منظمات نمو عملي

مصطلحات تعريفية.

- النمو: Growth

يعرف النمو بصورة عامة على أنه الزيادة غير العكسية في كمية المكونات التركيبية للخلايا الحية والتي تقترن في العادة بزيادة الوزن الطري والجاف للكائن الحي أو جزء منه وقد يشمل أنقسام خلوي. وتوثر في النمو عوامل عديدة منها خارجية ومنها داخلية تعود للكائن الحي نفسه.

الهرمونات النباتية:- Phytohormosأو Plant Hormones

يعرف الهرمون بأنه مادة عضوية تنتج طبيعياً داخل خلايا وأنسجة النبات النشطة وبتراكيز قليلة (أقل من واحد ملي مول) تتحكم وتؤثر في عمليات معينة، كما أنها غالباً تنتقل من أماكن بنائها (تصنيعها) الى أماكن تأثيرها.ولايمكن أن يطلق لفظ هرمون على المواد اللازمة للنمو مثل السكريات والاحماض الامينية فعلى الرغم من أنتقالها فأنها ليست ذات تأثير فسيولوجي معين ولايمكنها العمل بالصورة الهرمونية.

ومن أمثلة الهرمونات النباتية

Ethylene والاثيلينCytokinins والسايتوكاينينات Gibberellins والجبريلينات AUXINSالاوكسينات

وحامض الابسيسيك Abscisic acid (ABA) والبراسينوستروريد (BRS) Brassinostroid، فضلاً عن مركبات أخرى من بينها حامض الساليسيلك Salicylic Acid (SA) وحامض الجاسمونيك Jasmonic Acid (JA) وغيرها.

منظمات النمو النباتية Plant growth Regulators .

وهو مصطلح عام يشمل المركبات التي تنتج طبيعياً داخل النبات والتي تسمى الهرمونات وكذلك تشمل المركبات المصنعة في المختبرات والشركات المتخصصة ويطلق عليها منظمات النمو الصناعية. لذا فأن كل الهرمونات تعد منظمات نمو والعكس غير صحيح أي ليس كل منظم نمو هو هرمون. ومن أمثلة منظمات النمو الصناعية: الاوكسين (2,4- D و NAA و IBA) ، الجبريليك (GA3) ، والسايتوكاينين (BA) والاثيفون أو الاثيرل (وهي من المركبات الصناعية المحررة للاثيلين).

محفزات النمو النباتية Plant Growth Stimulators .

وتشمل الاوكسينات والجبريلينات والسايتوكانينات الطبيعية والصناعية التي تعمل على تحفيز النمو في النباتات.

مثبطات النمو النباتية Plant Growth Inhibitors .

وهذه تعمل على تثبيط العمليات الفسلجية في النباتات، ويعد حامض الابسيسيك (ABA) من أهم المثبطات النباتية المعروفة بالاضافة الى الاثيلين Ethylene.

معوقات النمو النباتية Plant Growth Retardants .

وهي مركبات تعمل على أعاقة وتأخير نمو النباتات وتجعلها متقزمة، علماً أن جميع هذه المعوقات هي مركبات صناعية غير طبيعية (تعمل على تقليل الاستطالة حيث يكون عملها مضاد أو معاكس لتأثير الجبريلينات) ومن أمثلتها : السايكوسيل Cycocel (CCC) والفسفون – د (Phsphon – D) و آمو ١٦١٨ (AMO 1618).

بعض المصطلحات التي لها علاقة بمنظمات النمو.

التركيز الفسيولوجي : يقصد به ذلك التركيز من المادة المنشطة أو المثبطة الذي يحدث تأثير ما في الحلية النباتية . وللكشف عن هذا التركيز ومعرفته يجري ما يعرف بالاختبار الحيوي .

الاختبار الحيوي Bioassay : هو عبارة عن قياس التأثير الفسيولوجي للهرمون تحت مستويات مختلفة منه وقياس هذا التأثير عن طريق الاستجابة الحيوية .

المواد الناشرة Surfactant Compounds : وهي مواد تضاف الى محلول منظمات النمو بحيث يشكلان معاً مستحلباً لغرض زيادة توزيع وأنتشار وألتصاق منظم النمو وتقليل الشد السطحيللانسجة النباتية المعاملة ومنظم النمو بما يساعد في نفوذ وأمتصاص منظم النمووعدم فقدانه وبخاصةً عند أستعمال تراكيز قليلة منه. أن التركيز الموصى به من المادة الناشرة يتراوح بين 100 – 1000 ملغم / لتر. ومن أمثلة المواد الناشرة (Tween –20 و Tween 80 – و X- 77) وغيرها.

السمية Toxicity : هي صفات الخليط الكيميائي (منظم النمو مثلاً) التي تسبب تأثيرات عكسية أو غيرملائمة عند أستعمالها أو تحضيرها بطريقة غير صحيحة .

نسبة المادة الفعالة (A.I %) Active Ingredient % :

وهي نسبة المادة النقية من منظم النمو المسوؤلة عن تأثير التركيز المطلوب من منظم النمو المراد أستعماله. وتثبت هذه النسبة على العبوات الخاصة بمنظم النمو أو المادة الكيميائية أو مبيدات الادغال مثلاً (A.I. 50 %) وتعني أن المادة النقية الفعالة تمثل 50 % وأن الـ 50 % الاخرى هي مادة مالئة ، وأحياناُ المادة الفعالة A.I. 100 % . علماُ أن نسبة المادة الفعالة لمنظم النمو قد تختلف من شركة الى أخرى لذا يتم التأكد من ذلك عند تحضير التركيز المطلوب.

التركيز Concentration : هي كمية المادة الفعالة من منظم النمو وقد تكون كنسبة مئوية أو (ملغم / لتر) أو (مل / لتر) أو (باوند / غالون ماء).

مادة التخفيف : وهي مادة تستعمل لتخفيف المادة الفعالة من منظم النمو وقد تكون بهيئة غاز أو سائل أو مادة صلبة .

الرش الورقي أو رش المجموع الخضري Foliar Application :

وهي عملية رش المادة الكيميائية أو منظم النمو على النمو الخضري للنبات بما يضمن تغطية كاملة وحتى البلل الكامل، ومن أجل تحقيق ذلك يرش 2/ 3 من كمية المحلول على الثلث العلوي للنمو الخضري للنبات ويضاف الثلث المتبقي من منظم النمو على الثلثين المتبقيين من النمو الخضري .

التأثير التعاوني Synergism :

وهو التأثير الناتج من أكثر من مادة (خليط أو مزيج) وغالباً ما يكون أكثر من التأثير المفرد لكل مادة من مواد الخليط ، فمثلاً تأثير الجبريلين والسايتوكاينين معاً في كسر حالة السكون في البذور والبراعم يكون أكثر فعالية من تأثيرهما كلاً على أنفراد.

تأثير التضاد Antagonism :

وهو التأثير المتضاد أو المتعاكس للمواد الكيميائية أي أن تأثير أحدهما يلغي أو يثبط تأثير المركب الآخر ، فمثلاً حامض الابسيسك يحفز سكون البراعم البذور بينما يعمل الجبريلين على كسر السكون وتحفيز النمو أي أن حامض الابسيسك سوف يثبط أو يضعف تأثيره عند المعاملة بالجبريلين ، كذلك الحال عند تضاد الاوكسين والاثيلين في سقوط الاوراق أو التضاد بين الاوكسين والسايتوكاينين في السيادة القمية .

الأوكسينات AUXIN .

الأوكسينات لها دور هام في نمو النبات وتطوره ولا يحدث النمو بدون الأوكسين، فضلاً عن ذلك يشترك مع الهرمونات النباتية الأخرى في التأثير على العمليات الفسيولوجية المختلفة. فالهرمونات النباتية لا تعمل بصورة منفردة وأنما تشترك أما بشكل تعاوني أو تضاد في التأثير في عملية فسلجية معينة. ومن أهم تأثيرات الأوكسينات الفسيولوجية :-

1- الأستطالة والتوسع الخلوي: الأوكسينات لها دور مهم وأساسي في أستطالة وتوسع الخلايا وتكوين الاعضاء النباتية المختلفة. ولا تحدث عملية توسع الخلايا وأستطالتها إلابوجود الاوكسين بتراكيز مناسبة (منخفضة) حيث وجد أن التراكيز العالية من الاوكسين ربما يكون تأثيرها مثبط لعملية الأستطالة.

2 – الانقسام الخلوي: الاوكسين يحفز أنقسام الخلايا من خلال تحفيزه لنشاط وفعالية خلايا الكامبيوم الوعائي مما ينتج عنه زيادة في سمك النموات الخضرية والجذور العرضية.

3 – السيادة القمية: تعني منع أو إيقاف التفرعات الجانبية للنبات. أن بناء الاوكسين وتكونه فيالقمم المرستيمية للنبات وأنتقاله الى الاسفل يؤدي الى تثبيط نمو البراعم الجانبية، وأن القضاء على السيادة القمية من خلال عملية إزالة أو قرط هذه القمم يحفز نمو تلك البراعم الجانبية.

4 – أستجابات الانتحاء: يعد الاوكسين وسيطاً لأستجابات الانتحاء الضوئي والارضي من خلال انتقاله من مكان وتراكمه في مكان آخر وتاثيره في النمو مما ينتج عن ذلك انحناء النبات.

5 – التزهير: الاوكسين يحفز عملية التزهير ونمو وتطور الاجزاء الزهرية.

6 – عقد ونضج الثمار: الاوكسين يحفز عقد ونمو وتطور الثمار في بعض النباتات. كما انه يؤخر من نضج وشيخوخة الثمار.

7 – تحفيز تجذير العقل: الاوكسين يحفز نشوء وتكوين الجذور على العقل الساقية وكذلك نمو وتطور الجذور الفرعية أو تفرعات الجذور، وتحفيز التمايز Differentiation للجذور في الزراعة النسيجية.

8 – تحديد الجنس: حيث يعمل الاوكسين على زيادة الازهار المؤنثة على حساب الازهار المذكرة.

9 – أستعمال الاوكسينات كمبيدات أدغال. مثل مبيد 2,4-D .

أهم الاوكسينات النباتية هي مجموعة اوكسينات الاندول Indole Auxins ، ومن أهم الاوكسينات الموجودة في النبات هو أندول أسيتك أسد (Indole- 3- acetic acid) IAA.
أن تركيز -10

اوكسينات الاندول في اجسام النباتات قليل جداً . ولكن كمية قليلة منها بحدود 10 مولاري أو اقل مثلاً يستطيع ان ينتج تأثيرات فسيولوجية ملحوظة. لذا من الصعوبة ايجاد طريقة حساسة لتقدير مثل هذه المواد في الانسجة النباتية.

<u>الاختبارات الحيوية للاوكسينات: (استخلاص وفحص الاوكسينات)</u>

اجريت عدة تجارب لغرض استخلاص الاوكسين، ومن الطرق المستعملة في الاستخلاص هو استعمال المذيبات (الايثر اثيل البارد) أو (الكلوروفورم البارد) أن الاوكسين المستخلص بالايثر مثلاً يجب أن يركز بالتبخيرومن ثم يضاف الى مكعب الجيلاتين.

ومن الطرق التكنيكية (يؤخذ مكعب جيلاتين ager ويوضع بتماس مع الجزء النباتي المراد دراسته لاجل انتشار الاوكسين من خلال الجزء النباتي الى مكعب الجيلاتين كما فعل العالم Went في تجارب تأثير الاوكسين على انحناء غمد رويشة الشوفان.

ويطلق على عملية فحص فعالية أو كمية الاوكسين أو غيره باستعمال الانسجة الحية بالاختبار الحيوي .

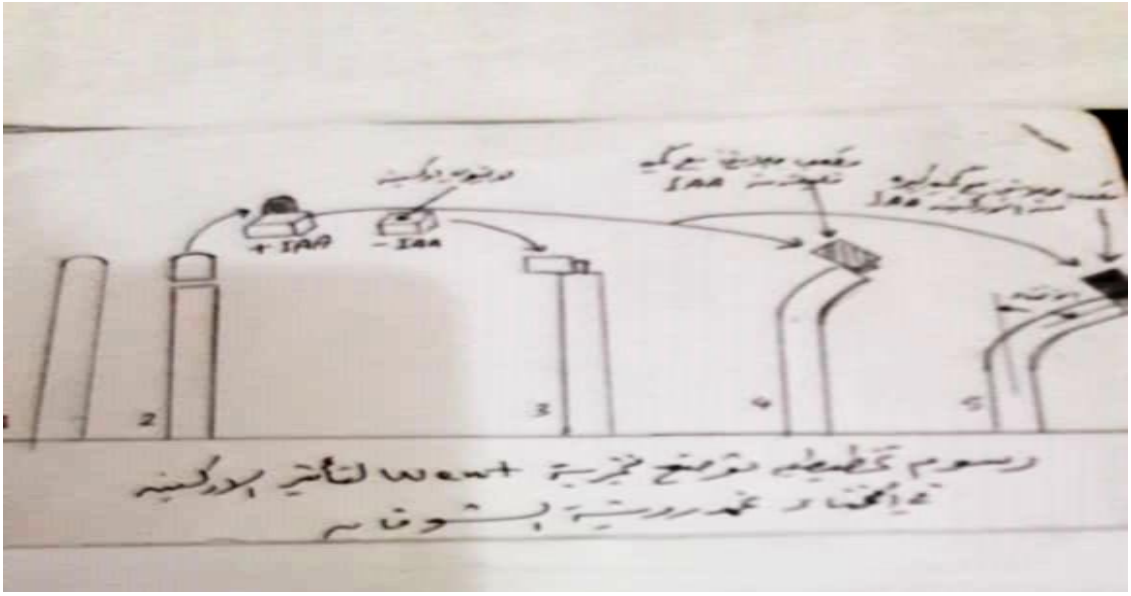
أهم طرق الاختبار الحيوي لفحص الاوكسين هي:-

<u>1- أختبار أنحناء غمد رويشة نبات الشوفان:</u>

في هذه الطريقة الموضحة في الشكل التالي يتم :-

- **إزالة طرف بادرة الشوفان ووضعها على مكعب الجيلاتين حيث ينتشر الاوكسين من طرف البادرة (غمد الرويشة) الى مكعب الجيلاتين (خطوة رقم 2).**
- **ثم يوضع مكعب الجيلاتين الحاوي على الاوكسين على جهة واحدة من عقب غمد الرويشة المقطوع وبذلك يؤدي الى انتقال الاوكسين (انتشاره) من المكعب الى تلك الجهة ويسبب نمو واستطالة هذه الخلايا بسرعة فيحدث تفاوت في النمو وبالتالي انحناء غمد الرويشة الى الجهة عديمة المكعب (خطوة رقم 4).**
- **كما أن وضع مكعب جيلاتين غير حاوي على الاوكسين على جهة واحدة من غمد الرويشة لا يسبب اي انحناء (خطوة رقم 3).**
- **كما ان وضع مكعب جيلاتين يحتوي على كمية اكبر من الاوكسين على جهة واحدة من غمد الرويشة يسبب انحناء أكبر مما هو في حالة وضع مكعب الجيلاتين الحاوي على كمية أقل من الاوكسين (خطوة رقم 5).**

أن درجة الانحناء تقاس بطريقة الـ Shadowgraph وذلك بوضع عدة أغمدة للرويشة في حامل أمام ورقة فوتوغرافية ثم تحمض وتثبت. هذا وان اضافة IAA المصنع الى عقب غمد الرويشة فان درجة انحناء غمد الرويشة تتناسب تقريباً مع زيادة تركيز IAA المستعمل ولحد 0.2 mg/ L وبذلك يمكن مقارنة الاوكسين المجهول والمستخلص من النسيج النباتي مع الاوكسين الصناعي المضاف في مقدرتهما على انحناء غمد الرويشة



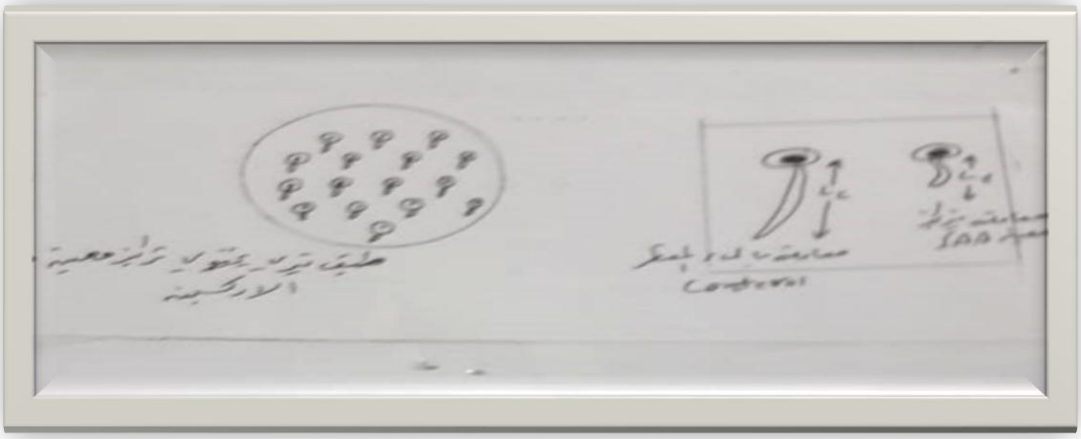
2 – أختبار تثبيط جذور الرشاد:

من المعلوم أن الجذور هي أكثر حساسية للاوكسين مقارنةً بالسيقان ولهذا يتوقف نمو الجذور في تراكيز الاوكسين التي تحفز نمو السيقان، ومع ذلك ففي التراكيز الواطئة قد تحفز نمو الجذور. وفائدة هذه الطريقة هي أن نمو الجذور يحدث في التراكيز الواطئة جداً من الاوكسين تماماً كتراكيز الاوكسين الموجودة في المستخلص النباتي. وتتم هذه الطريقة عن تحضير كمية من بذور الرشاد وتعقيمها ومن ثم تنبت على ورقة ترشيح رطبة وبعد أن تنبت البذور وتنمو الجذور توضع في أطباق بتري تحوي على تراكيز مختلفة من الاوكسين وبحجم 15 سم مكعب من محلول الاختبار، وبعد مرور 48 ساعة يتم قياس نمو الجذور. وكما مبين في الشكل التالي.

2 – أختبار تثبيط جذور الرشاد:

من المعلوم أن الجذور هي أكثر حساسية للاوكسين مقارنةً بالسيقان ولهذا يتوقف نمو الجذور في تراكيز الاوكسين التي تحفز نمو السيقان، ومع ذلك ففي التراكيز الواطئة قد تحفز نمو الجذور. وفائدة هذه الطريقة هي أن نمو الجذور يحدث في التراكيز الواطئة جداً من الاوكسين تماماً كتراكيز الاوكسين الموجودة في المستخلص النباتي. وتتم هذه الطريقة عن

تحضير كمية من بذور الرشاد وتعقيمها ومن ثم تنبت على ورقة ترشيح رطبة وبعد أن تنبت البذور وتنمو الجذور توضع في أطباق بتري تحوي على تراكيز مختلفة من الاوكسين وبحجم 15 سم مكعب من محلول الاختبار، وبعد مرور 48 ساعة يتم قياس نمو الجذور. وكما مبين في الشكل التالي.



الاوكسينات الصناعية:

لقد اتسع مجال استعمال المواد المنظمة للنمو في السنوات الاخيرة ، فقد تم تصنيع عدد كبير من هذه المواد . وقد كانت جميع الاوكسينات المختلفة في البداية عبارة عن مواد قريبة الشبه جداً من IAA لاحتوائها على حلقة الاندول مثل مركب ألفا indole- 3- propionic acid ومركب بيتا indole- 3- pyruvic acid وغيرها. لكن سرعان ما انتجت مركبات اخرى تختلف في تركيبها عن IAA . ومن أهم هذه المركبات الشائعة الاستعمال في التطبيق الزراعي:-

النوع	المركب	زمن الاكتشاف	الاستعمالات أو التطبيقات الزراعية
احماض الاندول	Indole acetic acid (IAA) و Indole butric acid (IBA)	Kogl *et al* 1934	عقد الثمار وتكوين الجذور على العقل وكمبيدات حشائش
احماض النفثالين	Naphthalene acetic acid (NAA)	Zimmerman *et al* 1936	عقد الثمار وتكوين الجذور على العقل
احماض الفينوكسي	2,3-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D)	Zimmerman and Hitchcock 1942	مبيدات حشائش، عقد الثمار، خف الثمار ونمو ونضج الثمار
احماض البنزويك	2,4,6-trichlorobenzoic acid (2,4,6-T)	Benthy 1950	مبيدات حشائش

الانتحاء الضوئي Phototropism.

لايقتصر تأثير الاوكسينات في النبات تنظيمها للنمو فحسب، بل يستجيب بواسطتها النبات لبعض المؤثرات الخارجية. ومن امثلة ذلك استجابة النبات للضوء الذي يطلق عليه (الانتحاء الضوئي). والانتحاء الضوئي موجب في السيقان والاغلفة الورقية حيث انها تتجه باتجاه مصدر الضوء أو باتجاه الاضاءة الاقوى إذا كانت هناك قوى ضوئية مختلفة تاتي من اتجاهات مختلفة. أما الجذور فهي عكس ذلك أي انها تنمو بعيداً عن مصدر الضوء وتكون الاستجابة في هذه الحالة سالبة.وتعزى الاستجابة الموجبة للضوء في الاغلفة الورقية في كثير من الانسجة النباتية الى الاختلافات في معدل نمو الجانبين المضاء وغير المضاء نتيجة التوزيع غير المتماثل للاوكسينات فيها. إذ تتجمع نسبة من الاوكسين في الجانب غير المضاء تزيد على نسبته في الجانب المضاء ومن ثم تنحني الاغلفة الورقية أو السيقان باتجاه الاضاءة.

الانتحاء الارضي Geotropism .

يعرف الانتحاء الارضي بانه استجابة اجزاء النبات لمؤشر الجاذبية الارضية. فعند وضع نبات نامي في وضع افقي لمدة من الزمن قان ساقه لا تستمر موازية لسطح الارض وانما تنحني الى الاعلى بعيداً عن اتجاه الجاذبية الارضية.، وعلى العكس تتمثل استجابة الجذر للجاذبية الارضية في نموه الى الاسفل. وعلى

ذلك فالسيقان سالبة الانتحاء الارضي أما الجذور فموجبة الانتحاء الارضي. ويرجع الانتحاء الارضي الى التوزيع غير المتماثل للاوكسينات في الاعضاء النباتية وبالتالي على النمو الغير متساوي على جانبي الجزء النباتي، فعندما تكون السيقان والجذور في وضع افقي فان الاوكسينات تنتقل بفعل الجاذبية الارضية من الجانب العلوي الى الجانب السفلي. ينشأ عن زيادة تركيز الاوكسينات في الجانب السفلي من الساق تنشيط النمو في هذا الجانب وبالتالي نمو الساق نحو الاعلى، أما زيادة تركيز الاوكسينات في الجانب السفلي من الجذر يؤدي التنشيط النمو فيه وبالتالي نمو الجذر نحو الاسفل.

تجربة : دراسة ظاهرة الانتحاء الارضي لبادرات بعض النباتات.

المواد:

1 – بادرات لنبات زهرة الشمس أو الطماطة أو الذرة وبطول 5 – 10 سم.

2 – أنابيب أختبار كبيرة .

3 – سدادات من المطاط.

4 – حامل جديدي مع ماسكات.

5 – قطن + مشرط.

طريقة العمل:

1 – نصّف عدد من سدادات المطاط بواسطة المشرط ثم أعمل كل نصف على هيئة نصف أسطوانة وبعمق 0.5 سم تقريباً .

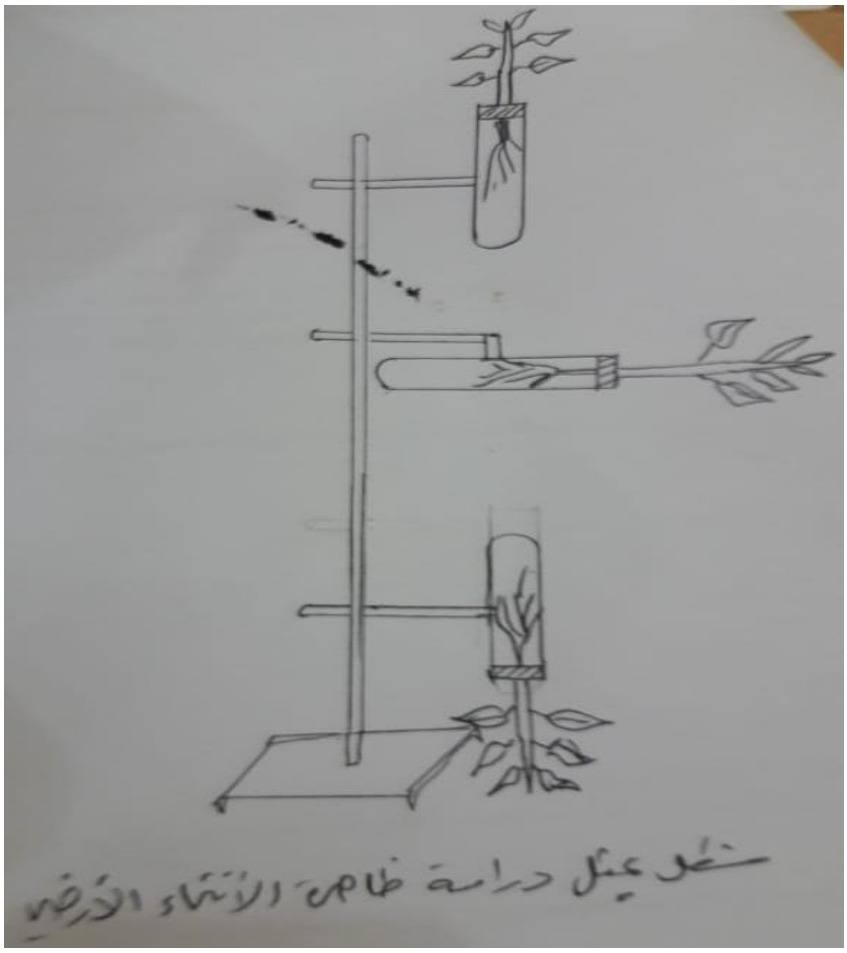
2 – ثبت بادرة بين نصفي كل سدادة بعد أحاطة الساق بالقطن.

3 – أملأ أنابيب الاختبار بالماء أو محلول مغذي.

4 – ثبت بعد ذلك السدادات في أنبيب الاختبار.

5 – رتب الأنابيب كما في الشكل التالي.

6 – ضع الحامل وانابيب الاختبار في مكان متجانس الاضاءة قدر الامكان، ثم لاحظ أتجاه نمو كل من الساق والجذر بعد عدة أيام ثم علل النتائج التي شاهدتها.



الجبريلينات Gibberellins :

وهي المجموعة الثانية من الهرمونات النباتية وقد عزلت لاول مرة من قبل مجموعة من العلماء اليابانيين من فطر *Gibberella fujikuroi* الذي يصيب نبات الرز ومن هنا جاءت تسميته، ويرمز لجميع الجبريلينات بـ GA . وقد أكتشف عدد كبير منها وأعطيت ارقام مختلفة منها GA، GA2، GA3 وغيرها. وفي جميع المستخلصات وجد ان الهرمون GA3 هو السائد ويسمى حامض حامض الجبريليك Gibberelic acid .

الجبريلينات هي احدى منظمات النمو التي تحفز نمو النبات بالكامل. تصنع الجبريلينات بصورة عامه في القمم النامية للجذور والسيقان وكذلك في الاوراق والثمار الصغيرة. ففي الجذور ينتقل الجبريلين المتكون عن طريق الخشب، اما الموجود في البذرة فينتقل الى البادرات الصغيرة. ان اقل تركيز للجبريلين تستجيب له النباتات بصورة ملائمة هو (0.00001 مولاري) .

أهم التأثيرات الفسيولوجية للجبريلينات:

1 – انقسام واستطالة الخلايا:

الجبريلية يحفز انقسام الخلايا مما سنتج عنه استطالة الساق والنموات الاخرى، وكذلك يحفز الاستطالة في منطقة السلاميات دون التأثير على عدد العقد والسلاميات والتغلب على صفة التقزم في النباتات.

2 – الإزهار:

الجبريلينات يمكن ان تحل محل احتياجات نباتات النهار الطويل لتحفيز عملية التزهير في عدد من النباتات.

3 – تحفيز انبات البذور ونمو البراعم :

ان الجبريلينات تحفز البذور الكامنة على الإنبات دون الحاجة الى درجات منخفضة او عملية تنضيد من خلال تثبيط دور حامض الابسيسك المسبب للسكون.

4 – تكوين الانزيمات خلال الإنبات:

الجبريلين يحفز تكوين انزيم ألفا اميليز amylase الذي يؤدي الى تحطيم وهضم النشأ والبروتينات في طبقة الاليرون وتحويلها الى مواد غذائية بسيطة.

5 – عقد ونمو الثمار:

اوضحت الدراسات ان الرش المبكر للجبريلين GA3 عند مرحلة التزهير يؤدي الى التبكير في نضج الثمار.

6 – تحديد الجنس:

في النباتات التي تحمل ازهار ذكرية وانثوية على نفس النبات مثل القرعيات وجد ان الجبريلين حفز الازهار الذكرية.

هناك طريقة لفحص الجبريلين حيوياً وهي قابلية الجبريلين في تحفيز تكوين انزيم الفا amylase في بعض الحبوب.

<u>تجربة 1 :</u> تأثير الجبريلين على تكوين انزيم الفا amylase .

خذ حوالي 130 بذرة من بذور الشعير وغطسها لمدة 10 دقائق في محلول الـ Clorox 10 % (لتعقيم وقتل الاحياء المجهرية) ثم اغسلها بالماء المقطر كذلك عقم كل الاواني المستعملة في التجربة. ثم بعد ذلك قطع البذور الى نصفين بصورة عرضية، تؤخذ الانصاف الحاوية على الاندوسبيرم وتهمل الانصاف الحاوية على الاجنة. ثم ضع كل 20 من انصاف البذور الحاوية على الاندوسبيرم على ورقة ترشيح معقمة وموضوعة داخل طبق بتري معقم.

حضر محلولي الجبريلين (1 ملعم/ لتر) و (10 ملغم/ لتر) من محلول حامض الجبريليك الاصلي Stock Solution تركيز 1 غم/ لتر. (يحضر المحلول الاصلي بإذابة 1 غرام من حامض الجبريليك في 5 مل من الايثانول ثم يكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر.

ثم حضر 6 أطباق بتري معقمة والمحتوي كل منها على انصاف البذور واستعمل المعاملات التالية:

1 – الطبق الاول: أضف 10 سم³ ماء مقطر (مع نفس الكمية من كحول الايثانول 5 مل) وتفحص بعد 48 ساعة.

2 – الطبق الثاني: أضف 10 سم³ محلول جبريلين تركيز (1 ملغم/ لتر) ويجرى الفحص بعد 48 ساعة.

3 - الطبق الثالث: أضف 10 سم³ محلول جبريلين تركيز (10ملغم/ لتر) ويجرى الفحص بعد 48 ساعة.

4 - الطبق الرابع: أضف 10 سم³ ماء مقطر (مع كحول الايثانول 5 مل) وتفحص بعد 72 ساعة.

5 - الطبق الخامس: أضف 10 سم³ محلول جبريلين تركيز (1 ملغم/ لتر) ويجرى الفحص بعد 72 ساعة.

6 - الطبق السادس: أضف 10 سم³ محلول جبريلين تركيز (10ملغم/ لتر) ويجرى الفحص بعد 72 ساعة.

ضع الاطباق في مكان ذو حرارة 30 °م لمدة 48 أو 72 ساعة ثم استعمل انصاف البذور لغرض فحص النشأ بوضع قطرة من محلول بندكت (محلول يستخدم للفحص عن النشأ). ان انزيم الفا- اميليز هو المسؤول عن هضم النشأ في بذور الشعير وان قلة ظهور اللون الازرق المتكون من تفاعل تفاعل النشأ مع محلول بندكت يشير الى قلة محتوى النشأ بسبب هضمه بواسطة انزيم الاميليز وتحوله الى السكريات المختزلة مثل سكر الكلوكوز. حيث ان وجود الجبريلين GA3 يسبب تكوين انزيم الفا amylase بصورة دائمة. كذلك افحص تاثير الجبريلين على انزيم الاميليز بعد 72 ساعة. رتب نتائجك باستعمال المؤشر السالب (عدم اختفاء اللون الازرق للنشأ) والمؤشر الموجب (اختفاء اللون الازرق للنشأ) وعلل النتائج.

تجربة 2 : تاثير حامض الجبريليك على نمو السلالة القصيرة لنبات البزاليا:

المواد:

1 – بذور نبات البزاليا سليمة ومتجانسة.

2 – اصص بلاستيكية مملوءة بالرمل او نشارة الخشب.

3 – حبر صيني اسود.

4 – ماصة دقيقة سعة 0.01 سم^3 .

5 – 500 سم^{3}من محلول حامض الجبريليك الاصلي تركيز 1غم/ لتر، حضر منه محاليل بتراكيز 10 ، 50 ، 100 ، 250 و 500 ملغم/ لتر . (تستعمل نفس الكميات من الايثانول بالنسبة للتراكيز المختلفة وكذلك بالنسبة للمقارنة).

طريقة العمل:

1 – نقع مجموعة من البذور السليمة والمتجانسة والغير معاملة باي مادة كيمياوية في الماء الجاري لمدة 4 - 6 ساعة.

2- ازرع بعد ذلك عدداً من البذور (20 – 30) في كل اصيص.

3 – ضع السنادين في بيت زجاجي درجة حرارته 25 درجة مئويه تقريباً .

4 – عندما يبلغ ارتفاع النباتات 50 ملم من سطح الرمل اختر نصف البادرات بطريقة عشوائية من كل اصيص وعلمها بالحبر الاسود لمعاملتها بحامض الجبريليك (علم السندانة كذلك بالتركيز الخاص بكل معاملة)

5 – ضع بعد ذلك وبواسطة الماصة الدقيقة قطرة من التركيز المعني لحامض الجبريليك (بحجم 0.01 مل) في وسط الورقة الكبيرة لكل بادرة معاملة.

6 – كرر العملية بالنسبة للتراكيز الاخرى.

7 – ضع نفس الكمية (0.01 مل) لمحلول المقارنة (الكحول + الماء فقط) على وريقات البادرات لمعاملة المقارنة.

8 – قدر أطوال البادرات للنباتات المعاملة وغير المعاملة بعد (1 أو 2 أو 3 أسابيع من بدء التجربة).

9 – أرسم منحنى العلاقة بين الزيادة في أطوال البادرات وبين التراكيز المختلفة لحامض الجبريليك .

10 –دون كذلك الاعراضالتي تظهر على النباتات خلال فترة التجربة.

السايتوكاينينات Cytokinins .

من المعروف ان الاوكسينات والجبريلينات يتركز عملها في زيادة حجم الخلايا النباتية ، بينما عمل السايتوكاينينات هو زيادة عدد الخلايا الجديدة للانسجة النباتية. وربما يفسر هذا الفعل على ان التركيب الاساسي لهذه المجموعة هو عبارة عن مركبات البريدين وهي احدى مكونات الاحماض النووية.

وقد تمكن العالمان Miller و Skoog من عزل وتشخيص هذه المادة عام 1955 وقد اعتبرت تلك المادة هرمون نباتي بعد ان امكن عزله من كثير من الاجزاء النباتية. وكان اول هذه الاكتشافات هو اكتشاف مادة الزيتين Zeatin من قبل العالم Lethan . كما تبع هذا الاكتشاف عزل تلك المادة من ثمار الطماطة ومن البراعم الزهرية للتفاح، ومن بذور الكمثرى والسفرجل وكذلك من ثمار نبات القطن. واثبتت جميع الدراسات الحديثة والبحوث المتعلقة بمراكز الانتاج للسايتوكاينينات ان مصدرها هو جذور النباتات وتنتقل عبر الاغشية الخشبية الى المجموع الخضري وخاصةً الاوراق الخضراء لكي تدخل في النمو والانقسام وعمليات التمثيل الغذائي.

ينحصر الدور الاساسي للسايتوكاينين في تحفيز عمليات انقسام الخلايا وزيادة تكوين الكالس Calluse وكسر السيادة القمية للنباتات وبالتالي تشجيغ نمو البراعم الجانبية. وكذلك تلعب دوراً في عمليات إنبات البذور وعقد الثمار وفي تاخيرشيخوخة الورقة وفي تحفيز نقل المغذيات. ومن التطبيقات العملية للسايتوكاينينات هي معاملةالاوراق لبعض النباتات كالخس والبقدونس لأطالة عمرها ومنع التدهور في فقد الكلوروفيل، كذلك قدرتها على كسر طور الراحة في نباتات الفاكهة.

من اهم التاثيرات الفسيولوجية للسايتوكاينينات:-

1 – الانقسام الخلوي:

السايتوكاينين الطبيعي في النبات يحفز انقسام الانسجة المرستيمية، كذلك وجد في الزراعة النسيجية Tissue culture ان المعاملة بالسايتوكاينين بوجود الاوكسين يحفز الانقسام الخلوي.

2 – الإزهار: السايتوكاينين يحفز تكوين الازهار في نباتات النهار الطويل.

3 – تثبيط السيادة القمية: ان السايتوكاينين يعمل على تثبيط السيادة القمية وتحفيز نمو البراعم الجانبية، أي تاثيره يكون معاكس لتاثير الاوكسين.

4 – تحفيز فتح الثغور: يعمل السايتوكاينين على تحفيز فتح الثغور وبهذا يكون في حالة تضاد مع هرمون ABA الذي يحفز غلق الثغور.

5 – تكوين الكلوروبلاست : ان المعاملة بالسايتوكاينين تؤدي الى تحفيز تحول اللون الشاحب Etiolates الى اللون الاخضر وتراكم الكلوروفيل وتاخي الشيخوخة.

6 – تحديد الجنس: يقوم السايتوكاينين بتحويل الازهار الذكرية الى انثوية كما في القرعيات، وهو بذلك يشبه الاوكسين.

<u>فحص السايتوكاينين حيوياً Bioassay :</u>

1 – اكتشف العالم Steward اول طريقة لفحص السايتوكاينين حيويا وذلك بعزل انسجة من منطقة قريبة جداً من الكامبيوم في جذور نبات الجزر ثم زرعها في وسط غذائي صناعي معقم (زراعة نسيجية) واضاف لهذا الوسط الغذائي حليب جوز الهند، فوجد ان مادة حليب جوز الهند تسبب زيادة انقسام الخلايا في تلك الانسجة.

2 – كما توجد طريقة اخرى استخدمها العالم Miller وتتضمن قياس الزيادة في نمو الكالس المتحصل من فلق فول الصويا ولوحظ ان تركيز مركب الـ Zeatin بمقدار 0.01 مايكروغرام/ لتر سبب زيادة النمو بشدة.

3 – كذلك توجد طريقة تاخير شيخوخة الورقة لفحص السايتوكاينين حيويا حيث استخدمت من قبل العالم Mothes فقد لاحظ ان اضافة السايتوكاينين الطبيعي المستخلص او المصنع تسبب بتاخير هدم الكلوروفيل والبروتينات والاحماض النووية في الاوراق المقطوعة لنبات التبغ. ولهذا اعتبر السايتوكاينين هرمون ماتع للتدهور.

<u>تجربة 1: تاثير السايتوكاينينات على زيادة مساحة اوراق نبات الفاصوليا.</u>

المواد:

1 – بذور نبات الفاصوليا (سليمة ومتجانسة وغير معاملة باي مادة كيمياوية).

2 – اصص بلاستيكية مملوءة بالرمل او نشارة الخشب.

3 – ثاقب فلين قطر 1 سم.

4 – اطباق بتري.

5 – اوراق ترشيح قطر 9 سم.

6 – محاليل من السايتوكاينين بتراكيز مختلفة 0.1 ، 0.3 ، 1 مايكروغرام/ لتر.

7 – مصدر ضوء اخضر.

<u>طريقة العمل:</u>

1 – ازرع البذور في الاصص البلاستيكية وتبقى لمدة 7 – 9 ايام في مظلم بدرجة حرارة 25 °م .

2 – ضع 5 سم³ من كل التراكيز والماء المقطر (كونترول) في اطباق بتري يحتوي كل طبق على طبقة من ورق الترشيح.

3 – اطفاء الاضاءة العادية في المختبر واستعمال الضوء الاخضر فقط، ثم اقطع بواسطة ثاقب الفلين عدداً من اوراق النباتات.

4 – ضع 10 أقراص في كل طبق بتري ثم احفظ الاطباق في مكان مظلم وبدرجة حرارة 25 مئوية ولمدة 48 ساعة.

5 – بعد انتهاء فترة التجربة قدر قطر الاقراص في التراكيز المختلفة من السايتوكاينين، ثم احسب معدل الزيادة في قطر الاقراص العشرة في كل تركيز،

<u>تجربة 2 : تاثير السايتوكاينين على تاخير الشيخوخة:</u>

خذ قطعاً من ورق الترشيح وضعها في اطباق بتري (قطر 10 سم) وعقمها لمدة 15 دقيقة. ثم حضر 36 قطعة من اوراق الباقلاء بقطر 1 سم (باستعمال ثاقب فلين 1 سم لثقب الاوراق). ثم عقم اسطح الاوراق بمحلول (Clorox 5 %) لمدة دقيقتين. ثم اغسل القطع الورقية بالماء المقطر المعقم وضع 6 قطع ورقية في كل طبق من الاطباق المعاملة بالمحاليل التالية:

1 – 10 مل ماء مقطر (كونترول).

2 – 10 مل من محلول السايتوكاينين بتركيز 0.001 ملغم/ لتر.

3 - 10 مل من محلول السايتوكاينين بتركيز 0.01 ملغم/ لتر.

4 - 10 مل من محلول السايتوكاينين بتركيز 0.1 ملغم/ لتر.

5 - 10 مل من محلول السايتوكاينين بتركيز 1 ملغم/ لتر.

6 - 10 مل من محلول السايتوكاينين بتركيز 10 ملغم/ لتر.

غط الاطباق بسرعة لتجنب التلوث وضعها على المناضد المختبرية. ثم لاحظ لون قطع الاوراق النباتية في كل معاملة. ان الاوراق التي تكون متدهورة تتحول الى اللون الاصفر. ولاجل القياسات الكمية ضع القطع الستة في كل مجموعة في انبوبة اختبار مختلفة واضف اليها 10 مل من الاسيتون 80% . ارفع درجة حرارة الانابيب الى 70 درجة مئوية على حمام مائي واسحق القطع الورقية لاجل استخلاص الكلوروفيل ثم رشح المستخلص بورق ترشيح ويوضع الراشح في جهاز Spectrophotometer لتقدير كمية الكلوروفيل مستعملاً الطول الموجي 660 نانومتر. ان فقدان الكلوروفيل هو مؤشر لظهور الشيخوخة في الاوراق. قارن بين القطع الورقية النباتية في مختلف تراكيز السايتوكاينين . لاحظ السايتوكاينين يؤحر التدهور.