

تأثير حامض الإسكوريك و السالسليك في إزالة سمية كلوريد الكادميوم بدلالة تكوين العرضية في عقل الماش. *Vigna radiata L. Wilczek* الجذور .

اسراء عبد الامام الرياحي, عبدالله ابراهيم شهيد
جامعة بابل / كلية العلوم / قسم علوم الحياة

الخلاصة

تهدف هذه الدراسة الى تبيان تأثير حامض الاسكوريك (AsA) و السالسليك (SA) في تخفيف الاجهاد التاكسدي المتسبب عن سمية الكادميوم خلال عملية التجذير في عقل الماش *Vigna radiata L. Wilczek* باستخدام تقنية المزارع المائية . ان تجهيز AsA سوية مع $CdCl_2$ ازال السمية بمضاعفة معدل عدد الجذور تقريباً 10.9 جذر مقارنة بعينة السيطرة العامة 6 جذر و مقارنة بعينة $CdCl_2$ 1 جذر وهي مساوية معنوياً لمعدل عدد الجذور المتكشفة بتأثير AsA لوحده 11.5 جذر. اما تجهيز AsA بعد المعاملة بالكادميوم post treatment فقد ازال سمية الكادميوم برفع معدل عدد الجذور الى العدد نفسه في عينة السيطرة العامة ، في حين لم تكن للمعاملة ب AsA قبل الكادميوم pre treatment القدرة على ازالة سمية $CdCl_2$. ان استخدام SA مع أي من التوقيتات السابقة (قبل، بعد، الوقت نفسه) وكذلك بالنسبة للمعاملة AsA+SA لم تفلح في ازالة سمية ال Cd في العقل اذ وجد انه ليس هناك فعل تآزري بين الحامضين في تخفيف سمية الكادميوم .

The influence of Ascorbate and Salicylate in Cd-detoxification in terms of adventitious root formation in mung bean cuttings

Abstract:

The main objectives of this study were to elucidate the influence of ascorbate and salicylate in alleviating oxidative stress induced cadmium toxicity in mung bean *Vigna radiata L. Wilczek* grown hydroponically during rooting response. Supplying of AsA simultaneously with cadmium chloride ($CdCl_2$) was detoxified Cd by approximately duplicating the roots number (10.9 root) compared to general control (6 root) as well as to $CdCl_2$ control (1 root). Mean-while, the same rooting response was equalled to that developed by the effect of AsA alone 11.5 root. However, supplying of AsA after $CdCl_2$ treatment (post treatment) was detoxified Cd by raising the root number to the level of control whereas, the pretreatment with AsA didn't have the potency in Cd detoxification. SA treatment at any of the previous timing and the treatment with AsA+ SA did not able to detoxify Cd in cuttings which have no synergistic action between AsA and SA in alleviating Cd toxicity.

Key words:- Adventitious root formation, Ascorbic acid, Auxin, Cadmium, Detoxification, Mung bean, Salicylic acid.

المقدمة

تحظى المستويات العالية لعنصر Cd في التربة باهتمام خاص لسهولة اخذه من قبل النباتات مقارنة ببقية المعادن (Hasan et al., 2009). و إن معظم الكادميوم المأخوذ من قبل النبات يكون محصور في الجذور، اذ يكون تركيزه أعلى بتسع مرات من تركيزه في السيقان (Mahmood et al., 2009). تعتمد قابلية النبات على أخذ Cd من التربة على عدة عوامل تتضمن تركيز الكادميوم وجاهزية الحيوية bioavailability ووجود المواد العضوية Organic matters فضلا عن pH التربة المحيطة بالجذور والجهد الاختزالي-التأكسدي والحرارة وتركيزالعناصر الأخرى كالكالسيوم والفسفور (Probst et al., 2009).

ويؤثر التسمم بالمعدن و خصوصا بالكادميوم في نفاذية الغشاء البلازمي مما يعيق التوازن المائي (Costa and Morel, 1994)، اذ يحصل التغيير في وظيفة الغشاء البلازمي من خلال تحفيزه أكسدة الدهون lipid peroxidation (Fodor et al., 1995). ان معاملة نبات الماش *Phaseolus aureus* ونبات *Vicia sativa*

بالكادميوم بتركيز ١٠٠ ملي مايكرو مولاري يزيد معنوياً إنتاج الجذور الحرة مثل super oxide anion و hydrogen peroxide و يزيد فعالية الانزيم NADPH-Oxidase المرتبط بالعشاء البلازمي وفعالية الأنزيم Symplastic superoxide dismutase (sym SOD) و Apoplatic SOD و (APX) Ascorbate و peroxidase في أوراق كلا النوعين وبالخصوص *P. aureus* (Zhang et al., 2009). وقد ادت المعاملة المسبقة بـ ascorbate (AsA) و أنزيم catalase (CAT) في نبات *Arabidopsis thaliana* المعرض لاجهاد Cd الى تقليل انتاج reactive oxygen species (ROS) ومنع تثبيط عملية البناء الضوئي والتغير في العضيات و الموت اللاحق للبلاستيدات الخضراء (Bi et al., 2009). وتؤدي المعاملة بـ AsA الى زيادة سرعة انتقال الخلايا التي شرعت بالانقسام من الطور G1 الى الطور S (Citterio et al., 1994). كما يتناقص محتوى AsA بوجود Cd في الجذور والعقد الجذرية لفلو الصويا *Glycine max* (Balestrasse et al., 2001) وفي البلاستيدات الخضراء في نبات الخيار *Cucumis sativus* (Zhang et al., 2003). يعد حامض السالسليك كمادة شبيهة بالهرمون hormone like substance (Hayat & Ahmad, 2007) و يختلف تأثيره في سمية Cd تبعاً لنوع النبات اذ بين Metwally (٢٠٠٣) ان التعرض لـ Cd يزيد محتوى جذور الشعير من الـ SA الحر، ويكون تأثير الـ SA قليل على النبات في الظروف الطبيعية (بغياب الـ Cd) الا ان طول الجذور والساق و الوزن الطري و الجاف يزداد بوجودهما معاً. ان المعاملة المسبقة بالـ SA لبذور نبات البازيلا تخفف التأثير الضار لـ Cd على النمو و البناء الضوئي و تفاعلات الـ carboxylation و خصائص الوميض الحراري thermoluminescence characteristics اضافة الى محتوى الكلوروفيل (Popova et al., 2008). ان معاملة جذور نبات الرز المسبقة بـ SA و المعرض للكادميوم ترفع مستوى مضادات الأكسدة الأنزيمية و اللا أنزيمية في السيقان و الجذور، و بهذا يخفف الضرر التأكسدي بدلالة انخفاض مستوى H_2O_2 و malondialdehyde و زيادة النتج (Guo et al., 2009). لقد وجد ان المعاملة بالكادميوم ترفع مستوى الـ SA الداخلي، و الذي ربما يعمل بصورة مباشرة كمضاد اكسدة لكسح الـ ROS و/ او ربما يعدل بصورة غير مباشرة التوازن الأختزالي-التأكسدي redox balance من خلال تفعيل الاستجابات المضادة للأكسدة (Popova et al., 2008) او من خلال الحفاظ على التوازن الأيوني (Drazic and Mihailovic., 2005).

المواد وطرائق العمل

استعملت في هذه الدراسة بذور نبات الماش المحلية *wilczek (L.) vigna radiata* للموسم الزراعي ٢٠٠٩-٢٠١٠ من محافظة بابل قضاء المحاويل. و غسلت البذور لعدة مرات بماء الحنفية الجاري، ثم نقعت لمدة ١٢ ساعة (over night) و زرعت في نشارة الخشب sawdust (المغسولة و المعقمة مسبقاً) بأستعمال احواض بلاستيكية مثقبة و بأبعاد ١٩ × ١٤ × ٦ سم. أجريت التجارب تحت الظروف المختبرية القياسية بأضاءة مستمرة و شدة ضوئية ١٥٠٠-١٨٠٠ لوكس و درجة حرارة 25 ± 1 °م و رطوبة نسبية ٦٠-٧٠٪ في غرفة النمو growth cabinet نوع Binder GmbH. تركت البادرات تنمو لحين وصولها عمر ١٠ ايام (مرحلة الاتساع التام للاوراق الاولية) ثم انتخبت البادرات المتماثلة مظهرها حسب طريقة (Hess, 1961)، والتي تمتاز بأحتوائها على برعم طرفي و زوج من الاوراق الاولية كاملة الاتساع و سوقية جنينية فوق الفلق epicotyl و سوقية جنينية تحت الفلق hypocotyl بطول ٣ سم تحت موقع ندب الفلق cotyledonary nodes و ذلك بعد ازالة المجموع

مجلة جامعة بابل / العلوم الصرفة والتطبيقية / العدد (1) / المجلد (11) : ٢٠١٣

الجزري. يعامل الجزء القاعدي للعقل بمحاليل الأختبار ، و ذلك بوضع العقل في اقداح زجاجية صغيرة ، كل معاملة تتضمن ثلاث اقداح صغيرة و يتسع كل قده لاربعة عقل أي بواقع ١٢ عقلة للمعاملة الواحدة. يتطلب عمر السويقة تحت الفلقية hypocotyl التي طولها ٣ سم محلول حجمه ٣٢ مل من محاليل الأختبار ، وتعامل العقل لمدة ٢٤ ساعة في الماء المقطر ، محاليل الأختبار او التوليفات ، بعدها تنقل الى حامض البوريك H_3BO_3 (10 µg/ml) لمدة ستة ايام كوسط للتجذير.

تحضير محاليل التجذير

حضرت محاليل التجذير باستخدام ماء التناضح العكسي (R.O.) reversible osmosis ، اذ حضر حامض البوريك بتركيز 10 µg/ml و استخدم كوسط للتجذير ، وذلك لدور البورون الضروري في نمو البادئات الجذرية و تكشفها الى جذور مرئية (Middleton *et al.*, 1978b) . كما استعمل محلول حامض الاسكوربيك بالتركيز ٥٠ ، ١٠٠ ، ٢٠٠ ، ٣٠٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ ، ٦٠٠ ، ٧٠٠ ، ٨٠٠ ، ٩٠٠ ، ١٠٠٠ جزء بالمليون و كذلك استعمل محلول حامض السالسليك بالتركيز $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}$ مولاري بعد اذابته ب ٢ مل من الكحول الايثيلي (٣٠%) . كما حضر محلول كلوريد الكاديوم بتركيز ١.٥ جزء بالمليون وهو التركيز السام لتكوين الجذور العرضيه في عقل الماش (تجار تمهيديه) . يحضر الأوكسين الصناعي indol acetic acid (IAA) بتركيز 5×10^{-4} مولاري وقت المعاملة ، و هو التركيز الامثل لتجذير النوع نفسه من عقل الماش (Shaheed 1987) حيث يذاب في كمية من الكحول المطلق absolute ethanol و يكمل الحجم المطلوب بحيث يكون تركيز الكحول النهائي 20% و ان هذا التركيز غير مؤثر في عملية تكوين الجذور العرضية في عقل الماش (Middleton *et al.*, 1978a).

تحليل ماء التناضح العكسي (R.O.)

جدول ١: تم تحليل الماء R.O. و مقارنته بالماء المقطر D.W.

المؤشرات المدروسة	التركيز (mg/l) لماء التناضح العكسي R.O.	التركيز (mg/l) للماء المقطر D.W.
العسرة الكلية	٢٠٠	٢٥٠-٥٠٠
Ca^{+2}	٩٠	١٥٠
Mg^{+2}	24.6	٥٠
NO_3	غير محسوس	متغير
NO_2	غير محسوس	متغير
P	غير محسوس	غير محسوس
Ec	٢٢٠ مايكرو سيمنز/ سم	(400-600) مايكروسيمنز/ سم

حساب عدد الجذور و التحليل الاحصائي

بعد الانتهاء من معاملة العقل بحامض البوريك لسنة ايام ، تم حساب عدد الجذور لكل عقلة و استخراج المعدل للمعاملة الواحدة (١٢ عقلة). تم استخراج قيمة L.S.D. للمقارنة بين المعاملات على مستوى احتمالية (0.05) باستخدام تحليل التباين analysis of variance (ANOVA) و انجزت ببرنامج SPSS ver.10 لجميع التجارب على انفراد .

النتائج

تأثير الفعل المتبادل بين حامض الاسكوريك و حامض السالسليك في استجابة تجذير عقل الماش
استناداً الى ان التركيز الامثل من AsA و SA في استجابة التجذير في عقل الماش (200 ppm ، 10^{-6} M على التوالي) (تجارب تمهيديه) اذ كشفت المعاملة بال AsA (200 ppm) جذر فيما كشفت المعاملة بال SA 11.7 جذر عند التركيز 10^{-1} M كل على انفراد . تم عمل عدة توليفات بين الحامضين (الجدول 1) ووجد ان التوليفات لاتعطي زيادة معنوية في معدل عدد الجذور باستثناء التوليفات (SA 10^{-6} M +AsA 200 ppm) و (SA 10^{-8} M SA+200 ppm) و (10^{-7} M SA+200 ppm AsA) جذر 32 اضافة إلى التوليفة (SA 10^{-8} M SA+200 ppm) (21.7 جذر) عندما يجهز التركيز الامثل من AsA (200 ppm) مع تراكيز مختلفة من SA . علماً بان هذه التوليفات لم تصل الى استجابة التجذير المتمثلة بال AsA وحده على الرغم من كونها اكثر من ضعفي الاستجابة لمعاملة السيطرة العامة (الماء المقطر) و كذلك الحال مع التوليفات التي تضمنت التركيز الامثل من SA (10^{-6} M) مع تراكيز مختلفة من AsA . اذ تميزت التوليفات (AsA 200 ppm+SA 10^{-6} M) و (AsA M) 10^{-6} M+SA 600 ppm و كشفت 25.8 و 27.3 جذر/ عقلة على التوالي ، الا انها لم تصل كذلك الى استجابة التجذير عندما يجهز AsA وحده (33.7 جذر). وعموماً فقد تبين من الجدول 1 ، ان الأولوية لحامض الاسكوريك في تحسين استجابة التجذير لعقل الماش ولا يحصل فعل تآزري بين الحامضين في تحسين استجابة التجذير عند وجودهما معاً .

جدول ٢ : تأثير الفعل المتبادل بين حامض الاسكوريك و حامض السالسيك في استجابة تجذير عقل الماش

12.5	السيطرة العامة (ماء مقطر)	
	SA (M)	ASA (ppm)
33.7	-	200 (control)
4.7	10^{-3}	200
16.3	10^{-4}	200
19.7	10^{-5}	200
33.5	10^{-6}	200
32	10^{-7}	200
21.7	10^{-8}	200
12.3	10^{-9}	200
11.7	10^{-6} control	-
16.5	10^{-6}	900
14.8	10^{-6}	800
22.3	10^{-6}	700
27.3	10^{-6}	600
19.5	10^{-6}	500
23.8	10^{-6}	400
21.8	10^{-6}	300
25.8	10^{-6}	200
13.2	10^{-6}	100
13.5	10^{-6}	50
LSD(0.05)	9.7	

ازالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من AsA و SA اعتماداً على الاوكسين الداخلي

تم تجهيز SA و AsA الذين يعدان كمضادى للأكسدة بثلاث توقيتات مختلفة تضمنت تجهيزهما للعقل بعد معاملتها بكلوريد الكادميوم Posttreatment او قبل المعاملة بكلوريد الكادميوم Pretreatment او سوية Simultaneously مع كلوريد الكادميوم . ففي الجدول ٣ أدت المعاملة بحامض الاسكوريك بالتركيز الامثل (200 ppm) بعد المعاملة بكلوريد الكادميوم بالتركيز السام (1.05 ppm) إلى رفع معدل عدد الجذور إلى (٦.٣ جذر) وهذه تعد زيادة معنوية جداً مقارنة بعينة سيطرة كلوريد الكادميوم (١ جذر) بأىصال معدل عدد الجذور إلى عينة السيطرة العامة R.O. water (٦ جذر). أما المعاملة بحامض السالسيك (10^{-1} M) بعد معاملة العقل بكلوريد الكادميوم سواء كان لوحده أو بخلطه مع حامض الاسكوريك لم يسجل فرقاً معنوياً مقارنة بسيطرة كلوريد الكادميوم مما يشير إلى عدم إمكانية حامض السالسيك في ازالة سمية الكادميوم في عقل الماش عند تجهيزه بعد المعاملة Posttreatment بكلوريد الكادميوم. والجدول ٤ يوضح عدم إمكانية ازالة سمية كلوريد الكادميوم عندما يتم تجهيز التركيز الأمثل من حامض الاسكوريك و / او حامض السالسيك قبل المعاملة pretreatment بكلوريد الكادميوم . اما الجدول ٥ فقد بين ان تجهيز AsA سوية مع $CdCl_2$ قد احرز زيادة معنوية حيث كشف ضعف عدد الجذور (١٠.٩ جذر) تقريباً مقارنة بعينة السيطرة العامة (٦ جذر) وان هذه التوليفة ($CdCl_2 + AsA$) تقلل كمية الـ $CdCl_2$ المأخوذة وترفع عدد الجذور في العقل المعاملة بـ $CdCl_2$ من (١ جذر) إلى (١٠.٩ جذر) وتكشف هذه

التوليفة عدد من الجذور مساوي معنوياً لعدد الجذور المتكشفة بتأثير ASA لوحده (11.5) جذر، أي انه يمنع حدوث التسمم بالكاديوم عندما يجهزان معاً.

جدول ٣ : ازالة سمية CdCl₂ بالتركيز الأمثل من SA و ASA عندما يجهزان بعد المعاملة Post-treatment بكلوريد الكاديوم (بدون تجهيز الاوكسين)

معدل عدد الجذور/ عقلة	معاملة اليوم الثاني	معاملة اليوم الاول
6	H ₃ Bo ₃	R.O. Water
1	H ₃ Bo ₃	CdCl ₂
11.5	H ₃ Bo ₃	AsA
10.8	H ₃ Bo ₃	SA
15.6	H ₃ Bo ₃	AsA+SA
6.3	AsA	CdCl ₂
1.5	SA	CdCl ₂
1.4	AsA+SA	CdCl ₂
2.47		LSD (0.05)

جدول ٤ : ازالة سمية CdCl₂ بالتركيز الامثل من SA و ASA عندما يجهزان قبل المعاملة Pre treatment بكلوريد الكاديوم (دون تجهيز الاوكسين).

معدل عدد الجذور	معاملة اليوم الثاني	معاملة اليوم الاول
6	H ₃ Bo ₃	R.O. water
1	H ₃ Bo ₃	CdCl ₂
11.5	H ₃ Bo ₃	AsA
10.8	H ₃ Bo ₃	SA
15.6	H ₃ Bo ₃	AsA+SA
1.4	CdCl ₂	ASA
1.3	CdCl ₂	SA
0.6	CdCl ₂	AsA+SA
٢,١		LSD(0.05)

جدول ٥: إزالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من SA و AsA عندما يجهزان سوية Simultaneously مع كلوريد الكاديوم (دون تجهيز بالاكسين)

معدل عدد الجذور/عقلة	معاملة اليوم الثاني	معاملة اليوم الاول
6	H_3BO_3	R.O. water
1	H_3BO_3	$CdCl_2$
11.5	H_3BO_3	AsA
10.8	H_3BO_3	SA
15.6	H_3BO_3	AsA+SA
10.9	H_3BO_3	$CdCl_2$ + AsA
4	H_3BO_3	$CdCl_2$ +SA
5.6	H_3BO_3	$CdCl_2$ +AsA+SA
	2.58	LSD(0.05)

إزالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من SA و AsA عندما يجهزان بعد المعاملة بـ $CdCl_2$ وبوجود

الاكسين الخارجي exogenous auxin في عقل الماش

تمت معاملة العقل بالاكسين IAA بتركيز $(5 \times 10^{-4} M)$ ولمدة ٢٤ ساعة الاولى لأجل تحفيز تكوين الجذور العرضية في العقلة وبعدها تم تجهيز حامض الاسكوريك وحامض السالسليلك بثلاث توقيتات مختلفة تضمنت تجهيزهما للعقل بعد معاملتها بكلوريد الكاديوم (Post-treatment) كما في الجدول ٥ ولم يلاحظ اي فرق معنوي مقارنة بعينة السيطرة $CdCl_2$ في معدل عدد الجذور 1.4 جذر، بينما كان الانخفاض كبيراً جداً مقارنة بعينة السيطرة العامة R.O. water اي ان الاكسين في هذه المعاملات لم يتمكن من إزالة سمية $CdCl_2$ سواء بوجود او بعدم وجود مضادات الاكسدة SA و AsA بتراكيزهما المثلى.

وفي الجدول ٧ نلاحظ نفس نتائج الجدول ٦ حيث ان معاملة العقل بـ SA و AsA قبل المعاملة $CdCl_2$ (pre treatment) لم تحقق فرق معنوي في معدل عدد الجذور مقارنة بعينة سيطرة $CdCl_2$ وكان الانخفاض معنوي جداً مقارنة بعينة السيطرة العامة R.O. water . اما الجدول ٨ فقد أدت معاملة العقل المستحثة بالاكسين بمحلول مؤلف من $CdCl_2$ و AsA في نفس الوقت Simultaneously الى رفع معدل عدد الجذور الى ١٧ جذر وزيادة معنوية مقارنة بعينة سيطرة كلوريد الكاديوم ١.٤ جذر الا ان الاستجابة لم تصل الى عينة السيطرة العامة ٣٧.٩ جذر .

ولم تؤدي اضافة حامض السالسليلك (لوحة او مع AsA) الى كلوريد الكاديوم في إحداث زيادة معنوية في معدل عدد الجذور وبهذا لا يعمل الاكسين الخارجي IAA على تغيير مسار الاحداث مما يعني انه غير مؤثر مع الكاديوم وكذلك بالنسبة لحامض السالسليلك ويعزى الدور في إزالة الـ $CdCl_2$ إلى حامض الاسكوريك لوحده.

جدول ٦ :ازالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من حامض الاسكوريك وحامض السالسليك عندما يجهزان بعد المعاملة بكلوريد الكاديوم (بوجود الاوكسين المجهز خلال ٢٤ ساعة الاولى)

معدل عدد الجذور/عقلة	معاملة اليوم الثالث	معاملة اليوم الثاني
37.9	H_3BO_3	R.O. water
1.4	H_3BO_3	$CdCl_2$
43.5	H_3BO_3	AsA
35.2	H_3BO_3	SA
47.7	H_3BO_3	AsA+SA
2.5	AsA	$CdCl_2$
1.6	SA	$CdCl_2$
2	AsA+SA	$CdCl_2$
6		LSD(0.05)

جدول ٧: ازالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من حامض الاسكوريك وحامض السالسليك عندما يجهزان قبل المعاملة بكلوريد الكاديوم (بوجود الاوكسين المجهز خلال ٢٤ ساعة الاولى)

معدل عدد الجذور/عقلة	معاملة اليوم الثالث	معاملة اليوم الثاني
37.9	H_3BO_3	R.O. water
1.4	H_3BO_3	$CdCl_2$
43.5	H_3BO_3	AsA
35.2	H_3BO_3	SA
47.7	H_3BO_3	AsA+SA
2.2	$CdCl_2$	AsA
2	$CdCl_2$	SA
0.25	$CdCl_2$	AsA +SA
5.9		LSD(0.05)

جدول ٨: ازالة سمية $CdCl_2$ بالتركيز الأمثل من حامض الاسكوريك وحامض السالسليك عندما يجهزان سوية مع كلوريد الكاديوم (بوجود الاوكسين المجهز خلال ٢٤ ساعة الاولى)

معدل عدد الجذور/عقلة	معاملة اليوم الثالث	معاملة اليوم الثاني
37.9	H_3BO_3	R.O. water
1.4	H_3BO_3	$CdCl_2$
43.5	H_3BO_3	AsA
35.2	H_3BO_3	SA
47.7	H_3BO_3	ASA+SA
17	H_3BO_3	$CdCl_2$ +AsA
3	H_3BO_3	$CdCl_2$ + SA
7.3	H_3BO_3	$CdCl_2$ + AsA +SA
6.8		LSD(0.05)

المنافشة

لأجل معرفة فيما اذا كان هنالك فعلاً تآزيراً بين حامض الاسكوريك وحامض السالسليك في ازالة سمية Cd بدلالة تكوين الجذور العرضية في العقل تم عمل توليفات تضمنت تثبيت احد الحامضين بتركيزه الامثل وتغيير تراكيز الحامض الاخر (جدول ٢). وقد وجد ان جميع التوليفات لا تعطي زيادة معنوية في معدل عدد الجذور مقارنة بعينة السيطرة ASA (٢٠٠ جزء بالمليون) لكنها تعطي زيادة معنوية مقارنة بعينة السيطرة SA (10^{-6} مولاري) (باستثناء التراكيز العالية والواطنة جدا) ولهذا فان الاولوية تحسب لـ ASA في تحسين استجابة تجذير عقل الماش ولا يوجد فعل تازيري بين الحامضين عند وجودهما معاً بشكل ذاتي.

يشير الجدول ٣ الى ان تجهيز حامض الاسكوريك بتركيزه الامثل بعد المعاملة بكلوريد الكادميوم بتركيزه السام كانت جيدة لازالة سمية الكادميوم اعتماداً على الاوكسين الداخلي و ذلك برفع معدل عدد الجذور الى عينة السيطرة العامة R.O.water، بينما لم تتسبب المعاملة بحامض السالسليك بتركيزه الامثل بازالة سمية الكادميوم في عقل الماش حيث ابقث معدل عدد الجذور مساوي لعينة السيطرة $CdCl_2$ وهي نفسها عند المعاملة بـ ASA و SA سوياً أي انها لم تعمل تعاضدياً في ازالة سمية الكادميوم. و ان تحصين العقلة بحامض الاسكوريك و/ او حامض السالسليك (اي تجهيزهما قبل $CdCl_2$) لم يفلح في ازالة سمية الكادميوم عند التعرض له ، حيث لم يعطي فرق معنوي في معدل عدد الجذور مقارنة بعينة السيطرة $CdCl_2$ (جدول ٤). و ان افضل ازالة لسمية الكادميوم بدلالة تكوين الجذور العرضية تمت بتجهيز ASA سوية مع الكادميوم (جدول ٥) حيث سجل زيادة معنوية مقارنة بعينة السيطرة كشفت ١٠.٩ جذر أي تقريباً ضعف عدد الجذور لعينة السيطرة العامة R.O. water تقريباً وهي مساوية معنويًا الى عدد الجذور المتكشفة بتأثير ASA لوحده (١١.٥ جذر) . يتبين من النتائج اعلاه ازالة سمية الكادميوم نهائياً بواسطة ASA يحصل من خلال التخلص من ROS بعد تكوينها وبذلك يعطي الوقاية من الاجهاد التاكسدي ، حيث بين Padh (1990) ان الوظيفة الاساسية لـ ASA هي حمايه الانسجه من نواتج الاكسده الضارة ولحفظ بعض الانزيمات في اشكالها المختزلة المطلوبه . او كبديل فان الـ ASA قد يقلل اخذ الكادميوم اذ ان تركيز حامض الاسكوريك 200 ppm يفوق تركيز الـ Cd ١.٥ ppm بـ ١٣٣ مرة تقريباً وبهذا يعيق امتصاص الـ Cd . وقد بين Chao و Kao (٢٠١٠) ان اضافة ASA من الخارج او اضافة L-galactono 1,4-Lactone وهو البادئ الحيوي للاسكوريك biosynthetic precursor يؤدي الى زيادة محتوى ASA في الاوراق يعقبه تحفيز المقاومة للكادميوم في بادرات الرز. لقد تم اعادة التجارب السابقة بتجهيز الاوكسين الخارجي exogenous auxin لكونه صاحب الاولوية في تكوين الجذور العرضية في العقل و لمعرفة قابليته في ازالة سمية الكادميوم بدلالة تكوين الجذور العرضية حيث عوملت العقل لمد ٢٤ ساعة بـ IAA ($5 \times 10^{-4} M$) تبعها المعاملة بـ ASA و/ او الـ SA بعد Post treatment وقبل pre treatment وسوية simultaneously مع الكادميوم اضافة الى عينات السيطرة المتمثلة بـ R.O.Water و $CdCl_2$ و ASA و SA و SA + ASA.

فضلا عن ذلك فان الاوكسين الخارجي لم يعطي أي زيادة في معدل عدد الجذور للعقل التي جهزت لاحقا بـ $CdCl_2$ اذ انها ماثلت سياق النتائج مع الاوكسين الداخلي. وبهذا لا يغير وجود الاوكسين الخارجي مسار الاحداث وكذلك حامض السالسليك وينسب الدور الى حامض الاسكوريك لوحده في ازالة سمية الكادميوم ، حيث اشار Guo

و جماعته (2005) ان معاملة الرز بال AsA وبادئه الحيوي L-galactono- γ -Lactone ليس لهما تاثير معنوي في فعاليه انزيم SOD و الCAT و APX بينما مقاومه لل AL والمتسببه بالمواد اعلاه قد تكون ناتجة عن زيادة مستوى الاوكزاليت الذي يعمل كخالب للمعدن metal chelator . ويلعب الAsA دوراً علاجياً في ازالة سمية ROS (Chen and Galli,2004; Foyer *et al.*, 1994) و دوراً وقائياً من الاجهاد التأكسدي المتولد بعوامل واسعة التنوع في النبات (Foyer *et al.*, 1994).
علاوه على ما تقدم فقد يختلف تاثير SA في تخفيف سمية Cd فربما يعود الى النوع النباتي و هذا يتفق مع Metwally و جماعته (2003) في نبات الشعير ، اذ دعمت نتائج الاخير الاستنتاج الذي تضمن كون ال SA يخفف سمية الكاديوم لا على مستوى الدفاعات المضادة للاكسده بل بوساطه تاثير ميكانيكيات اخرى لازالة سمية الكاديوم .او كبدل لذلك فقد يعتمد SA على نوع العينة التجريبية و نوع الاجهاد و شدته لانه لا يعمل في الظروف الاعتيادية لكونه جزيئة اشارة طبيعية natural signal molecule تلعب دوراً مهماً في اثاره استجابات نوعية للاجهادات الحيوية و اللاحيوية (Zhang, W. & Chen, W., 2011) .

References

- Ballestrasse, K., Gardey, L., Gallego, S.M. & Tomaro, M.L.(2001) Response of antioxidant defence system in soy bean nodules and roots subjected to cadmium stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, 28:497-504.
- Bi, Y.H., Chen, W.L., Zhang, W.N., Zhou, Q., Yun, L.J. & Xiang, D.(2009) Production of reactive oxygen species , impairment of photosynthetic function and dynamic changes in mitochondria are early events in cadmium induced cell death in *Arabidopsis thaliana*.*Biol.Cell*,101:629-643.
- Chao,Y.Y. & Kao,C.H.(2010) Heat shock -induced ascorbic acid accumulation in leaves increases cadmium tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil*,366:39-48.
- Chen, Z. & Gallie, D.R.(2004) The ascorbic acid redox state controls guard cell signalling and stomatal movement.*Plant Cell*,16:1143-1162.
- Citterio, S, Sgobati, S., Scippa, S. & Sparvoli, E.(1994) Ascorbic acid effect on the onset of cell proliferation in pea root. *Physiologia Plantarum*.92:601-607.
- Costa, G. & Morel, J.L.(1994) Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce.*Plant Physiol.Biochem.*,32:561-570.
- Drazic, G. & Mihailovic, N.(2005) Modification of cadmium toxicity in soy bean seedlings by salicylic acid .*Plant Sci.*,168:511-517.
- Fodor, A., Szabó-Nagy, A. & Erdei, L.(1995) The effects of cadmium on the fluidity and H⁺-ATPase activity of plasma membrane from sun flower and wheat roots. *J.Plant Physiol.*, 14:787-792.
- Foyer, C.H., Lelandias, M. & Kunert, K.J. (1994) Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*. 92:696-717.
- Gue, B., Liang,Y. & Zhu, Y.(2009) Does salicylic acid regulate antioxidant defence system , cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice. *J.Plant Physiol.*,166:20-31.
- Guo, Z., Tan, H., Zhu, Z., Lu, S. & Shou, B.(2005) Effect of intermediates on ascorbic acid and oxalate biosynthesis of rice and in relation to its stress resistance. *Plant Physiol. Biochem.*, 43:955-962.

- Hasan, S.A., Fariduddin, Q., Ali, B., Hayat, S. & Ahmad, A.(2009) Cadmium: Toxicity and tolerance in plants. *J. Environ. Biol.*, 30:165-174.
- Hayat, S. & Ahmad, A. (2007) . *Salicylic acid : A plant hormone*. Springer, Netherlands. PP.401
- Hess, C.E.(1961) The mung bean bio assay for detection of root promoting substances. *Plant Physiol.*, 36: suppl. 21.
- Mahmood, T., Gupta, K.J. & Kaiser, A.W.(2009) Cadmium stress stimulates nitric oxide production by wheat roots. *Pak.J.Bot.*, 41:1285-1290.
- Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. & Dietz, K.J.(2003) Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol.*,132:272-281.
- Middleton, W., Jarvis, B.C. & Booth, A.(1978a) The boron requirement for root development in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. *New Phytol.*,81:287-297.
- Middleton, W., Jarvis, B.C. & Booth, A.(1978b) The effect of ethanol on rooting and carbohydrate metabolism in stem cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. *New Phytol.*, 81:279-285.
- Padh, H.(1990) Cellular functions of ascorbic acid .*Biochem.cell Biol.*,68:1166-1173.
- Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G. & Janda, T.(2008) Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Gen.Appl.Plant Physiol.*,34:133-148.
- Probst, A., Liu, H.Y., Fanjul, M., Liao, B. & Holland, E.(2009) Response of *Vicia faba* L. to metal toxicity on mine tailing substrate: Geochemical and morphological changes in leaf and root. *Environ. Exp. Bot.*, 66:297-308.
- Shaheed, A.I.(1987) The control of adventitious root development in cuttings of *Phaseolus aureus* Roxb. Ph.D. thesis. University of Sheffield, U.K.
- Zhang, F.Q., Shi, W.Y., Jin, Z.X. & Shen, Z.G.(2003) Response of antioxidative enzyme in cucumber chloroplast to cadmium toxicity. *J.Plant Nutr.*,26:1779-1788.
- Zhang, F.Q., Zhang, H.X., Wang, G.P., Xu, I.L. & Shen, Z.G.(2009)Cadmium-induced accumulation of hydrogen peroxide in the leaf apoplast of *Phaseolus aureus* and *Vicia sativa* and the roles of different antioxidant enzymes.*J.Hazard Mater*, 168:76-84.
- Zhang, W. & Chen, W. (2011) Role of salicylic acid in alleviating photochemical damage and autophagic cell death induction of cadmium stress in *Arabidopsis thaliana*. *Photochemical photobiological sciences Official journal of the European*.10: 947-955.