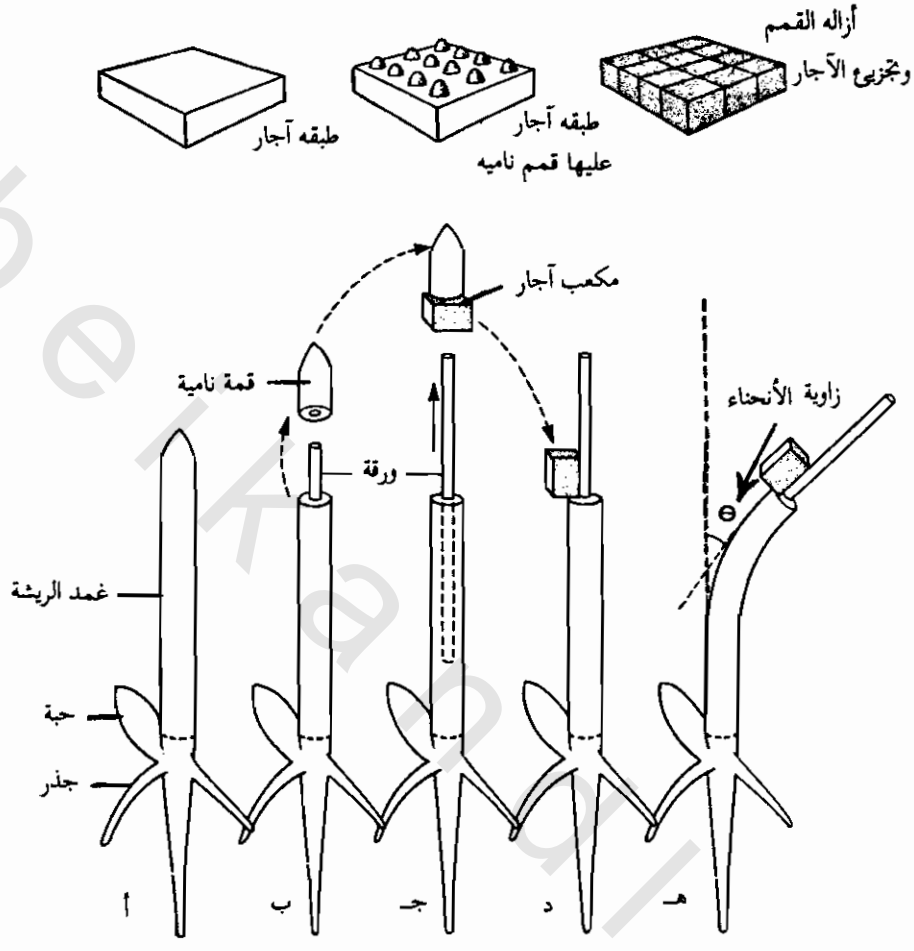
وتشمل عديد من الطرق وهى ما يأتى: ـ

١ ـ طريقة إنحناء غمد الريشة Avena coleoptile curvature لنبات الشوفان:

يعتبر غمد الريشة فى نباتات العائلة النجيلية عامة ومنها الشوفان (الزمير) عبارة عن جزء أنبوبى إسطوانى مغلق يوجد بداخله الورقة الخضرية الأولى. ينمو الغمد إلى طول ٢ ـ ٣ سم فى الضوء و ٦ ـ ٧ سم فى الظلام وبعد إكتمال نموه يثقب فى قمته من الداخل بواسطة الورقة الأولى وتبرز من الغمد . ينمو الغمد نتيجة لإنقسام وإستطالة الخلايا حتى يصل طوله حوالى ٨ سم وبعد ذلك يصبح النمو نتيجة لإستطالة الخلايا فقط. يعتمد هذا الإختبار على سرعة وكفاءة إنتقال الأوكسين من القمة إلى القاعدة. عند معاملة الغمد بعد إزالة القمة النامية بالأوكسين وذلك بوضع الآجار المحتوى على الأوكسين على قمة الغمد المقطوع بحيث يكون غير مركزى أى يوضع على أحد جانبى الغمد المقطوع ويسبب ذلك إنتقال الأوكسين إلى منطقة الغمد أسفل الآجار ويسبب إستطالة الخلايا فى هذا الجزء وينتج عن ذلك إنحناء الغمد. تزداد درجة إنحناء الغمد وبالتالى تزداد الزاوية بزيادة تركيز الأوكسين المستعمل.

توضع حبوب الشوفان مقلوبة، أى أن الشق الطولى الموجود فى الحبة لأسفل، على ورق ترشيح أو رمل مبلل فى حجرة مظلمة ورطوبة نسبية ٩٠٪ وفى درجة حراره ٢٥°م. بعد ٢٤ ساعة فإن الحبوب المستنبتة تعرض للضوء الأحمر لتثبيط إستطالة السلامية الأولى mesocotyl. تجرى جميع الخطوات بعد ذلك فى حجره أضاءة حمراء أو برتقالى لكى لا تؤثر على إنحناء الغمد، وبعد يومين من بداية التجربة فإن البادرات توضع فى مثبت ماسك زجاجى glass holder فى وضع قائم مع وجود الجذور فى الماء. بعد ثلاثة أيام من بداية التجربة فإن الغمد يصبح طوله ٢ ـ ٣ سم ويكون ذلك هو العمر المناسب لإجراء التجربة. تجرى عملية إزالة ١ مم من القمة النامية للغمد وتسمى بعملية القصل decapitation ويسمى الجزء المتبقى

من الغمد بالجذع stump وذلك لإزالة مصدر الأوكسين فى الغمد وبعد ثلاثة ساعات من عملية القصل الأولى تجرى عملية القصل الثانية أى إزالة ٢ مم أخرى من قمة الجذع وذلك لإزالة مصدر الأوكسين الطبيعى نهائياً، يفضل عمل القصل على مرتين حيث أن الجذع يصبح أكثر حساسية للأوكسين عنه فى حالة إجراء عملية القصل أى أزالة القمة النامية مره واحدة وذلك لأسباب فسيولوجية عديدة ومعقدة. تصبح الورقة العلوية أول ورقة ظاهرة فيتم تخليصها وإزالتها برفق بواسطة ملقط ويتبقى من الورقة جزء قاعدى ظاهر أعلى الغمد. يحدث إدماع على السطح المقطوع من الغمد فيتم تجفيفه بواسطة ورق ترشيح برفق. يتم عمل طبقة من الآجار سمكها ١ مم تحتوى الأوكسين. يتم ذلك بتسخين الآجار فى الماء حتى يتكون محلول من الآجار متجانس تركيز ٢ ٪ يترك المحلول ليبرد حتى درجة حوالى ٤٦° مئوية يوضع الأوكسين ويرج المحلول جيداً لضمان توزيع وإنتشار الأوكسين جيداً فى محلول الآجار وحتى يصبح المحلول متجانس التركيز ثم يصب المحلول مباشرة فى طبق بترى أو على لوح زجاجى ويترك ليبرد . وبعد تمام التبريد تتكون طبقة من الآجار صلبة سمكها ١ مم. يتم تقسيم هذه الطبقة إلى مكعبات سطحها مربع ٢ × ٢ مم وبذلك تصبح أبعاد المكعب ١ × ٢ × ٢ مم. يوضع المكعب على أحد جوانب الجذع وتعمل بقايا الورقة العلوية كسند support للمكعب. وبعد تسعون دقيقة من وضع المكعب على الجذع وقد يستعمل البعض زمن قدره ساعتين وفى كلتا الحالتين يجب توحيد مدة التجربة فإنه يوضع ورق تصوير خلف الغمد ويتم تصويره بومضة من الضوء القوى brief flash of light يتم تحميض الصورة ويظهر ظل الجذع المنحنى على الصورة وتسمى هذه بصورة الظل shadow graph. يتم قياس درجة إنحناء الجذع أى قياس الزاوية بواسطة منقلة. تتناسب مقدار الزاوية طردياً مع درجة تركيز الأوكسين أى أنه كلما زاد تركيز الأوكسين كلما زادت الزاوية تبعاً للمنحنى (أشكال ٧٥و ٧٦ و ٧٧).



(شكل ٧٥) : طريقة فنت لقياس تركيز الأوكسين بواسطة إنحناء غمد الريشة لنبات الشوفان.

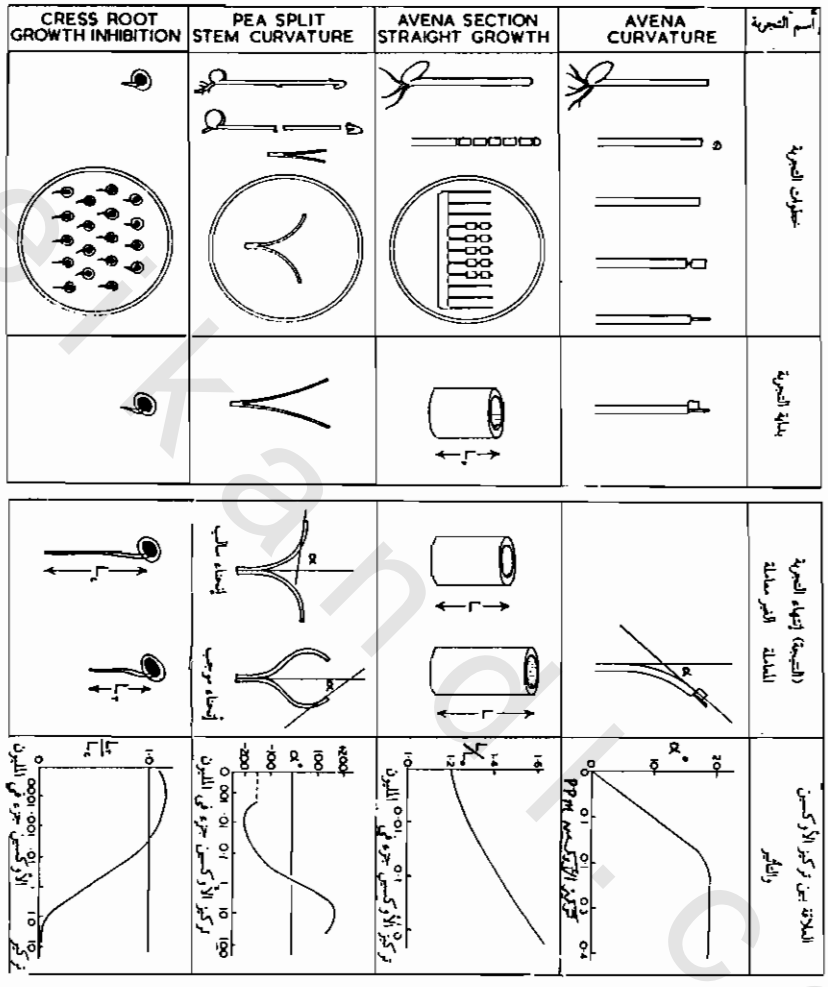
أ ـ بادرة عادية عمرها ٣ أيام .

ب ـ بادرة بعد إزالة القمة النامية لغمد الريشة.

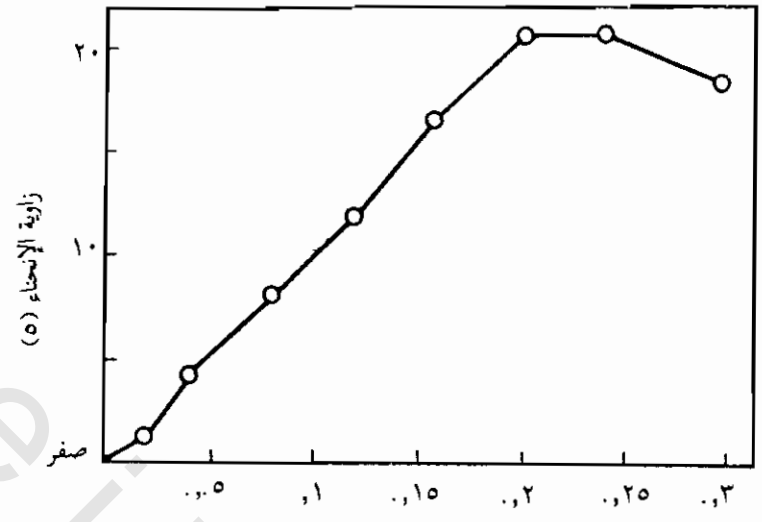
جـ ـ شد الورقة الطرفية لأعلى ووضع قمة الغمد على الآجار.

هـ ـ وضع مكعب الآجار على سطح الغمد المقطوع بعد إزالة قمة الغمد.

هـ ـ إنحناء الغمد بدرجة أى زاوية معينة (e).



(شكل ٧٦) : الطرق المختلفة لتقدير تركيز الأوكسين .



(شكل ٧٧) : العلاقة بين تركيز إندول حامض الخليك ودرجة إنحناء غمد الريشة لنبات الشوفان.

أول من عمل هذه التجربة هو فنت ويرجع إليه الفضل فى إكتشافها وعملها ولم يكن فنت يستعمل منحنى التركيز حيث أنه لم يكن لديه فى تلك الفترة الأوكسين أى إندول حامض الخليك. حيث أن أكتشاف هذا الأوكسين وتنقيته قد تم بعد ذلك. وقد كان يستعمل فنت الوحدة الشوفانية كمقياس لدرجة إنحناء الغمد. تعتبر الوحدة الشوفانية Avena Unit (AU) هى التركيز من الأوكسين الذى يسبب إنحناء الغمد بزاوية مقدارها عشرة درجات مئوية فى تسعون دقيقة فى درجة حرارة ٢٥° م ورطوبة نسبية ٩٠٪ فإذا كان ناتج التجربة هو حدوث إنحناء للجذع قدره خمسة عشر درجة يعنى ذلك أن درجة الإنحناء هى ١,٥ وحده شوفانية وإذا كان الإنحناء عشرون درجة يعنى ذلك أن درجة الإنحناء هى ٢ وحده شوفانية، ولذلك كان يستدل فنت على درجة تركيز الأوكسين بمقدار قيمة الوحدة الشوفانية. حيث أى قيمة الوحده الشوفانية تتناسب طردياً مع تركيز الأوكسين.

وكما سبق القول تركيز الأوكسين فى هذه الحالة تقديرى تبعاً لقيمة الوحده الشوفانية حيث لم يكن لدى فنت أثناء تجاربه أوكسين نقى أو حتى معروف.

وخطوات أختبار انحناء غمد ريشة الشوفان كما يأتى:

وذلك بعد إمكانية الحصول على أكسين نقى:

١ ـ إنبات حبوب الشوفان وإنماء بادراتها فى الظلام، حيث يحدث ضعف وتقليل فى حساسية غمد الريشة للأوكسين عند تعرضها للضوء الأزرق.

٢ ـ يزال ١ مم[١] من القمة الطرفية لغمد الريشة بعد وصول البادرات إلى طول يتراوح ما بين ١٥ إلى ٣٠ مم، وبالتالى إزالة المصدر الطبيعى للأوكسين.

٣ ـ الإزالة الثانية لإثنين إلى ثلاثة ملليمترات[١] ضرورية بعد مدة ثلاث ساعات من الإزالة الأولى وذلك لإزالة الأنسجة التى تتجدد وتنتج الأوكسين.

٤ ـ الورقة الأولية الأولى والتى تظهر بعد الإزالة الثانية تجذب برفق شديد وهذه الورقة لابد أن تظهر ممتدة لقليل من المليمترات خارجياً من غمد الريشة حيث تعمل كدعامة عمودية لمكعبات (لبلوكات) الآجار التى توضع على غمد الريشة.

٥ ـ يوضع مكعب الآجار المحتوى على الأوكسين على جانب واحد فى النهاية المقطوعة لغمد الريشة، وسوف ينتقل الأوكسين إلى أسفل فى جانب غمد الريشة الذى يحمل فوقه مكعب الآجار المحتوى على الأوكسين.

٦ ـ بعد تسعين دقيقة من الخطوة السابقة يعرض ظل البادرات إلى شريط من ورق البروميد bromide paper[٢] ثم يصور وبالتالى يعطى للباحث تسجيل دائم للنتيجة.

---

(١) يستخدم لذلك ميكروتوم خاص بسيط التركيب يحتوى على شفرات حلاقة عادية.

(٢) تتم هذه العملية عادة بوضع البادرات على شريط فيلم حساس ثم يضاء فوقها بالضوء الأبيض لفترة زمنية بسيطة جداً فيسجل على ورق التصوير بعد تحميض الفيلم ظل البادرة.

٧ ـ يقاس الإنحناء[١] ويسجل بواسطة قياس الزاوية المحصورة بين الخط العمودى المرسوم والخط المرسوم والموازى للجزء المنحنى من الغمد.

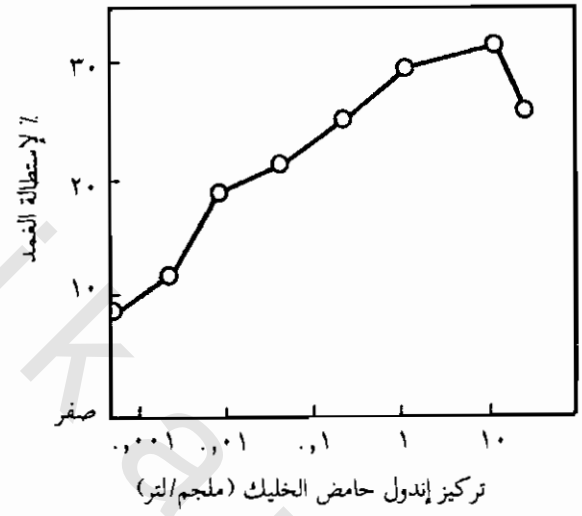
توجد علاقة خطية مستقيمة بين التركيز وكمية الإنحناء من خلال مدى مجال معين لتركيزات الـ IAA. كما هو واضح فى شكل ٧٦، ومجال هذا الـ IAA يصل إلى الذروة المثلى عند حوالى ٢ , ملليجرام/ لتر (شكل ٧٦).

٢ ـ طريقة النمو الطولى لغمد الشوفان Avena coleoptile straight growth test:

عند غمر غمد الريشة لنبات الشوفان فى محلول أوكسين فى أطباق بترى فإن نمو الغمد يكون متماثل على جميع الجوانب ولذلك ينمو الغمد طولياً بإنتظام. يوجد تناسب طردى بين سرعة نمو الغمد وتركيز الأوكسين. يمكن عمل هذا الإختبار بنجاح على غمد الريشة لنبات القمح يتم وضع الحبوب على ورقة ترشيح أو رمل مبلل فى الظلام. بعد ثلاثة أيام يصبح طول الغمد ٢ ـ ٣ سم يزال ٣ مم من قمة الغمد وبعد ذلك يتم إزالة ٤ مم أخرى من كل جذع. تأخذ الأجزاء الأخيرة من الغمد والتى طولها ٤ مم وتوضع فى طبق بترى به ماء مقطر لمدة ساعتين. يتم إزالة الورقة الطرفية من داخل هذا الجزء. توضع هذه الأجزاء من الغمد فى إستقامة بعضها وذلك بإدخال أنبوبة شعرية داخل تجويف هذه الأجزاء. تصبح الأنبوبة الشعرية تحمل عديد من أجزاء مقطوعة من الغمد وطول كل جزء ٤ مم ويوجد بين كل جزء وآخر مسافة كافية تسمح بالنمو الطولى للغمد. يلاحظ أن الجزء المقطوع من الغمد مجوف. يتم تعويم floated هذه الأجزاء المحمولة بالأنبوبة الشعرية فى محلول أوكسين فى طبق بترى لمدة يوم كامل فى الظلام. وفى نهاية التجربة يقاس الزيادة فى الطول لكل جزء بواسطة مجهر dissecting microscope يتناسب النمو مع لوغاريتم تركيز إندول حامض الخليك طردياً حتى ١٠ ملليجرام / لتر وذلك كما

(١) قياس الإنحناء يكون على ورق التصوير الذى سجل زاوية الإنحناء فى الخطوة السابقة ويمكن تكبير صورة ظل البادرة بمكبر التصوير العادى ورسم خطوط الزوايا المراد قياسها وبالطبع دون تغيير فى الزوايا، كما توجد أجهزة خاصة لقياس هذه الزوايا مباشرة ذات دقة فائقة.

فى المنحنى (شكل ٧٨). يجب إجراء جميع هذه الخطوات فى حجرة مظلمة بها ضوء خافت أخضر حيث أن الغمد يفقد حساسيتة للأوكسين فى حالة تعريضه لضوء ذو طول موجه قصيره مثل الأزرق أو البنفسجى. يعتبر هذا الإختبار أقل فى حساسيتة من الإختبار السابق.



(شكل ٧٨) : العلاقة بين تركيز إندول حامض الخليك وإستطالة غمد الريشة لنبات الشوفان.

وجد أن خلايا درنات البطاطس والطرطوفة تستطيل فى وجود الأوكسين ويمكن إثبات ذلك بقياس الزيادة فى الوزن الرطب fresh weight لأقراص أو مكعبات من هذه الدرنات. تتناسب الزيادة فى الوزن طردياً مع تركيز الأوكسين.

وخطوات إجراء اختبار قطاعات غمد ريشة الشوفان كالآتى:

١ ـ تنبت حبوب (ثمرة برة caryopsis) الشوفان لسلالة نقية (على سبيل المثال صنف فيكتورى Victory) وإنماؤها فى الظلام عند ٢٥°م ورطوبة نسبية حوالى ٨٥٪ ولا يسمح إلا بإضاءة حمراء ضعيفة فى غرفة النمو.

٢ ـ وعندما يصل طول غمد الريشة إلى حوالى ٢٥ إلى ٣٠ مم، فتجمع البادرات ثم تزال القمة الطرفية لمسافة ٤ مم ثم يقطع باقى غمد الريشة إلى قطاعات طول كل منها من ٣ إلى ٥ مم.

٣ ـ جميع القطاعات تغمس فى ماء مقطر لمدة لا تقل عن ساعة ثم توزع عشوائياً إلى أطباق بترى تحتوى على ٢٠ سم^{٢} من محلول الإختبار.

٤ ـ وبعد تحضينها لفترات ١٢ أو ٢٤ أو ٤٨ ساعة على درجة ٢٥°م فإن القطاعات تقاس باستخدام ميكروسكوب تشريح مزود بمنظار ذو تدريج دقيق خاص[(١)].

لو أن معدل النمو مناسب فإن ١٢ ساعة من التحضين كافية، ولو أن النمو غير مناسب فيمكن أن تطول فترة التحضين إلى ٢٤ أو ٤٨ ساعة (شكل ٧٦).

٣ ـ طريقة إنحناء ساق نبات *Cephalaria*:

يجرى إنبات بذور نبات *Cephalaria tartarica* فى الظلام يتبع هذا النبات العائلة الدبساكية dipsacaceae. تأخذ سيقان البادرات وتزال قممها أى يجرى لها عملية قصل. يجب أن يكون سطح القطع مائل بدرجة كبيرة يوضع الآجار المحتوى على الأوكسين على السطح المقطوع على الجزء السفلى منه. فترة إجراء التجربة ساعتين.

يحدث إنحناء للساق فى المنطقة ناحية الآجار تجرى هذه التجربة فى ظلام دامس أو ضوء خفيف أحمر أو برتقالى أو أخضر. يحدث إنحناء للساق وتقاس زاوية الإنحناء تتناسب زاوية الإنحناء طردياً مع تركيز الأوكسين. قياس زاوية الإنحناء كما فى طريقه الشوفان.

قام بعمل هذه التجربة سودنج Soding وأوضح أنها أكثر حساسية من طريقة غمد الريشة لنبات الشوفان حيث أنه تمكن من قياس تركيزات ضئيلة من الأوكسينات لا يمكن قياسها بطريقة غمد الريشة لنبات الشوفان.

(١) يمكن أن يستخدم هنا طريقة تسجيل النتائج بإستخدام ورق التصوير الحساس لظل القطاعات كما هو الحال فى تسجيل نتائج إختبار إنحناء غمد ريشة الشوفان.

٤ ـ طريقة قياس النمو الطولى لجذور نبات الكريس Cress (حب الرشاد) :

يجرى إنبات بذور نبات الكريس على أوراق ترشيح مبللة فى طبق بترى وفى درجة ٢٥ درجة مئوية فى الظلام لمدة يوم. يتم إنتخاب البادرات ذات الحيوية العالية وذات أطوال جذير متساوية. يوضع فى كل طبق بترى ورقة ترشيح ويوضع عليها عدد عشره بادرات ثم يضاف إلى الطبق محلول الأوكسين المراد إختبار تركيزه. توجد معاملة للمقارنة وهى تحتوى على ماء مقطر. بعد يوم كامل يتم قياس طول الجذور وتقدر الزيادة فى الطول وتقارن بالزيادة فى الطول فى المقارنة. يلاحظ أن التركيزات فى هذه التجربة تكون أقل بكثير من التركيزات المستعملة فى حالة غمد الريشة أو الساق حيث أنه من المعروف أن الجذر يحتاج إلى تركيزات من الأوكسين أقل بكثير من تركيزات الساق لكى يحدث النمو. يلاحظ أن التركيزات المستعملة فى الساق قد تسبب توقف نمو الجذور أو تثبيط النمو . عادة تكون التركيزات المستعملة فى الجذور هى حوالى $١^{-١٠}$ جزيئى (أى للأس -١٠ جزيئى) لإندول حامض الخليك بينما تكون التركيزات المستعملة فى الساق هى حوالى $١^{-٥}$ جزيئى (أى للأس -٥ جزيئى) لإندول حامض الخليك.

وخطوات أختبار تثبيط جذر حب الرشاد كما يلى:

١ ـ تعقم البذور ثم تنبت على ورقة ترشيح مبللة بالماء.

٢ ـ وعندما يصل طول الجذور إلى الطول المناسب توضع فى أطباق بترى محتوية على ١٥ سم ^{٣} من محلول الاختبار.

٣ ـ يقاس نمو الجذور بعد ٤٨ ساعة (شكل ٧٦) يحدث تثبيط لنمو الجذر.

٥ ـ طريقة قياس النمو الطولى لساق نبات البسلة وعباد الشمس:

يقدر فى هذه الطريقة النمو الطولى لأجزاء من السيقان الشاحبة أى النامية فى الظلام. حيث يجرى إنبات البذور فى الظلام. يتم عمل قصل أى إزالة القمة فى ساق البادرة وتستعمل الأجزاء تحت الطرفية من ساق البادرة (السويقة) بطول يتراوح

بين ٣مم إلى ١٠مم. يجب توحيد طول الساق المقطوع فى التجربة. توضع السيقان فى طبق بترى به محلول الأوكسين وتوضع أطباق بترى فى حضان فى درجة حرارة مناسبة عادة ٢٥م. بعد يوم يتم قياس أطوال السيقان لتقدير مقدار الزيادة فى الطول. يوجد معاملة للمقارنة عبارة عن ماء مقطر. يتم مقارنة الزيادة فى الطول بالزيادة فى طول سيقان المقارنة. تجرى التجربة السابقة فى ظلام دامس أو ضوء خافت أحمر أو برتقالى أو أخضر.

يمكن فى هذه التجربة وأيضاً فى التجارب السابقه عمل تركيزات مختلفة من محلول إندول حامض الخليك وتقدر الزيادة فى الطول فى أجزاء السيقان فى التركيزات المختلفة ويتم رسم منحنى للعلاقة بين تركيز الأوكسين وسرعة النمو أو الزيادة فى الطول ويسمى ذلك بالمنحنى القياسى standard curve. يمكن التعرف على تركيز مجهول من الأوكسين بقياس الزيادة فى الطول من التجربة وتقدير التركيز من المنحنى.

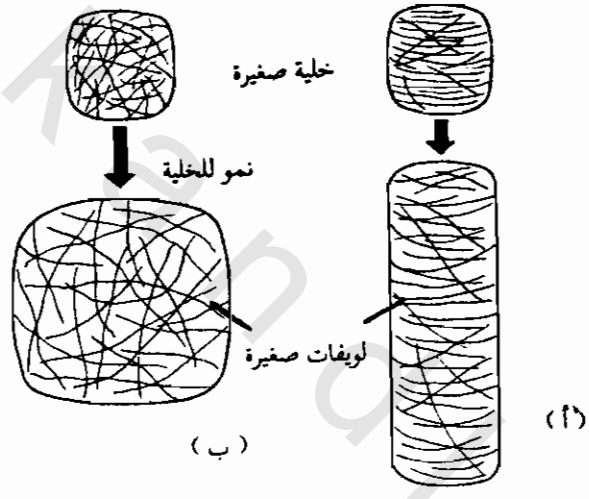
٥- طريقة إنحناء ساق البسلة المشقوق Split pea stem curvature:

فى هذه الطريقة تستعمل أجزاء من سيقان نباتات بسلة عمرها ٩ أيام نامية فى الظلام أى شاحبة. ثم يؤخذ الجزء القمى من السلامية الثالثة بطول ٤ سم. يتم عمل شق طولى فى ٣ سم القمية من الساق. توضع أجزاء السيقان المشقوقة طولياً فى ماء مقطر لمدة نصف ساعة وذلك لغسلها من الأوكسينات الموجودة فى الساق endogenous auxin. توضع السيقان فى محلول الأوكسين المراد تقدير تركيزه فى أطباق بترى فى الظلام فى حضان فى درجة حرارة مناسبة عادة ٢٥م. توجد معاملة للمقارنة يستعمل فيها الماء المقطر. فترة التجربة ستة ساعات على الأقل. وحيث أن نفاذية الأوكسين تكون خلال البشرة وليست خلال أنسجة الشق المقطوع فإن الجزء الخارجى من الساق ينمو أسرع من الجزء الداخلى فيحدث إنحناء للشق بحيث ينحنى طرفى الشق للداخل. كلما زاد تركيز الأوكسين كلما زادت درجة إنحناء طرفى الشق للداخل.

أكتشف هذه الطريقة العالمان فنت وفان أوفربيك عام ١٩٣٤ Went and Van Overbeek وقد سميت باسم إختبار البسلة.

يمكن تقدير التركيز كمياً وذلك بتقدير درجة الإنحناء بواسطة صورة الظل shadow graph كما سبق شرحه فى طريقة إنحناء غمد الريشة لنبات الشوفان.

خلايا البشرة متطاولة فتكون إستطالتها أكبر من خلايا النخاع الكروية المضلعة ولذلك يحدث إنحناء لساق البسلة للداخل نتيجة لتأثير الأوكسين حيث أن ترتيب اللويفات الصغيرة فى الجدار الخلوى تختلف فى الخلايا التى ستصبح متطاولة عنها فى الخلايا التى ستصبح كروية (شكل ٧٩).



(شكل ٧٩) : كيفية ترتيب اللويفات الصغيرة فى جدر الخلايا أثناء نموها.

أ ـ تكون اللويفات متوازية عرضياً تقريباً فى الخلايا الأسطوانية.

ب ـ تكون اللويفات متشابكة أو شبكية تقريباً فى الخلايا الكروية المضلعة.

وخطوات إختبار انحناء الساق المنشقة للبسلة كما يأتى:

١ ـ تنبت بذور البسلة وتنمو بادراتها فى الظلام لمدة ثمانية أيام. تعرض البادرات لمدة ثلاث ساعات للضوء الأحمر يومياً لزيادة حساسيتها للأوكسين.

٢ ـ ثم تجمع السيقان وتزال قمتها ثم يزال جزء طوله حوالى ١ سم طولا بين السلامية الثانية والثالثة وهو المستخدم فى الاختبار.

٣ ـ ثم يغمس الجزء فى ماء مقطر لمدة ساعة لإزالة أى أوكسين طبيعى يمكن أن يوجد فى قطاع الساق.

٤ ـ ثم يشق الجزء طولياً وبعمق ٠,٧ سم ثم يوضع فى طبق بترى محتوى على ٢٥ سم٣محلول الأوكسين، وعادة ما يوضع من خمس إلى ست أجزاء فى طبق بترى فى الطرق العادية.

٥ ـ بعد فترة التحضين التى تتراوح فى حدود ست ساعات يسجل إنحناء قمة الساق المنشقة (شكل ٧٦).

يوجد العديد من طرق التقدير الحيوى الآخرى بعضها ذات إستخدام خاص ومعين أما البعض الآخر فهو ذات تطبيق عام، إلا أن طرق التقدير الحيوى التى ذكرت هنا هى أكثرها استخداما بصفة عامة. ومن الطرق التى ذكرت فإن إختبار إنحناء غمد ريشة الشوفان أفضلها للتقديرات الكمية إلا أنها تختص بالمركبات التى تنتقل بسرعة بطريقة قطبية. أما فيما يختص بإختبارات قطاعات غمد ريشة الشوفان وقطاعات ساق البسلة المنشقة فإنها تصلح تحت ظروف مدى واسع من التركيزات، إلا أنهما لا يستخدمان للتقديرات الكمية للتركيزات المنخفضة من الأوكسين كتلك التى توجد فى المستخلصات النباتية. أما اختبار تثبيط جذر حب الرشاد فهو أكثر حساسية عن إختبار إنحناء غمد ريشة الشوفان حيث أنه يمكن أن يبين التركيزات المنخفضة جداً وللغاية من الـ IAA. إلا أن الإختلافات البسيطة فى تركيزات الأوكسين لا يمكن إدراكها باختبار تثبيط الجذر حيث أن استجابتها ذات نسبية تقريبية للوغاريتم تركيز الأوكسين.

ثانيا: طرق كيماوية Chemical tests

وتشمل عديد من الطرق ومنها ما يأتى:

١- إختبار Salkowski :

الأساس فى هذا الإختبار أن إندول حامض الخليك يكون لون عند مزجه بمركبات معينة تسمى دليل أو كشاف reagent. يتناسب تركيز اللون طردياً مع تركيز الأوكسين. يمكن مقارنة تركيز اللون بالعين المجردة مع عينة للمقارنة وتكون النتيجة وصفية. يمكن قياس درجة تركيز اللون بجهاز لقياس الألوان colorimeter كميا حيث يقيس هذا الجهاز درجة إمتصاص أشعة ذات طول موجه معين وتزداد درجة إمتصاص الأشعة كلما زاد تركيز اللون. أى أن الجهاز يقيس درجة تركيز اللون. يمكن تحديد تركيز الأوكسين بواسطه منحنى قياسى standard curve. عند مزج إندول حامض الخليك مع الدليل فإنه يتكون لون أحمر. يتكون هذا الدليل من مخلوط من ٢ مل من محلول كلوريد الحديديك بتركيز ٠,٠٥ جزيئى مع ١٠٠ مل حامض perchloric تركيزه ٥٪. مدة التجربة هى نصف ساعة. يمكن قياس درجة تركيز اللون عند طول موجه ٥٣٠ نانومتر بواسطة الجهاز.

أقل كمية يمكن قياسها بهذه الطريقة هى ٠,٢ ملليجرام/لتر من الأوكسين. فى كثير من الحالات يكون تركيز الأوكسين فى العينة النباتية أقل من ذلك وفى هذه الحالات تستعمل الأختبارات الحيوية لأنها أكثر دقة وحساسية وتقيس تركيزات أقل من الأوكسينات.

٢ - إختبار إيرلش Erlich test :

يعتبر الأساس فى هذا الأختبار هو الأساس فى التجربة السابقة إلا أن تركيب الدليل يختلف. يتكون المحلول المستخدم من P-dimethylaminobenzaldhyde وحامض إيدروكلوريك ويعطى لون أحمر بنفسجى فى وجود الأوكسين وعند إضافة كلوريد الحديديك يتحول اللون إلى البنفسجى.

٣ - إختبار هوبكنز كول Hopkins - Cole test :

يتكون المحلول من حامض glyoxylic وحامض كبريتيك مركز وحيث يتكون لون أحمر بنفسجى فى وجود الأوكسين. درجة حساسية الأختبار ١ ميكروجرام لكل مل ويفضل أن لا يقل عن ٤ ميكروجرام لكل مل.

يمكن إستخدام جهاز لقياس الألوان colorimeter لتقدير التركيز كميا.

٤ ـ إختبار النيتريت Nitrite test :

يحتاج هذا الأختبار تركيزات كبيرة نسبيا من الأوكسين تتراوح بين ٠,٠١ إلى ٠,١٥ ملليجرام لكل مل. يتم تحضير ٥٠ مل من محلول الأوكسين ويضاف إليها ٠,٥ مل محلول صمغ عربى تركيزه ٥ ٪ ثم يضاف ٢مل محلول نيتريت بوتاسيوم تركيزه ٠,٥ ٪ ثم يضاف بعد ذلك ٠,٤ مل حامض نيتريك مركز. تضاف المحاليل السابقة على التوالى وبالترتيب السابق. يتم هز المخلوط جيدا ثم يترك لمدة ساعتين على درجة حرارة الغرفة. يتكون لون أحمر فى حالة وجود الأوكسين يتناسب تركيز اللون الأحمر مع تركيز الأوكسين طرديا. يمكن قياس درجه تركيز اللون بواسطة جهاز قياس الألون colorimeter يمكن تقدير تركيز الأوكسين بعمل منحنى قياسى فى هذه التجربة وفى جميع التجارب الثلاثة السابقة.

٥ ـ إختبار كلوريد الحديديك Ferric Chloride test :

يحتاج هذا الأختبار إلى تركيزات كبيرة نسبيا من الأوكسين تتراوح بين ٠,٠٢ إلى ٠,١ ملليجرام لكل مل. يضاف ٠,٠٥ مل كلوريد حديديك ١٠/١ جزيئى إلى ١٠مل حامض كبريتيك. ثم يضاف ١٤,٥ مل ماء مقطر ثم يتم رج هذا المحلول والتبريد حتى درجة حرارة الغرفة. وبعد ذلك يضاف ٥ مل من محلول الأوكسين. ثم الرج جيدا والتبريد حتى درجة حرارة الغرفة. يتكون لون أحمر فى حالة وجود الأوكسين. يمكن قياس تركيز اللون الأحمر كما فى التجربة السابقة.

٦ ـ إختبار إهمان Ehmann test :

يعتبر هذا الأختبار خليط من طريقة Salkowski وطريقة Ehrlich (Van Urk). يضاف للعينة المراد إختبارها دليل أهمان. يكون حجم العينة المختبره خمسون ميكرولتر (Ul) من ٥٠ ٪ كحول إيثيل ويضاف لها دليل أهمان والذى يتكون من خليط من دليل Salkowski ودليل إيرلش بنسبة ١ : ١. يتم تسخين الخليط لمدة نصف ساعة

على درجة حرارة ٤٥ درجة مئوية حيث يتكون لون ثابت فى حالة النتيجة الإيجابية ثم يتم تخفيف المخلوط إلى واحد مل بواسطة كحول إيثيل تركيزه ٥٠٪. درجة تركيز اللون تدل على تركيز الأوكسين. يمكن قياس التركيز بواسطة جهاز قياس الألوان على طول موجه ٦١٥ نانومتر. يمكن التعرف على تركيز الأوكسين من منحنى قياسى للأوكسين.

تعتبر حساسية هذه الطريقة كبيرة حيث أنها حساسة لأجزاء من الميكروجرام. ومن عيوب هذه الطريقة أنه يمكن أنه يتداخل فى القياس أنواع أخرى من الأندول وأيضا بعض الفينولات ومركبات phenylpropanes ولكن لا يحدث ذلك إلا فى حالة وجود هذه المركبات بتركيزات تزيد عن تركيز الأوكسين من مائة إلى ألف مرة أو تزيد.

٧ ـ طريقة التحليل الكروماتوجرافى بالورق Paper chromatography :

يستعمل فى هذه الطريقة ورق معين خاص بالتحليل الكروماتوجرافى. يمكن فصل الأوكسين على هذا الورق بسهولة وذلك فى وجود مذيبات مناسبة. يظهر الأوكسين على الورقة فى صورة بقعة spot عديمة اللون. ولأظهار اللون لابد من إستعمال صبغات خاصة. حيث يتم رش الورقة بالصبغة أو غمر الورقة فى الصبغة، فيتكون نتيجة لذلك بقعة مصبوغة بلون معين تبعا للون الصبغة. يمكن إستعمال دليل salkowski فيظهر لون البقعة أحمر. يتناسب تركيز لون البقعة طرديا مع تركيز الأوكسين.

٨ ـ طريقة التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة Thin layer chromatography :

يستعمل فى هذه الطريقة نوع معين من السيليكاجل silica gel وتستخدم فى صورة طبقة رقيقة على لوح زجاجى أو ما يشابهه. يمكن فصل الأوكسين بسهولة على السيليكاجل فى وجود مذيبات مناسبة. يظهر الأوكسين على السيليكاجل فى

صورة بقعة عديمة اللون. لإظهار هذه البقعة لابد من صبغها. يتم رش طبقة السيليكاجل بصبغة معينة تصبغ البقعة بهذه الصبغة تبعا للون الصبغة. فى حالة إستعمال دليل Salkowski يكون لون البقعة أحمر يتناسب تركيز لون البقعة طرديا مع تركيز الأوكسين. يمكن قياس تركيز الأكسين فى البقعه الملونه وأيضا فى الطريق السابقه بواسطه جهاز scanner.

٩ ـ طرق سيريولوجية Radio - Immunoassay (RIA):

يتم تحضير أجسام مضادة antibodies وذلك بإرتباط أى تزاوج coupling أندول حامض الخليك مع ألبيومين مصل الدم serum albumin فى وجود الفورمالدهيد. يتم قياس تركيز إندول حامض الخليك الحر فى المجموع الخضرى لنبات الذرة بهذه الطريقة. ولكن فى حالة إستخلاص الأوكسين من أنسجة النبات يمكن أن يحدث خطأ فى تقدير التركيز حيث يحدث أثناء الأستخلاص تحلل قلوى للأوكسين alkaline hydrolysis. يمكن بهذه الطريقة عمل تقديرات كثيرة للنبات الواحد فى زمن قليل حيث يمكن عمل مئات من التقديرات فى اليوم الواحد مع درجة عالية جدا من الحساسية.

أساس هذه الطريقة أن الهورمون النقى يعامل باليود المشع ويخلط بالعينة المراد إختبارها والتى تحتوى على هورمون غير مشع. يتنافس الهورمون المشع والهورمون الغير مشع المراد إختباره على التفاعل مع الأجسام المضادة الخاصة بالهورمون. كلما زاد تركيز الهورمون فى العينة المراد إختبارها كلما قل أحتمال تفاعل الهورمون المشع مع الأجسام المضادة. وبقياس تركيز الهورمون المشع المرتبط مع الأجسام المضادة وذلك بواسطة جهاز عداد أو قياس لتركيز الأشعاع يمكن معرفة تركيز الهورمون فى عينة النبات وذلك بأستعمال منحنى قياسى standard curve. وكلما زاد تركيز الهورمون المشع المرتبط بالأجسام المضادة كلما قل تركيز الهورمون العادى فى العينة المختبرة والعكس صحيح. لكى يتم قياس تركيز الهورمون المشع المرتبط بالأجسام المضادة لابد من فصله من المحلول ويكون ذلك بأستعمال طريقة الهجره فى مجال كهربائى

electrophoresis. حيث يتم فصل الهورمون عن الهورمون المرتبط بالأجسام المضادة. ويوجد طريقة أخرى لفصل الهورمون المشع المرتبط بالأجسام المضادة عن الهورمون المشع أو العادى وذلك بعمل إرتباط بين الأجسام المضاده ومادة غير ذائبة فى الماء insoluble support مثل السيليلوز ثم خلط الأجسام المضادة الملتحمة مع السيليلوز مع مخلوط الهورمون المشع والهورمون العادى الموجود فى العينة المراد أختبارها وبعد حدوث التفاعل تجرى عملية طرد مركزى حيث ترسب الأجسام المضادة الملتحمة مع السيليلوز والمرتبطة مع الهورمون المشع أو الغير مشع وذلك لثقل وزنها ويبقى فى supernatant الهورمـون ثم يجرى التخلص من supernatant وذلك بسبكه ويبقى فى الراسب الهورمون الملتحم بالسيليلوز والمرتبط بالأجسام المضادة (شكل ٧٩أ).

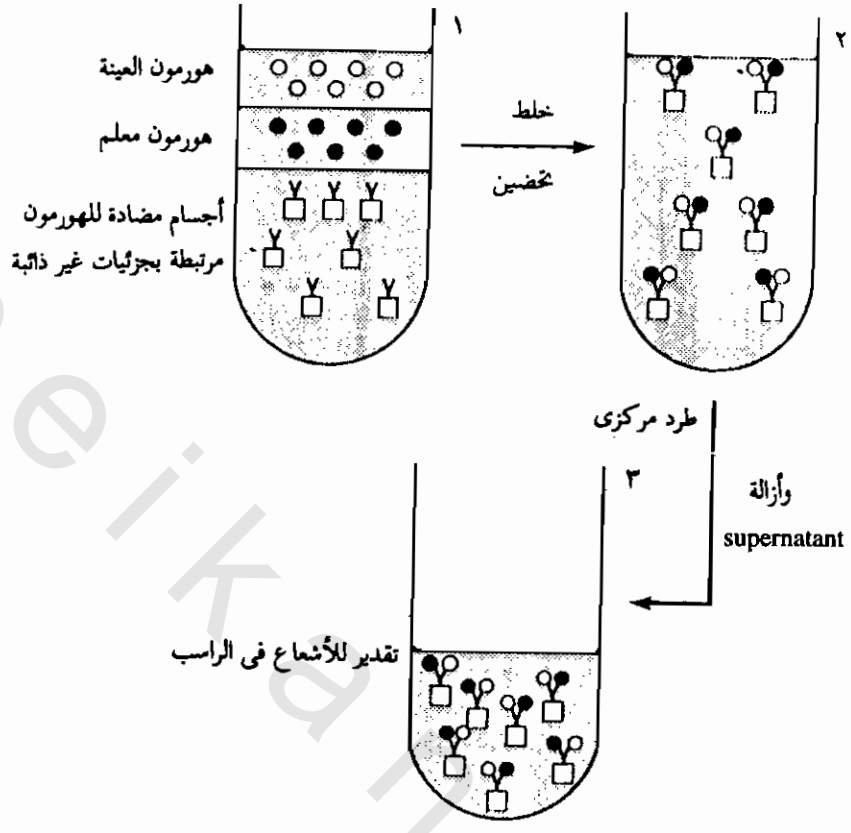
١٠ ـ طريقة الأنزيم الغير قابل للأنتقال Immobilized enzyme assay :

وفيها تستخدم أنزيمات معينة غير قابلة للأنتقال وتقوم بعمل تفاعل معين فى النبات. يمكن أيضا بهذه الطريقة عمل تقديرات كثيرة للنبات الواحد فى زمن قصير حيث يمكن عمل مئات من التقديرات فى اليوم الواحد مع درجة عالية جدا من الحساسية.

١١ ـ الطرق اللونية باستخدام Ultra Violet spectrophotometer :

عند استخلاص أوكسين نباتى وتنقيته تماما (لأن هذه الطريقة لا تصلح على الاطلاق إلا إذا كان IAA نقى تماما). يمكن إذابة هذا الأوكسين النقى فى مذيب ويفحص بواسطة أشعة UV. يمكن التعرف على تركيزه بقياس درجة الامتصاص للأشعة فوق بنفسجية عند طول موجة ٨٢٠ نانوميتر.يمتص إندول حامض الخليك هذا الطول من الأشعة فوق البنفسجيه بشدة. يستعمل فى ذلك جهاز uv spectrophotometer. يمكن عمل منحنى قياسى لقياس التركيز.

وفى هذه الطريقة لابد وأن يكون الأوكسين نقى تماما فيمكن أن تستعمل بكفاءة عند إذابة مسحوق الأوكسين النقى فى مذيب عضوى مناسب ثم تخفيفه بالماء وتقدير تركيزات مختلفة من الأوكسين لعمل المنحنى القياسى للتركيزات standard curve.



(شكل ٧٩أ) : طريقة Radio-immunoassay.

١ ـ أنبوبة بها هورمون عادى المراد أختبار تركيزه وهورمون معلم وأجسام مضاده للهورمون.

٢ ـ خلط وتحضين لمحتويات الأنبوبة وأرتباط الهورمون بالجسم المضاد.

٣ ـ راسب بعد القوة الطاردة المركزية وتقدير تركيز أو درجة الأشعاع فى هذا الراسب.

وفى حالة إستخلاص الأوكسين من عينة نباتية فلا يمكن أستعمال هذه الطريقة إلا بعد تنقية الأوكسين بواسطة paper or thin layer chromatography ثم إذابة الأوكسين المفصول على ورق الكروماتوجرافى أو على السيليكاجل فى مذيب عضوى مناسب ثم يتم تقديره بهذه الطريقة. يفضل أن تكون الإضاءة أثناء هذه الخطوات ذات لون برتقالى أو أحمر أو أخضر.

١٢ ـ طريقة Gas Chromatography :

وتعتبر هذه من أدق الطرق حيث أن المشتق المتطاير للأوكسين أى IAA يمكن فصله عن الشوائب الموجودة فى مستخلص الأوكسين وذلك برفع درجة الحرارة بدرجة كبيرة. ويحدث ذلك الفصل عند مرور المشتق المتطاير للأوكسين فى غاز عمود column به مجموعة من المواد معينة، وهذه المواد تمتص الأوكسين وأيضا تمتص كل شائبة من الشوائب ولكن تمتص الأوكسين على حدة وفى زمن معين وأيضا كل شائبة على حدة وفى زمن معين differentially absorbs hormones and impurities. وبذلك يتم فصل الأوكسين عن الشوائب ويصبح فى صورة نقية فى داخل الجهاز.

يتم إجراء الأختبار ولابد من تنقية أوكسين العينة المستخلصة من النبات قبل حقنها و يكون ذلك بطرق عديدة أما الأوكسين النقى فيتم حقنه مباشرة. يتم حقن الأوكسين النقى فى الجهاز بواسطة حقنه. توجد وحده تسخين بالجهاز لرفع درجة حرارة الأوكسين المحقون بدرجة كبيرة حتى يصبح شق متطاير فى صورة غازية يمر على العمود ويتم رسم خط بواسطة الجهاز.

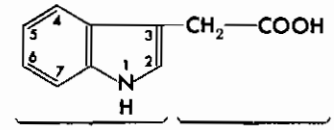
ويكون الخط مستقيم ولكن به أشكال تشبه رقم ٨ وقد تكون واسعة إلى ضيقة جدا ولها قمم peaks وفى حالة وجود الأوكسين فى العينة فإنه يتكون شكل ٨ ذو قيمة معينة محدودة على مسافة معينة من بدء التسجيل أى من بداية الخط.

١٣ ـ طريقة Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS):

يمكن بهذه الطريقة قياس التركيز بكفاءة وبسرعة وبدقة وفى تركيزات أثرية أجزاء من nanogram. يستعمل فى هذه الطريقة أندول حامض الخليك معلم أى مشع ويكون الإشعاع فى ذرات الإيدروجين أى تكون فى صورة ديوتيريم deuterium. يستعمل فى هذه الحالة هذا الأوكسين كأوكسين داخلى قياسى a desirable internal standard. أمكن تخليق أندول حامض خليك فيه ذرات إيدروجين مشعة فى حلقة الأندول على ذرات الكربون رقم ٤ و ٥ و ٦ و ٧ (شكل ٨٠). فى حالة أندول حامض الخليك الذى يحتوى على ذرة إيدروجين مشعة أى

ديوتيريم على ذرة الكربون رقم ٢ فى السلسلة الجانبية لحلقة الأندول وليست فى حلقة الأندول نفسها يمكن أى يحدث تبادل للديوتيريم فى حالة وجود محلول قلوى والعكس صحيح فى حالة أندول حامض الخليك السابق والذى يحتوى على أربعة ذرات ديوتيريم فى حلقة الأندول ويكتب هكذا d4 -IAA حيث أنه ثابت تماما حتى فى المحلول القلوى ولا يحدث أى تبادل للديوتيريم is not exchanged in alkaline solution ولذلك فإنه يستعمل كأوكسين قياسى داخلى internal stand ard حتى فى الأختبارات التى يحدث فيها تحلل قلوى alkaline hydrolysis. بعد إضافة تركيزات محدده من d4 -IAA وأيضا من ^{14}C-IAA وذلك للسماح لعمل monitoring. ويتم تنقية إندول حامض الخليك بواسطة DEAE-Sephadex وأيضا بواسطة طور عكسى من reverse phase of HPLC-HPLC .. يتم عمل methylation أ ى إدخال مجموعة ميثيل بواسطة مركب diazomethane للعينة ثم يتم عمل تحليل كروماتوجرافى على عمود GLC متوسط القطبية polarity ويفضل أن يكون العمود أنبوبة شعرية من الكوارتز جدارها مغلف coated. يمكن عمل monitoring لأندول حامض الخليك النباتى فى حالته الجزيئية الأيونية molecular ion ١٨٩, والجزء الكبير من الجزيئ فى صورة أيونية major fragment ion ١٣٠, . بينما يقاس d4 -IAA عند الكتلة mass ١٩٣ وأيضا عند ١٣٤ . وحيث أن كمية d4 -IAA المضافة معلومة يمكن حساب كمية IAA فى النبات. فى حالة إختلاف النسبة المئوية لـ d4 -IAA فى الوزنين يكون دليل على وجود أيون ملوث فى أحد الوزنين. يمكن زيادة كفاءة هذه الطريقة بإستعمال tandem mass spectrometry أو negative ion mass spectrometry .

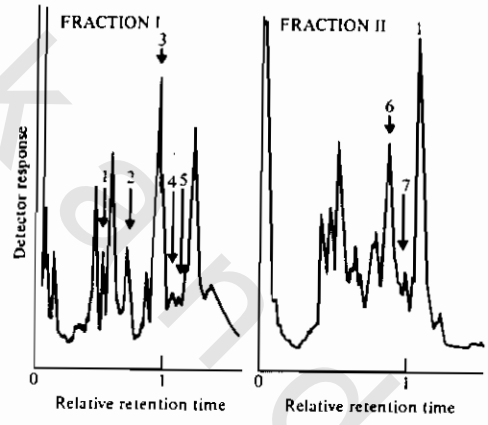
أستخدام طرق gas chromatography مع طرق mass spectroscopy أى gas chromatographic-mass spectroscopic methods قد تطورت بدرجة كبيرة بحيث أنها تقيس هورمونات النمو plant growth hormones بكفاءة عالية. تحتاج هذه الطرق إلى أجهزة مكلفة غالية الثمن ومعقدة ولكنها فائقة الدقه فى قياساتها الكمية للهورمونات ولايوجد لها مثيل فى هذا الصدد. وقد أمكن أستخدام هذه الطريقة فى تقدير تركيز خليط من الأوكسينات والجبريللينات والسيتوكينينات وحامض الأبسيسك فى لوز القطن (شكل ٨٠ أ).



حلقة الأندول

سلسلة جانبية عبارة عن حامض خليك

(شكل ٨٠) : التركيب الجزيئى لأندول حامض الخليك وذرات الكربون مرقمه.



(شكل ٨٠ أ) : أستخدام GC-MS فى تقدير الهورمونات النباتية فى لوز القطن.

١ ـ أندول حامض الخليك

٢ ـ ABA

٣ ـ جبريللين ١٣

٤ ـ جبريللين ٤، ٧

٥ ـ جبريللين أو حامض جبريلليك

٦ ـ dihydrozeatin

٧ ـ zeatin

تدل peaks على وجود المركبات السابقة.

التأثيرات الهامة للأوكسينات وبعض التطبيقات الاقتصادية لها

للأوكسينات تأثيرات كثيرة على النباتات الزهرية وأهمها ما يأتى:

١ ـ استطالة الخلايا Cell Elongation:

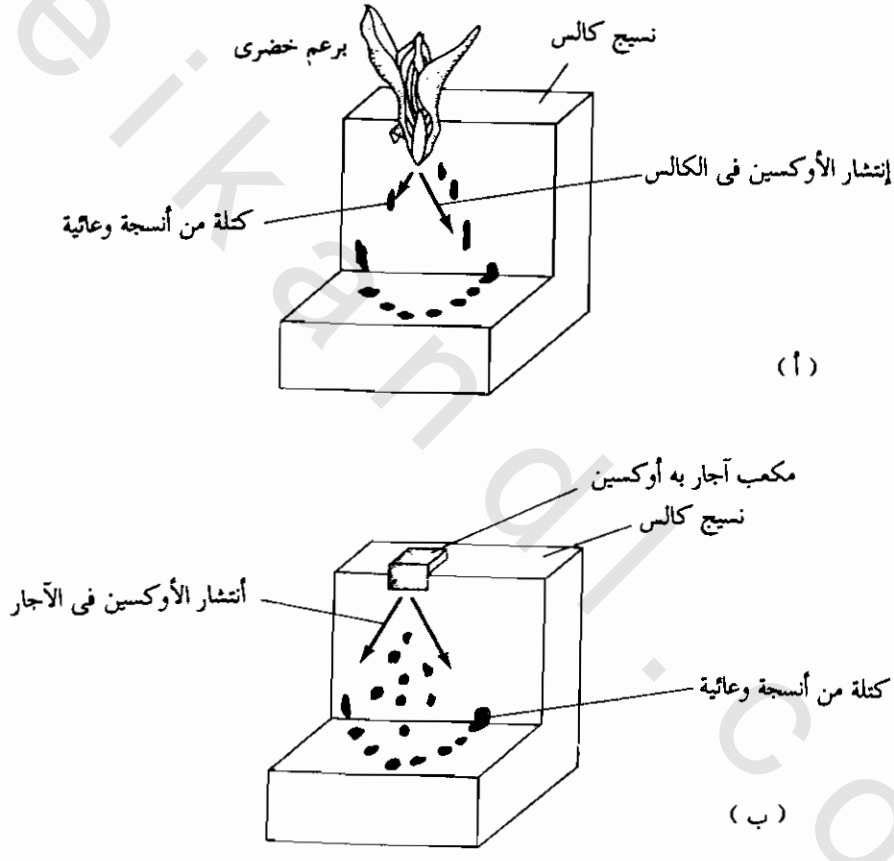
من المعروف أن الأوكسينات تسبب استطالة للخلايا وكبرها فى الحجم حيث تؤثر على الجدار الخلوى وقد وجد علاوة على ذلك أنها عامل فعال فى تكوين mRNA وأنه لابد من وجود الأوكسين لكى يتكون هذا الحامض النووى بحالة عادية ومن المعروف أن هذا الحامض النووى مع الأنواع الأخرى تشترك فى تخليق البروتين والذى يلزم تكوينه بدرجة واضحة لكى يملأ الخلية ولكى لا تصبح الخلية فيها جزء كبير فارغ نتيجة لتمدد الجدار وعدم تخليق بروتين جديد. ومن المعروف أن تخليق البروتين يلزم له مباشرة وجود السيتوكينيات كما سيلى ذكره. أى أن تأثير الأوكسين على تخليق البروتين يكون بطريقة غير مباشرة وذلك عن طريق تحكمه فى تخليق mRNA أى RNA رسول .

٢ ـ إنقسام الخلايا Cell Division:

من المعروف أن الأوكسينات تأثيرها الرئيسى هو على استطالة الخلايا ولكن قد يكون لها دور أيضا فى إنقسام الخلايا وفيما يلى حالات كثيرة تثبت ذلك :

أ ـ من المعروف والثابت الآن أن التغليظ الثانوى الذى يحدث فى الأشجار فى فصل الربيع هو نتيجة لوجود الأوكسينات وأيضا الجبريللينات. فمن المعروف أنه فى كثير من النباتات والأشجار تحدث فترة سكون للأشجار وفى بعض الأنواع تتساقط الأوراق تماما وذلك فى النباتات متساقطة الأوراق حيث يكون نشاط النبات تقريبا معدوم. وعند حلول الربيع يحدث نشاط للبراعم الساكنة وتبدأ فى النمو وتعتبر مراكز نشطة لتخليق الأوكسينات حيث تنتقل الأوكسينات من هذه البراعم إلى الأفرع والسيقان والجذور ومن المعروف أنها مسئولة عن نشاط خلايا الكامبيوم وأنها أساسية لتكوين وتشكل خلايا نسيج الخشب بينما الجبريللينات تنشط فى ذلك

الوقت أيضا ولكنها هى المسئولة عن تكوين وتشكل خلايا اللحاء. وكما سبق أن درسنا أن التغليظ الثانوى ينتج عنه خشب ثانوى ولحاء ثانوى وهذه الحالة من الوجهة التشريحية البحتة ولكن من الوجهة الفسيولوجية الحديثة أن الأوكسين هو المسئول عن تكوين وتشكل نسيج الخشب وأن الجبريللينات هى المسئولة عن تكوين وتشكل خلايا اللحاء. وقد أمكن إثبات ذلك كل على حدة باختبار تأثير الأوكسينات على حدة واختبار تأثير الجبريللينات على حدة وذلك خارج النبات وذلك باستعمال مزارع الأنسجة (شكل ٨١).



(شكل ٨١) : تأثير الأوكسين على تكوين الأنسجة الوعائية.

أ ـ برعم من نبات الشيكوريا *Cichorium intybus* فى نسيج كالس.

ب ـ مكعب آجار به أوكسين فى نسيج كلس.

بأستعمال مكعب من نسيج الكالس موجود فى بيئة مناسبة ووضع قمة نامية لساق نبات على قمة هذا الكالس فإن خلايا الكالس يحدث فيها تغيير فى التركيب على إمتداد القمة النامية للساق (نسيج الكالس callus عبارة عن نسيج يتكون من خلايا رقيقة الجدر لا تكون فى مجموعها شكل معين disorganised محدد) حيث تتكون أجزاء فى الكالس عبارة عن أنسجة وعائية وتحتوى هذه الأنسجة الوعائية على نسيج الخشب. وبتكرار نفس التجربة على مكعب آخر من الكالس مع استبدال القمة النامية بمكعب من الآجار يحتوى على إندول حامض الخليك فإن النتيجة تكون متماثلة تماما فى الحالتين ويدل ذلك على أن الأوكسين له دور فى إنقسام خلايا الكمبيوم وأيضا له دور فسيولوجى ثان وهو تشكل الخلايا الناتجة من إنقسام الكمبيوم وتحولها لخلايا الخشب أى خلايا الأوعية الخشبية. يعنى التشكل أو التميز differentiation هو أخذ الخلية الشكل النهائى والذى يتلاءم مع وظيفتها ويحدث ذلك فى خطوات عديدة ومثال ذلك تحول الخلية المرستيمية إلى خلية وعاء خشبى.

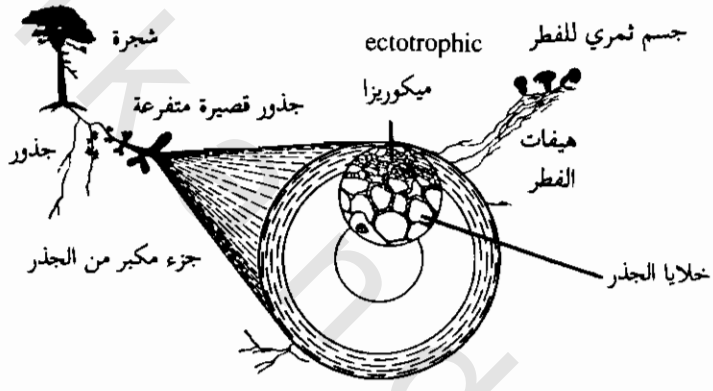
مما سبق أيضا يتضح أنه فى القمم النامية للساق فإن الأوراق الصغيرة الموجودة فى البرعم leaf primordia وأيضا أثناء كبر هذه الأوراق فى الحجم فإنها تكون أماكن نشيطة لتكوين وتخليق الأوكسين بتركيز عالى نسبيا. ينساب الأوكسين من قاعدة الورقة الصغيرة ويسبب تخليق لأنسجة الخشب بالقرب من قاعدة الورقة الصغيرة أى أن الأوكسين يشارك فى تكوين الخشب الأبتدائى فى القمة النامية وأيضا فى تكوين الخشب الثانوى أثناء التغليظ الثانوى فى الجذور والسيقان. تلخيصا لما سبق فإن للأوكسين دور هام فى إنقسام خلايا الكمبيوم حيث يساعدها على الإنقسام فى وجود السيتوكينينات وأيضا يسبب حدوث تشكل أى تميز للخلايا لتتكون بذلك خلايا الأوعية الخشبية. وبإجراء تجارب مشابهة أتضح أن الجبريللينات تنساب من الأوراق الصغيرة وأيضا فى البراعم الطرفية وتكون نسيج اللحاء الأبتدائى والثانوى أى أن لها دور فى تشكل الخلايا إلى لحاء.

ب ـ أنواع التطعيم المختلفة تعتبر أيضا حالة تطبيقية لوجود الأوكسين. فمن المعروف فى كثير من أشجار الفاكهة يستخدم أصل ويكون له جذور، ويستخدم هذا

الأصل لأن له مميزات لا توجد أو لا تتوفر فى الطعم ومثال ذلك مقاومة الأصل للأمراض أو له مميزات أخرى وعند وضع الطعم على الأصل فإنه ضرورى لنجاح عملية التطعيم أن يتكون فى منطقة الاتصال بين الأصل والطعم أنسجة وعلى الأخص وبالضرورة وجود أنسجة وعائية أى تحتوى على كل من نسيجى الخشب واللحاء لكى يكون التوافق تام بين الأصل والطعم. وهذه الحالة أيضا ثبت أن للأوكسينات فيها دور كبير، حيث تنتقل الأوكسينات من البراعم والقمم النامية وتنتقل قطبيا إلى أسفل فى مكان الالتحام بين الأصل والطعم لتساعد على تكوين وتشكل خلايا الأنسجة الوعائية وذلك بالاضافة إلى الجبريللينات كما سبق شرحه.

حـ ـ من المعروف أن كثير من العقد والتدرنات التى تتكون على النبات تقع تحت تأثير الأوكسينات الطبيعية فمن المعروف أنه لتكوين العقد الجذرية فى جذور النباتات البقولية فإنه يوجد نشاط كبير ملحوظ فى أماكن هذه العقد للأوكسينات الطبيعية وأهمها IAA. وأيضا فى الحالة المرضية لكثير من النباتات مثل التفاح والعنب وعباد الشمس والخوخ الخ والتى تتسبب عن البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* حيث تسبب هذه البكتيريا مرض crown gall أى التدرن التاجى. حيث يلاحظ فى ساق النبات عند سطح التربة وجود أورام تصل إلى حجم كبير فقد تصل إلى قطر ٨ ـ ١٠ سم وقد تزيد وأن فى هذه المناطق يكون نشاط IAA كبير جدا وملحوظ عنه فى الأجزاء الأخرى و فى نفس هذه المنطقة فى النباتات السليمة. ونفس القاعدة تنطبق على العقد الجذرية root knots التى تتسبب عن الديدان الثعبانية أى النيماتودا nematodes وهى المسئولة عن حدوث العقد والتدرنات الكثيرة التى توجد على الجذور والسبب فى ذلك هى أنواع من النيماتودا تتبع الجنس *Meloidogyne* حيث وجد أن فى مناطق هذه العقد نشاط كبير واضح لـ IAA وذلك بالمقارنة بالجذور السليمة كما وجد فى المناطق المصابة خلايا كبيرة الحجم تسمى بالخلايا العملاقة giant cells. وبالأضافة إلى ذلك توجد حالة الميكوريزا mycorrhiza وهى فطريات تعيش معيشة تعاونية مع جذور النباتات الراقية. وجد أن الجذور فى هذه الحالة تكون قصيرة عن المعتاد ومحدودة النمو وأكثر تفريعا كما أن

خلايا قشرة الجذور تكون كبيرة الحجم عن المعتاد وقد أمكن إثبات أن هذا التأثير راجع إلى وجود أندول حامض الخليك. وجد أن بعض فطريات الميكوريزا يمكن أن تفرز إندول حامض الخليك فى البيئة فى المعمل مثل *Boletus* و *Coprinus* و *Amanita*. وجد أن الجذور المقطوعة من نبات الصنوبر *Pinus sylvestris* وبواسطة مزارع الأنسجة حيث يتم زراعة الجذور المعقمة فى بيئة معقمة وتعامل بتركيزات مختلفة مناسبة من إندول حامض الخليك وجد أن الأوكسين له دور فعال فى ذلك وأن التركيزات المرتفعة من الأوكسين ٥ ـ ١٠ ملليجرام أوكسين/لتر تسبب قصر ملحوظ وأيضا تفريع فى كثير من الجذور الناتجة ومشابهة فى ذلك جذور الميكوريزا (شكل ٨٢).



(شكل ٨٢) : ectotrophic ميكوريزا لشجرة من المخروطيات conifers. يكون الفطر غلاف علي سطح الجذر وتنتشر هيفات الفطر بضعف علي المتبقيات علي سطح التربة مثل أوراق الأشجار المتساقطة litter ثم تكون علي سطح التربة أجسام ثمرية تشبه عيش الغراب.

ومما هو جدير بالذكر أيضا أن جميع الأمراض السابقة وهى مرض التدرن التاجى ومرض تعقد الجذور يتواجد فى مكان الإصابة خلايا كبيرة الحجم كما وجد المؤلف خلايا كبيرة الحجم بدرجة ملحوظة فى سيقان نبات فجل الجمل *Sysimbrium irio* المتدرنة المصابة بمرض البياض الزغبى. كما توجد خلايا كبيرة الحجم hypertrophy أيضا فى نسيج أو أنسجة جذور النبات المحتوية على بكتريا العقد الجذرية كما توجد أيضا فى الميكورهيزا.

وحيث أن البكتريا *Agrobacterium tumefaciens* المسببة لمرض التدرن التاجى فى كثير من النباتات لها دور هام فى الهندسة الوراثية كما أنها تنتج إندول حامض الخليك بكثرة حيث أن تركيبها الوراثى أى أن جزء من المادة الوراثية متخصص لإنتاج إندول حامض الخليك وجزء آخر متخصص لأنتاج السيتوكينين فسيتم شرح ذلك تفصيليا فى الباب الحادى عشر.

د ـ تكوين الجذور على العقل (التجذير)

من المعروف أنه فى كثير من النباتات الاقتصادية نلجأ إلى زراعة هذه النباتات وذلك بواسطة العقل كما يستعمل ذلك كثيرا فى نباتات الفاكهة وبعض نباتات الخضر ونباتات الزينة وبعض أشجار الغابات. فقد وجد أن غمر العقل الساقية وقد تكون أيضا عقل ورقية كما فى بعض النباتات فى محلول مخفف أو مركز من الأوكسينات ويمكن أيضا بدلا من الغمر فى المحاليل يمكن معاملة العقل بالرش بمحلول أو بعجينة من الأوكسين أو غمسها فى مسحوق من الأوكسين. وعامة فهذه طرق مختلفة للمعاملة وتستعمل هذه المعاملات المختلفة لتشجيع تكوين الجذور العرضية على العقل الساقية وبالتالى يساعد ذلك فى نجاح عملية التعقيل والزراعة بالعقل. فقد وجد أن الأوكسينات تساعد على تنشيط خروج الجذور العرضية وبالتالى سرعة خروجها ، وهذا عامل محدد هام فى نجاح الزراعة بالعقل حيث أن التأخير فى خروج الجذور العرضية للعقل بعد زراعتها ينتج عنه جفاف العقلة وموتها، أو خروج الجذور العرضية بكمية كافية وبسرعة ملائمة فإن ذلك يساعد على اتصال العقلة الساقية بالتربة اتصال سليم عن طريق الجذور وينتج عن ذلك نبات عادى لسرعة خروج الجذور العرضية. قد وجد فى كثير من الحالات أن النباتات التى يتم اكثارها بالعقل يمكن أن تنجح هذه العملية بدرجة أكبر عند معاملتها بالأوكسينات ومن أهم الأوكسينات المستعملة فى هذه الحالة أندول حامض البيوتريك ونفثالين حامض الخليك. وجد فى بعض الحالات والتى يصعب فيها تكوين الجذور العرضية طبيعيا أن المعاملة بالأوكسينات وخاصة التركيبية تساعد على خروج الجذور ونجاح الزراعة بالعقله.

وقد وجد فى بعض الحالات أن معاملة العقلة الساقية بمخلوط من أكثر من أوكسين يساعد بدرجة كبيرة جدا على كفاءة خروج الجذور العرضية عنه إذا استعمل أحدهما فقط. ومثال لذلك فى العقل الساقية لنبات *Camellia* فإن معاملة العقل الساقية بمخلوط من أندول حامض البيوتريك مع نفثالين حامض الخليك فإن ذلك يساعد على خروج الجذور بدرجة كبيرة. وهذا لا يعنى أن أى نبات يمكن أن نزرعه بالعقلة بعد معاملتها بالأوكسينات فإن كثير من النباتات التى لا تكون الجذور العرضية بسهولة ولا تنجح فيها عملية التعقيل تماما فإن المعاملة بالأوكسينات لا تفيد أيضا مثل المانجو والكافور والجوز والجاكاراندا. وقد وجد فى حالات أخرى عكس ما سبق حيث أن معاملة العقل الساقية، والتى تكون الجذور العرضية بكفاءة عالية طبيعيا، بواسطة الأوكسين تقلل بدرجة كبيرة من كفاءة تكوين الجذور العرضية والتعليل لذلك أن العقل الساقية تحتوى على تركيز من الأوكسين إلى حد ما مناسب وأن إضافة كمية أخرى من الأوكسينات قد تسبب تأثير عكسى. معنى ذلك أنه عند استعمال الأوكسينات فى الزراعة بالعقل لابد أن نكون على علم بفاعلية الأوكسينات فى تكوين الجذور العرضية للنبات المراد زراعته.

وأما عن التفسير العلمى لذلك فإن إندول حامض الخليك يشجع خلايا فى الجذر، عادة تكون البريسيكل وقد تشارك معها خلايا الأندودرمس تبعا لنوع النبات، على الأنقسام لتكوين الجذور الجانبية ومنها الجذور الثانوية. ولذلك فإن خروج الجذور الثانوية من الجذر الأصلى يرجع إلى نشاط خلايا البريسكيل بدرجة كبيرة ويكون ذلك نتيجة لتنشيط الأوكسين لهذه الخلايا وذلك بدفعها على الأنقسام بسرعة كبيرة. وأيضا نفس الحالة فى الجذور العرضية حيث أن الأوكسين يشجع خلايا الكمبيوم، على الأنقسام فى عقلة الساق وتنشط لتكون الجذور العرضية. وقد ينشط الأوكسين خلايا مرستيمية أخرى وتنقسم لتشترك فى تكوين الجذور العرضية حيث أنه من المعروف أن بعض الخلايا البالغة وخاصة البارنشيمية تستعيد قدرتها على الإنقسام.

وفيما يلى شرح للطرق العملية المختلفة المستعملة لمعاملة العقل لنجاح عملية التعقيل أى لتنشيط التجذير أى خروج الجذور العرضية.

طرق المعاملة بالأوكسينات

تعامل أجزاء مختلفة من النبات بالأوكسينات وفيما يلى وصف لطرق المعاملة فى كل حالة

أولا: العقل الساقية Stem cuttings

تعامل العقل الساقية بطرق مختلفة وهى ما يأتى:

١ ـ طريقة عجينة اللانولين Lanolin Paste

يعتبر اللانولين مادة دهنية طرية ناعمة soft fat يتم تحضيرها من الصوف وهى تتميز بذوبان الأوكسينات فيها. تستخدم عجينة اللانولين بما فيها من أوكسينات ذائبة فى معاملة أعضاء نباتية عديدة. عند معاملة قاعدة العقلة بعجينة اللانولين فإنها تلتصق بها جيدا ولا تجف وبذلك فإنها تحافظ على تركيز الأوكسين على الجزء المعامل لمدة طويلة. يعتبر اللانولين عجينة خاملة ليس لها أى تأثير على النبات ويعتبر ذلك أحد مميزاتها . يمكن أن يذوب فى اللانولين إندول حامض البيوتريك ونفثالين حامض الخليك بتركيزات تتراوح بين ٠,٠١ إلى ٠,٠٥ فى المائة.

٢ ـ طريقة المحلول المخفف Dilute Solution method

تعتبر أول طريقة أستعملت فى هذا الصدد ولازالت هى الطريقة المستعملة والمفضلة حتى الآن. حيث يتم تحضير محلول مركز من الأوكسين وذلك بإذابة الأوكسين فى كحول إيثانول ٩٥٪ ثم يتم تخفيفه حتى التركيز المناسب. تستعمل تركيزات تتراوح بين ٠,٠٠٠٥ إلى ٠,٠١ فى المائة وذلك يتوقف على نوع الأوكسين المستعمل ونوع المعاملة. يتم غمر الجزء القاعدى من العقل أو يتم غمر العقلة فى محلول الأوكسين لمدة ساعات. تختلف المدة بإختلاف نوع العقله وأيضا

الظروف البيئية أثنا غمر العقل ففى حالة العقل الطرية أى عقل الخشب الرخو العصيرى softwood فإنها تحتاج من ساعة إلى ساعتين فى تركيز ١ .,٠ ٪ أو ١٠ إلى ٢٤ساعة فى تركيز ٠,٠٠٠٥ ٪. وفى حالة العقل الصلبة أى عقل الخشب الصميمى المأخوذة فى الشتاء فإنه يفضل فى بعض الحالات تخزينها أولا على درجة حرارة منخفضة تتراوح بين ١/٢ إلى ١٠ درجة مئوية لمدة شهر أو شهرين لكى يتكون نسيج كالس على الجزء القاعدى من العقلة وذلك قبل المعاملة بالأوكسين. ثم تستعمل طريقة الغمر السابق ذكرها. وجد أن غمر العقلة كلها فى محلول الأوكسين أفضل من غمر قاعدة العقلة فقط وذلك فى بعض النباتات مثل قصب السكر. تعتبر التركيزات السابقة متوسط عام ويمكن أستعمال تركيزات أخرى خلاف ذلك وحيث يتوقف ذلك على نوع النبات وموعد أخذ العقلة ونوع الأوكسين.

أمكن حقن محلول الأوكسين داخل العقله وذلك فى حجرة مفرغة من الهواء وذلك لزيادة سرعة إمتصاص الأوكسين داخل العقلة ولكن لم تعط هذه المعاملة ميزة مؤكدة فى هذا الصدد بالمقارنة بالمعاملة العادية لغمر العقل ولذلك يفضل أستعمال طريقة الغمر العادية.

وفيما يلى شرح تفصيلى لكيفية تجهيز محلول الأوكسين.

وفى هذه الطريقة يجهز التركيز المطلوب عن طريق وزنه معلومه من منظم النمو المختار والذى يستجيب له النبات المتكاثر بإخراج مزيدا من الجذور الجيدة على قواعد العقل. ثم تذاب هذه الوزنة أولا فى ١ ـ ٣ سم٣ من الكحول المناسب ثم تكمل بالماء للحجم المعلوم الذى يحقق التركيز المطلوب. فمثلا إذا أريد تجهيز لتر من اندول حمض الخليك بتركيز ١٠٠٠ جزء فى المليون فيوزن جرام واحد من مسحوق اندول حمض الخليك ثم يذاب فى كأس نظيفة صغيرة بها ٣ ملليلتر من كحول الايثايل حتى يذاب تماما مسحوق اندول حامض الخليك ثم ينقل إلى دورق معيارى يحتوى ٩٩٧ سم٣ من الماء ويقلب جيدا. ثم ينقل منه الحجم المطلوب إلى كأس

زجاجية واسعة الفوهة. بعد ذلك تغمس قواعد العقل المجهزة فى هذا المحلول لمدة تختلف بإختلاف العديد من العوامل منها على سبيل المثال نوع العقل الساقية (وسطية أو طرفية أو خشبية)، التركيز المستخدم، فتقل مدة غمر قواعد العقل كلما زاد التركيز المستخدم، كذلك نوع منظم النمو وغيرها من العوامل. ويتراوح التركيز بصفة عامة من ١٠٠ جزء فى المليون وحتى ٢٠,٠٠٠ جزء فى المليون. كذلك تتراوح فترات غمر قواعد العقل من ثوان قليلة إلى ٧٢ ساعة. ويلاحظ زراعة العقل عقب انتشالها بنصف ساعة من المحلول المنشط للتجذير. وتؤدى هذه المعاملة إلى زيادة عدد الجذور على العقلة الواحدة، هذا فضلا عن استطالة الجذور الناتجة بالاضافة إلى قصر وقت خروج الجذور على قواعد العقل المتكاثرة.

٣ ـ طريقة الغمر فى محلول مركز Concentrated dip method

وفى هذه الحالة يتم غمر قاعدة العقلة فى محلول مركز من الأوكسين ذائب فى كحول إيثيل تركيزه ٥٠٪ يمكن أستعمال تركيزات مرتفعة نسبيا من الأوكسين ١,٠٪ ولكن من الأفضل أن تستعمل تركيزات أقل من ذلك خاصة وأن بعض الأوكسينات مرتفعة الثمن مثل إندول حامض البيوتريك. يتم عمل حزمة صغيرة من العقل ويتم غمر قاعدتها بطول ٢,٥ سم عادة ولمدة ثانية إلى خمس ثوان فى المحاليل المركزة ثم تترك بعد الغمر ليسمح لتطاير الكحول وبذلك تتكون طبقة رقيقة من الأوكسين تغطى قاعدة العقلة. يتم بعد ذلك زراعة العقلة مباشرة فى بيئتها الطبيعية. تتميز هذه الطريقة عن السابقة بأنها تحتاج زمن قليل وتتلافى مضار وزمن غمر العقل الطويل. يمكن معاملة عقل التفاح hardwood بهذه الطريقة.

٤ ـ طريقة المسحوق Dust method

فى هذه الطريقة يتم معاملة قاعدة العقل بواسطة مسحوق من مادة خاملة مثل بودرة التلك أوالطين أوالفحم الحيوانى charcoal مخلوط مع مسحوق الأوكسين. يستعمل تركيز من الأوكسين فى المسحوق يتراوح بين ٠,٠٢ إلى ٠,١ وذلك للعقل العصيرية herbaceous cuttings ويستعمل خمسة أضعاف هذا التركيز فى

العقل الغير عصيرية أى الخشبية hardwood cuttings . يتم خلط مسحوق الأوكسين مع مسحوق المادة الخاملة carrier بطريقتين وذلك بطحن بلورات الأوكسين إلى مسحوق فائق النعومة ثم يتم خلطه بمسحوق المادة الخاملة. وهذه الطريقة تحتاج إلى حرص كبير لضمان تجانس عملية خلط الأوكسين مع مسحوق المادة الخاملة. وفى الطريقة الثانية وهى الأكثر تفضيلا هى عبارة عن إذابة الأوكسين فى كحول ثم إذابة المادة الخاملة فى هذا الكحول وذلك بتركيزات مناسبة ثم يسمح بتطاير الكحول. يمكن إذا لزم الأمر إعادة طحن المادة الحاملة. ثم يتم غمر قاعدة العقل المراد معاملتها وذلك لمسافة حوالى ٢سم فى الماء ثم بعد ذلك يتم غمر هذا الجزء فى مسحوق الأوكسين وذلك مع دوران للعقلة فى المسحوق rolling the cutting in powder ثم يتم إزالة الزائد من المسحوق على قاعدة العقلة وذلك بعمل عملية غسيل بماء الصنبور وبإحتراس وبرقة ثم يتم زراعة العقلة مباشرة. عند زراعة العقلة فى التربة لابد من عمل حفرة فى التربة أكثر إتساعا من العقلة ثم توضع فيها العقلة ويكوم عليها تراب التربة لأن زراعة العقلة مباشرة فى التربة يمكن أن يسبب إزالة ومسح مسحوق المبيد. ومن مميزات هذه الطريقة أنها سريعة ويكون توزيع الأوكسين على العقلة متجانس كما فى الطريقة السابقة ومن عيوبها أن المادة الحاملة يمكن أن تؤثر على كفاءة الأوكسين وبذلك تؤثر على التجارب حتى فى نفس التركيز الواحد على النبات الواحد. يمكن التغلب على ذلك بطحن مسحوق المادة الحاملة جيدا. ولذلك يفضل شراء هذا المسحوق من شركات متخصصة وإتباع التعليمات الموجودة على الورقة المرفقة بدقه. ومن عيوب هذه الطريقة أيضا أنه يمكن أن تسبب زيادة المسحوق على العقلة ضرراً كبيرا لها ويعتبر ذلك عيب جوهرى لهذه الطريقة . لذلك تستخدم آلة insufflator لضمان إنتظام توزيع المسحوق. يمكن إستخدام النبات الحزازى *Sphagnum* المبلل كبيئة أو مهد صالح للزراعة وفى هذه الحالة يتم معاملة *Sphagnum* بالأوكسين وبعد تمام تشربه الأوكسين يستعمل كمهد صالح للزراعة. أحيانا يتم عمل عجينة من بودرة التلك والأوكسين فى شكل كريات صغيرة ثم تلصق كرة واحدة فى قاعدة كل عقلة وتزرع العقل مباشرة.

٥ ـ طريقة الرش **Spray technique**

يمكن أن تستعمل هذه الطريقة في رش الأوراق بمحاليل أوكسين مخففة. يمكن أيضا إستعمال هذه الطريقة في رش النباتات العشبية قبل أخذ العقل منها. يمكن أيضا رش العقل أثناء زراعتها في البيئة ولا تصلح هذه الطريقة في بعض النباتات ولكنها تلاءم بعض نباتات أخرى مثل القرنفل و *Coleus*.

وفي حالة النباتات التي تحتاج عقلها إلى وقت طويل نسبيا لتكوين الجذور يضاف لمحلول الأوكسين المستعمل مستحلب emulsion اللانولين وبذلك تطول مدة بقاء الأوكسين على النبات أو العقلة.

٦ـ طريقة البلورات **Crystal metho**

ينم وضع بلورات من الأوكسين في قلف الأشجار أو في قاعدة الساق ويكون لها تأثير فعال على النبات ولكنها قد تكون سامة للنبات أو شديدة السمية في بعض الحالات.

٧ـ طريقة خلة الأسنان **Tooth Pick method**

يتم غمر خلة الأسنان في محلول الأوكسين ثم ترشق في النبات.

ثانيا: العقل الورقية **Leaf cuttings**

يمكن أن تستعمل في بعض النباتات عقل ورقية كما في البيجونيا *Begonia* حيث أنه عند قطع الورقة ووضعها في بيئة أي تربة مناسبة فإن البراعم والجذور تتكون من مناطق معينة من عروق الورقة ويتكون نتيجة لذلك نبات كامل. يمكن تنشيط عملية تكوين الجذور والبراعم بتجريح العروق الرئيسية. تتكون النباتات الصغيرة بالقرب من مكان القطع أو التجريح على العروق الرئيسية. أتضح أن غمر الأوراق في محلول إندول حامض الخليك بتركيز ١٠,٠ ٪ يكون ذو فاعلية كبيرة في تنشيط تكوين الجذور والمجموع الخضري في العقل الورقية لنبات البيجونيا والتين المطاط *Fi-*

cus elastica. وفى حالات أخرى تتكون الجذور والبراعم فى قاعدة عنق الورقة مثل نبات البنفسج الأفريقى *Saintpaulia*.

يمكن زراعة عقل أوراق حرشفية scale leaf cuttings وذلك بمعاملتها بمركب نفثالين حامض الخليك بتركيز مناسب وحيث يتكون على هذه الأوراق برعم وجذور ويتكون نبات كامل وذلك فى نبات Easter lilies. لوحظ حدوث عفن فطرى على هذه الأوراق الحرشفية ولذلك يفضل غمس هذه الأوراق فى مخلوط من مسحوق مبيد فطرى وأوكسين.

ثالثا: العقل الجذرية Root Cuttings

بعض النباتات يمكن إكثارها بالعقل الجذرية وحيث يتكون على الجذر براعم وجذور ومنها يتكون نبات جديد. وقد أستعملت الأوكسينات فى تنشيط تكوين الجذور والبراعم فى بعض العقل الجذرية . تعامل العقل الجذرية لنبات *Taraxa-cum koksaghyz* وذلك بغمرها لمدة ستة عشر ساعة فى خمسون جزء من المليون من أوكسينات مختلفة مثل نفثالين حامض الخليك وأندول حامض البيوتريك و B-naphthoxy acetic acid وإختصاره Noxa وقد وجد أن درجة التجذير على هذه العقل تتضاعف. أستعمل هذا النبات أثناء الحرب العالمية الثانية كمصدر للمطاط. وجد نفس التأثير عند أستعمال عجينة لانولين بها إندول حامض الخليك لمعاملة العقل الجذرية لنبات *Armoracea lapathifolia* أى فجل الحصان horse-radish.

رابعا: عقل ورقية برعمية Leaf bud Cuttings

تستعمل فى هذه الحالة ورقة وبرعم أبطى وجزء صغير من الساق حيث يتم فصل جزء صغير من الساق يحمل ورقة واحدة وبرعم أبطى واحد من النبات الأم وفى حالة زراعة هذه العقله الورقية تتكون جذور وينمو البرعم ليكون ساق وهكذا يتكون نبات جديد. وفى الحقيقة يعتبر هذا النوع عقل ساقية. يمكن تنشيط تكوين الجذور فى هذه الحالة بواسطة معاملة الساق بالأوكسين فى صورة مسحوق أو محاليل مخففة.

تنجح هذه المعاملة فى بعض النباتات مثل الجهنمية *Bougainvillaea* والهبسكس *Hibiscus* وثنبرجيا *Thunbergia* والراوند *Rhododendron* يمكن إكثار الكرنب بهذه الطريقة حيث تغمر العقل فى محلول نفثالين حامض الخليك بتركيز من ٢٠ إلى ٤٠ جزء فى المليون لمدة ١٦ ساعة أو إندول حامض البيوتريك بتركيز من ٤٠ إلى ٨٠ جزء فى المليون.

يتم منع حدوث العفن الفطرى بواسطة خلط الأوكسين مع مبيد فطرى مناسب.

خامسا: الترقيد Layering

وجد أن معاملة البيكان بالأوكسينات أثناء الترقيد يفيد فى نجاح تكوين النبات وذلك فى حالة الترقيد الأرضى البسيط simple layering. وفيما يلى شرح لطريقة الترقيد الأرضى البسيط. فى هذه الطريقة يتم إكثار النباتات ذات الأفرع الأسطوانية المرنة القاعدية. وفيها يختار أحد الأفرع القريبة من سطح التربة ويثنى ثم يدفن هذا الجزء الذى تم ثنيه تحت سطح التربة وعلى عمق يتراوح من ١٠ ـ ٢٠ سم يبقى طرف الفرع المرقد خارجا فوق سطح التربة. وقد يحدث فى حالة الأفرع المرنة البعيدة عن سطح التربة أن يتم لها ذلك ولكن بدلا من ثنى الفرع ودفنه تحت سطح التربة يتم الدفن فى أصيص أو صندوق خشبى يمكن رفعه على حامل. ويمكن تشجيع خروج الجذور العرضية على الفرع المرقد فى منطقة الدفن وذلك بعمل مجموعة حزوز أو خدوش على العقد أسفل البراعم الموجودة فى المنطقة المدفونة من الفرع. ويمكن كذلك تثبيت الفرع المرقد على هذا الوضع على امتداد منطقة الدفن بأستخدام أسلاك على شكل حرف (V) مقلوبة توضع على أبعاد من بعضها، بحيث تبقى على الفرع المدفون ثابتا مكانه حتى يتم تجذيره. وعند التأكد من تمام تجذير الفرع المرقد (غالبا ما يتم ذلك فى نهاية فصل النمو) يفصل عن النبات الأم ثم يزرع منفصلا فى المشتل أو فى الأرض المستديمة مباشرة، وهذا هو الغالب. ويتكاثر بهذه الطريقة العنب والليمون المالح والياسمين الأبيض والزفر والبرقوق والبيكان وست الحسن وشبر فايد والأرجيريا وغيرها.

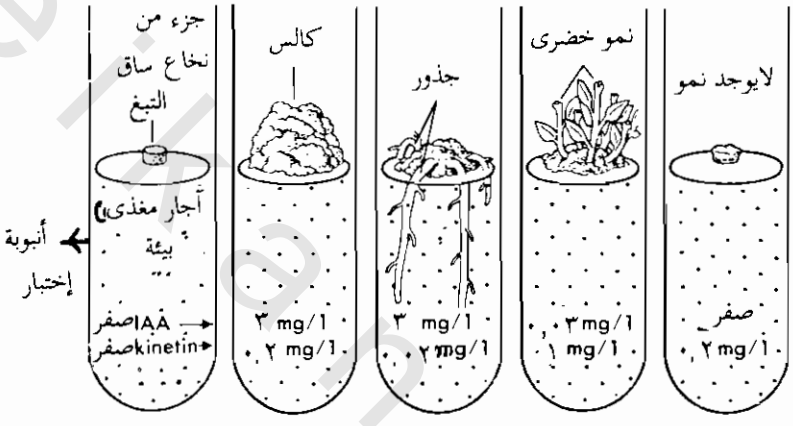
سادسا: الترقيد الهوائي **Marcotting (Air - layering)**

تستعمل الأوكسينات فى تنشيط الجذور فى النباتات الناتجة من الترقيد الهوائى marcots. وجد أن ١ ـ ٣ ٪ أندول حامض الخليك أو أندول حامض البيوتريك أو نفثالين حامض الخليك فى عجينة لانولين تنشط تكوين الجذور أثناء الترقيد الهوائى للمانجو. وجد أيضا أن ١٠ ٪ نفثالين حامض الخليك فى عجينة لانولين فعالة فى حالة الجوافة. وجد أن معاملة الأجزاء التى فيها تخليق بأندول حامض البيوتريك وذلك فى حالة الترقيد الهوائى وأن يكون تركيز الأوكسين ٠,٥ ٪ فى كحول. ثم تغطى هذه الأجزاء المحلقة المعاملة بالأوكسين بواسطة تربة تتكون من رمل وطين و *Sphagnum* والأخير يسمى peat moss. وجد أن هذه المعاملة تزيد من كفاءة التجذير فى أشجار الكاكاو. تنجح الحالة السابقة أيضا فى حالة نبات *Ficus decora*.

هـ ـ تكوين الشكل الظاهرى morphogenesis أى تكوين أعضاء النبات المختلفة مثل الساق والجذر والأوراق حيث تحدد هذه الأعضاء الشكل الظاهرى للنبات. وقد أمكن إثبات أن الأوكسينات لها دور هام فى ذلك ومن أفضل التجارب فى هذا الشأن تجربة سكوج وميللر Skoog and Miller عام ١٩٥٧. وقد أثبتا بالدليل القاطع أنه يمكن التحكم فى تكوين الجذر والساق باستعمال مركبات هرمونية معينة. وفى هذه التجربة تم وضع نسيج نخاع ساق الدخان على بيئة آجار مغذى nutrient agar (تتكون هذه البيئة من ببتون peptone ومستخلص لحم beef extract وماء وآجار agar) وقد خلطت هذه البيئة بتركيزات مختلفة من كل من إندول حامض الخليك indole acetic acid الذى يساعد على إستطالة وكبر خلايا النبات وكينيتين kinetin الذى يساعد على إنقسام خلايا النبات. وقد وجد أن هذين المركبين يتحكمان فى تكوين الجذر والساق تبعا لتركيزاتهما أى لهما دور كبير فى عملية تكوين الشكل الظاهرى للنبات morphogenesis.

فعند خلط بيئة الآجار المغذى بهذه المركبات ووضع النسيج على البيئة وفحص النسيج النباتى بعد عدة أسابيع وجد أن خلط البيئة بأندول حامض الخليك وكينتين

بنسبة ١٥ : ١ نتج عنه تكوين نسيج كالس، وبتغيير النسبة يمكن تكوين جذور فقط أو سيقان فقط، فزيادة تركيز أندول حمض الخليك يشجع تكون المجموع الجذرى وزيادة تركيز الكينيتين يشجع تكوين المجموع الخضرى (شكل ٨٣). أى أن هذين المركبين لازمين لحدوث تكوين أعضاء النبات المختلفة مثل الجذور والسيقان والأوراق أى لحدوث morphogenesis. يدل على أهمية إندول حامض الخليك فى تكوين الشكل الظاهرى لأعضاء النبات هو أن خلو البيئة المستعملة من هذا الأوكسين نتج عنها توقف نمو نسيج نخاع ساق نبات التبغ تماما وذلك بالرغم من وجود الكينيتين.



(شكل ٨٣) : تأثير تركيز منظمات النمو على الـ morphogenesis فى النبات.

نستنتج أيضا من هذه التجربة أن للأوكسين دور فى إنقسام الخلايا حيث أن خلو البيئة من هذا الأوكسين نتج عنه توقف نمو النسيج النباتى تماما بالرغم من وجود الكينيتين.

و ـ تكوين الكالس من قاعدة العقلة . عند أخذ عقلة من الساق فإن الأوكسين ينتقل من الجزء العلوى للعقلة إلى الجزء السفلى. وأيضا عند معاملة هذه العقلة بالأوكسين فإنه ينتقل إلى قاعدة العقلة. ولذلك يتراكم الأوكسين فى قاعدة العقلة. ولذلك بعد فترة فإن الأوكسين المتراكم فى قاعدة العقلة يسبب تكوين إنتفاخ فى قاعدة العقلة عبارة عن نسيج الكالس callus ويتكون هذا النسيج فى هذه الحالة من

خلايا برانشيمية أو خلايا رقيقه الجدر. تتكون هذه الخلايا البرانشيمية فى نسيج الكالس نتيجة لإنقسام خلايا الكمبيوم فى قاعدة العقلة وأيضا نتيجة لنشاط الخلايا المرستيمية الناتجة عن تحول خلايا بالغة إلى خلايا مرستيمية. يدل ذلك على أن أندول حامض الخليك له دور فى إنقسام الخلايا. ينشط أيضا الأوكسين خلايا الكمبيوم فى العقلة ويدفعها للأنقسام وتكوين الجذور العرضية وقد ينشط أيضا خلايا مرستيمية أخرى ناتجة من تحول الخلايا البارنشيمية إلى خلايا مرستيمية حيث يمكن أن تستعيد بعض الخلايا البارنشيمية قدرتها على الإنقسام وتصبح خلايا مرستيمية.

٣ ـ ظاهرة السيادة القيمة Apical Dominance:

وهذه الظاهرة تحدث فى النباتات ذوات الفلقتين حيث نجد أن البرعم الطرفى يكون نشيط ويمنع هذا البرعم نمو البراعم الأبطية والموجودة أسفله لمسافة ما وكلما زادت هذه المسافة كلما كان ذلك دليل على زيادة كفاءة ظاهرة السيادة القمية. وعند إزالة القمة النامية لهذا الساق أو الفرع فإن البراعم الأبطية الساكنة الموجودة أسفله تنمو فى تتابع هرمى. وقد وجد أنه عند إزالة القمة النامية ونضع مكانها مباشرة عجينة لانولين lanolin بها تركيز مناسب من IAA فإن نمو البراعم الأبطية يتوقف أيضا فى هذه الحالة (عجينة لانولين عجينة تشابه الفازلين إلا أنها غير سامة للنبات فى حين أن الفازلين عند وضعه على القمم المقطوعة يسبب تأثير ضار للنبات) (شكل ٨٤).

والتعليل للظاهرة السابقة أن البرعم الطرفى نشط ويكون كميات كبيرة من الأوكسينات تفرز وتنتقل قطبيا إلى أسفل حيث تنتقل إلى البراعم الأبطية الموجودة إلى أسفل وحيث أن هذه البراعم الأبطية تخلق أوكسينات ويدخل إليها علاوة على ذلك أوكسينات من البرعم القمى فنتيجة لذلك يزداد تركيز الأوكسينات فى هذه البراعم الأبطية عن الحد المناسب فتمنع نموها ونتيجة لذلك تحدث ظاهرة السيادة القمية.

(شكل ٨٤) : ظاهرة السيادة القمية

أ ـ فرع عادى وعدم نمو للبراعم الأبطية.

ب ـ فرع أزيلت قمته ونمو للبراعم الأبطية.

حـ ـ مكعب آجار به أوكسين وضع على القمة المقطوعة وعدم نمو للبراعم الأبطية.

وقد أمكن استعمال هذه الظاهرة اقتصاديا فى حالات كثيرة منها:

أ ـ تخزين درنات البطاطس بكفاءة عالية حيث أنه من المعروف أن درنة البطاطس هى عبارة عن ساق وعليها عيون وكل عين به برعم خضرى أو أكثر وأنه فى الظروف العادية الغير مناسبة تماما للتخزين فإن هذه البراعم تنمو وتنبت الدرنة ونتيجة لنمو هذه البراعم وتكوينها لنموات ساقية فإنها تستهلك النشا الموجود داخل درنات البطاطس وذلك مما يقلل من القيمة الاقتصادية للبطاطس حيث نجد فى نهاية مدة التخزين أن هذه البطاطس النابتة عديمة القيمة الاقتصادية تماما ولا يمكن بيعها وعادة تصاب ببكتريا العفن الطرى وتصبح الدرنات طرية عفنة ذات رائحة كريهة ونتيجة لذلك فقد أمكن رش درنات البطاطس بأوكسين إندول حامض البيوتريك أو نفثالين حامض الخليك وقد أمكن بذلك تخزين البطاطس لمدد تتفاوت من سنة إلى ٣ سنوات دون أى نمو وإنبات للبراعم وبذلك تكون القيمة التسويقية والاقتصادية للبطاطس بعد التخزين كبيرة. غمر درنات البطاطس فى محلول نفثالين حامض

الخليك غير فعال إلى حد كبير حيث إن إختراق المحلول للقشرة الفلينية لدرنة البطاطس ضعيف. وقد وجد أن معاملة الدرنات بأستر ميثيل نفثالين حامض الخليك عظيم الفاعلية methyl ester NAA (MENA) (مينا) حيث أن محلول هذا المركب متطاير ويوجد فى صورة غازية وبذلك يخترق درنات البطاطس بسهولة. يمكن رش هذا المركب على الدرنات أو تعبئة الدرنات فى شرائح ورقية مشبعة به.

ب ـ فى كثير من نباتات الفاكهة وخاصة التفاح وحيث يزرع فى المناطق الباردة جدا نجد أن النمو المبكر للبراعم الساكنة يكون له تأثير ضار على النبات حيث تكون درجة الحرارة منخفضة ويتكون الصقيع الذى يقتل النموات الخضرية الناتجة من هذه البراعم وبذلك فإنه من المفيد تأخير نمو هذه البراعم حتى يحل جو أكثر دفئا نسبيا ولا يتكون صقيع وفـى هذه الحالة ترش الأشجار بنفثالين حامض الخليك أو بالـ 2,4 -D ذلك يساعد على تأخير تفتح البراعم ونموها بعد حلول فترة دفء نسبيا أو فترة أقل برودة نسبيا.

حـ ـ أنه فى نباتات الفاكهة عند نقل الشتلات وذلك فى حالة نباتات كثيرة مثل التفاح والكريز والبرقوق والخوخ فإنه أثناء النقل لهذه الشتلات نحتاج إلى منع نمو البراعم الساكنة حيث أن نموها أثناء النقل غير صالح للنبات المنقول ولذلك ترش هذه الشتلات قبل النقل بنفثالين حامض الخليك.

إلا أن النظرية الحديثة فى حالة السيادة القمية فحواها أنه يوجد تضاد بين عمل الأوكسين من ناحية تثبيط نمو البراعم والسيتوكينينات التى تصل البراعم فإنها تضاد وتثبط عمل الأوكسينات وتنشط نمو البراعم حيث وجد أن معاملة البرعم الأبطى فى منطقة السيادة القمية بواسطة أحد مركبات السيتوكينينات يسبب نمو البرعم الأبطى وكسر ظاهرة السيادة القمية. أى أنه توجد حالة من التنافس بين الأوكسين لتثبيط نمو البرعم الأبطى وبين السيتوكينين لتشجيع نمو هذا البرعم.

٤ ـ سقوط الأوراق Leaf Drop والأزهار والثمار:

من المعروف أن الورقة تظل ملتصقة بالساق حينما تكون عمليات التحول الغذائى فيها نشطة وتتكون الأوكسينات الطبيعية بتركيز كبير فى الورقة أكثر مما هو موجود فى الساق ويستمر إنسياب الأوكسينات من الورقة إلى الساق وبذلك تظل الورقة متصلة بالساق بشدة. أما فى حالات ضعف الورقة وقلة الكفاءة فى عمليات التحول الغذائى ينتج عنه قلة فى تكوين الأوكسينات وبالتالى يكون تركيزها مساوى أو أقل من تركيزها فى الساق ونتيجة لذلك يتكون عند قاعدة الورقة عند مكان اتصالها بالساق منطقة مختلفة فى تركيبها التشريحى وتعرف هذه المنطقة بمنطقة الانفصال وهى تعتبر نقطة الضعف فى مكان اتصال الورقة بالساق ونتيجة لذلك فإنه عند أى إهتزاز خفيف للورقة تسقط من الساق مباشرة. ويمكن تطبيق ذلك أيضا على الأزهار وتساقطها والثمار وتساقطها حيث يعزى ذلك فى الحالتين الأخيرتين إلى إختلاف أيضا فى تركيز الأوكسين فى هذه الأجزاء عنه فى الساق ويتكون نتيجه لذلك منطقة الأنفصال.

تتساقط جميع الأوراق فى فصل الخريف فى الأشجار والشجيرات متساقطة الأوراق كما تتساقط الأوراق المسنة فقط فى الأشجار والشجيرات مستديمة الخضره. وفى كثير من نباتات ذوات الفلقه وأيضا القرعيات فإن الأوراق لا تسقط حيث أن الأوراق المسنة تذبل وتجف ولا تسقط بل تظل ملتصقة بالنبات.

ويمكن إستخدام هذه الظاهرة اقتصاديا وتوفير آلاف من الجنيهات لكثير من مزارعى الفاكهة برش نباتات البرتقال والتفاح بأوكسينات معينة مثل 2,4 -D أو ماشابهها وذلك بتركيزات مخففة نسبيا فإن ذلك يمنع تساقط الأوراق وتساقط الثمار قبل نضجها فتظل الشجرة محملة بجميع الثمار وجميع الأوراق حيث أنه من المعروف أنه كلما كان عدد الأوراق الحية السليمة كبير كلما كانت كفاءة التخليق للمركبات وتكوين الثمار أكبر. وعلاوة على ذلك فى النباتات السابقة فإنه فى بعض الأحيان يحدث نضج مبكر نسبيا لجزء من المحصول ويكون صاحب حدائق الفاكهة

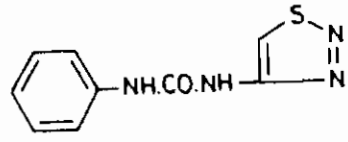
غير مستعد لجمع هذا المحصول فإنه يفضل جمعه مرة واحدة لتقليل تكاليف الجمع ويحدث ذلك فى الدول الغربية بالذات فإن رش النباتات السابقة بالأوكسينات المناسبة يساعد على عدم تساقط الثمار وجمعها فى مدة واحدة فى زمن متقارب نسبيا حيث أن ذلك يقلل تكاليف الأنتاج وبذلك يدر ربح أكبر للمزارع.

يمكن إستغلال هذه الظاهرة بطريقة عكسية فمن المعروف أنه توجد مضادات للأوكسينات antiauxins وهذه المركبات فائدتها أنها تضاد عمل الأوكسينات وتلغى تأثيرها وبالتالى فإنها عكس ما سبق عند رشها على النباتات تساعد على سقوط الأوراق، ومن هذه المضادات المركبات trans cinnamic acid وأيضا (T - 5 و 4و 2) 5richlorophenoxyacetic acid و 4 و 2 (شكل ٩٠).

وعلى سبيل المثال عامل البرتقال orange agent الذى أستخدم فى حرب فيتنام كمسقط للأوراق ماهو إلا خليط فعال من D - 4 و2 وأسترات البيوتيل للـ T - 5 و 4 و 2 أى T - 5 و4و 2 و n - butyl ester of.

وممكن تطبيق هذه الظاهرة اقتصاديا فى حالات كثيرة وأهمها تساقط أوراق نبات القطن والجمع الآلى لشعر القطن حيث ترش النباتات بعد تمام تفتح اللوز وتكوين الشعر تماما بواسطة مضادات الأوكسينات فإن ذلك يسبب سقوط أوراق نباتات القطن تماما ويصبح نبات القطن عبارة عن ساق وفروع ولوز متفتح به شعر القطن وبذلك تسهل عملية الجمع الآلى للقطن بواسطة الآلات فتلتقط الشعر من اللوزة آليا. ولكن فى وجود الأوراق وخاصة الجافة ستلتصق بشعر القطن ويصبح القطن عديم الجدوى تماما وليست له أى قيمة اقتصادية لتداخل الأوراق مع الشعر. وتسمى هذه المركبات التى تسبب تساقط للأوراق بالـ defoliants أى المسببة لتساقط الأوراق. توجد مركبات كثيرة تحت أسماء تجارية مختلفة. لايوجد تشابه فى تركيب مضادات الأوكسينات حيث أنها تتكون من مركبات مختلفة التركيب بدرجة كبيرة.

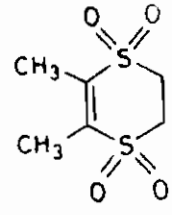
يعتبر thidiazuron منظم للنمو يستخدم بتركيز يتراوح بين ٢٠ إلى ٨٠ جرام لكل فدان لسقوط أوراق القطن defoliant ومما هو جدير بالذكر أنه فى هذه الحالة فإن الأوراق المتساقطة يكون لونها أخضر عادى. يباع تجاريا باسم Dropp وتركيبه الكيماوى phenyl - 3 (1 و 2 و 3 thiadiazol - 5 - yl) urea، الكيماوى (شكل ٨٤ أ).



Thidiazuron

$(CH_3CH_2CH_2CH_2S)_3P$

Tributylphos phorotrithioite



$(CH_3CH_2CH_2CH_2S)_3P=O$

s, s, s - Tributyl phosphorotrithioate

Dimethipin

(شكل ٨٤أ) : التركيب الجزيئى لمركبات مسقطة للأوراق defoliants.

يعتبر tributyl phosphorotrithioate من المركبات التى تسبب سقوط الأوراق defoliant فى القطن. يحتاج الفدان إلى تركيز حوالى ٧٥ جرام. يباع تجاريا بأسم Def Defoliant. تركيبه الكيماوى S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (شكل ٨٤أ).

يعتبر tributyl phosphorotrithioate هو الأسم العادى والكيماوى لهذا المركب (شكل ٨٤أ). وهو يسبب سقوط أوراق القطن وبعض نباتات أخرى مثل الورد والهيدرانجيا. يباع تجاريا بأسم Folex.

يعتبر dimethipin مثبب لسقوط الأوراق defoliant فى القطن وفى nursery وفى نباتات المطاط و vines يسرع من النضج ونتيجه لذلك ينخفض محتوى الرطوبه فى البذور مثل الكتان والأرز وعباد الشمس و oilseed rape. يباع تجاريا تحت أسم

Harvade. تركيبه الكمياوى (شكل ٨٤أ) -2,3-dihydro-5,b-dimethyl-1,4 di-. thiin1,1,4,4 -tetraoxide

أما فى حالة الثمار فإنه من المعروف أن نسبة من الثمار الصغيرة السن تسقط قبل تمام نموها ومثال ذلك الفول والقطن والمانجو والتفاح. ولذلك فى حالة التفاح يقوم المزارعون برش الثمار الصغيرة السن بمحلول نفثالين حامض الخليك ونتيجة لهذه المعاملة لا تسقط الثمار ويزداد المحصول. وتعليل ذلك أن كفاءة تخليق الأوكسينات فى هذه الثمار الصغيرة منخفضة ولذلك فإن زيادة تركيز الأوكسينات فى هذه الثمار يمنع سقوطها.

أما فى حالة الأزهار فإنه يحدث لها سقوط طبيعى بدرجة معينة فى بعض النباتات مثل الفول والبرقوق. ومن أفضل الأمثلة على أن سقوط الأزهار مرتبط بالأوكسينات هى حالة نبات التبغ حيث أن إزالة الأوراق تسبب سقوط الأزهار ولكن فى حالة معاملة الأزهار بأوكسين إندول حامض الخليك وذلك بالرش أو بوضع الأوكسين فى عجينة لانولين ولصقها على البرعم الزهرى فإن الأزهار لا تسقط. يوضح ذلك أهمية الأوكسينات فى منع سقوط الأزهار.

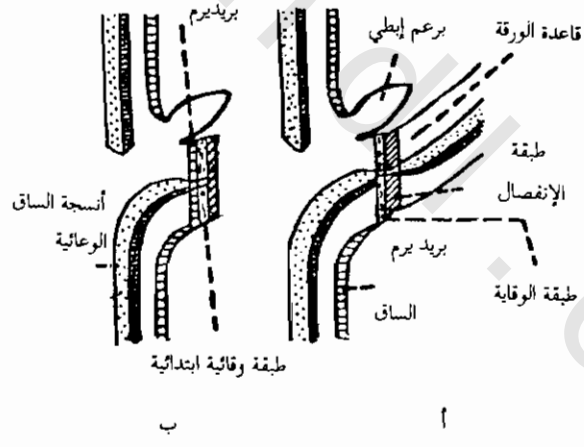
أما عن كيفية أو ميكانيكية منع الأوكسين لسقوط الأوراق فهى غير معروفة حتى الآن.

وقد وجد أن نشاط أنزيم السيليوليز والأنزيمات المحللة للمركبات البكتينية تزداد قبل سقوط الأوراق كما أن الأحماض الأمينية وبعض العناصر والأحماض النووية وبعض المركبات الأخرى تنتقل من الأوراق قبل سقوطها إلى أجزاء النبات الأخرى. وجد أن معاملةالأوراق بأندول حامض الخليك تؤجل سقوط الأوراق وفى بعض الحالات توقف نشاط أنزيم السيليوليز وتمنع إنتقال المركبات المذكورة سابقا من الأوراق .

لا تظهر أعناق الأوراق فى القطاعات العرضية بشكل كامل الإستدارة، بل تكون عادة مسطحة أو مقعرة قليلا فى السطح العلوى. يحتوى عنق الورقة عادة على نفس الأنسجة الموجودة فى سيقان نفس النباتات فالبشرة تحتوى على خلايا البشرة والثغور، وقد يوجد بها زوائد بشرة، النسيج الأساسى مكون عادة من خلايا برنشيمية وقد تحتوى على بلاستيدات خضراء، عادة توجد به خلايا كولنشيمية وإسكلرنشيمية

كأنسجة دعامية. توجد الأنسجة الوعائية بأشكال مختلفة تبعا لنوع النبات ولكنها لا تكون عادة أسطوانة وعائية بل تكون عادة منتظمة بشكل قوس أو هلال، يكون فيه الخشب متجها إلى أعلى واللحاء متجها إلى أسفل . ويكون عدد الحزم عادة من ١ إلى ٣ فى الأوراق ذات التعريق الريشى وتزيد عن ذلك فى الأوراق ذات التعريق الراحى.

ويحدث سقوط الأوراق فى الأشجار المتساقطة الأوراق نتيجة لتكوين منطقة خاصة فى قواعد أعناق الأوراق تعرف باسم منطقة الانفصال abscission zone (شكل ٨٥)، وتتكون هذه المنطقة من خلايا برنشيمية أصغر حجما من الخلايا المجاورة كما أن حزمها الوعائية لا تغلف عادة بخلايا إسكلرنشيمية ويحدث بمنطقة الإنفصال تغييرات تشريحية حيث تتكون طبقة الإنفصال separation layer وطبقة الوقاية protective layer. طبقة الإنفصال تسهل إنفصال الأوراق عن الأفرع. وطبقة الوقاية تتكون أسفل طبقة الإنفصال فى جهة الفرع لتحمى السطح المقطوع بعد سقوط الورقة من الجفاف ودخول مسببات الأمراض النباتية (شكل ٨٥).



(شكل ٨٥) : تساقط الأوراق.

أ ـ تكوين طبقة الانفصال والوقاية.

ب ـ سقوط الورقة وتكوين طبقتي وقاية إبتدائية وثانوية.

توجد ثلاث نظريات لتفسير ميكانيكية تساقط الأوراق. تقول النظرية الأولى أن التساقط يحدث نتيجة لتحلل الصفائح الوسطى لخلايا النسيج الأساسى الموجودة فى طبقة الإنفصال، ثم تتفكك الخلايا عن بعضها. وتقول النظرية الثانية أن تساقط الأوراق يحدث نتيجة لتحلل جزء أو كل الجدر الإبتدائية أو جميع خلايا النسيج الأساسى الموجودة فى طبقة الإنفصال. ويقول الرأى الثالث أن التساقط يحدث نتيجة لتكون خلايا فلينية تفصل أنسجة الورقة عن أنسجة الساق. وينتج عن تكون طبقة الإنفصال، بأى من الطرق السابقة، فصل النسيج الأساسى لعنق الورقة عن النسيج الأساسى للساق وتبقى الورقة متصلة فقط بالحزم الوعائية، لهذا فإن أى أهتزاز ضعيف للورقه ينتج عنه سقوطها.

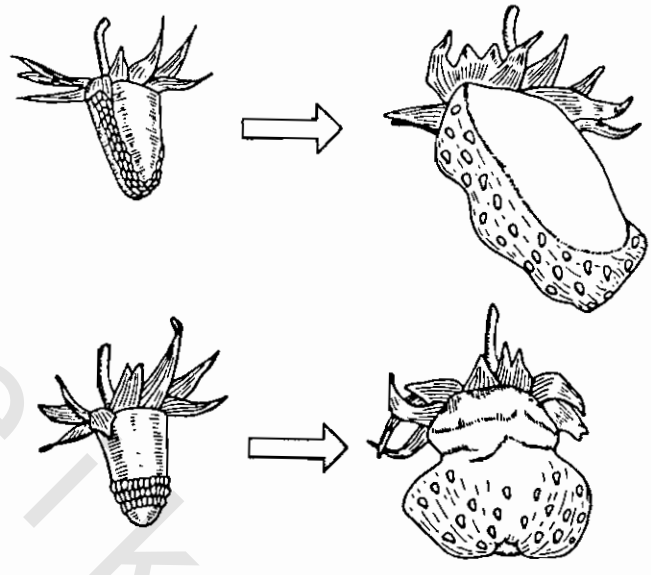
طبقة الوقاية التى تتكون أسفل طبقة الإنفصال، ناحية الساق تتكون من جزئين، طبقة وقاية إبتدائية وطبقة وقاية ثانوية، تنتج طبقة الوقاية الأبتدائية عن طريق ترسيب مواد مختلفة على جدران وفى خلايا الجزء المكشوف من الفرع وكذلك فى المسافات البينية، ويكتمل تكوين هذه الطبقة بعد سقوط الورقة عادة ومن هذه المواد المرسبة السيويربن واللجنين وأصماغ جرحية. كما قد تتكون فى الأوعية الخشبية تيلوزات ومواد غير منفذة للماء، وبذلك يسد السطح المقطوع . تتكون بعد ذلك طبقة الوقاية الثانوية، وذلك بعد فترة قصيرة أو طويلة قد تصل إلى عام ويختلف ذلك باختلاف النبات وهى عبارة عن تكوين نسيج بريديرم والذى يكون على إتصال ببريديرم الأفرع (شكل ٨٥). وفى حالة حدوث تساقط الأوراق بطريقة تكوين خلايا فلينيةفإن طبقة الإنفصال تكون فى نفس الوقت هى طبقة الوقاية راجع باب الأثيلين للتعرف على فسيولوجيا سقوط الأوراق.

٥ ـ نمو المبيض وتكوين الثمار بكريا :

من المعروف أنه لابد أن تحدث عملية التلقيح والاخصاب فى الغالبية العظمى من النباتات لكى تتكون الثمار. تتكون الثمار نتيجة لنشاط المبيض فقط كما فى الموالح والطماطم والفول الخ وفى حالة بعض النباتات تتكون الثمار نتيجة لنشاط

التخت كما فى الفراولة وفى حالة الثمار الكاذبة تتكون نتيجة لنشاط التخت والمبيض وذلك كما فى التفاح والكمثرى. ومن المعروف أن حبوب اللقاح تزيد من نشاط الهرمونات وخاصة الأوكسينات بداخل مبيض الزهرة ليتحول المبيض إلى الثمـــرة وأن السبب فى حدوث ذلك يمكن تلخيصه فى رأيين:(١) أن حبوب اللقاح تحتوى على كمية كبيرة من الهرمونات ومنها الأوكسينات اللازمة لتنشيط المبيض، (٢) أن حبوب اللقاح بها مركبات معينة تساعد على تنشيط تخليق الأوكسينات وغيرها من الهرمونات اللازمة لنمو المبيض وتحوله إلى الثمرة. ويعتبر الرأى الثانى هو الأكثر قبولا ويعتقد أنها عناصر أو مركبات لازمة لتنشيط الأنزيمات فى مبيض الزهرة وأن هذه الأنزيمات هى المسئولة عن تخليق الأوكسين ومن الثابت أيضا أن تركيز الأوكسينات يزداد تدريجيا أثناء تحول مبيض الزهرة إلى الثمرة ولذلك يكبر المبيض فى الحجم.

وقد وجد فى حالة الطماطم أنه عند إزالة الأسدية تماما من الزهرة ورشها بمحلول Beta naphthoxyacetic acid ـ فبالرغم من عدم وجود حبوب لقاح فإن المبيض ينمو ويكون الحجم العادى للثمرة وتكون ذات لون عادى طبيعى وذات مذاق طبيعى إلا أنها عديمة البذور. من ذلك يتضح أن عملية تحويل مبيض الزهرة إلى ثمرة هى عملية تنشيط هورمونى بحتة وذلك كما فى حالة الطماطم. وقد وجدت نفس الحالة على تخت زهرة الشليك. فالتخت يوجد عليه أكينات أى ثميرات عديدة وكل أكين عبارة عن ثمرة صغيرة أى ثميرة، وفى حالة تلقيح وأخصاب الكرابل العديدة الموجودة على التخت تتحول إلى ثمار ويحدث تضخم وتلون التخت. أما فى حالة إزالة كرابل الزهرة من على التخت لا يحدث نمو للتخت ويظل ضامر. وعند معاملة التخت بعد إزالة كرابل الزهرة بعجينة لانولين lanolin paste تحتوى على مائة جزء فى المليون من أوكسين تركيبى هو Beta - naphthoxyacetic acid فإن التخت ينمو تماما (شكل ٨٥ أ و ب) وبطريقة عادية. ومن ذلك يتضح أن عملية التلقيح والأخصاب للكرابل الموجودة على التخت لازمة لنموه وأن هذا النمو راجع إلى التنشيط الهرمونى البحت.



(شكل ٨٥أ) : تأثير الأكينات على نمو التخت فى ثمرة الشليك .

إزالة الأكينات جانبياً (الصف العلوى) وإزالة الأكينات فى الجزء السفلى (الصف السفلى) ثم نمو الثمار بعد ذلك (الصف الأيمن)

(شكل ٨٥ب) : تأثير الأكينات والأوكسينات على نمو التخت فى ثمار الشليك.

أ ـ ثمره عادية.

ب ـ ثمره أزيلت منها الأكينات قبل التلقيح.

حـ ـ ثمره أزيلت منها جميع الأكينات عدا أكين واحده قيمه.

ء ـ ثمره أزيلت منها جميع الأكينات ووضع عليها عجينه لانولين تحتوى على بيتا naphthoxyacetic acid بتركيز مائه جزء فى المليون.

ومن المعروف أن النباتات التى تتكون ثمارها بكريا مثل البرتقال صنف Valencia والليمون صنف Eureka تكون عديمة البذور وتحتوى مبايض أزهارها طبيعيا على تركيز عال من الأوكسينات ولذلك لاتحتاج هذه المبايض إلى التلقيح والأخصاب (جدول رقم ٢). ومن المعروف أن تكوين الأوكسينات يحدث تنشيطه نتيجة لأحد ثلاث حالات وهى (١) نتيجة للتلقيح يحدث تنشيط للأوكسينات (٢) نتيجة للأخصاب أى اندماج النواة الذكرية مع نواة البيضة ونتيجة لذلك تتكون كمية كبيرة من الأوكسينات و (٣) نتيجة لتكوين البذور فإنه تتكون كمية كبيرة من الأوكسينات.

(جدول ٢) : تركيز الأوكسينات فى مبيض الزهره

المحصول والصنف	تركيز الأوكسينات في مبيض الزهرة (ميكروجرام لكل كيلو جرام وزن غض)	
	صنف ذو بذور	صنف عديم البذور
البرتقال Valencia	٠,٥٨	٢,٣٩
الليمون Eureka	٠,٤٣	٠,٧٨

ومما سبق يتضح أنه لا يمكن فى جميع مبايض أنواع الأزهار تحويلها إلى ثمار بل تحدث هذه العملية بكفاءة عالية فى بعض النباتات ولا تحدث فى النباتات الأخرى حيث أن النباتات الأخيرة لابد من حدوث عمليتى التلقيح والإخصاب وأيضا تكوين البذور لتكوين الثمار. وجد فى حالات كثيرة أنه لا يمكن انتاج الثمار بكريا فى وجود الأوكسينات فقط ومثال لذلك ثمار الكريز والتفاح لابد من رش الأزهار بمخلوط من الأوكسين والجبريلين لكى تتكون الثمار بكريا. وفى حالة المانجو ترش الأزهار بمخلوط من الأوكسين والجبريلين والسيتوكينين لكى تتكون الثمار بكريا. يمكن أيضا تكوين ثمار الطماطم بكريا أيضا بنفس الكفاءة عند إستعمال الجبريللين بدلا من الأوكسين.

توجد أيضا بعض أصناف من التفاح والكمثرى تتكون ثمارها بكريا بواسطة جبريللين رقم ٦ فقط وأيضا بعض أصناف من الخوخ واللوز يلزم لها الجبريللين فقط فى هذا الصدد.

ولذلك يتضح أن نمو المبيض وتحوله إلى ثمرة لا يتحكم فيه الأوكسينات فقط بل توجد أنواع أخرى من الهورمونات النباتية تتحكم فى ذلك أيضا الجبريللينات والسيتوكينيات.

يمكن تصنيف تكوين الثمار إلى نوعين وهما إثمار بكرى خضرى وأثمار بكرى تنشيطى. وفى حالة الأثمار البكرى الخضرى vegetative parthenocarpy ينمو المبيض ويتحول إلى الثمرة دون تلقيح إطلاقا مثل بعض أصناف البرتقال عديم البذور أبو سره وبعض أصناف الخيار والموز والجوافة النباتى واليوسفى صنف كليمنتين . وفى حالة الأثمار البكرى التنشيطى stimulative parthenocarpy ينمو المبيض ويتحول إلى الثمرة فى وجود عملية التلقيح فقط وعدم وجود عملية الأخصاب مثل بعض أصناف العنب و بعض أصناف الكمثرى. يمكن فى هذه الحالة أن يكون التلقيح بحبوب لقاح نفس صنف النبات وفى بعض الحالات يمكن أن يكون التلقيح بحبوب لقاح غريبة عن النبات ومثال ذلك أنه أمكن الحصول على عناقيد عنب عند تلقيح أزهارها بحبوب لقاح نبات غريب عن العنب *(Ampelopsis hede-racea)* Virginia creeper . ولذلك قد سمى هذا النوع بالتنشيطى حيث أن حبوب اللقاح وقد تكون غريبة تسبب تنشيط المبيض وتحويله إلى ثمرة. وقد وجد الأكثر من ذلك فى هذه الحالة حيث أن المستخلص المائى لحبوب اللقاح يسبب تنشيط المبيض وتحويله إلى ثمرة فى نبات الأوركيد وتعتبر هذه الحالة إثمار بكرى تنشيطى أيضا. كما وجدت أيضا نفس الحالة فى الخيار حيث أن مستخلص حبوب لقاح الخيار سبب تنشيط مبيض زهرة الخيار وتحويلها إلى ثمرة. وجد أيضا فى حالة الأوركيد أن محلول حبوب اللقاح الميتة للنبات سببت تنشيط مبيض الزهرة وتحويله إلى ثمرة وقد يكون التنشيط نتيجه لأحتكاك الحشرات بالثمره أو النوره كما فى الجميز.

يمكن أيضا تصنيف الأثمار البكرى إلى نوعين وهما طبيعى ومكتسب ففى حالة الإثمار البكرى الطبيعى natural يتحول المبيض إلى ثمرة طبيعيا دون أى معاملة خارجية مثال البرتقال Valencia وأبوسره والموز وبعض أصناف الكاكى اليابانى وبعض أصناف الجريب فروت والجوافه البناتى ويوسفى كلمنتين والتين وفى حالة الأثمار البكرى المكتسب أى المستحدث induced يكون تحول المبيض إلى الثمرة نتيجة لمعاملة الأزهار بأحد منظمات النمو أو أكثر ومثال ذلك رش التفاح بالجبريللين لكى ينتج ثمار تفاح بناتى أو رش ثمار الطماطم بمركب naphthoxyacetic acid لتكوين ثمار طماطم بدون بذور.

توجد حالة أخرى وسطية بين الأثمار البكرى وبين الأثمار العادى. أن الأساس فى تسمية الأثمار البكرى هو تكوين ثمار بدون بذور ولذلك فإنه جميع حالات الأثمار البكرى السابق شرحها تتميز بأن الثمار عديمة البذور وأما عن الأثمار العادى فهو ينتج عن عمليتى التلقيح والأخصاب والنتيجة النهائية لهاتين العمليتين هو تكوين بذور فى الثمار. أى أن الصفة الأساسية فى تمييز الأثمار البكرى عن الأثمار العادى هو عدم وجود البذور أو وجودها فى الثمرة. أما فى هذه الحالة الوسطية فإن عمليتى التلقيح والأخصاب يحدثان فى الزهرة والمفروض نتيجة لذلك تكون بذور ولكى لا تتكون البذور حيث تنمو البويضة المخصبة لفترة محدودة جدا ولا ينتج عنها البذرة ويمكن أن تسمى هذه الحالة عقم فى تكوين البذور أى عقم الجنين em-bryo abortion . ولذلك فإن الثمرة الناتجة خالية من البذور بالرغم من وجود إخصاب ولذلك فإنها فى ظاهرها أنها ثمرة بكرية. ومثال ذلك بعض أصناف العنب عديمة البذور seedless حيث يحدث لها تلقيح وأخصاب ثم يتكون جنين لاينمو أى يلى التلقيح والأخصاب عقم الجنين. وفى هذه الحالة فإن التلقيح والأخصاب لازم لتكوين الثمار أى لازم لتنشيط الهورمونات الخاصة بتحويل المبيض إلى الثمرة وتسمى هذه الحالة stenospermocarpy. ومثال ذلك العنب البناتى وعنب بناتى تومسون seedless Thompson . يعتبر علم البساتين العنب البناتى من هذا النوع.

أما عن علاقة الأوكسينات والهورمونات النباتية الأخرى بكبر حجم المبيض فإنه يلزم شرح تفصيلى لذلك . عند تكوين المبيض أثناء تكوين البرعم الزهرى فإن خلايا المبيض تنقسم بسرعة حتى موعد تفتح الأزهار أو قبل موعد تفتح الأزهار anthesis بفترة وجيزة. بعد ذلك تصبح زيادة حجم المبيض ناتجة عن كبر حجم الخلايا أساسيا وبدرجة أقل لإنقسام الخلايا.

يتوقف إنقسام الخلايا تماما فى المبيض عند تفتح الأزهار ويصبح كبر حجم المبيض ليتحول إلى الثمرة راجع كلية إلى كبر حجم الخلايا ومثال ذلك ثمار الطماطم. وعلى العكس من ذلك حيث تستمر إنقسام خلايا المبيض بعد التلقيح لفترة ومثال ذلك ثمار التفاح. يمكن أن تزداد خلايا بعض الثمار فى الحجم بدرجة كبيرة حيث قد يصل طولها ٠,٦ م أو يزيد كما فى خلايا ثمار البطيخ حيث يمكن رؤية هذه الخلايا بالعين المجردة يكون السبب فى ذلك هو وجود الأوكسينات مع بعض الهورمونات الأخرى مثل الجبريللين والسيتوكينينات.

عند حدوث التلقيح يستمر المبيض فى النمو وفى غياب التلقيح تتكون منطقة إنفصال فى قاعدة عنق الزهرة وتسقط. يعقب التلقيح ذبول البتلات والأسدية وسقوطها وزيادة كبيرة فى سرعة نمو المبيض والبويضات وبداية تكوين الثمرة وتسمى هذه المرحلة fruit set أى مرحلة عقد الثمار. يتضح أن الفترة بين التلقيح والأخصاب كافية للتنشيط المبدئى للمبيض لكى ينمو ويكون الثمرة مستقبلا فى كثير من الحالات. تتكون بعد ذلك البذور فى الثمرة وقد وجدت علاقة مؤكدة بين عدد البذور فى الثمرة وحجمها النهائى فى كثير من الأحوال. حيث أن العدد المتكامل للبذور داخل الثمرة يسبب تكوين ثمرة مثالية الحجم والعكس صحيح حيث أن قلة عدد البذور فى الثمرة يقلل من حجمها ومثال ذلك العنب والتفاح والكمثرى والطماطم والشليك. ومما يثبت ذلك أن تركيز الأوكسين فى البذور أثناء تكوينها يكون مرتفع ويقل تركيزه فى المشيمة ويصبح أقل ما يمكن فى الجدار الثمرى فى كثير من النباتات مثل الخوخ.

وجد فى حاله أزهار التبغ أن التلقيح لازم لتكوين الثمار وأنه فى عدم وجود حبوب اللقاح لا تتكون ثمار كما وجد أن وجود أنبوبه اللقاح أثناء أختراقها القلم تسبب زياده فى تركيز أوكسينات القلم.

التلقيح في التين:

يعتبر التين Smyrna وأيضا Calymyrna (الأخير يزرع فى كاليفورنيا) والتين الأزميرلى وعدد من أنواع التين كالسلطانى والفيومى هى سلالات لنبات التين البرى الوحشى *Ficus carica*، الذى لا يزال ينمو بريا ببعض مناطق البحر الأبيض المتوسط وهو من النباتات التى كانت تزرع فى عهد قدماء المصريين وما زالت نقوشه موجودة على جدران معابدهم.

ثمرة التين مركبة كاذبة تتكون نتيجة نمو النورة المخروطية الشكل التى تحوى بداخلها الأزهار المذكرة والمؤنثة، ويتصل تجويف النورة بالخارج عن طريق فتحة ضيقة توجد فى أعلى النورة. وتوجد فى نورة التين البرى الأزهار المذكرة حول فتحة النورة أما الأزهار المؤنثة فتبطن جدار النورة من الداخل . وتتكون الزهرة المؤنثة من مبيض له قلم طويل ينتهى بميسم واضح. أما الزهرة المذكرة فتتركب من سداة واحدة أو أثنتان.

نورة التين الوحشى مبكرة متاع أى أن مياسم الأزهار تنضج وتصبح مستعدة لاستقبال حبوب اللقاح قبل أن تنضج متوك الأزهار المذكرة الموجودة فى نفس النورة. لذلك لا تتم عملية التلقيح، ولابد من التلقيح الخلطى الحشرى لكى تتكون البذور ويتم نضج الثمار.

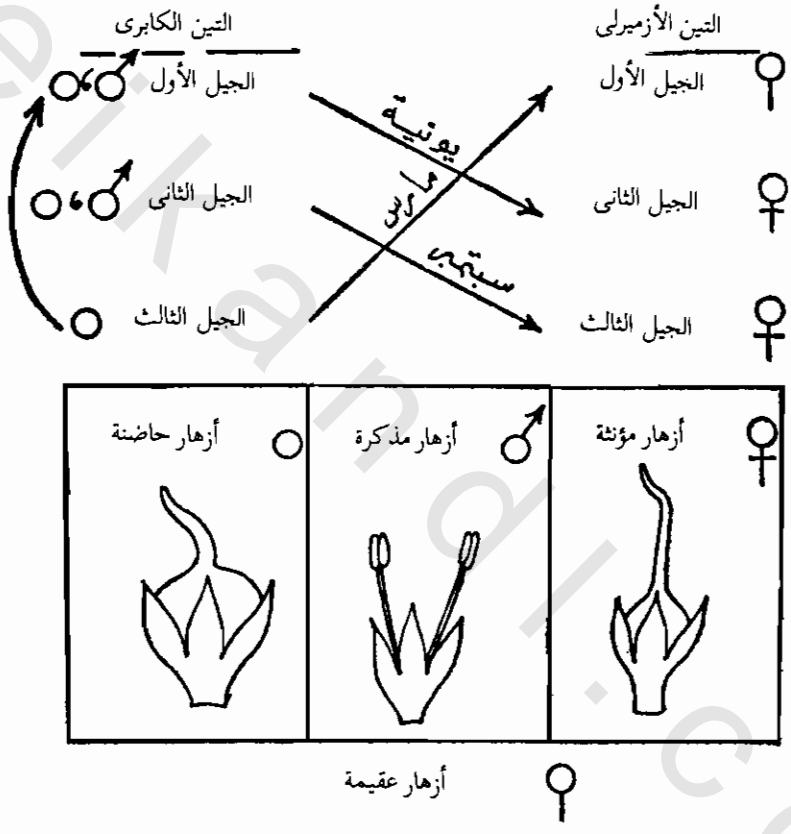
تقوم بعملية التلقيح حشرة خاصة اسمها *Blastophaga*، نشأ بينها وبين نبات التين علاقة لعلها من أعجب العلاقات المعروفة بين النبات والحيوان، وهى علاقة أساسها المنفعة المتبادلة فيهىء النبات للحشرة المكان الدافىء الأمين لوضع البيض وتغذيته وتطوره أما الحشرة فتقوم بعملية التلقيح اللازمة، ولإغراء الحشرة وتشجيعها على زيارة النورة تحورت بعض أزهارها المؤنثة فأصبحت عقيمة لها أقلام

قصيرة مثقوبة تسمى بالأزهار الحاضنة gall flowers، وفى هذه الأزهار تضع الحشرة بيضها حيث يتم فقسه وتغذيته وتطوره إلى حشرات كاملة. وفى النورة يتم التزاوج بين الحشرات وفى ذلك نهاية الذكور، أما الإناث المخصبة فتخرج من النورة باحثة عن نورة أخرى تضع فيها بيضها، ويحتك جسمها أثناء خروجها من النورة بالأزهار المذكرة فتتعفر بحبوب اللقاح الذى تحمله إلى مياسم الأزهار المؤنثة أثناء بحثها عن الأزهار الحاضنة وبذلك تتم عملية التلقيح اللازمة لنمو البذور ونضج الثمار.

يتكون على نبات التين الوحشى ثلاثة أجيال من النورات فى العام الواحد، تحوى نورات الجيل الأول أزهارا مذكرة وأخرى حاضنة، أما نورات الجيل الثانى فتحوى أزهارا مؤنثة فقط ولذلك فأن نورات هذا الجيل هى التى تكون المحصول الرئيسى للتين. أما الجيل الثالث فتحوى نوراته أزهارا حاضنة فقط وفيها تقضى الحشرة فصل الشتاء (شكل ٨٦). كان من نتيجة عمليات التهجين والانتخاب الطبيعى فى نبات التين البرى أن نشأت منه عدة سلالات يمكن وضعها فى نوعين : النوع الأول وأسمه *Ficus carica caprifica*، تحوى نوراته أزهارا مذكرة وأخرى حاضنة. وثمار هذا النوع لا تصلح للأكل بل تعطى غذاءا للماشية، أما النوع الثانى *Ficus carica domestica*، فتحوى نوراته أزهارا مؤنثة فقط، وهذا هو الذى تؤكل ثماره، ومنه التين الأزميرلى والسلطانى، فمن ذلك نرى أنه نشأ من نبات التين البرى نباتان أولهما لا يحمل إلا أزهارا مذكرة هو الكابرى وثانيهما لا يحمل إلا أزهارا مؤنثة هو الدومستكى.

أما التين السلطانى الذى يزرع بمصر فتحوى نوراته أزهارا عقيمة لا شك أنها نتيجة عمليات التكاثر الخضرى دون الزهرى، ولا تحتاج لنضج ثماره عملية التلقيح فهى ثمار بكرية خالية من البذور رطبة لا تصلح للتجفيف، ومن ثم كان موسم التين السلطانى قصيرا لا يتعدى الثلاثة أشهر. أما التين الأزميرلى فتحوى نوراته أزهارا مؤنثة تنضج نتيجة التلقيح، وتمتاز ثماره باحتوائها على البذور ومن ثم قابليتها للتجفيف والتصدير، ولذلك كان لزاما لنجاح زراعة التين الأزميرلى من أن تزرع أشجاره

متزاحمة مع أشجار التين الكابرى، أو تعلق أغصانه المزهرة على أشجار الأزميرلى حتى إذا ما خرجت الحشرة المعفرة من نورات الكابرى تدخل نورات الأزميرلى على أنها الكابرى، إذ أنها لحسن الحظ لا تميز بين النورتين، وبذلك تتم عملية تلقيح الأزميرلى وتسمى هذه العملية caprification.



(شكل ٨٦) : طريقة التلقيح فى التين الأزميرلى والعلاقة بين الأجيال الثلاثة والحشرة الملقحة .

يزرع فى كاليفورنيا فى الولايات المتحدة الأمريكية أنواع من التين بعضها ينضج ويكون ثمار ناضجة بكريا دون تلقيح وهى فى ذلك تشابه التين السلطانى والفيومى، وبعضها لا ينضج ولا يكون ثمار ناضجة إلا فى وجود حشره بلا ستوفاجا *Blas-tophaga psenes* وهى عبارة عن التين كاليميرنا Calymyrna fig . ينطبق على هذا التين الأخير تماما ما سبق شرحه على التين الأزميرلى من حيث أنواع النورات وأنواع النبات وطريقة التلقيح ونضج الثمار أى أنه لابد من زراعة تين برى لكى تحدث عملية التلقيح بواسطة الحشرات من الأزهار المذكرة للتين البرى إلى الأزهار المؤنثة للتين كاليميرنا ولكن وجود التين البرى wild fig بجانب التين العادى يأخذ مساحة من الحقل كما أن التلقيح بالحشرات قد يسبب تلقيح زائد over - pollination مما يسبب تشقق الثمار وتصبح قابلة للأصابة بأمراض عفن الثمار والتى تتسبب عن فطريات منها الفيوزاريوم *Fusarium*. ولذلك فإن إستعمال منظمات النمو بدلا من التين البرى يكون أفضل لنضج الثمار وذلك بالإضافة إلى أنه يسبب التبكير فى نضج الثمار. وجد أن أستعمال PCPA أو 5-T و 4 و 2 يسبب تكوين الثمار بكريا دون الحاجة إلى تلقيح ولذلك يمكن الأستغناء عن زراعة التين البرى تماما. يمكن أيضاً أستعمال إندول حامض البيوتريك وجد أن المعاملة بالأوكسينات تسبب صلابة جزئية أو كلية للجدار الداخلى endocarp للثميرات وتتوقف درجة الصلابة hardening (sclerification)على نوع الأوكسين المستعمل ففى حالة إندول حامض البيوتريك لا يتكون الجدار الداخلى للثميرات وفى حالة المركب CPA - 4 يتكون الجدار الداخلى ويتصلب جزئياً وفى حالة الأوكسين الضعيف جدا وهو 2 - benzthiazole oxyacetic acid - فإن الجدار الداخلى يتصلب كلية.

تشبه العلاقة بين التين وهذه الحشرة العلاقة بين الجميز وحشرة أخرى شبيهة أسمها *Cycophaga*، فثمرة الجميز لاتنضج إلا إذا وضعت الحشرة فيها بيضها، على أن يحال بين البيض وفقسه بعملية التختين المعروفة، وهى عبارة عن عمل ثغرة وذلك بواسطة سكين خاص فى جدار الثمرة لخروج الحشرات، يسبب ذلك جفاف الثمار وتصبح غير ملائمة لمعيشة اليرقات والحشرات. وفى هذه الحالة تنضج الثمرة

وتصبح صالحة للأكل. ليس المقصود بنضج الثمرة هنا تكوين البذور كما هو الحال فى التين الأزميرلى، ولكن المقصود هو نمو جدار الثمرة وتحولها إلى ثمرة صالحة للأكل، والثمرة غير المختنة غير مستساغة مليئة بيرقات الحشرة. يوجد حالياً ثمار جميز متوسطة الطعم والحجم وتنتج دون تختين وتشابه بذلك التين السلطانى.

٦ ـ خاصية الاختصاص فى قتل النباتات selectivity وعلاقتها بمبيدات الحشائش:

يعتبر من أوائل المركبات التى اكتشفت كمبيد الحشائش وكان لها خاصية اختيارية فى قتل النباتات دون الأخرى هو حامض الكبريتيك حيث وجد أنه لا يؤثر على النباتات النجيلية ولكنه يسبب موت للنباتات ذات الاوراق العريضة ولكن لا يستعمل هذا الحامض نتيجة لتأثيره الضار على النبات والانسان والحيوان. لا يعتبر حامض الكبريتيك بالطبع من الأوكسينات.

وفى أواخر الثلاثينات أهتم العلماء بالبحث عن مركبات لها خاصية الأختيار فى تنظيم نمو نباتات دون أخرى. أجريت البحوث فى سرية تامه أثناء الحرب العالمية الثانية حيث أن العلماء كانوا فى احتياج لانتاج منظمات للنمو نباتية لها أختيارية فى السمية والقتل للنباتات، ويعتقد أن ذلك بهدف أستعمال هذه المركبات فى الحرب الكيماوية، وقد أمكن بالفعل انتاج المركبين و هما مركب MCPA ومركب - 2,4 D وهى مركبات chlorinated phenoxyacetic acid بعد انتهاء الحرب أمكن استعمال 2,4 -D على نطاق تجارى كمبيد للحشائش حيث أنه له اختيارية فى القتل حيث أنه يقتل النباتات ذات الفلقتين أى ذوات الأوراق العريضة ولا يقتل النباتات ذوات الفلقة وهو يمكن أن يستعمل كمبيد حشائش فى حقول ذوات الفلقة. وبالرغم من أن 2,4 -D مركب مبيد حشائش الا أنه تنطبق عليه القاعدة الهامة للأوكسينات حيث أنه عند استعماله بتركيزات قليلة يفيد بعض العمليات الحيوية للنبات أما فى تركيزات عالية نسبياً يسبب موت وقتل للنباتات. ومما سبق يتضح أنه فى بعض المعاملات الزراعية المطلوبة فيستعمل محلول مخفف من 2,4 - D بكفاءة

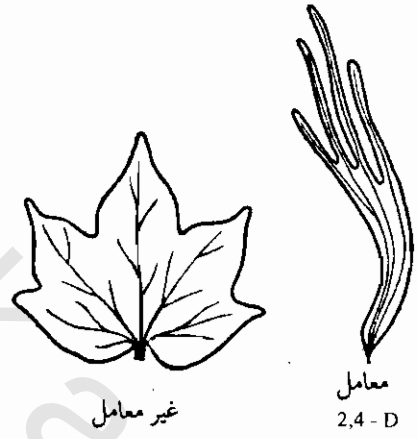
عالية وبالرغم من أن اكتشاف 2, 4 - D منذ حوالى ٥٠ سنة وأنه يعتبر أول مركب فعال أوكسين أقتصادى يستعمل كمبيد للحشائش اختيارى السمية فأنه حتى الآن غير معروف بالضبط كيف يقتل النبات، ولكن من المعروف أن 2,4 - (2,4 -D) dichlorophenoxyacetic acid يؤثر تأثير ضار على تخليق البروتينات مثل بروتينات الانزيمات والبروتينات الموجودة فى الغشاء البلازمى والتى تقوم بعملية النقل النشط لنقل الإيدروجين من داخل الخلية إلى الجدار الخلوى وأيضاً يؤثر على تخليق الأحماض النووية، ولذلك فأنه يؤثر على نفاذية الخلايا وأمتصاص العناصر. كما يؤثر على التمثيل الضوئى والنتح.

ومن المعروف أن تأثير 2,4 -D يستمر لمدة أكبر من تأثير أندول حامض الخليك حيث أنه غير قابل لأن يتحلل بأنزيم IAA oxidase كما أنه من الصعب وغيركفء فى دخوله فى تفاعلات جانبية تمنع تأثيره كما هو الحال فى IAA حيث أنه لا يكون glycosides أو ما يشابهها بسهولة، ولذلك فأن 2,4 - D يستمر لمدة أطول فعال داخل النبات وذلك بالمقارنه بمركبات IAA حيث أن الأخيرة يحدث فيها التغيرات السابق ذكرها. يزداد تركيز هذا المركب تدريجياً فى أنسجة النبات حيث لا يمكن هدمه كما سبق ذكره وهكذا حتى يصل إلى التركيز السام فتفقد الخلايا قدرتها على القيام بوظائفها الحيوية ويحدث لها إختلال وفى النهاية تموت.

يؤثر هذا المركب على نباتات ذات الفلقتين تأثير ضار ويسبب أعراض مرضية وتشويه للنبات. وتتشابه هذه الاعراض بين النباتات المختلفة وفيما يلى شرح لهذه الأعراض فى نبات القطن.

ينتج عن تعريض أوراق نباتات القطن أو جذوره السليمة لكميات ضئيلة من مركب 2,4 - D أو أحد مشتقاته المستعملة فى مقاومة حشائش نباتات ذات الفلقتين، شذوذ كبير فى نمو النباتات، فيؤدى تعريض أوراق القطن لرذاذ من مركب ٢و٤ ـ د إلى ظهور أعراض مرضية سريعة، وهى إنحناء الأوراق إلى أسفل نتيجة لنمو أنسجة السطح العلوى لأعناق الأوراق أكثر من أنسجة السطح السفلى epinasty

مع تلون الأوراق بلون أحمر. أما النموات الحديثة فيحدث لها تحورات يتوقف مداها على التركيز المستعمل، وعموما يصغر حجم الأوراق ويزداد تعريقها وضوحاً، وينتج عن ذلك زيادة نمو الأسطوانة الوعائية بالنسبة لباقى أنسجة الورقة (شكل ٨٧، و ٨٨) كما تتقارب وتضيق وتتعمق تفصيصات أنصال الأوراق ويصفر لونها.



(شكل ٨٧) : تأثير مركب 2 ,4- D على أوراق القطن.

(رسم توضيحى)

تشبه تحورات القنابات الزهرية تحورات الأوراق وتستديم مع الثمرة، أما الأزهار فتستطيل وتضيق. تتلون الثمار بلون أصفر وأحياناً تجف وتموت وهى على أفرعها، ويقل النمو العام للنبات. إذا زادت نسبة المبيد تموت القمم النامية أو يقف نموها فتتفرع النباتات تفرعا شاذا، وكثيرا ما تنمو البراعم الجانبية بعد ذلك منتجة نموات جديدة سليمة خالية من أعراض الاصابة. تظهر أعراض المرض أيضاً على الجذور فتظهر عقد كثيرة نتيجة لتكوين نسيج كالس callus وذلك فى منطقة الانتقال بين الجذور والساق.

obeikandl.com

(شكل ٨٨) : تأثير D- 4 و 2 على أوراق القطن

على اليمين ورقة سليمة وبقيه الأوراق مختلفة فى درجة تأثرها (صورة)

يقل محصول نباتات القطن كثيرا بتعرضها لمركب ٢و٤ ـ د، ويكون القطن ذو تيلة رديئة، كما وجد أن البذور الناتجة من نباتات تأثرت بهذا المركب تكون فى مستوى أقل من بذور محصول سليم من ناحية نسبة أنباتها وسرعته. كما أن النباتات الناتجة من تقاوى محصول مصاب، كثيرا ما تظهر أعراض الاصابة خاصة على أوراقها الخضرية الأولى.

تظهر أعراض الاصابة نتيجة لاستعمال آلات رش سبق أستخدامها فى مقاومة الحشائش بتلك المركبات، وفى بعض الأحيان ظهرت أعراض المبيد على نباتات قطن تبعد حوالى ثلاثين كيلو مترا عن أرض مرشوشة بالمبيد نتيجة لإنتقال المبيد بالرياح.

يعتبر هذا التأثير عام على نباتات ذات الفلقتين فى كثير من أعراضه ولا يعتبر خاص بالقطن فقط.

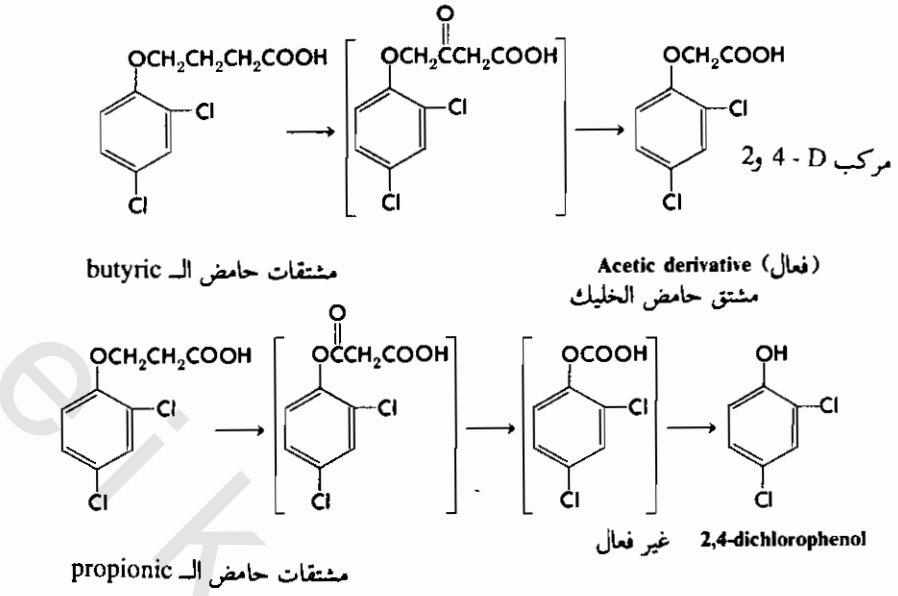
ومثال آخر للمركبات الاوكسينية التى تستعمل كمبيدات حشائش ولها خاصية اختيارية هو المركب 2,4 - Dichlorophenoxybutyric acid (2,4 - DB) الغير سام حيث أن هذا المركب ترجع فاعليته إلى أنه يتحول إلى مركب 2,4 -D السام حيث تحدث هذه العملية تبعا للنظرية المشهورة والتى درست بالتفصيل فى الكيمياء الحيوية وهى الطريقة الرئيسية لهدم الاحماض الدهنية. يحدث قصر فى طول الحامض الدهنى وأن يكون النقص فى جزىء به ٢ ذرة كربون وهذه الطريقة تعرف باسم Beta - oxidation فقد وجد أن جميع نباتات ذات الفلقتين تقوم بعمل هذا التفاعل وتحويل مشتق مركب البيوتريك إلى مشتق مركب حامض الخليك عدا نباتات عائلة واحدة فقط وهى العائلة البقولية حيث أن نباتات هذه العائلة غير قادرة على هدم هذا المبيد وتحويله إلى مركب زائد السمية وهو 2,4 - D ولذلك فأن النباتات البقولية لا تتأثر بهذا المبيد فى حين أن النباتات الأخرى تتأثر بهذا المبيد ولذلك فأنه مبيد ناجح ويستعمل بكفاءة عالية فى حقول نباتات العائلة البقولية (شكل٨٩).لذلك فأن هذا المبيد مناسب للنباتات البقولية لكى يقتل الحشائش الموجودة بها. وفى حالة تحطيم جزىء حامض البروبيونيك أى تقصير سلسلة الحامض تبعاً لنظرية B- oxidation فإن الناتج يكون مركب غير فعال فى مقاومة

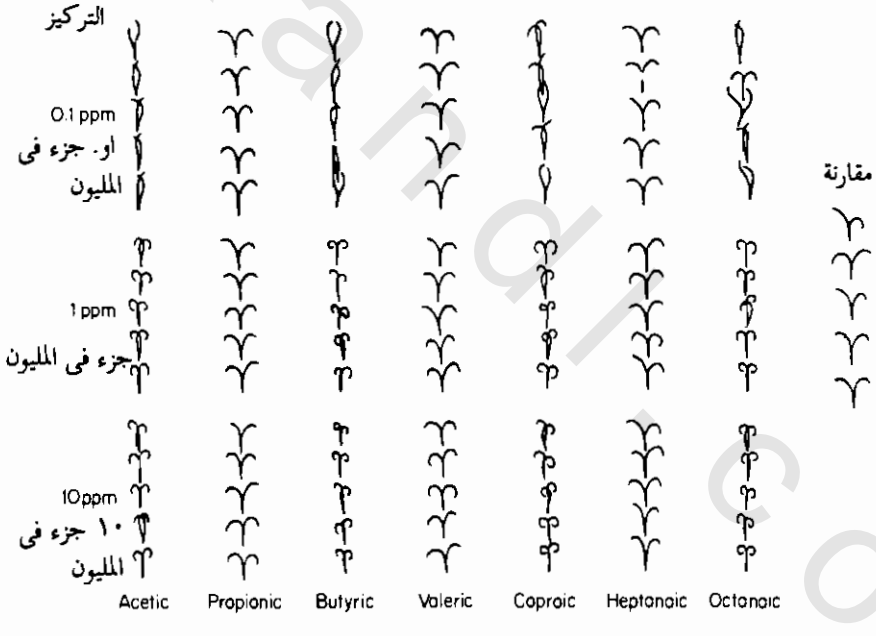
الحشائش وهو 2,4 - dichlorophenol ولذلك فإن الأحماض الدهنية ذات العدد الزوجى من الكربون تتحلل فى النهاية تبعاً للنظرية السابقة على خطوات إلى D - 4 و 2 أما الأحماض الدهنية ذات العدد الفردى من الكربون تتحلل فى النهاية تبعاً للنظرية السابقة إلى 2,4 - dichlorophenol. وقد أمكن إثبات ذلك بإستخدام طريقة إنحناء ساق البسلة المشقوقة (شكل ٨٩).

ولذلك فإن أحماض octanoic,caproic,butyric فعالة حيث أنها زوجية ٨,٦,٤ فى عدد ذرات الكربون أما أحماض heptanoic , valeric , propionic فهى غير فعالة حيث أنها فردية ٧,٥,٣ فى عدد ذرات الكربون، فى حالة المركبات الفعالة فإن شقى الساق ينحنيان للداخل ويتصالبان ويلتفان crossed and coiled والعكس صحيح فى حالة المركبات غير الفعالة حيث ينحنى الشقان للخارج.

يستخدم المبيد السابق فى حقول النجيليات المحمل عليها محصول علف بقولى حيث يتم رش المبيد السابق فى هذه الحقول ليقاوم الحشائش وبعد حصاد المحصول النجيلى يبقى محصول العلف البقولى الخالى من الحشائش والذى يستخدم فى تغذية الحيوانات. يتضح أن تفسير ظاهرة الأختصاص فى سمية مبيد الحشائش السابقة أمكن تفسيرها علمياً بطريقة واضحة بعد أن أمكن معرفة طريقة عمل أو فاعلية المبيد mode of action. ولكن لازالت طريقة عمل المبيد 2,4 - D مجهولة حتى الإن وبالتالى لا يوجد تفسير علمى واضح لتفسير ظاهرة الأختصاص فى السمية فى هذه الحاله ويوجد فى ذلك أراء كثيرة غير مدعمه بالأدلة القاطعة بالمقارنه بالمبيد السابق.

يوجد مبيد آخر وهو MCPA وتركيبه methylchlorophenoxyacetic acid ويشابه فى تأثيره مركب 2,4 - D ويختلف عنه فى تركيبه إختلاف واحد فقط حيث تستبدل ذرة الكلور الموجودة على ذرة الكربون رقم ٢ فى حلقة الفينول بمجموعة ميثيل. يستخدم هذا المبيد فى حقول الزمير أى الشوفان حيث أن هذا النبات له حساسية لمركب 2,4 - D ويسبب ضرر له. توجد بعض المحاصيل حساسة لمركب 2,4 - D ويسبب لها أضرار وأعراض مرضية ومنها الزمير فيستعمل هذا المركب فى هذه الحالات بدلا من مركب 2,4 - D حيث أنه أقل ضرر.





(شكل ٨٩) : مشتقات حامض البيوتريك والبروبيونيك وفعاليتها بأستعمال أختبار الساق المشقوقه للبسلة.

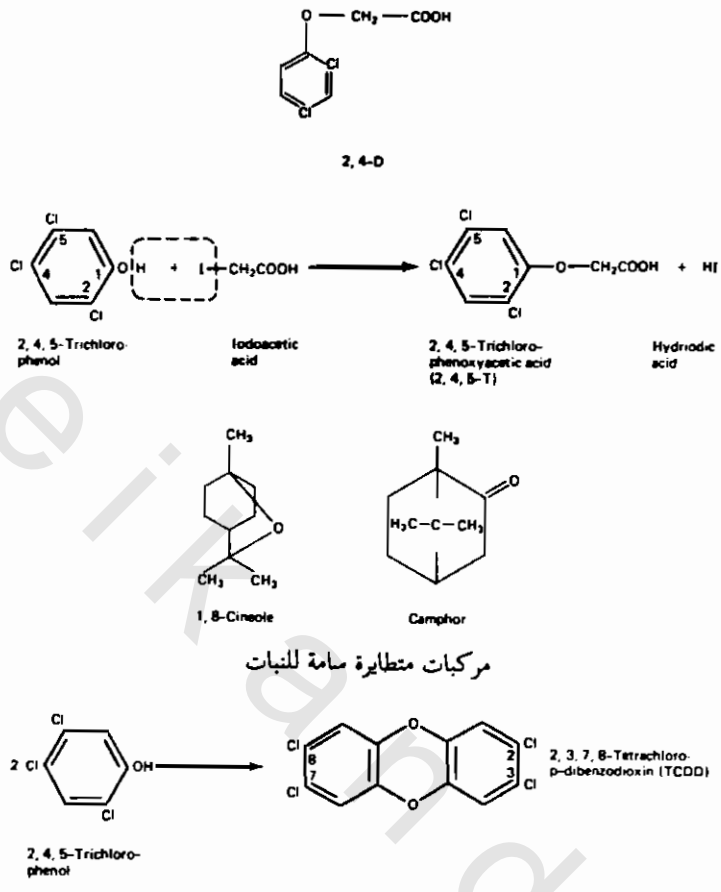
يوجد مبيد حشائش آخر وهو (2,4,5-T) 5-trichlorophenoxyacetic acid و 4 و 2 ويستعمل أيضاً كمنظم للنمو فى النباتات الخشبية والأشجار woody-plant control-ler وقد أستعمل بكثرة كمضاد للأوكسين ويسبب بذلك سقوط الأوراق defoli-ant. وقد أستعمل بكثرة أثناء حرب فيتنام فى سقوط أوراق الأشجار فى الغابات وفى أشجار مستنقعات قبور الأنسان mangrove swamps فى الغابات والمستنقعات الفيتنامية . يعتبر هذا المركب غير ضار على صحة الأنسان والحيوان ولكن وجد أن العينات التجارية من هذا المركب تسبب أعراض مرضية وتشوهات فى أجنة فيران التجارب قبل الولادة تسمى هذه التأثيرات الضارة بإسم teratogenic effects. وجد أخيراً أن سبب ذلك هو وجود مركب ملوث موجود بتركيزات أثرية أو ضئيله جدا مع 2,4,5-T وهو مركب (TCDD) 2,3,7,8- tetrachlorodibenzodioxin وينتج كمركب ثانوى by product غير مرغوب فيه أثناء تصنيع 2,4,5-T (شكل ٩٠). وجد أن تركيز هذا المركب السام فى 2,4,5-T هو ٢٥ جزء فى المليون ولذلك قد تم تنقية منظم النمو من هذا المركب السام وأصبح تركيزه ١,٠ جزء فى المليون فقط وأن هذا التركيز يعتبر غير ضار للإنسان والحيوان ولذلك أستعمل فى خف أوراق أشجار الغابات حتى القريبة من المناطق الآهلة بالسكان. ولكن بعد ذلك وحديثا نسبيا وللأسف وفى أواخر السبعينيات أتضح أن تركيز أثرى من هذا المركب السام وهو ٥ خمسة أجزاء فى التريليون trillion فى الغذاء يسبب حدوث السرطان بجميع أنواعه. وجد أيضا أن كميات ضئيلة من هذا المركب تسبب حدوث إنقسام غير مباشر غير طبيعى لخلايا النبات وينتج عن ذلك تشوية فى خلايا النبات والأنسجة ويعتبر ذلك دليل على أن هذا المركب مسبب لحدوث الطفرات أيضا mutagenic وهى صفة خطيرة غير مرغوبة لأى مركب كيماوى وذلك بالإضافة إلى أنه مسبب للسرطان وأيضا teratogenic. أخيرا ثبت وجود تركيزات كبيرة نسبيا من هذا المركب فى دهن حيوانات اللحم ومنها الأبقار وأيضا فى لبن الأمهات فى الإنسان وذلك فى المناطق التى تم رشها بهذا المركب. ولكن حتى الآن غير معروف ضرر هذا المركب تماما على الإنسان حيث أنه غير معروف حتى الآن إذا كان هذا المركب يتم تركيزه

داخل جسم الإنسان لعدم هدمه وبالتالى يصبح ضار أو أنه يتم هدمه داخل جسم الأنسان وبالتالى يتم التخلص من تأثيره السام أو حتى أنه يتم خروجه بسهولة مع البراز أو إفرازات العرق وفى جميع هذه الحالات الأخيرة يصبح مأمون للإنسان أما فى الحالة الأولى فى حالة تركيزه بداخل الجسم فإنه يكون شديد الضرر. ونتيجة لذلك ولسلامة الأنسان فقد تم تحريم إستعمال هذا المركب. ولكن لازال يوجد مؤيدين لأستعمال هذا المركب ويعتقدون أن فوائد أستعمال هذا المركب تفوق ضرره. وعلى العكس من ذلك فإن المعارضين لأستعماله يعتقدون أن إحتمال حدوث السرطان وحالة إجهاض واحدة للسيدة الحامل كافية لتحريم أستعمال هذا المركب حيث أن الفائدة الوحيدة الأساسية أنه يسبب سقوط الأوراق بسهولة وبذلك يوفر كثير من العمالة وهى باهظة التكاليف فى الدول المتقدمة وأيضاً يعضدون أزالة بادرات أشجار الغابات غير المرغوبة بالأقتلاع باليد مع توفير مبيد آخر فعال فى هذا الصدد وغير ضار بالأنسان أو الحيوان. يعتبر هذا المركب أكثر فاعلية من 2,4 - D ويستعمل هذا المركب بكثرة فى قتل النباتات المعمرة الخشبية woody perennial وذلك برش هذا المبيد على النباتات أو معاملة القلف به.

جميع المركبات المذكورة سابقاً مبيدات حشائش أوكسينية auxin-type herbicides أى تدخل فى مجموعة الأوكسينات ولكن توجد مبيدات حشائش أخرى كثيرة غير أوكسينية.

وفيما يلى مختصر لبعض مبيدات الحشائش الأكسينية الأخرى:

يعتبر DES - 2,4 غير سام للنباتات ولكن فى وجود التربه الرطبه يتحول إلى 2-(2,4 -dichlorophenoxy) ethanol والذى يتأكسد إلى 2,4 -D. يخلط مع simazine لمقاومه الحشائش الحوليه فى حقول الذره وبعض الفاكهه والورد وبعض المحاصيل المعمره وبعض أشجار وشجيرات الزينه. يباع تجاريا تحت أسم Herbon أو Herbon Blue. تركيبه الكيماوى 2-(2,4 -dichlorophenoxy) ethyl hydrogen sulphate (شكل ٩٠أ).



مركبات متطايرة سامة للنبات

(شكل ٩٠): خطوات تخليق بعض مبيدات الحشائش

أ ـ كيفيه تخليق مبيد الحشائش T - 5 و 4 و 2.

ب ـ كيفيه تخليق TCDD أثناء تخليق T - 5 و 4 و 2 نتيجه لتفاعل جانبى.

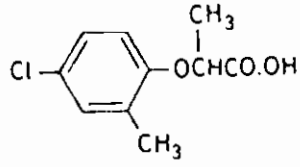
يعتبر 2,3,6-TBA منظم للنمو ومبيد للحشائش بعد الظهور فوق سطح التربه وذلك يخلطه مع منظمات نمو أخرى مبيده للحشائش وذلك فى حقول نباتات الحبوب ومحاصيل grass seeds أى grass seed crops لمقاومة الحشائش الحوليه والمعمره عريضه الأوراق. ومن هذه الحشائش Bilderdykia convolvulus و Galium aparine و Polygomum aviculare و Polygonum persicaria و Chamomilla spp و

Matricaria spp. يباع تجاريا بأسم Trysben وعند خلطه معdicamba وMCPA ومecoprop يباع تجاريا بأسم Cambilene . تركيبه الكيماوى 2,3,6- trichloro- benzoic acid (شكل ٩٠أ) .

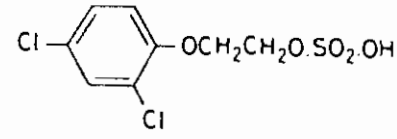
تعتبر MCPA منظم للنمو مبيد للحشائش ويمتص بسهوله بواسطة الجذور والأوراق. يستخدم فى مقاومة الحشائش العريضة الأوراق الحولية والمعمره فى حقول الحبوب والمسطحات الخضراء والمراعى و grassland . يباع تجاريا بأسمAgroxone و Agritox وPhenoxylene وCornoxM. تركيبه الكمياوى 4 - chloro-2- methylphenoxy)acetic acid (شكل ٩٠ب) .

يعتبر MCPA-thioethyl منظم للنمو مبيد للحشائش، بعد الظهور فوق سطح التربة، الحولية و المعمره منها السعد والعليق و العجيزه والمنتنا (زربيح) والبربيط وأبوظلف و *Sagittaria* فى حقول القمح والأرز وحدائق الفاكهة.يباع تجاريا بأسم Herbit أو Zero One .تركيبه الكيماوى S-ethyl(4 - chloro-2- methylphen- oxy)ethanethioate (شكل ٩٠أ) .

يعتبر MCPB منظم للنمو مبيد للحشائش، بعد الظهور فوق سطح التربه، الحوليه والمعمره عريضة الأوراق فى الحبوب والبسله والمسطحات الخضراء والمراعى.تعتبر حالة الأختصاص هنا والأختياريه فى السميه فى مدى قدره النباتات التى تتأثر به فى نقل هذا المركب داخلها.أى أن الأختياريه متوقفه على قدره المركب على الأنتقال داخل النبات وكلما زاد الأنتقال كلما زادت فاعليه وسمية المركب للنبات والأهم من ذلك هو قدره النباتات على تحويلة إلى MCPA السام.و أذا حدث الأنتقال ولم يحدث التحويل إلى MCPA فيعتبر ذلك المركب غير فعال كمبيد لهذا النبات.يباع تجاريا بأسم Tropotox . تركيبه الكيماوى 4 -(4 - chloro-2-methyl phen- oxy)butyric acid (شكل ٩٠أ) .

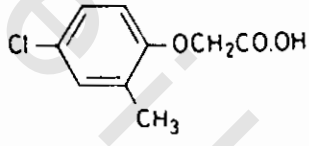


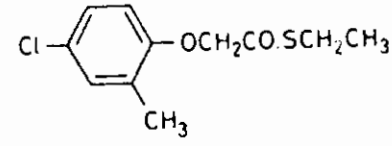
Mecoprop



2 ، 4 - DES

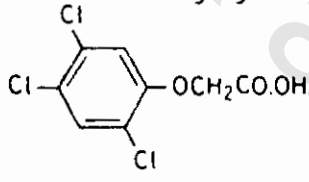
MCPA

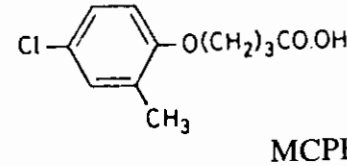




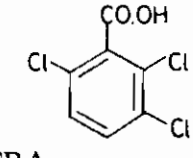
MCPA - thioethyl

2 ، 4 ، 5-T

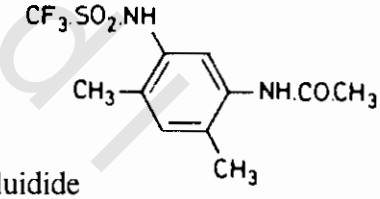




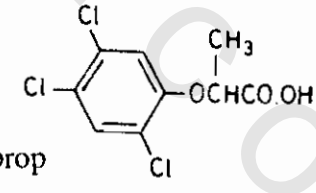
MCPB



2 ، 3 ، 6-TBA



Mefluidide



Fenoprop

(شكل ٩٠أ) : التركيب الجزيئى لبعض مبيدات الحشائش الهورمونية.

يعتبر 2,4,5-T منظم للنمو مبيد للحشائش بعد الظهور فوق سطح التربه وقد يخلط مع2,4 - D يستعمل فى مقاومه الحشائش وأيضا لمقاومه الأشجار والشجيرات. يستخدم للرش على المجموع الخضرى والأفرع الساكنه وعلى قلف الأشجار.يستخدم فى عمل التحليق للنباتات والأشجار.يمتص بواسطة الجذور والأوراق والقلف.تستعمل استرات هذا المركب ضعيفة التطاير فى معلاملات ULV أى ULVapplication. يباع تجاريا بأسم weedone . تركيبة الكميـاوى -5 و 4 و2 (trichlorophenoxy)acetic acid (شكل ٩٠أ) .

يعتبر mecoprop منظم للنمو مبيد للحشائش بعد الظهور فوق سطح التربه.يقاوم chickweed والقزازه و cleavers وغيرها فى محاصيل الحبوب حوالى اكجم للفدان. يستخدم أساسا مع مبيدات حشائش أخرى فى صوره مخلوط لزياده المدى والفاعليه.يباع تجاريا بأسم Iso-Cornox. تركيبه الكيماوى-2-(4 -chloro-2- methylphenoxy) propionic acid (شكل ٩٠أ) .

يعتبر mefluidide منظم للنمو مبيد للحشائش يستخدم فى تثبيط نمو وأنتاج البذور فى turf grasses والأشجار ونباتات الزينه الخشبيه.يستخدم فى زياده تركيز السكر فى قصب السكر. تثبيط النمو وأنتاج البذور فى كثير من الحشائش فى كثير من المحاصيل، وخاصة حشيشه الفرس *Sorghum halepense* الريزوميه فى حقول فـول الصويا التركيز حوالى ٣, كجم / فدان.يباع تجاريا بأسم Embark تـركيبه الكمـياوى5-(1,1,1-trifluoromethanesulphonamido) acet-2,4 -xylidide (شكل ٩٠أ) .

يعتبر fenoprop منظم للنمو مبيد للحشائش ويتم أمتصاصه بواسطة الأوراق والسيقان. يستعمل فى مقاومة الحشائش المائيه و الحشائش ذات الورق العريض فى حقول الذرة والقصب. تستعمل الأحماض الأمينية لهذا المركب amine salts فى رش نباتات التفاح قبل جمع الثمار بحوالى أسبوع إلى أسبوعين لتقليل تساقط الثمار الطبيعى قبل الجمع وبذلك يزداد المحصول. يباع تجاريا بإسم Kuron و Fruitone T. تركيبه الكيماوى (±)2-(2,4,5-trichlorophenoxy) propionic acid (شكل ٩٠أ) .

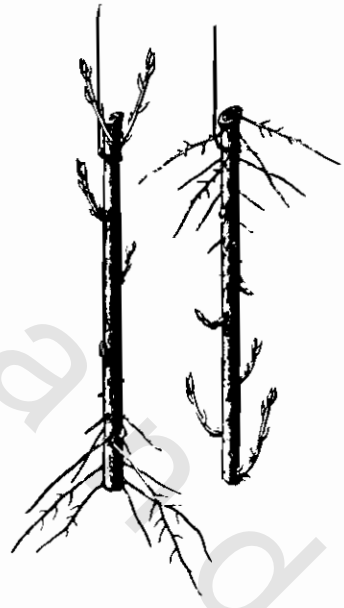
٧ ـ القطبية فى النباتات Polarity

تعرف القطبية فى النبات بأنها حدوث تغييرات وفروق واضحة فى طرفى محور axis وبحيث أن طرفى المحور يختلفان تماماً فى الشكل ومثال ذلك محور النبات plant axis حيث أن طرف يكون الجذر و الطرف الآخر يكون الساق.

تصنف القطبية إلى ثلاث أنواع وهى القطبية المحورية axial polarity وهى واضحة فى الساق وقليلة الوضوح فى الجذر والقطبية الظهرية الباطنية dorsiventral polarity وهى واضحة فى الأوراق حيث يوجد إختلاف فى التركيب التشريحى والظاهرى فى كل من الجزء العلوى والسفلى للورقة والقطبية القطرية radial polarity وهى واضحة فى بعض الأجزاء الكروية مثل خلايا طحلب كلوريلا *Chlorella* وثمار التفاح.

تعتبر القطبية المحورية هى الأكثر أهمية فى هذا الجزء. يعتبر من الواضح أن القطبية المحورية تتكون أثناء تكون الجنين بداخل الكيس الجنينى حيث أن الجذير يكون دائماً مواجه لفتحة النقير، ولذلك فإن القطبية تنشأ وتتحدد فى الجنين وهو داخل أنسجة الأم، وبالطبع يوجد على الطرف الاخر من محور الجنين الريشة. وعند حدوث القطبية فى أعضاء أو أجزاء الكائن الحى فإنه من الصعب تغييرها. ومن أدق وأفضل الأمثلة فى ذلك أن العقل الساقية عند قطعها من النبات وزراعتها فى وضع عادى أى الجزء العلوى من العقلة إلى أعلى والجزء السفلى إلى أسفل فأن القطبية تكون واضحة حيث يتكون على الطرف العلوى المجموع الخضرى وعلى الجزء السفلى المجموع الجذرى. ولكن عند زراعة العقلة مقلوبة فى أتجاه عكس الأتجاه السابق فإن الجذر يتكون على الجزء العلوى والمجموع الخضرى يتكون على الجزء السفلى أى أن القطبية واضحة فى العقل الساقية وأن تكوين المجموع الجذرى والمجموع الخضرى مرتبط بطرفى العقلة دون أى تأثير للجاذبية الأرضية فى ذلك. يتضح من ذلك من تجربة فيفر Pfeffer عام ١٩٠٣ حيث قام بتعليق عقلتين من ساق نبات الصفصاف

فى الهواء وبحيث يكون وضع أحد العقلتين عادى ووضع العقلة الثانية عكسى. أجرى هذه التجربة فى جو عال أو مشبع بالرطوبة. كانت النتيجة تكوين قمة مورفولوجية morphologically upper endعلى العقل أى أن الجزء العلوى من العقلة الساقية هو عبارة عن قمة مورفولوجية يتكون منها المجموع الخضرى دون أى تأثير لأتجاهها ووضعها (شكل ٩١).



(شكل ٩١) : القطبية فى ساق صفصاف.

الشمال : ساق مقطوعة معلقة فى جو مشبع بالرطوبة.

اليمين : ساق مقطوعة معلقه مقلوبه الوضع فى جو مشبع بالرطوبة.

يلاحظ أن الجذور تنمو من القاعدة المورفولوجية والسيقان تنمو من القمه المورفولوجية دون تأثير لوضع الساق مقلوبة أو عادية.

وحيث أنه لا يوجد إختلاف فى الشكل المورفولوجى للعقلة فى كلا الطرفين ولكن من الواضح أنه يوجد قطبية فسيولوجية physiological polarity بين طرفى العقلة وهى المسئولة عن تكوين الأختلاف فى الشكل المورفولوجى على طرفى العقلة دون أى تأثير للجاذبية الأرضية فى ذلك. توجد آراء مختلفة فى تفسير القطبية

obeikandl.com

الفسيولوجية. أحد هذه الآراء أنه يوجد تدريج فى تركيز المواد الغذائية والمركبات المختلفة الضرورية للعقلة gradient of metabolites بين طرفى العقلة نتيجة لأختلاف تدريجى فى تركيز هذه المركبات بين الساق والجذر . يعتبر هذا الرأى غير سليم حيث أن طول العقلة قصير نسبياً ولا يصل فى طول النبات أو الساق أو الجذر وبالتالى أن إختلاف تركيز هذه المركبات فى طرفى العقلة غير موجود أو ضعيف جداً. كما أن العقل يتم أخذها من النبات فى كثير من الأحوال أثناء سكون النبات وبالتالى فإنه لا يوجد إختلاف فى تركيز هذه المواد فى داخل النبات وبالتالى فإنه لا يوجد إختلاف فى تركيز هذه المواد فى العقلة أيضاً ولذلك يعتقد أن هذا التأثير راجع لأختلاف فى تركيز الهورمونات وخاصة الأوكسينات داخل العقلة، ويجب أيضاً التنوية أن الأختلاف فى تركيز الهورمونات داخل العقلة نتيجة للقطبية فى العقلة وليست هى السبب فى حدوث القطبية.

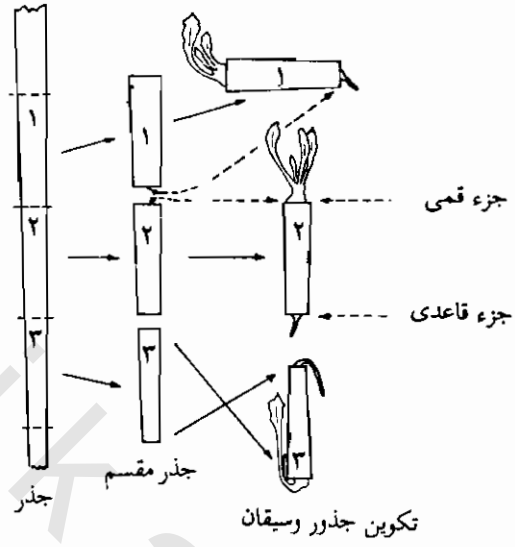
وقد لوحظ أن هناك إرتباط بين كل من ظاهرة القطبية عند تكوين الجذور العرضية وحركة إنتقال الأوكسينات فى كثير من الحالات.

تحدث ظاهرة القطبية فى جذور بعض النباتات مثل الشيكوريا و *Taraxacum* ولكنها غير عامة الحدوث بالمقارنة بالساق. ومما يثبت ذلك أنه عند تجزيىء الجذر إلى ثلاث أجزاء وزراعة الجزء الأول أفقى والجزء الثانى رأسى فى الوضع العادى والجزء الثالث رأسى منعكس أى فى الوضع المقلوب فإنه يتكون دائماً من الجزء العلوى من العقلة مجموع خضرى ويتكون من الجزء السفلى مجموع جذرى دون أى تأثير لأتجاه وضع أو زراعة العقلة (شكل٩٢).

٨ ـ الحركة الأنسابية للبروتوبلازم Protoplasmic streaming (cyclosis)

عند معامله بعض الخلايا أو الأنسجة النباتية بأندول حامض الخليك فأنه يسبب زيادة فى سرعة الحركة الأنسيابية للبروتوبلازم ومثال ذلك خلايا غمد الريشة لنبات الشوفان وخلايا الكمبيوم فى الصنوبر والشعيرات الموجودة على أسدية نبات *Trades-cantia* لايوجد أى تأثير لزيادة هذه الحركة على نمو النبات بواسطة الأوكسين

حيث وجد أن معاملة هذه الخلايا بمركب cytochalasin يسبب توقف الحركة الأنسيابية للبروتوبلازم وبالرغم من ذلك فإن النمو يحدث بنفس السرعة.



(شكل ٩٢) : القطبية فى جذور الشيكوريا ونبات *Taraxacum*

يلاحظ تكون السيقان والجذور فى قطع الجذور فى القمة والقاعدة على التوالى دون أى تأثير لأتجاه وضع جزء الجذر.

٩ ـ تشجيع الأزهار Induction of flowering

تشجيع الأزهار فى نبات الأناناس pineapple يحدث بواسطة معاملة النبات بأوكسين نفثالين حامض الخليك فى مرحلة معينة وفى وقت مناسب .كما أن الثمار المتكونة تكون متجانسة فى نموها وبالأضافة إلى ذلك يمكن جمعها مرة واحدة أو فى مدد متقاربة.

١٠ ـ خف الثمار Thinning of fruits

يمكن أستخدام منظمات النمو فى خف الثمار بعد العقد حيث أن وجود عدد كبير من الثمار بعد العقد يسبب تكوين ثمار صغيرة الحجم ولذلك فإن خف الثمار بعد العقد يسبب تكوين ثمار ذات حجم كبير مناسب وذات قيمة إقتصادية يستخدم

ذلك فى بعض النباتات مثل التفاح. يمكن أستخدام أوكسينات لمنع سقوط الثمار الكبيرة ومن أمثلة ذلك التفاح أيضاً. يتضح من ذلك وجود ظاهرتين متضادين هى التساقط ومنع التساقط يمكن التحكم فى هاتين الظاهرتين المتضادتين بإختيار موعد المعاملة فى كل حالة وأيضاً بإختيار التركيز المناسب فى كل حالة وبذلك يمكن أنجاز هاتين الحالتين المتضادتين بكفاءة عالية وفى النبات الواحد. ويلاحظ أن كلاهما يحدث نتيجة لتأثير الأوكسينات.

obeikandl.com