

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشهيد حمه لخضر
كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا
ميدان: علوم طبيعة وحياة

شعبة علوم البيولوجيا
تخصص: بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات

مذكرة تخرج لنيل شهادة ليسانس أكاديمي

الموضوع

دور أحادي اكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند
النبات

من إعداد:

تحت إشراف الأستاذ:

- بوغزالة وفاء

- حداء منال

- دربال نور الهدى

- طواهرية صفية

- بالمسعود رشيد

الموسم الجامعي: 2015/2014

شكر وعرفان

نتقدم بالحمد الكثير والشكر الجزيل والثناء الأعم لله سبحانه وتعالى الذي أكرمنا بعطفه وهدانا إلى خير السبيل وأنار بصرنا بالعلم المنير وفتح لنا خزائن حكمته ورحمته.

أولا إلى من كان لهما الاعتراف في وصولنا إلى هذه الرتبة ومن لهم الفضل بعد الوالدين الكريمين وشكرا لهما وألف شكر.

وإلى الأستاذ المؤطر:

بالمسعود رشيد

على إشرافه على هذه المذكرة الذي بذل مجهوده في تقديم النصائح القيمة وعلى ما تقدمه للعلم أعانه الله

و نتوجه بالشكر إلى كل من ساعدنا على إنجاز هذا العمل والشكر لكل أساتذتنا الكرام في كل مراحل التعليم الذي لهم الفضل الواسع فيما وصلنا إليه
كما لا ننسى كل من أمدنا بالعون القليل أو الكثير في مسيرتنا العلمية.

الموسم الجامعي: 2014-2015
الفهرس

	المقدمة
	الفصل الأول: أكسيد النتروجين
2	I. أكسيد النتروجين
2	1.I. تعريف أكسيد النتروجين
3	2.I. إنتاج أكسيد النتروجين في النبات
3	3.I. كشف أكسيد النيتروجين في النباتات
4	I. 4. أكسيد النيتروجين في نقل الإشارات
5	I.4.1. أكسيد النيتروجين بمثابة إشارة جزيء:
6	I.4.2. أكسيد النيتروجين قادر أو غير قادر على منع موت الخلايا المبرمجة (PCD)
6	I.4.3. استجابة أكسيد النيتريك وموت الخلايا المبرمجة (PCD)
7	I.5. إشارة أكسيد النيتروجين للمكون SA
8	I.6. تدخل أكسيد النتروجين في الأنظمة عند النبات
10	I.7. التبادل الحيوي لأكسيد النتروجين في النبات
10	I.7.1. توطين NOS في الخلية
11	I. 2.7. أكسيد النتروجين للبناء الحيوي عن طريق إختزال النترات
11	I.3.7. أكسدة أكسيد النتروجين من قبل إكزاتين للبناء الحيوي
11	I. 4.7. البناء الحيوي لأكسيد النتروجين عن طريق البروكسيداز
12	I. 5.7. البناء الحيوي لأكسيد النتروجين عبر سيتوكروم P450
12	I. 6.7. تشكل أكسيد النتروجين غير الأنزيمية
12	I.8. دور أكسيد النتروجين في النبات
13	I.1.8. دور أكسيد النتروجين في النمو وتنمية النبات
14	I. 2.8. الدور الفسيولوجي لأكسيد النتروجين
14	I. 2.8. 1. تأثير أكسيد النتروجين على سكون البذور

15	3.8. I . تأثير أكسيد النتروجين على النمو
15	4.8. I . تأثير أكسيد النتروجين على الشبخوخة
15	5.8. I . تأثير أكسيد النتروجين على التنفس
16	9. I . الخواص الفيزيائية والكيميائية لأكسيد النيتريك
17	10. I . أنظمة توليد أكسيد النيتروجين
21	11. I . الوظائف الفسيولوجية لأكسيد النيتروجين
24	12. I . الوظائف البيولوجية
24	13. I . كيفية التخلص من أكسيد النتروجين
	الفصل الثاني: الإجهاد
26	1. II . تعريف الإجهاد
26	2. II . أنواع الإجهاد
27	3. II . التأقلم ومقاومة الإجهاد
27	1.3. II . تعريف
28	2.3. II . الصفات المتعلقة بتحمل الإجهادات
28	1.2.3. II . الصفات المورفولوجية
28	2.2.3. II . الصفات الفينولوجية
28	3.2.3. II . الصفات البيوكيميائية
30	4.2.3. II . الصفات الفيزيولوجية
31	4. II . عوامل الإجهاد:
31	1.4. II . عوامل الإجهاد لأسباب لديها علاقة بالآزمة الفيزيولوجية
31	2.4. II . عوامل الإجهاد لأسباب مناخية
32	3.4. II . عوامل الإجهاد التي لديها علاقة بطرق الزراعة
33	5. II . العوامل التي تحدد درجة استجابة النبات لظروف الإجهاد البيئية:
33	6. II . التحسين الوراثي لانتخاب سلالات وأصناف مقاومة للإجهادات:
33	1.6. II . الخصائص الفيزيولوجية
34	2.6. II . الخصائص المورفولوجية:

34	1.2.6.II. طول القصبة والكتلة الإحيائية
34	2.2.6.II. المساحة الورقية ودور ورقة العلم
35	3.6.II. التحطيم الخلوي
36	الفصل الثالث: دور أحادي أكسيد النتروجين في فزيولوجيا الإجهاد عند النبات
37	1. III. أكسيد النتروجين في الإجهاد
38	2. III. أكسيد النتروجين والإجهاد البيئي اللاحيوي
39	1.2. III. التملح
40	2.2. III. الإجهاد المائي
41	3.2. III. الحرارة الشديدة والبرد
43	4.2. III. الأشعة فوق البنفسجية
45	5.2. III. الأوزون
46	6.2. III. المسببات الميكانيكية لأكسيد النتروجين في الإجهاد
47	3. III. وظائف أكسيد النيتريك في الإجهاد اللاحيوي
49	4. III. وظائف أكسيد النيتريك في الإجهاد الحيوي
	الخاتمة
	قائمة المراجع
	الملخص

فهرس الجداول

الرقم	عنوان الجدول	الصفحة
01	بعض المصادر الأنزيمية المنشئة والمحتملة لـ NO في الخلايا النباتية	19
02	ملخص الوظائف المفترضة لـ NO في مختلف فسيولوجية النبات، والعمليات الكيميائية الحيوية والجزيئية	22

فرس الوثائق

الرقم	عنوان الوثيقة	الصفحة
01	إشارات مختلفة من أكسيد النيتريك في النباتات	5
02	تخليق أكسيد النتروجين	8
03	يمثل مسارات السكر من أكسيد النتروجين	10
04	الكيمياء لأكسيد النيتريك (NO)	16
05	Colocalization بواسطة CLSM من NOS والكاتلاز في خلايا الثغور الحارسة من أوراق البازلاء	18
06	النموذج المقترح لإنتاج أكسيد النتروجين والبيروكسينثريت الذي يحفزه إنزيم XOR	20
07	مخطط يوضح تصنيف الإجهاد	26
08	نموذج لأيض البرولين في النباتات الراقية	29
09	تأثير الأشعة فوق بنفسجية UV-B	45

الاختصارات

ABA	❖ حمض الأبسيسك
GA	❖ حمض الجبريليك
HR	❖ استجابة شديدة الحساسية
NO	❖ أكسيد النيتريك
NOS	❖ أكسيد النيتريك المصنع
NR	❖ اختزال النتريت
ROS	❖ أنواع الاكسجين الجذري
SAR	❖ المقاومة الجهازية المكتسبة
cGMP	❖ المركب الحلقي أحادي فسفات
ONOO-	❖ أيون النتريت البيروكسي
PCD	❖ برمجة
GSNO	❖ Nitrosoglutathione
GST	❖ الجلوتاثيون-S-ترانسفيراز
cADPR	❖ دورال ADP الريبوزي
PAL	❖ الفينيل الأنين الأمونياياز
SA	❖ حمض الصفصاف
SNP	❖ نتروبروسيد الصوديوم
SAR	❖ المقاومة الجهازية المكتسبة
SOD	❖ الهيئة العامة للسد الفائق
MAPK	❖ تنشيط البروتين
MPR-1	❖ البروتين المرضية المتعلقة
DHA	❖ Dehydroascorbate
PIMACM	❖ الغشاء الداخلي ومصنع قناة أنيون
ATP	❖ مصنع حساس لقناة البوتاسيوم الميتوكوندريا
PPR	❖ طاعون المجترات الصغيرة، خماسي ثلاثي الببتيد
PUFA	❖ حامض دهني الغير مشبع
S-nitrosothiols	❖ الأيض الذاتية للأكسيد النتروجين
ETC	❖ السيستئين سلسلة نقل الإلكترون
SNAP	❖ س-النتروز-ن-أسيتيل البنسيلامين
PSI and II	❖ النظام الضوئي الأول والثاني

المقدمة

لقد أصبح لدور أكسيد النتروجين في النباتات مكانة هامة في الأدبيات العلمية منذ عام 1980، لا سيما بعد أن اتضح دوره كجزيء ناقل للإشارة في النبات في أواخر تسعينيات القرن الماضي. و منذ ذلك التاريخ ازداد عدد البحوث التي تعنى بأكسيد النتروجين في النباتات زيادة مطردة.

و يعتبر أكسيد النتروجين جزيء سهل الانتشار و جزيء ناقل للإشارات. يقوم بالتنظيم المباشر للعديد من الوظائف في النبات بما فيها الإنبات و تمدد الأوراق و النمو الجذري و فيزيولوجيا الإجهادات و الموت الخلوي المبرمج.

و يساهم هذا الجزيء أيضا في تكيف النباتات مع الإجهادات المحيطية، و ذلك كونه منفذ إشارة في الاستجابات الدفاعية.

وقد أظهرت الدراسات الحديثة أن أكسيد النتروجين يضيف تأثيرات تعاونية مع الهرمونات النباتية في التنظيم الفيزيولوجي و نقل الإشارات.

و في ظل عدم وجود دراسات أو أبحاث باللغة العربية في هذا الموضوع، فإننا نهدف من وراء هذا البحث إلى مقارنة مرجعية في الأبحاث العالمية التي تتبناها المجموعة العلمية العالمية. و الغرض من هذه الدراسة المرجعية هو تقديم التطورات الحديثة حول دور أكسيد النتروجين في فيزيولوجيا الإجهاد عند النبات و نتبع في ذلك المقاربة البيولوجية الجزيئية من أجل الإجابة عن التساؤلات البحثية التالية:

- كيف تنتج النباتات هذا الجزيء المتعدد المهام؟
 - كيف يسهم هذا الجزيء في منظومة نقل الإشارات الخلوية في النبات؟
 - كيف يمكن لهذا الجزيء أن يكون وسيطا في تنظيم العديد من وظائف النبات؟
 - ما مدى إسهام هذا الجزيء في فيزيولوجيا الإجهاد اللاحيوي و تحمل الإجهاد لدى النبات؟
- و من أجل ذلك قسمنا هذا العمل المرجعي كالتالي:

في فصل أول تمت الإحاطة بهذا الجزيء من المنشأ إلى التخليق الحيوي في النبات. الدعامات الأساسية العامة للإجهاد كانت موضوع الفصل الثاني. وفي فصل ثالث تعمقنا في دراسة التقاطع بين الكيمياء الحيوية لهذا الجزيء و مفهوم الإجهاد و تحمله عند النبات.

و استخلصنا أهم النتائج في خاتمة عامة.

مدخل

يعتبر أكسيد النتروجين جزيء مهم في نمو و تنمية النبات ففي السنوات الماضية تم الحصول على الكثير من التقدم بشأن تركيب أكسيد النتريك و الاثار الفسيولوجية في النبات ففي هذا الفصل نناقش بعض الجوانب المتعلقة بأكسيد النتروجين في النباتات كإنتاجه و خصائصه الفيزيائية والكيميائية والوظائف البيولوجية و الفسيولوجية المتعلقة به ... الخ .

I. أكسيد النتروجين

I. 1. تعريف أكسيد النتروجين

اكتشف أكسيد النيتريك في عام 1772 من قبل جوزيف بريسلي بأنه غاز عديم اللون وسام الذي وصفه "بالهواء النيتروز" استمر هذا التصنيف من أكسيد النيتريك باعتباره الغاز والهواء الملوّث السام حتى عام 1987 ولكن في عام 1987 أكتشف أنه عنصر طبيعي في الجسم وأسس كدور في تنظيم ضغط الدم وتخفيف أمراض القلب (SCHMIDT, 1994)

و في عام 1999 اكتشف الدكتور توماس بيرك وغيره من الباحثين أن عصير فاكهة النوني يخلق أكسيد النتروجين في الجسم (CULOTTA, 1992)

أكسيد النتريك أو أكسيد أول النتروجين هو جزيء مهم أن يعمل في العديد من الانسجة لتنظيم مجموعة متنوعة من العمليات الفسيولوجية , و هو إشارة في النباتات و برز هذا المركب الغازي كناقل عصبي للمشاركة في الوظائف الفسيولوجية المتعددة (PALAVAN , 2009)

و هو كذلك مركب كيميائي عبارة عن غاز سام عديم اللون شكلتها أكسدة النتروجين أو الأمونيا التي هي موجودة في الغلاف الجوي حيث يتم تصنيعه من ل – أرجنين و الأكسجين الجزيئي (LAURENT , 2012)

و هو عبارة عن جزيء صغير و شديد التفاعل الذي ينظم مجموعة واسعة من العمليات البيولوجية و يشارك في العمليات الفسيولوجية المختلفة بما في ذلك الانبات ونمو الجذر و إغلاق الثغور والاستجابات التكيفية للضغوط الحيوية و الغير حيوية (PICHTEL , 2009)

و يحتوي هذا المركب على زوج وحيد من الالكترونات المفردة و الذي يعود اليه بسبب البارامغناطيسية مما يجعل أكسيد النتروجين جزيء خاص و لديه القابلية للذوبان في الماء 1.9ml في ضغط 1 atm (DESIKAN, 2003) .

I. 2. إنتاج أكسيد النتروجين في النبات

يوجد ثلاث طرق لإنتاج أكسيد النتروجين في النباتات:

تحويل غير انزيمي من النتريت إلى أكسيد النتروجين في الممر الخلوي الغشائي واختزال النترات (NR) معتمد على تشكيل أكسيد النيتروجين وأكسيد النيتروجين المصنع (NOS) و مصدر أكسيد النتروجين في بقايا استجابات توتر النبات والأدوات الوراثية ما زالت تفتقر من مستويات أكسيد النتروجين في بلانتا على الرغم من العديد من الدراسات باستخدام أدوات دوائية تشبه النشاط في النباتات، وهوية الأنزيمات المشاركة لا تزال غير معروفة والبلاستيدات الخضراء GTPase ضرورية لريبوسوم سليم (FLORES et al., 2008).

وعند حدوث طفرة في هذه المورثة يؤدي إلى انخفاض أكسيد النتروجين وعلى النقيض من ذلك، لا يمكن أن تكون واضحة والناجمة عن النشاط NR (BRINGHT et al., 2006).

ومع ذلك يؤدي نقص NR أيضا إلى ضعف النتروجين وبالتالي التأثير يكون عموما ابتدائي وأيض ثانوي. في الواقع نبات الأرابيدوبسيس nia1 nia2 مزدوج وقد انخفضت مستوياته في كل من النتريت والأحماض الأمينية وبالتالي سبب الآثار المباشرة ضعف أكسيد النتروجين الحيوي و يصعب تمييزها عن التغيرات الأيضية (MONDELAO et al., 2006). و يرتبط أكسيد النتروجين من زيادة تراكم مع تركيزات من ركائز مفترضة لأكسيد النتروجين الحيوي وعرض مستويات مرتفعة من ل-أرجينين (FLORES, 2008 ; STERVNS , 2004) في اختزال S-nitrosoglutathione، وتراكم النترات والعقاقير وتبع النتريت وفي الآونة الأخيرة نبات الأرابيدوبسيس، له حساسية متحولة للأوزون وVSR3 (فجوي الفرز مستقبلات 3) وقد أظهرت العقاقير المعدلة وراثيا لتراكم أكسيد النتروجين وROS، وتمتد قائمة النباتات المعدلة وراثيا مع تغير أكسيد النتروجين و ROS التوازن.

يعتبر أكسيد النتروجين ذات صلة للإشارات في الجسم الحي وأكد عن طريق التقارير الأخيرة مما يدل على مشاركته في مصادر أكسيد النتروجين و س- نيتروزيلاسيو في نضام النباتات (HARRIS et al., 2008)

I. 3. كشف أكسيد النتروجين في النباتات

لوحظ أن أكسيد النتروجين انبعث أول مرة من محطات من قبل كليبر في عام 1975، في وقت سابق بكثير في نباتات فول الصويا و التعامل مع مبيدات الأعشاب (KLEPPER, 1979). أكسيد النيتريك هو غاز غير مستقر في الجذور الحرة وبالمقارنة مع أنسجة الثدييات ليست هناك

تقارير عديدة من القياس المباشر لأكسيد النتروجين في النباتات وجاءت الأساليب المستخدمة من الدراسات في الأنظمة الحيوانية مع بعض التعديلات إلى الأنسجة النباتية المختلفة .

الطرق الرئيسية المستخدمة لفحص أكسيد النتروجين في النباتات تشمل الغاز اللوني وقياس الطيف الكتلي (NEILL et al., 2003)، والقياس الطيفي للتحويل من الأوكسي هيموغلوبين إلى الميثوغلوبين، والتحليل الطيفي لمحاصرة الإلكترون و الرنين الطيفي الممغطس -OROZCO (CORDENAS AND RAYAN, 2003). وأكسيد النيتريك الكهربائي (LESHEM AND HARMATY, 1996, YAMASAKI et al., 2001) وتوهج الأوزون ومع ذلك فإن استخدام 4,5 من ثنائي الأسيتات (DAF-2 DA) و التحقيق من الفلورسنت أصبحت شائعة وتقنية حساسة للغاية للكشف عن أكسيد النتروجين في أنظمة النبات (NAKATSUBO, 1998)، وقد استخدم هذا التحقيق في الخلايا النباتية للحصول على الوقت الحقيقي من أكسيد النتروجين مع غرامة زمنية ومكانية (LAMATTINA et al., 2003; GOULD et al., 2003). ومع ذلك يمكن DAF-2 (DA) أن تستخدم أيضا في طريقة سبكتروفلورومتريك التي لديها حد الكشف أقل من 2-5 نانومتر وثمة بديل جديد لهذا التحقيق الفلورسنت هو الأمنية (ن-ميثيل). ثنائي الأسيتات (DAF DA-FM) التي تتفلور ليس فقط في الرقم الهيدروجيني المحايد أو الأساسي ولكن أيضا في درجة الحموضة الحمضية (ZHANG et al., 2003).

4.I. أكسيد النتروجين في نقل الإشارات

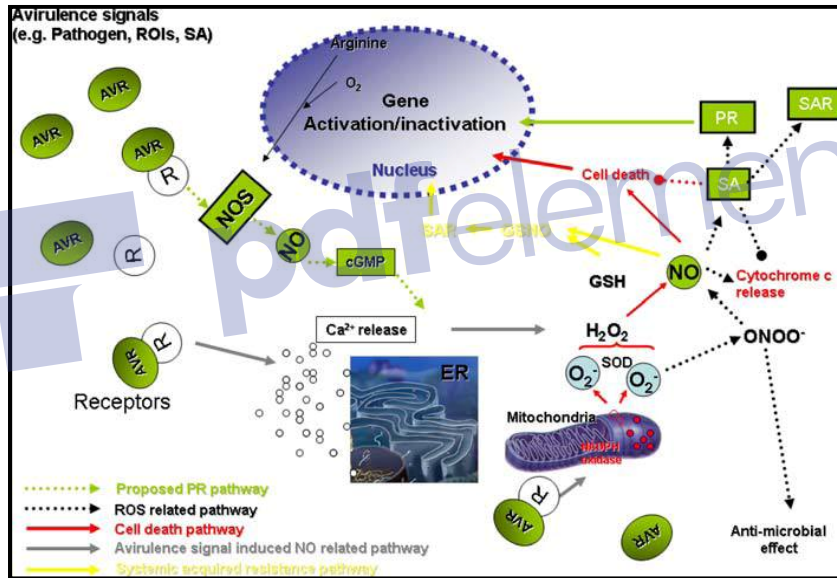
إشارة أكسيد النتروجين في خلايا النباتات يتعلق عموما بالمركب غوانوزين أحادي الفوسفات كرسول ثاني، وتظهر الزيادة في مسارات الإشارات Ca^{2+} عصاري خلوية إما عن طريق بيان من مصادر داخل الخلايا أو عن طريق تدفق من البيئة خارج الخلية وآخر إجراء رئيسي في إشارة المسار هو عكسها فسفرة البروتين و تركيزات المركب تتغير بسرعة استجابة للحافز الخارجي عادة . وزادت تركيزات المركب من قبل حلقة غوانيليل (GC) الذي يجمع المركب الى غوانوزين ثلاثي الفوسفات (MAYER AND HUMMMENS, 1997, BOGDAN, 2001)

يتم إرجاع التركيزات إلى القيم الأصلية لنشاط الفسفور PDE وهناك العديد من الخلايا أثارت أكسيد النتروجين بوساطة مركب في الخلايا النباتية و أكسيد النتروجين ينشط تكوين المركب من قبل تفاعل قابل للذوبان من GC .

وقد تم الكشف عن المركب الأول بواسطة كتلة التحليل الطيفي (JANISTYN, 1983) وتشير عدة بيانات عن ضرورة إنتاج المركب والعمل من أجل استجابة النبات لأكسيد النتروجين وعلاج شجرة التنوب بأكسيد النتروجين لمدة 10 دقائق تسبب بتفاعل المركب (PFEIFFER, 1994) و

حقن أكسيد النتروجين المصنع (NOS) في أوراق التبغ وعلاجه أيضا بأكسيد النتروجين المانح S-nitrosoglutathione (GSNO) والذي يؤدي زيادة في محتوى المركب وعلى ذلك فإن المثبط GC يستعمل في تحريض PAL و PR-1 و في التعبير الجيني عن طريق GSNO (HAUSLANDEN AND STAMLER, 1998 ; FEELISCH Et AL., 1993) الخلايا القابلة للاختراق من قبل المركب التي يسببها المركب 8-BR- للتعبير عن كل من 1-PR و PAL بواسطة ODQ و المركب 8-BR- ، ولكن المركب 8-BR- وحده لا يحدث على موت الخلايا وكشف على أن المركب كان مطلوباً ولكن ليس بما يكفي لأكسيد النتروجين .

ولقد اكتشف أن إغلاق الثغور في البازلاء و نبات الأرابيدوبسيس (NEILL et al., 2002) في نفس الطريقة وكان العلاج بالمركب 8-BR- وحده غير قادر على التأثير في ABA و أكسيد النتروجين ولذلك يبدو أن المركب هو الوسيط بين الخلايا لبعض مسارات إشارات لكن بالنسبة للآخرين يعتبر إشارات ضرورية.



الوثيقة 01 : آليات إشارات مختلفة من أكسيد النيتريك في النباتات (Neill et al., 2002)

1.4.I. أكسيد النتروجين بمثابة إشارة جزيء

أكسيد النتريك هو جزيء صغير و شديد التفاعل وهو الذي ينظم مجموعة واسعة من العمليات البيولوجية ويشارك في عدد هائل من العمليات الفسيولوجية بمثابة إشارات رسول و قد اكتشف أن أكسيد النيتريك يشارك في مجموعة متنوعة من الآثار في النباتات والفطريات و الطلائعيات و غيره و شهدت السنوات القليلة الماضية عددا متزايدا من الدراسات المكرسة لأكسيد النتروجين و وظائفه في النباتات.

أكسيد النتروجين هو جزيء يشارك في العمليات الفسيولوجية المختلفة بما في ذلك الإنبات و نمو الجذر، وإغلاق الثغور، والاستجابات التكيفية للضغوط الحيوية وغير الحيوية (BESSON-BARD et al., 2008)

وعلى الرغم من الأدلة المتزايدة على أنه جزيء رئيسي في النباتات وتفاصيل الآليات التي تساهم في هذه العمليات لا تزال موجودة وقد أشارت الدراسات وجود أكسيد النيتروجين في البروتينات المستهدفة و الجينات التي تعبر وتنظم من قبل أكسيد النتروجين، مما يدل على أن أكسيد النيتروجين يمكن أن يؤثر بشكل مباشر على نشاط البروتينات النباتية والتعبير الجيني (LINDERMAYR et al., 2005)

2.4.I. مقدرة أكسيد النتروجين على منع موت الخلايا المبرمجة (PCD)

برز أكسيد النيتريك لأكسدة الخلايا المبرمجة PCD للخلايا السامة و سيتوبروتاكتين وقد تم وصف النباتات من خلال تحفيز خصائص أكسيد النيتروجين وترتبط زيادة مستويات أكسيد النيتروجين مع موت الخلايا و الحمض النووي (PEDROSO et al., 2000). وقد تجلى التعرض لأكسيد النتروجين لتخفيض التمثيل الضوئي، ومنع التنفس في الخلايا المزروعة للنباتات (ZOTTINA et al., 2002).

كما تم زيادة مستويات أكسيد النتروجين مع التطور الطبيعي للشيخوخة و التي يسببها سيتوكاينين الشيخوخة، مما يدل على مشاركتها في تعديل العمليات الفسيولوجية والتعرض للمستويات المنخفضة من أكسيد النتروجين يحسن استجابة النباتات تحت أنواع مختلفة من الضغوط ، بالإضافة إلى ذلك تم التعرف على أن أكسيد النتروجين يحمي نباتات الطماطم من التلف قبل الكسح من أنواع الأكسجين التفاعلية (BENIGNI AND LAMATTINA, 2001) مؤكداً وظيفته المضادة للأكسدة وقد لوحظ أن أكسيد النيتروجين لديه وظيفة وقائية في تخفيف التعرض للأشعة فوق البنفسجية الضارة. (CARIMI et al., 2005).

3.4.I. استجابة أكسيد النيتريك و موت الخلايا المبرمجة (PCD)

أعتبر أكسيد النتروجين جزيء إشارة في الإجهاد الحيوية ، وفي الاستجابة الناجمة عن مهاجمة مسببات الأمراض و اكتشف لأول مرة في فول الصويا وموت الخلايا في نبات الأرابيدوبسيس واستجابة الدفاع الجيني في تفعيل المسارات في النباتات (DURNER et al., 1998) ثبت انتاجه بواسطة HR لنبات الأرابيدوبسيس وتلقيحه بسيريانجا وتعرضه للأشعة الكهروضوئية ، مما يشير أن جزيئات أخرى إلى جانب أكسيد النيتريك هي المنتجة ، مثل أنواع الأكسجين التفاعلية وحمض

الساليسيليك التي تشارك في النبات رد المقاومة ويبدو أن تركيزات النسبية معين ROS و أكسيد النيتريك لتكون حيوية في بدء أو قمع موت الخلية (CLARKE et al., 2002).

أظهر (DELLEDONNE 2001) تراكم H_2O_2 ووجود فائض من أكسيد النتروجين يقلل من موت الخلايا وقد بين تطبيق أكسيد النتروجين على وقاية التعبير الجيني مثل بديل أوكسيديز ، والتي قد تساعد في منع توليد ROS و أكسيد النتروجين وهي أيضا تشارك في تنظيم SA الحيوي (KLESSIG et al., 2000). ويحث حمض الصفصاف في تحريض موت الخلايا المبرمجة المرتبطة مع استجابات الدفاع الممرضة لأن مستويات SA تزيد ردا على التهابات موت الخلايا المبرمجة ، وتنمية PCD يمكن منعها من التعبير هيدروكسيلاز الساليسيلات المشفرة بواسطة الجينات البكتيرية NAHG (BRODERSEN et al., 2005). ويمكن موت الخلايا أيضا بسبب تعامل خلية نبات الأرابيدوبسيس مع SA وعلاج 1 ملم SA في 16 ساعة قتل 57% من خلايا نبات الأرابيدوبسيس، في حين 0.5 مم من SA لم يؤثر على بقاء الخلية وأظهرت الخلايا المعالجة ب 1 مم من SA الانقسام DNA النووي وهي الميزة لل PCD ودور SA بشكل خاص ذات الصلة بالهجوم الممرض سواء في تعزيز الاستجابة و المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) (ALVAREZ, 2000) ومن المهم أن فك إشارات SA يؤدي الى عمل أفضل ل SA .

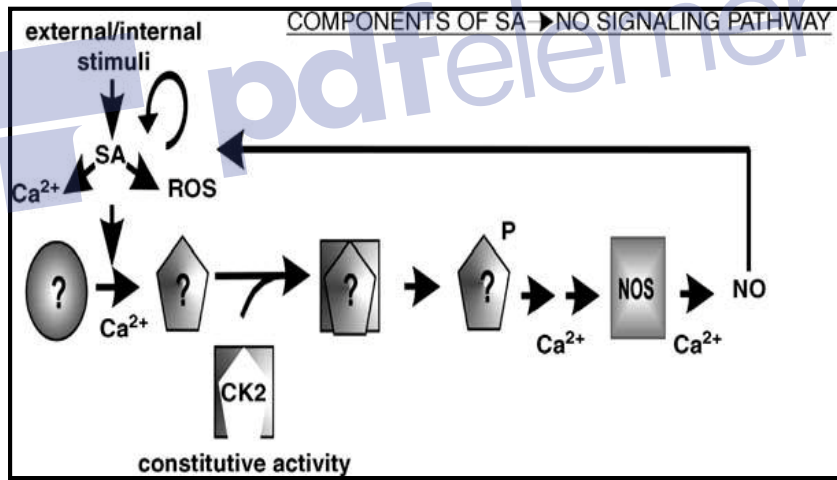
5.1. إشارة أكسيد النتروجين للمكون SA

أثبتت الدراسات الحديثة أن أكسيد النتروجين و SA ينشطان تخليق نبات الأرابيدوبسيس وأن هذا عائد لإنتاج NOS وتم الكشف عن أي إنتاج من قبل التحليل المجهرى متحد البؤر و فحص سبكتروفلورومتريك في جذور النباتات و الخلايا المستزرعة (ZOTTINI et al., 2007) وكانت هناك علاقة قوية بين الطريقتين من مختلف الأنظمة البيولوجية (أي الخلايا و الشتلات) و هذه النقطة تعزز من صحة النتائج، مما يشير إلى حدوث إنتاج أوسع من أكسيد النتروجين و SA وليس على سبيل الحصر الأنسجة أو أجهزة معينة وتطبيق التحليل الطيفي EPR وأكدت من خلاله التكنولوجيا أن البيانات الطيفية مجتمعة مع spintrap .

تم التعرف على الأسلوب القياسي لأكسيد النتروجين لتحديد خصوصية إشارات الجزيئة من adducts nitrosylated باستخدام مثبطات البروتين كيناز ، وقد أظهرت أدلة على أن أحداث الفسفرة المشاركة في سلسلة SA أنها تشير في إنتاج أكسيد النتروجين على وجه الخصوص، أي الإنتاج يعتمد كلياً على نشاط الكازين محدد كيناز (CK2) (RUZZANE et al., 2002) كان فعالاً في إنتاج كل من أكسيد النتروجين ونشاط CK2 هذه النتيجة هي وفقاً للبيانات السابقة مما يشير

إلى تدخل CK2 في نشاط SA و قد أثبتت أيضا أن الكالسيوم هو عنصر الرئيسي لل SA AND (KANG KLESSIG, 2005).

يشير المسار الذي لعبه أكسيد النتروجين المصنع أن الكالسيوم الناجم عن SA قد يكون جزئي إشارة أو عامل مساعد أنزيمي و سمحت التجارب فحص بيانات الفسفرة لتحديد عدد قليل من البروتينات المفترضة للفسفرة و تضاف إليها SA للعلاج و تعتمد على نشاط CK2 واعتمدت النتائج بشكل واضح لإثبات أن جزءا على الأقل من SA يسببها توليف إشارات الكالسيوم والبروتين والفسفرة من خلال CK2، وهي مكونات أساسية لمسار SA يسببها تخليق أكسيد النتروجين ولدينا أيضا البيانات المتوفرة في وجود البروتين و الفسفرة للمركب SA يعتمد على نشاط CK2 في وجود الكالسيوم، وتدل هذه النتائج على وجود إنتاج أكسيد النتروجين و SA معتمد في النباتات، ويشير في حلقة تنظيمية قادرة على تضخيم إشارات أكسيد النتروجين و SA عن طريق تحديد أفضل علاقة بين SA و أكسيد النتروجين ، فإن هذه النتائج تساهم إلى فهم أكثر تفصيلا من المسارات الأيضية في هذه الجزيئات المعنية. وأخيرا فإن SA يسببها نظام نموذجي للإنتاج و يمكن أن تكون أداة مفيدة لتحديد مكونات تزال غير معروفة تشبه نشاط NOS .



الوثيقة 02 : تخليق أكسيد النتروجين (ZOTTINI et al., 2007)

6.I. تدخل أكسيد النتروجين في الانظمه عند النبات

يعتبر أكسيد النتروجين غير منظم لنمو النبات وقد أفادت العديد من الدراسات أنه يمكن أن يقوم بتنظيم العمليات المتصلة بنمو النبات والتنمية كما ذكر من قبل أنه شكل أساسي في الأنسجة بنشاط متزايد مثل المحاور الجنينية والنباتات ويمكن تنظيم العمليات المتصلة بنمو النبات والتنمية كما ذكر أنه خفض مستويات الأجهزة الناضجة (LESHEM et al., 1998).

وثبت كذلك أن أكسيد النتروجين لنبات التبغ والبقدونس ونبات الأرابيدوبسيس يمكن أن يتبع بعض آثار السيتوكينين ويقوم كذلك بمنع تراكم البيتالنين في الشتلات و NOS و يمنع أيضا التحول الناجم عن تراكم السيتوكينين و البتالين (SCHERER et al., 2000) حيث أن سيتوكينين يعمل على موت الخلايا المبرمجة وعلى ذلك فإن أكسيد النتروجين يعمل كوسيط للخلية وإشارات ABA والحث علي إصطناعه في الخلايا كما يدفع إلي إغلاق الثغور. وقد تم تأكد هذه النتيجة في نبات الفول البلدي (GARCIA-MATA & LAMATTINA, 2002). وأيضا نبات الأرابيدوبسيس .

ومن خصائص أنسجه ABA الحث على مصدر أكسيد النتروجين في نبات الأرابيدوبسيس ويعتبر أيضا كل مستعمل أكسيد النتروجين المانع methyl ester (L- NG-nitro-L arginine NAME) ولكن ليس عن طريق مثبطات NR المحتملة وكما يسبب ABA لأكسيد النتروجين في إغلاق الثغور في نبات الأرابيدوبسيس (DESIKAN et al., 2002) وكذلك من الممكن وجود فرق لأنواع من أكسيد النتروجين على الأقل من حيث إستجابة الخلية ل ABA بالإضافة إلي ذلك تم أيضا إنشاء أكسيد النتروجين الحيوي الناتجة عن أمسكين في جذور الخيار (PAGNUSSAT et al., 2002; GUO et al., 2003) وفي الأونة الأخيرة أشير أن أكسيد النتروجين يعمل علي تحفيز انقسام الخلايا وتكوين خلايا تحت الفالقات الناتجة من الخلايا المرستيم لوجود الأكسين.

وقد تبين أن مختلف مركبات الأكسين أعتمدت على انقسام الخلايا المرستيمية وفي جذور الأولية للقول الصويا تسبب في تراكم كل من أكسيد النتروجين والمركب في قمة الجذر الأساسي وأشارت هذه النتائج أن أكسيد النتروجين يسببه الأكسين لتراكم كرافتروبسيس في جذور فول الصويا يؤدي تأخر GA إلى موت الخلايا المبرمجة في طبقات Hordeum vulgare. وقد تبين أيضا أن Snitroso- N- acetylpenicillamine المحرر لأكسيد النتروجين في (SNP) بدور مضاد للأكسدة. عندما تم علاج ألورون في طبقات مع GA , و 70% من الخلايا قد عولجت بطبقات مع ABA وتكشف هذه البيانات أن أكسيد النتروجين هو المغير الفعال لبرمجة موت الخلايا في Hordeum vulgare وأقترح أيضا أن طبقات Hordeum vulgare تنتج أكسيد النتروجين الذي يلعب دور في GA مسببا موت الخلايا المبرمجة إن دور GA له صلة مع أكسيد النتروجين في إنبات البذور وبالإضافة إلى ذلك وجد الباحثون أن أكسيد النتروجين له علاقة مع الإجهاد في النبات وأن التطور الطبيعي لهرمون الايثيلين له تركيزات منخفضة من أكسيد النتروجين والتي يتم عكسها في تركيزات العالية أو أن أكسيد النتروجين متساوي الموالية من NOS المثبط N6-methyl-arginine (BELIGNI et al., 2002) .

وأظهر أن تبخر طبقة الأوزون تؤدي إلى تراكم H_2O_2 في الميتوكوندري وتراكم في نفس الوقت أكسيد النتروجين في أنسجة الأوراق (EDERLY et al., 2006) فان الأمينات (PAS) متعدد الوظائف وتتفاعل مع الجزيئات مثل الحمض النووي أو البروتين ولكن على الرغم من أهميتها فإن PA لم يكشف بعد عن نظام نقل الإشارة حتى الآن وقد أشار بعض الباحثين بقيام بالمناطق المحمية لتحفيز إنتاج أكسيد النتروجين في الأنسجة المختلفة داخل شتلات في نبات الأرابيدوبسيس ويمكن أن يقدم فكرة لازمة لفهم وظيفة تداخل بين أكسيد النتروجين والمناطق المحمية.

7.I. التبادل الحيوي لأكسيد النتروجين في النبات

المصادر الرئيسية لإنتاج أكسيد النتروجين في النباتات.

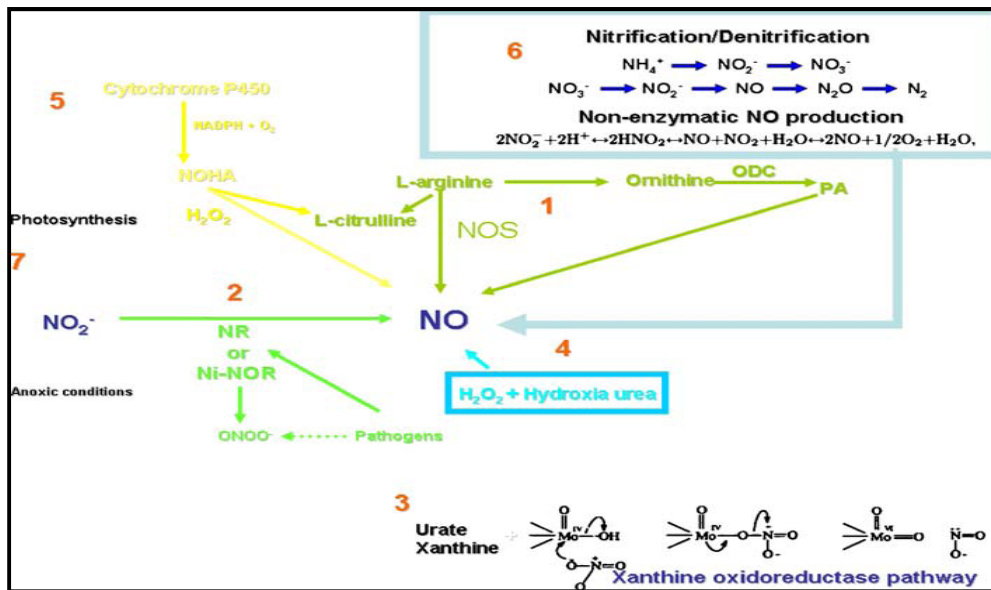
✓ منها ما يكون شكلها النترات إنزيمي أو غير إنزيمي (RIO et al., 2004).

✓ يمكن أن يكون علي شكل أرجينين كما في الثدييات.

الطريقة التي يتم فيها إنتاج أكسيد النتروجين في كل من هذه المصادر تعتمد على أنواع الخلايا والأنسجة وحالة نمو النبات.

1.7.I. توطين NOS في الخلية :

ليس هناك ما يكفي من المعلومات حول توطين خلوي من نشاط NOS في النباتات وكشف أيضا الباحثون بإستخدام الأجسام المضادة ممثلة في بروتين NOS الذي يقع في سيتوبلازم الخلية ثم تليها مرحلة translocated في النواة (Ribeiro et al., 1999). كما تم تقدير النشاط NOS في بريكزيسوم وفي البلاستيدات الخضراء ولكن ليس في الميتوكوندري في أوراق البازلاء فيما بعد تم الكشف عن NOS في بريكزيسوم في عباد الشمس (Barroso et al., 1999).



الوثيقة 03: يمثل مسارات السكرز المختلفة من أكسيد النتروجين (RIO et al., 2004).

مراحل كل مرحلة:

- ✓ أكسيد النتروجين الحيوي من ل - أرجينين
- ✓ أكسيد النتروجين الحيوي عن طريق النترات
- ✓ أكسيد النتروجين الحيوي مؤكسده إكزاتين
- ✓ أكسيد النتروجين الحيوي من قبل بروكزيداز
- ✓ أكسيد النتروجين الحيوي عبر السيتوكروم P450
- ✓ تشكل أكسيد النتروجين غير الإنزيمي
- ✓ التمثيل الضوئي النتريت التي يسبب في زيادة أكسيد النتروجين .

2.7.I. أكسيد النتروجين للبناء الحيوي عن طريق إختزال النترات

إن الإنزيمات الأخرى باستثناء NOS يمكن أيضا أن تنتج أكسيد النتروجين حتى الوقت الذي كان يعتمد على الأصل الرئيسي من أكسيد النتروجين في إنتاجه في النباتات كان بفعل NADH يعتمد علي النترات وأيضا العامل المساعد الذي يحتوي على إنزيم NR يمكن أن يولد أكسيد النتروجين من النتريت (NO_2^-) مع NADH متبرع الكتروني (YAMASAKI et al., 1999) ومن ناحية أخرى في درنات البطاطس المصابة بفطر قد تجلى تحريره وهذا يشير إلى تدخل NR في العوامل المسببة للأمراض وبالتالي من المتوقع أن يكون الجيل NR يعتمد على تعزيز أكسيد النتروجين تحت ظروف الإجهاد في النبات (ROCKEL et al., 2002) والحد الآخر من النتريت قد تجلى في تحديد الإنزيم الذي يولد أكسيد النتروجين في جذور التبغ (STÖHR et al., 2001) .

3.7.I. أكسدة أكسيد النتروجين من قبل إكزاتين للبناء الحيوي

أكسدة إكزاتين و إكزاتين أوكسيداز مؤكسد مختزل (XO) أو الأكزاتين النازع (XDH) هو أيضا إنزيم ينتج أكسيد النتروجين و XOR (HARRISON, 2002) تم الحصول على نسبة عالية من XOR في بروكزوزم البازلاء حيث أن الشكل السائد للإنزيم XO و XOR يمكن أن ينتج الجذور الحرة خلال تفاعل محفز، تبعا لمستوى الأكسجين في النباتات وخاصة هامة من إنتاج O_2 و NO تمنح XOR دورا رئيسيا كمصدر للجزيئات إشارة الجزيئات في خلايا النباتات

(CORPAS et al., 2001)

4.7. I. البناء الحيوي لأكسيد النتروجين عن طريق البروكسيداز

إنتاج أكسيد النتروجين التي تم عن طريق البيروكسيداز من N- hydroxyarginine (NOHA) و H_2O_2 (BOUCHER et al., 1992). في الأوانه الأخيرة قد أظهر البيروكسيداز

إنتاج أكسيد النتروجين و هيدروكسي يوريا و H_2O_2 و يكشف هذا المصدر أن أكسيد النتروجين و بيروكسيديزات هي الأنزيمات السائدة المعنية في العمليات الفسيولوجية الكبيرة في الخلايا النباتية (VEITCH, 2004).

I. 5.7. البناء الحيوي لأكسيد النتروجين عبر سيتوكروم P450

أكسيد النتروجين الأنزيمي هو السيتوكروم P450 والتي أظهرت هذه البروتينات تحفيز أكسدة NOHA إلى NADPH و O_2 مع أكسيد النتروجين وأظهرت تحفيز أكسدة NOHA إلى NADPH و O_2 مع قدرة الهيموجلوبين والنيتروجين وأكاسيد أخرى أيضا ومن هذه المعلومة تأكدنا أهمية هيموبروتين في أكسيد النتروجين في مجال إنزيمي. (MANSUY, 2002)

I. 6.7. تشكل أكسيد النتروجين غير الأنزيمية

يمكن ان ينتج أكسيد النتروجين في النباتات بآليات غير أنزيمية المبرمجة في دورات نزع النتروجين بإعتبارها منتج من قبل NO_2 لأكسدته في الغلاف الجوي (WOJASZEK, 2000) ومن المعروف أن النترات الأنزيمية يمكن أن تسبب في تشكيل أكسيد النتروجين ويمكن أيضا أن يقلل من النترية حمض الأسكوربيك لإنتاج أكسيد النتروجين (HENRY et al., 1997) ووجد أن خلايا الشعير ألورون يمكن أن تولد حمض النترية وتحويله إلى أكسيد النتروجين باستخدام أسكورات (BETHKE JONES, 2001) والنباتات هي أكثر عرضة للآثار السامة لـ NO_2 وتعرض بيتا كروتين والكاروتينات في الأماكن المظلمة تتفاعل مع NO_2 في الظلام ووسيط مع تشكيل نترات استرات والتعرض المتزامن للإلكاروتينات إلى NO_2 وضوء منخفض يتشكل غاز أكسيد النتروجين وهي عبارة عن آلية هامة لمنع الضرر في النباتات المعرضة لـ NO_2 قد تكون محدودة في غياب الضوء.

I. 8. دور أكسيد النتروجين في النبات

وقد شهد العهد الماضي العديد من الأفكار الجديدة في مسارات الإنتاج أكسيد النتروجين ووظائفه في النباتات وحتى الآن فان دور أكسيد النتروجين في النباتات يبدو متعددة الأوجه من الحيوانات ويعتبر أنه يشارك في السيطرة على تمايز الخلايا والتنمية والنمو وإعادة توجيهها الأنابيب حبوب اللقاح والشيخوخة والنضج والحركة الثغور ومحطة التفاعلات وموت الخلايا المبرمجة .

1.8.1. دور أكسيد النتروجين في النمو وتنمية النبات

يؤثر أكسيد النتروجين جذريا على التمثيل الغذائي وبالتالي ركزت الدراسات على أن أكسيد النتروجين له آثار في فسيولوجيا النبات وكان من المعروف أن النباتات لها فترة طويلة في تحرير أكسيد النتروجين تحت ظروف النمو الطبيعية ويمكن لأكسيد النتروجين أن يتراكم على مستوى الغلاف الجوي من مجموعة متنوعة من المصادر مثل التلوث الصناعي (WILDT et al., 1997) وكذلك أنشأت أكسيد النتروجين آثار على نمو النبات والتنمية تعتمد على التركيز (ANDERSON & MANSFIELD, 1979) وتركيزات عالية (40-80pphm) خفضت من نمو الطماطم , في حين التركيزات المنخفضة (0-20 ppm) عززت ذلك (HUFTON et al., 1996) وتم أيضا العثور على هذه النتائج أيضا في محطات الخس والبازلاء .

(LESHEM & HARAMATY, 1996).

وكما له آثار أيضا في تحت الفلقات والسلاميات من ناحيه الإستطالة. ومنع أكسيد النتروجين النمو تحت الفلقات وحفزت النمو عند نبات الارابيدوبسيس . وله أيضا زيادة في محتوى الكلوروفيل في أوراق البازلاء وخاصة في الخلايا الحارسة، وخسارة الكلوروفيل وإصابة أوراق البطاطا. وقد يعكس أكسيد النتروجين الآثار الإيجابية على صيانة الكلوروفيل وعلى توفير الحديد. (GRAZIANO et al., 2002).

وقد ظهرت أن زيادة الحديد في وجوده وإن نقص الحديد يسببه في الاخضرار تخفيض تطوير البلاستيدات الخضراء وبالإضافة الى ذلك زيادة محتوى الكلوروفيل في شتلات القمح المزروعة في الظلام وعلى العكس من ذلك كشفت بعض التقارير أن أكسيد النتروجين يرفع من مستوى الأثيلين والتثبيط الحيوي له لن يؤثر علي زياده الاثيلين (MAGALHÃES et al., 2000) وعلاج الفاكهة بأكسيد النتروجين أيضا يؤدي إلى تأخير الشيخوخة وإطالة الأمد بهم.

وكما يساهم في الإبلاغ عن تحفيز وتشجيع إنبات البذور في النباتات المختلفة كأنواع من بذور تحتاج إلى فترة طويلة من الضوء على الإنبات ولكن إذا تم معالجة البذور مع KNO_3 باعتباره هو المانع له و ثبتت أن بعض النترات العضوية وغير العضوية بين 1 و 10 ملم أيضا تقوم بتحفيز إنبات البذور مثل نبات البلوط وقد حث أيضا على الإنبات الذي يحتوي على أكسيد النتروجين لإحراق المواد العضوية بتصنيع قدرا كبير من أكسيد النتروجين وهذه العمليات تحفز إنبات البذور (KEELEY et al., 1997). وبذور الخس تحتاج إلى ضوء لتثبيت $26-32^{\circ}C$.

وفي هذه التجارب يكون أكسيد النتروجين مانع مثل حمض (GA_3) ، وذكر أيضا بعض الباحثين أن إنبات البذور والنترت حفز في الأنواع النباتية المختلفة (HENDRICKS & TAYLORSON, 1975) ووجدت أيضا أن فيتو كروم إنبات البذور تسيطر عليها أكسيد النتروجين في الرقم الهيدروجيني (3-2.5) وإنبات البذور الحامضية في حالة نقص النترت تحفز على إنبات البذور و هذه الآثار من النترت و أكسيد النتروجين تكشف عامل من العوامل التربة التي تسيطر على الإنبات.

I. 2.8. الدور الفسيولوجي لأكسيد النتروجين

قد برز أكسيد النيتريك جزيء إشارة مهم و مرتبط بكثير من العمليات البيوكيميائية والفسيولوجية في النباتات (PAGNUSSAT et al., 2002) وقد صنف أكسيد النيتروجين باعتباره هرمون نباتي قد يكون بمثابة نمو النبات الغازي وكذلك منظم نمو النبات الغير تقليدي لديه القدرة لتنظيم العمليات الفسيولوجية المختلفة بطريقة تعتمد على التركيز (LESHEM, 2000) مثل توالد الجذر والنمو تحت فلكي والإستجابات الدفاعية وهي حركة موت الخلايا المبرمجة والإستجابات شديدة الحساسية والنمو والتنمية في إنتاج تحت ظروف البيئية مختلفة (NEILL, 2003). ولذلك في السنوات الأخيرة عمل أكسيد النيتروجين على تنظيم مختلف الأدوار الفسيولوجية والأنشطة البيوكيميائية في النباتات قد أصبح مجالا هاما وناقش دور أكسيد النيتروجين في عمليات مختلفة من النباتات تحت الشروط العادية لأن دور اكسيد النيتروجين في المحطات المختلفة يناقش الضغوط الحيوية في الفصول الأخرى .

I. 2.8. 1 . تأثير أكسيد النتروجين على سكون البذور

السكون يمنع إنبات البذور تحت ظروف من شأنها أن تسمح للإنبات والعديد من المركبات الذاتية تقلل كسر سكون البذور من بينهم المركبات المحتوية على النيتروجين التي تحتوي على النترات والنترت و الهيدروكسيل الأمين أزيد و نيتروبروسيد الصوديوم (SNP) ، قدرة SNP للحد من سكون البذور المتواجد في الخس ونبات الأرابيدوبسيس (BETHKE et al., 2004) وأستنتج أن أكسيد النيتروجين أصبح له دورا هاما في إنبات البذور (GIBA 1998) في ظل ظروف طبيعية وكذلك في سويداء تحت ظروف الاجهاد الملحي (LI et al., 2005) وبالمثل البذور في الكانولا ، يحفز أكسيد النيتروجين الإنبات بطريقة تعتمد على الجرعة تركيزات أقل من (0.05-0.5 ملم) ، SNP وتعزيز إنبات البذور تصل إلى 18 ساعة في حين أن تركيزات عالية (1 و 2 مم) تحول منخفض وقد تم التطبيقات الخارجية من أكسيد النيتريك روجت أيضا لإنبات البذور في الذرى (ZHANG et al., 2004).

I. 3.8. تأثير أكسيد النتروجين على النمو

في زراعة شتلات البازلاء أظهرت معاملة أكسيد النيتروجين سلوك مزدوج في توسع معدل الورقة وقد لوحظ التأثير بتركيزات عالية من أكسيد النيتروجين (40-80 جزء في المليون) يمنع نمو الطماطم و في التركيزات المنخفضة (0-20 جزء في المليون) يحفز نمو الطماطم والخس (HOFTON et al., 1996) والشتلات البازلاء (LESHEM AND HARAMATY, 1996) و أكسيد النيتروجين أيضا نشط نمو جذور الذرى وعلى الرغم من (0.1 ملم) SNP تحول منخفض لنمو تحت الفلقة في البطاطا والخس، و نبات الأرابيدوبسيس فإنه يتسبب بالتنمية الجذرية في الخيار (PAGNUSSAT et al., 2002) وتطبيق خارجي من أكسيد النيتروجين يتحول دون استتالة في شتلات الذرى (ZHANG et al., 2003) وقد لوحظ زيادة في الكتلة و أستعملت شتلات الذرى في العلاج بإنخفاض تركيز SNP ونمو الجذور على تركيز مثبط و شتلة من الكانولا رفعت من البذور المعالجة بانخفاض تركيز SNP (ZANARDO et al., 2005). والسلوك المزدوج مماثل كما في أكسيد النيتروجين ولوحظ SNP المانحة أيضا في القمح (TIAN AND LEI, 2006).

I. 4.8. تأثير أكسيد النتروجين على الشيخوخة

الشيخوخة هي عملية تتميز بفقدان المياه و جفاف الأنسجة النباتية وتشير بعض الدراسات إلى أن أكسيد النيتروجين لديه خصائص مضادة للشيخوخة والتطبيق الخارجي لأكسيد النيتروجين يجعل البازلاء معرضة للشيخوخة في ظل تعزيز الظروف وانخفاض مستوى الأثيلين بسبب تثبيط الأثيلين الحيوي (LESHEM et al., 1998) في نبات الأرابيدوبسيس ومع ذلك فإن مستوى الأثيلين زاد بشكل ملحوظ بعد التعرض لغاز أكسيد النيتروجين. ولوحظ أيضا أن انبعاث أكسيد النيتروجين انخفض مع زيادة إنتاج الأثيلين من الشيخوخة. و يمارس أكسيد النيتروجين المانح تأثير وقائي ضد حمض الأبسيسيك (ABA) (HUNG AND KAO, 2003).

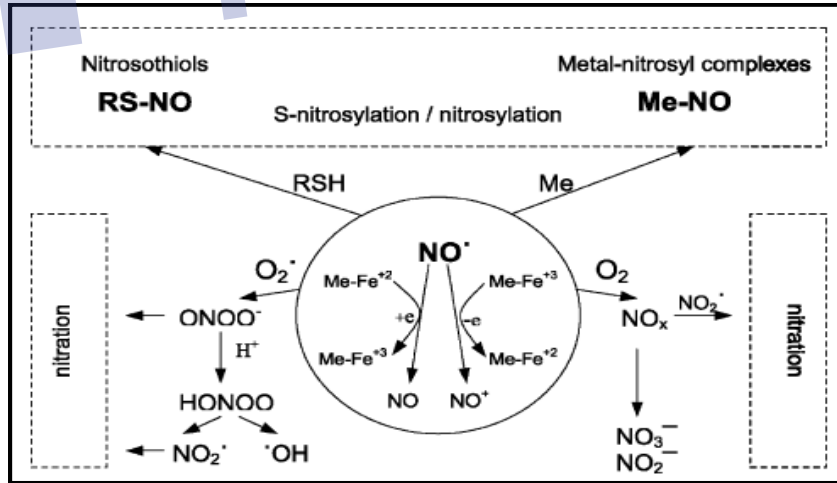
I. 5.8. تأثير أكسيد النتروجين على التنفس

أكسيد النيتروجين يؤثر على وظيفة الميتوكوندري في الخلايا النباتية ويقلل من خلية الإجمالية للتنفس نتيجة لتأثير مثبط على السيتوكروم و يرافق هذا التأثير زيادة كبيرة في موت الخلايا و فول الصويا الميتوكوندريا و كان تحول دون امتصاص الأوكسجين بعد العلاج ولكن تم ترميمها على أكسيد النيتروجين و أوكسيديز البديل (AOX) يلعب دورا في أكسيد النيتروجين في النباتات و يمكن لأكسيد النيتريك أيضا أن يعدل الميتوكوندري الإنزيمات الأخرى وتبغ أكونيتاز وهي المكونة لدورة كريبس و تعطيل أكسيد النيتروجين يقلل من إستقلاب الطاقة الخلوية التي قد تؤدي إلى انخفاض

الإلكترون وتندفق من خلال الجهاز التنفسي سلسلة نقل إلكترون الميتوكوندري وانخفاض في توليد أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) ، وإنتاج التنفس الطبيعي (NAVARRE et al ., 1996).

9.I. الخواص الفيزيائية والكيميائية لأكسيد النيتريك

أكسيد النيتريك (NO) هو غاز الجذور الحرة نسبيا منذ فترة طويلة (بالمقارنة مع الجذور الحرة الأخرى) نصف عمر البالغة في النظم البيولوجية من 3-5 ق (TUTEJA et al ., 2004) . وهي واحدة من أصغر جزيئات ثنائية الذرة مع انتشارية عالية واطهار خصائص الكارهة للماء وبالتالي لا يجوز الهجرة بسهولة في المناطق المائية للخلية كما في السيتوبلازم وفي وجود الأكسجين في الغلاف الجوي يشكل أكاسيد أخرى، بما في ذلك NO_2 و N_2O_3 و N_2O_4 ، والتي قد تزيد من التفاعل مع الأمينات الخلوية أو يتحلل إلى NO_2 و NO_3 يتفاعل أكسيد النتروجين بسهولة مع أكسيد أنيون الجذري (O_2) ونتيجة لذلك يتم تشكيل أيون البيروكسينتري في فسيولوجيا درجة الحموضة ONOO غير المستقر ولكن نظرا لفترة طويلة نسبيا عمر النصف (حوالي 1 ق) قد نشر على مسافات كبيرة في الخلية و البيروكسينتري يتفاعل مع مجموعات ثيول من البروتينات والجذور غير المشبعة من الدهون و الدهون الحمضية من الغشاء، مما تسبب في أضرار جسيمة لهياكل الخلية وأنيونات البيروكسينتري و البروتونات نتيجة لذلك يتشكل حمض بروكسوديوكسونيتريك مصدر ثاني أكسيد النيتروجين (NO_2) والهيدروكسيل (HO) (WENDEHENNE et al., 2001).



الوثيقة 04 : الكيمياء لأكسيد النيتريك (HENRY et al., 1997)

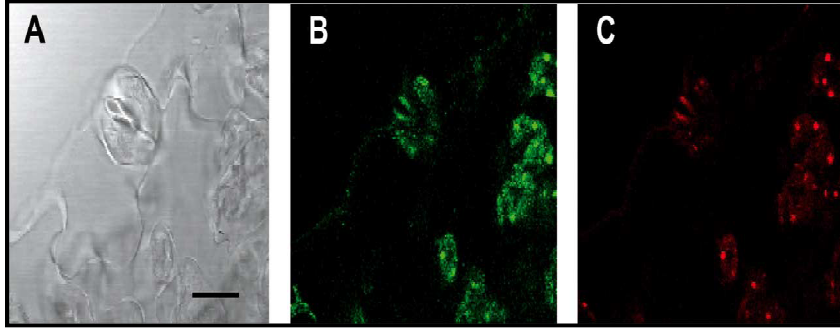
في ظل الظروف الفسيولوجية تتشكل الجذور الحرة من أكسيد النتروجين يمكن تحويلها إلى أشكال الأكسدة الأخرى. واحد إلكترون يأكسد أكسيد النتروجين ويؤدي إلى تشكيل النيتروسيوم الموجب (NO^+)، في حين أن الحد المنتج من إلكترون واحدة من أكسيد النتروجين هو نيتروكسيل جذري

(NO) يتفاعل أكسيد النتروجين بسهولة مع الفلزات الانتقالية، وخاصة مراكز الحديد والكبريت من البروتينات (STAMLER et al., 1992) وعلى ذلك فإن شكل الكاتيون مثل كاشف أليف الإلكترونات قد تهاجم الكبريت ومراكز الحديد والنيتروجين والكربون والعديد من مركبات العضوية في الأنسجة البيولوجية وعكسها في مجموعات سلفهيدريل مراكز في البروتينات أمر بالغ الأهمية. مثل التعديلات على النحو S-nitrosylation / denitrosylation من البروتينات تؤثر على النشاط البيولوجي لهذه المركبات، وبالتالي تشكل عنصرا هاما من نقل الإشارة في الخلايا النباتية ، من خلال S-nitrosylation من GTP ملزم p21ras البروتين، أكسيد النتروجين يحرض أشكالا مختلفة من MAPكيناز، وكذلك ينظم إشارات البروتينات، على سبيل المثال بروتين كيناز C، الفسفاتازات، قنوات البوتاسيوم ومستقبلات N-ميثيل-D-اسبارتاتي (WENDEHENNE et al., 2001). وعلى النقيض من التفاعلات العالية من أكسيد النتروجين والحديد الحر، في حين أن مجمع بين أكسيد النتروجين والجلوتاثيون (GS-الحديد-NO) هو أكثر استقرارا من المجمع مع السيستين والحديد و أكسيد النتروجين (VANIN et al., 1996). هذه المركبات قد تعمل كخزانات خلوية اعتبارا من الحديد، وأكسيد النتروجين تتعرض للتدهور تبعا لمتطلبات الخلية لمكون معين و أكسيد النتروجين يتفاعل مع الهيموجلوبين وهو أيضا من أصل نباتي ويبدو أن له أهمية خاصة.

10. I. أنظمة توليد أكسيد النيتروجين

أ. أنظمة غير أنزيمية

NAGASE et al., (1997) توليد اكسيد النيتروجين في المختبر بواسطة تفاعل H_2O_2 - 10- (50ملم) والارجينين (10-20 ملم) في الرقم الهيدروجيني 7.4 و 37 درجة مئوية وقد تم تركيب الانظمة غير الأنزيمية من أكسيد النتروجين أيضا مع حركية لوقت قصير، عن طريق موجات الصدمة و التي تحتوي على 1 ملم H_2O_2 و 10ملي أرجينين (GOTTE et al., 2002) في النباتات يمكن أيضا أن يتولد أكسيد النيتريك من قبل اليات غير إنزيمية في النتريت و نزع النتروجين تقدم دورات أكسيد النتروجين الاكسدة في الجو باعتبارها من قبل المنتج N_2O ومن المعروف أن انخفاض غير الأنزيمية من النتريت يمكن أن يؤدي إلى تشكيل أكسيد النتروجين وهذا التفاعل هو في حمضية الرقم الهيدروجيني عند النتريت يمكن تحويل إلى أكسيد النتروجين و نترات (ULLRICH, 2002) والنتريت يمكن أن يكون أيضا كيميائيا لتخفيض حامض الاسكوريك في درجة الحموضة 3-6 لانتاج أكسيد النتروجين و حمض ديهيدرو أسكوريك (HENRY et al., 1997).



الوثيقة 05: Colocalization بواسطة CLSM من NOS والكاتلاز في خلايا الثغور الحارسة من

أوراق البازلاء (WOJTASZEK, 2000)

✓ A: تبين خلية ثغر حارسة لقسم ورقة البازلاء.

✓ B : Immunolocalization من NOS تبين الأخضر المناعي ستربتايفدين -Cy₂ يرجع إلى ضد iNOS.

✓ C : Immunolocalization من الكاتلاز تبين الأحمر المناعي Cy₃ يرجع إلى ضد الكاتلاز. الصور تتوافق مع نفس قسم ورقة البازلاء. شريط = 10 ملم.

هذا التفاعل يمكن أن يحدث في ظروف الأس الهيدروجيني microlocalized في البلاستيدات الخضراء حيث من المعروف أن الحاضر هو حمض الاسكور (HOREMANS et al., 2000). في الشعير خلايا ألورون و أكسيد النتروجين يمكن أن يصنع أيضا من قبل تخفيض النتريت بواسطة أسكورات في درجة الحموضة الحمضية (BELIGNI et al., 2002) و آخر آلية غير الأنزيمية المقترح أكسيد النتروجين هو تشكيل الحد بواسطة ضوء NO₂ بواسطة الكاروتينات .

(COONEY et al., 1994)

ب. انظمة أنزيمية

ويمكن أيضا أن ينتج أكسيد النيتريك من الانزيمات الأخرى وبصرف النظر عن أكسيد النيتريكس قائمة ببعض المنشآت والمصادر الأنزيمية المحتملة لأكسيد النتروجين في خلايا النبات مع إشارة من ركائز مستخدمة مختلفة غير الواردة في الجدول و كان يعتقد ان هذا هو الأصل الرئيسي له والإنتاج في النباتات من خلال العمل من نترات تعتمد على NADH و نترت الرديكتاز (YAMASAKI et al., 1999; LAMATTINA et al., 2003)

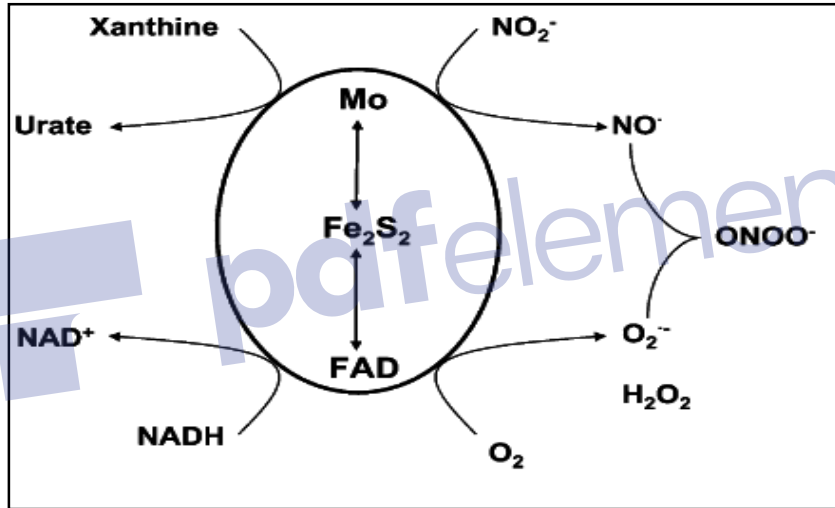
المراجع	الركائز	المصادر
REVIEWED et al. (2003)	L-الارجنين و العامل المساعد NOS	مقتطفات الخام المختلفة
BARROSO et al. (1999)	L-الارجنين و العامل المساعد NOS	نبات البيروكسيروم
HANDOK et al. (2003)	L-الارجنين و العامل المساعد NOS	بروتين P المتغير من GDC
GUO et al. (2003)	L-الارجنين و العامل المساعد NOS	بروتين نبات الأرابيدوبسيس
YAMASAKI, (1999)	NADH و NO ₂	النترات مختزلة
MILLAR et al. (1998)	NADH و NO ₂	أكزانتين أكزيدوردكتاز
HUANG et al. (2002)	هيدروكسي يوريا + H ₂ O ₂	فجل البيروكسيداز
BOUCHER et al. (1992)	NOHA + H ₂ O ₂ / ROOH	هيمبروتين
BOUCHER et al. (1992)	NOHA + NADPH + O ₂	سيتوكروم P450
STO ^{HR} et al. (2001)	reduced Cyt c + NO ₂	غشاء البلازما انزيم

الجدول 1: المصادر الأنزيمية المنشئة والمحتملة لأكسيد النتروجين في الخلايا النباتية (YAMASAKI et al., 1999)

على الرغم من أن نتيجة الأنشطة NOS جديدة في النباتات ، المذكورة أعلاه ، ربما قد تتطلب أن تتق هذه الفكرة. ان إنتاج بعض المصادر الأنزيمية المنشئة والمحتملة ل NO في الخلايا النباتية من قبل الموليبيدينوم التي تحتوي على العامل المساعد نترات انزيم هو معروف منذ بداية القرن 80 (HARPER, 1981). يمكن لهذا الإنزيم توليد أكسيد النتروجين من النتريت (NO₂) مع NADH المانح للإلكترون والموقع المحفز وربما كان العامل المساعد الموليبيدينوم (YAMASAKI, 1999) و اختزال النترات كما تنتج بيروكسينترت في وقت واحد مع أكسيد النتروجين. ومع ذلك، فإن قدرته على إنتاج واختزال النترات، في تشبع تركيزات NADH والنتريت، هو حوالي 1% من الممكن تخفيض النترات لها، و تنتج أكسيد النتروجين الذي يعتمد على مجموع اختزال نشاط النترات وتنشيط انزيم داخل الخلايا و تراكم NO₂ و NO₃ في الخلايا النباتية ، NO₂ يمكن ان تتراكم عندما يكون البناء الضوئي و النشاط هو تحول دون أو تحت الظروف اللاهوائية و تقترح مشاركة اختزال النترات

في إنتاج أكسيد النتروجين وبالتالي، من المتوقع أن اختزال النترات يعتمد على توليد أكسيد النتروجين إلى تعزيز النبات في ظل ظروف الإجهاد (ROCKEL et al., 2002).

إنزيم آخر يمكن أن يولد أكسيد النتروجين من النتريت، هو غشاء البلازما متجهة إنزيم جذور التبع هذا الإنزيم لديه الوزن الجزيئي العالي من اختزال النترات وما زالت تحتاج إلى وصف الأكرنثين مؤكسدة مختزلة (XOR) سبب انقسام أكسيدوردكتاز أكرنثين إلى قسمين تحويل أشكال أكرنثين المنتجة الفائقة أوكسيداز وأكرنثين نازعة وقد وجد XOR الموجودة في البازلاء ورقة بيروكسيدوم حيث شكل الغالب من الإنزيم هو أكرنثين أوكسيداز فقط 30% موجودا في أكرنثين نازعة (SANDALIO ET AL., 1988) في الصورة الموالية نوضح خاصية هامة لانتاج O_2 و أكسيد النتروجين. الجذور تمنح XOR دورا رئيسيا كمصدر لإشارة الجزيئات في الخلايا النباتية. (CORPAS et al., 2001).



الوثيقة 06: النموذج المقترح لإنتاج أكسيد النتروجين والبيروكسينترت الذي يحفزه إنزيم XOR (CORPAS et al., 2001).

لإنتاج أكسيد النتروجين والبيروكسينترت الذي يحفزه إنزيم XOR تحت اللاهوائية وبشروط وبحضور النتريت وركيزة الحد، مثل الزانثين أو NADH، NO يتم إنشاؤها في موقع Mo. في وجود O_2 ، يتم تقليل هذا في موقع FAD لإعطاء فوق الأكسيد (O_2)، والتي يمكن أن تتفاعل مع أكسيد النتروجين لإنتاج البيروكسينترت.

(FREE RADICAL BIOLOGY & MEDICINE; 2002) ومع ذلك، وبغض النظر عن هذه الحالات، لا يزال هناك مصادر الأنزيمية أخرى محتملة لتوليد أكسيد النتروجين في النباتات التي يجب أخذها بعين الاعتبار. إن إنتاج أكسيد النتروجين و سيترولين بواسطة فجل البيروكسيداز من ن-

هيدروكسي ارجنين وذكرت (NOHA) و H_2O_2 قبل عقد من الزمن (BOUCHER et al., 1992) وفي الآونة الأخيرة فجل البيروكسيداز قد تجلى أيضا لتوليد أكسيد النتروجين من هيدروكسي يوريا و H_2O_2 .

هذا وينبغي النظر في مصدر أكسيد النتروجين بعناية أخذا في حساب بيروكسيديزات وهي انزيمات واسعة النطاق تشارك في العمليات الفسيولوجية الهامة من خلايا النباتات هيمي بروتين التي لديها اقتراح جيد من المرشحين لأنزيمية جيل من أكسيد النتروجين هم سيتوكروم P450. هذه البروتينات هي موجودة في النباتات، (MANSUY AND BOUCHER, 2002) الهيموجلوبين والكاتلاز يبلغوا لإنتاج أكسيد النتروجين و أكسيد نيتروجين أخرى و ذلك عن طريق حفز أكسدة NOHA بواسطة سيميل هيدروبيروكسيداز. تؤكد هذه البيانات على أهمية هيمي بروتين وأنزيمية مولدات أكسيد النتروجين (BOUCHER et al., 1992).

11.I. الوظائف الفسيولوجية لأكسيد النيتروجين

إن تطبيق أكسيد النيتروجين خارجي المنشأ إلى كل النباتات أو مزارع الخلايا تمت السماح بالحصول على معلومات قيمة فكيف يؤثر هذا الجزئ في بعض النواحي الفسيولوجية و العمليات الكيميائية الحيوية على سبيل المثال، تطبيق أكسيد النيتروجين للنباتات وفرت دليل على وجود دور وساطة منه في تثبيط الكاتلاز، أسكورات البيروكسيداز وأنشطة أكونيتاز في جدار الخلية تنظيم القنوات الأيونية لحراسة الخلايا (GARCIA-MATA et al., 2003) والميتوكوندريا ووظائف البلاستيدات الخضراء لحماية الخلية من الموت (PEDROSO et al., 2000) ، والشيخوخة و جرح الاشارات ومن تراكم الفيرييتين، الخويبين.

الجدول التالي يبين عمليات مختلفة في النباتات التي يمكن تنظيمها من قبل أكسيد النيتروجين ما يبدو، إن أكسيد النيتروجين يمكن التوسط للآثار البيولوجية مما يشير الى جزيئات مثل الهرمونات، دورا مماثلا لها التي أفادت عن H_2O_2 (NEILL et al., 2002).

العمليات	
- العصاراة الخلوية: تعديل أكونيتاز - التفاعلات الكيميائية الحيوية - نترتة البروتين - الفيريتين (توازن الحديد) - (NO) Haemoglobins - تعديل - المستويات - CA2 + ، GSH MAPKs ، ROS ، ABA ، الاثيلين، - الإجهاد الأحيائية : رد فعل شديد الحساسيه (HR)، اكتسبت النظامية- - المقاومة (SAR) الإجهاد اللاحيوي: جرح والملوحة ودرجات الحرارة المرتفعة والجفاف، نقص الأكسجة	- النمو والتنمية - إنبات - توالد الجذر - حركة الثغور - الشيخوخة وموت الخلية المبرمج (PCD) - جدار الخلية - الأيض عقيدات - التمثيل الغذائي للمقصورات تحت خلوية - البلاستيدات الخضراء : الكلوروفيل - الحيوي، فسفنة ضوئية - الميتوكوندريا: السيتوكروم أوكسيديز، أوكسيديز بديل - تنظيم بيروكسيدة الكاتلاز

الجدول 2 : ملخص الوظائف المفترضة ل NO في مختلف فسيولوجية النبات ، والعمليات الكيميائية الحيوية والجزيئية (NEILL et al, 2002) .

فقد تبين ان السيتوكين يحث على تخليق أكسيد النتروجين في مختلف النباتات وأنه من الممكن ان يتوسط السيتوكين الناجم عن موت الخلية المبرمجة بعملية (PCD). وقد ثبت أنه يتوسط ABA الناجم عن اغلاق الثغور، وABA يدفع تخليق أكسيد النتروجين السريع في حراسة الخلايا من البازلاء (NEILL et al., 2002). وبالمثل، فقد وجد أوكسين للحث على تخليق أكسيد النتروجين في جذور الخيار (PAGNUSSAT et al., 2002) من ناحية أخرى، فإن التفاعل بين أكسيد النتروجين و الاثيلين في النضج والشيخوخة من الأنسجة النباتية واقترح إجراء عدائي لكل هذه الغازات أثناء مراحل تطور النبات (LAMATTINA et al., 2003) في استجابة النبات لمختلف الضغوط الغير حيوية مثل: الجفاف، وانخفاض وارتفاع درجات الحرارة والأشعة فوق البنفسجية والأوزون ، والجروح.

فقد تم اقتراح دور أكسيد النيتروجين كوسيط. في الإجهاد الحيوي، يشير إليه خلال الاستقراء للاستجابة الشديدة للحساسية (HR) قد تجلى في أعقاب الهجوم الممرض (DELLEDONNE et al., 1998) وأوضح الاختلاف دليل على أن توليف أكسيد النتروجين من قبل مسببات الأمراض عبر NOS، يمكن أن تتفاعل مع H_2O_2 للتوسط في HR (NEILL et al., 2003) واقترحت المقاومة المكتسبة (SAR) دور أكسيد النتروجين في تطوير النظامية، (DURNER et al., 1998) وعلاقة الإشارات بما يأخذ الأماكن بين H_2O_2 ، أكسيد النتروجين وحمض الساليسيليك خلال HR و SAR

(VAN CAMP et al., 1998) . في نباتات البازلاء، تكثيف انبعاث أكسيد النتروجين يؤدي الى ذبولها (LESHEM AND HARAMATY, 1996) وخلايا التبغ تحت الحرارة، نضوح ضغوط الملوحة عن طريق الليزر متحد البؤر بالمسح المجهرى (CLSM) وتحليل فلوروميترك تم تحديد زيادة سريعة في إنتاج أكسيد النتروجين (GOULD et al., 2003) في أوراق نبات الأرابيدوبسيس مما أسفر عن اصابة يسببها تراكم سريع من أكسيد النتروجين ، وتدور محاصرة EPR وفحصها من قبل CLSM .

وأدت هذه البيانات إلى الافتراض أنه لا يمكن أن يكون علامة مفيدة من الإجهاد في النبات وأن توليد أكسيد النتروجين ، كأنه من ROS و O_2 و H_2O_2 ، يمكن أن يحدث بشكل طبيعي باعتباره استجابة تعميمها على أنواع مختلفة من الإجهاد ووفقا لهذه الفرضية، توليد وانبعاث أكسيد النتروجين يمكن أن يكون وسيلة فعالة لتبديد الجذور الحرة الزائدة، و آليات أخرى مكملية في إزالة السموم وهناك دور أكسيد النتروجين في استحثاث موت الخلايا المبرمج في نوعين نباتيين (MAGALHAES et al., 1999) وقد اقترح PCD الناجمة عن العوامل المسببة للأمراض في نبات الأرابيدوبسيس (NEILL et al., 2003) ، ويبدو أن تحريض PCD يتم تحديدا بواسطة التفاعل بين أكسيد النتروجين و ROS و H_2O_2 (DELLEDONNE et al., 2001).

في نبات الميتوكوندريا ، أكسيد النتروجين يمنع السيتركروم من نشاط أوكسيديز يصاحب ذلك تركيب ATP ، وتغيير نشاط الميتوكوندريا يحفز PCD في الخلايا النباتية ويبدو أن أكسيد النتروجين يسببها PCD يحدث عن طريق تثبيط التنفس والإفراج عن السيتركروم الميتوكوندريا وهناك كمية كبيرة من البحث تجري حول دور أكسيد النتروجين في مختلف عمليات نقل الإشارة من الخلايا النباتية. يبدو ذلك الجيل من cADPR, cGMP وارتفاع وتشارك عصاري خلوي CA_2^+ في استجابات النبات إلى أكسيد النتروجين على نحو مماثل لخلايا الثدييات، على الرغم من تفصيل آلية هذه الاستجابات غير معروف بشكل جيد جدا حتى الان (WENDEHENNE et al., 2001) . تحريض أكسيد النتروجين التعبير الجيني في النباتات كشفت دراسات حول عدد كبير من الجينات التي نجمت عن أكسيد النتروجين بعض من الجينات تشمل PAL، AOX1a، PR-1، CHS، AtNOS1 ومن عدة بيروكسيديزات، glutathione S-transferases الفيريتين، والإنزيمات الرئيسية حمض الجاسمونك الحيوي (DURNER et al., 1998)

12.I. الوظائف البيولوجية

أكسيد النتريك هو واحد من عدد قليل من الجزيئات يشير الغازية المعروفة بل هو رسول البيولوجي الفقاريات رئيسيا، ولعب دورا في مجموعة متنوعة من العمليات البيولوجية ومن المعروف أكسيد النتريك باسم البطانة المستمدة الاسترخاء (البطانة الداخلية) من الأوعية الدموية تستخدم أكسيد النتريك للإشارة إلى العضلات الملساء المحيطة للاسترخاء. مما أدى إلى توسع الأوعية وزيادة تدفق الدم تفاعل أكسيد النتريك مع الهيموغلوبين. أيضا من أصل نباتي.

ويبدو أن أهمية خاصة فقد تبين أن في ظل ظروف جوية هيموغلوبينات النبات قد تتفاعل مع أكسيد (CULOTTA, 1992) النتريك تشكيل النترات الذي يعدل بهذه الطريقة على مستوى أكسيد النتريك في النبات وتفاعل عالية وينشر المجانية عبر الأغشية جعل أكسيد النتريك مثالية للجزيء إشارة عابرة بين الخلايا المجاورة وداخل الخلايا (STRVER, 1995).

يساهم أكسيد النتريك إلى التوازن عن طريق تثبيط الأوعية الدموية و تقلص العضلات الملساء والنمو وتراكم الصفائح الدموية، والتصاق الكريات البيضاء إلى بطانة أكسيد النتريك و يتفاعل مع إنتاج ضرر بيروكسينترات الجذور الحرة في المقابل، وقد تبين استنشاق أكسيد النتريك يساعد في البقاء على قيد الحياة والشفاء من التسمم الباراكوات، التي تنتج الأنسجة (IGNARRO, 1990).

13. I. كيفية التخلص من أكسيد النتروجين

النشاط البشري يؤدي الى زيادة إنتاج أكسيد النتروجين و يشير أكسيد النتروجين إلى وظائف الغلاف الجوي وقد تتداخل مع الأيض القاعدي وتغيير الظواهر الفسيولوجية حاسمة العمليات. وأصبح هذا بالغ الأهمية " الآثار الجانبية " واضح في عام 1996، حصلت الصيادلة في الجامعة الحرة ببرلين عددا من نتائج غير متوقعة في التجارب مع guanylate، لأن هذا الإنزيم يتم تفعيله من خلال أكسيد النتروجين، بدؤوا يتساءلون عما إذا تم التعرض لأكسيد النتروجين خارجي. وقد تم قياس النشاط على مقربة من برلين، وجدوا علاقة قوية مع تركيز أكسيد النتروجين والغلاف الجوي (FRIEBE et al., 1996).

تتعامل النباتات مع الغلاف الجوي و أكسيد النتروجين وكذلك مع تسرب الداخلي لأكسيد النتروجين أن يتراكم تحت ظروف النمو العادية من إنتاجها من النتريت (PLANCHET et al., 2005) لذلك فإن النباتات يجب منع التدخل من أي الذاتية أو في الغلاف الجوي من خلال تفعيل آليات إزالة السموم، وقد تحددت الدراسات الحديثة أن هيموغلوبينات النبات ترتبط بنقل الأكسجين.

هيموغلوبينات غير التكافلية تمتلك قابلية عالية للأكسجين و ببطء معدل التفكك الأكسجين الثابت فإنها بالتالي فهي تعمل بوصفها ناقلات الأكسجين ومع ذلك ، فإن العديد من النباتات غير التكافلية تنظم خلال نقص الأكسدة ، وهي حالة الإجهاد التي تولد كميات وفيرة من أكسيد النتروجين (DORDAS et al., 2003) و هيموغلوبينات النباتات غير التكافلية من *A. thaliana* والشعير و البرسيم (SEREGELYES et al., 2004) تعمل على إزالة السموم أكسيد النتروجين إلى نترات في NAD (P) H و ميثيموغلوبين المتوسط قد يتم تخفيض مباشر من قبل NADPH ، كما هو الهيموغلوبين من *A. thaliana*، أو عن طريق اختزال ميثيموغلوبين.

على الرغم من أن أكسدة أكسيد النتروجين إلى نترات بواسطة الهيموغلوبين هي الطريق الأيض الرئيسي لأكسيد النتروجين، وغيرها من الإنزيمات مثل أوكسيداز الزانثين ، الجلوتاثيون و ذكرت GSNO اختزال لكسر الأنواع ذات الصلة أكسيد النتروجين . ومع ذلك، فإن الفسيولوجية لها أهمية في الانزيمات لعملية التمثيل الغذائي لأكسيد النتروجين ومع ذلك تم تنظيم النسخ من *A. Thaliana* GSNO اختزال ردا على JA و SA يدعم وظيفة في تحرير أكسيد النتروجين في الإشارات التي ترتبط مع دفاع النبات (DI'AZ et al., 2003) .

خاتمة

تبين من خلال الدراسات حول أكسيد النتروجين بأنه يشارك في العديد من الوظائف الفسيولوجية في النباتات و قد اكتسبت البحوث حول أكسيد النتروجين في ثلاث مجموعات رئيسية و هي تتمثل في البحث عن مصدره و اثار علاجه الخارجية و مسارات نقله للمعلومة .

مدخل

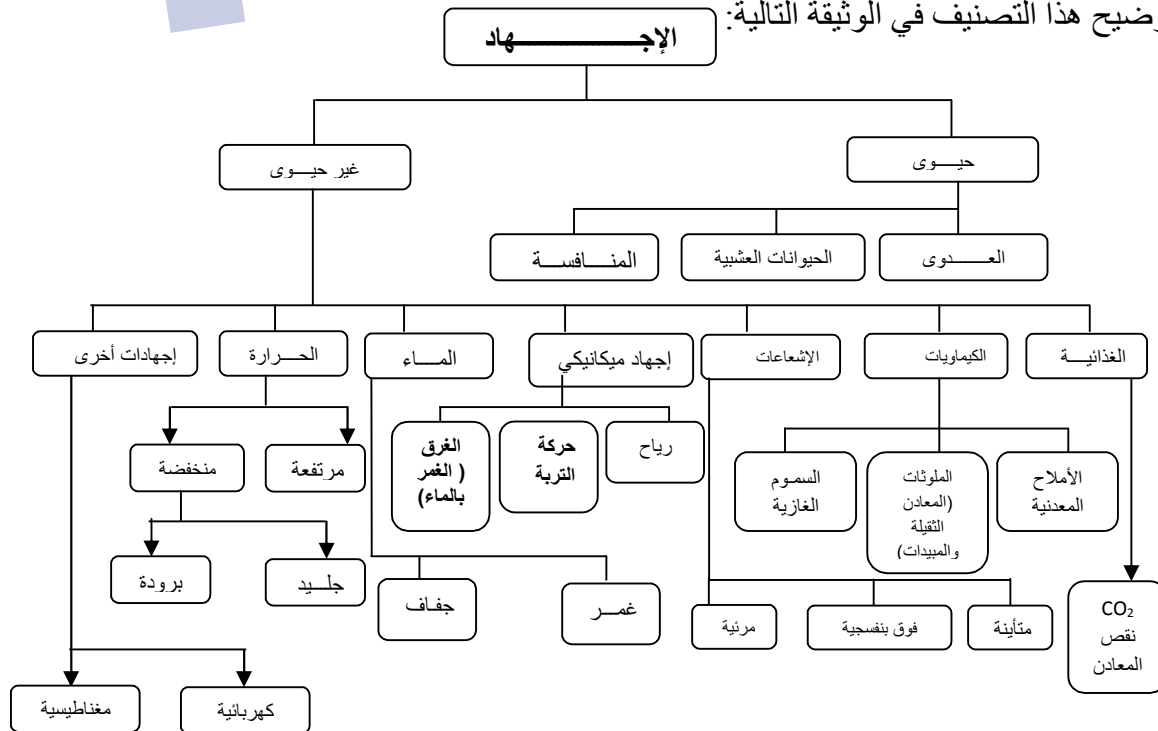
هناك عدة ظروف بيئية أو مناخية يتعرض لها النبات من بين هذه الظروف الإجهاد وهو الذي عبارة عن اضطراب فسيولوجي يحدث نتيجة تعرض النبات لأحد العوامل البيئية الطبيعية و للإجهاد عدة أنواع حيث سنقوم في هذا الفصل بدراسة تفصيلية للإجهاد كأنواعه و عوامله و خصائصه

1.II. تعريف الإجهاد:

إن النبات يتأثر بجميع العوامل غير الحيوية التي تحيط به، وهذا التأثير يختلف حسب درجة الحرارة فعند الدرجات المثلى يكون نمو النبات مثالي، ولكن النباتات غالباً ما لا تتوفر لها هذه الدرجات المثلى من هاته العوامل في الوسط الطبيعي ممّا يجعل النبات ينحرف عن الوضعية الفيزيولوجية الأمثل، وتسمى هذه الظاهرة بالإجهاد. الإجهاد هو نتيجة ردود أفعال النبات الناتجة عن تذبذب درجات توفر العوامل غير الحيوية في الوسط، كما يمكن قياس شدته على ميزان الكثافة حسب النقص والإفراط (ERNS et al, 2002).

2.II. أنواع الإجهاد:

يتم تصنيف مجمل الإجهاد الذي يتعرض له النبات إلى إجهاد حيوي وإجهاد غير حيوي، ويمكن لهذه العوامل منفردة أو متجمعة أو متداخلة فيما بينها أن تنتج تنوعاً في الإجهاد ممّا ينجم عنه التنوع في أنواع التأقلم على مستويات مختلفة جزئية خلوية وعضوية (ERNS et al.2002). يمكن توضيح هذا التصنيف في الوثيقة التالية:



الوثيقة 07: مخطط يوضح تصنيف الإجهاد (ERNS ET al,2002)

3.II. التأقلم ومقاومة الإجهادات:

1.3.II. تعريف:

يعرف التأقلم بأنه عبارة على قدرة النبات على النمو وإعطاء مردود مقبول في المناطق المعرضة للإجهادات الدورية المعروفة. (MONNEVEUX ET NEMMAR, 1986).
التأقلم للإجهادات الإحيائية ذات طبيعة مائية وحرارية تتبع عدة طرق من بينها:
✓ الفينولوجي (ACEDEVO et al. 1991).
✓ المورفولوجي (HANSON et al., 1985; SHAHMA et SMITH, 1986).
✓ الفيزيولوجي (RICHARDS et al; 1987. ARAUS et al; 1998).

2.3.II. الوصفات المتعلقة بتحمل الإجهادات:

1.2.3.II. الصفات المورفولوجية:

أ. مورفولوجية ومساحة الأوراق:

إن تقليص مساحة الأوراق في ظروف الإجهاد المائي الحاد هي آلية للتقليل من الاحتياجات المائية (TURK et al; 1980. LUDLOW et MUCHOW, 1990). النوع الآخر من التأقلم الورقي المبين من طرف النباتات هو التفاف الورقة الذي يمكن اعتباره كدليل لفقد الامتلاء وفي نفس الوقت كصفة لتفادي التجفاف (BELHASSEN et al; 1995. AMOKRANE et al; 2002). ويبين كل من (O'TOOLE et GRUZ 1980)، إن التفاف الأوراق ينتج عنه انخفاض معدل النتج والتقليص من المساحة الورقية المعرض للأشعة بنسب تقدر بين 40% إلى 60% ما يساهم بشكل كبير في تخفيض نسبة الفقد المائي (EL-JAAFRAI, 1985)، وأشار أيضا إلى اللون الفاتح تكوين الزغب ووجود الكيوتيكل كآلية ناجحة لتقليل من كمية الماء المفقود.

ب. استطالة الساق:

يرجع دائما طول النبات على أنه أحد الصفات الهامة والدالة على تحمل النبات للجفاف. يشرح BLUM (1988) هذه العلاقة بين طول النبات والتأقلم بتحويل المدخرات المخزنة داخل الساق نحو البذرة وبالتالي تكوين مستوى من المردود مقبول تحت الإجهاد، لأن طول النبات مرتبط بطول الجذر.

ج. مورفولوجية النظام الجذري:

تحت ظروف الجفاف والنقص المائي يُطور النبات النظام الجذري أكثر من الكتلة الهوائية (HSIAO et ACEVEDO, 1974). يلعب النظام الجذري المتطور دوراً هاماً في التغذية المائية والمعدنية لنبات قد نبين أن امتصاص الماء من التربة لمحاصيل المناطق الجافة مرتبطة بشدة ديناميكية نمو الجذور (PASSIOURA et al., 1981).

وقد وجدت علاقة وطيدة بين كثافة وعمق النظام الجذري وكمية الماء الممتصة (AHMADI; 1983)، والذي يساعد استغلال أمثل للماء الموجود في التربة، وكذا الزيادة من القدرة التخزينية له.

د. مورفولوجية وطول السفا:

إن طول الساق يعد مؤشراً مورفولوجياً هاماً لديه علاقة مباشرة بمقاومة الإجهاد المائي النهائي وخاصة لدى القمح الصلب (HADJCHRISTODOLOU, 1985)، كما يزيد الساق في الوزن الجاف للنبات.

II.2.2.3. الصفات الفينولوجية:

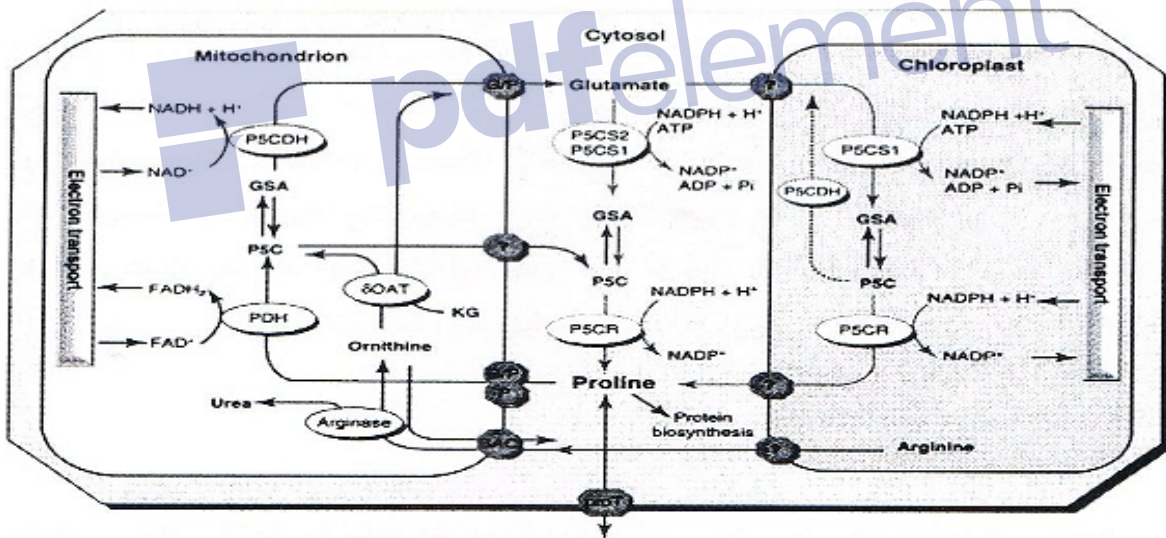
من أهم الصفات الفينولوجية التي يتبعها النبات للتهرب من الإجهادات هي الاختصار في دورة الحياة لتفادي صدفة مراحل النمو الحرجة بالحوادث المناخية مثل درجات الحرارة المرتفعة، والإجهاد المائي، يتوافق نمو النبات مع فترة وجود الماء والظروف الملائمة (PASSIOURA, 2002). تحت الظروف الشبه جافة، تعتمد بعض الأنماط الوراثية صفة التبكير في الإنبال وتنصف بسرعة تعميم قوية، بذلك تنتهي دورة نموها قبل حلول حادث الإجهاد بينما الأنماط الوراثية المتأخرة فإنها تعتمد على الغذاء المخزن في السيقان، للتقليل من أثر الإجهاد. (ABBASSENNE 1997).

II.3.2.3. الصفات البيوكيميائية:

أ. البرولين:

هو أحد الأحماض الأمينية الهامة في النباتات، والذي يقوم بتخليقه كرد فعل أو كنوع من التأقلم ضد الجفاف قصد تعديل الوسط للحفاظ على المحتوى المائي في الخلية والحفاظ على ضغط الامتلاء الضروري لكل تفاعلات الخلية الحيويّة، ويركز البرولين في جميع أجزاء النبات وبكمية مرتفعة في الأوراق (PALFI ET al., 1973)، حيث يمثل في بعض الحالات 1% من الوزن الجاف للنبات (HSIAO, 1973).

إن مصدر البرولين المتراكم أثناء إجهاد هو التخليق الحيوي من الحمض الأميني غلوتاميك (POURRAT, 1974 ; VOETBERG ET STEWART, 1984) ، ترجع جزئياً إلى نقص أكسدته نظراً لنقص الإنزيم المحفز لأكسدته وهو إنزيم Proline dehydrogenase. وعملية تجميعه متعلقة بنقص الماء، وكذلك درجات الحرارة المرتفعة. (NEMMAR, 1986). تدل نتائج بعض الأبحاث على أن تراكم البرولين أثناء الجفاف، يتطلب زيادة محتوى النبات من حمض الأبسيسيك ABA (OBER et SHARP, 1994; DEMIREVSKA et al., 2008). وبيّنت دراسات SAVITSKAYA (1967)، التي عرضت فيها نبات الشعير لظروف نقص الماء في التربة، أن الحمض الأميني البرولين كان الوحيد من بين الأحماض الأمينية وبكميات كبيرة، وفي جميع أعضاء النبات، وقد توصل باحثون آخرون إلى نفس النتيجة في نبات القمح. ولهذا يكشف عنه في النبات المعرض للإجهاد المائي، كدليل على مقاومة الجفاف، فإنه هناك علاقة طردية بين كمية البرولين المفزعة من النبات والمتراكمة فيه بين مقاومة الجفاف حيث كلما زادت هذه الكمية المتراكمة كلما كان النبات أكثر مقاومة (VLASYUK et al., 1968).



الوثيقة 08 : نموذج لأيض البرولين في النباتات الراقية (SZABADOS . 2009)

ب. تراكم السكريات:

تعتبر السكريات والأحماض الأمينية والأحماض العضوية، من أهم المواد المتراكمة أثناء الإجهادات وللسكريات المذابة دور إيجابي في تخفيف الإجهاد الحراري والمائي وفي طريقة التعديل الأسموزي أيضاً، وذلك بواسطة منح مقاومة للجفاف والبرد لبعض خلايا النبات.

(LEE- STADELMANN ET BEGG, 1976)

ولقد وجد بعض الباحثين في أوراق القمح المجهد حراريا ومائيا تراكم السكريات و تثبيط أيض النشاء (TURNER et BEGG , 1978) كما تعتبر السكريات من أهم المذيبات المستعملة من طرف النبات لتعديل الأسموزي، ومنها الغلوكوز والسكرور، كما بيّنت بعض الأبحاث أن هناك استنفاد عام للسكر ونشاء في الأوراق المعرضة للإجهاد المائي (ACKERSON,1981).

II.4.2.3. الصفات الفيزيولوجية:

أ. التعديل الأسموزي:

من بين الصفات المستعملة من طرف النبات لتحمل الإجهادات التعديل الأسموزي والذي يعرف على أنه تراكم المواد الذائبة (Osmoticum) في النسيج النباتي، استجابة لمختلف أنواع الإجهاد (DAKHEEN,1991;TURNER,1979) حيث أن التعديل الأسموزي يحافظ على التوازن المائي في الخلية، وفقدان الماء من الخلية نتيجة ارتفاع التركيز خارج الخلوي، الناتج على الإجهاد المائي، كما أنه يحافظ على ضغط الامتلاء والعمليات المعتمدة عليه، والتي لها تأثير كبير على نمو النبات ومردوده (JOHNSON et al.,1984)، ويتجلى هذا في تراكم البرولين والسكريات (LUDLOW ET MECHOW;1990).

ب. التعديل الثغري:

إن انخفاض النتج مرتبط بنقص في الكمون المائي للأوراق، ويرجع مبدئيا إلى انغلاق الثغور، وينتج عن انخفاض معدل الماء داخل الأوراق، وفقد محفزات انتباج الثغور، أو تراكم مثبطات الثغور (ALLAWAY,1970;MANSFIELDM,1970).

تحت ظروف الإجهاد تغلق النباتات الثغور للحفاظ من فقد الماء عن طريق النتج، وفي هذه الحالة تحد في نفس الوقت دخول CO_2 ، ويمكن أن تبقى الثغور مفتوحة من أجل الحصول على CO_2 الضروري للبناء الضوئي، وبالتالي يؤدي إلى جفاف النبات، فبين هاتين الحالتين المتطرفتين، النبات ينوع درجة فتح الثغور (YKHELF, 2000; DJEKOU,2000).

ويشير GRINAC (1965)، إن قدرة القمح الصلب لتحمل أنواع الإجهاد تكون أكبر من القمح اللين، وهذا يرجع جزئيا إلى آلية هذه الآلية الفسيولوجية، كما أن حجم وعدد الثغور ذات فعالية، انغلاق الثغور بطريقة سريعة وفعالة، حيث تتواجد ثغور عديدة وصغيرة بالتحكم فيها أو في النتج أكثر من الثغور الكبيرة وقليلة العدد (PALFI et al;1973).

4.II. عوامل الإجهاد:

1.4.II. عوامل الإجهاد لأسباب لديها علاقة بالأزمة الفيزيولوجية:

منذ نمو البذرة حتى وصولها إلى مرحلة الشيخوخة ، يتطور النبات حجما ويتكاثر، مارا بسلسلة من المراحل التي تشكل دورته البيولوجية.

يأتي هذا التطور مصحوبا بسلسلة من التغيرات الفيزيولوجية والاستقلابية التي تسمح بنمو النبات، وبالتفريق بين بنياته المختلفة، حسب المرحلة الفيزيولوجية التي يوجد فيها.

تكون تلك المراحل التي يحدث فيها التغير عادة عسرة بالنسبة للنباتات خاصة عندما يتعلق الأمر بحساسيتها لأي نوع من التغيرات المثلى للنمو، وتتزامن عوامل الإجهاد مع مرحلة التطور الخاص بالمضغة والنمو والتزهير وتكون الفاكهة ونضجها، والتي تكون النباتات خلالها أكثر حساسية للتغيرات الداخلية المعقدة، التي تعاني منها، ويأتي العبور عبر تلك المراحل المختلفة، محددا وراثيا ويرتبط بظروف البيئة.

العامل المشترك المشير إلى بداية كل عملية، هو تغير في المحتوى الاندوجيني للهرمونات، والذي يليه تغيرات في التوزيع الداخلي الأيض للنبات، بالإضافة إلى ذلك، تتزامن هذه المراحل الحساسة مع المراحل الحرجة للمحصول، من أجل الحصول على أعلى معدل للإنتاج. (TURNER et BEGG ,1978) .

2.4.II. عوامل الإجهاد لأسباب مناخية:

من بين تلك العوامل المسببة للإجهاد، نذكر منها درجات الحرارة المنخفضة (الإجهاد بسبب البرد، بسبب التجمد)، والمرتفعة (الإجهاد بسبب الحر الشديد). فأقل من أدنى درجة حرارة معينة أو أكثر من أقصى درجة حرارة معينة، وبحسب طبيعة النبات، تصاب النباتات بأضرار وخيمة تعرقل نموها المثلى.

فالتعرض للبرودة يؤدي إلى شلل النشاطات الإنزيمية، ويؤدي كذلك إلى انخفاض السيولة داخل الأغشية الخلوية، مما يؤثر على انتقال الماء والعناصر المغذية من خلالها، ويتوقف بذلك النبات عن الإنتاج، إذا كان انخفاض درجة الحرارة شديدا ومفاجئ، يصبح النبات معرض لخطر التجمد، الشيء الذي يؤدي إلى تكوّن بلورات جليدية داخل الخلية، ما يؤدي إلى فقدان شديد للماء الخلوي.

عكس ذلك، فإن التعرض المطول لدرجات الحرارة المرتفعة جدا مؤذي للخلية، بسبب خمول الإنزيمات، وتغير طبيعة البروتينات، مما يؤدي إلى زيادة السيولة داخل الأغشية الخلوية. يعني ذلك أن

مسامية المذابات من خلالها تصبح مختلة، وتزيد الحرارة كذلك في عملية نتح النبات فيما يتعلق بالتمثيل الضوئي، الشيء الذي يؤدي إلى توقف نموها.

ففي مناخنا المتوسطي، لا يتميز الصيف الحار بارتفاع درجات الحرارة فقط، بل غالبا ما يكون ذلك مصحوب بجفاف شديد أيضا.

الإجهاد المائي المعروف، يمكن له أن يحدث، سواء لقلة المياه (الجفاف) أو لزيادتها (الاختناق الجذري). فعلى سبيل المثال، يحدث الأول عندما تصبح فيه عملية النتح " أكثر من امتصاصها للماء، وإحدى أولى المظاهر، فإن فقدان الانتفاخ الخلوي الذي يؤدي إلى فقدان الماء من طرف الخلية، والغلق الفوهي ونقص في القدرة على التمثيل الضوئي.

وأخيرا، هناك أضرارا جسدية ناجمة عن العوامل المناخية، كالرياح، والبرد، والتي تؤدي إلى كسر بعض أجزاء النبات أو كلها، مما يؤدي إلى تأخر أو فقدان المحصول، الناتج عنها .
(TURNER ET BEGG ,1978) .

II.3.4. عوامل الإجهاد التي لديها علاقة بطرق الزراعة:

إن الممارسات التي يتم اللجوء إليها لتحسين المحاصيل الزراعية يمكنها أن تحدث أضرارا بالنبات ومحيطه، إذا لم يتم تطبيقها بصورة مناسبة، ومثال على ذلك استعمال مبيدات الآفات التي يمكن أن تسبب مشاكل التسمم في النباتات عند استعمال العلاجات الرامية لحمايتها.

ومن جهة أخرى، ونظرا لسوء استخدام المياه، فإن ملوحة التربة قد أصبحت إحدى أكبر المشاكل التي يعاني منها قطاع الزراعة في العالم، بسبب الإجهاد الملحي مشاكل التسمم في النبات، ونظرا للتركيز العالي للملح، ويسبب في نفس الوقت ظاهرة التناضح التي تمنع النبات من امتصاص الماء والمواد المغذية التي يحتاج إليها.

إن نقص إحدى العناصر الأساسية يظهر بأعراض فيزيولوجية أو مورفولوجية مختلفة، حسب كل حالة وإن الإجهاد المسمى بالإجهاد الناتج عن النقص، لا يظهر غالبا بسبب نقص في عنصر ما في التربة، بل لوجود العنصر على شكل لا يستطيع النبات امتصاصه.

ومن جهة أخرى، هناك أضرارا مادية يمكن أن يتعرض لها النبات، نظرا للاستعمال غير المناسب للأدوات والآلات الزراعية، ومنها عملية التقليم والأضرار التي تحدث في العروق الناتجة عن الممارسات الزراعية الخاطئة، خطورة الإصابة التي يتلقاها النبات لا ترتبط بالضرر نفسه، بل بخطر الإصابة بالتلوث، لأنه يمكن للإصابة أن تعمل كمنفذ لدخول العناصر المسببة للأمراض.

إن عملية نقل الشتلات بصورة صحيحة هي إحدى الممارسات الزراعية الأخرى المهمة في الزراعة والعامل المهم الذي يحدد نمو الشتلة في هذه المرحلة الأولى من الزراعة هو البداية الحسنة للنشاط الجذري (BLUM, 1988).

5.II. العوامل التي تحدد درجة استجابة النبات لظروف الإجهاد البيئية:

- ✓ نوع الإجهاد الذي يتعرض له النبات.
- ✓ عدد المرات التي يتعرض فيها النبات للإجهاد
- ✓ فترة التعرض لظروف الإجهاد
- ✓ درجة الإجهاد (شدة الإجهاد).
- ✓ المرحلة العمرية للنبات.
- ✓ التركيب الوراثي.

وجود بعض العوامل المنشطة المشجعة لمضاعفة آثار وشدة الإجهاد Stress resistance mechanism

6.II. التحسين الوراثي لانتخاب سلالات وأصناف مقاومة للإجهادات:

1.6.II. الخصائص الفيزيولوجية:

توجد العديد من الصفات التي تركز عليها عمليات انتخاب الأصناف المقاومة وتحمل الجفاف، لكن استعمالها بصورة نهائية في الانتخاب الأبعد التحقق من دورها الفعلي في غربلة السلالات المقاومة للجفاف وكذلك بأن لها درجة توريث كافية.

يعتبر المحتوى المائي النسبي من المعايير المستعملة لتقييم تحمل الإجهاد المائي، وتظهر الأصناف المتحملة للإجهاد المائي نسبي مرتفع، ويحدد هذا المحتوى بالنسبة المئوية الموجود في نسيج النبات (WARDLAW et MONCOR; 1995).

إن الجهد المائي الورقي أحسن مؤشر للحالة المائية مقارنة بالمحتوى المائي النسبي، حيث يفسر علاقات بين التربة والنبات وبين أعضاء النبات يعتبر النبات كمحصلة لجهد الانتاج الذي يمثل ضغط جزئيات الماء على الغشاء الخلوي، الجهد الاسموزي الذي ينشأ من تراكم المواد الذائبة في الخلية ويصبح أكثر سالبية بزيادة تركيز هذه الذائبات وجهد الحشوة، والذي ينشأ التصاق جزئيات الماء ببعضها (YAMAGUCHI – SHINOZAKI et al; 2002).

II.2.6. الخصائص المورفولوجية:

II.2.6.1. طول القصبة والكتلة الإحيائية:

الكثير من الأبحاث تشير أن طول القصبة هو إحدى الصفات الهامة والدالة على تحمّل الجفاف، حيث امتلاء الحب يتوقف على كمية المواد المخزنة في الساق (BLUM, 1988).

في المناطق شبه الجافة إنتاج التبن ليس له نفس الأهمية كإنتاج الحب، ففي حالة تساوي المردود الأصناف طويلة القامة تصبح مرغوبة عن الأصناف قصيرة القامة.

تدل قامة الساق على امتلاك النبات لنظام جذري عميق وكثيف، يساعد على امتصاص الماء الموجود في التربة، بطريقة سهلة وبكميات وافرة.

يرى SHAMRA et SMITH (1986) بأنه يمكن تحسين المردود، وذلك بانتخاب أصناف ذات كتلة إحيائية مرتفعة، كما وجدوا قيم توريث مرتفعة للكتلة الإحيائية، وبالتالي ينصحون باستعمالها كصفة انتخابية غير مباشرة لتحسين المردود (SHARMA,1986;SMITH, 1986).

II.2.2.6. المساحة الورقية ودور ورقة العلم:

تلعب ورقة العلم دوراً هاماً في تعميم الحبة، وعموماً أن مدة حياة هذه الورقة مرتبطة معنوياً مع معدل ملء الحبة.

وتعد الشيوخوخة السريعة لورقة العلم، من الأعراض المعروفة للشد الرطوبي، وتدل على موت أنسجة الورقة بسبب ارتفاع درجة حرارتها الناشئة عن توقف النتج فيها، ويمكن الاعتماد على ظاهرة احتراق ورقة العلم بعد مرحلة الإسبال كمؤشر على استمرار وظيفة البناء الضوئي، تحت ظروف الإجهاد المائي، ويمكن الاستفادة منها كمعيار لانتخاب السلالات المقاومة داخل العشائر الانعزالية.

إن مورفولوجية ومساحة الورقة هما عاملين مرتبطين بنقص ضياع الماء، نذكر منها خاصية التفاف الأوراق، المساحة الورقية انفتاح وانغلاق الثغور.

وقد تبين أن كمية فقد الماء من الورقة أفضل دليل لمعرفة مختلف الأصناف المقاومة للجفاف، ويمكن التقليل من عملية فقد الرطوبة من الأوراق بانتخاب الأصناف ذات الأوراق صغيرة المساحة للتقليل من عملية النتج (FISCHER,1985). وكذلك الأوراق ذات طبقة الكيوتيكل السمكة لتقليل من شدة الطاقة الشمسية المستقبلية ودرجة حرارة الأوراق، ومنه خفض معدل نتج الماء منها .

II.3.6. التحطيم الخلوي:

بالرغم من قلة المعلومات الخاصة بالتأثير الفعلي للجفاف على مستوى الخلية إلا أنه تمت اختبارات سمحت بتقدير التأثيرات الفيزيولوجية لفقد المائي، ومن بين هذه الاختبارات، اختبار التحطيم الخلوي الذي قام به (SULLIVAN, 1972).

ويعتمد هذا الاختبار على تقدير الإصابة الناجمة على الإجهاد الحراري، وذلك بطريقة قياس الناقلية الكهربائية والتي تبين قياس المادة الكيميائية المتسربة من الأنسجة المصابة إلى الماء المقطر، نتائج هذا الاختبار مرتبطة بالإنتاج تحت الإجهاد الحراري ففي هذا الإطار أشار (REYNOLDS et al, 1972) أن هناك ارتباط قوي بين إتلاف الخلايا بسبب الصدمة الحرارية وانخفاض الإنتاجية الأنماط الوراثية المختبرة.

تعتبر قدرة البلاستيدات الخضراء على الحفاظ على امتلائها أحد أهم ميكانيزمات التكيف للجفاف، فالصناعات الخضراء الممتلئة جيداً تضمن تمثيل كلوروفيلي عالي عند جهود مائية ضعيفة.

توجد ميكانيزمات أخرى، والتي تحافظ على المحتوى المائي للخلايا، ومن ضمنها مرونة الأغشية وصغر حجم الخلايا، بعض الخصائص المتعلقة بالبروتوبلازم والتي ترتبط بقدرة الخلايا على مقاومة الضرر الناشئ على مستوى الأغشية أو السيتوبلازم (ECKHART, 2002). يهدف البحث عن المقاومة الفيزيولوجية للإجهادات لتحسين القدرات الوراثية لإنتاج النباتات تحت الظروف التي تكون غالباً غير ملائمة، وهناك العديد من التقنيات التي تقرر أنها فعالة في التعرف على الأنماط المحتملة لدرجات الحرارة المرتفعة.

استعمل HURD (1974)، تقنية الانتقاء على أساس النظام الجذري الدقيق الذي يكون كثير الأهمية من ناحية الحجم والطول وعلى غرار هذا أشار DEDIO (1975) أن قدرة الاحتفاظ بالماء في الأوراق هي مستعملة جداً في تحديد مقاومة النباتات بالنسبة للإجهاد المائي.

أشار CLARKE (1982) إلى أهمية قياس المحتوى المائي كمؤشر للاستدلال على تحمل النبات للإجهاد وينصحون باستعمال هذه التقنية لانتقاء كل المصادر الوراثية الموجهة إلى المناطق الجافة.

تقنية التحطيم الخلوي كذلك ينصح باستعمالها في الانتخاب بالنسبة لمقاومة درجات الحرارة المرتفعة هذه التقنية تعطي قياس عن كمية الألكتروليت المتسربة من الخلية نتيجة المعرضة للإجهاد الحراري (SULLIVAN, 1972).

خاتمة

لقد تم من خلال دراستنا التعرف على ظاهرة الإجهاد و أنواعه المختلفة والأساليب التي توقع النبات تحت ما يسمى بالإجهاد أو الضغط البيئي و قد تكون هذه الظاهرة حافزا في استجابة النبات للتكيف بهذه الظروف.



مدخل:

هناك الكثير من البحوث في مجال الأنشطة البيولوجية أكدوا أن أكسيد النيتريك يؤدي إلى التخفيف من الآثار الضارة الناجمة عن الضغوط البيئية في النباتات وقد اعتبر بعض الباحثين أن أكسيد النيتريك دوره وقائي اعتمادا على تركيزه ، والأنسجة النباتية وعمر النبات ، ونوع الإجهاد وتم الكشف عن زيادة في إنتاج أكسيد النيتريك خلال كل من الإجهاد المائي والحراري و الملحي وبتطرق في هذا الفصل بدراسة تفصيلية لدور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد في النبات الذي يعتمد على أنواع أكسيد النتروجين التفاعلية ووظائف الإجهاد الحيوي واللاحيوي والتوازن الهرموني الخ

III. 1. أكسيد النتروجين في الإجهاد :

يعتبر أكسيد النتروجين ناقل عصبي أساسي و يشارك في مجموعة متنوعة من الإجهاد الحيوي واستجابات التوتر الناجم عن الإجهاد الغير الحيوي الفسيولوجي من الضغوطات على سبيل المثال الجفاف ودرجات الحرارة المنخفضة و العالية والأشعة فوق البنفسجية والتعرض للأوزون للحث على توليد ROS . وقد يتفاعل أكسيد النتروجين مع ROS في مختلف الطرق بمثابة مضادات الأكسدة خلال مختلف الضغوطات والبحث عن آثار أكسيد النتروجين في الغلاف الجوي الناجم عن التلوث، ولكن أصبحت النباتات لا تستجيب فقط لغلاف الجوي وإنما تستطيع إنتاج كميات كبيرة من أكسيد النتروجين (WILDT et al., 1997). وتشير الأدلة المتزايدة أيضا على أن أكسيد النتروجين هو المستجيب لنمو النبات والتنمية والدفاع (NEILL et al., 2002; VRANOVA et al., 2002). إن أكسيد النتروجين يعتبر أحد مكونات الهواء الملوث ،كالأوزون ,الأكسدة ,الغلاف الجوي و تعتبر هذه الملوثات تقلل من نمو النبات وتساهم في انخفاض الأشجار وغيرها من النباتات في المناطق الحضرية وأماكن الغابات. (SKELLY & INNES, 1994; HUFTON et al., 1996;) في حين أن أكسيد النتروجين و NO₂ نادرا ما يتسبب في إصابات واضحة و تقلل إلى حد كبير من حياة ونمو الشجرة وعلى ذلك فإن زيادة مستويات العناصر الغذائية والتدخل المباشر لأكسيد النتروجين مع تنفيذ الإنزيمات ومراكز رد فعل المحتوية علي المعادن (CLARK et al., 2000).

تعتبر من الأسباب الرئيسية وراء أكسيد النتروجين تظهر ضررا تأثير على نمو النبات والتنمية في ظل وجود ملوثات الهواء كما أن أكسيد النتروجين وSO₂ يسبب ضرر أيضا كما الذي يسببه الأوزون .

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النباتات

ومن الناحية أخرى أن أكسيد النتروجين في الغلاف الجوي يلعب دورا كوسيط في ردود الفعل لمقاومة النبات (DUMER & KLESSIG, 1999 WENDEHENNE et al., 2001). وفي بعض الحالات تم التعرف على العنصر الذي يحفز الإنبات مثل أكسيد النتروجين (GIBA et AL., 1998). الذي يعتمد علي النتريت أو هيدروأكيلمين في بعض النباتات الذي هو مصدر ذاتي له. إن الإجهاد الملحي الذي ينتجه كلوريد الصوديوم هو واحد من الضغوطات الغير الحيوية التي تؤثر علي إنتاجية النباتات بسبب التعديلات التي ينتج عنها في عمل التمثيل الضوئي والتنفس والبروتينات (LESHAM & HARAMATY, 1996; HASEGAWA et al., 2000). وكما وجدت بعض الأبحاث التي تقوم بشأن تأثير الإجهاد الملحي في غرس الزيتون أظهرت أن نسبة الملوحة المنتجة في أوراق أدى إلى اختلال التوازن بين الإنتاج ROS والدفاعات المضادة لأكسدة مع تحريض الأكسدة. وفي أبحاث أخرى أظهرت أن كلوريد الصوديوم يؤثر علي المنتجات المنتجة لأكسيد النتروجين إلا أن في الخلايا النباتية يمكن أن يشارك في آلية الأضرار الناجمة عن الظروف الغير الحيوية السامة (VALDERRAMA et al., 2007). وقد اقترح أن أكسيد النتروجين يحمي النباتات الذرى من نقص التوتر الناجم عن الأكسدة الحديد من قبل التفاعل ROS أو عن طريق أنشطة الإنزيمات وكما يحفز أكسيد النتروجين في إجهاد الجفاف تخفيض فتوحات الثغور وبهذه الطريقة التي أدت إلي انخفاض النتج (GARCIA-MATA & LAMATINA, 2001). ويتفاعل أيضا أكسيد النتروجين مع ضغوطات أخرى مثل الحرارة التي تسبب في الإجهاد الحراري نتيجة زيادة في أكسيد النتروجين في المرستيم (LESHAM, 2001). وهذا تأثير يمكن أن يعكس خصائص المضادة الأكسدة من أكسيد النتروجين عن طريق تثبيط ROS عقب التوتر الحراري (NEILL et al., 2002). فإن النباتات تستجيب لإصابة بمسببات الأمراض عن طريق تجمع الدفاع الجزيئات مما يؤدي إلي موت الخلية أو توفير الحماية ضد هذه المسببات الأمراض وهذه النتائج تقترح أن أكسيد النتروجين يمنع تخليق H_2O_2 وتفعيل مسارات إشارات محددة الناجم عن الإصابة.

2.III. أكسيد النتروجين والإجهاد البيئي اللاحيوي:

تتعرض النباتات لمجموعة كبيرة من ظروف الإجهاد مثل الملوحة ودرجات الحرارة القصوى والجفاف والمعادن الثقيلة. وهذه الظروف تهدد علي إنتاج المحاصيل وإلي تدهور البيئات وهذا ما يعتبر الإجهاد اللاحيوي أن يكون السبب الرئيسي لفقدان المحاصيل في جميع العالم وهو ما يتجاوز 50% (BOYER, 1982) ومن الآثار المباشرة أو غير المباشرة المرتبة علي أكسيد النتروجين في آلية

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النباتات

استجابته و لقد تم الإبلاغ عن الإجهاد البيئي في الأنواع النباتية المختلفة نستعرض أكسيد النتروجين وغيره من RNS الذي يتفاعل وكيفية إستجابته مع الظروف الإجهاد غير الحيوي ومع ظروف البيئة.

III.1.2. التملح:

تؤثر الملوحة علي الإنتاجية النباتية لها آثار سلبية على النمو النبات والتوازن الأيوني والعلاقات المائية وفي كثير من الأنواع النباتات قد تبين أن أكسيد كلوريد الصوديوم يؤثر علي الأكسدة بصفة الأساسية (CORPAS, 1993).

إن اشتراك أكسيد النتروجين في آلية إستجابة للملوحة بدأت دراستها علي الرغم من أن البيانات المتاحة يمكن في بعض الأحيان تكون متناقضة تبعا لأنواع النباتات وشدة الملوحة المعالجة وفي النبات الزيتون تم زرع في المختبر تحت الظروف الإجهاد الملحي (كلوريد الصوديوم بالقيمة 200 ملم) لوحظ زيادة ل-الأرجنين لإنتاج أكسيد النتروجين وعدد من البروتينات التي تخضع إلي التيروزين في الكتلة الجزيئية تتراوح ما بين 44 و60 كيلو دالتون .وعلى ذلك فإن المسح الضوئي بليزر المجهرية (CLSM) الذي يقوم بتحليل استخدام الفلورسنت لأكسيد النتروجين وSNOs أو الأجسام المضادة لGSNO وأيضاً أظهرت زيادة عامة في هذه RNS بشكل رئيسي في الأنسجة الوعائية (MUNNER et TESTER, 2008).

وهكذا يبدو أن هذه النتائج تشير إلي أن في أوراق الزيتون يستحث الإجهاد الملحي في حين أن الأنسجة الوعائية يمكن أن تلعب دوراً هاماً في إعادة توزيع جزيئات لأكسيد النتروجين في مختلفة النباتات وفي شتلات عباد الشمس ثبت آثار أكسيد النتروجين في التكيف الكيمياء الحيوية أثناء النمو البادرات تحت الظروف الملوحة وبالتالي زادت نسبة Na/K أضعاف في الجذور تم نقله بسرعة إلي النبات التي سجلت زيادة مصاحبة في هذه النسبة (VALDERRAMA et al., 2007).

يعتبر أن أكسيد النتروجين يحفز الإنبات البذور أكثر كفاءة من نترات تحت الإجهاد الملحي في النباتات الملحية (DAVID et YADAV., 2010). وفي نباتات القمح تعرض إلي 150 ملم من كلوريد الصوديوم تفاعلت بين أكسيد الكربون (CO) وأكسيد النتروجين تم الإبلاغ عنها ولقد أظهرت ارتفاع كلوريد الصوديوم تراكم ثاني أكسيد الكربون في الجذور وتعزيز نشاط أوكسيجيناز مع ما صاحب ذلك إرتفاع في إنتاج أكسيد النتروجين تحت هذه الظروف من CO بالإضافة إلي أكسيد النتروجين في شتلات القمح قلصت الملوحة التي كانت تتوسط نسبة التنظيم من الدفاع المضاد لأكسدة وصيانة أيون وهكذا يقترح أن أكسيد النتروجين يجب أن يكون إشارة العمل CO وفي نباتات الأرز تم معاملتها مسبقاً مع SNP أو H₂O₂ في الحالة المائية لمدة 2 دقيقة مع الملح (كلوريد الصوديوم

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النباتات

100ملم) إن هذه المعالجة المسبقة التي يسببها نشاط مضادات الأكسدة الأنزيمات (ديسموتاز الفائق, الكاتالاز, أسكورات البيروكسيداز) بعضها مرتبط بالتوتر السكروزفوسفات وعلاه ذلك تم العثور علي سلوك مماثل للإجهاد الحراري (KHAN et YAMAGUCHI., 2005).

وتم الملاحظة أيضا على جذور ما قبل المعالجة مع H_2O_2 أو SNP الذي يسببها الدفاع المضادة للأكسدة الرئيسي ردود فعل في الأوراق النباتات الحمضيات في كل غياب أو وجود 150ملم كلوريد الصوديوم لمدة 16 دقيقة وهذا لتحرض نظام الأكسدة المقاومة للإجهاد الملحي (UCHIDA et al., 2002) وعلى ذلك تم تحليل البروتين في أوراق الحمضيات ما قبل المعالجة وأظهرت النباتات التي خفضت العلاجات البروتين وتعديل مستويات تراكم الأوراق S-nitrosylated والبروتينات وهذه النتائج تشير إلى وجود تداخل بين أكسيد النتروجين و H_2O_2 مسارات في إشارات الملوحة والتأقلم (TANOU et al., 2009). ومن ممكن أيضا أن تشارك في الإشارات عملية أكسيد النتروجين خلال الإستجابة الملوحة وتحركات البروتينات وهذا في تبغ تعرض للإجهاد الملحي وتنشيط التوتر الأسموزي بروتين كيناز تسمى NtOSAK يتم تفعيلها من خلال أكسيد النتروجين وكشفت هذه كيناز أن تفعيل لم يكن أن يسبب عملية S-nitrosylation كما كان من المتوقع وإنما هي عملية الفسفرة من المخلفات الموجودة في تفعيل كيناز تم العثور علي الحلقة بالإضافة إلى ذلك لوحظ أن NtOSAK تفاعلات مع غليسير ألدهيد-3-الفوسفات نازعة (GAPDH) والإنزيم الذي شارك في توفير الطاقة والكربون الجزيئات التي تخضع لعملية S-nitrosylation الذي يؤثر على النشاط GAPDH أو التفاعل مع NtOSAK (BUCHLC et al., 20010)

وفي النبات لأرابيدوبسيس من نباتات البرية الذي يحتوي علي البروتين الفلوري (GFP) بإضافة استهداف بيروكسيسوم لإشارة (PTS1) والتي تمكن بيروكسيسوم أن تورم في الجسم الحي وقد تبين الملوحة تحت الضغط 100ملم من كلوريد الصوديوم مطلوبة لبيروكسيسوم لتراكم أكسيد النتروجين في العصارة الخلوي من خلال الجذر وبالتالي يشارك في توليد بيروكسينتيرت وزياد بروتين تيروزين وفي هذه الحالة يبدو تولد أكسيد النتروجين بيروكسيسوم بوساطة تعتمد على الكالسيوم و NOS لنشاطه (CORPAS et al., 2009).

III.2.2. الإجهاد المائي:

الإجهاد المائي، تسبب في كثير من الأحيان بسبب الجفاف، ولديه تأثير كبير على نمو النبات والتنمية وهكذا، فإن إمكانيات الوصول إلى المياه منخفضة، وهناك آلية نموذجية في إغلاق الثغور للاحتفاظ بالماء مما أدى إلى انخفاض في عملية التمثيل الضوئي والتي يسببها أكسيد النتروجين في

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النباتات

إغلاق ثغورا لنبات و تعزيز التكيف ضد ردود إجهاد الجفاف في الذرى، عند العلاج مع 10% لحت بولي إيثيلين غليكول على الإجهاد المائي، مما أدى إلى زيادة سريعة لأكسيد النتروجين في الخلايا يسببها نشاط NOS بواسطة الإجهاد المائي، ونشاط NOS في الميكروسومي جزء عالي ورافق هذا السلوك بزيادة الإنزيمات المضادة للأكسدة بما في ذلك فوق أكسيد دسموتاز، أسكورات البيروكسيداز، و اختزال الجلوتاثيون (SANG et al., 2008).

وأظهرت دراسات إضافية باستخدام علاج أكسيد النتروجين مع SNP أنه يمكن التخفيف من فقدان الماء والضرر التأكسدي لأوراق الذرى ولوحظ تحت إجهاد العجز المائي والتحليل الدوائي باستخدام نشاط أكسيد النتروجين المصنع يبدو أنها تدل على نشاط هو المسؤول أيضا عن جيل أكسيد النتروجين في النبات في شتلات جذور الخيار، هناك تحسن قليل في تخليق أكسيد النتروجين وفي خلايا الجذر و في استتالة المنطقة المحيطة بها وتم تخفيض إنتاج أكسيد النتروجين من خلال المعالجة مع NOS و مثبطات NR و هناك تطبيقات خارجية لأكسيد النتروجين إما عن طريق SNP أو GSNO و تشير إلى استجابة تكيفية من الجذور للإجهاد المائي، بالإضافة إلى ذلك، لوحظ عند تحريض ليبوكسيجيناز في جذور الخيار تحت ضغط المياه التي تتوسط بيروكسيد الدهون انخفاض في التطبيق الخارجي لأكسيد النتروجين (ARASIMOWICZ-JELONEK et AL., 2009).

3.2.III. الحرارة الشديدة والبرد:

درجات الحرارة القصوى هي العوامل الرئيسية التي تمنع نمو النبات و ارتفاع درجة الحرارة (HT) يعتبر واحدة من العناصر الغير حيوية الرئيسية و يؤثر سلبي على النمو الخضري و النمو التناسلي و بشكل عام فإن درجة الحرارة يمكن أن تولد الإجهاد الحراري، والتي بدورها تنتج أسر معينة من البروتينات المعروفة باسم بروتينات الحرارة (HSPs) (LARKINDALE et VIERLING, 2008) ومع ذلك، يمكن HT أيضا ان يسبب الإفراط في ROS، والتي يمكن أن تشارك في إحداث استجابات دفاعية ضد درجات الحرارة و يحتمل أن تكون ضارة (KOTAK et al., 2007; VOLKOV et al., 2006).

ومن هذا المنطلق ، هناك مجموعة من البيانات التي أظهرت ارتفاعا في إنتاج أكسيد النتروجين تحت HT وعلى سبيل المثال، في براعم البرسيم، الإجهاد الحراري (37 C° لمدة 2 ساعة) أدى إلى مضاعفة معدل إنبعاثات أكسيد النتروجين (LESHEM et al., 1998).

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

وفي التبغ، تولد درجة الحرارة الارتفاع السريع والكبير في أكسيد النتروجين في خلايا البشرة بعد 7 دقائق من المعالجة الحرارية في 40 °C وفي خلايا العليق بعد 5 دقائق من المعالجة الحرارية في 45 °C وتقييما من قبل المسبار الفلوري [DAF-2 DA] (GOULD et al., 2003).

على العكس، نباتات البازلاء تعرضت في 38 °C لمدة 4 ساعات انخفاض محتوى أكسيد النتروجين في الأوراق ولكن لم تؤثر تأثيرا كبيرا على نشاط NOS ومع ذلك، فإنه قد وجد أن محتوى SNO زاد 3 أضعاف، وأن بعض نترتة البروتينات كثفت (CORPAS et al., 2008).

في شتلات عباد الشمس تحت الظروف التجريبية نفسها (38 °C لمدة 4 ساعات) قد تم الخضوع للاكسدة، الذي كان يرافقه انخفاض في إنتاج أكسيد النتروجين وتثبيط نشاط GSNOR، وتراكم Snitrothiols، وتشكيل البيروكسينترت، وارتفاع نترتة البروتين (CHAKI et al., 2011).

في نبات الأرابيدوبسيس، قد تم تحديد طفرات انخفاض في جينات GSNOR1 والتي تبين اشتراك هذا الجين في آلية استجابة ضد HT. وبالتالي، فإن HOT5 متحول (حساسية لدرجات الحرارة) وأظهرت أن GSNOR ينظم مستوى الخلايا من SNOs، وتحمل الحرارة كذلك تنظم نمو وتنمية النبات (LEE et al., 2008).

في التطبيق الخارجي من SNP أو ABA مرتفع الحرارة أدى إلى تخفيف تسرب أيون، بيروكسيد الدهون، وقمع النمو الناجم عن الإجهاد الحراري (45 °C لمدة 2 ساعة). ومع ذلك، فإن المعالجة مع L-NNA أو cPTIO تفاقم الأضرار الناجمة عن الإجهاد الحراري ومنعت التأثير الوقائي الخارجي للـ ABA من جهة أخرى وABA ينشيط خصوصا نشاط NOS وزيادة إنتاج أكسيد النتروجين والحفاظ على تحمل الحرارة (SONG et al., 2008).

وتشير البيانات إلى أن الإجهاد الحراري يؤثر على عملية التمثيل الغذائي و أكسيد النتروجين وأي زيادة أو نقصان لهذا الجزيء تعتمد على درجة العلاج والأنسجة النباتية أو الأنواع وفي درجات الحرارة المنخفضة (LT)، والإجهاد البيئي الذي يؤثر على نمو النبات وبالتالي إنتاج المحصول ونوعيته، فقد أظهرت لتنظيم التعبير عن العديد من الجينات، وكذلك مستوى الأيض و بروتينات معينة (SHARMA et al., 2005).

في أوراق نباتات الفلفل، درجة الحرارة (8 °C لمدة 24 ساعة) تسبب الإجهاد البارد تتميز من اختلال التوازن العام للـ ROS و RNS التمثيل الغذائي، وأثار ارتفاع في أكسدة الدهون ونترتة بروتين التيروزين. هذه المرحلة تؤدي إلى تحريض الأكسدة و الإجهاد (AIRAKI et al., 2011) وقد

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

لوحظ سلوك مماثل في نبات الأرابيدوبسيس الذي يتعرض إلى 4 C° لـ 1/4 ساعة أو أثناء التأقلم البارد (ZHAO et al., 2009).

ونتيجة لذلك، كل هذه النتائج تشير إلى وجود علاقة بين أيض أكسيد النتروجين والتوتر الناجم عن درجات الحرارة القصوى.

III.4.2. الأشعة فوق البنفسجية :

الأشعة فوق البنفسجية B (280-320 نانومتر) زادت نتيجة لتدمير طبقة الأوزون وهذا الإشعاع يصيب عادة نمو النبات ويؤدي إلى الإجهاد التأكسدي (تخفيض التمثيل الضوئي، وزيادة الأضرار التي تلحق بال DNA)، في الأشعة فوق البنفسجية A، يمنع أكسيد النيتروجين المصنع و أكسيد النيتروجين تحريض الأشعة فوق البنفسجية B بواسطة جينات كالكون سانتاز الذي يشارك في إنتاج الجالونات، والجزيئات التي تشارك في آليات الدفاع وتصنيع الأصباغ الواقية مثل الفلافونويد (MACKERNES et al., 2001).

في شتلات الذرى، الأشعة فوق البنفسجية B تحفز بقوة نشاط NOS في حين تخفض كل من الكتلة الحيوية والنشاط الداخلي والخارجي للجليكناز (AN et al., 2005) ومع ذلك، فإن الأشعة فوق البنفسجية B تسبب في ارتفاع ROS وتوزيعها في البلاستيدات الخضراء وميزوفيل الخلايا مما تسبب في تلف الخلايا، في علبه من الذرى تم استثارة الأشعة فوق البنفسجية فلوحت ارتفاع في تركيز كل من H₂O₂ و ABA و أكسيد النيتروجين في الأوراق، وABA يظهر بأنه هناك حاجة بواسطة أكسيد النيتروجين للتخفيف من التأثير الضار للإجهاد ومعالجة مسبقة مع DPI (مثبطات NADPH أوكسيديز) ومن ناحية أخرى التراكم الذاتي لأكسيد النيتروجين في الذرى يستجيب للأشعة فوق البنفسجية B و ABA يعتمد على توزيعها بزيادة عالية من هذه الأشعة (TOSSI et al., 2009).

في شتلات الفول المعرضة للأشعة فوق البنفسجية B، خارجي أكسيد النيتروجين جزئياً خفف من تأثير انخفاض في محتوى الكلوروفيل والضرر التأكسدي في غشاء التيلاكويد (SHI et al., 2005). ومع ذلك فإن الأشعة فوق البنفسجية B تتسبب في إغلاق الثغور، وكان بواسطة H₂O₂ و أكسيد النيتروجين، وتم إنشاء أكسيد النيتروجين من قبل نشاط NOS (HE et al., 2005) ومع ذلك، ذكر مؤلفين آخرين حول إنتاج أكسيد النيتروجين المتولدة في الخلايا الحارسة من حيث نوع نشاط NR (BRIGHT et al., 2006).

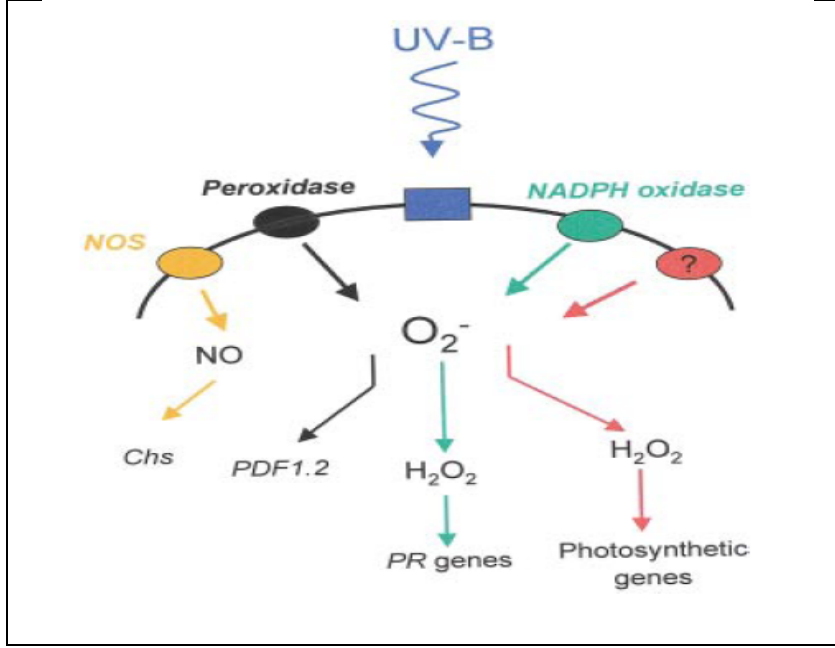
الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النيتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

في الأوراق المستأصلة من اللوبيا تحت إجهاد الأشعة فوق البنفسجية B، الكشف عنها إنتاج أكسيد النيتروجين و H_2O_2 في هذه الحالة ممنوع العلاج ب L-NNA لتحرير أكسيد النيتروجين في نفس الوقت مع الكاتلاز ليس فقط للقضاء على إنتاج H_2O_2 وتنشيط نشاط NOS وتحرير أكسيد النيتروجين لذلك، يقترح المؤلفان أنه في ظل إجهاد الأشعة فوق البنفسجية B ، أكسيد النيتروجين يتوسط الإنتاج من خلال H_2O_2 ومن خلال النشاط الكبيرل NOS (ZHANG, 2008)

في شتلات فول الصويا تتعرض لانخفاض جرعات الأشعة فوق البنفسجية B، وثبت أن ROS يتوسط الهيم اوكسجيناز (HO) و يمارس اتخاذ إجراءات وقائية ضد الضرر التأكسدي (SANTA-CRUZ et al., 2010).

في نبات البازلاء هناك شتلات تعرضت للأشعة فوق البنفسجية B والإفراج عن أكسيد النيتروجين من خلال تحريض نشاط NOS ونتيجة لذلك فإن تثبيط استطالة النبات لأن إكزيولوجيا التي تشارك في هذه العملية كان مثبطا , هذا التثبيط انعكس بواسطة تطبيق L-NNA و PTIO و هنالك استنتاج هو أن تطبيق أكسيد النيتروجين خارجي لمنطقة الجذور لشتلات البازلاء تحاكي ردود تنبع من الأشعة فوق البنفسجية B (QU et al., 2006) وهناك تأثير كابح بشكل مماثل من الأشعة فوق البنفسجية B لوحظ في النمو كان في الأعضاء التناسلية وتحديدًا في حبوب اللقاح نمو أنبوب وإنبات بولونيا تومينتوسا، بعد العلاج، وجد إنتاج أكسيد النيتروجين نتيجة لتكون نشاط NOS هذا السلوك لوحظ بعد تطبيق خارجي لأكسيد النيتروجين بواسطة GSNO و SNP و مع ذلك، فقد انعكس التثبيط عن طريق تطبيق L-NAME و cPTIO (HE et al., 2007).

وهذه البيانات ترتبط بشكل جيد مع مراقبة أكسيد النيتروجين للمشاركة في تنظيم النمو وإعادة توجيه حبوب اللقاح للأنابيب، حيث يظهر البيروكسيوم مشارك في العضيا ويتوسط توليد أكسيد النيتروجين من قبل المركب cGMP كما ذكر عنها في أوراق البازلاء وجذور نبات الأرابيدوبسيس (CORPAS et al., 2009).



الوثيقة 09: تأثير الأشعة فوق بنفسجية B (HE et al., 2007)

III.5.2. الأوزون:

الأوزون يعتبر من ملوثات الهواء الذي يدخل إلى ورقة من خلال فتح الثغور، و انخفاضه يقلل من عملية التمثيل الضوئي والنمو، وفقدان الأوراق في أصناف الأنواع النباتية الحساسة، و زيادته يثير موت الخلايا مع إصابات واضحة في الأوراق.

في النباتات نبات الأرابيدوبسيس، الأوزون يحفز نشاط NOS ، بسبب تراكم الحامض الساليسيليك وتليها موت الخلايا و يحفز كذلك إنتاج الإيثيلين (RAO et al., 2001) وقد أظهرت الدراسات أن تراكم أكسيد النتروجين في نبات الأرابيدوبسيس بعد تعرضه للأوزون يمكن أن تحفز الخلايا الميتة مع ما يصاحب ذلك من حث الجينات المسؤولة عن الحامض الساليسيليك الحيوي و الجينات المتعلقة بالدفاع (AHLFORS et al., 2003). و كذلك يسبب في انفجار ROS و يرافقه زيادة في إنتاج أكسيد النتروجين وانخفاض في محتوى مضادات الأكسدة القابلة للذوبان أسكوربات والجلوتاثيون ، في هذه الحالة تم الكشف عن تنظيم الجينات المسؤولة عن استخدام الكربون، ومسارات الطاقة ، وقد لوحظ وجود تداخل بين الجينات الناجمة عن الايثيلين والأوزون، وتداخل كبير بين الجينات المكبوتة التي كبتها الأوزون والميثيل (MAHALINGAM et al., 2006).

تعرض نباتات التبغ للأوزون ينجم عنها تراكم H_2O_2 في الميتوكوندريا وتراكم أكسيد النتروجين في أنسجة الأوراق وقد رافق ذلك انخفاض في السيتوكروم ، و تنظيم بديل أوكسيديز (AOX) التعبير الجيني وتراكم الايثيلين. و أكسيد النتروجين يشير الى تنظيم التعبير الجزيء AOX

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

و ذلك بوجود الإثيلين وعندما عولج النباتات بالأوزون مع cPTIO و NNA-L، تم الكشف عن انبعاث الاثيلين و 1-aminocyclopropane-1-الكربوكسيل سينسيز (ACS2)

(RAO et al., 2001).

و عند تعرض الأيزوبرين للأوزون و هي واحدة من المركبات العضوية الأكثر وفرة والمنبعثة من النباتات في الاوراق تم العثور على الأيزوبرين الذاتية لتقليل من تركيز أكسيد النتروجين (VELIKOVA et al., 2005) و يقلل من تلف الخلايا ،مما يشير إلى تأثيره في الوقائي في الاستجابة للإجهاد الأوزون مما يشير أن الأوزون يؤدي لاستجابة Ros و أكسيد النتروجين و العديد من الهرمونات التفاعل (LORETO et al., 2008).

2.III.6. المسببات الميكانيكية لأكسيد النتروجين في الإجهاد:

و تظهر هذه المسببات نتيجة الضغوطات البيئية المتنوعة مثل طاقة الرياح والرمال والمطر، أو هجوم آكل النبات، وغيرها، والنباتات تستجيب عن طريق تحريض العديد من المورثات لأن الإصابة مفتوحة يمكن أن يكون موقع الإصابة محتملة لمسببات الأمراض ولذلك، فإن التعبير عن مورثات الدفاع في موقع الإصابة يشكل عائقا ضد الميكروبات الانتهازية

(REYMOND et al., 2000 ; SCHILMILLER AND HOWE, 2005). كما في نباتات الطماطم فإن تطبيق أكسيد النتروجين في الجهات المانحة مثل نيتروبروسيد الصوديوم أو S-النتروز-N-أسيتيل البنسيلامين (SNAP) تحول إلى إصابة-قابل للتحريض مثبطات بروتين. في Thaliana. A ، فأدى الى تحفيز إصابة الميكانيكية وتراكم أكسيد النتروجين التي يمكن أن تشارك في الدفاع عن الردود والتعديلات حمض jasmonic (HUANG et al., 2004). في أوراق البازلاء، وحفرت أيضا الى تراكم أكسيد النتروجين بعد 4 ساعات والذي رافقه الاستقراء العام للNOS والأنشطة GSNOR، فضلا عن زيادة في محتوى RSNOs (CORPAS et al., 2008) ومع ذلك، لم يتأثر هذا النمط من البروتينات التي خضعت إلى التيروزين نترتة في استجابة التئام الإصابة من أوراق البطاطا، وقد تبين أن تطبيق على الصوديوم المانحة لأكسيد النتروجين و نيتروبروسيد حفرت ترسب جلوكان الجدار الخلوي بواسطة التعبير المتزايد من المورثات مثل الفينيل ألانين الأمونيا لياز (PAL) وextensin (LAMATTINA et al., 2007).

III. 3. وظائف أكسيد النيتريك في الإجهاد اللاحيوي:

تبين البيانات أن استجابة النبات بالضغطات بسبب الجفاف وارتفاع أو انخفاض درجة الحرارة والملوحة والمعادن الثقيلة والأكسدة تنظم من قبل أكسيد النتروجين (GARCIA-MATA et al., 2001)

يعتبر الإجهاد له أهمية خاصة في وجهة نظر إنتاجية الجفاف وتبين أن العلاج الخارجي للنباتات مع أكسيد النتروجين يحسن الجفاف بواسطة قطع أوراق الشجر وشتلات من القمح. وعلى ذلك فإن تركيب الABA في جذور القمح رداً على العجز المائي كان أعلى بكثير في وجود أكسيد النتروجين في الجهات المانحة وROS، مما يوحي بالعمل التعاوني من ROS وأكسيد النتروجين (ZHAO et al., 2001) تراكم الABA و أكسيد النتروجين تحت الضغط وحظرهم بعد إدارة ROS القمامة ومثبط NOS ثبت أن هناك أضرار في الثغور من نبات الفول البلدي عند معاملته بالABA الذي يتسبب في إغلاق الثغور (GARCIA-MATA and LAMATTINA, 2002). تعاون وثيق ووظيفي بإشارة جزيئات الABA بين أكسيد النتروجين و H_2O_2 وأكدت التقارير الأخيرة في الدراسات أن ظهور الإجهاد الناجم عن تراكم الABA جنبا إلى جنب مع أكسيد إغلاق الثغور في نبات الأرابيدوسيسيس يعتمد على توليف H_2O_2 (BRIGHT et al., 2006).

أكسيد النتروجين يشارك أيضا في استجابة النبات لارتفاع وانخفاض الإجهاد الحراري على سبيل المثال ارتفاع درجة الحرارة التي نتجت من خلايا البرسيم بزيادة قدرة أكسيد النتروجين التجميعة، في حين تطبيق خارجية المنشأ لأكسيد النتروجين زادة تحمل البرودة في الطماطم والقمح والذري (NEILL et al., 2003). لوحظ أن التأثير مع العمل بمضادات الأكسدة لأكسيد النتروجين انه يرفع الآثار السلبية الناجمة عن تكثيف الأيض في الإجهاد الحراري.

Mackerness وآخرون أظهروا مشاركة أكسيد النتروجين في استجابة النبات للأشعة UV-B، مما يدل على بعد الإجهاد تحريض CHS التعبيري، وزيادة في NOS من نوع النشاط الإنزيمي وارتفاع مستوى أكسيد النتروجين. نتائج دراسة قام بها شي وآخرون (SHI et al., 2005). تشير إلى أن أكسيد النتروجين يحمي بشكل فعال النباتات ضد الأشعة فوق البنفسجية UV-B، وعلى الأرجح من خلال زيادة نشاط الإنزيمات ومضادات الأكسدة لا بد من إشارة أكسيد النتروجين المانحة أن تنتج علاج درنات البطاطا، أشعة UV-B في تطوير ما يقرب من 50 % من الأوراق الأكثر صحة للعلاج بأكسيد النتروجين (NEILL et al., 2003).

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النباتات

فيما يتعلق بالضغوط الغير الحيوية تم توثيق ذلك بأن أكسيد النتروجين الخارجي يقلل من العامل المدمر للمعادن الثقيلة الاثيلين ومبيدات الأعشاب على النباتات لوحظ تأثير وقائي نتيجة علاج أكسيد النتروجين المانحة من النباتات وأوضح الكتاب أن المواد التي تؤثر على أكسيد النتروجين تزويد من ارتفاع نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة وخاصة عند الهيئة العامة للسود (KOPYRA and GWO'Z'DZ', 2003). ووفقا للمؤلفين أشاروا بالطبع إلى هذه الأحداث بأنها قد تقلل بشكل فعال من مستوى ROS الناتجة أثناء الإجهاد، وبالتالي تزيد من الأضرار المؤكسدة في خلايا النباتات.

عند معالجة أكسيد النتروجين المانح في شتلات الأرز تسبب تأثير فقدان التقليل وبالمثل كما هو الحال في الملوحة (UHIDA et al., 2002) لوحظ أن أكسيد النتروجين في النمو أقوى من النباتات جنبا إلى جنب مع المحافظة على المناسب PS II النشط بزيادة قدرها لمضادات الأكسدة الأنزيمية والنشاط التعبيري عن الملوحة المحددة للجينات المقاومة في الإجهاد، ومن ناحية أخرى قد تؤدي ظروف الإجهاد لفترات طويلة في الإفراط بأكسيد النتروجين والمنتجات المشتقة له، مما أدى في الآونة الأخيرة إلى اكتشاف مجموعة من الاستجابات المحددة والمعروفة باسم الإجهاد nitrosative فالديراما وآخرون (VALDERRAMA et al., 2007). أشارو إلى أن أوراق الزيتون المالح الذي يسببه إنتاج RNS و NO و GSNO و RSNO له نتيجة في ارتفاع في التيروسين والنيترات و البروتينات والتي هي علامات جيدة من الإجهاد nitrosative بالإضافة إلى ذلك أظهرت أن الأنسجة الوعائية يمكن أن تقوم بوظيفة هامة في إعادة توزيع النماذج المشتقة بإشارة العمليات من أكسيد النتروجين أثناء إجهاد nitrosative.

تتعرض أنسجة خلايا النباتات الملتفة بالعوامل المسببة للإصابة بالأمراض ، وكثيرا ما يؤدي أكسيد النتروجين إلى تراكم H_2O_2 (DELLEDONNE et al., 1998) . وفقا لأوروزكو- كارديناس وريان، وإصابته بالمرض لا يسبب تخليق أكسيد النتروجين ومع ذلك فإن تطبيق أكسيد النتروجين الخارجي يمنع عملية أكسيد النتروجين للتعبير الجيني. تحرض أشكال الإشارة إلى أن العديد من الضغوط الإحيائية الباردة والوطأة الحرارية والملح وإجهاد الجفاف يؤدي إلى تعزيز الأمينات الحيوية (PAS) (BOUCHEREAU et al., 1999). مؤخرا تون وآخرون لاحظوا أن المناطق المحمية لحت أكسيد النتروجين للجينات في شتلات A. thaliana أن أكسيد النتروجين قد يكون حلقة الوصل بين PA بواسطة استجابات التوتر والإجهاد التي تستخدم في أكسيد النتروجين كمادة وسيطة.

III.4. وظائف أكسيد النيتريك في الإجهاد الحيوي:

أظهرت التجارب خلال السنوات العشر الماضية أن أكسيد النتروجين يشارك في تفاعلات إشارات الدفاع للنباتات الممرضة.

التحدي من العامل الممرض في كثير من الأحيان يؤدي إلى تحريض استجابة شديدة الحساسية (HR) وهناك بعض الأدلة تدل على أن أكسيد النتروجين بأنه يلعب دوراً رئيسياً في إشارات الموارد البشرية إلى جانب تراكم ROS و (DELLEDONNE et al., 1998; DURNER and SA (KLESSIG 1999) التي تؤدي إلى موت الخلايا الحساسة عن طريق أكسيد النتروجين كما هو المثال النموذجي لموت الخلايا المبرمج (PCD), و قد تبين أن العلاج بأكسيد النتروجين المانح يبادر الأنسجة النباتية و التكثيف بتجزئة DNA (PEDROSO et al., 2000).

يمكن تحويل أكسيد النتروجين من قبل كاسباس دون موت الخلايا (CLARKE et al., 2000) على الرغم من أن الدراسات تؤكد نشاط كاسباس في النباتات (PRADO et al., 2004; ROJO et al., 2004) والنباتات المعدلة وراثياً في التعبير عن كاسباس P35 المانع للبروتين و IAP تؤدي إلى تثبيط HR لذلك فإن كاسباس في الخلايا الحيوانية لا يمكن أن توجد في النباتات بسبب اختلاف وظيفة metacaspases الموجودة في الأنسجة النباتية.

في الآونة الأخيرة أظهر Belengh وآخرون (BELENGHI et al., 2007) أن A. S-nitrosylation thaliana metacaspase 9 (AtMC9) يمكن أن تظل خاملة عند معاملتها ب S- و بقايا السيستين AtMC9 وفي المقابل يؤدي أكسيد النتروجين إلى موت الخلايا الغير حساسة ل-S-nitrosylation.

في خلايا نبات الأرابيدوبسيس يسبب أكسيد النتروجين الخارجي موت الخلايا بتركيزات مماثلة لتلك التي تم إنشاؤها بواسطة الخلايا التي قتلت بسبب البكتيريا عديمة الفوعة, و في خلايا نبات فول الصويا والتبغ زيادة متزامنة في NO و H_2O_2 تؤدي إلى موت الخلايا والتي تتسبب بزيادة وفاتها (DELLEDONNE et al., 1998; PINTO et al., 2002). أظهرت الملاحظات الخلوية أن إدارة أكسيد النتروجين المانحة أو تغيير في H_2O_2 ليس له تأثير على مستوى إظهار HR لخلايا نبات الشوفان المصابة على الرغم من موت جزيئات الخلايا (TADA et al., 2004).

الآلية التي تأكسد النتروجين و تفاعل H_2O_2 تتسبب في قتل الخلايا إلى حد كبير ومع ذلك التفاعل الكيميائي بين NO و H_2O_2 ينتج إما أحادي الأكسجين أو جذور الهيدروكسيل (NORONHA-DUTRA et al., 1993). يسبب موت الخلايا رداً لفعل أكسيد لنتروجين مع

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

الأكسجين الذي ينتج جزيئات شديدة السمية للخلايا والتعامل ب ONOO يؤدي نسبيا موت الخلايا المبرمج للنباتات الغير سامة (DELLEDONNE et al., 2001). ومع ذلك فقد وجد أن في أوراق التبغ يدفع PR-1 لتراكم ONOO (DURNER and KLESSIG, 1999) والبروتين المعالج بحمض النيتريك إحداها الخلايا الخارجية المؤكسدة.

وفقا لألميلو وغارسيا-أولميدو (ALAMILLO and GARCIA-OLMEDO, 2001) أكدوا أن التطبيق المباشر ب ONOO يؤدي إلى موت الخلايا النباتية التي لاحظها عند نبات ليوريا وأضاف إلى ذلك استخدام قدرات اليوريا إلى اعتراضها ب ONOO وقد تبين أن peroxynitrite كان مسؤولا عن وفاة معظم خلايا نبات الأرابيدوبسيس ردا على الفوعة syringae P. التي لم تؤدي إلى فعالية الدفاع ضد البكتيريا عديم الفوعة.

أكسيد لنتروجين بعد أن يحول إلى أيون peroxynitrite يمكن أن يتعاون في قتل الكائنات الدقيقة (DURNER and KLESSIG, 1999; ROMERO-PUERTAS et al., 2004) ولم يستوضح بعد أن أكسيد النتروجين ومشتقاته بأنها مواد سامة وممرضة للنباتات (GARCIA-OLMEDO et al., 2001).

تم فحص نمو البكتيريا في المختبر ونتج بأنه يؤدي إلى أضرار عديمة الفوعة من جنس الزائفة من قبل كل من أكسيد النتروجين ونظام التوليد (peroxynitrite SNV + hypoxanthine/xanthine oxydase) (NORONHA-DUTRA et al., 1993; GARCIA-MATA et al., 2002). روميرو-بويرتاس وآخرون (ROMERO-PUERTAS ET AL., 2004) اقترحوا أن ONOO قد يتم تشكيلها بشكل مستمر في الخلايا السليمة للنباتات وقد وضعت بعض الآليات لإزالة السموم في خلايا النباتات التي تلعب دورا هاما في تثبيط ONOO (ARTEEL et al., 1999). يعتبر حمض الاسكوربيك (ASA) هو أحد مضادات الأكسدة المسيطرة من الناحية الكمية في خلايا النباتات (SMIRNOFF, 2000) فمن الممكن أن يشارك أيضا في تحليل ASA و ONOO في الخلايا النباتية.

يعتبر إنتاج أكسيد النتروجين المعروف باسم أكسيد النتروجين الاندفاعي بأنه يعتمد بشكل وثيق على للتركيب الجيني للنبات من نوع (R genes) والمرضى ل (AVR) وتأكيدا لهذا الواقع السريع يتم إنتاج أكسيد النيتريك دقيقة بعد التلقيح (CORPAS et al., 2006; DESIKAN et al., 2002) ويتم تسجيل الأنظمة الغير متوافقة tobacco and P. s. pv. -P. s. pv. Phaseolicola

Arabidopsis -Tomato في وقت مبكر من أكسيد النتروجين الاندفاعي والمباشر في H_2O_2 الذي استغرق من الوقت حوالي 6 ساعات قبل ظهور HR- وأعراض موت الخلايا وتأكيد نتيجة

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

عدم وجود أكسيد النتروجين، وقد لوحظ انبعاثات في محطات متحولة للتلقيح مع بكتيريا الفوعة (HRP) القادرة على تزويد AVR البروتيني في النبات (MUR et al., 2005). طريقة Cytochemical مع تطبيق أصباغ الفلورسنت جعلت حركة إنتاج أكسيد النتروجين المسببة للأمراض في فطريات *Phytophthora cryptogea* للبشرة من أوراق التبغ الذي ينتج تراكم أكسيد النتروجين الداخلي للبروتين وتم الحصول عليها بعد عدة دقائق من علاج الأنسجة .

براتس وآخرون (PRATS et al., 2005). استعملوا استخدام أصبغة DAF- 2DA ولاحظوا دورا هاما في أكسيد النتروجين بالزيادة المؤقتة على مستوى الخلية المبرمجة أدى موت خلايا البشرة لنبات الشعير، Zreie وآخرون (ZEIER et al., 2004) حصلوا على التعديل الوراثي من نبات الأرابيدوبسيس من خلال التعبير عن أكسيد النيتريك وثبت انه إنزيم تحفيزي مزدوج الأكسدة (NOD) dioxigenase، والتعامل مع النباتات المعدلة وراثيا في سلالة الفوعة أظهرت نباتات الطماطم بالملاحظة الكهروضوئية أن أكسيد النتروجين يحفز الموارد البشرية ويخفض معدل إنتاج موت الخلايا. والنتائج التي ذكرت من قبل مودولو وآخرون (MODOLO et al., 2006) تشير إلى أن الموارد البشرية ل HR Ps, Pv, tomato avrB بأنها مزدوجة الطفرات لنبات الأرابيدوبسيس لأن هذه النباتات تفتقر NR التابعة ل-أرجينين و NO₂ والركائز الذاتية التي تعمل على تخليق أكسيد النتروجين.

كان يعتقد في وقت قريب أن HR موجودة فقط في حالة التفاعلات الغير متوافقة مع الجينات المقاومة للمرض و AVR المنتجة للجينات (LEVINE et al., 1994) ومع ذلك ثبت في الوقت الحاضر أن الموارد البشرية للخلية المضيفة قد تحدث أيضا في النباتات المقاومة جزئيا لمرض ما و عدم استضافة نوع المقاومة . معظم الأدلة التي تظهر أن وظائف الدفاع الجيني تم الحصول عليها عن طريق استجابات الحيوية النباتية لمختلف التحاليل الغذائية (DELLEDONNE, 2005) فإنه لا يزال أن يكون مصر على ما هو الدور الذي يلعبه أكسيد النتروجين في الحديث المتبادل بين النبات والمرض تم نشره بارلن في عام 2004 (BAARLEN et al., 2004) يثبت أن الجينات الذاتية لكل من NO و H₂O₂ سجلت تطور الأمراض من زنبق المنعقدة الإهليلجية وحدثت تراكمات نباتية مع مقاومة النبات (ABLE, 2003). ويعتبر علاج درنات البطاطا مع أكسيد النتروجين الخارجي الذي حفز تراكم rishitin بالإضافة إلى ذلك لوحظ أثر تثبيط المركب بعد تطبيقه تخليق أكسيد النتروجين الحيوي بشكل مستقل لوحظ phytoalexins المحدد لأكسيد النتروجين انه يقوم بعلاج نباتات فول الصويا.

الفصل الثالث دور أحادي أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الاجهاد عند النباتات

أكسيد النتروجين يشارك أيضا في النظام المكتسب لمقاومة (SAR) و يدفع أكسيد النتروجين الخارجي التبغ للتراكم إذ يلعب دورا أساسيا حمض الساليسيليك SAR (DURNER *et al.*, 1998) إذ تم الحصول على تنشيط PR-1 البر وتيني عن طريق أكسيد النتروجين وقد تبين أن مشاركة SA مع المعدلة الوراثية للنباتات أنها غير قادرة على تراكم SA (NahG) وعلى ذلك فإن بقاء المرض الذي يسببه TMV على أوراق النبات السابقة التجهيز مع أكسيد النتروجين كانت إلى حد كبير أكثر انخفاضا بالمقارنة مع المعدلة الوراثية، تطبيق مثبطات المحددة NOS_L أو NO القمامة تتسبب في انخفاض SAR (SONG and GOODMAN, 2001) وبالتالي فإن هذه النتائج تشير إلى دور أكسيد النتروجين في تحريض شبكة الإشارات البعيدة مما أدى إلى تحسين SAR في التبغ.

في النباتات يمكن نقل أكسيد النتروجين على شكل nitrosogluthathione ومن المفترض أن GSNO قد يعمل كناقل لأكسيد النتروجين الداخلي بين الخلايا لفترة طويلة ويتم نقله على مستوى جميع أنحاء النباتات عن طريق حزم اللحاء. وعلى ذلك فقد تبين أن GSNO يدفع النظامية المقاومة ضد TMV في التبغ (SONG AND GOODMAN, 2001) ويعتبر هذا المركب محفز فعال للبروتين PR. ساكاموتو وآخرون ميزو إنزيم catabolizingGSNO–glutathione بأنه نازع الفورمالديهايد (GS-FDH) والجينات ترمز لهذا الإنزيم ونبات الأرابيدوبسيس GS-FDH الذي يسلك اختزال GSNO والنشاط القوي ل (GSNOR) الذي أظهر إنزيم من الكائنات الحية المختلفة (SAKAMOTO *et al.*, 2002; LIU *et al.*, 2001) و GS-FDH/GSNOR يلعب دورا هاما في إيقاف إشارات NO أو GSNO وتحوير مستوى التحولات داخل الخلايا التي يمكن أن تولد التوتر في نبات الأرابيدوبسيس (DIAZ *et al.*, 2003). فيشان وآخرون (FEECHAN *et al.*, 2005) اظهروا أنه في غياب AtGSNOR1 يحدث اختزال S-nitrosogluthathione، ويتسبب بزيادة ارتباطا S-nitrosothiols الخلوي مع انخفاض المقاومة ضد العدوى الميكروبية.

خاتمة

من خلال الدراسة تبين أن أكسيد النتروجين يعمل كرسل ثاني في النباتات وهو من السلوكيات الأكثر إثارة للاهتمام في علم الأحياء و يعتبر كوظيفة مزدوجة بوصفها أكسدة قوية ومضادات الأكسدة الفعالة و يعتبر أنه يتعايش مع توتر عامل الإجهاد الحيوي في النباتات، و قادر على استدعاء استجابة شديدة الحساسية.

الخاتمة

لقد تم في هذا البحث دراسة دور أكسيد النتروجين في فسيولوجيا الإجهاد عند النبات .

تعرفنا في هذا العمل على أن أكسيد النتروجين الذي يعتبر جزيء مهم في الكثير من الانسجة لتنظيم مجموعة متنوعة من العمليات الفسيولوجية و أنه يشارك في العديد من الوظائف البيولوجية في النباتات و لقد أصبح من الواضح أن اكسيد النتروجين هو اشارة في كل مكان في النباتات منذ اكتشافه و يعتبر هذا المركب الغازي كناقل عصبي رئيسي مشارك في الوظائف الفسيولوجية المتعددة و هناك أيضا دلالة على دور هاذو الجزيء كمفتاح اشارات في النباتات و تركزت التحقيقات حول أكسيد النتروجين في النباتات على ثلاث مجالات رئيسية هي : البحث عن أكسيد النتروجين و مصدره و اثاره و العلاجات الخارجية و مسارات نقله للمعلومة .

كما تعرفنا في هذا العمل على ظاهرة الاجهاد وأنواعه المختلفة و الأسباب التي توقع النبات تحت ما يسمى بالجهد أو الضغط البيئي .

كما تطرقنا الى الدور الذي يلعبه أكسيد النتروجين كرسولا ثاني في النباتات وهو من السلوكيات الأكثر إثارة للاهتمام في علم الأحياء و يعتبر كوظيفة مزدوجة بوصفها أكسدة قوية ومضادات الأكسدة الفعالة و يعتبر أنه يتكيف مع توتر عامل الإجهاد الحيوي في النباتات، و قادر على استدعاء استجابة شديدة الحساسية .

بما ان منطقتنا تعتبر ذات مناخ جاف و حار و على ذلك فان اكسيد النتروجين له رد فعل في النباتات على مختلف الظروف و لايزال جزيء غامض في صعوبة تحديد اهدافه في النباتات إلا بالتقنيات الجديدة المناسبة و القدرة على كشف أكسيد النتروجين و أهدافه في النباتات فلذلك يجب أن يتحول هذا العمل من نظري الى تطبيقي للحصول على نتائج مقبولة على دوره في النبات.

- 1) Abbassenne F ., 1998 - Etude génétique de la duréc des phases de développement et leur influence sur le rendement et ses composantes chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). These magister, INA Alger, 81 pages.
- 2) Able A.J., 2003- Role of reactive oxygen species in the response of barley to necrotrophic pathogens, *Protoplasma* .Vol. 221: 137–143.
- 3) Acevedo , E., Craufurd , P.Q. , Austin, R.D., Perez Marco, P. 1991- Traits associated with high drain yield in barley in low yielding environments, *J.Agric. Sci. Camb.* vol. 116:23-36.
- 4) Ackerson, R.C. 1981- Osmoregulation in cotton in response to water stress.II *Plant Physiol*, vol. 67:489-493.
- 5) Ahlfors R, Brosche´ M, Kollist H, Kangasja¨ rvi J: Nitric oxide modulates ozone-induced cell death, hormone biosynthesis and gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2009, vol. 58:1-12.
- 6) Airaki M, Leterrier R, Mateos R, Valderrama M, Chaki J, Barroso M.,2009- Arasimowicz-Jelonek, J. Floryszak-Wieczorek, J. Kubis, Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots, *Plant Science* vol.177: 682–690.
- 7) Alamillo J. Garcia M., Olmedo F., 2001- Effects of urate, a natural inhibitor of peroxynitrite-mediated toxicity, in the response of *Arabidopsis thaliana* to the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*, *Plantvol.* 125: 529– 540.
- 8) Alimadi, N. 1993- Variabiité génétique et hérédité des mécanismes de tolerance a la sécheresse chez le riz (*Oryza sativa* L.). I.Développerment du système racinaire. *L’Agron.Trap.*vol. 38 : 110-117 .
- 9) Allaway, W.G.,Mansfield, T.A., 1970- Experiments and observations on after-effect of wilting in stomata of *Rumex sanguineus*. *Can.J. Bot*, vol. 48:513-523.
- 10) An, L., Liu, Y., Zhang, M., Chen, T., and Wang, X. 2005- J. *Plant Physiol*,Analysis of oxidative signalling induced by ozone in *Arabidopsis thaliana*, *Plant and nitric oxide*, *FEBS Letters*. vol. 489 237–242.
- 11) Anderson, L. & T. A. Mansfield. 1979. The effects of nitric oxide pollution on the growth of tomato. *Environmental Pollution* vol. 20: 113–121.

- 12) Avila EL, Brown M, Pan S, Desikan R, Neill SJ, Girke T, Surpin M, Raikhel NV 2008- Expression analysis of Arabidopsis vacuolar sorting receptor 3 reveals a putative function in guard cells. *J Exp Bot*, vol. 59:1149-1161.
- 13) Barroso, J. B., F. J. Corpas, A. Carreras, L. M. Sandalio, R. Valderrama, J. M. Palma, Batak, L., Devic, M., Giba, Z., Grubisic, A., Poff, K.L., and Konjevic, R., 2002- Seed Begara-Morales A., Airaki J.C., del R_10 M., , L.A., and Barroso, J.B. 2008- *Plant Cell*
- 14) Beligni, M. V. & L. Lamattina. 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. *Planta*, vol. 210: 215-221.
- 15) Beligni, M.V. and Lamattina, L. 2001- *Trends Plant Sci.*, vol. 6: 508–509.
- 16) Beligni, M.V., Fath, A., Bethke, P.C., Lamattina, L., Jones, R.L., 2002- Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiol*. Vol. 129: 1642–1650.
- 17) Beligni, M.V. and Lamattina, L. 1999- nitric oxide Protects against Cellular Damage Produced by Methylviologen Herbicides in Potato Plant. nitric oxide, vol 3(3) :199-208
- 18) Ben Salem, M., Vieira Da Silva, J.B. 1990- Mécanismes physiologiques de résistance a la sécheresse et creation variétale. Rapport d'activité numéro 1 MAIDGFRAIINRAT , Tunisie, 23 p.
- 19) Benigni, M.V. and Lamattina, L. 2001- *Plant Cell Environ.*, vol. 24: 267–728.
Bennett M, Mehta M, Grant N., 2005 - Biophoton imaging: a nondestructive method for assaying R gene responses, *Mol. Plant Microbe Interact*. Vol. 18: 95–102.
- 20) Bethassen, E., This, D., Monneveux P. 1995- L'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahier d'Adriculture*, vol. 1 :251-261
- 21) Bethke, P. C. & R. L. Jones. 2001. Cell death of barley aleurone protoplasts is mediated by reactive oxygen species. *Plant Journal* 25: 19–29.
- 22) Bethke, P.C., Gubler, F., Jacobsen, J.V., and Jones, R.L. 2004- *Planta*, vol. 219.
- 23) Bethke, P.C., Libourel, I.G.L., and Jones, L.R. 2006- *J. Exp. Bot.*, vol. 57: 517–526.
- 24) Bewley, J. D. & M. Black., 1982- Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. In: J. D. Bewley, M. Black (Eds.) *Physiology and*

- Biochemistry of Seeds in Relation to Germination Viability, Dormancy and Environmental Control, Springer, Berlin, Vol. 2: 126–198.
- 25) Blum, A. 1988- Plant breeding for stress environments. Boca Raton 4: CRC Press Florida, USA 223 pp.
 - 26) Bogdan, C. 2001. Nitric oxide and the regulation of gene expression. Trends in Cell Biology. vol. 11: 66–75.
 - 27) Bottka, D. Dudits & A. Feher. 2005- Nitric oxide is required for, and promotes auxin-mediated activation of, cell division and embryogenic cell formation but does not influence cell cycle progression in alfalfa cell cultures. Plant Journal vol. 43: 849–860.
 - 28) Boucher, J. L., A. Genet, S. Valdon, M. Delaforge, Y. Henry & D. Mansuy., 1992 - Cytochrome P450 catalyzes the oxidation of Nw-hydroxy-l-arginine by NADPH and O₂ to nitric oxide and citrulline. Biochemistry Biophysics Research Community. vol. 87: 880–886.
 - 29) Boucher, J. L., A. Genet, S. Valdon, M. Delaforge, Y. Henry & D. Mansuy. 1992- Formation of nitrogen oxides and citrulline upon oxidation of Nw-hydroxy-l-arginine by hemoproteins. Biochemistry and. Biophysics Research Community. vol. 184: 1158–1164.
 - 30) Boucher, J.L., Genet, A., Valdon, S., Delaforge, M., Henry, Y., Mansuy, D., 1992- Cytochrome P450 catalyzes the oxidation of Nw-hydroxy-l-arginine by NADPH and O₂ to nitric oxide and citrulline. Biochem. Biophys. Res. Commun.vol. 187: 880–886.
 - 31) Bouchereau A., Aziz A., Larher F., Martin-Tanguy J., 1999- Polyamines and environmental challenges: recent developments, Plant Sci. 140
 - 32) Boyer J., 1992- Plant productivity and environment, Science vol. 218 : 443–448
 - 33) Bozhkov M, Suarez L, Filonova G, Daniel A, Zamyatnin S, Rodriguez-Nieto B, Zhivotovsky A., 2005 - Smertenko, Cysteine protease mcll-Pa executes programmed cell death during plant embryogenesis,,Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. vol.102 :14463–14468.
 - 34) Bright J, Desikan R, Hancock JT, Weir IS, Neill SJ., 2006 -ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H₂O₂ synthesis. Plant J,vol. 45:113-122.

- 35) Bright J., Desikan R., Hancock J.T., Weir I.S., Neill S.T., 2006 - ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H₂O₂ synthesis, *Plant J.* vol.45: 113–122.
- 36) Brodersen, P., Malinovsky, F.G., Hematy, K., Newman, M.-A., and Mundy, J. 2005 - reactive nitrogen species: Nitrosative stress responses or components C. Garcia-Mata, L. Lamattina, 2002 Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells, *Plant Physiol.* vol. 128: 790–792.
- 37) Carimi F., M. Zottini, E. Formentin, M. Terzi & F. Lo Schiavo. 2002. Cytokinins, new apoptotic inducers in plants. *Planta* 216: 413–421.
- 38) Carimi, F., Zottini, M., Costa, A., Cattelan, I., De Michele, R., Terzi, M., and Lo Caro, A., Puntarulo, S., 1999. Nitric oxide generation by soybean Ceccarelli, S. 1987. Yield potential and drought tolerance of segregating populations of barley 'in contrasting environments. *Euphytica*, vol 36: 265–273.
- 39) Chaki R, Valderrama A, 2001 - Fernandez-Ocaña, A. Carreras, M.V. Gómez-Chandok, M.R., Ytterberg, A.J., van Wijk, K.J., Klessig, D.F., 2003- The pathogen-inducible nitric oxide synthase (inos) in plants is a variant of the P protein of the glycine decarboxylase complex. *Cell* vol. 113: 469–482.
- 40) Clark, D., Durner, J., Navarre, D.A., Klessig, D.F., 2000. Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13, 1380–1384
- 41) Clarke A., Desikan R., R.D., Hurst J.T. Hancock, Neill S.T., 2000- NO way back: nitric oxide and programmed cell death in Arabidopsis thaliana suspension cultures, *Plant J.* vol.4: 667–677.
- 42) Clarke A., Desikan R., R.D., Hurst J.T. Hancock, Neill S.T., 2000- NO way back: nitric oxide and programmed cell death in Arabidopsis thaliana suspension cultures, *Plant J.* vol.4: 667–677.
- 43) Clarke, A., Desikan R., R. Hurst D., Hancock J. T. & Neill S. J., 2000- NO way back: Nitric oxide and closure in broad bean, *Functional Plant Biology*. Vol. 32 : 237–247.
- 44) Clarke A., Desikan, R., Hurst, R.D., Hancock, J.T., and Neill, S.J. 2000- *Plant J.*, Clarke, A., R. Desikan, R. D. Hurst, J. T. Hancock & S. J. Neill. 2000. NO way back: Nitric oxide and programmed cell death in Arabidopsis thaliana suspension cultures. *Plant Journal.* vol. 24: 667–677.

- 45) Cohn M. A., D. L. Butera & J. A. Hughes., 1983- Seed dormancy in red rice. *Plant Physiology*. Vol. 73: 381–384.
- 46) Cooney, R. V., Harwood P. J., Custer L. J. & Franke A. A., 1994-Light-mediated conversion of nitrogen dioxide to nitric oxide by carotenoids. *Environmental Health Perspectives*. vol. 102: 460–462.
- 47) Corpas F.J., Barroso J.B., Carreras A., R. Valderrama, Palma J.M., A.M. Leo'n, L.M. Sandalio, del Rio L.A., 2006- Constitutive arginine-dependent nitric oxide synthase activity in different organs of pea seedlings during plant development, *Planta*. vol.224 246–254.
- 48) Corpas, F.J., Chaki, M., Fern_andez-Ocaña, A., Valderrama, R., Palma, J.M., Carreras, Cueto, M., Herna' ndez-Perera, O., Martí'n, R., Bentura, M.L., Rodrigo, J., Lamas, S., Golvano, M.P., 1996. Presence of nitric oxide synthase activity in roots and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS Lett*.vol. 398: 159–164.
- 49) Culotta, E. and Koschland , D.J . 1992- NO news is good news. *Science* ,vol. 258 (5090) , 1862-1865.
- 50) Dean, J.V., Harper, J.E., 1988- The conversion of nitrite to nitrogen oxide(s) by the constitutive NAD (P) H-nitrate reductase enzyme from soybean. *Plant Physiol*. Vol. 88: 389–395.
- 51) Dedio, W. 1975- Wter relations in wheat leaves, as screening tests for drought resistance. *Can. J Plant Sci*,vol. 55:369-378.
- 52) Delledonne M., 2005- NO news is good news for plants, *Curr. Opin. Plant Biol*. Vol.8:390–396.
- 53) Delledonne Y, Xia R, Dixon C, LambN.,1998- Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance, *Nature* vol.394 :585–588.
- 54) Delledonne, M., Xia, Y.J., Dixon, R.A., Lamb, C., 1998- Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*. Vol. 394: 585–588.
- 55) Delledonne, M., Zeier, J.,Marocco, A., and Lamb, C. 2001- *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, determination of relative endogenous nitric oxide and Di'az M, Achkor H, Titarenko E, Martí'nez MC: The gene encoding glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase/GSNO reductase is responsive to wounding, jasmonic acid and salicylic acid. *FEBS Lett* 2003, vol. 543:136-139.
- 56) Desikan R, Griffiths J, Hancock S, Neill A.,2002 - new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for

- abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 99 : 16314–16318.
- 57) Diaz H, Achkor E, Titarenko M, Martinez C., 2003- The gene encoding glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase/GSNO reductase is responsive to wounding, jasmonic acid and salicylic acid, *FEBS Lett.* Vol.543: 136–139.
 - 58) Dobson, C.M., Sali, A., Karplus, M., 1998- Protein folding: a perspective from theory and experiment. *Angew Chem. Int. Ed.* vol. 37: 868-893.
 - 59) Dordas C, Hasinoff BB, Igamberdiev AU, Manac'h N, Rivoal J, Hill RD., 2003- Expression of a stress-induced hemoglobin affects NO levels produced by alfalfa root cultures under hypoxic stress. *Plant J*, 35:763-770.
 - 60) Dordas C, Rivoal J, Hill RD., 2003- Plant haemoglobins, nitric oxide and hypoxic stress. *Ann Bot (Lond)*, vol. 91:173-178.
 - 61) Durner J., Wendenhenne D., Klessig D.F., 1998- Defence gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 95 10328–10333.
 - 62) Durner, D. Wendenhenne & D. F. Klessig. 1998- Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-ribose. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*. vol. 95: 10328–10333.
 - 63) Durner, J. & D. F. Klessig. 1999- Nitric oxide as a signal in plants. *Current Opinion Plant Biology*. vol. 2: 369-374..
 - 64) Durner, J., Wendenhenne, D., Klessig, D.F., 1998- Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic adpribose. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* vol 95: 10328–10333
 - 65) E. Prats, L.A.J. Mur, R. Sanderson, T.L.W. Carver, 2005- Nitric oxide contributes both to papilla-based resistance and the hypersensitive response in barley attacked by *Blumeria graminis* f. sp. *Hordei*, *Mol. Plant Pathol.* vol. 6: 65–78.
 - 66) E. Rojo, R. Martin, C. Carter, J. Zouhar, S. Pan, J. Plotnikova, H. Jin, M. Paneque, J.J. Sanchez-Serrano, B. Baker, F.M. Ausubel, N.V. Raikhel, 2004 - VPEg exhibits a caspase-like activity that contributes to defense against pathogens, *Curr. Biol.* vol. 14: 1897–1906.

- 67) Eckhart, N.A., 2002- Absciscic acid biosynthesis gene underscores the complexity of sugar stress and hormone interaction. *Plant Cell*, vol. 14:2645-2649.
- 68) Ederli L, Morettini R., Borgogni A, Wasternack C, Miersch O, Reale L, Ferranti F, Liu A, Hausladen M, Zeng, L. Que, J, Heltman, J, Stamler, A., 2001- metabolic enzyme for S-nitrosothiol conserved from bacteria to humans, *Nature* vol. 410: 490–494.
- 69) Ederly, L., R. Morettini, A. Borgogni, C. Wasternack, O. Miersch, L. Reale, L. Ferranti, N. Tosti & S. Pasqualini. 2006- Interaction between nitric oxide and ethylene in the induction of alternative oxidase in ozone-treated tobacco plants. *Plant Physiology*. vol. 142: 595–608.
- 70) El Jaafari, S., Le Poivre, Ph., Sernal, J. 1995- Implication de l'acide abscissique dans la résistance du blé à la sécheresse. ED. Aupif-Uref. John Libbey Eurotext. Paris, 141-148.
- 71) F.J. Corpas, M. Hayashi, S. Mano, M. Nishimura, J.B. Barroso, 2009- Peroxisomes are required for in vivo nitric oxide accumulation in the cytosol following salinity stress of *Arabidopsis* plants, *Plant Physiology*. vol. 151: 2083–2094.
- 72) Feechan A., Kwon E., Yun B.W., Pallas J.A., Loake G.J., 2005- A central role for S nitrosothiols in plant disease resistance, *PNAS*. Vol. 102: 8054–8059.
- 73) Feelisch, M., P. Kotsonis, J. Siebe, B. Clement & H. H. W. Schmidt. 1999. The soluble guanylyl Filho, O.F. 2005 *Physiol. Mol. Biol. Plants*, vol.11: 81–86.
- 74) Fernandez B, Feelisch M, Vierling, E., 2008 - Modulation of nitrosative stress by S nitrosoglutathione reductase is critical for thermotolerance and plant growth in *Arabidopsis*. *Plant Cell* vol. 20:786-802.
- 75) Fischer, R.A. 1985- Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *J Agri Sci*, vol. 105: 447-461.
- 76) Flores-Pérez U, Sauret-Gueto S, Gas E, Jarvis P, Rodríguez- Concepción M: 2008 - mutant impaired in the production of plastome-encoded proteins uncovers a mechanism for the homeostasis of isoprenoid biosynthetic enzymes in *Arabidopsis* plastids. *Plant Cell*, vol. 20:1303-1315.

- 77) Foissner I.D., Wendehenne D., Langebartels C., Durner J., 2000 In vivo imaging of an elicitor-induced nitric oxide burst in tobacco, *Plant J.* vol. 23: 817–824.
- 78) Friebe A, Malkewitz J, Schultz G, Koesling D., 1996- Positive effects of pollution *Nature*, 382:120.
- 79) G.P. Hao, Y. Xing, J.H. Zhang 2008- Role of nitric oxide dependence on nitric oxide synthase-like activity in the water stress signaling of maize seedling, *Journal of Integrative Plant Biology*. vol. 50: 435–442.
- 80) Garcia-Mata C., Lamattina L., 2001- Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress, *Plant Physiology*. vol. 126: 1196–1204.
- 81) Garcia-Mata, C. & L. Lamattina. 2001- Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. *Plant Physiology* .vol. 126: 1196–1204.
- 82) Garcia-Mata, C. & L. Lamattina. 2002- Nitric oxide and abscisic acid cross talk in guard cells. *Plant Physiology* vol. 128:
- 83) Garcia-Mata, C., Gay, R., Sokolovski, S., Hills, A., Lamattina, L., Blatt, M.R., 2003- Nitric oxide regulates K⁺ and Cl⁻ channels in guard cells through a subset of abscisic acid-evoked signaling pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 100: 11116–11121.
- 84) Giba, Z., Grubisic, D., Todorovic, S., Saje, L., Stojakovic, D., and Konjevic, R. Godber, B. L. J., J. J. Doel, G. P. Sapkota, D. R. Blake, C. R. Stevens, R. Eisenthal & R. Harrison. 2000- Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. *Journal of Biological Chemistry* vol. 275: 7757–7763.
- 85) Godber, B. L. J., J. J. Doel, G. P. Sapkota, D. R. Blake, C. R. Stevens, R. Eisenthal & R. Harrison. 2000-Reduction of nitrite to nitric oxide catalyzed by xanthine oxidoreductase. *Journal of Biological Chemistry*. vol. 275: 7757–7763.
- 86) Gotte, G., Amelio, E., Russo, S., Marlinghaus, E., Musci, G., Suzuki, H., 2002- Short-time non-enzymatic nitric oxide synthesis from l-arginine and hydrogen peroxide induced by shock waves treatment. *FEBS Lett.* vol. 520:153–155.

- 87) Gould K, Lamotte S, Klinguer O, Pugin A, Wendehenne., 2003 - Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? *Plant Cell and Environment* vol .26: 1851–1862.
- 88) Gould, K.S., Lamotte, O., Klinguer, A., Pugin, A., Wendehenne, D., 2003- Nitric oxide production in tobacco leaf cells: a generalized stress response? *Plant Cell Environ.* 26, 1851–1862.
- 89) Gouvea, C.M.C.P., Souza, J.F., Magalhaes, C.A.N., and Martins, I.J. 1997- *Plant*
- 90) Graziano, M., M. V. Beligni & L. Lamattina. 2002. Nitric oxide improves iron availability in plants. *Plant Physiology* vol. 130: 1852–1859.
- 91) Grignac, P. 1965- Contribution a l'étude de (*Triticum durum* Desf) These Doctorat, Ensa Toulouse. 160 pages. growth of maize seedling leaves in the presence or absence of ultraviolet-B *Growth Regul.*, 21, 183–187.
- 92) Guo, F. Q., M. Okamoto & N. M. Crawford. 2003. Identification of a plant nitric oxide synthase involved in hormonal signaling. *Science* 302: 100–103.
- 93) Guo, F., Okamoto, M., Crawford, N.M., 2003. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science* .vol. 302: 100–103.
- 94) Hadjichristodoulou, A. 1985- Stability of Performance of Cereals in Low-Rain fall Areas as Related to adaptive Traits. *Drought Tolerance in Winter Cereals Proceedings of an International Workshop, 27-31 October 1985 - Capri, Italy* , 191-199.
- 95) Hanson, R.R., Riggs, T.J., Klose, S.J., Austin, R.B. (1985). High biomass genotypes in sprig barley. *J Agric Sci Cambm*, 105: 73-8.
- 96) Harper, J.E., 1981- Evolution of nitrogen oxide(s) during in vivo nitrate reductase assay of soybean leaves. *Plant Physiol.* vol: 68, 1488–1493.
- 97) Harris LK, McCormick J, Cartwright JE, Whitley GSJ, Dash PR2008- S-nitrosylation of proteins at the leading edge of migrating trophoblasts by inducible nitric oxide synthase promotes trophoblast invasion. *Exp Cell Res*, vol., vol. 314:1765-1776
- 98) Harrison, R., 2002- Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radical Biol. Med.* vol. 33: 774–797.

- 99) Hendricks, S. B. & R. B. Taylorson. 1975- Breaking of seed dormancy by catalase inhibition. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States .vol.72: 306–309.
- 100) Henry B, Ducastel A, Guissani., 1997- Basic chemistry of nitric oxide and related nitrogen oxides, in: Y.A. Henry, A. Guissani, B. Ducastel (Eds.), Nitric oxide Research from Chemistry to Biology, Landes Co., Biomed. Publ., Austin, TX pp. 15-46.
- 101) Henry, Y.A., Ducastel, B., Guissani, A., 1997- Basic chemistry of nitric oxide and related nitrogen oxides. In: Henry, Y.A., Guissani, A., Ducastel, B. (Eds.), Nitric Oxide Research from Chemistry to Biology. Landes Co. Biomed. Publ, Austin, USA, pp. 15–46.
- 102) Hernandez, F.J. Corpas, M. Gmez, L.A. del Rio, F. Sevilla, 1993- Salt-induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria, Physiologia Plantarum. Vol. 89: 103–110
- 103) Hofton, C.A., Besford, P.T., and Wellburn, A.R. 1996-New Phytol., vol. 133: 495–501.
- 104) Horemans, N., Foyer, C.H., Asard, H., 2000-Transport and action of ascorbate at the plasma membrane. Trends Plant Sci.vol. 5: 263–267.
- 105) Hsiao, T.C. 1973- Plant responses to water stress. Annu Rev . Plant Physiol, vol. 24:519-570.
- 106) Hsu, Y and Kao , 2004-Cadmium toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves .Plant Growth Regulation. vol. 42 (3): 227-238
- 107) Huang, J . S .and Knopp , J .A. 1997- Involvement of nitric oxide in Ralstonia Solanaceum induced hypersensitive reaction in tabaco , in Bacterial wilt disease : molecular and ecological aspects . Springer : Versailles , France. 218-224.
- 108) Huang, J., Sommers, E.M., Kim-Shapiro, D.B., King, S.B., 2002- Horseradish peroxidase catalyzed nitric oxide formation from hydroxyurea. J. Am. Chem. Soc.vol. 124: 3473–3480.
- 109) Hufton, C. A., R. T. Besford & A. R. Wellburn. 1996- Effects of NO (+NO₂) pollution on growth, nitrate reductase activities and associated protein contents in glasshouse lettuce grown hydroponically in winter CO₂ enrichment. New Phytologist .vol. 133: 495–501.

- 110) Hung K. Chang T., Kao C., 2002 - Paraquat toxicity is reduced by nitric oxide in rice leaves, *J. Plant Physiol.* Vol. 159: 159–166.
- 111) Hung, K.T. and Kao, C.H. 2003- *J. Plant Physiol.*, vol. 160: 871–879.
- 112) Hurd, E.A., 1974- Phenotype and drought tolerance in wheat. *Agric Meterol*, vol. 19: 39-55.
- 113) Igamberdiev AU, Seregelyes C, Manac'h N, Hill RD., 2004- NADHdependent metabolism of nitric oxide in alfalfa root cultures expressing barley hemoglobin. *Planta*, vol. 219:95-102.
- 114) Ignarro J., 2009- Nitric oxide : biology and pathobiology . Second ed. San Diego, California : Acadmic Press .
- 115) Ignarro , L .J. 1990- Biosynthesis and Metabolism of Endothelium – Derived Nitric oxide . *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* , vol. 30 (1) :535-560.
- 116) Janistyn, B., 2009- Gas chromatographic mass spectrometric identification and quantification of cyclic Job, Proteomics reveals the overlapping roles of hydrogen peroxide and nitric oxide in the acclimation of citrus plants to salinity, *Plant Journal* vol .60:795–804.
- 117) Johnson, R. Nguyen C, Croy, L., 1984- H.T3, Osmotic adjustment and solute accumulation in tow wheat genotypes differing in drught resistance. *Crop Sci* vol. 24: 957-962.
- 118) Kadota, Y., Amigues, B., Ducassou, L., Madaoui, H., Ochsenbein, F., Guerois, R., Kang, H, Klessig , G., *Plant Physiol* .2005- vol .57: 541–557.
- 119) Klessig, D, Durner F, Noad , J, Navarre., Wendehenne, D., Kumar, D, Zhou, J. Shah M., Zhang J, Kachroo S, Trifa , Pontier P, Lam, E., 2000 - and Silva, *Proc. Natl Acad Sci. USA*, vol . 97: 8849–8855.
- 120) Kopyra E, Gwo'z'dz A., 2003 -Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*, *Plant Physiol. Biochem.* Vol.41 : 1011–1017.
- 121) Kopyra, M. Gwozdz, E., 2003- *Plant Physiol. Biochem.*, vol . 41: 1011–1017.
- 122) Kotak J, Larkindale U, Lee P, von Koskull-Doring E, Vierling K.,2007 - Scharf, Complexity of the heat stress response in plants, *Current Opinion in Plant Biology* vol.10 : 310–316.

- 123) Kundu S, Trent JT III, Hargrove MS., 2003 Plants, humans and hemoglobins. Trends Plant Sci vol. 28: 387-393.
- 124) Laxalt A, Beligni M., Lamattina L., 1997 - Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. European Journal of Plant Pathology, vol. 103: 643-651.
- 125) Lamattina L, Beligni C, Garcia A, Mata A, Laxalt M., 2001- Kumar D, Klessig F., 2000 - Method of enhancing the metabolic function and the growing conditions of plants and seeds. US Patent. US. Differential induction of tobacco MAP kinases by the defense signals nitric oxide, salicylic acid, ethylene and jasmonic acid. Molecular Plant-Microbe Interactions vol. 13: 347-351.
- 126) Lamattina L., Garcí'a-Mata, C., Graziano, M., Pagnussat, G., 2003. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. Annu. Rev. Plant Biol. vol 54: 109-136.
- 127) Laxalt A, Beligni L. Lamattina L., 1997- Nitric oxide preserves the level of chlorophyll in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. European Journal of Plant Pathology vol. 103: 643-651.
- 128) Lee G, Vierling E., 2000- A small heat shock protein cooperates with heat shock protein 70 systems to reactivate a heat-denatured protein. Plant Physiol vol. 122: 189-197.
- 129) Leshem & E. Haramaty., 1996- The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage. Journal of Plant Physiology vol. 148: 258-263
- 130) Leshem & Y. Pinchasov., 2000- Non-invasive photoacoustic spectroscopic determination of relative endogenous nitric oxide and ethylene content stoichiometry during the ripening of strawberries *Fragaria ananassa* (Duch.) and avocados *Persea americana* (Mill.). Journal of Experimental Botany vol. 51: 1471-1473.
- 131) Leshem Y, Pinchasov Y., 1996- Non-invasive photoacoustic spectroscopic Leshem Y., 1996- nitric oxide in biological systems. Plant Growth Regulation, vol. 18: 155-159
- 132) Leshem Y., 2000- Nitric oxide in plants, in Occurrence, Function and Use, Kluwer Leshem Y, Haramaty E., 1996- The characterization and

- contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn Plant Physiol.vol. 148: 258–263.
- 133) Leterrier F, Corpas J, Barroso J.,2002 - Mechanical wounding induces a M.C. de Pinto, F. Tomassi, L. de Gara, Changes in the antioxidant systems as a part of the signaling pathway responsible for the programmed cell death activated by nitric oxide and reactive oxygen species in tobacco bright-yellow 2 cells, Plant Physiol.vol. 130: 689–708.
- 134) Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C., 1994- H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response, Cell 79 : 583–593.
- 135) Leydecker M, Kaiser M, Morot W, Gaudry J., Nitrite Li 2005 -Plant Physiol.,vol. 137: 921–930.
- 136) Lubben T, Donaldson G, Viitanen P., 1989-Severa 1 proteins imported into chloroplasts form stable complexes with the GroEL-related chloroplast molecular chaperone. Plant Cell vol.1: 1223-1230.
- 137) Lupianez J. A. & del Rio L. A.. 1999- Localization of nitric-oxide synthase in plant peroxisomes. The Journal of Biological Chemistry. vol. 274: 36729–36733.
- 138) M. Delledonne, J. Zeier, A. Marocco, C. Lamb, Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.vol. 98: 13454–13459.
- 139) M.G. Zhao, L. Chen, L.L. Zhang, W.H. Zhang, Nitric reductase-dependent nitric M.L. Orozco-Cardenas, C.A. Ryan, Nitric oxide negatively modulates wound signaling in tomato plants, Plant Physiol. 130 (2002) 487–493.
- 140) Magalhaes J , Pedroso M, DurzanD., 1999- Nitric oxide, apoptosis and plant stresses. Physiol. Plant Mol. Biol. Vol. 5: 115–125.
- 141) Magalhães, J, Monte D, Durzan M., 2000- Nitric oxide and ethylene emission in *Arabidopsis thaliana*. Physiology and Molecular Biology of Plants vol.6: 117–127.
- 142) Mansuy D, Boucher J., 2002- Oxidation of N-hydroxyguanidines by cytochromes P450 and NO-synthases and formation of nitric oxide. Drug Metab. Rev.vol. 34: 593–606.

- 143) Mayer B, Hemmens B, 1997- Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. Trends in mediated by hydrogen peroxide through activation of nitric oxide synthase, vol.398:155–158.
- 144) Millar T, Stevens C, Benjamin N, Harrison R, Blake D 1998 - Eisenthal Xanthine oxidoreductase catalyses the reduction of nitrates and nitrite to nitric oxide under hypoxic conditions. FEBS Lett. Vol. 427: 225–228.
- 145) Modolo F, Cunha Q, Braga M, Salgado I., 2002 - Nitric oxide synthase-mediated phytoalexin accumulation in soybean cotyledons in response to the *Diaporthe phaseolorum* f. sp. *eridionalis* elicitor, Plant Physiol. vol. 130: 1288–1297.
- 146) Modolo, O. Augusto I M, Almeida G, C Pinto, Maglio A. Oliveira K, Seligman, I., 2006 - Decreased arginine and nitrite levels in nitrate reductase-deficient *Arabidopsis thaliana* plants impair nitric oxide synthesis and the hypersensitive response to *Pseudomonas syringae*, Plant Sci. vol. 171 : 34–40.
- 147) Modolo V, Augusto O, 2006 - Almeida IMG, Pinto-Maglio CAF, Oliveira HC, Seligman K, Salgado I: Decreased arginine and nitrite levels in nitrate reductase-deficient *Arabidopsis thaliana* plants impair nitric oxide synthesis and the hypersensitive response to *Pseudomonas syringae*. Plant Sci vol. 171:34-40.
- 148) Moreau M, Lee GI, Wang Y, Crane BR, Klessig D., 2008 - AtNOS/AtNOA1 is a functional *Arabidopsis thaliana* cGTPase and not a nitric-oxide synthase. J Biol Chem vol. 283: 32957-32967
- 149) Morot B, Gaudry N, Talarmin Y, Rockel P, Moureaux T, Quillere I, Leydecker MT, Kaiser WM, Morot-Gaudry JF., 2002 - Nitrite accumulation and nitric oxide emission in relation to cellular signaling in nitrite reductase antisense tobacco. Planta vol. 5 26-27
- 150) Nachit M, Jarrah M, 1986- Association of some morphological characters to grain yield in durum wheat under Mediterranean dryland condition Rachis, vol. 5:25-35.
- 151) Nagase S, Takemura K, Ueda A, Hirayama A., 1997- A novel nonenzymatic pathway for the generation of nitric oxide by the reaction of hydrogen peroxide and d- or l-arginine. FEBS Lett. vol. 233:150–153.

- 152) Navarre D, Wendehenne D, Durner J, Noad R, Klessig D., 2000- Nitric oxide modulates the activity of tobacco aconitase. *Plant Physiol.* Vol.122: 573–582.
- 153) Neill R, Desikan A, Clarke J, Hancock., 2002 -Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells, *Plant Physiol.* Vol.128 : 13–16.
- 154) Neill R, Desikan J., Hancock., 2003 Nitric signaling in plants, *New Phytologist* vol . 159 : 11–35.
- 155) Neill S, Desikan R, Clarke A, Hancock J., 2002- .nitric oxide Is a Novel Component of Absciscic Acid Signaling in Stomatal Guard Cells.*Plant Physiol.*,vol.128:13-16
- 156) Neill S, Desikan R, Clarke A, Hancock J., 2002- Hydrogen peroxide signaling. *Curr. Opin Plant Biol.*vol. 5: 388–395.
- 157) Neill S, Desikan R, Hancock J., 2003- *New Phytol.*,vol. 159: 11–35.
- 158) Neill S, Desikan R, Hancock J., 2003- Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol.* Vol.159: 11–35.
- 159) Newton R, Roef E, Witters H., 2005 - van Onckelen. 1999. Cyclic nucleotides in higher plants: thenitric oxide in plant-pathogen interaction, *J. Exp. Bot* vol. 57 : 489–490
- 160) Noritake K, Kawakita N, 1996 - Nitric oxide induces phytoalexin accumulation in potato tuber tissues, *Plant Cell Physiol.* Vol .37 : 113– 116.
- 161) Noritake T, Kawakita K, Doke N., 1996- *Plant Cell Physiol.*, 37, 113– 116.
- 162) Noronha-Dutra A., Epperlein M.M., Woolf N., 1993- Reaction of nitric oxide with hydrogen peroxide to produce potentially cytotoxic singlet oxygen as a model for nitric oxide-mediated killing, *FEBS Lett.* vol. 321: 59–62.
- 163) Ober, ES., Sharp, RE. (1994). Proline accumulation in maize (*Zea mays* L.) preimary roots at low water potentials. I. Requirement for increased levels of ABA. *Plant Physiology*,vol. 105:981 -987.