



**التباين الموسمي للتلوث بالمعادن الثقيلة وتأثير معاملة
الكادميوم والرصاص في بعض الصفات الكيموحيوية والتشريحية
والوراثية لنخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف البرحي.**

اطروحة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم - جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة
(فسلجة نبات)

من قبل

خير الله موسى عواد الجابري

ماجستير علوم زراعية 2002 (فسلجة نبات)

بإشراف

أ. د. محمد حمزة عباس

أ. م. د. جبار دهري نعمة

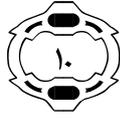
شعبان 1438 هـ

أيار 2017 م

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

وَالنَّخْلَ بَاسِقَاتٍ لِّهَا

طَلَعَ نَضِیْدٌ



صِدْقِ اللّٰهِ الْعَلِیِّ الْعَظِیْمِ

سورة ق

الاهداء

الى الخمسة اصحاب الكساء.... حباً وايماناً

الى روح والدي... رحمةً وغفراناً

الى اخواني واخواتي.... تقديراً واعتزازاً

الى زوجتي عرفاناً ووفاءً

الى املي

بناتي واولادي

خير الله

شكر وتقدير

الحمد لله كما هو اهله الذي من علينا بالتوفيق والصحة والعافية لإكمال هذا الجهد المتواضع والصلاة والسلام على معلم البشرية الاول سيد الانبياء والرسل محمد صلى الله عليه واله وسلم وعلى اله الطيبين الطاهرين ائمه الهدى ومصاييح الدجى.

انقدم بالشكر الجزيل والعرفان والاممتان الى استاذي المشرفين د. جبار دهري نعمة ود. محمد حمزة عباس لما قدموه من معونة ومشوره ومتابعة طوال فترة البحث.

وانتقدم بالشكر الى رئاسة قسم علوم الحياة وعمادة كلية العلوم في جامعة البصرة لأتاحتهم الفرصة لإكمال دراستي والشكر والتقدير لمركز ابحاث النخيل بكافة منتسبيه.

ويسعدني ان اتقدم بالشكر الى كافة اصدقائي وزملائي واخص منهم د. محمد عبد الامير النجار ود. عقيل عبود سهيم ود. سعد عكموش نجم ود.رشاد عادل والى

المهندس الزراعي كريم منشد علي لما قدموه من مساعده، و انقدم بالعرفان والشكر الجزيل لعائلتي واخواني واخواتي لمساندتهم وتشجيعهم لي طيلة فترة الدراسة والبحث.

والشكر الجزيل لكل من مد يد العون والمساعدة.

الباحث

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في قسم علوم الحياة/كلية العلوم ومركز ابحاث النخيل- جامعة البصرة، لتقييم مستوى التلوث ببعض المعادن الثقيلة (الرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت) في محافظة البصرة خلال موسمي الامطار عام 2014 والجفاف عام 2015، و دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة في الصفات الكيموحيوية والتشريحية والوراثية لأشجار نخيل التمر.

جمعت عينات من التربة واوراق نخيل التمر خلال موسمي الامطار والجفاف من ستة مناطق في محافظة البصرة، هي قضاء القرنة و محطة كهرباء النجيبية وقضاء شط العرب وطريق الزبير (من مركز المحافظة باتجاه قضاء الزبير) و قضاء ابي الخصيب وقضاء الفاو، وقدرت بعض خواص التربة، ثم قدر التركيز الكلي والجاهز من معادن الرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت في التربة وتركيزها في اوراق نخيل التمر باستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري. وبعد تحديد اعلى واقل تركيز من المعادن الثقيلة التي تجاوزت الحدود المسوح بها وفق معيار الاتحاد الاوربي، نفذت تجربة مختبرية على فساتل عن نخيل التمر صنف البرحي، وعوملت بتركيزين من الكاديوم 3 و 9 ملغم/كغم وتركيزين من الرصاص 100 و 276 ملغم/كغم، فضلاً عن معاملة محايدة، ولمدة 180 يوماً.

وقد بينت نتائج الدراسة المسحية ما يلي:

1. إن اعلى تركيز كلي للمعادن الثقيلة المدروسة كان في موسم الجفاف، بينما ظهر اقل تركيز منها في موسم الامطار، ووجد أن اعلى تركيز للرصاص كان في موقع القرنة وبلغ 276 ملغم/كغم، بينما وجد اعلى تركيز من الكاديوم والكروم والكوبلت في محطة كهرباء النجيبية وبلغ 9.65 و 145.85 و 44.74 ملغم/كغم على التوالي، بينما سُجل اقل تركيز من الرصاص

والكروم في موقع الفاو وبلغ 100.78 و 46.26 ملغم/كغم على التوالي، وللكادميوم والكوبلت في شط العرب وبلغ 3.16 و 23.58 ملغم/كغم على التوالي.

2. بينت النتائج أن أعلى تركيز جاهز من المعادن المدروسة كان في موقع محطة كهرباء النجيبية خلال موسم الامطار (عدا الكروم فقد كان أعلى تركيز منه في موسم الجفاف) وبلغ 32.34 و 1.84 و 26.86 و 14.17 ملغم/كغم للرصاص والكادميوم والكروم والكوبلت على التوالي، وإن أقل تركيز منها كان في موسم الجفاف في موقع طريق الزبير وبلغ 13.95 و 0.59 و 5.94 و 4.12 على التوالي.

3. اظهرت النتائج أن أعلى تركيز للمعادن الثقيلة المدروسة في اوراق نخيل التمر كان في موسم الجفاف، بينما ظهر أقل تركيز لها في موسم الامطار عدا الكوبلت، وكان أعلى تركيز من الرصاص والكادميوم قد سُجل في موقع محطة كهرباء النجيبية وبلغ 43.34 و 5.67 ملغم/كغم على التوالي، بينما كان أعلى تركيز من الكروم في موقع القرنة وبلغ 17.73 ملغم/كغم والكوبلت في موقع ابي الخصيب وبلغ 24.87 ملغم/كغم، بينما وجد أن أقل تركيز من الرصاص والكوبلت في موقع الفاو وبلغ 23.56 و 8.00 ملغم/كغم، ووجد أقل تركيز من الكادميوم في شط العرب وبلغ 1.48 ملغم/كغم، والكروم في موقع ابي الخصيب وبلغ 3.47 ملغم/كغم.

أما فيما يخص نتائج التجربة المختبرية فقد اشارت النتائج إلى أن المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص أدت إلى ارتفاع تركيزها في التربة واوراق نخيل، وإن هذا الارتفاع تناسب طردياً مع زيادة تركيز هذه المعادن.

اما بالنسبة لاستجابة النبات الكيموحيوية عند تعريضها لإجهاد المعادن الثقيلة فقد

اظهرت النتائج مايلي:

1. إن المعاملة بالمعادن الثقيلة سيما التراكيز العالية أدت إلى خفض تركيز الكلوروفيل والكاروتينويدات في الاوراق بينما أدت إلى زيادة تركيز الانثوسيانين، إذ ظهر أقل تركيز من كلوروفيل a و b والكلوروفيل الكلي في معاملة الرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم وبلغ 2.15 و 1.13 و 3.28 ملغم/غم وزن طري على التوالي، كما أن أقل تركيز من الكاروتينويدات كان في هذه المعاملة وبلغ 1.00 ملغم/غم وزن طري دون فارق معنوي عن معاملة الكادميوم بتركيز 9 ملغم/كغم، في حين أدت هذه المعاملة إلى رفع تركيز الانثوسيانين في الاوراق من 0.068 إلى 0.129 ملغم/غم وزن طري دون فارق معنوي عن معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم، وإن مؤشر ثباتيه الكلوروفيل انخفض في هذه المعاملة إلى 58.79%.
2. ارتفع تركيز الكربوهيدرات في اوراق نخيل التمر المعاملة بالكادميوم والرصاص وإن أعلى تركيز منها كان في معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم، إذ بلغ 16.35 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات.
3. ارتفع تركيز البرولين في الاوراق من 2.67 في معاملة المقارنة إلى 10.88 مايكرومول/غم في معاملة الرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات.
4. أدت المعاملة بالرصاص بالتركيزين المدروسين ومعاملة الكادميوم بالتركيز العالي إلى رفع تركيز الاحماض الامينية في الاوراق وبفارق معنوي عن معالمتي المقارنة والتركيز المنخفض من الكادميوم.
5. انخفض تركيز البروتينات الكلية الذائبة في الاوراق في معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم، إذ بلغ تركيزها 2.89 ملغم/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات عدا معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم.
6. أدت معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم إلى رفع تركيز بيروكسيد الهيدروجين في الاوراق من 0.84 إلى 2.31 مايكرومول/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات.

7. ارتفعت فعالية انزيم البيروكسيديز في معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات إذ بلغت 41.71 (وحدة/دقيقة/غم).

8. أدت معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم إلى رفع تركيز مركب Malondialdehyde (MDA) في الاوراق من 1.32 في معاملة المقارنة الى 4.60 نانومول/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، كما أدت هذه المعاملة إلى خفض مؤشر ثباتيه الاغشية وبفارق معنوي عن باقي المعاملات إذ بلغ 60.90%.

9. إن معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم اثرت معنويا في رفع تركيز المركبات الفينولية الكلية في الاوراق من 5.03 في معاملة المقارنة إلى 8.63 ملغم/غم وزن جاف وبفارق معنوي عن باقي المعاملات عدا معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم.

أما بالنسبة للصفات التشريحية فقد بينت النتائج أن المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص والكادميوم أدت إلى تقليل ارتفاع وعرض الحزم الوعائية في الاوراق، كما أنها أدت إلى تقليل سمك اللحاء والخشب، واختزال سمك النسيج المتوسط وتقليل حجم الخلايا البارنكيميية، بينما لم تلحظ اي فروقات معنوية بين المعاملات في تأثيرها على سمك البشرة وطبقة الكيوتكل العليا والسفلى، و لوحظ انتشار كثيف للتانين في هاتين المعاملتين سيما عند طرف نسيج الورقة.

اشارت النتائج إلى أن معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم هي المعاملة الوحيدة التي اثرت في الصفات الوراثية لأشجار النخيل، إذ أشارت النتائج الى ان قيمة مؤشر التشابه الوراثي بينها وبين باقي المعاملات كان 75% اعتماداً على نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات بطريقة SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis)، و 80% بالاعتماد على مؤشر ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)، كما ان هذه المعاملة أدت إلى خفض قيمة مؤشر ثباتيه القالب الوراثي لأشجار نخيل التمر إلى 80% ، مما يدل على حدوث تغيرات وراثية.

المحتويات		
رقم الصفحة	العنوان	رقم الفقرة
1	المقدمة واستعراض المراجع	1
1	المقدمة	1-1
4	استعراض المراجع	2-1
4	الوصف التصنيفي والنباتي لنخيل التمر	1-2-1
7	المعادن الثقيلة	2-2-1
8	التلوث بالمعادن الثقيلة	3-2-1
8	الرصاص	1-3-2-1
9	الكادميوم	2-3-2-1
9	الكروم	3-3-2-1
10	الكوبلت	4-3-2-1
11	جاهزية المعادن الثقيلة في التربة	4-2-1
11	الأس الهيدروجيني	1-4-2-1
12	التوصيل الكهربائي للتربة	2-4-2-1
13	المادة العضوية	3-4-2-1
14	سعة تبادل الايونات الموجبة	4-4-2-1
14	التغيرات الموسمية للتلوث بالمعادن الثقيلة	5-2-1
16	استعمال النبات مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة	6-2-1
17	استعمال نخيل التمر مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة	1-6-2-1
18	تأثير المعادن الثقيلة في النباتات	7-2-1
20	تأثير المعادن الثقيلة في انواع الاوكسجين التفاعلية	1-7-2-1
22	بيروكسيد الهيدروجين	1-1-7-2-1
23	انزيم البيروكسيديز	2-1-7-2-1
24	تأثير المعادن الثقيلة في عملية البناء الضوئي والصبغات النباتية	2-7-2-1
27	تأثير المعادن الثقيلة في الكريوهيدرات	3-7-2-1
28	تأثير المعادن الثقيلة في البروتين والاحماض الامينية الحرة	4-7-2-1
30	تأثير المعادن الثقيلة في البرولين	1-4-7-2-1

32	تأثير المعادن الثقيلة الاعشبية الخلوية	5-7-2-1
34	تأثير المعادن الثقيلة في المركبات الفينولية	6-7-2-1
36	تأثير المعادن الثقيلة في الصفات التشريحية للنباتات	7-7-2-1
37	تأثير المعادن الثقيلة في الثبات الوراثي للنباتات	8-7-2-1
38	تأثير المعادن الثقيلة في نمط توزيع البروتينات	1-8-7-2-1
39	تأثير المعادن الثقيلة في ثبات الحمض النووي DNA	2-8-7-2-1
43	المواد وطرائق العمل	2
43	تقييم التلوث بالمعادن الثقيلة في التربة والهواء واستعمال نخيل التمر بوصفها مؤشراً حيوياً	1-2
43	مواقع ومواعيد جمع العينات	1-1-2
45	طريقة تحضير العينات	2-1-2
46	تقدير المعادن الثقيلة في عينات التربة واوراق نخيل التمر	3-1-2
47	استخلاص التركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة	1-3-1-2
47	استخلاص التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة في التربة	2-3-1-2
47	استخلاص المعادن الثقيلة في اوراق نخيل التمر	3-3-1-2
48	الحدود المسموح بها للمعادن الثقيلة في التربة	4-1-2
48	تأثير المعادن الثقيلة في بعض صفات نخيل التمر	2-2
50	الصفات الكيموحيوية	1-2-2
50	تقدير الصبغات النباتية ومؤشر ثبات الكلوروفيل	1-1-2-2
51	تقدير الكربوهيدرات الكلية	2-1-2-2
51	تقدير البرولين	3-1-2-2
52	تقدير الاحماض الامينية الحرة الكلية	4-1-2-2
53	تقدير البروتينات الذائبة الكلية	5-1-2-2
43	تقدير بيروكسيد الهيدروجين	6-1-2-2
54	تقدير فعالية انزيم البيروكسيديز	7-1-2-2
54	استخلاص الانزيم	1-7-1-2-2
54	تقدير الفعالية الانزيمية	2-1-7-2-2
55	تقدير محتوى MDA	8-1-2-2
55	مؤشر ثباتية الاعشبية	9-1-2-2
56	تقدير الفينولات الكلية	10-1-2-2

57	الصفات التشريحية	2-2-2
58	الصفات الوراثية	3-2-2
58	الترحيل الكهربائي للبروتينات الكلية الذائبة باستخدام تقنية SDS-PAGE	1-3-2-2
59	المحاليل المستخدمة	1-1-3-2-2
61	طريقة العمل	2-1-3-2-2
61	تحضير هلام الفصل	1-2-1-3-2-2
61	تحضير هلام الرص	2-2-1-3-2-2
62	تحضير العينة	3-2-1-3-2-2
62	تشغيل الجهاز	3-1-3-2-2
62	نزع الهلام	4-1-3-2-2
63	تحليل البيانات للترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية	5-1-3-2-2
63	تحديد بصمة الحمض النووي DNA باستخدام طريقة ISSR	2-3-2-2
63	استخلاص الحمض النووي DNA	1-2-3-2-2
65	قياس تركيز الحمض النووي DNA	2-2-3-2-2
65	تحديد بصمة الحمض النووي DNA بطريقة ISSR باستعمال تقنية PCR	3-2-3-2-2
65	مضاعفة الحمض النووي DNA باستخدام تقنية PCR	1-3-2-3-2-2
66	استخلاص هلام الاكاروز	4-2-3-2-2
67	تحليل البيانات	5-3-2-2
68	التحليل الاحصائي	3-2
69	النتائج والمناقشة	3
69	مواصفات التربة لمواقع الدراسة في محافظة البصرة	1-3
72	التغاير الموسمي للتلوث بالمعادن الثقيلة في محافظة البصرة	2-3
72	التركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة في موسمي الامطار والجفاف	1-2-3
75	التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة في التربة في موسمي الامطار والجفاف	2-2-3
77	محتوى اوراق نخيل التمر من المعادن الثقيلة في موسمي	3-2-3

	الامطار والجفاف	
80	نتائج الارتباط بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة وصفات التربة خلال موسمي الامطار والجفاف	4-2-3
80	نتائج الارتباط بين التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة وصفات التربة خلال موسمي الامطار والجفاف	5-2-3
87	تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات الكيموحيوية والتشريحية والنبات الوراثي لأوراق نخيل التمر	3-3
87	محتوى التربة واوراق نخيل التمر من الكادميوم والرصاص	1-3-3
89	تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات الكيموحيوية لنخيل التمر	2-3-3
89	صبغات البناء الضوئي ومؤشر ثباتية الكلوروفيل	1-2-3-3
95	الكربوهيدرات الكلية الذائبة	2-2-3-3
97	البرولين	3-2-3-3
98	الاحماض الامينية الحرة	4-2-3-3
100	البروتينات الذائبة الكلية	5-2-3-3
102	بيروكسيد الهيدروجين	6-2-3-3
103	فعالية انزيم البيروكسيديز	7-2-3-3
105	اكسدة الدهون ومؤشر ثباتية الاغشية	8-2-3-3
108	المركبات الفينولية الكلية	9-2-3-3
110	تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات التشريحية لاوراق نخيل التمر	3-3-3
110	حجم الحزم الوعائية والخشب واللحاء في اوراق نخيل التمر صنف البرحي	1-3-3-3
114	سمك البشرة وطبقة الكيوتكل في اوراق نخيل التمر صنف البرحي	2-3-3-3
117	النسيج المتوسط Mesophyll والخلايا البارنكيمية في اوراق نخيل التمر صنف البرحي	3-3-3-3
121	انتشار التانين	4-3-3-3
123	تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات الوراثية لاشجار نخيل التمر	4-3-3

123	الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية	1-4-3-3
129	استعمال تقانة ISSR في الكشف عن التغيرات الوراثية في نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص	2-4-3-3
129	البادئ 818	1-2-4-3-3
130	البادئ 822	2-2-4-3-3
130	البادئ 834	3-2-4-3-3
131	البادئ 855	4-2-4-3-3
133	مؤشر التشابه الوراثي لنخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص	3-4-3-3
134	مؤشر ثبات القالب الوراثي لنخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص	4-4-3-3
139	الاستنتاجات والتوصيات	
141	التوصيات	
142	المصادر	

فهرست الجداول		
رقم الصفحة	العنوان	رقم الجدول
66	البادئات المستعملة لتحديد البصمة الوراثية بطريقة ISSR.	1
67	برنامج PCR المستعمل في مضاعفة الحمض النووي DNA	2
67	مكونات العينة المستعملة في تفاعل PCR	3
71	مواصفات التربة لمواقع الدراسة في موسمي الامطار والجفاف	4
74	التركيز الكلي للمعادن الثقيلة (ملغم/كغم) في تربة مواقع الدراسة	5
76	التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة (ملغم/كغم) في تربة مواقع الدراسة	6
79	محتوى أوراق نخيل التمر في مواقع الدراسة من المعادن الثقيلة (ملغم/كغم)	7
81	تحليل الارتباط بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة وصفات التربة في موسمي الامطار والجفاف	8
81	تحليل الارتباط بين التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة وصفات التربة في موسمي الامطار والجفاف	9
88	محتوى التربة واوراق نخيل التمر من الكادميوم والرصاص في بداية التجربة وبعد 180 يوماً.	10
94	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في تركيز صبغات البناء الضوئي (ملغم/غم وزن طري) لأوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي.	11
112	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في حجم الحزم الوعائية الكبيرة والخشب واللحاء (مايكروميتر) لأوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي	12
115	سمك البشرة وطبقة الكيوتكل (مايكروميتر) في أوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص	13
119	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في سمك النسيج	14

	المتوسط وحجم الخلايا البارنكيميية في أوراق نخيل التمر صنف البرحي	
125	الحزم البروتينية المتكونة واوزانها الجزيئية (كيلو دالتون) للبروتينات الذائبة الكلية لنخيل التمر صنف البرحي المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص	15
125	مؤشر التشابه الوراثي حسب مقياس (1979) Nei and Li للبروتينات الذائبة في نخيل التمر صنف البرحي المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص	16
131	عدد حزم الحمض النووي DNA المتضاعفة والحزم المتباينة لبادئات مختلفة من ISSR وكفاءتها ونسبة التباين وقوتها التشخيصية	17
134	مؤشر التشابه الوراثي (GSI) للحمض النووي DNA في نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص والمضاعف باستخدام تقنية ISSR.	18

فهرست الاشكال		
رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
6	مخطط يوضح الوصف النباتي لشجرة نخيل التمر (Zaid and De wet,) (2002).	1
10	الجدول الدوري Periodic Table للعناصر .	2
29	التركيب الكيميائي للأحماض الامينية	3
30	التركيب الكيميائي للبرولين	4
44	خريطة مواقع جمع عينات اوراق نخيل التمر والتربة في محافظة البصرة	5
95	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في مؤشر ثباتية الكلوروفيل (%) في أوراق نخيل التمر صنف البرحي .	6
96	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في تركيز الكربوهيدرات الذائبة الكلية في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم).	7
98	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في تركيز البرولين في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (مايكرومول/غم).	8
100	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في تركيز الاحماض الامينية الحرة في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم) .	9
101	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في تركيز البروتينات الذائبة الكلية في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم وزن طري).	10

103	تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في تركيز بيروكسيد الهيدروجين في اوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (مايكرومول/غم).	11
105	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في فعالية انزيم البيروكسيداز في اوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (وحدة/دقيقة/غم).	12
107	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز MDA في أوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (نانومول/غم).	13
107	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في مؤشر ثباتية الاعشبية في اوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (%).	14
109	تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز المركبات الفينولية الكلية (ملغم/غم وزن جاف) في اوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي.	15
124	نمط توزيع الحزم البروتينية في اوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص.	16
126	مخطط التحليل التجميحي بواسطة UPGAM اعتماداً على قيم التشابة الوراثي حسب (1979) Nie and Li لاوراق نخيل التمر المعامل بتركيز مختلفة الكاديوم والرصاص باستخدام طريقة SDS PAGE للبروتينات الكلية الذائبة.	17
135	الشكل (18) مخطط التحليل التجميحي بواسطة UPGAM اعتماداً على قيم التشابة الوراثي حسب (1979) Nie and Li لاوراق نخيل التمر المعامل	18

136	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في مؤشر ثباتية القالب الوراثي GTS لنخيل التمر صنف البرحي (%).	19
-----	--	----

فهرست الصور		
رقم الصفحة	العنوان	رقم اللوحة
113	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم و الرصاص في حجم الحزم الوعائية لأوراق نخيل التمر صنف البرحي (X40)	1
116	تأثير المعاملة بالكادميوم و الرصاص في خلايا البشرة وطبقة الكيوتكل في أوراق نخيل التمر صنف البرحي (100 x).	2
120	تأثير المعاملة بالكادميوم و الرصاص في خلايا النسيج المتوسط التي تحيط بالحزم الوعائية الصغيرة في أوراق نخيل التمر صنف البرحي (X 40).	3
122	تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم و الرصاص في انتشار مركبات التانين في أوراق نخيل التمر صنف البرحي (10 X).	4
132	الترحيل الكهربائي لحزم DNA المتضاعفة باستخدام مؤشر ISSR لعينات من نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص	5

1: المقدمة واستعراض المراجع Introduction and Literatures review**1-1: المقدمة**

تُعد مشكلة التلوث البيئي Environmental pollution من المشاكل الأكثر أهمية التي تواجه العالم اليوم، وارتباط هذه المشكلة بصحة البيئة والكائنات الحية من بينها الانسان ولدت قلقاً عالمياً متزايداً بشأنها.

ويعرّف التلوث Pollution على انه أي تغيير غير مرغوب فيه في الخصائص الفيزيائية والكيميائية والحيوية للهواء والماء والتربة، او تلك التي تلحق الاذى بالحياة او قد تسبب خطراً محتملاً لصحة اي كائن حي، ويطلق على اي مادة تسبب التلوث بالملوثات Pollutants والتي يمكن ان تعرف على انها اي مادة صلبة او سائلة او غازية وتوجد بتراكيز معينة قد تؤدي إلى احداث ضرراً للبيئة والكائنات الحية (Bhatia, 2009). إن زيادة النشاط البشري Anthropogenic activity في العقود الاخيرة أدى إلى انبعاث أنواع مختلفة من الملوثات إلى البيئة (Onder and Dursun, 2006)، وتعدّ المعادن الثقيلة Heavy Metals من بين اخطر هذه الملوثات، وتكمن خطورة هذه الملوثات كونها تميل إلى التراكم في التربة و انسجة الكائنات الحية بسبب عدم تحللها (Alloway, 1995; Dalman *et al.*, 2006)، وعلى الرغم من كونها احد المكونات الطبيعية لقشرة الارض Earth crust، وإن البعض منها تحتاجه الكائنات الحية بتراكيز محددة مثل الحديد والزنك والنحاس والكروم إلا إن بعضها لا يعرف له اي دور حيوي لحد الان وهو سام عند اي تركيز مثل الكاديوم والرصاص والزرنيق (McGrath *et al.*, 2001). إن زيادة النشاطات البشرية أدت إلى الاخلال في توازن المعادن الثقيلة الكيميائي والحيوي في الطبيعة (Singh *et al.*, 2011)، وإن ارتفاع تراكيز هذه المعادن في البيئة سواء في الهواء أو التربة أو الماء يعد خطراً يهدد جميع الكائنات الحية، وتتمثل خطورتها بالأثار السامة لهذه المعادن

في العمليات الحيوية والجزيئات الحيوية الكبرى مثل البروتينات والكربوهيدرات والدهون والاحماض النووية وقد يصل تأثيرها إلى موت الكائن الحي (Sharma and Agrawal, 2005).

تعد التربة المخزن الرئيس للمعادن الثقيلة التي تنبعث في البيئة، وان تلوث التربة سيما الزراعية منها اثار اهتمام المختصين في هذا المجال، ليس فقط لتراكم هذه المعادن في التربة، وانما بسبب انتقال هذه المعادن إلى المحاصيل التي تنمو في التربة الملوثة مما يؤدي إلى دخولها إلى السلسلة الغذائية ومن ثم تشكل خطراً على صحة الانسان فضلاً عن تأثيرها في صحة النباتات (Huang *et al.*, 2007)، ولا تعتمد سمية المعادن الثقيلة على تركيزها الكلي بالتربة فقط بل تعتمد على حركتها وتفاعلها مع مكونات التربة الاخرى (Adriano, 2001; Abollino *et al.*, 2002) إذ يعتمد امتصاص النبات لهذه المعادن على وفرتها وجاهزيتها (Richard *et al.*, 2000). تعدّ النباتات اكثر انواع الكائنات الحية حساسية لتراكم المعادن الثقيلة؛ لكونها كائنات غير متحركة، ولمقدرتها على مراكمة هذه المعادن من خلال امتصاصها من التربة او من خلال الترسيب الجوي (Zurayk *et al.*, 2001)، لذا فقد استعملت النباتات بوصفها مؤشرات حيوية Biomonitors فعالة في تقييم التلوث بالمعادن الثقيلة سواء في الهواء او التربة (Onder *et al.*, 2006)، وتظهر تأثيرات المعادن الثقيلة في النباتات من خلال المظهر الخارجي او على المستوى الكيموحيوي مثل زيادة او تقليل مستوى بعض المركبات والجزيئات في الخلايا او في العمليات الفسلجية والحيوية والتركيب التشريحي للنبات وقد يصل تأثيرها في مستوى الثبات الوراثي Genomic stability للنبات (Shahid *et al.*, 2014).

تتنمي نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. إلى العائلة Aracaceae و يعتقد أن موطنها الاصلي جنوب العراق ومنطقة الخليج العربي ، وهي ذات اهمية اقتصادية واجتماعية كبيرة في العديد من بلدان العالم (Zaid and De wet, 2002)، وهي من ذوات الفلقة الواحدة Monocots، ثنائية المسكن تتميز بزراعتها من اجل ثمارها ذات القيمة الغذائية العالية ومن اجل

النواحي الجمالية، وهي ذات أهمية ثقافية واقتصادية و اجتماعية فضلاً عن كونها ذات أهمية زراعية في جميع انحاء العالم، وفي الشرق الاوسط على وجه الخصوص (Johnson, 2011)، تمتلك أشجار نخيل التمر مدى جغرافياً واسعاً وتنتشر في الولايات المتحدة وشبة الجزيرة العربية وايران وباكستان وشمال افريقيا وتعيش في مدى واسع من درجات الحرارة وانواع مختلفة من الترب الزراعية (Al-Shayeb *et al.*, 1995)، وتنتشر بساتين النخيل على مدى واسع من الاراضي في محافظة البصرة، كما تزرع في المناطق الحضرية وعلى جوانب الطرق للأغراض الجمالية. ونظراً لقلة الدراسات حول تأثير المعادن الثقيلة على اشجار نخيل التمر فان الدراسة الحالية تهدف إلى:-

1. مسح وتقييم لاهم الملوثات (المعادن الثقيلة) السائدة في هواء وتربة مناطق مختلفة من محافظة البصرة.
2. دراسة التغيرات الموسمي Seasonal variation لاهم المعادن الثقيلة وعلاقتها بمواصفات التربة (الفيزيائية والكيميائية).
3. امكانية استعمال نخيل التمر بوصفه مؤشراً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة في محافظة البصرة.
4. بعد تحديد مستويات التلوث بالمعادن الثقيلة (في التربة)، تهدف الدراسة إلى الاجابة عن التساؤلات التالية:

- أ. ما هي مديات الاستجابة الكيموحيوية Biochemical response التي يبديها النخيل المعامل بملوثات المعادن الثقيلة ؟
- ب. هل تسبب مستويات التلوث بالمعادن الثقيلة اي تغييرات تشريحية على النخيل المعامل بها ؟
- ج. هل تسبب هذه المعادن الثقيلة اي تغيرات وراثية Genetic variations في النخيل المعامل ؟

2-1: استعراض المراجع

1-2-1: الوصف التصنيفي والنباتي لنخيل التمر Botanical description

of Date Palm

تعدّ شجرة نخيل التمر من اقدم أشجار الفاكهة التي عرفها الانسان وعمل على زراعتها ورعايتها (Al-Yahyai and Manickavasagen, 2012)، و ينتمي نخيل التمر إلى الجنس *Phoenix* الذي يضم 14 نوعاً Species، وإلى النوع *dactylifera* الذي يتميز عن بقية انواع جنس *Phoenix* بقابليته على انتاج الفسائل Offshoots وهي تتبع التصنيف العلمي التالي في المملكة النباتية (غالبا، 2008):

القسم Division: الوعائيات Tracheophyta

تحت القسم: Subdivision: مغطاة البذور Angiospermeae

الصف Class: نوات الفلقة الواحدة Monocotyledon

الرتبة Order: النخيليات Arecaceae

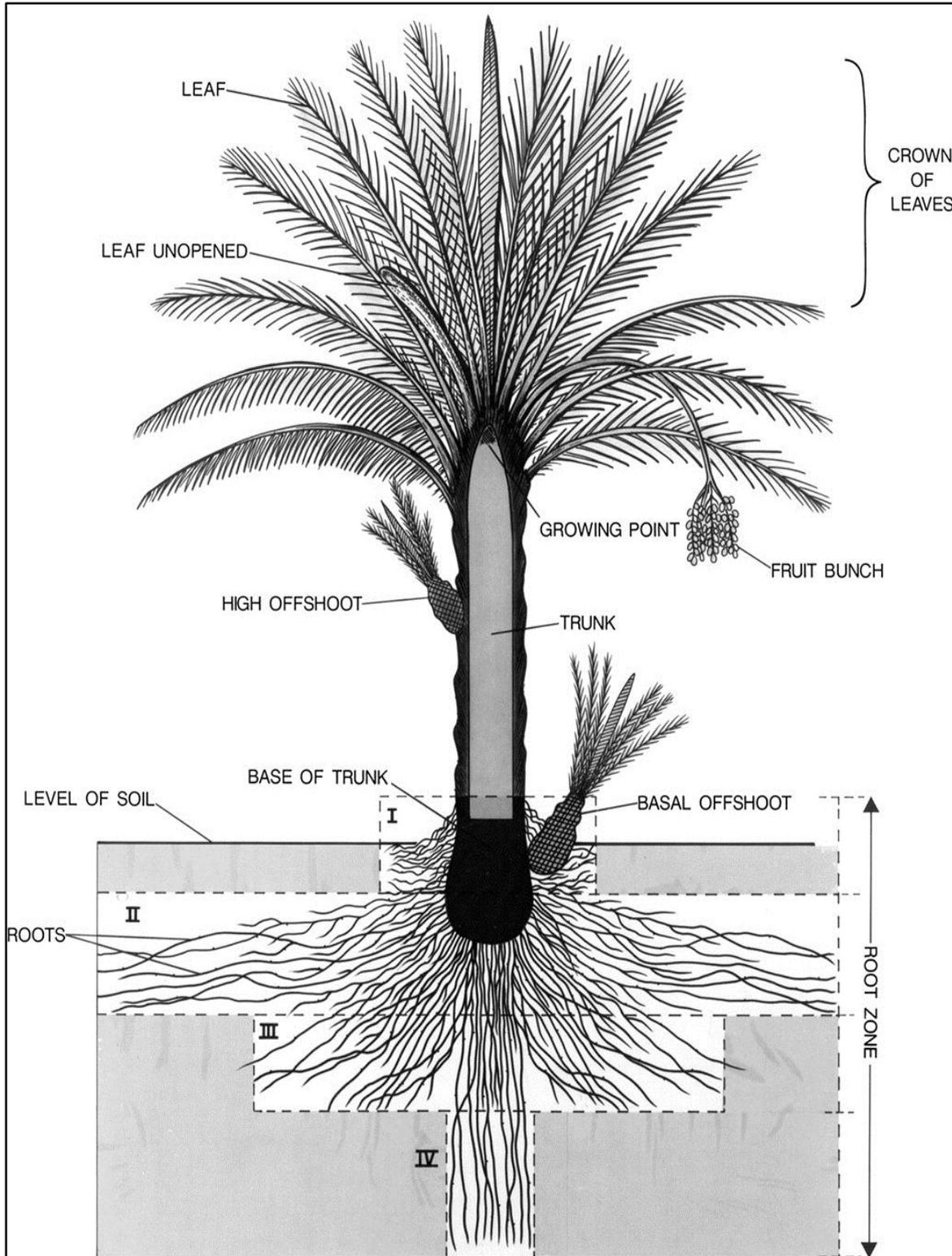
العائلة Family: النخيلية Arecaceae

الجنس Genus: *Phoenix*

النوع Species: *dactylifera*

تعدّ شجرة النخيل من الأشجار المعمرة، ويتكون النظام الجذري Root system من جذور عرضية ليفية لا يزيد سمكها على 1.25 سم. وتنشأ هذه الجذور من النقطة المحيطية عند قاعدة الساق وتتفرع منها جذور ثانوية. ولا يوجد لجذور النخيل شعيرات جذرية، كما هو الحال في أشجار الفاكهة الأخرى، ولذا فإن النخيل يعتمد في الامتصاص على تفرعات جذرية قصيرة تخرج من الجذور الأصلية وهي توجد بالقرب من أطراف الجذور الحديثة غالباً (Zaid and De Wet, 2002). اما مجموعها الخضري Vegetation system فيتكون من جذع Trunk وأوراق

Leaves تسمى السعف، والجذع عبارة عن ساق اسطوانية الشكل مغطى بقواعد الأوراق (السعف) غير متفرع، إذ تندر التفرعات في النخيل، قد يصل إلى ارتفاع 15 م ويكون في قمته البرعم الطرفي Apical Bud المسؤول عن النمو الطولي للشجرة ونمو السعف (ابراهيم، 2008)، اما أوراق أشجار نخيل التمر فهي عبارة عن ورقة ريشية مركبة Pinnately compound leaf، وتتكون من جزئين هما: الجزء السفلي ويسمى عنق السعفة Petiole ويتكون من قاعة السعفة Rachis base والغمد الليفي Fibrous sheath، اما الجزء العلوي فيسمى نصل السعفة Leaf blade ويتكون من الخوص Pinnae والاشواك Spines والعرق الوسطي (الجريدة) Rachis الذي تنتشر على جانبية الخوص والشوك، والخوص عبارة عن وريقة Leaflet تتصل بصورة مائلة على العرق الوسطي، يتراوح عددها بين (120-240) في السعفة الواحدة (غالبا، 2008). اما المجموع الزهري في النخيل فهو عبارة عن نورات زهرية Inflorescence ويسمى احيانا بالنورة الاغريضية Spathe وهي تكون اما ذكورية وتنمو على أشجار يطلق عليها نخيل ذكري (افحل) او انثوية وتنمو على أشجار يطلق عليها المؤنثة، ولذا فان أشجار النخيل هي ثنائية المسكن Dioecious واحادية الجنس Unisexual (Zaid and De wet, 2002)، ويتكاثر نخيل التمر اما بواسطة البذور ويسمى تكاثراً جنسياً Sexual propagation او بواسطة الفسائل ويسمى تكاثراً خضرياً Vegetative propagation، كما يمكن اكاثرها خارج الجسم الحي *in vitro* بطريقة زراعة الانسجة Plant Tissue culture (Al-Yahyai and Manickavasagen, 2012).



شكل (1) مخطط يوضح الوصف النباتي لشجرة نخيل التمر (Zaid and De wet,)

.(2002)

2-2-1: المعادن الثقيلة Heavy Metals

اختلفت المصادر العلمية في تعريف المعادن الثقيلة لكنها اشتركت باعتمادها على عدة معايير مثل الصفات الفيزيائية و الكثافة و الوزن والعدد الذري (Duffus, 2002)، إلا أن التعريف الأكثر شيوعاً هو أنها الفلزات او اشباه الفلزات التي تكون كثافتها اكثر من 5 غم/سم³ وتكون سامة (Suciu *et al.*, 2008). إن استعمال هذه المعايير في تعريف المعادن الثقيلة لم يحظ بقبول لدى المختصين في علوم الحياة، إذ أشار (Appenroth 2010) إلى أن الكائنات الحية لا تتعامل مع هذه الصفات بالنسبة للعناصر الكيميائية او مركباتها واقترح ان يتم تصنيف المعادن الثقيلة حسب موقعها من الجدول الدوري الذي يعكس صفات كل عنصر حسب موقعه من الجدول.

اعتماداً على معيار الكثافة فانه يوجد 53 عنصراً من 90 عنصراً طبيعياً تعد من المعادن الثقيلة من ضمنها الزرنيخ As وهو من اشباه الفلزات لكنه يعد معدناً ثقيلاً نظراً لسميته (Weast, 1984)، وتوجد هذه المعادن طبيعياً في قشرة الارض و الصخور الام بأشكال وصور كيميائية مختلفة، تغلب عليها صورة كبريتات او اكاسيد او بالصورتين (Duruibe *et al.*, 2007). وتقسم مصادر المعادن الثقيلة إلى مصادر طبيعية Natural sources ومن اهمها عمليات التعرية على القشرة الارضية Crustal Erosions وعمليات التجوية على الصخور الام ورذاذ البحر والغبار القاري (Hopkin, 1989)، أو إلى النشاطات البشرية Anthropogenic Activities التي تعد المصدر الرئيس لتلوث البيئة بالمعادن الثقيلة (You *et al.*, 2015)، وقد قسم (Ross 1994) مصادر التلوث بالمعادن الثقيلة من الفعاليات البشرية إلى خمس مجاميع رئيسة هي التعدين وصهر المعادن Metalliferous mining and smelting والصناعة Industry والترسب الجوي Atmospheric deposition والزراعة Agriculture والتخلص من النفايات Waste disposal، فضلاً عن انبعاثات المعادن الثقيلة من الحركة المرورية التي تشمل

احتراق الوقود سيما المحتوية على الرصاص وزيت المحرك واستهلاك الاطارات والكوابح وتآكل الطرق (Pal *et al.*, 2011).

3-2-1: التلوث بالمعادن الثقيلة Heavy metal pollution

تعد مشكلة التلوث البيئي احدى اهم التحديات التي تواجه العالم اليوم (Rai, 2002)، وإن هذه المشكلة تفاقمت مع الزيادة السريعة في وتيره النشاط البشري سيما النشاط الصناعي بعد الثورة الصناعية (Yadav, 2010). وتعرف المعادن الثقيلة كونها من اخطر الملوثات البيئية نظراً لسميتها وثباتها في البيئة (Guo *et al.*, 2013)، وتعتمد سمية المعدن الثقيل على عدة عوامل منها نوع المعدن ودوره الحيوي وتركيزه ومدة التعرض ونوع الكائن الحي، ويصنف 17 من 53 معدناً ثقيلًا على انها شديدة السمية ومنها الرصاص والكاديوم والزرنيق والزرنيخ والكروم (Abdullahi, 2013).

1-3-2-1: الرصاص (Pb) Lead

يقع الرصاص في المجموعة 14 الدورة 6 ضمن الجدول الدوري Periodic Table، وهو من الفلزات بعد الانتقالية Post-transition، لونه رمادي داكن والعدد الذري له 82 شكل (2)، وتبلغ كثافته 11.34 غم/سم³ وكتلته الذرية 207.2 غم/مول، درجة غليانه 1749 م°، ودرجة الانصهار 327 م° (Hernberg, 2000)، يوجد الرصاص في الطبيعة بتركيز 14.8 ملغم/كغم في قشرة الارض، ويوجد بعدة اشكال منها كبريتيد الرصاص (PbS) و كاربونات الرصاص (PbCO₃) و كبريتات الرصاص (PbSO₄) (Wedepohl, 1995)، ويعد التعدين وصهر المعادن من المصادر المهمة لتلوث البيئة بالرصاص، كما أن استمرار بعض الدول ومنها العراق في استعمال الطلاء والوقود المحتوي على الرصاص يؤدي إلى زيادة انبعاث الرصاص إلى البيئة وبمعدلات خطيرة (Steinnes, 2013).

Cadmium (Cd) :2-3-2-1 الكاديوم

ينتمي الكاديوم إلى مجموعة العناصر الانتقالية في الجدول الدوري ويقع ضمن المجموعة 12 والدورة 5، لونه بين الفضي والابيض، عدده الذري 48 وكثافته 8.65 غم/سم³، وكتلته الذرية 112.41 غم/مول، ودرجة انصهاره 321 °م ودرجة غليانه 765 °م (Morrow, 2010)، ويوجد الكاديوم طبيعياً في قشرة الارض بتركيز يتراوح بين 0.1-1 ملغم/كغم حسب الصخور المعدنية، ويوجد بعدة اشكال منها كبريتيد الكاديوم (CdS) وكاربونات الكاديوم (CdCO₃) واوكسيد الكاديوم (CdO)، وهو ينتشر بشكل واسع مع خامات الزنك (Smolders and Mertens, 2013)، وتعدّ عمليات التعدين وصهر المعادن واحتراق الفحم والوقود الاحفوري والاسمدة الفوسفاتية واستعمال مياه المجاري في سقي الاراضي الزراعية من اهم مصادر التلوث بالكاديوم (Nordberg, 2009).

Chromium (Cr) :3-3-2-1 الكروم

يعدّ الكروم احد العناصر الانتقالية، إذ ينتمي إلى المجموعة 6 والدورة 4، ويبلغ العدد الذري 24 وكتلته الذرية 51.99 غم/مول، وكثافته 7.19 غم/سم³، ودرجته انصهاره 1907 °م ودرجة الغليان 2671 °م (Gonnelli and Renella, 2013)، ويبلغ معدل تركيز الكروم في القشرة الارضية 37 ملغم/كغم، ويوجد في الطبيعة بعدة اشكال منها اوكسيد الكروم Cr₂O₃ وكاربونات الكروم Cr₂(CO₃)₃ و هيدروكسيد الكروم Cr(OH)₃، كما يوجد بشكل ايون مدمص على غرويات التربة (Dai et al., 2004)، يدخل الكروم في العديد من الصناعات مثل صناعة اللوحات الكهربائية والالكترونية وصناعة القماش والجلود والدهانات والاصباغ، ويعدّ التخلص من النفايات المحتوية على الكروم واحتراق الفحم والوقود الاحفوري من مصادر التلوث البيئي بالكروم (Izbicki et al., 2008).

Cobalt (Co) الكوبلت 4-3-2-1

يقع الكوبلت في المجموعة 9 الدورة 4 في الجدول الدوري، وهومن الفلزات الانتقالية،

والعدد الذري له 27 وكتلته الذرية 58.93 غم/مول وكتافته 8.9 غم/سم³، درجة انصهاره 1495

°م، ودرجة غليانه 2927 °م (Uren, 2013)، يبلغ تركيزه في قشرة الارض 20 ملغم/كغم

والكلوريدات والكبريتات والكاربونات هي الاشكال الاكثر وفرة من الكوبلت في التربة (Lison,

2005)، يعدّ احتراق الفحم والوقود الاحفوري من المصادر الرئيسية للتلوث بالكوبلت فضلاً عن

استعمال الاسمدة سيما الفوسفاتية ونفايات الصناعات المحتوية الكوبلت واستعمال مياه الصرف

الصحي (Barceloux, 1999).

Periodic Table of the Elements																																															
1 IA 1A																	18 VIIIA 8A																														
1 H Hydrogen 1.008	2 He Helium 4.003																																														
3 Li Lithium 6.941	4 Be Beryllium 9.012																	10 Ne Neon 20.180																													
11 Na Sodium 22.990	12 Mg Magnesium 24.305	13 Al Aluminum 26.982	14 Si Silicon 28.086	15 P Phosphorus 30.974	16 S Sulfur 32.066	17 Cl Chlorine 35.453	18 Ar Argon 39.948																																								
19 K Potassium 39.098	20 Ca Calcium 40.078	21 Sc Scandium 44.956	22 Ti Titanium 47.867	23 V Vanadium 50.942	24 Cr Chromium 51.996	25 Mn Manganese 54.938	26 Fe Iron 55.845	27 Co Cobalt 58.933	28 Ni Nickel 58.693	29 Cu Copper 63.546	30 Zn Zinc 65.38	31 Ga Gallium 69.723	32 Ge Germanium 72.631	33 As Arsenic 74.922	34 Se Selenium 78.971	35 Br Bromine 79.904	36 Kr Krypton 84.798																														
37 Rb Rubidium 84.468	38 Sr Strontium 87.62	39 Y Yttrium 88.906	40 Zr Zirconium 91.224	41 Nb Niobium 92.906	42 Mo Molybdenum 95.95	43 Tc Technetium 98.907	44 Ru Ruthenium 101.07	45 Rh Rhodium 102.906	46 Pd Palladium 106.42	47 Ag Silver 107.868	48 Cd Cadmium 112.414	49 In Indium 114.818	50 Sn Tin 118.710	51 Sb Antimony 121.760	52 Te Tellurium 127.6	53 I Iodine 126.904	54 Xe Xenon 131.294																														
55 Cs Cesium 132.905	56 Ba Barium 137.328	57-71 Lanthanide Series	72 Hf Hafnium 178.49	73 Ta Tantalum 180.948	74 W Tungsten 183.84	75 Re Rhenium 186.207	76 Os Osmium 190.23	77 Ir Iridium 192.217	78 Pt Platinum 195.085	79 Au Gold 196.967	80 Hg Mercury 200.592	81 Tl Thallium 204.383	82 Pb Lead 207.2	83 Bi Bismuth 208.980	84 Po Polonium [208.982]	85 At Astatine 209.987	86 Rn Radon 222.018																														
87 Fr Francium 223.020	88 Ra Radium 226.025	89-103 Actinide Series	104 Rf Rutherfordium [261]	105 Db Dubnium [262]	106 Sg Seaborgium [266]	107 Bh Bohrium [264]	108 Hs Hassium [269]	109 Mt Meitnerium [268]	110 Ds Darmstadtium [269]	111 Rg Roentgenium [272]	112 Cn Copernicium [277]	113 Uut Ununtrium unknown	114 Fl Flerovium [289]	115 Uup Ununpentium unknown	116 Lv Livermorium [298]	117 Uus Ununseptium unknown	118 Uuo Ununoctium unknown																														
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>57 La Lanthanum 138.905</td> <td>58 Ce Cerium 140.116</td> <td>59 Pr Praseodymium 140.908</td> <td>60 Nd Neodymium 144.243</td> <td>61 Pm Promethium 144.913</td> <td>62 Sm Samarium 150.36</td> <td>63 Eu Europium 151.964</td> <td>64 Gd Gadolinium 157.25</td> <td>65 Tb Terbium 158.925</td> <td>66 Dy Dysprosium 162.500</td> <td>67 Ho Holmium 164.930</td> <td>68 Er Erbium 167.259</td> <td>69 Tm Thulium 168.934</td> <td>70 Yb Ytterbium 173.055</td> <td>71 Lu Lutetium 174.967</td> </tr> <tr> <td>89 Ac Actinium 227.028</td> <td>90 Th Thorium 232.038</td> <td>91 Pa Protactinium 231.036</td> <td>92 U Uranium 238.029</td> <td>93 Np Neptunium 237.048</td> <td>94 Pu Plutonium 244.064</td> <td>95 Am Americium 243.061</td> <td>96 Cm Curium 247.070</td> <td>97 Bk Berkelium 247.070</td> <td>98 Cf Californium 251.080</td> <td>99 Es Einsteinium [254]</td> <td>100 Fm Fermium 257.095</td> <td>101 Md Mendelevium 258.1</td> <td>102 No Nobelium 259.101</td> <td>103 Lr Lawrencium [262]</td> </tr> </tbody> </table>																		57 La Lanthanum 138.905	58 Ce Cerium 140.116	59 Pr Praseodymium 140.908	60 Nd Neodymium 144.243	61 Pm Promethium 144.913	62 Sm Samarium 150.36	63 Eu Europium 151.964	64 Gd Gadolinium 157.25	65 Tb Terbium 158.925	66 Dy Dysprosium 162.500	67 Ho Holmium 164.930	68 Er Erbium 167.259	69 Tm Thulium 168.934	70 Yb Ytterbium 173.055	71 Lu Lutetium 174.967	89 Ac Actinium 227.028	90 Th Thorium 232.038	91 Pa Protactinium 231.036	92 U Uranium 238.029	93 Np Neptunium 237.048	94 Pu Plutonium 244.064	95 Am Americium 243.061	96 Cm Curium 247.070	97 Bk Berkelium 247.070	98 Cf Californium 251.080	99 Es Einsteinium [254]	100 Fm Fermium 257.095	101 Md Mendelevium 258.1	102 No Nobelium 259.101	103 Lr Lawrencium [262]
57 La Lanthanum 138.905	58 Ce Cerium 140.116	59 Pr Praseodymium 140.908	60 Nd Neodymium 144.243	61 Pm Promethium 144.913	62 Sm Samarium 150.36	63 Eu Europium 151.964	64 Gd Gadolinium 157.25	65 Tb Terbium 158.925	66 Dy Dysprosium 162.500	67 Ho Holmium 164.930	68 Er Erbium 167.259	69 Tm Thulium 168.934	70 Yb Ytterbium 173.055	71 Lu Lutetium 174.967																																	
89 Ac Actinium 227.028	90 Th Thorium 232.038	91 Pa Protactinium 231.036	92 U Uranium 238.029	93 Np Neptunium 237.048	94 Pu Plutonium 244.064	95 Am Americium 243.061	96 Cm Curium 247.070	97 Bk Berkelium 247.070	98 Cf Californium 251.080	99 Es Einsteinium [254]	100 Fm Fermium 257.095	101 Md Mendelevium 258.1	102 No Nobelium 259.101	103 Lr Lawrencium [262]																																	

© 2015 Todd Helmenstine
sciencenotes.org

شكل (2) يوضح الجدول الدوري Periodic Table للعناصر .

Availability of Heavy metals جاهزية المعادن الثقيلة في التربة :4-2-1**in soil**

تعدّ التربة هي المستقبل الاكبر للمعادن المترسبة من الجو (Singh *et al.*, 2011)، وإن تراكم المعادن الثقيلة في التربة وارتفاع تراكيزها في محلولها يؤدي إلى امتصاصها من قبل النباتات بواسطة الجذور لان مقدرة النبات على امتصاص العناصر الضرورية تساوي مقدرتها على تجنب امتصاص العناصر غير الضرورية (Djingova and Kuleff, 2000). ويعتمد الامتصاص على الشكل الجاهز Available form من هذه المعادن، إذ أن التركيز الكلي للمعدن في التربة لا يعدّ جاهزا للامتصاص من قبل الجذور (Wang *et al.*, 2006). تعتمد جهوزية هذه العناصر ووفرته للامتصاص على عوامل عدة منها مواصفات التربة مثل الأس الهيدروجيني pH للتربة والتوصيل الكهربائي (Ec) Electric Conductivity ومحتواها من المادة العضوية (OM) Organic matter و سعة تبادل الايونات الموجبة Cation exchange capacity (CEC) (Sherene, 2010)، وظروف التربة كالحرارة والرطوبة، فضلاً عن عدة عوامل اخرى مثل تركيز المعدن وتهوية التربة ونشاط الاحياء الدقيقة فيها وكثافة وشحنة غرويات التربة (Chibuike and Obiora, 2014).

1-4-2-1: الأس الهيدروجيني pH

يمثل الأس الهيدروجيني في محلول ما سالب لوغاريثم (-Log) تركيز ايون الهيدروجين، وهو مقياس لحموضة او قاعدية المحاليل بما في ذلك محلول التربة (Norby, 2000).

إن حركة وذوبانية وجاهزية المعادن الثقيلة في التربة تعتمد بشكل عام على صفات الامتصاص والادمصاص لها، وان هذه الصفات تتأثر بصفات التربة الاخرى ومن اهمها الأس الهيدروجيني (Zhao *et al.*, 2010). وقد أشار Sherene (2010) إلى أن جاهزية معظم

المعادن الثقيلة تكون قليلة في الترب ذات الأس الهيدروجيني المتعادل او المائل قليلا إلى القاعدية وتزداد جاهزيتها عند زيادة حموضة التربة لكل المعادن الثقيلة باستثناء الزرنيخ (As) والمولبيديوم (Mo) والسيلينيوم (Se)، وقد اكدت دراسات عدة على وجود علاقة ارتباط سلبية بين جاهزية المعادن الثقيلة للامتصاص من قبل النبات في التربة والأس الهيدروجيني لها، منها على سبيل المثال دراسة (Sukreeyapongse *et al.* (2002) و Bang and Hesterberg (2004) والتي أشارت نتائجها إلى أن انخفاض الأس الهيدروجيني للتربة أدى إلى زيادة التركيز الجاهز لمعادن الكاديوم والرصاص والزنك في التربة، وأشار (McBride (2002 إلى أن أكثر عامل محدد لجاهزية الكاديوم في التربة هو الأس الهيدروجيني فضلاً عن تركيزه الكلي.

2-4-2-1: التوصيل الكهربائي للتربة (Ec) Soil electric conductivity

يعبر عن التركيز الكلي للأملاح الذائبة Dissolved Salts في المستخلص المائي للتربة بالتوصيل الكهربائي ويرمز له Ec ، وإن ارتفاع نسبة هذه الاملاح في التربة تؤثر سلباً في صفات التربة و النباتات النامية فيها (Tan, 2009)، كما أن هذا الارتفاع يؤثر في جاهزية المعادن الثقيلة في التربة، ويعتمد هذا الارتفاع على نوع المعدن وتركيزه الكلي ونوع الاملاح الموجودة في التربة (Acosta *et al.*, 2011)، وأشارت المعلومات التي وفرتها الدراسات السابقة (القليلة نسبياً) إلى ان زيادة ملوحة التربة أدت إلى زيادة جاهزية المعادن الثقيلة فيها، عن طريق تكوين املاح المعادن الثقيلة مثل الكلوريدات ويسمى التفاعل كيميائياً بـ Complexation reaction وذوبانها في الماء او عن طريق منافسة Competition الايونات الموجبة في الاملاح للمعادن الثقيلة على سطوح التبادل في غرويات التربة (Hatje *et al.*, 2003; Pedron *et al.*, 2009)، إذ أشار (Acosta *et al.* (2011 إلى أن وجود الاملاح في التربة بصورة كلوريدات قد زادت من جاهزية الكاديوم والرصاص بنسبة من اكبر من وجود الاملاح بصورة كبريتات، وإن منافسة الكالسيوم عند اضافته إلى التربة بشكل كلوريد الكالسيوم أدت إلى زيادة

جاهزية 1.26% من الرصاص الكلي و 22% من الكاديوم الكلي، وإن تكوين املاح المعادن الثقيلة بصورة كلوريدات كانت مسؤولة عن جاهزية 0.75% من الرصاص و 18% من الكاديوم، وذكر (Kadkhodaie *et al.* (2012) أن زيادة ملوحة التربة أدت إلى زيادة التركيز الجاهز من الكاديوم والرصاص والنيكل، كما ارتفعت تراكيزها في جميع اجزاء نباتي زهرة الشمس Sunflower وحشائش السودان Sudangrass.

3-4-2-1: المادة العضوية (OM) Organic Matter

تمثل المادة العضوية في التربة بقايا الجذور والمواد النباتية والكائنات الدقيقة في مختلف مراحل التحلل، ولها دور رئيس في تحبب التربة Soil aggregation والاحتفاظ بالرطوبة والنشاط الحيوي في التربة، كما تعدّ المخزون الرئيس من العناصر الغذائية ووفرتها (Nieder and Benbi, 2008)، ولها مقدرة على التأثير في جاهزية العناصر الغذائية، مما جعلها احد اهم صفات التربة المؤثرة في جاهزية المعادن الثقيلة في التربة، إذ وجد (Dai *et al.* (2004) و (Zeng *et al.* (2011) إن التركيز الجاهز من الكاديوم والرصاص والزنك والكروم والنحاس في التربة يرتبط ارتباطاً موجباً مع محتواها من المادة العضوية، كما وجد أن المواد العضوية المتحللة والتي تمتلك مجاميع وظيفية مثل COOH قادرة على تكوين معقدات مع المعادن الثقيلة تكون هي المسؤولة عن جاهزية المعادن الثقيلة عند ذوبانها في محلول التربة (Ashworth and Alloway, 2004)، وأشار (Sherene (2010 إلى أن جاهزية معدني الكاديوم والرصاص مرتبطة بذوبان حامض الهيومك Humic acid في محلول التربة، وهذا مرتبط بذاته مع انخفاض الأس الهيدروجيني لمحلول التربة.

4-4-2-1: سعة تبادل الأيونات الموجبة Cation Exchange Capacity

(CEC)

يطلق على مقدرة التربة على الاحتفاظ بالأيونات موجبة الشحنة بسعة تبادل الأيونات الموجبة CEC، وهي من الصفات المهمة التي تحافظ على هيكل واستقرار التربة والأس الهيدروجيني فيها، كما تؤثر في جاهزية العناصر، وتعدّ مقياساً لخصوبة التربة (Nieder and Benbi, 2008)، وتمتلك غرويات التربة Colloids (جزيئات الطين المعدنية والمادة العضوية) شحنات سالبة على أسطحها وهي تمسك الأيونات الموجبة في محلول التربة بالتجاذب الكهربائي، ويدلّ ارتفاع قيمة CEC للتربة دليلاً على ارتفاع مقدرتها على مسك الأيونات الموجبة في محلول التربة (Tan, 2009)، وبهذه الخاصية فإن المعادن الثقيلة ترتبط بغرويات التربة (Sherene, 2010)، وتوجد علاقة ارتباط موجبة بين جاهزية معادن الكاديوم والرصاص وبعض المعادن الأخرى في التربة مع قيمة CEC (Modaihsh *et al.*, 2004)، وإن ارتباط جاهزية المعادن الثقيلة بمحتوى التربة من الطين أكبر من ارتباطها بالمادة العضوية (Zeng *et al.*, 2011).

5-2-1: التغيرات الموسمية لتلوث بالمعادن الثقيلة Seasonal**variation of Heavy metals pollution**

تنبعث المعادن الثقيلة إلى الجو من عدة مصادر مثل مداخن المعامل والمصانع وحرق النفايات والحرائق فضلاً عن حرق الوقود وعوادم السيارات، وتنتقل الانبعاثات في الجو إلى مسافات بعيدة عن نقاط انبعاثها أو تسقط قريبة منها (Smirnioudi *et al.*, 1998)، ويعتمد هذا على حجم الجزيئات المنبعثة والعوامل المناخية (Shrivastav, 2001)، وتتمثل العوامل الجوية بالرياح والرطوبة والأمطار، وإنّ ترسبها بفعل الأمطار يسمى ترسيباً رطباً و بدونها يسمى ترسيباً جافاً (Guo *et al.*, 2013).

وقد اجريت دراسات عدة لمعرفة تأثير الموسم في تركيز المعادن الثقيلة في التربة والمجموع الخضري للنباتات، إذ أشار عزيز (1998) الى ان اعلى تركيز من الرصاص في اوراق اشجار نخيل التمر صنف السابر كان في فصل الشتاء وبلغ 5.52 ملغم/كغم، بينما بلغ في موسم الربيع 2.50 ملغم/كغم، ولم تكن هناك تراكيز محسوسة من الرصاص في فصلي الصيف والخريف خلال عام 1997، بينما اشار *Oluyemi et al.* (2008) إلى عدم وجود فروقات معنوية بين تراكيز بعض المعادن الثقيلة ومنها (الكاديوم والكوبلت والكروم والرصاص) في التربة وأوراق بعض النباتات خلال الموسم الجاف والرطب في نيجيريا، وفي دراسة *Yahaya et al.* (2009) لتراكيز بعض المعادن الثقيلة (الكوبلت والكروم والنحاس والحديد والمنغنيز والنيكل والرصاص والزنك) في تربة مواقع جمع النفايات في نيجيريا خلال موسمي الصيف والشتاء، أشارت نتائجهم إلى أن تراكيز هذه المعادن كانت اعلى في موسم الصيف عنها في موسم الشتاء، بينما وجد *Odat and Al-Shammari* (2011) أن تراكيز المعادن الثقيلة المدروسة في التربة المحاذية للطرق السريعة في مدينة حائل السعودية كانت اعلى في الموسم الرطب عنها في الموسم الجاف وأشار *Nwadinigwe et al.* (2014) إلى أن عينات التربة التي جمعت من الاراضي الزراعية في دلتا النيجر في نيجيريا كانت فيها تراكيز بعض المعادن الثقيلة ومنها الكاديوم والكوبلت والرصاص أعلى في الموسم الجاف مقارنة بالموسم الرطب، وأوضح البيضانى وآخرون (2015) اختلاف تركيز المعادن الثقيلة ومنها الرصاص والكاديوم والكوبلت في تربة بعض مواقع محافظة البصرة خلال الفصول الاربعة، وإن معدل تركيز الرصاص والكوبلت كان اعلى في موسم الخريف مقارنة بباقي المواسم، بينما كان أعلى تركيز للكاديوم في فصل الربيع. وفي دراسة اخرى أشارت النتائج إلى أن تركيز بعض المعادن الثقيلة ومنها الرصاص كانت أعلى في العينات المأخوذة من تربة صالحة للزراعة وبساتين نخيل الزيت خلال موسم الجاف مقارنة بتلك المأخوذة خلال موسم الامطار (*Osobamiro and Adewuyi* 2015).

وجد (2016) *Durowoju et al.* أن مستويات بعض المعادن الثقيلة ومنها الرصاص والكاديوم والكروم على سطح التربة وأوراق ولحاء أشجار المانجو *Mangifera indica* كانت في موسم الصيف اعلى من مستوياتها في موسم الشتاء، ووجد *Shaheen et al.* (2016) إن مستويات معادن الكاديوم والنيكل والكروم والرصاص في أوراق أشجار السدر *Ziziphus jujuba* Mill. التي جمعت من المنطقة الصناعية في مدينة جدة في السعودية كانت اعلى في العينات التي جمعت في فصل الصيف مقارنة بتلك التي جمعت في فصل الشتاء، بينما وجد (2016) *Sun and Chen* أن العينات التي جمعت من سطح التربة من عدة مواقع حول مدينة بكين كانت تراكيز الكاديوم والنيكل والنحاس في العينات التي جمعت بعد موسم الامطار اقل من تلك التي جمعت قبل موسم الامطار، وعلى العكس من ذلك فان تراكيز الرصاص والنيكل والزنك قد ازدادت في العينات التي جمعت في الفترة نفسها. بينما أشار (2016) *Azzez et al.* إلى عدم وجود فروقات معنوية بين تراكيز النحاس والكاديوم في التربة والتي جمعت من ثلاثة مواقع مختارة وبمسافات تدرجية (0.5 و 1 و 2 كم) عن محطة الدورة الحرارية في بغداد خلال شهر كانون أول من عام 2014 وتلك التي جمعت من النقاط نفسها خلال شهر ايار 2015، بينما وجد أن تراكيز الرصاص والنيكل كانت أعلى ويفارق معنوي في الفترة الاولى (كانون أول 2014) مقارنة بالفترة الثانية.

1-2-6: استعمال النبات مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة.

Plants as a biomonitor for Heavy metals pollution

يَعْرِف المراقب الحيوي *Biomonitor* بأنه استعمال كائن حي في تقديم معلومات كمية عن صحة النظام البيئي او الكائنات الحية، وهو من انواع المؤشرات الحيوية *Bioindicator* (Bealey *et al.*, 2008)، كما يعد وسيلة لتقييم العناصر النزرة في الهباء الجوي *Aerosols* والترسيب الجوي *Depositions* (Wolterbeek, 2002). تستعمل النباتات بشكل كبير كمراقب

حيوياً للتلوث وذلك لكونها كائنات ثابتة وغير متحركة وأكثر حساسية للملوثات في الجو (Balasooriya *et al.*, 2009)، واستعملت لهذا الغرض العديد من الأنواع النباتية سواء النباتات الواطئة مثل الطحالب والاشنات والسرخسيات او النباتات الراقية (Morselli *et al.*, 2004). يواجه استخدام النباتات الواطئة عدة قيود تتمثل في التوزيع غير المنتظم او المكتمل لها وان اخذ العينات يجب ان يجري بواسطة مختصين يتمكنون من التمييز بين الانواع المتشابهة، فضلاً عن ندرتها او انعدامها في المناطق السكانية والصناعية وعدم مقدرتها على تحمل التغيرات البيئية لذا اصبح استعمال النباتات الراقية اكثر انتشاراً وخاصة اجزاء مختلفة من الأشجار (الأوراق واللحاء) لسهولة تحديد الاجناس والانواع وبساطة اخذ العينات، فضلاً عن الانتشار الواسع في المناطق الصناعية والسكانية مع مقدرتها على تحمل التغيرات البيئية (Berlizov *et al.*, 2007)، كما تتميز النباتات الراقية بتراكم الملوثات الموجودة في التربة في اجزائها الهوائية عن طريق نقلها بواسطة المجموع الجذري فضلاً عن تراكم الملوثات عن طريق الترسيب الجوي (Mulgrew and Williams, 2000).

بشكل عام يمكن تحديد مجموعتين من النباتات الراقية التي تستعمل في عمليات المراقبة الحيوية للتلوث بالمعادن الثقيلة و هي مجموعة الاعشاب والحشائش ومجموعة الأشجار والشجيرات (Bealey *et al.*, 2008).

1-2-6-1: استعمال نخيل التمر مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة.

Date palm as a biomonitor for Heavy metals pollution

تمتلك أشجار نخيل التمر مدى جغرافياً واسعاً وتنتشر في الولايات المتحدة وشبة الجزيرة العربية وايران وباكستان وشمال افريقيا وهي تعيش في مدى كبير من درجات الحرارة وانواع مختلفة من الترب الزراعية (Al-Shayeb *et al.*, 1995)، وتنتشر بساتين النخيل على مدى واسع من الاراضي في محافظة البصرة كما تزرع في المناطق الحضرية وعلى جوانب الطرق

للأغراض الجمالية، لذا استعملت اجزاء عدة منها في المراقبة الحيوية بالمعادن الثقيلة، اذ أثبت (1995) Al-Shayeb *et al.* إمكانية استعمال أوراق نخيل التمر بوصفها مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة في مدينة الرياض في المملكة العربية السعودية، وهذا ما اكده Aksoy and (1996) Ozturk في دراستهم حول امكانية استعمال أوراق أشجار النخيل التمر بوصفها مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة في مدينة انطاليا التركية، كما يمكن استعمال الالياف الموجودة في جذع النخيل بوصفه مراقباً حيوياً جيداً للتلوث بالمعادن الثقيلة (Al-Shayeb and Seaward, 2000). كما بين (2006) Divrikli *et al.* امكانية استعمال أوراق أشجار نخيل التمر بوصفها مراقباً حيوياً للتلوث بالمعادن الثقيلة الناتجة عن كثافة الحركة المرورية، مع تأشير وجود علاقة ارتباط موجبة عالية المعنوية بين التلوث بالمعادن الثقيلة وعدد المركبات في مدينة دينزلي التركية وإن زيادة التلوث بالمعادن الثقيلة في مدينة العقبة الاردنية قد ارتبطت بزيادة الانشطة الصناعية كما أن انبعاثات السيارات هي احدى المصادر المهمة في التلوث بالمعادن الثقيلة سيما الرصاص وكانت مرتبطة بكثافة الحركة المرورية (Al-Khlaifat and Al-Khashman, 2007)، وبينت نتائج دراسة (2011) Al-Khashman *et al.* حول التلوث بالمعادن الثقيلة في مدينة معان الاردنية، إن تركيز الرصاص (ملغم/كغم) في العينات التي جمعت من عدة مواقع في مدينة معان الاردنية كانت 205 و 179.1 من الطريق السريع و 195 و 107.2 من موقع صناعي و 182 و 103 في المواقع الحضرية Urban و 41.7 و 79.2 في المواقع الريفية Rural في حين كان تركيزه 14.6 و 24.5 في موقع المقارنة، في التربة وأوراق النخيل لكل موقع على التوالي، وبين (2015) Abass *et al.* إمكانية استعمال أوراق أشجار نخيل التمر بوصفها مراقباً حيوياً جيداً للتلوث في المعادن الثقيلة في بعض مناطق محافظة البصرة في العراق.

1-2-7: تأثير المعادن الثقيلة في النباتات Heavy metals impact on

plant growth

على الرغم من سمية المعادن الثقيلة للنبات Phytotoxicity الواردة في تعريفها إلا ان هناك حقيقتان يجب الانتباه اليهما عند التعامل مع النبات، الحقيقة الاولى أن بعض المعادن الثقيلة تكون سامة عندما تتجاوز تركيزاً معيناً بمعنى اخر أن الجرعة Dose هي التي تجعل منه ساماً ولها دورٌ مهمٌ في العديد من العمليات الحيوية مثل النحاس والكوبلت والزنك (Appenroth, 2010)، اما الحقيقة الثانية أن بعض المعادن الثقيلة تكون سامة تحت أي تركيز مثل الرصاص والكاديوم والزنك والتي لا يعرف لها دور حيوي إلى الان (Singh *et al.*, 2011).

إن سمية المعادن الثقيلة يمكن ان تؤثر بشكل مباشر او غير مباشر في النبات، ومن التأثيرات المباشرة في النباتات هو تقليل نمو النبات نتيجة لتأثر العديد من العمليات الفسيولوجية والكيموحيوية فيها (Chibuiké and Obiora, 2014) مثل التأثير في انزيمات السايبتوبلازم والتأثير في تركيب الخلية (Jada and Fulekar, 2009)، ومن الامثلة على التأثير السام غير المباشر للمعادن الثقيلة هو استبدال العناصر الغذائية الاساسية في مواقع تبادل الايونات الموجبة في التربة (Taiz and Zeiger, 2002)، علاوة على تأثيرها السلبي في أنشطة الاحياء المجهرية في التربة الذي قد يؤدي إلى خفض تحلل المواد العضوية ومن ثم نقص مغذيات التربة، وتؤدي هذه التأثيرات إلى انخفاض نمو النبات او حتى موته (Chibuiké and Obiora, 2014).

لقد اقترح Fodor (2002) أنموذجاً يتكون من عدة مراحل متعاقبة لتأثير المعادن الثقيلة في النبات تتمثل بوصفها مرحلة اولى في تحفيز تكوين انواع الاوكسجين التفاعلية Reactive Oxygen Species (ROS) وتأثيرها في صفات الاغشية ، تليها المرحلة الثانية التي تتمثل في تفاعلها مع الجزيئات الكبرى في السايبتوبلازم مثل البروتينات والدهون والسكريات المتعددة، وكمرحلة ثالثة من هذا الانموذج فان المعادن الثقيلة تؤثر سلباً في عمليات امتصاص

الماء والنقل والنتح وقد تظهر في هذه المرحلة اعراض السمية وتصبح مرئية على النبات، ثم التأثير في الصبغات النباتية مثل الكلوروفيل وبدرجة اقل الكاروتينويدات ومن ثم التأثير في عملية البناء الضوئي ونمو النبات ويقترح موت الخلايا النباتية كمرحلة خامسة لهذا الانموذج.

1-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في انواع الاوكسجين التفاعلية Reactive

Oxygen Species (ROS)

يطلق مصطلح انواع الاوكسجين التفاعلية (ROS) على عدد من الجزيئات والتي تشق من الاوكسجين الجزيئي (O_2)، مثل الايون السالب من الاوكسجين (O_2^-) و بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 و جذر الهيدروكسيل ($\cdot OH$) (Turrens, 2003)، وتنتج هذه الجزيئات ثانوياً في الخلايا غير المعرضة للإجهاد عند اختزال الاوكسجين إلى ماء اثناء عملية التنفس (Chen *et al.*, 2012)، وتبدء العملية باختزال الاوكسجين بواسطة اليكترون مفرد يؤدي إلى إنتاج O_2^- الذي يعدّ المركب البادئ لمعظم جزيئات ROS (Borisova *et al.*, 2012)، يكون هذا الانيون قصير العمر وغير ثابت كيميائياً يُمتلّ بسرعة إلى بيروكسيد الهيدروجين بواسطة انزيم Superoxide dismutase (SOD) (Bhatt and Tripathi, 2011)، الذي يتحول بوجود الحديد وعبر تفاعل Haber-Weiss إلى جذر الهيدروكسيل $\cdot OH$ ، الذي يعدّ اكثر انواع ROS فعالية والمسؤول عن معظم سمية ROS في النبات (Jones *et al.*, 2011).

يحافظ النبات على المستويات المثلى من انواع ROS من خلال اليات دفاع معقدة تتكون من نظام انزيمي مثل انزيمات Superoxide dismutase و Catalase و Peroxidase و Ascorbate Peroxidase ونظام غير انزيمي مثل جزيئات Glutathione و Ascorbate و Tocopherol والمركبات الفينولية (Yadav *et al.*, 2014)، إلا أن زيادة تراكيز هذه المركبات عن حدود معينة بسبب الاجهادات الحيوية وغير الحيوية ومنها المعادن الثقيلة تفوق مقدرة النبات على إزالة Scavenging هذه المركبات لذا فان النبات يتعرض إلى حالة

من الاجهاد تسمى الاجهاد التأكسدي (Oxidative Stress) وهي حالة عدم التوازن بين محفزات ومضادات الاكسدة لصالح محفزات الاكسدة (Seis, 2015).

يسبب الاجهاد التأكسدي اضراراً بالمكونات الخلوية والعمليات الحيوية والفسولوجية داخل الخلايا من خلال تأثيرها على الجزيئات الحيوية الكبرى مثل البروتينات والدهون والكربوهيدرات و DNA فضلاً عن تثبيط عمل العديد من الانزيمات والتأثير في صفات الاغشية الخلوية ومن ثم موت الخلية (Carol and Dolan, 2006). وتعدّ زيادة انتاج ROS داخل الخلايا النباتية استجابة اولية لتعرض النباتات إلى المعادن الثقيلة (Yadav, 2010).

وتقسم المعادن الثقيلة من حيث تأثيرها في انتاج انواع ROS إلى معادن نشطة الاكسدة والاختزال Redox active مثل النحاس والحديد والكروم و الكوبلت التي تسهم مباشرة في عمليات الاكسدة والاختزال وانتاج انواع ROS عبر تفاعلات Haber-Weiss و Fenton (Gupta *et al.*, 2010)، او معادن غير نشطة الاكسدة مثل الرصاص والكاديوم والزنك والنيكل التي تقوم بتثبيط عمل الانزيمات او الجزيئات المضادة للأكسدة من خلال ارتباطها بمجموعة -SH في الانزيمات او ارتباطها بالمجاميع الوظيفية (COOH) او استبدال المرافقات الانزيمية Cofactors (Cuypers *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012). عادة ما ينظر إلى انواع ROS على انها ذات تأثيرات سامة فقط على النبات، إلا أن دراسات عدة اثبتت أن لها ادواراً اساسية و مهمة لهذه الانواع في حياة النبات منها على سبيل المثال لا الحصر: مقاومة الامراض البكتيرية والفايروسية (Kranner *et al.*, 2010; Rai *et al.*, 2011)، ونقل الإشارات Signal Transduction بين الخلايا النباتية التي تسيطر على موت الخلية المبرمج Apoptosis (Rai *et al.*, 2011; Corpas *et al.*, 2011)، و تنظيم نمو النباتات مثل ترقيق جدار الخلايا (Kranner *et al.*, 2010)، و تنظيم عمليتي البناء الضوئي والتنفس ، والعديد من الادوار المهمة الاخرى (Gill and Tuteja, 2010).

1-1-7-2-1: بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ Hydrogen Peroxide

يلعب بيروكسيد الهيدروجين دوراً بوصفه مركباً ناقلاً للأشارة في اثناء تعرض النباتات للإجهاد وبوصفه وسيطاً في عملية تفعيل انزيمات Activation of Protein Kinases (Opdenakker *et al.*, 2012)، التي يمكن من خلالها تنظيم عملية النسخ الجيني بواسطة تفعيل عوامل النسخ (Tsuda and Somssich, Activation of Transcription Factors) (2015)، وأشار Yeh *et al.* (2007) إلى تحفيز انزيمات Protein Kinases عند انتاج ROS في اثناء تعرض النبات لإجهاد النحاس والكاديوم.

يعدّ قياس مستويات ROS في الخلايا النباتية امر بالغ الصعوبة، لفعاليتها العالية وقصر فترة بقائها، وإن معظم التجارب اعتمدت قياس مستويات بيروكسيد الهيدروجين للدلالة على وجود ROS والذي يعدّ اكثر ثباتية من باقي انواع ROS (Bhatt and Tripathi, 2011; Gill *et al.*, 2015)، وأكدت عديد من الدراسات على وجود علاقة طردية بين مستويات المعادن الثقيلة وإنتاج بيروكسيد الهيدروجين في الخلايا النباتية (Mobin and Khan, 2007; Shakoor *et al.*, 2015; Blasco *et al.*, 2014) ، إذ وجد Wang *et al.* (2016) أن تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراق أشجار الونجان *Dimocarpus longan* Lour. قد ارتفع من 1.37 مايكرومول/ملغم في معاملة المقارنة إلى 5.70 مايكرومول/ملغم عند معاملتها بالرصاص بتركيز 1000 ملغم/كغم وبفارق معنوي، وإن الزيادة في انتاج H₂O₂ كانت طردية مع زيادة تركيز الرصاص، واكد Nogueirol *et al.* (2016) إن معاملة نبات الطماطة *Solanum lycopersicum* L. بالكاديوم بتركيز 12 ملغم/كغم قد أدت إلى رفع تركيز بيروكسيد الهيدروجين من 0.5 في معاملة المقارنة إلى 6 مايكرومول/غم في تربة طينية ومن 0.2 إلى 2.9 مايكرومول/غم في تربة رملية، بينما اكدت دراسات اخرى ان العلاقة عكسية فيما بينهما (Feigl *et al.*, 2013; Moreira *et al.*, 2015). اما فيما يخص الدراسات المتعلقة بمستويات

بيروكسيد الهيدروجين في أشجار نخيل التمر وعلاقته بإجهاد المعادن الثقيلة، فقد أشار Zouari *et al.* (2016) إلى زيادة تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراق نخيل التمر صنف مجهول المعرضة لإجهاد الكادميوم، وإن هذه الزيادة قد تناسبت طردياً مع تركيز الكادميوم، إذ أشاروا إلى أن معاملة التركيز 30 ملغم/كغم أدت إلى رفع تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراقها بنسبة 204% عن معاملة المقارنة، وإنها تفوقت معنوياً على معاملة التركيز 10 ملغم/كغم التي تفوقت بدورها على معاملة المقارنة.

2-1-7-2-1: انزيم البيروكسيداز (POD) Peroxidase Enzyme

يعدّ انزيم البيروكسيداز Peroxidase أحد انزيمات النظام الدفاعي في النباتات ضد أنواع ROS، والذي يعمل على إزالة جذور الاوكسجين الحرة وحماية دهون الاغشية من الأكسدة (He *et al.*, 2011)، وأن وظيفته الرئيسية هي اختزال بيروكسيد الهيدروجين إلى جزيئة ماء و اوكسجين، فضلاً عن وظائف فسلجية مهمة اخرى مثل الاسهام في عملية البناء الضوئي والتنفس وانتاج اللكنين وايض الاوكسينات ومقاومة الاصابة بالفايروسات (Lin and Kao, 2001)، وبما أن تكوين انواع ROS داخل الخلايا النباتية هي الاستجابة الاولى للنباتات عند التعرض للمعادن الثقيلة (Doganlar and Atmaca, 2011) فان الانزيمات المضادة للأكسدة ومنها انزيم البيروكسيداز تعمل على إزالة هذه الانواع او تحويلها إلى مواد اقل سمية (Seis, 2015)، وإن التغيير في فعالية هذا الانزيم تعدّ مؤشراً مهماً لإجهاد المعادن الثقيلة (Baycu *et al.*, 2006). وأشار MacFarlane and Burchett (2001) إلى وجود علاقة ارتباط معنوية بين زيادة تركيز المعادن الثقيلة في أوراق النباتات وزيادة فعالية انزيم البيروكسيداز فيها واثبتت النتائج أن معاملة نبات *Bruguiera gymnorrhiza* L. بالكادميوم والرصاص بتركيز 30 مايكرومولار أدت إلى زيادة فعالية انزيم البيروكسيداز من 273 إلى 312 في معاملة الكادميوم و 522 (وحدة/ملغم بروتين) في معاملة الرصاص (Tao *et al.*, 2012)، وقد قام (Doganlar *et al.* 2012)

بدراسة فعالية انزيم البيروكسيديز في أوراق سبعة انواع من الأشجار (منها نخيل التمر) معرضة لإجهاد المعادن الثقيلة، وأشارت النتائج إلى أن فعالية انزيم البيروكسيديز قد ازدادت في خمسة أنواع من هذه الأشجار بزيادة تراكيز المعادن الثقيلة في أوراقها، ومنها أشجار نخيل التمر التي ارتفعت فعالية الانزيم بمقدار 7.8 ضعف في الموقع الاشد تلوثا و 5.3 ضعف في الموقع متوسط التلوث قياساً بفعاليتها في الأوراق التي جمعت من موقع المقارنة، بينما كانت العلاقة عكسية بين فعالية هذا الانزيم في أوراق أشجار اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. والفلفل الوردية *Schinus molle* L. ومحتوى أوراقها من المعادن الثقيلة، بينما اظهرت دراسة Zouari *et al.* (2016) أن معاملة أشجار نخيل التمر صنف دقلة نور بالكادميوم بتركيز 10 ملغم/كغم أدت إلى خفض فعالية انزيم البيروكسيديز من 5.30 في معاملة المقارنة إلى 3.9 وحدة/ملغم بروتين، إلا أن فعاليته ارتفعت إلى 4.5 وحدة/ملغم/بروتين عند معاملتها بالكادميوم 30 ملغم/كغم .

2-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في عملية البناء الضوئي وصبغات البناء

الضوئي Heavy metals impact on photosynthesis and photosynthetic pigments

تعدّ عملية البناء الضوئي اساس الحياة على الارض وهي اهم عملية كيميائية تجري عليها (Govindjee and Coleman, 1990)، وتتمثل هذه العملية باستعمال طاقة الضوء في انتاج الكلوكوز من ثنائي اوكسيد الكربون والماء (Galston, 1992)، وتجري هذه العملية عبر مرحلتين الاولى تسمى تفاعلات الضوء ويجري فيها امتصاص الضوء من قبل بعض الصبغات التي تسمى صبغات البناء الضوئي Photosynthetic Pigments والثانية تسمى التفاعلات غير المعتمدة على الضوء التي تستعمل مركبات الطاقة التي تنتج في تفاعلات الضوء في انتاج الكلوكوز (Cruz *et al.*, 2005).

تقسم صبغات البناء الضوئي إلى صبغات أساسية في النباتات وهي: صبغات الكلوروفيل a و b، وصبغات ثانوية مثل صبغة الكاروتينويدات (Candan and Tarhan, 2003) وتلعب صبغة الكاروتينويدات فضلاً عن دورها في امتصاص الضوء دوراً مهماً في الحماية من شدة الاضاءة في اثناء عملية البناء الضوئي، وتعدّ المركب البادئ لتخليق لهرمون حامض الابسيسك (Abscisic acid (ABA، فضلاً عن دورها في جذب الملقحات (Eldahshan and Singab, 2013). توجد فضلاً عن هذه الصبغات صبغات اخرى مثل صبغة الانثوسيانين Anthocyanins المسؤولة عن إعطاء اللون الاحمر والازرق والارجواني في أوراق وازهار بعض النباتات، وتوجد هذه الصبغة بتركيز قليلة في أوراق النباتات الخضراء إلا أنها تلعب دوراً مهماً بوصفها مضاداً للاكسدة المهمة عند تعرض النبات للاجهادات الحيوية وغير الحيوية (Gould *et al.*, 2002).

يعدّ التأثير في عملية البناء الضوئي من اهم التأثيرات السامة للمعادن الثقيلة، وإن معظم المعادن الثقيلة تشترك في هذا التأثير عندما تكون بتركيز عالية (Appenroth, 2010)، وقد يكون هذا التأثير مباشراً في تفاعلات الضوء والظلام مثل تثبيط عمل بعض الانزيمات الضرورية المشاركة في دورة كالفن مثل انزيم Rubisco و انزيم PEP carboxylase ، او غير مباشر من خلال التأثير في صبغات البناء الضوئي او التأثير في عملية غلق وفتح الثغور (Mysliwa-Kurdziel *et al.*, 2004). ومن المعروف أن محتوى النبات من الكلوروفيل يعدّ مؤشراً على استمرارية عملية التفاعل الضوئي (Doganlar *et al.*, 2012)، ولقد اثبتت العديد من الدراسات الأثر السلبي للمعادن الثقيلة في محتوى أوراق النباتات من صبغات البناء الضوئي في النبات، اذ أشار (Bhardwaj *et al.* (2009 إلى انخفاض محتوى أوراق نبات الفاصوليا *Phaseolus vulgaris* L. من صبغات كلوروفيل a و b والكاروتينويدات عند إضافة الكاديوم والرصاص إلى التربة عن طريق السقي وإن هذين المعدنين كانا اكثر تأثيراً في صبغة الكلوروفيل

من الكاروتينويدات، و أشار (Nareshkumar *et al.* (2014) إلى أن المعاملة بالرصاص أدت إلى خفض محتوى أوراق نبات الفستق الحقل *Arachis hypogaea* L. من الكلوروفيل الكلي، إلا أن محتواها من الانثوسيانين قد ارتفع وإن العلاقة كانت طردية بين تركيز الرصاص في التربة ومحتواها من الانثوسيانين. كما أشار (Srivastava *et al.* (2014) إلى أن معاملة نبات الرز *Oryza sativa* L. بالكادميوم و /أو الرصاص أدت إلى خفض محتوى الأوراق من كلوروفيل a و b والكاروتينويدات وبفارق معنوي عن النباتات غير المعاملة، وإن الكادميوم كان أكثر تأثيراً من الرصاص في خفض محتوى الأوراق من هذه الصبغات، وإن المعاملة بالعنصرين كانت أكثر تأثيراً من المعاملة المنفردة لكل عنصر، كما أن دراسة (Li *et al.*, (2015) على عدة اصناف من الفستق قد بينت نتائجها ان المعاملة بالكادميوم بتركيز 12 ملغم/كغم أدت إلى خفض محتوى الأوراق من الكلوروفيل وصلت في احد الاصناف إلى 72% مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وقد وجد (Doganlar *et al.* (2012) أن محتوى عينات أوراق نخيل التمر من صبغات كلوروفيل a و b والكاروتينويدات التي جمعت من مناطق شديدة التلوث بالمعادن الثقيلة لم تختلف معنويًا عن العينات التي جمعت من مناطق قليلة التلوث، بينما بينت دراسة (Zouari *et al.* (2016) أن محتوى أوراق فساتل نخيل التمر من كلوروفيل a وكلوروفيل b لم يتغيرا عند اضافة الكادميوم إلى التربة بتركيز 10 ملغم/كغم عن معاملة المقارنة، بينما أدت معاملة الكادميوم بتركيز 30 ملغم/كغم إلى خفضها وبفارق معنوي و بنسبة 17% للكلوروفيل a و 39% للكلوروفيل b مقارنة بالفساتل غير المعاملة.

تستعمل مؤشرات عدة للدلالة على مقدرة النبات على تحمل الاجهاد، ومنها مؤشر ثباتية الكلوروفيل (Chlorophyll Stability Index (CSI)، والذي يؤثر على إداء الكلوروفيل تحت ظروف الاجهاد، وتشير القيم العالية منه إلى عدم تأثير الاجهاد في محتوى النبات من الكلوروفيل (Mohan *et al.*, 2000)، وبالنسبة لتأثير المعادن الثقيلة في قيمة مؤشر ثباتية

الكلوروفيل فقد أشار (Sarma *et al.* 2014) إلى أن المعاملة بالكوبلت بتركيز 300 ملغم/كغم أدت إلى خفض مؤشر ثباتية الكلوروفيل إلى 50% في أوراق نبات الحنطة *Triticum aestivum* L.، كما أن معاملة نبات *Crotalaria juncea* L. بالنيكل بتركيز 0.23 ملغم/كغم أدت إلى خفض قيمة مؤشر ثباتية الكلوروفيل إلى 78% (Shri *et al.*, 2016).

3-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في الكربوهيدرات Heavy metals impact

.on Carbohydrates

تعد الكربوهيدرات Carbohydrates إحدى الجزيئات الحيوية الأربعة الرئيسية في النبات فضلاً عن البروتينات والدهون والاحماض النووية التي ترتبط ارتباطاً وثيقاً بحياته، ومن أهم الوظائف الحيوية لها هي توفير الطاقة من خلال عملية الأكسدة فضلاً عن كونها شكل من أشكال الطاقة المخزونة وتمثل جزء من هيكل الخلايا والأنسجة مثل السليلوز، والعديد من الوظائف الحيوية الأخرى (Boudreaux, 2012). وتعد الكربوهيدرات الناتج الرئيس لعملية البناء الضوئي في النبات (Norwood *et al.*, 2000)، وتسهم الكربوهيدرات في اليات استجابة النبات للإجهادات المختلفة، فقد أشار (Karimi *et al.* 2012) إلى وجود علاقة ارتباط موجبة بين تراكم السكريات الذائبة في أنسجة النباتات ومدى تحملها لسمية المعادن الثقيلة، و بين Hummel *et al.* (2009) أن للكربوهيدرات دوراً في تعديل الأزموزية داخل الخلايا النباتية وايض المغذيات ومركبات الإشارة، كما أنها تسهم في الحفاظ على سلامة غشاء البلازما (Guan-fu, 2011) وتشارك في ايض NADPH الذي يعمل على إزالة ROS، كما بينت الدراسات أن زيادة انتاج الكلوكوز قد ادى إلى تحسين دفاع الخلايا ضد تأثيرات ROS السامة (Averill-Bates and Przybytkowski, 1994). الا ان (Zadak *et al.* 2009) أشار إلى ان ROS تؤثر في تركيب الكربوهيدرات ومن ثم إضعاف الليات الدفاعية للنبات لسمية المعادن الثقيلة التي تحفز انتاج ROS. وقد قام (Bhardwaj *et al.* 2009) بدراسة تأثير اضافة الكادميوم والرصاص

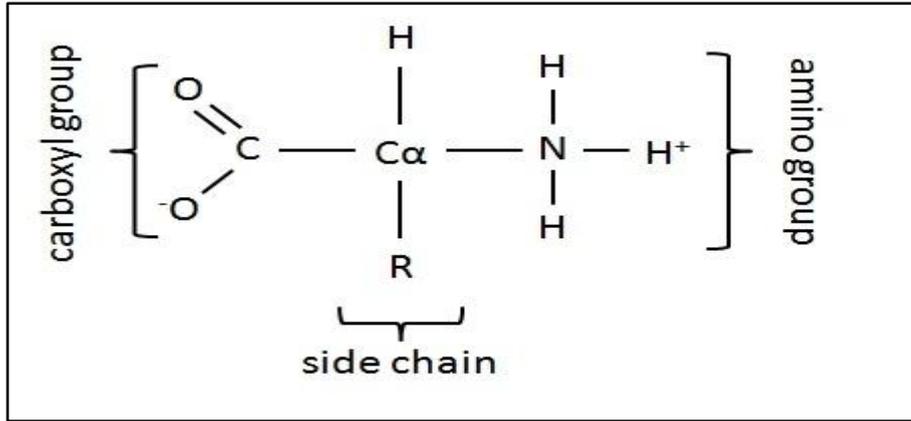
بعده تراكيز إلى تربة سنادين نبات الفاصوليا مع ماء الري، وبينت نتائج دراستهم أن المعاملة بالتراكيز العالية أدت إلى خفض محتوى الأوراق من الكربوهيدرات الكلية، وإن التأثير كان أكبر في النشا Starch من السكريات الذائبة، إذ أدت إلى خفض محتوى الأوراق من النشا بنسبة 50% في كلتا المعاملتين مقارنة بالنباتات غير المعاملة، بينما انخفضت نسبة السكريات الذائبة حوالي 26% في معاملة الكادميوم و 18.29% في معاملة الرصاص. وقد أشار (Zouari *et al.* (2016) في دراسته حول تأثير اضافة الكادميوم بتركيزين (10 و 30 ملغم/كغم) إلى تربة فسائل نخيل التمر إلى ان المعاملة بالكادميوم أدت إلى زيادة محتوى أوراق الفسائل من السكريات الذائبة إذ ارتفع محتواها من 168.8 مايكرو مول/غم وزن طري في معاملة المقارنة إلى 248.89 مايكرو مول/غم وزن طري في معاملة التركيز 30 ملغم/كغم من الكادميوم، وأشار إلى أن هذا التركيز قد تفوق معنويا على المعاملة بالتركيز 10 ملغم/كغم ، في المقابل فان المعاملة بالكادميوم أدت إلى خفض محتواها من النشا سيما التركيز 30 ملغم/كغم الذي خفض محتواها من النشا من 325.17 مايكرو مول/غم وزن طري في معاملة المقارنة إلى 237.13 مايكرو مول/غم وزن طري.

1-2-7-4: تأثير المعادن الثقيلة في البروتين والاحماض الامينية الحرة Heavy

.metals Impact on Proteins and Free Amino Acids

تعرّف البروتينات على أنها جزيئات مكوّنة من سلسلة من الاحماض الامينية المرتبطة مع بعضها بواسطة آواصر ببتيدية، و تعدّ البروتينات من أكثر الجزيئات الحيوية الكبرى انتشاراً وتنوعاً في خلايا وانسجة الكائنات الحية، وتكون حوالي 50% من وزن الخلية الجاف، ويعكس هذا التنوع والانتشار الدور الرئيس لها في جميع جوانب حياة النبات (Cooper and Hausman, 2007). ويعتمد كل نشاط خلوي تقريباً على واحد او اكثر من بروتينات معينة، وتقسّم البروتينات حسب وظيفتها إلى عدة انواع منها على سبيل المثال: الانزيمات والبروتينات الناقلة والخازنة والتركيبية وبروتينات الحماية (Lesk, 2010). وتعرّف الوحدات الرئيسية المكونة للبروتينات وهي

الاحماض الامينية (شكل 3) على انها مركبات تحتوي جميعها على مجموعتي امين وكاربوكسيل إلا أنها تختلف في السلسلة الجانبية R التي ترتبط بذرة الفا كربون ($\alpha-C$) والتي تحدد هوية كل حامض اميني وهذا مصطلح عادة ما يطلق على مجموعة الاحماض الامينية العشرين التي تسهم في بناء البروتين (Wade, 2012).



شكل (3) يوضح التركيب الكيميائي للأحماض الامينية.

تلعب الاحماض الامينية (فضلاً عن دورها في تركيب البروتينات) ادواراً حيوية مهمة في النبات، إذ أنها مركبات بادئة لتخليق الهرمونات النباتية مثل التريبتوفان الذي يعدّ المركب البادئ لتخليق الاوكسين والميثونين لتخليق الايثيلين، وتعدّ كذلك من العوامل الداخلية التي تؤثر في عملية فتح وغلق الثغور والحفاظ على التوازن المائي داخل الخلايا، وتؤثر الاحماض الامينية في عملية البناء الضوئي من خلال عدة أدوار منها اشتراك حامضي الكلايسين والجلوتاميك في تكوين صبغة الكلوروفيل، كما أنها تسهم في مقاومة الاجهادات الحيوية وغير الحيوية التي يتعرض لها النبات مثل البرولين، فضلاً عن ادوار حيوية وفلسجية مهمة اخرى (Lesk, 2010; Wade, 2012). وقد أشارت العديد من الدراسات إلى أن تعرض النباتات للمعادن الثقيلة يؤدي إلى خفض محتوى أوراقها من البروتينات الذائبة الكلية وزيادة في محتواها من الاحماض الامينية الحرة الكلية وهذا ما اكدته دراسة (Bhardwaj *et al.* (2009) على نبات الفاصوليا إذ أدت المعاملة بالكادميوم والرصاص إلى خفض محتوى أوراقها من البروتينات الذائبة الكلية مع رفع محتواها من

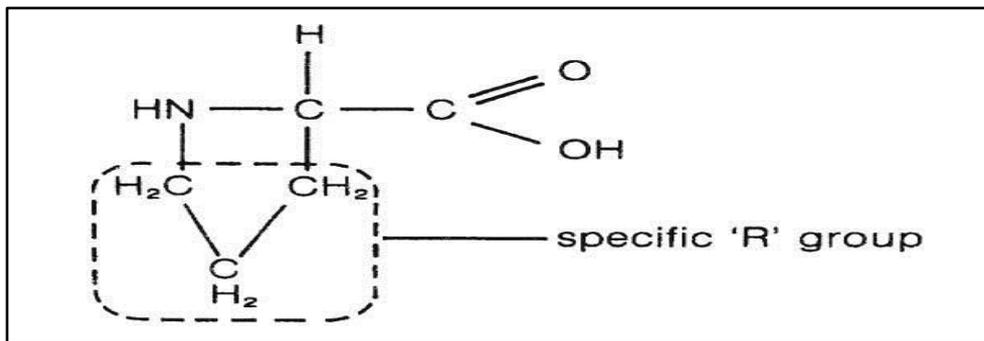
الاحماض الامينية الحرة، كما دراسة (Anjum *et al.* (2016) على نبات الذرة الصفراء و (Bonet *et al.* (2016) على أشجار الصنوبر الهجين Hybrid larch، بينما أشار (Doganlar and Atmaca (2011) إلى زيادة في محتوى أوراق أشجار الليلك *Melia azedarach* L. وشجرة الدلب المشرقي *Platanus orientalis* L. من البروتينات الذائبة الكلية مع زيادة تعرضها للرصاص والكاديوم، وهذا ما اكده (Kandziora–Ciupa *et al.* (2013) في أوراق شجيرات عنبية آسية *Vaccinium myrtillus* L. وأوراق أشجار الصنوبر البري *Pinus sylvestris* L. (Kandziora–Ciupa *et al.*, 2016).

ولا توجد دراسات سابقة حول محتوى أوراق نخيل التمر من البروتينات الذائبة الكلية والاحماض الامينية الحرة الكلية وعلاقتها بالمعادن الثقيلة.

1-4-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في البرولين Heavy metals impact

on Proline

يعد البرولين (الشكل 4) احد الاحماض الامينية التي تحتوي على خمس ذرات كربون والتي تقوم بأدوار حيوية مهمة داخل الخلايا النباتية منها دوره في التمثيل الغذائي وكمحلول منظم للازموزية،



شكل (4) التركيب الكيميائي للبرولين.

وكما يعدّ من مضادات الاكسدة ويزيل الجذور الحرة التي تنتج عند تعرض النبات للإجهادات الحيوية وغير الحيوية (Emamverdian *et al.*, 2015). وأشار Kumar *et al.* (2010) إلى أن البرولين يشكل أقل من 5% من محتوى النبات من الاحماض الامينية تحت الظروف الطبيعية، إلا أنه يرتفع ليصل إلى 80% في حالة تعرضه للإجهاد، وأشارت عديد من الدراسات إلى ارتفاع محتوى أوراق النباتات من البرولين عند التعرض لإجهاد المعادن الثقيلة منها على سبيل المثال دراسة (Dinakar *et al.* (2008) التي بينت نتائجها أن محتوى أوراق نبات *Arachis hypogaea* L. من البرولين قد ارتفع من 269.43 مايكرومول/غم إلى 700.16 مايكرومول/غم بعد 25 يوماً من المعاملة بالكادميوم بتركيز 100 ملغم/كغم، وإن البرولين قد ارتفع في أوراق نبات *Brassica napus* L. إلى 38 ضعفاً عند معاملتها بالرصااص بتركيز 200 ملغم/كغم عنها في نباتات المقارنة (Bandehagh, 2013)، كما دراسة Kandziora–Ciupa (2016) *et al.* التي بين فيها ارتفاع تركيز البرولين في أوراق أشجار الصنوبر البري والتي جمعت من مناطق عالية التلوث بالمعادن الثقيلة مقارنة بتلك التي جمعت من مناطق خالية او قليلة التلوث، وإن هناك علاقة ارتباط موجبة بين مستوى الزنك في التربة وتركيز البرولين في الأوراق، وبينت نتائج هذه الدراسة ان البرولين ارتفع في أوراق أشجار الصنوبر من 0.35 مايكرومول/غم في موقع المقارنة إلى 0.75 مايكرومول/غم في موقع بالقرب من محطة انتاج الطاقة الكهربائية، ، بينما أشار (Dezhban *et al.* (2015) إلى أن محتوى أوراق أشجار الروبينا *Robinia pseudoacacia* L. من البرولين لم يتغير عند معاملتها بعدة تراكيز من الكادميوم والرصاص.

اما بالنسبة لمحتوى أوراق نخيل التمر من البرولين وعلاقته بالتعرض إلى مستويات من الكادميوم، فقد أشار (Zouari *et al.* (2016) إلى أن محتوى أوراق النخيل من البرولين قد ارتفع وبشكل معنوي مع زيادة تركيز الكادميوم المضاف إلى التربة (10 إلى 30 ملغم/كغم) مقارنة

بمحتوى الفسائل غير المعاملة، إذ ازداد محتوى البرولين بنسبة 132% في معاملة 30 ملغم/كغم كادميوم عنه في معاملة المقارنة.

1-2-7-5: تأثير المعادن الثقيلة في الاغشية الخلوية Heavy metals

impact on Cellular membrane

يؤدي غشاء الخلية ويطلق عليه الغشاء البلازمي الخارجي Plasma membrane وظيفتين رئيسيتين وهما: تركيبية تتمثل بالمحافظة على المكونات الداخلية للخلية واعطاءها الشكل المظهري ووظيفة تبادلية تتمثل بتنظيم تبادل المواد بين الوسط الداخلي والخارجي للخلايا، وتتكون الاغشية كيميائياً من عدة جزيئات مثل الدهون واغلبها الدهون الفوسفاتية Phospholipids والبروتينات وتتميز هذه الاغشية بالسيولة Fluidity والنفاذية الاختيارية Selectively (Raicu) (and Popescu, 2008 Permeable Cell Membrane damage من اهم التأثيرات السامة للمعادن الثقيلة، والتي يترتب عن تحفيز تكوين ROS (Chen *et al.*, 2012)، إذ تقوم ROS بعملية اكسدة الدهون Lipid peroxidation المكونة للأغشية سيما الدهون المتعددة غير المشبعة (Pourrut *et al.* Polyunsaturated fatty acids (2013)، تتضمن هذه العملية ثلاث مراحل اساسية هي: البداية Initiation و التكرار Propagation و الايقاف Termination. تقوم انواع ROS مثل O_2^- بيروكسيد الهيدروجين و H_2O_2 و جذر الهيدروكسيل $OH\cdot$ (وهو اكثرها فعالية) في مرحلة البداية بنزع ذرة هيدروجين من مجموعة Methylene في الدهون المتعددة غير المشبعة (Singh *et al.*, 2010)، ينتج عن هذه العملية جزيئة ماء ويتحول الحامض الدهني إلى جذر دهني Lipid radical، ويتفاعل هذا الجذر (تحت الظروف الهوائية ووجود بعض المعادن) مع الاوكسجين ليكون جذر Peroxyl، ويقوم هذا الجذر بنزع ذرة هيدروجين من الحامض الدهني المجاور Adjacent fatty acid مكوناً جذر Peroxide، ويكون هذا التفاعل هو بداية مرحلة التكرار، إذ تتطلق سلسلة من التفاعلات

ذاتية التحفيز، إن إيقاف Termination تكوين جذر Peroxide يتم بتفاعل جذر Peroxyl مع مركب Tocopherol (Bhattacharjee, 2005). في مرحلة تكوين جذر Peroxide يتفكك هذا الجذر إلى عدة مركبات فعالة منها مركب Malondialdehyde (ويرمز له اختصاراً MDA)، وهو مركب عضوي ذو صيغة كيميائية $\text{CH}_2(\text{COH})_2$. ويعدّ هذا المركب من المركبات السامة التي تكون مسؤولة عن احداث الضرر للأغشية مثل التأثير في سيولة الاغشية والنقل الايوني وتنشيط فعالية الانزيمات والبروتينات الموجودة في الاغشية (Sharma *et al.*, 2012)، ويعدّ تركيز هذا المركب مؤشر على مستوى اكسدة الدهون في الاغشية (Singh *et al.*, 2010)، كما أن مؤشر ثبات الاغشية (Membrane Stability Index (MSI) يستعمل بوصفه دليلاً على سلامة الاغشية الخلوية عند تعرض النبات للإجهاد والذي يعتمد بدوره على قياس التوصيل الكهربائي للمستخلص المائي للأنسجة النباتية، وانخفاض قيمة هذا المؤشر تدل على حدوث ضرر اكبر للاغشية (Howladar, 2014). وأشارت معظم الدراسات التي اجريت حول تأثير المعادن الثقيلة في اكسدة دهون الاغشية في النبات، إلى وجود زيادة معنوية في تركيز MDA كدليل على حدوث عملية اكسدة للدهون في الاغشية منها على سبيل المثال دراسة (Yan *et al.* 2015) حول تأثير الكادميوم على نبات *B. napus* L. وتأثير الرصاص على أشجار اللونجان (Wang *et al.*, 2016).

اما فيما يتعلق بتأثير المعادن الثقيلة في اكسدة دهون الاغشية في أوراق نخيل التمر فقد أشار (Doganlar *et al.* 2012) إلى أن تركيز MDA قد أزداد معنوياً في عينات أوراق النخيل التي جمعت من مناطق ملوثة بالمعادن الثقيل ومنها الكادميوم والرصاص وكان 4.93 مايكرومول/غم وزن طري، مقارنة بتركيزه في العينات التي جمعت من مناطق قليلة التلوث التي بلغت 2.82 مايكرومول/غم وزن طري، وأشار (Zouari *et al.* 2016) إلى أن تركيز MDA أزداد معنوياً في أوراق أشجار النخيل المعاملة بالكادميوم، وبلغ تركيزه في معاملة الكادميوم 30

ملغم/كغم 0.286 مايكرومول/غم والتي تفوقت معنويا على باقي المعاملات، بينما بلغ تركيزه 0.159 و 0.129 مايكرومول/غم لمعاملة التركيز 10 ملغم/كغم والمقارنة على التوالي، وأشار Zouari *et al* (2016) إلى أن إضافة الكاديوم إلى تربة فسائل نخيل التمر صنف دقلة نور أدى إلى خفض مؤشر ثباتية الاغشية من 78% في معاملة المقارنة إلى 55% في المعاملة بالتركيز 30 ملغم/كغم وإلى 70% في المعاملة بتركيز 10 ملغم/كغم وإن الفروق كانت معنوية فيما بين المعاملات.

6-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في المركبات الفينولية Heavy metals

impact on Phenolic compounds

تعدّ المركبات الفينولية احد النواتج الثانوية لعملية التمثيل الغذائي في النبات، وهي من المركبات واسعة الانتشار في كل الانسجة النباتية وقد توجد بتركيز عالية (Del Rio *et al.*, 2010)، وتصنف المركبات التي تمتلك مجموعة هيدروكسيل وظيفية او اكثر على حلقة عطرية على انها مركبات فينولية، والتي قد تصل إلى الالاف من المركبات يعرف منها إلى الان 8000 مركباً (Kutchan and Dixon, 2005; Tsao, 2010). وتخلق الفينولات حيوباً عن طريق مسارين رئيسيين هما: مسار حامض Shikimic pathway Shikimic ومسار حامض Malonic Malonic pathway، والآخر هو المسار الرئيس في تخليق الفينولات في الفطريات والبكتريا ولكنه اقل اهمية في النباتات، إذ يسهم مسار حامض Shikimic في تخليق معظم المركبات الفينولية في النبات (Arici *et al.*, 2014)، يعتمد مسار حامض Shikimic على الكربوهيدرات البسيطة كمركبات بادئة في تخليق الفينولات وذلك بتحويلها إلى ثلاثة احماض امينية عطرية هي: Phenylalanine و Tyrosine و Tryptophan، وتخلق معظم المركبات الفينولية عن طريق تحويل Phenylalanine إلى حامض Cinnamic بوجود انزيم Phenylalanine ammonia lyase ويختصر (PAL) (Lattanzio, 2013). تقسم الفينولات على اساس الوزن الجزيئي إلى

مركبات فينولية بسيطة Simple Phenolic Compounds وهي المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض وعادة ما تتكون من حلقة واحدة ومن 1-4 ذرات كربون في السلسلة الجانبية مثل الفينول والحوامض الفينولية مثل Gallic و Caffeic و Salicylic و Ferulic، وهذه المجموعة لها دور دفاعي ضد الحيوانات العاشبة والفطريات والبكتريا، وبعضها مثل حوامض Caffeic و Ferulic لها نشاط Allelopathi (Anantharaju, *et al.*, 2016)، وإلى مركبات فينولية معقدة Complex Phenolics Compounds وهي مركبات ذات اوزان جزيئية عالية مثل اللجنين Lignin ووظيفته الرئيسية هي الدعم الميكانيكي للنبات والاعوية الناقلة سيما الخشب، فضلاً عن دوره في حماية جدران الخلايا (Del Rio, 2010) و التانين Tannins والفلافونويد Flavonoids والتي تقسم إلى ثلاث مجاميع هي: الانثوسيانين Anthocyanins و الفلافونول Flavonols والايزوفلافونويد Isoflavonoids (Anantharaju, *et al.*, 2016)، وتقوم بعدة ادوار مهمة منها الاسهام في بناء بعض الصبغات النباتية مثل صبغة الانثوسيانين (Ghasemzadeh and Ghasemzadeh, 2011)، وتعمل كجزيئات ناقلة للأشارة ووقاية النبات من الاشعة فوق البنفسجية (An and Mou, 2011) ، ودورها في نظام الحماية والدفاع في النبات (Arici *et al.*, 2014). إن الدور الأكثر أهمية للمركبات الفينولية والذي تناولته معظم الدراسات هو حماية النبات من الاضرار التي تسببها الاجهادات الحيوية وغير الحيوية ومنها المعادن الثقيلة (Singh *et al.*, 2011)، إذ تعد هذه المركبات خط الدفاع الثاني في النبات ضد ROS والجذور الحرة التي تسببها المعادن الثقيلة وتندرج ضمن مضادات الاكسدة غير الانزيمية مثل الفلافونول والتي تعمل ككاسحات Scavengers لجزيئات ROS او خلب المعادن الثقيلة Heavy metals Chelators (Gupta and Sharma, 2006)، بسبب امتلاكها مجموعتي هيدروكسيل وكاربوكسيل (Arora *et al.*, 1998)، وأشار (Winkel-Shirely (2002 إلى انتاج مستويات عالية من المركبات الفينولية في أوراق نبات الذرة الصفراء عند تعرضها للمعادن

الثقيلة، ووجد علاقة ارتباط موجبة بين تراكم هذه المركبات ومستويات ROS، وقد أشار Manan *et al.* (2015) إلى أن مستويات المركبات الفينولية الذائبة في أوراق أشجار *Nephrolepis biserrata* النامية في تربة ملوثة بالمعادن الثقيلة ومنها الرصاص كانت أعلى بنسبة 33% عنها في أوراق الأشجار التي جمعت من ترب غير ملوثة بهذه المعادن، وأشار Zouari *et al.* (2016) إلى أن معاملة فسائل نخيل التمر بالكادميوم بتركيز 30 ملغم/كغم أدت إلى زيادة تركيز الفينولات الكلية من 31.79 في معاملة المقارنة إلى 59.28 مايكروغرام مكافئ/غم.

1-2-7-7: تأثير المعادن الثقيلة في الصفات التشريحية للنباتات Heavy

metals impact on Anatomical characteristics

تمتلك النباتات عدة اليات دفاعية لتجنب او تحمل الاثار السامة لتراكم المعادن الثقيلة وعلى عدة مستويات، منها على المستوى الخلوي مثل إحتجاز Sequestration تلك المعادن في الفجوات او جدار الخلية كجزء من ميكانيكية إزالة سموم المعادن الثقيلة سيما النباتات المراكمة للمعادن الثقيلة او انتاج بعض المركبات مثل التانين Tannin داخل الخلايا (Vollenweider *et al.*, 2011; Rascio and Navari-Izzo., 2006). إلا أن تراكم المعادن الثقيلة سيما بالتراكيز العالية قد يؤدي إلى تغيير في التركيب التشريحي للخلايا النباتية، إذ أشار Kovacevic *et al.* (1999) إلى أن تراكم النيكل في انسجة أوراق الحنطة أدى إلى تقليل سمك خلايا الطبقة الوسطى Mesophyll وحجم الحزم الوعائية Vascular bundles وقطر الاوعية الموجودة في الحزم الرئيسية والجانبية وعرض خلايا البشرة Epidermal cells، ولاحظ Vollenweider *et al.* (2006) أن سمك جدار الخلايا في عروق أوراق نبات الصفصاف *Salix viminalis* L. قد ازداد مع زيادة تركيز الكادميوم بشكل واضح في خلايا البشرة العليا والسفلى كما إن كثافة التانين ازدادت سيما في الصفيحة الوسطى للجدار Middle lamella ، كما أن خلايا الطبقة الوسطى للأوراق الابرية لشجرة الشوح الابيض *Abies alba* Mill. التي جمعت من مناطق ملوثة بالمعادن

الثقيلة كانت ممثلة بالتانين، فضلاً عن تأثيرها في سمك طبقة البشرة والحزم الوعائية (Gostin,2010)، وأشار (Gowayed and Almagharbi (2013 إلى أن معاملة نبات الذرة الصفراء *Zea mays* L بالنحاس و/او الكاديوم أدت إلى تقليل سمك البشرة العليا والسفلى والخلايا البارنكيميية والسكلرنكيميية والحزم الوعائية في الأوراق وتقليل عرض الحزم الوعائية وقطر اوعية الخشب واللحاء وتقليل المسافة بين الحزم الوعائية الكبيرة والصغيرة، وبين *Parmar et al.* (2015) ان المعاملة بالكاديوم أدت إلى زيادة عدد الحزم الوعائية ونقصان في حجمها في أوراق نبات *Cyperus papyrus* L.، ومما تجدر الإشارة اليه هو عدم وجود مصادر حول تأثير اي معدن ثقيل في التركيب التشريحي لنخيل التمر.

1-2-7-8: تأثير المعادن الثقيلة في الثبات الوراثي للنبات **Heavy metals**

impact on genome stability

تحتوي المادة الوراثية في النبات *Plant Genomes* على المعلومات الوراثية الاساسية ، والتي تحدد خصائص وسلوك الكائنات الحية ومنها النباتات، ومن ثم فإن حاجة هذه الانواع إلى ان تكون هذه المادة مستقرة هي حاجة ملحة (Peng and Zhang , 2009) ، ويوجد عدد من المواد التي تهدد الاستقرار الوراثي للكائنات الحية والتي تسبب السمية الوراثية *Genotoxicity* للكائنات، ويعرف هذا المصطلح على انه التأثير في سلامة المادة الوراثية للخلايا (Shah, 2012) . وتعد المعادن الثقيلة احدى مسببات السمية الوراثية في النبات وهي من الظواهر المعقدة والليات التي تقف وراها غير مفهومة بشكل جيد (Cuypers *et al.*, 2011; Shen *et al.*, 2012). ويعتقد أن التأثير الضار للمعادن الثقيلة على الحمض النووي منقوص الاوكسجين *DNA* تكون بشكل غير مباشر (Gichner *et al.*, 2006; Gupta and Sarin, 2009) ، إذ أشار (Jones *et al.* (2011 إلى أن جذر الهيدروكسيل $OH\cdot$ هو اكثر أنواع *ROS* فعالية في الحاق الضرر بجميع مكونات الحمض النووي *DNA* . بينما أشار *Gallego et*

(2012) *al.* إلى أن المعادن الثقيلة قد تسبب الضرر للمادة الوراثية في النبات بشكل مباشر من خلال توليد روابط تساهمية مع الحمض النووي أو التفاعل مع البروتينات المساهمة في عمليتي النسخ Transcription أو التضاعف Replication فضلاً عن التأثير غير المباشر في اتلاف الحمض النووي DNA من خلال إنتاج ROS.

تعد البروتينات هي النواتج الرئيسية لعملية التعبير الجيني Gene Expression ، إذ أن الحجم الجزيئي للبروتينات وتسلسل الاحماض الامينية المكونة لها هو نتيجة مباشرة لتسلسل الجين Gene sequence المكون لها (Hamoud *et al.*, 2005). وعلى هذا الاساس فإن الدراسات التي هدفت إلى دراسة الثبات الوراثي في النباتات في اثناء تعرضها لإجهاد المعادن الثقيلة اعتمدت تحديد نمط توزيع الحزم للبروتينات Protein patterns والحمض النووي DNA والمقارنة بين نباتات معرضة واخرى غير معرضة للمعادن الثقيلة.

1-8-7-2-1: تأثير المعادن الثقيلة في نمط توزيع حزم البروتينات

Heavy metals impact on protein pattern

تمتلك النباتات التي تعيش في بيئة ملوثة بالمعادن الثقيلة عدة اليات منسقة لتنظيم امتصاص وحركة وتركيز هذه المعادن داخل خلاياها لتخفيف الاثار السامه لإجهاد المعادن الثقيلة إذ يقوم النبات من خلال عملية التعبير الجيني بإنتاج البروتينات التي تلعب دوراً مهماً في الاستجابة للإجهادات الحيوية وغير الحيوية (Hossain and Komatsu, 2013) ، من هذه الاليات قيام النبات بإنتاج بروتينات خالبة Chelating proteins منخفضة الوزن الجزيئي تقوم بعزل المعادن الثقيلة في جدار الخلية لتقليل فرص ارتباطها مع البروتينات الوظيفية Functional proteins، فضلاً عن زيادة إنتاج مضادات الاكسدة البروتينية الانزيمية وغير الانزيمية (Viehweger,2014). وتعد طريقة الترحيل الكهربائي للهلام عديد الاكريلاميد Polyacrylamide Gel Electrophorsis بوجود Sodium Dodecyl Sulfate والتي يرمز

لها اختصارا SDS-PAGE للبروتينات هي الطريقة الاكثر شيوعاً في تحديد الاوزان الجزيئية للبروتينات (Ranjan *et al.*, 2013). وقد اثبتت عدة دراسات باستعمال هذه الطريقة أن المعادن الثقيلة أدت إلى تغيير نمط الحزم البروتينية في النباتات، ومنها دراسة (2010) Bafeel على تأثير المعاملة بعدة تراكيز من الرصاص على بادرات نبات الرشاد، إذ أشارت نتائج هذه الدراسة أن المعاملة بالتركيزين (100 و 200 ملغم/كغم) أدت إلى ظهور حزمة بروتينية جديدة (61.4 كيلو دالتون) عند المقارنة مع المعاملة المحايدة إلا أن هذه الحزمة اختفت في المعاملة بالتركيزين (400 و 600 ملغم/كغم) ، وأشار (Aldoobie and Beltagi (2013) إلى أن اجهاد بعض المعادن الثقيلة منها الكاديوم والرصاص على بادرات نبات الفاصوليا ادى إلى تغيير في نمط توزيع حزم البروتينات في النبات المعاملة بالمعادن الثقيلة مقارنة بتلك غير المعاملة، إذ أدت المعاملة بالمعادن الثقيلة إلى ظهور حزم بروتينية جديدة (20 كيلو دالتون)، و اختفت هذه الحزمة عند إضافة الكلس مع المعادن الثقيلة، كما أن دراسة (Rout *et al.* (2013) على نبات *Withania somnifera* L. ، اكدت ظهور حزم بروتينية جديدة ذات اوزان جزيئية منخفضة عند المعاملة بالنحاس واختفاء حزمة واحدة (76 كيلو دالتون) في النباتات المعاملة، واكد *Anju et al.* (2014) إن معاملة بادرات نبات البابايا *Carica papaya* L. بعدة تراكيز من الرصاص أدت إلى تغيير نمط توزيع الحزم البروتينية وذلك من خلال ظهور او اختفاء حزم بروتينية New appearance or disappearance of protein bands.

1-2-7-8-2: تأثير المعادن الثقيلة في ثبات الحمض النووي DNA Heavy

metals impact on DNA stability

تستعمل تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase Chain Reaction في مضاعفة قطعة من الحمض النووي DNA من خلال تناسخ انزيمي خارج الكائنات الحية ويستعمل خليط مكون من قالب الحمض النووي DNA Template المراد مضاعفة قطعة منه

وانزيم DNA polymerase وقواعد نتروجينية Nucleotides bases وبادئ Primers وهو عبارة عن شريط مفرد قصير من DNA مصنع كيميائياً يستعمل كنقطة بداية لعملية المضاعفة (Salomon, 1995)، و يعتمد هذا التفاعل مبدأ التدوير الحراري Thermal cycling، إذ يتم تسخين وتبريد خليط التفاعل في خطوات مبرمجة، ويتكون التفاعل من ثلاث خطوات اساسية الخطوة الاولى هي تفكيك او مسخ Denaturation شريط DNA المزدوج إلى شريطين منفصلين برفع درجة الحرارة بين 94-98 °م وقد تستغرق بين 1-9 دقيقة، ثم تخفض درجة الحرارة إلى 50-65 °م وذلك لالتصاق البادئ ب قالب DNA كخطوة ثانية، ثم ترفع درجة الحرارة إلى 75-80 °م كخطوة ثالثة، اذ يقوم انزيم DNA polymerase ببناء قطعة DNA المستهدفة مكونه من شريط قديم وشريط جديد (Hernandez-Rodriguez *et al.*, 2011). تستعمل هذه التقنية في مجالات متنوعة مثل علم الوراثة العرقي والبصمات الوراثية والتحليل الوظيفي للجينات و الطب الشرعي وكشف الامراض الوراثية والمعدية فضلاً عن استنساخ الحمض النووي (Tanyolac, 2003).

تستعمل البادئات Primers كأدوات في تقييم وتوصيف التنوع الوراثي بين الانواع او تحديده تلف الحمض النووي DNA بسبب التعرض للإجهادات الحيوية او غير الحيوية، من خلال عدة تقنيات جزيئية تعتمد في الاساس على تفاعل البلمرة المتسلسل PCR مثل تقنية Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) و Simple Sequence Repeat (SSR) و تسمى Microsatellite Polymorphism و Random Amplified Microsatellite Polymorphism (RAMP) و Sequence Tagged Sites (STS) و Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) (Wu *et al.*, 1994)، أو تقنية Comet assay التي تحدد ضرر الحمض النووي كميأً (Dikilitas *et al.*, 2009). وتعدّ تقنية تكرار التتابعات البينية البسيطة ISSR المقترحة من قبل Zietkiewicz *et al.* (1994) من التقنيات المستعملة في تحديد الضرر في الحمض النووي

DNA ، سيما النباتات التي تتعرض لإجهادات حيوية وغير حيوية (Tanyolac, 2003) ، ويرتكز اساس هذه التقنية على استعمال تفاعل البلمرة المتسلسل PCR في مضاعفة جزيء عشوائي من الحمض النووي DNA في منطقة التكرار Inter-repeat region باستعمال بادئات مَّصممة ، و لا تحتاج هذه التنقية إلى معرفة مسبقة لتسلسل DNA قبل المضاعفة، و إن نواتج PCR في هذه التنقية هي اكثر ثباتاً من نواتجها في تقانة RAPD (Vijayan, 2005). استعملت هذه الطريقة في دراسة تأثير المعادن الثقيلة في الاختلاف الوراثي في النباتات سيما تلك التي تنمو في ترب ملوثة بالمعادن الثقيلة، ومنها دراسة Al-Qurainy (2010) على تأثير معادن الرصاص والكاديوم والزنك في بادرات نبات الجرجير *Eruca sativa* L. بعدة تراكيز (50 و 100 و 150 ملغم/لتر) باستعمال 20 بادئاً، وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى ظهور حزم جديدة من الحمض النووي المضاعف في معاملات المعادن الثقيلة غير موجودة في معاملة المقارنة، وإن المعاملة بالكاديوم بالتركيز 150 ملغم/لتر اعطت أعلى عدد من الحزم وإن بعضها ظهر فقط في هذه المعاملة، بينما اختفت بعض منها في كل تراكيز معاملة الكاديوم وظهرت فقط في معاملي الرصاص والزنك، وأشارت الدراسة إلى ان المعاملة بالتراكيز المرتفعة كانت اكثر تأثيراً في الثبات الوراثي لنبات الجرجير اذ اعطت اعلى عدد من الحزم مقارنة بالتراكيز الواطئة منها مما أشر إلى حدوث تغيرات وراثية نتجت عن المعاملة بالمعادن الثقيلة. ووضح السهلي واخرون (2013) في دراستهم حول تأثير تراكيز مختلفة من الكاديوم (20 و 40 و 80 و 100 و 120 ملغم/كغم) على الحمض النووي DNA لنبات الكوسة *Cucurbita maxima* L. في مرحلة انبات البذور وتكشف البادرات باستعمال عشرة بادئات من ISSR، إن الكاديوم سبب تغيراً في التركيب الوراثي لهذا النبات، واطهرت بصمة DNA اختلافاً في نمط الحزم من حيث العدد والطول، وإن نسبة الاختلاف في التعدد الشكلي Polymorphism قد ازدادت طردياً مع زيادة تركيز الكاديوم، إذ ارتفعت من 37.7% في التركيز 20 ملغم/كغم إلى 100% في التركيز 120 ملغم/كغم، وأشارت

نتائج هذه الدراسة أن مجموع الحزم قد تساوى في معاملة المقارنة ومعاملة التركيز 20 ملغم/كغم إلا أن عدد الحزم قد بدأ بالتناقص مع زيادة تركيز الكاديوم، ولم تتشابه أي حزمة في المعاملة بالتركيز 120 ملغم/كغم مع معاملة المقارنة، ولم تظهر في هذا التركيز سوى أربعة حزم لبادئ واحد فقط. أما دراسة (Theriaux *et al.* (2014) فقد أشارت إلى عدم وجود علاقة بين الاختلاف الوراثي في أشجار البتولا الابيض (*Betula papyrifera* (Marsh) والتي جمعت من اثني عشر موقعا في مقاطعة اونتاريو في كندا ومحتوى التربة من المعادن الثقيلة ، باستعمال سبعة بادئات من ISSR التي لم تظهر أي اختلاف في حزم الحمض النووي DNA المضاعف. ومن الجدير بالذكر أنه لا توجد دراسات سابقة على تأثير المعادن الثقيلة في الثبات الوراثي لأشجار نخيل التمر سواء في نمط توزيع حزم البروتين أو الحمض النووي DNA باستعمال اي تقنية.

Materials and Methods**2. المواد وطرائق العمل**

اجريت هذه الدراسة في مختبرات مركز ابحاث النخيل وقسم علوم الحياة- كلية العلوم - جامعة البصرة، لتقييم مستويات التلوث ببعض المعادن الثقيلة في تربة وهواء محافظة البصرة واستعملت أشجار نخيل التمر مؤشراً حيوياً، لتحديد التباين الموسمي للتلوث بالمعادن الثقيلة خلال موسمي الامطار و الجفاف، ثم دراسة تأثير تراكيز مختلفة من المعادن الثقيلة في الصفات الكيموحيوية والتشريحية والثبات الوراثي لأشجار نخيل التمر المعامل بها.

1.2: تقييم التلوث بالمعادن الثقيلة في التربة والهواء واستعمال أوراق نخيل التمر

بوصفها مؤشراً حيوياً

1.1.2: مواقع ومواعيد جمع العينات.

اختيرت ستة مواقع مختلفة في محافظة البصرة لجمع عينات من التربة وأوراق نخيل

التمر خلال موسمي الامطار و الجفاف في المحافظة، وكانت مواقع الدراسة كمايلي:

1. قضاء القرنة Qurna District (QR)

2. محطة كهرباء النجيبية Najipiya Power Station (NPS)

3. قضاء شط العرب Shat Al-Arab District (SA)

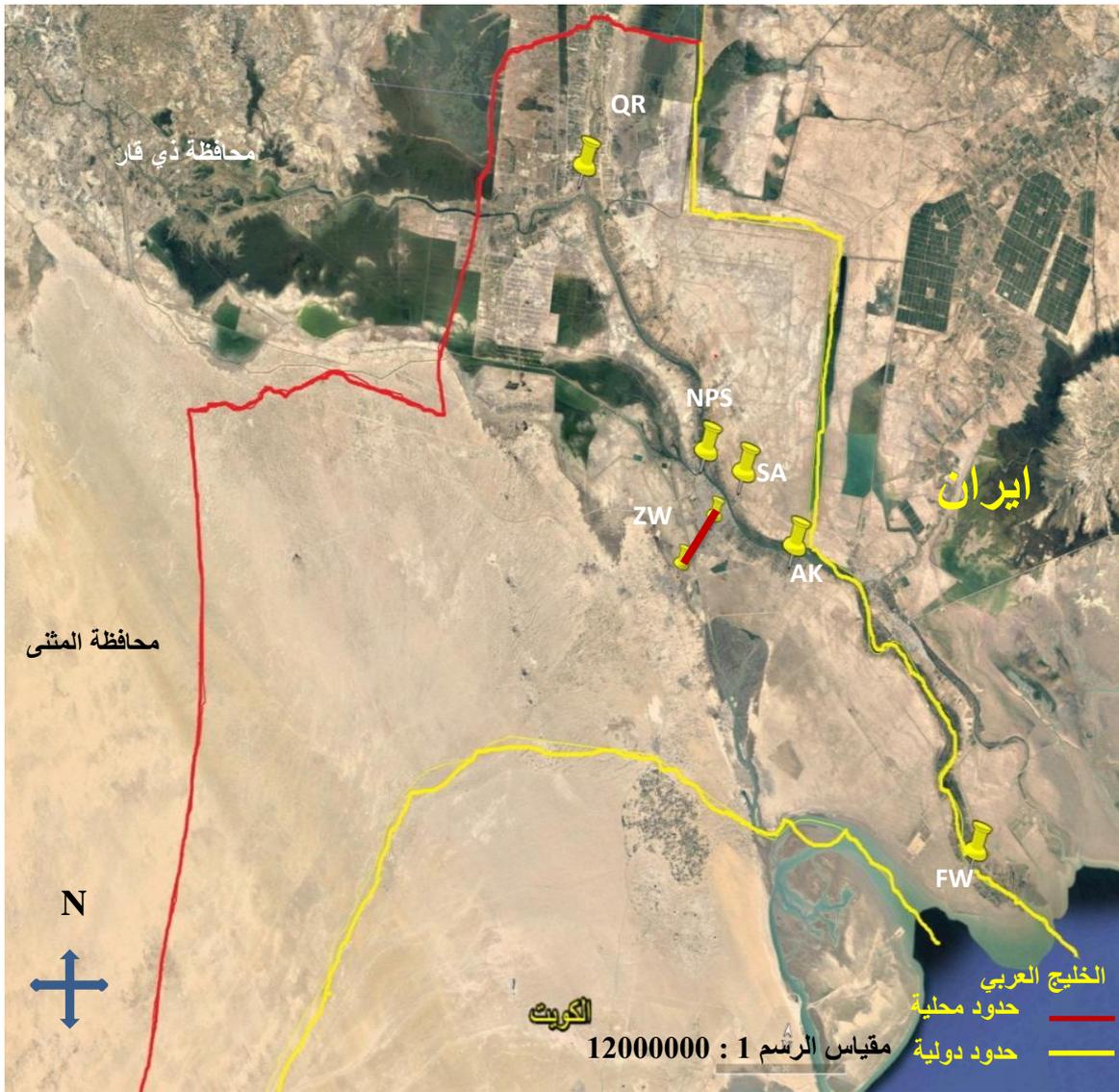
4. طريق الزبير: وهو الطريق الرابط بين مجسر الشهداء في باب الزبير (مركز المحافظة) غربا

إلى قضاء الزبير بطول 15 كم باتجاهين، مزروع بأشجار نخيل التمر في الجزيرة الوسطية (ZW).

5. قضاء ابي الخصيب Abu-Al-Khaseb District (AK)

6. قضاء الفاو FAW District (FW)

والشكل (5) يوضح مواقع جمع العينات في محافظة البصرة.



شكل (5) خريطة مواقع جمع عينات اوراق نخيل التمر والترية في محافظة البصرة.

QR = قضاء القرنة

NPS = محطة كهرياء النجيبية

SA = قضاء شط العرب

ZW = طريق الزبير

AK = قضاء ابي الخصيب

FW = قضاء الفاو

أما مواعيد جمع العينات فكانت:

1- خلال موسم الامطار: جمعت العينات خلال شهر كانون الأول من العام

2014.

2- خلال موسم الجفاف: جمعت العينات خلال شهر حزيران من العام 2015.

اخذت عينات مركبة Composite Samples من التربة وعلى عمق 30 سم من كل موقع، جمعت العينات من مواقع اقضية الفاو وشط العرب وابي الخصيب والقرنة، إذ اختيرت ستة بساتين بشكل عشوائي، وجمعت خمس عينات من كل بستان: عينة من وسط البستان وعينة من كل جهة من الجهات الاربع، وحسب أنموذج متصلاب في جمع العينات المركبة اعتماداً على راين واخرون (2003)، أما عن موقع محطة كهرياء النجيبية فقد جمعت العينات من حديقة المحطة وبالطريقة نفسها، وجمعت ست عينات من طريق الزبير، بأخذ عينات تبعد كل واحدة عن الاخرى 2 كم تقريباً، خلطت العينات جيداً لكل موقع وقلص حجم العينة عن طريق توزيع التربة توزيعاً متجانساً وتقسيمها إلى اربعة اقسام متساوية وجمع الجزئين 2 و 3 وخلطاً جيداً وتم التخلص من باقي العينة، وكررت العملية إلى عدد مناسب من المرات بحيث اصبح حجم العينة مناسباً اعتماداً على بشور والصايغ (2007). أما عينات اوراق نخيل التمر فقد جمعت من أشجار ارتفاعها 3 م تقريباً، ومن طرف اوراق متوسطة العمر لا تغطيها اوراق علوية ومن جميع الاتجاهات حسب (Al-Shayeb and Seaward, 2000)، و تم اخذ عينات الاوراق من اقرب شجرة لكل نقطة اخذت منها عينات التربة، ثم وضعت العينات في اكياس خاصة بجمع العينات واغلقت بإحكام وعلمت وتم نقلها إلى المختبر.

2.1.2: طريقة تحضير العينات

جففت عينات التربة هوائياً، وتم خلطها ومجانستها جيداً، ثم مررت عبر منخل

بلاستيكي قطر فتحاته 2 ملم، وتم تقدير خواصها التالية:

1. الأس الهيدروجيني pH: وذلك حسب طريقة (McLean 1982) وبنسبة (1:1) (تربة:ماء مقطر)، باستعمال جهاز موديل pH 7110 الماني المنشأ.
 2. التوصيل الكهربائي EC: وقيست في محلول (1:1) (تربة: ماء مقطر) حسب طريقة (Richards 1954)، بوحدة قياس ديسيمنز/م، باستعمال جهاز نوع Milwaukee موديل SM302 ايطالي المنشأ.
 3. المادة العضوية (Organic Matter (OM): وقدرت كنسبة مئوية حسب طريقة Walkley and Black والموصوفة في (Schulte 1995).
 4. السعة التبادلية للأيونات الموجبة (Cation Exchange Capacity (CEC): وقدرت حسب الطريقة الموصوفة في (Polemio and Rhoades 1977)، وقيست بوحدة (سنتيمول /كغم).
 5. نسجة التربة Soil Texture: استعملت طريقة الماصة Pippete Method والموصوفة في (Miller and Miller 1987) في تقدير التوزيع الحجمي لحبيبات التربة Particle-size distribution of soil، وحددت نسجة التربة باستعمال مثلث قوام التربة .
- 3.1.2: تقدير المعادن الثقيلة في عينات التربة واوراق نخيل التمر.**
- قدر التركيز الكلي والجهاز لمعادن الرصاص (Pb) و الكاديوم (Cd) والكروم (Cr) والكوبلت (Co) في التربة واوراق نخيل التمر في المختبر المركزي في كلية الزراعة - جامعة البصرة باستعمال جهاز مطياف الامتصاص الذري Atomic Absorption Spectrophotometer نوع Perkin Elmer AAS analysis 300-USA، وقد استخلصت المعادن الثقيلة حسب طرائق الاستخلاص التالية:

1.3.1.2: استخلاص التركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة

استخلص المحتوى الكلي للمعادن الثقيلة من التربة حسب الطريقة الموصوفة في Davidson (2013)، بوضع 1 غم من التربة الجافة والمطحونة جيداً في بيكر بلاستيكي مقاوم للحرارة Teflon Beaker ورطبت بالماء، ثم اضيف إليها 10 مل من حامض الهيدروكلوريك HCl المركز، وسخن المزيج على درجة حرارة 75 °م، وترك يتبخر حتى يبقى يصل حجمه إلى حوالي 2 مل. ثم اضيف إليه مزيج مكون من (5 مل من حامض النتريك المركز HNO₃ و 5 مل من حامض البيروكلوريك HClO₄ بتركيز (70%) و 1 مل من حامض الهيدروفلوريك HF) تدريجياً وبحذر وسخن المزيج (بدون غليان) إلى حين ظهور دخان بني، ثم أُضيف 1 مل من حامض الهيدروكلوريك (1:1) (حجم: حجم) بعد نصف ساعة من ظهور الدخان البني. وسخن بعدها لفترة 10 دقائق، ثم برد وخفف بالماء المقطر إلى 100 مل.

2.3.1.2: استخلاص التركيز الجاهز من المعادن الثقيلة في التربة

تم استخلاص التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة في التربة حسب الطريقة الموصوفة في Lindsay and Novrell (1978)، باستعمال محلول استخلاص مكون من 0.005 مول/لتر من مادة DTPA (Diethylenetriamineacetic acid) و 0.01 مول/لتر من كلوريد الكالسيوم CaCl₂ و 0.1 مول/لتر من مادة TEA (Triethanolamone)، إذ أُضيف 30 مل من محلول الاستخلاص إلى 15 غم من التربة الجافة في دورق زجاجي، ثم رج الخليط لمدة ساعتين باستعمال رجّاج ميكانيكي، ورُشح الخليط من خلال ورق ترشيح نوع Whatman No.42 ، وخفف الراشح إلى حجم 100 مل بالماء المقطر.

3.3.1.2: استخلاص المعادن الثقيلة في اوراق نخيل التمر

استخلصت المعادن الثقيلة في اوراق نخيل التمر باستعمال طريقة هضم الاوراق الطرية بالحوامض و حسب الطريقة الموصوفة في Jones (1984)، بإضافة مزيج مكون من 5

مل من حامض النتريك (70%) و 1.5 مل من حامض الهيدروكلوريك (60%) إلى 0.5 غم من عينة الاوراق، ثم سخنت إلى حين اختفاء الدخان البني، واضيف اليها مباشرة 5 مل من حامض الهيدروكلوريك المخفف (1:1)، وخفف المزيج إلى 25 مل بالماء المقطر.

4.1.2: الحدود المسموح بها للمعادن الثقيلة في التربة

اعتمدت الحدود المسموح بها القياسية للتركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة لمقارنة نتائج الدراسة وتقييم مستوى التلوث، و الحدود القياسية لتلوث بالمعادن الثقيلة المدروسة هي كمايلي:

1.الرصاص (Pb) 100 ملغم/كغم.

2.الكاديوم (Cd) 3 ملغم/كغم.

3.الكروم (Cr) 100 ملغم/كغم.

الكوبلت (Co) 50 ملغم/كغم.

اعتمادا على (European Union 2006).

2.2: تأثير المعادن الثقيلة في بعض صفات نخيل التمر

درُس تأثير المعادن الثقيلة في بعض الصفات الكيموحيوية والتشريحية والثبات الوراثي لأشجار نخيل التمر، بناءً على نتائج الجزء الاول من الدراسة، إذ تم تحديد عنصري الكاديوم والرصاص؛ لتجاوزهما الحدود المسموح بها وفق المعيار الاوربي المعتمد في هذه الدراسة، وتحديد اقل واعلى تركيز من كلا العنصرين لغرض اجراء معاملات الدراسة، و اختيرت فساتل من نخيل التمر صنف البرحي ناتجة عن زراعة الانسجة بعمر سنتين مزروعة في سنادين. يحتوي كل سندان على 15 كغم من تربة.

وكانت مواصفات التربة المستعملة هي:

الأس الهيدروجيني 7.62 والتوصيل الكهربائي 5.23 ديسيمنز/م و السعة التبادلية للأيونات الموجبة 9 سنتمول و محتواها من المادة العضوية 0.81%، وهي ذات نسجة مزيجية Loamy soil، نسبة الغرين فيها 45.65% والرمل 32.44% والطين 21.91، وضعت الفسائل في غرفة نمو تحت شدة اضاءة (10000 لوكس) ودرجة حرارة 27 ± 2 م°، اضيفت المعادن الثقيلة إلى التربة مع ماء السقي بالتراكيز المحددة، واستعملت مادة كلوريد الكاديوم $CdCl_2 \cdot 2H_2O$ و خلاص الرصاص $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ بوصفه مصدراً للعنصرين، واستعمل ماء (RO) Reversed Osmosis منتج من محطة تحلية المياه في جامعة البصرة كماء للسقي وكانت مواصفات الماء (الأس الهيدروجيني 7.6 و التوصيل الكهربائي 1.3 ديسيمنز/م)، ولم يتم تحديد أي تركيز محسوس للكاديوم والرصاص في عينات الماء. سقيت فسائل نخيل التمر بالماء المحتوي على المعادن الثقيلة لمدة 180 يوماً وحسب السعة الحقلية وذلك للفترة من 2016/1/1 لغاية 2016/7/1.

وكانت المعاملات التجريبية كالآتي:

1. معاملة المقارنة: اذ تم السقي بالماء فقط.
2. معاملة الكاديوم 3 ملغم/كغم.
3. معاملة الكاديوم 9 ملغم/كغم.
4. معاملة الرصاص 100 ملغم/كغم.
5. معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم.

بعد نهاية التجربة جمعت العينات الورقية من منتصف الورقة الثالثة من كل فسيلة

وقدرت فيها الصفات التالية:

1.2.2: الصفات الكيموحيوية Biochemical Parameters

1.1.2.2: تقدير الصبغات النباتية ومؤشر ثبات الكلوروفيل

Photosynthetic pigment and chlorophyll stability index

قدرت صبغات الكلوروفيل a و كلوروفيل b والكلوروفيل الكلي و الكاروتينويدات و الانثوسيانين، و استخلصت هذه الصبغات اعتماداً على طريقة Arnon (1949) بطحن 200 ملغم من الاوراق في 8 مل من الاسيتون (80%) باستخدام هاون خزفي مبرد مسبقاً، وفصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة)، نوع Eppendorf موديل (5804 R) الماني المنشأ. وقيست الاطوال الموجية 470 و 534 و 663 و 645 نانوميتر في الراشح واستخدم الاسيتون كعينة ضابطة لغرض معايرة الجهاز، باستعمال جهاز مطياف ضوئي موديل UV-1100D صناعة شركة EMCLAB GmbH الماني المنشأ ذي اربع خلايا، وقدرت قيم الصبغات النباتية اعتماداً على المعادلات التالية حسب (Asare-Boamah *et al.* (1987) وعبر عنها بوحدة (ملغم /غم).

$$\text{كلوروفيل } a = (OD\ 645)2.69 - (OD\ 663)12.7 \times \text{حجم العينة} \times \text{وزن العينة}$$

$$\text{كلوروفيل } b = (OD\ 645)22.9 - (OD\ 663)4.68 \times \text{حجم العينة} \times \text{وزن العينة}$$

$$\text{الكلوروفيل الكلي} = (OD\ 645)20.2 - (OD\ 663)8.02 \times \text{حجم العينة} \times \text{وزن العينة}$$

$$\text{الانثوسيانين} = (OD\ 534)0.0821 - (OD\ 645)0.0439 - 0.002423 (OD\ 661)$$

$$\text{الكاروتينويدات} = (OD\ 470)17.1 - (a + \text{كلوروفيل} + \text{كلوروفيل } b)9.47 / ((\text{الانثوسيانين}))119.26$$

حيث:

$$OD = \text{الامتصاصية عند كل طول موجي.}$$

اما مؤشر ثبات الكلوروفيل (Chlorophyll Stability Index (CSI) فقد تم حسابه

وفقاً للمعادلة التالية الواردة في (Sairam *et al.* (1997).

$$100X \frac{\text{الكلوروفيل الكلي في المعاملة}}{\text{الكلوروفيل الكلي في المقارنة}} = \% (CSI) \text{ مؤشر ثبات الكلوروفيل}$$

2.1.2.2: تقدير الكربوهيدرات الذائبة الكلية Total Soluble

Carbohydrates

اتبعت الطريقة الموصوفة في (Watanabe *et al.* (2000) في تقدير الكربوهيدرات الكلية، بمزج 0.5 غم من الاوراق الطرية مع 80% ايثانول في هاون خزفي، ثم فصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي على سرعة 5000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق. ثم نقل 1 مل من الراشح إلى انبوبة اختبار وأضيف إليه 3 مل من كاشف الانثرون Anthrone Reagent المحضر بإضافة 50 ملغم من مادة الانثرون إلى 50 مل من حامض الكبريتيك H₂SO₄ بتركيز 95%، سخنت الانابيب الاختبار في الحمام المائي على درجة حرارة 100 °م لمدة 10 دقائق ثم بردت الانابيب وذلك بوضعها في الثلج، ثم قيست الامتصاصية على طول موجي 620 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي واستخدم 1 مل ماء مقطر بدلا من الراشح في تحضير العينة الضابطة، وقدرت الكربوهيدرات الكلية باستعمال منحني الكلوكوز القياسي.

3.1.2.2: تقدير البرولين Proline Content

قدر محتوى البرولين في انسجة العينات الورقية اعتماداً على طريقة (Bates *et al.* (1973)، بمزج 0.5 غم من الانسجة الورقية في 10 مل من المحلول المائي لحامض (3%) Sulphosalicylic، وفصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي على سرعة 6000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق، ثم نقل 2 مل من الراشح إلى أنابيب اختبار جديدة واضيف إليها 2 مل من حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid و 2 مل من محلول ننهيدرين الحامضي Acid Ninhydrine والمحضرة بإذابة 1.25 غم من مادة ننهيدرين في 50 مل من

مزيج مكون من 30 مل من حامض الخليك الثلجي و 20 مل من حامض الفسفوريك الثلاثي، سخنت بعدها انابيب الاختبار في حمام مائي على درجة حرارة 100 °م لمدة ساعة واحدة، ثم اوقف التفاعل بوضع الانابيب في حمام تليجي، ثم نقل المزيج إلى قمع فصل واضيف اليه 4 مل من التولوين Toluene ورج جيدا لمدة 20-30 ثانية ثم تركت في درجة الحرارة الغرفة حتى تكون طبقتين منفصلتين، تم التخلص من الطبقة الشفافة (السفلى) أما الطبقة الملونة (العليا) قدر فيها محتوى البرولين وذلك بقراءة الامتصاصية على طول موجي 520 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي، واستعمل التولوين كعينة ضابطة، قدر محتوى البرولين باستعمال منحني البرولين القياسي و حسب المعادلة التالية وعبر عنها بوحدة (مايكرومول/غم وزن طري):

$$\left(\frac{5}{\text{وزن العينة (غم)}} \right) X \left(\frac{\text{مايكروغرام برولين } X \text{ حجم التولوين (مل)}}{115.5} \right) = \text{تركيز البرولين}$$

اذ 115.5 هو الوزن الجزيئي للبرولين.

4.1.2.2: تقدير الاحماض الامينية الحرة الكلية Total Free Amino Acids

قدرت الاحماض الامينية الحرة في انسجة الاوراق وفق الطريقة المذكورة في Lee and Takahashi (1966)، واستخلصت الاحماض الامينية الحرة من انسجة الاوراق بحضن 0.5 غم من الاوراق المطحونة مع 10 مل من الايثانول 70% لمدة 24 ساعة، ثم اجريت عملية طرد مركزي للعينات بسرعة 12000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة، اخذ 0.1 مل من الراشح واضيف اليه 1.5 مل من الكليسيرول Glycerol (55%) و 0.5 مل محلول مادة ننهيدرين (1%) والمحضرة في محلول السترات الدارئ (تركيز 0.5 مولار، والرقم الهيدروجيني 5.6)، ثم سخن المزيج في حمام مائي على درجة حرارة 100 °م لمدة 20 دقيقة، ثم برد المزيج ، واكمل إلى 6 مل بالماء المقطر، وتم قراءة الامتصاصية على طول موجي 570 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي، واستعمل كحول الايثانول بدلا من الراشح في تحضير العينة الضابطة. وعبر

عن النتائج بوحدة ملغم/غم وزن طري، وقدر محتوى الاحماض الامينية الحرة باستعمال منحى اللويسين القياسي.

5.1.2.2: تقدير البروتينات الذائبة الكلية Total Soluble Protein

استخلصت البروتينات الذائبة الكلية من انسجة الاوراق اعتمادا على الطريقة المذكورة في (Bavei *et al.*, 2011)، اذ تم هرس 0.3 غم من الانسجة في النتروجين السائل ومزج مع 3 مل من المحلول الدائري Tris-HCl (تركيز 0.1 مولار والرقم الهيدروجيني 7.5) المحتوي على مادة PMSF (Phenylmethylsulfonyl Fluoride)، على درجة حرارة 4 °م، ثم اجريت لها عملية الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق. استعمل الراشح في تقدير البروتينات الذائبة الكلية حسب طريقة Bradford (1976) وباستعمال كاشف Bradford، وذلك بأخذ 40 مايكروليتر من الراشح واضيف إليه 2 مل من كاشف Bradford، المحضر بإذابة 100 ملغم من صبغة كوماسي الزرقاء Coomassie Blue في 50 مل من محلول كحول الايثانول (95%) ثم اضيف اليه 100 مل من حامض الفسفوريك (85%) واكمل الحجم إلى لتر بالماء المقطر، ثم قيست الامتصاصية على طول موجي 595 نانوميتر واستعمل الماء المقطر بدلا من الراشح في تحضير العينة الضابطة، وحسبت البروتينات الذائبة الكلية باستعمال منحى الالبومين القياسي، وعبر عن النتائج بوحدة ملغم/غم وزن طري.

6.1.2.2: تقدير بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen Peroxide

اتبعت الطريقة الموصوفة في (Sergiev *et al.* 1997) في تقدير محتوى انسجة الاوراق من بيروكسيد الهيدروجين، بمزج 0.5 غم من الانسجة في 5 مل من محلول مادة TCA (Trichloroacetic acid) 0.1% (وزن/حجم)، ثم اجريت عملية طرد مركزي للمزيج بسرعة 13000 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة. ثم اضيف 1 مل من الراشح إلى 0.5 مل من محلول فوسفات البوتاسيوم الدائري (تركيز 10 ملي مولار والرقم الهيدروجيني pH 7) و 1 مل من يوديد

البوتاسيوم KI (تركيز 1 مولار) والمحضر بإذابة 166 غم من يوديد البوتاسيوم في لتر. ثم تم قراءة الامتصاصية للمزيج على طول موجي 390 نانوميتر، واستعمل المزيج دون اضافة الراشح بوصفها عينة ضابطة، وتم حساب محتوى بيروكسيد الهيدروجين باستعمال منحني بيروكسيد الهيدروجين القياسي.

7.1.2.2: تقدير فعالية انزيم البيروكسيداز Peroxidase Activity

1.7.1.2.2: استخلاص الانزيم Enzyme Extraction

استخلص انزيم البيروكسيداز من أنسجة أوراق نخيل التمر وذلك بمزج 0.5 غم من الأوراق مع 8 مل من المحلول الدائري للفوسفات البوتاسيوم (تركيز 100 مايكرومولار والرقم الهيدروجيني 7 pH) المحتوي على 0.1 ملي مولار مادة EDTA (Ethylene Diamine) و 1 ملي مولار من مادة Tertacetic acid (Phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) و 3.75% من مادة PVP (Polyvinyl pyrrolidane) في هاون خزفي مبرد مسبقا، ثم اجريت عملية طرد مركزي مبرد على درجة حرارة 4 °م، واستعمل الراشح في تقدير الفعالية الانزيمية اعتمادا على (Zouari *et al.* (2016 b).

2.7.1.2.2: تقدير الفعالية الانزيمية

قدرت فعالية انزيم البيروكسيداز حسب الطريقة المذكورة في Kim and Yoo (1996)، واستعملت المحاليل الاتية:

1. محلول الكوايكل Guaiacol تركيز 0.05 مولار.
 2. محلول بيروكسيد الهيدروجين تركيز تركيز 0.02 مولار.
 3. محلول دائري خلات الصوديوم تركيز 0.1 مولار والرقم الهيدروجيني 5.5 pH.
- ومزجت المحاليل (1 و 2 و 3) مع الماء بنسبة (1:1:1:7)، ثم اضيف اليها 200 مايكروليتر من المستخلص الانزيمي ورج جيدا بتقليب الخلية الضوئية ثم قيست الامتصاصية عند

طول موجي 470 نانوميتر، وحضنت العينة في الجهاز لمدة 3 دقائق، وتم قراءة التغيير في الامتصاصية وتعرف وحدة الانزيم على انها الزيادة بمقدار 0.1 في الامتصاصية (وحدة/دقيقة/غرام)، واستخدم المزيج دون اضافة المستخلص الانزيمي كعينة ضابطة.

8.1.2.2: تقدير محتوى (MDA) Malondialdehyde Content

جرى تقدير محتوى الانسجة من مادة MDA وفقا لطريقة Heath and Packer (1968)، وذلك بمزج 0.5 غم من الانسجة مع 5 مل من مادة TCA (0.1%) (وزن/حجم)، ثم طرد المزيج مركزيا بسرعة 10000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق، ثم اضيف 1 مل من الراشح إلى 4 مل من محلول مادة TBA (Thiobaributric acid) (0.5%) (وزن/حجم) والمحضر في محلول 20% من مادة TCA، وتم تسخين المزيج في حمام مائي على 100 °م لمدة 30 دقيقة ثم اوقف التفاعل بوضع المزيج في الثلج، ثم اجريت عملية طرد مركزي مرة اخرى بسرعة 10000 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة، بعد ذلك تم قياس الامتصاصية في الراشح على طول موجي 532 و 600 نانوميتر واستعملت محلول مادة TBA بوصفها عينة ضابطة. وعبر عن النتائج بوحدة مايكرومول/غم وزن طري.

وتم حساب محتوى MDA حسب المعادلة الآتية:

$$\text{محتوى الانسجة MDA} = \frac{[\text{OD } 600 - \text{OD } 532]1000}{155}$$

اذ 155 = معامل الانطفاء Extinction Coefficient للمادة MDA.

9.1.2.2: مؤشر ثبات الاغشية (MSI) Membrane Stability Index

جرى حساب مؤشر ثبات الاغشية في الاوراق، بمزج 0.25 غم من الاوراق المقطعة إلى قطع صغيرة جدا مع 10 مل من الماء المقطر ثم تركت لمدة 24 ساعة على رجاج دوار، ثم تم قياس التوصيل الكهربائي إذ عدت (القراءة الاولى)، ثم وضع المزيج في فرن على درجة حرارة

90 م° لمدة ساعتين، ثم بردت العينات على درجة حرارة 25 م°، واخذ قراءة ثانية للتوصيل الكهربائي واعتبرت القراءة الثانية، وحُسب مؤشر ثبات الاغشية من خلال المعادلة التالية :

$$100 \times \left(\frac{\text{القراءة الاولى}}{\text{القراءة الثانية}} \right) - 1 = \text{مؤشر ثبات الاغشية (\%)} =$$

اعتماداً على (Lutts *et al.* 1996)

10.1.2.2: تقدير الفينولات الكلية Total Phenolic Compounds

اتبعت طريقة (Singleton and Rossi 1965) في تقدير الفينولات الكلية في أنسجة أوراق النخيل وباستعمال كاشف Folin-Ciocalteu، إذ استخلصت الفينولات الكلية من الانسجة بمزج 200 ملغم منها مع 2 مل 50% ميثانول باستخدام رجاج ميكانيكي بسرعة 200 دورة/دقيقة بدرجة حرارة الغرفة لمدة ساعتين، ثم فصل الراشح بإجراء عملية الطرد المركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة، تم الاحتفاظ بعدها بالراشح في قارورة سعة 4 مل، وكررت عملية الاستخلاص على الراسب بالخطوات السابقة نفسها، وجمع الراشح الثاني مع الراشح الاول واستعمل في تقدير الفينولات الكلية، بأخذ 200 مايكرو ليتر في أنبوبة اختبار أضيف إليه 1.5 مل من كاشف Folin-Ciocalteu (المخفف إلى عشرة اضعاف بالماء المقطر) وترك لمدة خمس دقائق في درجة حرارة الغرفة، ثم اضيف 1.2 مل بيكربونات الصوديوم Na_2CO_3 (7.5%) (وزن/حجم)، ترك بعدها المزيج لمدة 60 دقيقة قبل قراءة الامتصاصية على طول موجي 765 نانوميتر وحضرت عينة بالخطوات نفسها ولكن دون إضافة راشح بوصفها عينة ضابطة، وحسبت كمية الفينولات الكلية في الانسجة باستعمال منحني حامض Gallic القياسي. عبر عن النتائج كمكافئ لحامض Gallic (GAE) بوحدة ملغم/غم وزن طري.

2.2.2: الصفات التشريحية Anatomical Parameters

اختيرت ثلاث وريقات (خوص) من وسط السعف لفسائل النخيل واعتمدت طريقة Willey (1971) في تحضير المقاطع التشريحية، وضعت العينات في محلول التثبيت Formalin Acetic Acid (F.A.A)، المحضر من إضافة 5 مل فورمالين و 5 مل حامض الخليك الثلجي إلى 90 مل من الكحول الايثيلي بتركيز 70% لمدة 24 ساعة، غسلت بعدها بالكحول الايثيلي (70%) للتخلص من اثار المحلول المثبت. ثم وضعت في تراكيز من الكحول الايثيلي متصاعدة (70 و 80 و 90 و 95%) لمدة ساعة واحدة في كل تركيز ثم في كحول مطلق لمدة ليلة كاملة ، نقلت بعدها العينات إلى خليط من الكحول المطلق والزايلين بنسب (3:1) و (1:1) و (1:3) (كحول:زايلين) والزايلين النقي لمدة نصف ساعة لكل محلول، لتنتقل بعدها إلى خليط مكون من (زايلين: شمع البارافين)(حجم: حجم) وتركت لمدة اربع ساعات في فرن على درجة حرارة 60 °م، ثم تركت في شمع البارافين لمدة ليلة كاملة في درجة الحرارة نفسها، صب بارافين نقي في درجة الحرارة نفسها في قوالب بلاستيكية ووضعت فيها العينات بعد ان تم تعليمها وبردت بالماء الجاري ثم تركت 24 ساعة لتصبح جاهزة للتقطيع.

أجريت عملية التقطيع باستعمال جهاز التقطيع الدقيق (Microtome) نوع MSE بسمك 10-15 مايكرومتر للشريحة الواحدة ووضعت في حمام مائي على درجة حرارة من -50-60 °م، ووضعت على الشرائح الزجاجية (الاسلايدات) بعد وضع قطرات من محلول ماير المحضر من زلال البيض والكليسيرين بنسبة (1:1) ثم نقلت إلى الفرن بدرجة حرارة 50-60 °م لمدة نصف ساعة. ثم نقلت الشرائح إلى مخبر كوبلن Coplin Jar المحتوي على الزايلين المطلق لمدة ساعة وكررت العملية ثلاث مرات، ثم نقلت إلى مخبر كوبلن المحتوي على تراكيز من الكحول الايثيلي (100 و 95 و 90 و 80 و 70 و 50) من التركيز الاعلى إلى الاقل ولمدة 15 دقيقة لكل تركيز. حضرت صبغة السفرانين بإذابة 1 غم منها في 100 مل من 70% كحول ايثيلي، ثم نقلت

الشرائح إلى مخبار كوبلن المملوء بصبغة السفرانين وتركت لمدة 30-60 دقيقة، وضعت الشرائح في كحول اثيلي 50% لإزالة الصبغة الزائدة ، وضعت الشرائح بعدها في صبغة Fast Green (المحضرة بإذابة 1 غم من الصبغة في 100 مل كحول اثيلي مطلق) لمدة 15 ثانية وغسلت بعدها بالكحول المطلق. مررت الشرائح بالزايلين ثلاث مرات ولمدة خمس دقائق في كل مرة وتركت لتجف مدة خمس دقائق . لتجرى عملية التحميل بإضافة قطرة من مادة Distrene Plasticize Xylene (DPX) على الشريحة ثم وضع غطاء الشريحة برفق ووضعت على صفيحة ساخنة لعدة ساعات لتصبح الشرائح جاهزة للفحص المجهرى.

وقد تم فحص وقياس الصفات التالية:

1. قياس حجم الحزم الوعائية (ارتفاع وعرض) والعناصر الناقلة (الخشب واللحاء) (مايكروميتر).
2. سمك البشرة وطبقة الكيوتكل (مايكروميتر).
3. سمك النسيج المتوسط والخلايا البارنكيميية (مايكروميتر).
4. انتشار التانين ، حدد انتشار التانين في خلايا النسيج النباتي وفقاً لكثافته في الخلايا إلى قليل ومتوسط وكثيف الانتشار.

استعمل مجهر نوع Olympus ياباني المنشأ مزود بكاميرا في فحص المقاطع

التشريحية.

3.2.2: الصفات الوراثية Genetic Parameters

1.3.2.2: الترحيل الكهربائي للبروتينات الكلية الذائبة باستخدام تقنية SDS-

PAGE

بعد استخلاص البروتينات الكلية الذائبة كما في الفقرة 5.1.2.3، أخذ 40

مايكروليتر من الراشح لغرض الترحيل بتقنية SDS-PAGE واعتمادا على طريقة Laemmli (1970).

1.1.3.2.2: المحاليل المستخدمة.

Resolving gel buffer محلول رقم (1): المحلول الدائري لهلام الفصل

(pH=8.8)

لتحضير المحلول بتركيز 1.5 مولاري، اذيب 18.2 غم من مادة Tris-base في 80 مل من الماء المقطر، ثم عدل الرقم الهيدروجيني إلى 8.8 باستعمال حامض الهيدروكلوريك تركيز (6 عياري)، ثم اكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

Stacking gel buffer محلول رقم (2): المحلول الدائري لهلام الرص

(pH=6.8)

حضر المحلول الدائري لهلام الرص بتركيز 0.5 مولاري بإذابة 6 غم من مادة Tris-base في 40 مل من الماء المقطر، وبعد تعديل الرقم الهيدروجيني إلى 6.8 بواسطة حامض الهيدروكلوريك (6 عياري)، اكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.

Sodium dodecyl sulphate (SDS) محلول رقم (3): محلول

وحضر بتركيز 10%، وذلك بإذابة 10 غم من مادة Sodium dodecyl sulphate في 100 مل ماء مقطر.

Electrode buffer (pH=8.3) محلول رقم (4): المحلول الدائري للاقطاب

حضر 500 مل من المحلول بإذابة 1.5 غم من مادة Tris-base و 7.2 غم من حامض الكلايسين معا في كمية من الماء المقطر، ثم اكمل الحجم إلى 500 مل مع اضافة 5 مل من محلول SDS 10%.

Acrylamide stock محلول رقم (5): محلول Acrylamide القياسي

solution

حضر باذبة 29.2 غم من مادة Acrylamide و 0.8 غم من مادة Bis-acrylamide معاً في 100 مل من الماء المقطر، ورشح المحلول باستعمال ورق ترشيح whatman رقم 1، ثم اضيف 4 مل إلى الراشح من محلول SDS 10%.

Ammonium persulphate محلول رقم (6): محلول بيرسلفات الامونيوم

(Aps)

حضر بتركيز 1.5% وذلك باذابة 0.15 غم من مادة بيرسلفات الامونيوم في 10 مل ماء مقطر (يحضر انياً).

(N,N,N,N-Tetarmethylene diamine) TEMED محلول رقم (7): محلول

محلول جاهز للاستعمال (Sigma-Aldrich).

Staining solution (0.1%) محلول رقم (8): محلول التصبغ

حضر 100 مل من مزيج مكون من حامض الخليك و كحول المثل والماء المقطر بنسبة (4:5:1) على التوالي، ثم اذيب فيه 0.25 غم من صبغة كوماسي الزرقاء Coomassie Brilliant Blue.

Destaining solution محلول رقم (9): محلول ازالة الصبغة

حضر 100 مل منه بإضافة 10 مل من حامض الخليك إلى 75 مل من الماء المقطر ثم اضيف 15 مل من كحول المثل ورج جيداً.

Bromophenol Blue محلول رقم (10): محلول صبغة بروموفينول الزرقاء

dye solution

وحضر تركيز 0.25% من صبغة بروموفينول الزرقاء بإذابة 0.25 غم من الصبغة في 100 مل كليسيرون 50%.

محلول رقم (11): محلول بيتا-مركبتوايثانول β -mercaptomethanol

حضر بتركيز 0.5% بإذابة 0.5 غم من مادة بيتا-مركبتوايثانول في كمية من الماء المقطر ثم اكمل الحجم إلى 100 مل ماء مقطر.

محلول رقم (12): محلول كليسيرون 50% Glycerol solution

وحضر بإضافة 50 مل من الكليسيرون إلى 50 مل من الماء المقطر.

محلول رقم (13): المحلول الدائري للعينة Sample buffer

حضر 10 مل من المحلول بمزج 1 مل من محلول رقم 2 و 4 مل من محلول رقم 3 و 500 مايكروليتر من محلول رقم 10 و 2.5 مل من محلول رقم 11 و 2 مل من محلول رقم 12 ويكمل إلى 10 مل بالماء المقطر.

2.1.3.2.2: طريقة العمل Procedure

1.2.1.3.2.2: تحضير هلام الفصل Separation Gel Preparation

وحضر 10% من هلام الفصل بمزج 7.5 مل من محلول رقم 1 و 300 مايكروليتر من محلول رقم 3 و 10 مل من محلول رقم 5 و 150 مايكروليتر من محلول رقم 6 و 15 مايكروليتر من محلول رقم 7 و 12.2 مل من الماء المقطر، ويترك ليتصلب.

2.2.1.3.2.2: تحضير هلام الرص Stacking Gel Preparation

حضر هلام الرص من مزج 5 مل من محلول رقم 2 و 0.2 مل من محلول رقم 3 و 2.6 مل من محلول رقم 5 و 50 مايكروليتر من محلول رقم 6 و 10 مايكروليتر من محلول رقم 7 و 12.2 ماء مقطر، وترك ليتصلب.

3.2.1.3.2.2: تحضير العينة Sample Preparation

مزجت العينة المتمثلة بالبروتينات المستخلصة مع المحلول الدائري للعينة بنسبة (1:1)، لترسيب البروتينات، ثم وضعت في حمام على درجة الغليان لمدة 5 دقائق، تركت بعدها لتبرد.

3.1.3.2.2: تشغيل الجهاز

حقنت مكونات هلام الفصل بواسطة محقنه طبية Syringe بعناية بين لحي مستودع الترحيل الكهربائي Chamber نوع Cleaver Scientific انكليزي المنشأ وترك فترة ليتصلب، ثم اضيف هلام الرص، وتم عمل حفر في الهلام باستعمال مشط Comb مخصص لغرض حقن العينات، بعدها ترك فترة ليتصلب، ثم رفع المشط بعناية، بعدها حقنت العينات (50 مايكروليتر) والبروتين القياسي المجهز من شركة Promega المكون من تسعة حزم (10 و 15 و 25 و 35 و 50 و 75 و 100 و 150 و 225 كيلو دالتون) باستعمال محقنة دقيقة Micro syringe قياس 50 مايكروليتر، ثم وضع المستودع في جهاز الترحيل الكهربائي وأضيف إليه محلول رقم (4)، بعدها أغلق الجهاز بإحكام، ووصل بمجهر القدرة، وضبطت القدرة على 150 فولت لمدة ساعتين.

4.1.3.2.2: نزع الهلام

أضيف قليل من الماء بواسطة محقنة، ثم نزع الهلام بعناية لتجنب تمزق الهلام، ثم وضع في حوض التصبيغ الذي يحتوي على محلول رقم 8 لمدة 24 ساعة، بعدها رفع من حوض التصبيغ وغسل بمحلول ازالة الصبغة لحين ظهور الحزم Bands، وتم تصويرها بجهاز Gel documentation.

5.1.3.2.2: تحليل البيانات للترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية

بعد تقدير عدد الحزم المتكونة من عملية الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية وتقدير أوزانها الجزيئي باستعمال برنامج Photocapt MW V. 10.01، تم تسجيل الرقم 1 عند وجود الحزمة وصفر عند عدم وجودها، وحدد عدد الحزم المشتركة والمتباينة بين معاملات المختلفة ومعاملة المقارنة.

حُسب مؤشر التشابه الوراثي (GSI) Genetic Similarity Index حسب المعادلة التالية Lie (and Ni, 1979)

$$\frac{أ * 2}{ب + ج} = \text{مؤشر التشابه الوراثي}$$

حيث:

أ = عدد الحزم المتشابهة بين المعاملتين.

ب+ج = مجموع الحزم في المعاملة الاولى والثانية.

انشئت مصفوفة ثنائية Binary Matrix اعتماداً على قيم التشابه الوراثي، واستعملت

في رسم مخطط التحليل التجميعي Dendrogram، وذلك باستعمال طريقة Unweighted

pair-group Method with Arithmetic Average (UPGAM)، باستخدام الموقع

الالكتروني genomes.urv.cat/UPGMA، وأستخدم برنامج FigTree v. 1.4.3 في تحرير

المخطط التجميعي للبيانات.

2.3.2.2: تحديد بصمة الحمض النووي DNA باستخدام طريقة ISSR

DNA fingerprint by ISSR method

1.2.3.2.2: استخلاص الحمض النووي DNA DNA Extraction

استخلص الحمض النووي DNA من الانسجة النباتية وفقاً لطريقة Doyle and

Doyle (1990) وحسب الخطوات التالية:

1. طحن 200 ملغم من الانسجة باستخدام النتروجين السائل في هاون خزفي.
2. اضيف 1مل من محلول الاستخلاص (Cetyl trimethyl ammonium bromide CTAB) المسخن مسبقاً إلى 65 °م.
3. وضعت العينات بعد رجها جيداً في حمام مائي لمدة 30 دقيقة على درجة حرارة 60-65 °م.
4. اضيف إلى العينات (بعد اخراجها من الحمام المائي) 1 مل من مزيج مكون من كلوروفورم: ايزوميل (1:24)، ورجت جيداً بحركة افقية (إلى الامام والخلف) لمزج العينة.
5. اجريت عملية طرد مركزي لمدة 10 دقائق بسرعة 5000 دورة/دقيقة.
6. نقل الراشح بعناية إلى انايبب جديدة، واضيف اليه 700 مايكروليتر من كحول ايزوبروبانول Isopropanol، ومزجت العينات بهدوء ثم تركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.
7. اجريت بعد ذلك عملية طرد مركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة.
8. تم التخلص من الراشح المحتوي على كحول ايزوبروبانول.
9. غسل الراسب الناتج من الخطوة السابقة للتخلص من اثار ايزوبروبانول، بإضافة 1 مل من كحول الايثانول (70%)، واجريت عملية طرد مركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق واعدت عملية الغسل مرة اخرى، مع التخلص من الراشح في كل عملية.
10. تركت العينات لتجف بعد عملية الغسل بوضعها بشكل مقلوب لمدة 1 دقائق في درجة حرارة الغرفة.
12. اذيب الراسب المجفف من الخطوة السابقة، بإضافة 500 مايكروليتر من الماء المقطر المعقم، ثم رجت العينات جيداً.

12. اضيف 90 مايكروليتر من خلات الصوديوم تركيز 4 ملي مولار (الرقم الهيدروجيني 5.2)، ثم اضيف 2 مل من كحول الايثانول المركز (99.99%) والمبرد مسبقاً.
13. اجريت عملية طرد مركزي على بسرعة 10000 دورة/دقيقة لمدة 30 دقيقة، واستبعد الراشح.
14. اجريت عملية غسل للراسب الناتج من الخطوة السابقة بكحول الايثانول 70%، واستبعد الراشح.
15. اضيف 150 مايكروليتر من الماء المقطر إلى الراسب وحفظ في الثلاجة كعينات DNA نقية لحين الاستعمال.

2.2.3.2.2: قياس تركيز الحمض النووي DNA

قدر تركيز ونقاوة Purity الحمض النووي DNA باستعمال جهاز المطياف الضوئي نوع Nanodrop Spectrophotometer على الاطوال الموجية 260 و 280 نانوميتر .

3.2.3.2.2: تحديد بصمة الحمض النووي DNA بطريقة ISSR باستعمال بتقنية

PCR

لتحديد بصمة الحمض النووي DNA والكشف عن وجود تغيرات بين المعاملات استعملت خمس بادئات من ISSR (موضحة في جدول 1).

1.3.2.3.2.2: مضاعفة الحمض النووي DNA باستخدام تقنية PCR.

تم مضاعفة الحمض النووي باستعمال تقنية PCR وحسب برنامج الجهاز المتبع بوجود بادئات ISSR وكما موضح في جدول (2)، وبحجم كلي بلغ 25 مايكروليتر، ونفذ التفاعل بوجود 30 نانوغرام من قالب DNA لكل معاملة فضلا عن المكونات الاخرى والموضحة في جدول (3)، وحفظت نواتج PCR في درجة حرارة 4 °م.

4.2.3.2.2: تحضير هلام الاكاروز Agarose Gell Preparation

اذيب 0.3 غم من الاكاروز في 25 مل من محلول Tris-Boric acid-EDTA (1X)(TBE) وذلك لتحضير هلام الاكاروز بتركيز 1.2%، وسخن المزيج مع تحريك مستمر، ثم برد إلى درجة حرارة 50-55 °م، وأضيف إليه 1 مايكروليتر من صبغة Ethidium Bromide، وصب المزيج وترك لمدة 30 دقيقة ليتصلب.

بعد تحضير هلام الاكاروز نقل إلى حوض الترحيل وغمر بمحلول (1X) TBE، اجريت عملية الترحيل الكهربائي لنواتج تفاعل PCR مع الدليل الحجمي 100 DNA Ladder زوج قاعدة المكون من 12 حزمة بين 100-3000 زوج قاعدة والمجهز من شركة Promega، وذلك بتمرير كهربائي بقوة 60 فولت لمدة 30 دقيقة، بعدها نقل الهلام من القالب إلى جهاز الاشعة فوق البنفسجية UV-Transilluminator، وصورت الحزم المتكونة باستعمال Gel documentation.

جدول (1) البادئات المستعملة لتحديد البصمة الوراثية بطريقة ISSR.

محتوى	طول البادئ	تسلسل البادئ	معرف البادئ
G+C (%)	(زوج قاعدة)	3	5
52.94	17	CTC TCT CTC TCT CTC TG	815
52.94	17	CAC ACA CAC ACA CAC AG	818
47.05	17	TCT CTC TCT CTC TCT CA	822
47.36	19	AGA GAG AGA GAG AGA G (CT) T	834
47.36	19	ACA CAC ACA CAC ACA C (CT) T	855

جدول (2) برنامج PCR المستعمل في مضاعفة الحمض النووي DNA

المرحلة	الخطوة	الوقت (دقيقة)	عدد الدورات	درجة الحرارة °C	الوظيفة
1	1	5	1	95	المسخ الاولي لشريط DNA
2	1	1	35	95	مسح شريط DNA
	2	2		36	لصق البادئ ب قالب DNA
	3	2		72	الاستطالة الاولية لشريطي DNA
3	1	7	1	72	الاستطالة النهائية لشريط DNA

جدول (3) مكونات العينة المستعملة في تفاعل PCR.

المكون	التركيز او الوزن	الحجم (مايكروليتر)
محلول دارئ	10X	2.5
قواعد نتروجينية حرة dNTPs	1.25 مايكرومولار	8
كلوريد المغنسيوم MgCl ₂	1.5 مايكرومولار	2
بادئ ISSR	15 بيكومول	1
انزيم DNA Taq polymerase	1 وحدة/مايكروليتر	1

واكمل الحجم إلى 25 مايكروليتر بالماء المقطر المعقم.

5.3.2.2: تحليل البيانات

تم حساب اعداد الحزم الناتجة من عملية الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز وحددت

اوزانها الجزيئية باستعمال برنامج Photocapt MW V. 10.01، و حُسب مؤشر التشابه الوراثي

GSI كما ذكر في الفقرة 2.1.3.2.3، اما مؤشر ثباتيه القالب الوراثي Genome Template

Stability (GTS) فقد تم حسابه من خلال المعادلة التالية:

$$100 * \left(\frac{\text{عدد الحزم المتباينة في المعاملة}}{\text{عدد الحزم الكلي في المقارنة}} \right) - 1 = (\%) \text{ مؤشر ثباتية القالب الوراثي}$$

اعتماداً على (Atienzar *et al.* (1999).

تم حساب النسبة المئوية للتعددية الشكلية Polymorphism والنسبة المئوية لكفاءة

البادئ Primer Efficiency والقوة التشخيصية Discrimination Power لكل بادئ من

خلال المعادلات التالية اعتماداً على (Alansari *et al.* (2014):

$$100 * \left(\frac{\text{عدد الحزم المتباينة في البادئ}}{\text{عدد الحزم الكلي في البادئ}} \right) = (\%) \text{ التعددية الشكلية للبادئ}$$

$$100 * \left(\frac{\text{عدد الحزم الكلي في البادئ}}{\text{عدد الحزم الكلي في البادئات}} \right) = (\%) \text{ كفاءة البادئ}$$

$$100 * \left(\frac{\text{عدد الحزم المتباينة في البادئ}}{\text{عدد الحزم المتباينة لكل البادئات}} \right) = (\%) \text{ القوة التشخيصية للبادئ}$$

وتم رسم مخطط التحليل التجميعي اعتماداً على قيم التشابه الوراثي اعتماداً على

مؤشرات ISSR كما ذكر في البروتوكولات الكلية الدائبة.

3.2: التحليل الاحصائي Statistical Analysis

صممت التجربة باستعمال التصميم العشوائي الكامل Complete

Randomization Design (C.R.D.) أحادية العامل، حلت البيانات باستعمال تحليل التباين

باتجاه واحد One-Way ANOVA، واعتمد اختبار اقل فرق معنوي Least Significant

Difference (L.S.D.) للمقارنة بين المتوسطات و على مستوى احتمالية 0.05، واستعمل

البرنامج الاحصائي (SPSS) Statistical Package for the Social Science نسخة

(21) في تحليل البيانات، مثلت النتائج متوسط ثلاث مكررات لكل معاملة.

3. النتائج والمناقشة

1.3: مواصفات التربة لمواقع الدراسة في محافظة البصرة

أوضحت النتائج في الجدول (4) مواصفات التربة لمواقع الدراسة التي اختيرت لغرض تقييم مستويات التلوث بالمعادن الثقيلة في محافظة البصرة. لوحظ من النتائج أن قيم الأس الهيدروجيني كانت متقاربة بين كافة مواقع الدراسة، إذ إنها أقرب للتعادل، وتراوحت قيمها بين 6.91 و 7.50 في موسم الامطار وبين 7.30 و 7.80 في موسم الجفاف، ولوحظ انخفاض طفيف في موسم الامطار عنها في موسم الجفاف. أما عن قيم التوصيل الكهربائي فبينت النتائج اختلاف قيمها في موقعي طريق الزبير والفاو خلال موسمي الامطار والجفاف، إذ سجل ارتفاعها في موقع طريق الزبير من 10.36 في موسم الامطار إلى 16.93 ديسيمنز/م في موسم الجفاف، بينما انخفضت في موقع الفاو من 17.53 في موسم الامطار و كانت القيمة الاعلى التي سُجلت بين مواقع الدراسة وخلال موسمي الدراسة إلى 14.46 ديسيمنز/م في موسم الجفاف. أما عن باقي المواقع فوجد أن قيم التوصيل الكهربائي كانت متقاربة بين الموسمين إلا أنها كانت الأعلى في موسم الجفاف عنها في موسم الامطار عدا موقع شط العرب. كما أن نتائج الجدول نفسه توضح أن نسبة المادة العضوية تفاوتت بين مواقع الدراسة وأنها كانت متقاربة خلال الموسمين للموقع الواحد، فقد تم تسجيل أعلى نسبة للمادة العضوية في موقع محطة النجبية لموسمي الامطار والجفاف 5.63 و 5.34 % على التوالي. وقد سُجلت أقل نسبة للمادة العضوية في موقع شط العرب وبلغت 0.84 و 0.74 % لموسمي الامطار والجفاف على التوالي، أما بالنسبة لصفة سعة التربة لتبادل الايونات الموجبة CEC فوجد أن قيمها كانت متقاربة خلال الموسمين للموقع الواحد. وسُجلت أعلى القيم للموسمين في موقع محطة النجبية التي بلغت 22.15 و 20.88 سنتيمول/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي، بينما سجلت أقل القيم

خلال الموسمين في موقع طريق الزبير وبلغت 10.28 و 9.29 سنتيمول/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي. ويبين جدول (4) نتائج نسجة التربة Soil Texture والتوزيع الحجمي لدقائق التربة Soil Particle Size Distribution لتربة مواقع الدراسة، وتبين أن مواقع القرنة وشط العرب وابي الخصيب لها نسجة التربة نفسها وهي طينية غرينية، بينما كانت نسجة التربة في موقع الفاو طينية و طينية مزيجية لموقع محطة النجيبية ورملية مزيجية لموقع طريق الزبير.

2.3: التباين الموسمي للتلوث بالمعادن الثقيلة في محافظة البصرة

Seasonal variation of heavy metals pollution in Basra

governorate.

1.2.3: التركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة في موسمي الامطار والجفاف.

بينت النتائج في الجدول (5) التركيز الكلي لمعادن الرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت في تربة عدة مواقع من محافظة البصرة في موسمي الامطار والجفاف، إذ وجد أن أعلى تركيز للرصاص كان في موقع القرنة في موسمي الدراسة إذ بلغ 229.64 و 276.47 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي وبفارق معنوي عن باقي المواقع، بينما ظهر أقل تركيز منه في موقع الفاو وبلغ 100.78 و 165.39 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي وبفارق معنوي عن باقي المواقع. وأوضحت النتائج أن أعلى تركيز للكاديوم والكروم والكوبلت سجل في موقع محطة النجيبية في موسمي الدراسة وبفارق معنوي عن باقي المواقع، إذ بلغ تركيزها في موسم الامطار 8.84 و 138.91 و 42.31 ملغم/كغم، وفي موسم الجفاف 9.65 و 145.85 و 44.74 ملغم/كغم على التوالي، بينما وجد أن أقل تركيز من الكاديوم في موقع شط العرب في موسمي الدراسة، إذ بلغ 3.16 ملغم/كغم في موسم الامطار ودون فارق معنوي عن موقع ابي الخصيب و 4.87 ملغم/كغم في موسم الجفاف دون فارق معنوي عن مواقع ابي الخصيب والقرنة وطريق الزبير، أما بالنسبة لاقل تركيز من الكروم فقد سجل في موقع الفاو وبفارق معنوي عن باقي المواقع إذ بلغ 46.26 و 63.08 ملغم/كغم في موسمي الامطار والجفاف على التوالي، بينما وجد أن العينات التي جمعت من موقع شط العرب احتوت على أقل تركيز من الكلوبلت وبفارق معنوي عن باقي المواقع ولكلا موسمي الدراسة، إذ بلغ 23.58 و 28.09 ملغم/كغم في موسمي الامطار والجفاف على التوالي.

وأوضحت النتائج في الجدول (5) أن معدل التركيز الكلي للمعادن المدروسة في التربة كانت أعلى في موسم الجفاف منها في موسم الامطار وبفارق معنوي لكل المعادن، إذ بلغ معدلها في موسم الجفاف 196.73 و 6.27 و 107.93 و 35.90 ملغم/كغم و في موسم الامطار 157.85 و 5.55 و 92.76 و 33.29 ملغم/كغم للرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت على التوالي، وأن ترتيب المعادن حسب تركيزها الكلي ولموسمي الدراسة كان كمايلي:

الرصاص (177.29) < الكروم (100.35) < الكوبلت (36.60) < الكاديوم(5.41)

ولتقييم مستوى التلوث بالمعادن الثقيلة في التربة لمحافظة البصرة، تمت مقارنة التراكيز الكلية للمعادن المدروسة مع الحدود المسموح بها للتركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة وفقاً لمعيار الاتحاد الاوربي (European Union 2006)، ولوحظ أن تركيزي معدني الرصاص والكاديوم قد تجاوزتا الحدود المسموح بها للتلوث (100 ملغم/كغم للرصاص) و (3 ملغم/كغم للكاديوم) في كل مواقع الدراسة لموسمي الامطار والجفاف، وأن تراكيز الكوبلت كانت ضمن الحدود المسموح بها (50 ملغم/كغم) لكل مواقع الدراسة خلال موسمي الامطار والجفاف، بينما وجد أن تركيز الكروم قد تجاوز الحدود المسموح بها والذي يبلغ (100 ملغم/كغم) في موقعي محطة النجيبية والقرنة ولموسمي الدراسة، بينما كان ضمن الحدود المسموح بها في موقعي الفاو وشط العرب ولموسمي الدراسة، إلا أن تركيز هذا المعدن تجاوز الحدود المسموح بها في موقعي طريق الزبير وابي الخصيب خلال موسم الجفاف فقط.

جدول (5) التركيز الكلي للمعادن الثقيلة (ملغم/كغم) في تربة مواقع الدراسة.

كوبلت Co		كروم Cr		كادميوم Cd		رصاص Pb		الموقع
جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	
40.58	37.46	131.55	118.98	5.14	4.78	276.47	229.64*	القرنة
1.04±	2.08±	1.95±	2.08±	1.23±	1.09±	3.82±	2.26±	
b	b	b	b	c	b	a	a**	
44.74	42.31	145.85	138.91	9.65	8.84	208.95	198.77	محطة النجيبية
2.08±	1.58±	2.34±	2.62±	0.68±	0.86±	1.66±	2.26±	
a	a	a	a	a	a	b	b	
28.09	23.58	80.63	70.88	4.87	3.16	174.46	146.15	شط العرب
2.08±	2.16±	2.08±	5.52±	1.08±	0.82±	2.88±	2.88±	
e	d	d	e	c	c	d	d	
32.95	32.25	111.61	97.75	5.50	5.86	164.3	113.48	طريق الزبير
1.58±	2.08±	11.98±	1.95±	0.82±	0.56±	2.26±	2.88±	
d	c	c	c	c	b	e	e	
37.11	33.64	114.86	82.8	4.96	4.6	198.80	156.68	ابي الخصيب
1.58±	2.61±	2.28±	4.05±	1.38±	1.23±	4.99±	2.74±	
c	c	c	d	c	bc	d	c	
31.91	30.52	63.08	46.26	7.49	6.05	165.39	100.78	الفاو
1.58±	1.58±	5.04±	2.62±	1.27±	0.68±	1.25±	1.66±	
d	c	e	f	b	b	f	f	
2.46	2.98	4.12	4.92	1.61	1.51	4.49	3.59	LSD _{0.05}
35.90	33.29	107.93	92.76	6.27	5.55	196.73	157.85	معدل الموسم
a	b	a	b	a	b	a	b	
1.29		2.15		0.69		1.91		LSD _{0.05} للموسم

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).

2.2.3: التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة في التربة في موسمي الامطار والجفاف.

بينت النتائج في الجدول (6) التركيز الجاهز لمعادن الرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت في ترب مواقع الدراسة، إذ تشير النتائج إلى أن أعلى تركيز جاهز لكل المعادن المدروسة ظهر في موقع محطة النجيبية ولموسمي الدراسة، إذ بلغ التركيز الجاهز من الرصاص 32.43 و 30.79 والكاديوم 1.84 و 1.61 و الكروم 24.90 و 26.86 و الكوبلت 14.17 و 10.46 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي، كما أظهرت نتائج الجدول نفسه أن أقل تركيز لهذه المعادن كان خلال موسم الجفاف في موقع طريق الزبير، إذ بلغ 13.95 و 0.59 و 5.94 و 4.12 ملغم/كغم للرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت على التوالي ويفارق معنوي عن باقي المواقع عدا الكوبلت الذي لم يختلف معنوياً عن موقع شط العرب. أما عن موسم الامطار فأن أقل تركيز جاهز للكوبلت كان في موقع طريق الزبير وبلغ 6.85 ملغم/كغم ويفارق معنوي عن باقي المواقع و الرصاص في الموقع نفسه إذ بلغ 17.22 ملغم/كغم ودون فارق معنوي عن موقع الفاو وكذلك بالنسبة للكروم إذ وجد أن أقل تركيز جاهز منه كان في الموقع نفسه وبلغ 10.63 ملغم/كغم ولكن دون فارق معنوي عن موقع شط العرب، أما الكاديوم فأن أقل تركيز جاهز لهذا المعدن فقد سجل في موقع شط العرب وبلغ 0.84 ملغم/كغم دون فارق معنوي عن موقعي طريق الزبير وابي الخصيب.

وأوضحت نتائج الجدول نفسة أن معدل التركيز الجاهز للمعادن المدروسة في موسم الامطار تفوقاً معنوياً على معدلاتها في موسم الجفاف، إذ بلغ تركيزها في موسم الامطار 23.46 و 1.13 و 14.76 و 10.46 ملغم/كغم، بينما بلغت في موسم الجفاف 21.49 و 0.99 و 13.82 و 7.62 ملغم/كغم للرصاص والكاديوم والكروم والكوبلت على التوالي.

جدول (6) التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة (ملغم/كغم) في التربة لمواقع الدراسة.

كوبلت		كروم		كادميوم		رصاص		الموقع
جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	
8.53 0.90± c	11.63 0.46± c	14.19 0.50± b	13.52 0.6± b	0.94 0.02± c	1.10 0.09± b	24.12 2.63± b	23.54* 1.05± b**	القرنة
10.46 0.17± a	14.17 0.16± a	26.86 0.81± a	24.90 0.9± a	1.61 0.07± a	1.84 0.05± a	30.79 1.80± a	32.43 1.46± a	محطة النجيبية
4.68 0.18± e	7.31 0.2± e	10.9 0.8± d	11.37 0.3± c	0.78 0.05± d	0.84 0.05± c	19.8 2.11± c	22.95 1.23± b	شط العرب
4.12 0.10± e	6.85 0.08± f	5.94 0.30± e	10.63 0.50± c	0.59 0.02± e	0.89 0.04± c	13.95 2.83± d	17.22 0.92± c	طريق الزبير
11.35 0.35± a	13.66 0.14± b	12.31 0.72± c	14.19 0.7± b	0.83 0.06± cd	0.96 0.02± bc	21.23 2.48± bc	25.53 2.75± b	البي الخصيب
6.60 0.16± d	9.14 0.20± d	12.71 0.80± c	13.99 0.81± b	1.19 0.12± b	1.15 0.26± b	18.98 1.40± c	19.10 1.12± c	الفاو
0.69	0.35	0.99	0.97	0.13	0.17	4.49	3.59	LSD _{0.05}
7.62 2.83± b	10.46 2.98± a	13.82 6.59± b	14.76 4.87± a	0.99 0.34± b	1.13 0.36± a	21.49 5.63± b	23.46 5.18± a	معدل الموسم
0.23		0.46		0.06		1.33		LSD _{0.05} للموسم

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود في تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).

3.2.3: تركيز المعادن الثقيلة في أوراق نخيل التمر في موسمي الامطار والجفاف.

أوضحت النتائج في الجدول (7) تركيز المعادن الثقيلة في أوراق نخيل التمر في موسمي الامطار والجفاف في محافظة البصرة، وأشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى أن عينات أوراق نخيل التمر التي جمعت من موقع محطة النجيبية احتوت على أعلى تركيز من الرصاص لموسمي الدراسة، إذ بلغ في موسم الامطار 39.27 ملغم/كغم ودون فارق معنوي عن موقعي طريق الزبير والقرنة، بينما كان مستوى الرصاص 43.34 ملغم/كغم في موسم الجفاف دون فارق معنوي عن موقع القرنة، كما وجد أن أقل تركيز من الرصاص قد سجل في موسم الامطار في موقع الفاو وبلغ 23.56 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المواقع و 28.34 ملغم/كغم خلال موسم الجفاف ودون فارق معنوي عن موقع شط العرب. أما بالنسبة للكاديوم فإن أعلى تركيز لهذا المعدن في أوراق نخيل التمر فقد سجل في موقع محطة النجيبية وبفارق معنوي عن باقي المواقع وبلغ 5.38 و 5.67 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي، وان أقل تركيز من هذا المعدن سجل في موقع شط العرب وبلغ 1.48 و 1.92 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي. كما بينت النتائج أن أعلى تركيز للكروم في موسم الامطار قد سجل في مواقع محطة النجيبية والقرنة وطريق الزبير وشط العرب ودون فروقات معنوية بينهما وبلغ 11.7 و 11.26 و 9.53 و 8.67 ملغم/كغم للمواقع على التوالي، بينما أعلى تركيز من هذا المعدن في موسم الجفاف كان في موقع القرنة وبلغ 17.73 ملغم/كغم ودون فارق معنوي عن موقع محطة النجيبية، أما بالنسبة لأقل تركيز من الكروم فقد وجد في موقع ابي الخصيب إذ بلغ 3.47 ملغم/كغم في موسم الامطار ودون فارق معنوي عن موقع الفاو، أما في موسم الجفاف فقد سجل أقل تركيز من الكروم في موقع الفاو إذ بلغ 9.07 ملغم/كغم ودون فارق معنوي عن موقعي ابي الخصيب وطريق الزبير بينما ظهر أعلى تركيز للكوبلت في عينات أوراق نخيل التمر التي جمعت من موقع ابي الخصيب في موسمي الدراسة وبلغ 18.76 و 24.87 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف

على التوالي ووجد أن باقي المواقع لم تختلف معنويا فيما بينها خلال موسم الامطار، بينما وجد أن أقل تركيز للكوبلت خلال موسم الجفاف قد سجل في العينات التي جمعت من موقع الفاو إذ بلغ 8.00 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المواقع.

وأوضحت نتائج الجدول نفسه أن تركيز المعادن الثقيلة في أوراق النخيل والتي جمعت في موسم الجفاف كانت أعلى وبفارق معنوي عنها في موسم الامطار، إذ بلغ تركيزها من الرصاص 33.44 و 35.42 ملغم/كغم و الكاديوم 3.23 و 3.60 ملغم/كغم والكروم 8.45 و 12.97 ملغم/كغم والكوبلت 14.10 و 17.12 ملغم/كغم لموسمي الامطار والجفاف على التوالي.

جدول (7) تركيز أوراق نخيل التمر في مواقع الدراسة من المعادن الثقيلة
(ملغم/كغم).

الموقع	رصاص		كادميوم		كروم		كوبلت	
	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف
القرنة	35.70*	39.05	3.57	4.22	11.26	17.73	13.92	18.87
	4.45±	4.45±	0.12±	0.33±	1.49±	3.9±	2.81±	2.34±
	ab**	ab	b	b	a	a	b	bc
محطة النجبية	39.27	43.34	5.38	5.67	11.7	15.13	15.03	20.37
	1.23±	3.27±	0.21±	0.12±	1.29±	2.7±	1.7±	1.71±
	a	a	a	a	a	ab	b	b
شط العرب	30.70	33.34	1.48	1.92	8.67	13.83	12.43	15.87
	2.47±	5.39±	0.21±	0.21±	3.29±	1.98±	2.23±	1.71±
	b	bc	e	e	ab	bc	b	cd
طريق الزبير	37.85	34.38	3.50	3.65	9.53	11.67	12.80	14.75
	3.27±	1.66±	0.12±	0.37±	1.98±	1.29±	2.81±	3.43±
	a	b	b	c	a	bce	b	d
ابي الخصيب	33.56	34.05	3.07	3.29	3.47	10.37	18.76	24.87
	4.45±	3.71±	0.12±	0.12±	2.7±	2.24±	2.32±	2.34±
	ab	bc	c	cd	c	ce	a	a
الفاو	23.56	28.34	2.35	2.85	6.07	9.07	11.68	8.00
	2.14±	2.47±	0.21±	0.33±	2.70±	1.29±	2.81±	1.71±
	c	c	d	d	bc	e	b	e
LSD _{0.05}	6.23	5.91	0.25	0.51	3.41	3.52	3.61	3.33
معدل الموسم	33.44	35.42	3.23	3.60	8.45	12.97	14.1	17.12
	6.02±	5.76±	1.24±	1.22±	3.57±	3.64±	3.19±	5.71±
	b	a	b	a	b	a	b	a
LSD _{0.05} للموسم	1.91	1.60	0.15	16.4	1.60	16.4	1.60	1.60

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).

4.2.3: نتائج الارتباط بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة وصفات التربة خلال

موسمي الامطار والجفاف.

أشارت النتائج في الجدول (8) إلى التحليل الاحصائي لعلاقة الارتباط بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة المدروسة وصفات التربة في مواقع الدراسة، ولوحظ أن هنالك علاقة ارتباط عالية المعنوية ($0.60 <$) بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة في التربة ونسبة المادة العضوية في التربة عدا الرصاص، كما وجد أن الأس الهيدروجيني هو أقل صفات التربة تأثيراً في التركيز الكلي للمعادن الثقيلة، كما أن ملوحة التربة (Ec) ارتبطت ارتباطاً عالي المعنوية مع التركيز الكلي للكروم خلال موسمي الدراسة ومع الرصاص خلال موسم الامطار فقط، ولم توجد اي علاقة عكسية معنوية بين صفات التربة والتركيز الكلي للمعادن الثقيلة خلال موسمي الدراسة.

5.2.3: نتائج الارتباط بين التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة وصفات التربة خلال

موسمي الامطار والجفاف.

أوضحت النتائج في الجدول (9) تحليل معامل الارتباط بين التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة وصفات التربة خلال موسمي الامطار والجفاف الارتباط الموجب عالي المعنوية بين التركيز الجاهز لكل المعادن الثقيلة المدروسة و صفتي نسبة المادة العضوية وسعة تبادل الايونات الموجبة للتربة، بينما لم يلاحظ اي ارتباط بين الأس الهيدروجيني والتوصيل الكهربائي للتربة والتركيز الجاهز للمعادن المدروسة، عدا التركيز الجاهز من الرصاص والذي ارتبط معنوياً بالتوصيل الكهربائي للتربة خلال موسم الامطار.

جدول (8) تحليل الارتباط بين التركيز الكلي للمعادن الثقيلة وصفات التربة في

موسمي الامطار والجفاف

موسم الامطار				
CEC	OM	Ec	pH	المعدن
0.427	0.316	**0.740	*0.527	Pb الرصاص
*0.507	**0.748	0.112-	0.114	Cd الكادميوم
0.354	**0.627	**0.816	0.366	Cr الكروم
*0.526	**0.696	0.414	*0.518	Co الكوبلت
موسم الجفاف				
CEC	OM	Ec	pH	المعدن
0.189	0.039	0.440-	0.109-	Pb الرصاص
**0.618	**0.675	0.121-	0.347	Cd الكادميوم
0.372	**0.633	**0.726	0.244-	Cr الكروم
**0.615	**0.708	*0.492	0.129-	Co الكوبلت

• ارتباط معنوي ** ارتباط عالي المعنوية (< 0.60).

جدول (9) تحليل الارتباط بين التركيز الجاهز للمعادن الثقيلة وصفات التربة في

موسمي الامطار والجفاف.

موسم الامطار				
CEC	OM	Ec	pH	المعدن
**0.894	**0.786	**0.656	0.522	Pb الرصاص
**0.771	**0.807	0.320-	0.507	Cd الكادميوم
**0.894	**0.907	0.422-	0.476	Cr الكروم
**0.815	**0.690	0.419-	0.533	Co الكوبلت
موسم الجفاف				
CEC	OM	Ec	pH	المعدن
**0.838	**0.652	0.566	0.205-	Pb الرصاص
**0.835	**0.718	0.186-	0.095	Cd الكادميوم
**0.914	**0.812	0.515	0.070-	Cr الكروم
**0.781	**0.611	0.336-	0.356-	Co الكوبلت

• ارتباط معنوي ** ارتباط عالي المعنوية (< 0.60).

اثبتت نتائج تحليل البيانات وجود مستوى عالٍ من التلوث بالمعادن الثقيلة في محافظة البصرة، سيما الرصاص والكاديوم التي تجاوزت الحدود المسموح بها لكل مواقع الدراسة. يمكن أن يعزى ارتفاع مستويات التلوث بالمعادن الثقيلة إلى النشاطات الصناعية واستعمال الاسمدة والمبيدات ومياه الصرف الصحي والترسيب الجوي (Khan *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2010)، وعمليات انتاج النفط التقليدية Conventional oil production activities (Khoo and Tan, 2006)، و معامل انتاج الطاقة (Nriagu, 1989)، والكثافة المرورية وحرق الوقود الاحفوري Fossil Fuels (Al-Khashman *et al.*, 2011)، سيما الوقود المحتوي على الرصاص (Chen *et al.*, 2005)، مع ملاحظة كون العراق من الدول التي لا تزال تستعمل الوقود المحتوي على الرصاص Leaded Gasoline وفقاً لبرنامج الامم المتحدة للبيئة. ويمكن تحديد عدة مصادر لانبعاث المعادن الثقيلة في محافظة البصرة مثل معامل توليد الطاقة الكهربائية والبتروكيمياويات والحديد والصلب والاسمدة والغاز السائل ومصفى الشعبية ومعامل الاسمنت، فضلاً عن الكثافة المرورية والانبعاثات الناتجة من عوادم السيارات. فقد أشار حميد (2012) إلى أن كمية الرصاص التي تطرح إلى الجو في محافظة البصرة من عوادم السيارات بلغت 140.38 كغم سنوياً، فضلاً عن استعمال المولدات الكهربائية التي تعتمد على وقود الكازولين والديزل هي الاخرى تعد من مصادر انبعاث الرصاص والكاديوم والكروم في الجو (الغزي، 2010). أن عمليات استخراج النفط وما يصاحبها من حرق للغاز الطبيعي اثناء عملية فصل الوقود الخام وانبعاثها إلى الجو من مشاعل الحرق Flares من اهم مصادر التلوث بالرصاص (Efe, 2010)، وتحدث في العراق وايران اكبر عمليات لحرق الغاز المصاحب لإنتاج النفط في الشرق الاوسط، إذ يتم فيهما اضافة إلى السعودية والكويت وقطر حرق 7-10 مليار متر مكعب سنوياً من الغاز (Ismail and Umukoro, 2012)، وهذا ما قد يفسر ارتفاع مستويات

الرصاص في موقع القرنة، إذ يضم هذا الموقع أكبر الحقول النفطية مثل حقل مجنون وغربي القرنة والتي تشهد عمليات استخراج واسعة للنفط الخام، فضلاً عن الحركة المرورية.

لوحظ من النتائج أن أعلى تركيز من الكاديوم والكروم والكوبلت كان في تربة موقع محطة النجيبية وبفارق معنوي عن باقي المواقع، وقد يعزى ذلك إلى مواصفات التربة في هذا الموقع ومقدرتها على مسك هذه المعادن وذلك لارتفاع محتواها من المادة العضوية وقيمة السعة التبادلية للأيونات الموجبة مقارنةً بباقي المواقع، إذ أشار (Azzez *et al.* (2016) إلى أن ارتفاع محتوى التربة من المادة العضوية يؤدي إلى تراكم المعادن الثقيلة في الطبقة العليا منها، وأشارت نتائج جدول (5) إلى ارتباط عالي المعنوية بين التركيز الكلي للكاديوم والكروم والكوبلت مع محتوى التربة من المادة العضوية. وتعدّ محطة كهرباء النجيبية نقطة انبعاث ثابتة للمعادن الثقيلة جراء حرق الوقود لتشغيل المحطة، فقد أشار (Carreras and Pignata (2005) إلى أن إنتاج الطاقة الكهربائية في محطات الإنتاج يتطلب حرق كميات كبيرة من الوقود، مع ملاحظة قرب محطة الهارثة الغازية من موقع محطة النجيبية، وهذا يسهم في ارتفاع مستويات المعادن الثقيلة في هذا الموقع، وأشار العاني (2000) إلى ارتفاع معادن الكاديوم والكروم في مخلفات وقود محطة الدورة الكهربائية، كما أن إضافة الاسمدة إلى التربة يعدّ من مصادر تلوث التربة بالمعادن الثقيلة سيما الكاديوم (Chen *et al.*, 2014)، فضلاً عن إضافة هذه المعادن إلى التربة عن طريق مياه السقي من شط العرب، إذ تطرح في شط العرب مخلفات معمل الورق ومحطتي كهرباء الهارثة والنجيبية (حسن وآخرون، 2011).

بينت نتائج الدراسة وجود تباين موسمي في التركيز الكلي للمعادن الثقيلة بين موسمي الامطار والجفاف، إذ أشارت النتائج إلى أن مستويات المعادن الثقيلة في موسم الجفاف كانت أعلى منها في موسم الامطار وبفارق معنوي، وقد يعود ذلك إلى تساقط الامطار يؤدي إلى عملية

غسل Leaching للمعادن الثقيلة إلى نقاط اعرق من نقاط اخذ العينات من التربة، كذلك قد تؤدي إلى تخفيف محلول التربة، الامر الذي يترتب عليه تقليل تركيز المعادن الثقيلة في التربة (Yahaya *et al.*, 2010)، كما أن ارتفاع درجات الحرارة خلال موسم الجفاف تؤدي إلى زيادة شدة التبخر ومن ثم زيادة تركيز محلول التربة مما يزيد تركيز المعادن الثقيلة فيه (Oluyemi *et al.*, 2008)، فعليه تتفق هذه النتائج مع نتائج عديد من الدراسات التي أشارت إلى ارتفاع مستويات المعادن الثقيلة في التربة خلال موسم الجفاف مقارنة بموسم الامطار (Yahaya *et al.*, 2009; Nwadinigwe *et al.*, 2014; Osobamiro and Adewuyi, 2015; Durowoju *et al.*, 2016).

بينت النتائج ارتفاع التراكيز الجاهزة من المعادن الثقيلة في موقع محطة النجيبية، وقد يعزى ذلك إلى كون تربة هذا الموقع تحتوي على نسبة عالية من المادة العضوية وارتفاع قيمة سعة تبادل الايونات الموجبة CEC لها مقارنة مع باقي المواقع المدروسة، فضلاً عن ارتفاع التراكيز الكلية للمعادن الثقيلة، إذ أشار (Barancikova and Makovnikova (2003) إلى أن صفات التربة تؤثر في جاهزية المعادن الثقيلة وتوزيعها، إذ يعتمد بشكل مباشر (او غير مباشر) على نسبة المادة العضوية في التربة (Van der perk and Van Gaans, 1997)، كذلك على التوزيع الحجمي لدقائق التربة (الرمل والغرين والطين) إذ أن الدقائق الناعمة مثل الطين تكون قابليتها اكبر على مسك المعادن الثقيلة بسبب زيادة مساحتها السطحية (Forstner, 1980)، وإن قابلية التربة على مسك المعادن الثقيلة تزداد مع زيادة قيمة CEC والتي تعتمد على نسبة المادة العضوية وجزيئات الطين (Korte *et al.*, 1976)، كما أن التركيز الكلي للمعدن الثقيل يعد احد اهم العوامل التي تؤثر على جاهزية المعادن الثقيلة (Mitsios *et al.*, 2005)، و اثبتت نتائج تحليل الارتباط لهذه الدراسة أن هناك ارتباطاً موجباً عالي المعنوية بين التركيز الجاهز للمعادن

الثقيلة ونسبة المادة العضوية وقيمة CEC للتربة، وهذا ما قد يفسر ارتفاع التراكيز الجاهزة للمعادن الثقيلة في تربة موقع محطة النجيبية وانخفاضها في موقع طريق الزبير، مع ملاحظة أن تربة موقع طريق الزبير تحتوي على أقل نسبة من جزيئات الطين وقد يشير إلى أن قابلية التربة على مسك والاحتفاظ بالمعادن الثقيلة يرتبط ارتباطاً وثيقاً بمحتواها من الطين أكثر من المادة العضوية وهذا ما اكده *Korte et al. (1976)*.

وأشارت النتائج إلى اختلاف تركيز أوراق اشجار نخيل التمر من المعادن الثقيلة بين موسمي الامطار والجفاف، إذ كان محتواها في موسم الجفاف أعلى من موسم الامطار، وهذه النتائج تتفق مع ما وجدته *Durowoju et al. (2016)* في دراستهم على اشجار المانجو و *Shaheen et al. (2016)* في دراستهم على اشجار السدر، وقد يعزى الاختلاف بين الموسمين إلى العوامل المناخية مثل درجة الحرارة والرياح وشدة الاضاءة، إذ أشار *Hopkins and Huner (2008)* إلى أن ارتفاع درجة الحرارة وشدة الاضاءة وسرعة الرياح تؤدي إلى زيادة سرعة النتج ومن ثم زيادة امتصاص النبات للماء والعناصر ومن ضمنها المعادن الثقيلة من محلول التربة وأشار *Moore et al. (2003)* إلى زيادة سرعة النتج نتيجة اختلاف درجة الحرارة داخل الاوراق السمكية المعرضة لأشعة الشمس ومحيطها الخارجي. كما أشارت النتائج إلى أن تركيز الاوراق من المعادن الثقيلة فاق التراكيز الجاهزة منها في التربة، وقد يدل هذا على دخول المعادن الثقيلة إلى الانسجة النباتية عن طريق اخر غير الامتصاص عن طريق الجذور، إذ أشار *Marschner (1995)* إلى امكانية امتصاص النباتات للعناصر الضرورية وغير الضرورية عن طريق الاوراق وقد يرتبط هذا بعملية غلق وفتح الثغور، وأشار *Moore et al. (2003)* إلى تأثير درجة الحرارة وشدة الاضاءة في فتح الثغور واتساعها، مما قد يسمح بدخول المعادن الثقيلة عن طريق الثغور سواء بحالتها الصلبة او الغازية. كما يمكن اعتبار العواصف الغبارية *Dust Storms* التي تهب

في موسم الجفاف احد الاسباب التي تؤدي إلى رفع تركيز المعادن الثقيلة في هذا الموسم، وأشار Al-Dabbas *et al.*, (2015) إلى أن هذه العواصف يمكن أن تحدث في اي وقت في العراق إلا أن كثافتها تزداد بين شهري اذار وحزيران، وان أعلى تركيز للرصاص والكادميوم في هذه العواصف كان في شهر تموز.

أشارت النتائج إلى ارتفاع تركيز أوراق النخيل في موقعي القرنة ومحطة النجيبية من المعادن الثقيلة المدروسة، وقد يعزى ذلك إلى انبعاث كميات كبيرة من المعادن الثقيلة نتيجة للنشاطات الصناعية فيهما، فضلاً عن ارتفاع تركيز المعادن الثقيلة في تربتهما، ويلاحظ ارتفاع تركيز أوراق النخيل من الرصاص في موقع طريق الزبير خلال موسم الامطار وعدم اختلافه معنوياً عن موقعي القرنة ومحطة النجيبية، مما يدل على ترسب المعادن الثقيلة سيما الرصاص المنبعثة من عوادم السيارات ، إذ أشار Walsh *et al.* (1996) إلى أن نسبة الرصاص في الوقود المستعمل في العراق بلغت 0.40 غم/لتر. ولوحظ أن أعلى تركيز من الكوبلت كان في عينات أوراق النخيل التي جمعت من موقع ابي الخصيب، وهذا قد يعزى إلى تطاير الغبار من معمل الاسمنت القريب من هذا الموقع، إذ أشار Baby *et al.* (2008) إلى ارتفاع مستويات الكوبلت في الغبار المنبعث من معامل الاسمنت. ويضاف إلى ما سبق احتمال انبعاث المعادن الثقيلة من نشاطات خارج المحافظة او من خارج القطر، سيما أن البصرة من المحافظات الحدودية، وأشار Shrivastav (2001) إلى أن المعادن الثقيلة يمكن أن تنتقل إلى مسافات بعيدة عن نقاط انبعاثها، ويعتمد هذا على حجم الجزيئات المنبعثة والعوامل المناخية، سيما سرعة واتجاه الرياح.

3.3: تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات الكيموحيوية والتشريحية

والشبات الوراثي لأوراق نخيل التمر.

1.3.3: تركيز التربة واوراق نخيل التمر من الكادميوم والرصاص

بينت النتائج في الجدول (10) تركيز التربة واوراق نخيل التمر من الكادميوم والرصاص في بداية التجربة وبعد 180 يوماً من المعاملة بتركيزين من الكادميوم والرصاص، لوحظ في بداية التجربة أن تركيز الكادميوم كان دون مستوى التحسس لجهاز المطياف الضوئي الذري في التربة واوراق نخيل التمر، إلا أنه ارتفع إلى 7.15 و 15.36 ملغم/كغم في التربة وإلى 2.59 و 8.02 ملغم/كغم في الاوراق لمعاملي التركيز المنخفض (3 ملغم/كغم) و التركيز العالي (9 ملغم/كغم) من الكادميوم على التوالي، وارتفع تركيز الرصاص من 1.04 إلى 59.96 ملغم/كغم في التربة و من 0.04 إلى 22.93 ملغم/كغم في الاوراق عند المعاملة بالتركيز المنخفض من الرصاص (100 ملغم/كغم)، بينما أدت المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص (276 ملغم/كغم) إلى رفع تركيز الرصاص في التربة من 0.99 إلى 86.79 ملغم/كغم وفي الاوراق من 0.09 إلى 39.20 ملغم/كغم. وبينت النتائج أن تعريض نخيل التمر إلى مستويات عالية من الكادميوم والرصاص عن طريق السقي أدت إلى زيادة تراكم هذه المعادن في الاوراق، وان هذا التراكم للمعادن في الاجزاء الهوائية للنخيل يتوافق مع ما وجد في دراسات اخرى على نباتات الخرشوف الشوكي *Cynara cardunculus* L. (Yang *et al.*, 2011) والكرنب *Brassica campestris* L. (Papazoglou, 2011) و الفاصوليا (Aldoobie and Beltagi 2013) و نخيل التمر (Zouari *et al.*, 2016a)، إذ أشارت هذه الدراسة إلى أن تركيز الكادميوم ارتفع في أوراق نخيل التمر من 0.049 ملغم/كغم في معاملة المقارنة إلى 7.36 و 14.99 ملغم/كغم عند معاملتها بالكادميوم بتركيز 10 و 30 ملغم/كغم على التوالي لمدة 150

يوماً. ومن الجدير بالذكر أن النباتات تمتص المعادن الثقيلة من التربة بطرائق عدة منها الامتصاص السلبي *Passive uptake* وذلك عن طريق انتشار هذه المعادن من محلول التربة إلى البشرة الداخلية للجذور وهذا الامتصاص لا يحتاج إلى طاقة، أو عن طريق الامتصاص النشط *Active uptake* ويحدث باتجاه عكس التركيز ويحتاج إلى طاقة (Williams *et al.*, 2000; Reichman, 2002). و تنتقل هذه المعادن من الجذور إلى الاجزاء الهوائية في النبات أما عن طريق تدفق الكتلة *Mass flow* للماء الذي يحدث بفعل عملية النتح (Kochian, 1991) أو عن طريق خلب هذه المعادن بواسطة بعض الاحماض العضوية أو الامينية والتي تسهل انتقالها عبر الخشب *Xylem* (Clemens *et al.*, 2000; Lesage *et al.*, 2005).

جدول (10) تركيز التربة واوراق نخيل التمر من الكادميوم والرصاص في بداية

التجربة وبعد 180 يوماً.

الاوراق		التربة		المعاملة
180 يوم	بداية التجربة	180 يوم	بداية التجربة	
0.13±2.59 d	0	0.42±7.15* d**	0	كادميوم (3 ملغم/كغم)
0.21±8.02 c	0	1.03±15.36 c	0	كادميوم (9 ملغم/كغم)
0.94±22.93 b	0.02±0.04 b	1.13±59.96 b	0.03±1.04 a	رصاص (100 ملغم/كغم)
0.68±39.20 a	0.04±0.09 a	3.52±86.49 a	0.02±0.99 a	رصاص (276 ملغم/كغم)
0.03	0.02	0.16	0.07	LSD _{0.05}

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).

2.3.3: تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات الكيموحيوية لفسائل

نخيل التمر صنف البرحي.

1.2.3.3: صبغات البناء الضوئي ومؤشر ثباتية الكلوروفيل

بينت النتائج في الجدول (11) تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في تركيز صبغات الكلوروفيل (a و b و الكلي) والكاروتينويدات والانثوسيانين في أوراق نخيل التمر، وأشارت النتائج إلى الانخفاض المعنوي في تركيز أوراق نخيل التمر من الكلوروفيل بعد تعريضها للكادميوم والرصاص لمدة 180 يوماً، إذ تبين النتائج إلى أن المعاملة بالكادميوم والرصاص أدت إلى خفض تركيز كلوروفيل a في الاوراق معنوياً عن معاملة المقارنة، وان المعاملة بالرصاص بالتركيز 276 ملغم/كغم أدت إلى خفضها من 4.16 في معاملة المقارنة إلى 2.15 ملغم/غم، ويفارق معنوي عن المعاملة بالكادميوم بكلا التركيزين إلا انها لم تختلف معنوياً عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص، أما المعاملة بالكادميوم بالتركيز 3 و 9 ملغم/كغم فقد أدت إلى خفض تركيز كلوروفيل a في الاوراق إلى 2.86 و 2.51 ملغم/غم على التوالي. أما بالنسبة للكلوروفيل b فقد بينت النتائج أن المعاملة بالتركيز العالي من الكادميوم والرصاص أدت إلى خفض تركيز الاوراق من هذه الصبغة معنوياً مقارنة مع باقي المعاملات، إذ انخفض تركيز الاوراق فيها من 1.49 في معاملة المقارنة إلى 1.22 و 1.13 ملغم/غم على التوالي، بينما لم تختلف معاملة التركيز المنخفض منهما معنوياً عن معاملة المقارنة. وبينت النتائج انخفاض تركيز أوراق نخيل التمر معنوياً من الكلوروفيل الكلي عند المعاملة بالكادميوم والرصاص سواء بالتركيز العالي او المنخفض، وان معاملة التركيز العالي من الرصاص كانت الاكثر تأثيراً في خفض الكلوروفيل الكلي، إذ انخفض فيها من 5.58 ملغم/غم في معاملة المقارنة إلى 3.28 ملغم/غم، اي بنسبة 41.21%، بينما لم تختلف معاملي التركيز العالي من الكادميوم والتركيز المنخفض من

الرصاص معنويًا فيما بينهما وبلغ تركيز الأوراق فيهما 3.74 و 3.92 ملغم/غم على التوالي، ولكنهما تفوقا معنويًا على معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم.

توضح النتائج في الجدول (11) أن تركيز أوراق النخيل من صبغة الكاروتينويدات كان 1.87 ملغم/غم في معاملة المقارنة، وانخفض هذا التركيز وبفارق معنوي بعد 180 يوماً من المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم والرصاص إلى 1.17 و 1.00 ملغم/غم على التوالي، ولوحظ أن هاتين المعاملتان تفوقتا معنويًا على معاملي التركيز المنخفض منهما، كما أن معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم أدت إلى خفض تركيز الأوراق وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة إلا أنها لم تختلف معنويًا عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص، التي لم تختلف بدورها عن معاملة المقارنة معنويًا.

أما عن تركيز صبغة الانثوسيانين في أوراق النخيل، فقد اثبتت النتائج أنها ازدادت بشكل معنوي عند المعاملة بالكاديوم والرصاص على العكس من الكلوروفيل والكاروتينويدات، إذ ظهر أن أعلى تركيز من هذه الصبغة كان في معاملي التركيز المرتفع من الكاديوم والرصاص إذ بلغ 0.118 و 0.129 ملغم/غم على التوالي، وان هذا الارتفاع كان معنويًا مقارنة بالتركيز المنخفض لكلا العنصرين ومعاملة المقارنة، كما وجد أن تركيز هذه الصبغة قد ارتفع في معاملة التركيز المنخفض من الرصاص إلى 0.099 ملغم/غم وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة والتي بلغ فيها تركيز الأوراق من الصبغة 0.068 ملغم/غم ومعاملة التركيز المنخفض من الكاديوم والتي بلغت 0.082 (ملغم/غم). إلا أن معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم تفوقت معنويًا على معاملة المقارنة.

وبينت نتائج التحليل الاحصائي أن مؤشر ثباتية الكلوروفيل (CSI) (الشكل 6) قد انخفض معنويًا عند معاملة النباتات بالكاديوم والرصاص وبكلا التركيزين، وان أعلى انخفاض

كان في معاملة التركيز العالي من الرصاص وبفارق معنوي عن باقي المعاملات إذ بلغ مؤشر ثباتية الكلوروفيل في هذه المعاملة 58.79 %، بينما قلت معاملة التركيز العالي من الكاديوم هذا المؤشر إلى 66.97 % وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص والتي بلغ فيها 78.51 %، وان معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم أدت إلى خفض قيمة هذا المؤشر معنوياً من 100 % في معاملة المقارنة إلى 78.51 % ، إلا أنها اختلفت معنوياً عن باقي المعاملات. وتجدر الإشارة إلى أن هذه الدراسة تعد الأولى التي يتم فيها تقدير قيمة مؤشر ثباتيه الكلوروفيل في أوراق نخيل التمر.

بينت النتائج المستحصل عليها انخفاض في تركيز الكلوروفيل في أوراق نخيل التمر عند تعرضها لإجهاد الكاديوم والرصاص، سيما التراكيز العالية منهما، إذ أدت معاملة الكاديوم بالتركيز 9 ملغم/كغم والرصاص بالتركيز 276 ملغم/كغم إلى خفض 40 و 48 % من كلوروفيل a و 18 و 24 % من كلوروفيل b و 33 و 41 % من الكلوروفيل الكلي في الأوراق للمعاملتين على التوالي، واتفقت هذه النتائج مع عديد من الدراسات التي بينت انخفاض الكلوروفيل في أوراق النباتات والذي يعد استجابة شائعة لإجهاد المعادن الثقيلة (Jamers Heavy metals stress *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2015; Zouari *et al.*, 2016 a) وممكن أن يعزى هذا الانخفاض إلى تأثير المعادن الثقيلة في التخليق الحيوي للكلوروفيل Chlorophyll Biosynthesis نتيجة تثبيط الانزيمات الضرورية في هذه العملية مثل انزيمات δ -aminolevulinic acid dehydratase و Proto-chlorophyllide reductase، كما أن إجهاد المعادن الثقيلة يؤدي إلى نقص بعض العناصر مثل المغنيسيوم والزنك الضرورية في عملية التخليق الحيوي للكلوروفيل (Parmar *et al.*, 2010; Cenkci *et al.*, 2010; Elloumi *et al.*, 2014; *al.*, 2013) فضلاً عن أن تحطم الكلوروفيل Chlorophyll

Degradation كان مرتبطاً بإجهاد المعادن الثقيلة في عدة نباتات (Cozzolino *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2013) يضاف إلى ذلك أن المعادن الثقيلة تؤثر في تخليق بعض البروتينات الضرورية للكلوروفيل وعملية البناء الضوئي (Duquesnoy *et al.*, 2009; Zeng *et al.*, 2011)، ويلاحظ من النتائج أن صبغة كلوروفيل a كانت أكثر حساسية لإجهاد المعادن الثقيلة من كلوروفيل b، ويتفق هذا مع العديد من الدراسات التي أثبتت أن نسبة انخفاض كلوروفيل a كانت أكبر من كلوروفيل b تحت إجهاد المعادن الثقيلة (Parmar *et al.*, 2013; Aldoobie *et al.*, 2013; Zouari *et al.*, 2016 a) وبينت النتائج انخفاض مؤشر ثباتية الكلوروفيل أيضاً في معاملة التركيز العالي من الرصاص إلى حوالي 50%، ويعد انخفاض هذا المؤشر احد المؤشرات المهمة عند التعرض لإجهاد المعادن الثقيلة في مدى واسع من النباتات، ويرتبط هذا الانخفاض مع انخفاض تركيز الاوراق من الكلوروفيل (Bajpai *et al.*, 2012; Pooja *et al.*, 2012) وأوضحت النتائج أن تعرض اشجار نخيل التمر إلى الكاديوم بتركيز 9 ملغم/كغم والرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم أدت إلى خفض محتواها من صبغة الكاروتينويدات مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وتتفق هذه النتيجة مع نتائج العديد من الدراسات حول تأثير إجهاد بعض المعادن الثقيلة على نباتات مختلفة، مثل إجهاد النحاس على نبات الذرة (Prasad, 1995)، و النيكل على نباتي *Spirodela polyrhiza* و *Lemna minor* (Appenroth *et al.*, 2010)، و النيكل والرصاص على الحنطة (Dar *et al.*, 2010)، و النحاس على نبات *Paulownia fortune* (Jiang *et al.*, 2012)، وعدد من المعادن الثقيلة على نبات *Medicago sativa* (Chen *et al.*, 2015)، والكاديوم على نخيل التمر (Zouari *et al.*, 2016a). مع ملاحظة أن بعض الدراسات أشارت إلى زيادة تراكم صبغة الكاروتينويدات في أوراق بعض النباتات عند تعرضها لإجهاد المعادن الثقيلة (Sinha *et al.*, 2012; Baek *et al.*, 2012; Pinto *et al.*, 2011; Strzalka *et al.*, 2003; ويعزى

هذا الاختلاف إلى نوع المعدن المدروس وتركيزه ونوع النبات ومدة التعرض وطريقة التعرض
(Sinha *et al.*, 2003; Baek *et al.*, 2012).

كما بينت النتائج أن تأثير الكادميوم والرصاص في صبغة الانثوسيانين كان على
العكس من تأثيرها في الكلوروفيل والكاروتينويدات، إذ أدت المعاملة بالكادميوم والرصاص سيما
بالتراكيز العالية إلى زيادة تراكم هذه الصبغة في الأنسجة النباتية، وان هذه الزيادة وصلت إلى
40% مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وتتفق هذه النتيجة مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى
أن تراكم الانثوسيانين في النباتات يعدّ استجابة مهمة لإجهاد المعادن الثقيلة (Hale *et al.*,
2012; Collin *et al.*, 2008; Beak *et al.*, 2001)، ويعتقد أن تراكم الانثوسيانين في
الخلايا النباتية هو لحماية النباتات عند تعرضها للإجهاد، إذ تلعب دوراً مهماً في تخفيف سمية
المعادن الثقيلة من خلال إزالة ROS، كما تعد هذه الصبغة احد مكونات النظام الدفاعي اللانزيمي
المضاد للأكسدة Non-enzymatic antioxidant defence في النبات (Krupa *et al.*,
2003; Neill and Gould, 1996).

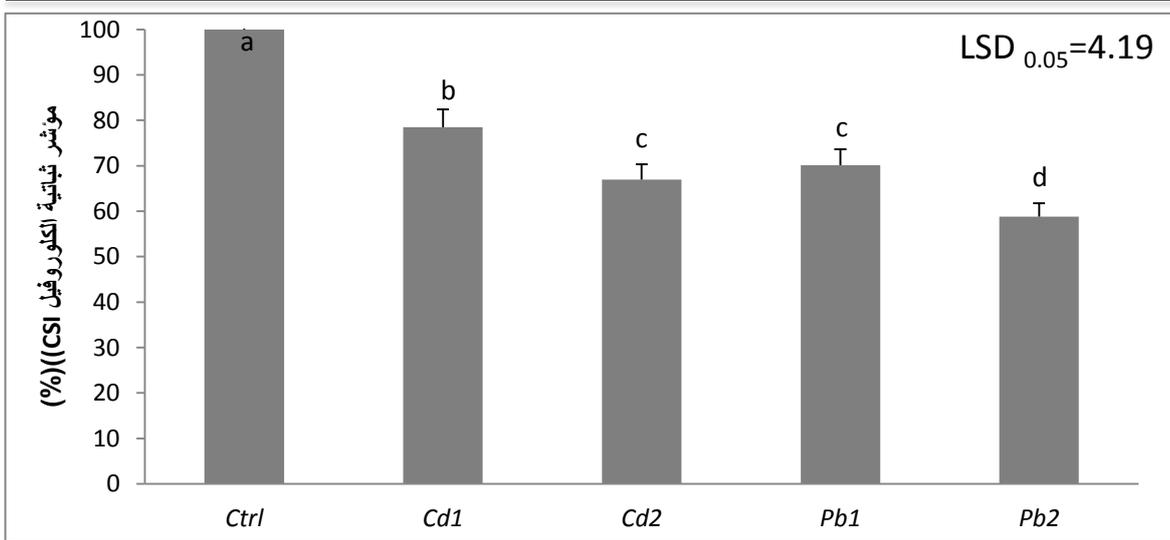
جدول (11) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز

صبغات البناء الضوئي (ملغم/غم وزن طري) لأوراق فسانل نخيل التمر صنف البرحي.

المعاملة	كلورفيل a	كلوروفيل b	الكلوروفيل الكلي	الكاروتينويدات	الانثوسيانين
المقارنة	4.16* 0.08± a**	1.49 0.11± ab	5.58 0.06± a	1.87 0.14± a	0.068 0.003± d
كاديوم (3 ملغم/كغم)	2.86 0.06± b	1.52 0.03± a	4.38 0.1± b	1.50 0.07± b	0.082 0.003± c
كاديوم (9 ملغم/كغم)	2.51 0.15± c	1.22 0.13± bc	3.74 0.13± c	1.17 0.08± c	0.118 0.003± a
رصاص (100 ملغم/كغم)	2.36 0.07± cd	1.56 0.08± a	3.92 0.02± c	1.64 0.04± ab	0.099 0.008± b
رصاص (276 ملغم/كغم)	2.15 0.13± d	1.13 0.06± c	3.28 0.14± d	1.00 0.04± c	0.129 0.003± a
LSD _{0.05}	0.3	0.25	0.29	0.24	0.012

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).



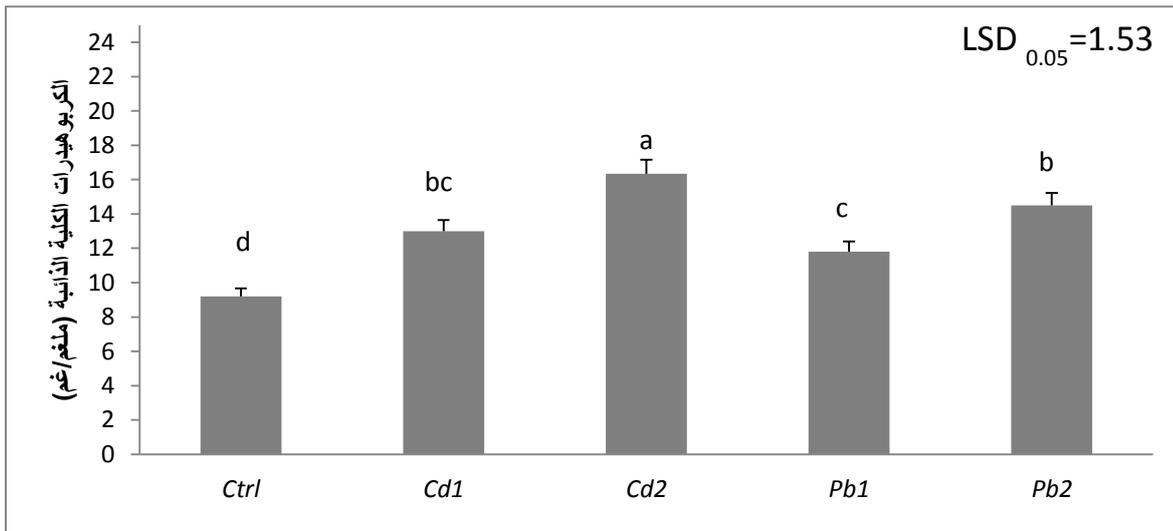
شكل (6) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في مؤشر ثباتية الكلوروفيل (%) في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي.

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية

2.2.3.3: الكربوهيدرات الذائبة الكلية

أشارت نتائج التحليل الاحصائي إلى ارتفاع تركيز الكربوهيدرات في أوراق اشجار نخيل التمر المعاملة بالكاديوم والرصاص بالتراكيز المدروسة وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة شكل (7)، وسجلت أعلى زيادة في معاملة الكاديوم 9 ملغم/كغم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، إذ أدت هذه المعاملة إلى رفع مستوى الكربوهيدرات من 9.21 ملغم/غم في معاملة المقارنة إلى 16.35 ملغم/غم، اي بمقدار 43.66%، بينما أدت معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم إلى زيادتها بمقدار 37.52%، إذ بلغ تركيز الكربوهيدرات فيها 14.51 ملغم/غم ، ولوحظ من (شكل 7) أن معاملة الكاديوم 3 ملغم/كغم والتي بلغ تركيز الكربوهيدرات فيها 13.00 ملغم/غم لم تختلف معنوياً عن معاملي التركيز العالي والمنخفض من الرصاص. يعدّ تراكم

الكربوهيدرات احد الميكانيكيات المهمة لاستجابة النباتات للإجهاد، إذ تميل إلى تراكم الكربوهيدرات في انسجتها لتوفير الطاقة الكافية لمقاومة الاجهادات بأنواعها (Rhodes and Wooltorton, 1978; Abass *et al.*, 2016) تتفق هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى تأثير المعادن الثقيلة في زيادة مستويات الكربوهيدرات في النباتات، مثل تأثير الكاديوم والنيكل في نبات الرز (Moya *et al.*, 1995) و الرصاص في ستة محاصيل نباتية (Gaweda, 2007) والكاديوم والنيكل والرصاص في الفاصوليا (Aldoobie and Beltagi, 2013)، بينما شار Zouari *et al.* (2016 b) إلى أن المعاملة بالكاديوم أدت إلى زيادة تركيز السكريات الذائبة في أوراق نخيل التمر بمقدار 32%، بينما انخفض محتواها من النشا بمقدار 27%.



شكل (7) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز الكربوهيدرات الذائبة

الكلية في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛

Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم).

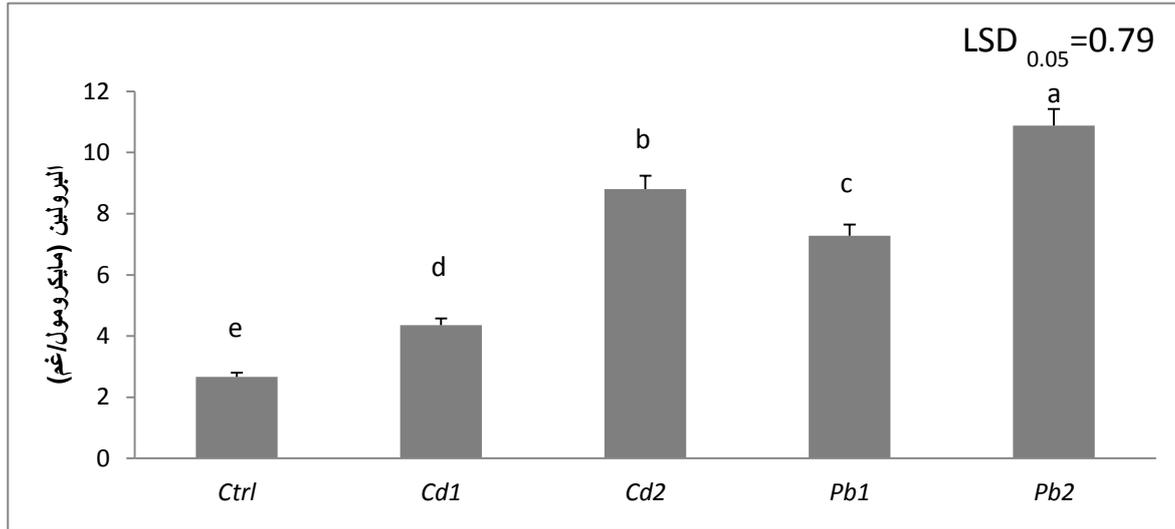
القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

3.2.3.3: البرولين

بينت نتائج شكل (8) تركيز البرولين في أوراق نخيل التمر بعد تعريضها للكادميوم والرصاص لمدة 180 يوماً، إذ لوحظ أن تركيز البرولين في النباتات غير المعاملة بلغ 2.67 مايكرومول/غم، و ارتفع هذا التركيز إلى خمسة اضعاف نتيجة المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص، إذ بلغ تركيزه 10.88 مايكرومول/غم، و بفارق معنوي عن باقي المعاملات، بينما ارتفع البرولين اربعة اضعاف في معاملة التركيز العالي من الكادميوم وبلغ 8.80 مايكرومول/غم وبفارق معنوي عن معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص ومعاملة المقارنة، وتشير النتائج إلى أن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص كانت اكثر تأثيراً في رفع تركيز البرولين من معاملة التركيز المنخفض من الكادميوم وبفارق معنوي، وكلتا المعاملتين تفوقتا معنوياً على معاملة المقارنة، وبلغ تركيز البرولين 4.36 و 7.28 مايكرومول/غم في معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص، على التوالي.

إن زيادة انتاج البرولين في نباتات نخيل التمر تحت اجهاد المعادن الثقيلة جاء متوافقاً مع نتائج العديد من الدراسات التي بينت أن تعرض النباتات لإجهاد المعادن الثقيلة ادى إلى زيادة تراكم البرولين في اوراقها (Aldoobie and Beltagi, 2013; Asgher *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2015; Zouari *et al.*, 2016 a) وتوجد عدة تفسيرات لدور البرولين في استجابة النبات لإجهاد المعادن الثقيلة منها دوره المباشر بوصفه عاملاً مضاداً للأكسدة في إزالة أو السيطرة على ROS في النباتات تحت الاجهاد، أو دوره غير المباشر في موازنة حالة الاكسدة في الانسجة النباتية من خلال تفعيل الانزيمات المضادة للأكسدة (Dawood *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2015) فضلاً عن دوره كعامل خلب Chelating agent للمعادن الثقيلة (Sharma *et al.*, 1998)، ويعد تراكم البرولين أحد اليات تكييف النبات

Adaptation Response لظروف الاجهاد المختلفة مثل درجات الحرارة و نقص الماء و التراكيز العالية من الاوكسين والملوحة والمبيدات (Naidu *et al.*, 1991; Hare *et al.*, 1998; Abass and Morris, 2013, Al-Samir *et al.*, 2015, Abass, 2016).



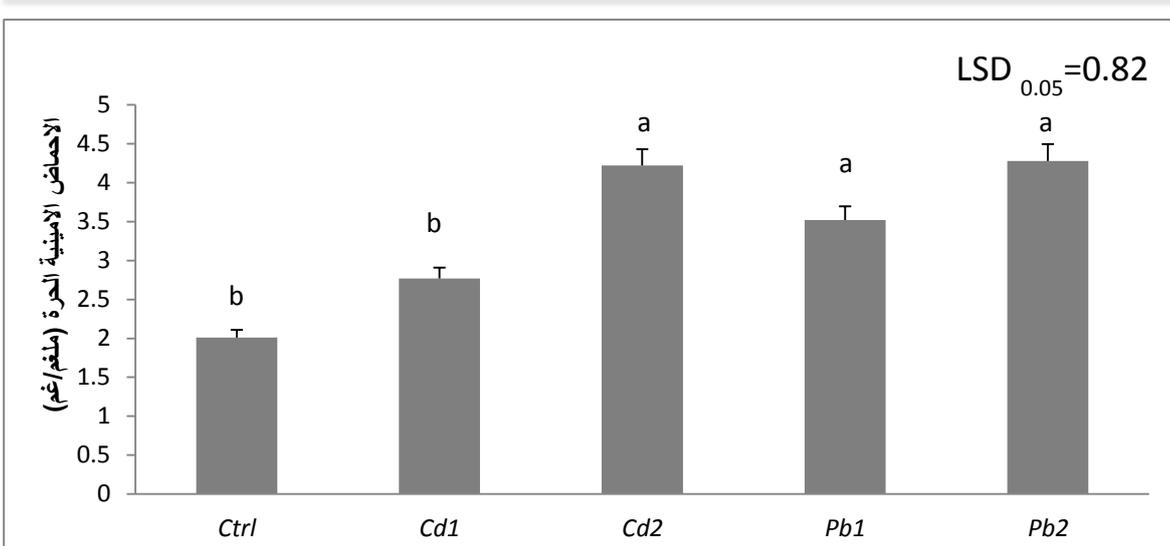
شكل (8) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز البرولين في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (مايكرومول/غم).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

4.2.3.3: الاحماض الامينية الحرة

يوضح شكل (9) تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في تركيز الاحماض الامينية الحرة في أوراق نخيل التمر، إذ أشارت النتائج إلى أن المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم والرصاص أدت إلى رفع تركيز الاحماض الامينية الحرة وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة ومعاملة التركيز المنخفض من الكاديوم، بينما لم تختلف معنوياً عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص، ويلاحظ أن تركيز هذه الاحماض ارتفع من 2.01 ملغم/غم في معاملة المقارنة إلى

4.22 ملغم/غم في معاملة التركيز المرتفع من الكاديوم وإلى 4.28 و 3.52 ملغم/غم في معاملة التركيز العالي والمنخفض من الرصاص على التوالي، ويلاحظ أن معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم والتي بلغ فيها تركيز الاحماض الامينية الحرة 2.77 ملغم/غم لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة. كما أظهرت النتائج أن تركيز الاحماض الامينية الحرة في اوراق نخيل التمر قد ارتفع حوالي 50% في النباتات المعرضة لإجهاد الكاديوم والرصاص مقارنة بالنباتات غير المعاملة، ويتفق هذا مع دراسات اخرى أشارت إلى أن ارتفاع البرولين يعدّ استجابة شائعة للنباتات عند تعرضها لإجهاد المعادن الثقيلة (Hsu and Kao, 2003; Chaffei *et al.*, 2004; Bhardwaj, 2009; Vassilev and Lidon, 2012)، ومن المعروف أن إجهاد المعادن الثقيلة قد يؤدي إلى تغيير في ايض الاحماض الامينية (Megateli *et al.*, 2009)، وأشارت عدة دراسات إلى زيادة تخليق احماض Asparagine و Cysteine و Histidine في الخلايا النباتية عند تعرضها لإجهاد انواع مختلفة من المعادن الثقيلة (Smirnoff and Stewart, 1987; Harmens *et al.*, 1993; Kramar *et al.*, 1998) ويمكن أن يعزى ارتفاع الاحماض الامينية الحرة إلى تحطيم البروتينات Protein degradation في النباتات تحت إجهاد المعادن الثقيلة، إذ أشارت عدد من الدراسات إلى ارتفاع فعالية بعض الانزيمات المحللة للبروتين مثل انزيم Protease في النباتات المعرضة لإجهاد المعادن الثقيلة (Hsu and Kao, 2003; Vassilev and Lidon, 2012)، وتلعب الاحماض الامينية الحرة (فضلاً عن دورها في استجابة النبات لإجهاد المعادن الثقيلة) دوراً كجزيئات اشارة وتنظيم الازموزية Osmoregulation وازالة السمية Detoxification وعوامل خلب (Xu *et al.*, 2012).



شكل (9) تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز الاحماض الامينية

الحررة في أوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛

Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم).

القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

5.2.3.3 البروتينات الذائبة الكلية

بينت نتائج التحليل الاحصائي لتقدير البروتينات الذائبة الكلية في أوراق نخيل التمر

بعد تعريضها لإجهاد الكاديوم والرصاص بتركيز مختلفة والموضحة في الشكل (10)، أن

تعريض النباتات لإجهاد الكاديوم بتركيز 9 ملغم/كغم أدى إلى خفض تركيز البروتينات الذائبة

الكلية في الاوراق من 5.74 ملغم/غم في معاملة المقارنة إلى 2.89 (ملغم/غم)، وبفارق معنوي

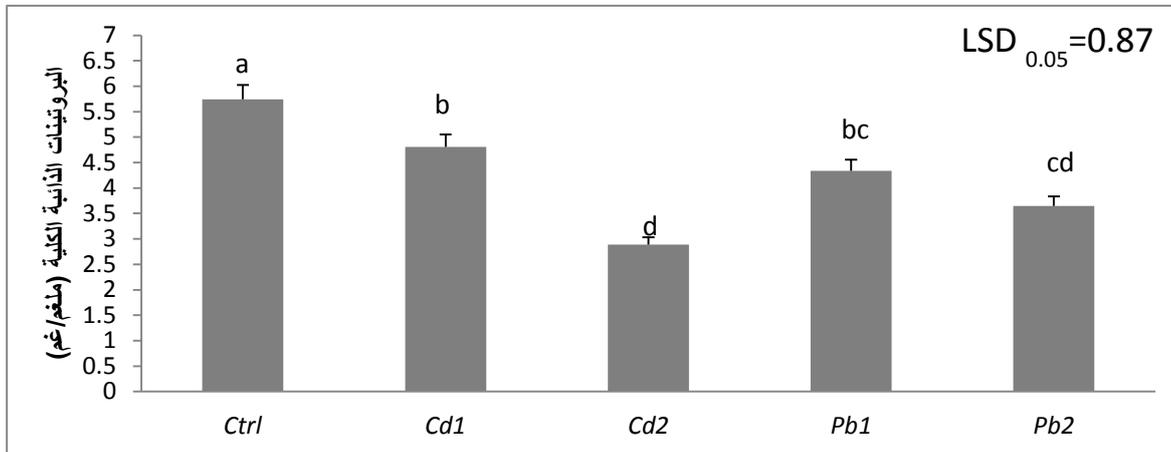
عن باقي المعاملات، عدا معاملة الرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم والتي بلغ فيها 3.65

(ملغم/غم). ويلاحظ أن معاملتي التركيز المنخفض من الكاديوم والرصاص لم تختلفا فيما

بينهما معنويا وبلغ تركيز البروتينات الذائبة الكلية 4.81 و 4.34 ملغم/غم على التوالي، إلا انهما

اختلفتا معنويًا عن معاملة المقارنة، كما لوحظ أن معاملة الرصاص بكلا التركيزين لم تختلف فيما

بينها معنوياً. بينت النتائج أن تركيز البروتينات الذائبة الكلية في أوراق نخيل التمر قد انخفض حوالي 50% أيضاً في النباتات المعاملة بالكاديوم والرصاص، سيما بالتراكيز العالية منهما مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وقد اثبتت عدة دراسات انخفاض تركيز البروتينات الذائبة الكلية في أوراق بعض النباتات نتيجة لإجهاد انواع مختلفة من المعادن الثقيلة، وقد يعزى السبب إلى أن هذه المعادن تؤدي إلى تثبيط التخليق الحيوي للبروتينات Protein Biosynthesis، أو إلى تحطم البروتينات نتيجة تراكم هذه المعادن في الانسجة النباتية (Wang *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2010; *al.*، وتعد البروتينات من اهم المكونات الخلوية، التي سرعان ما تتلف نتيجة ظروف الاجهاد المختلفة (Prasad 1996; Wu *et al.*, 2010)، ولا تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما وجدته Heiss *et al.* (2003) و Sabatini *et al.* (2009) من أن البروتينات الذائبة الكلية قد ازدادت في النباتات عند معاملتها بالنيكل والزنك، وقد يعزى هذا الاختلاف إلى اختلاف نوع المعدن المدروس ودوره البايوكيميائي وتركيزه ونوع النبات المستعمل .



شكل (10) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز البروتينات الذائبة

الكلية في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (ملغم/غم وزن طري).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛

Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم).

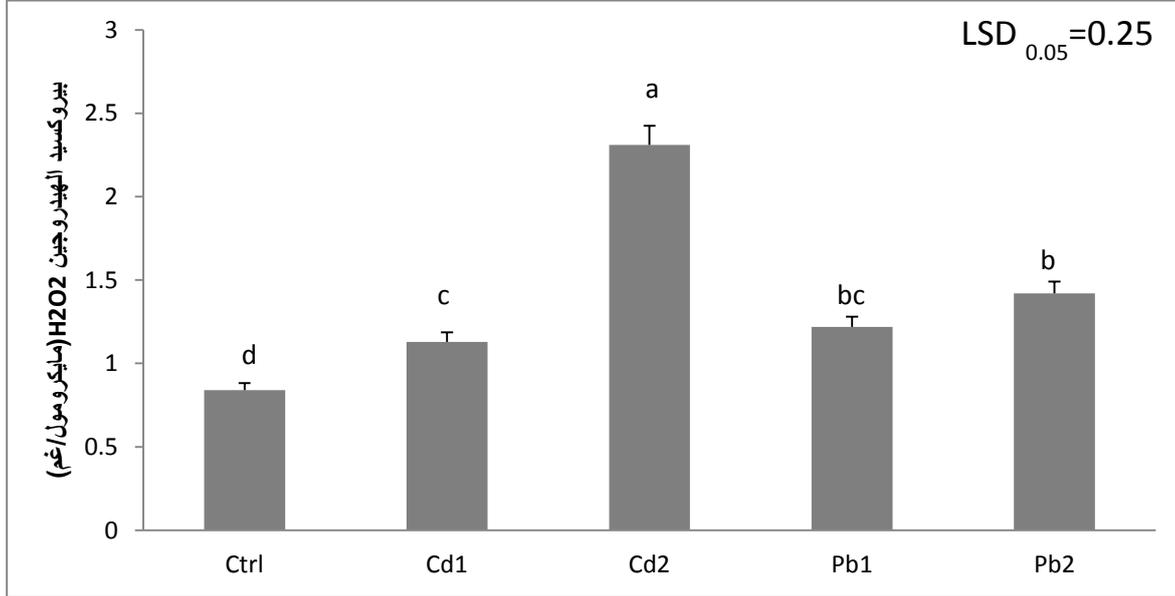
القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

6.2.3.3: بيروكسيد الهيدروجين.

يوضح شكل (11) تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراق نخيل التمر بعد تعريضها للكادميوم والرصاص لمدة 180 يوماً، وسجل أقل تركيز من بيروكسيد الهيدروجين في معاملة المقارنة إذ بلغ 0.84 مايكرومول/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، بينما وجد أعلى تركيز منه في معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم، وبلغ 2.31 مايكرومول/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، تلتها معاملة الرصاص 276 ملغم/كغم وبلغ محتواها من بيروكسيد الهيدروجين 1.42 مايكرومول/غم، وبفارق معنوي عن معاملة الكادميوم 3 ملغم/كغم، لكن لم تختلف معنوياً عن معاملة التركيز المنخفض من المعدن نفسه. وبلغ تركيز بيروكسيد الهيدروجين 1.13 و 1.42 مايكرومول/غم في معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص على التوالي دون فرق معنوي بينهما.

بينت النتائج أن تركيز بيروكسيد الهيدروجين قد ازداد بنسبة 64% في النباتات المعاملة بالتركيز العالي من الكادميوم و 40% في النباتات المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص مقارنة بنباتات معاملة المقارنة. وقد فسر بان تراكم المعادن الثقيلة في الانسجة النباتية قد يحفز تكوين ROS، سواء مباشرة عن طريق تفاعلات Fenton و Harber –Weiss، او بشكل غير مباشر عن طريق تثبيط الاليات المضادة للأكسدة في النبات (Remero–Puertas *et al.*, 2007). ويعّد بيروكسيد الهيدروجين هو احد انواع ROS والذي يلعب عدة ادوار في النبات، فضلاً عن تراكمه في الانسجة النباتية استجابة لإجهاد المعادن الثقيلة (Abass and Morris, 2013)، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع العديد من الدراسات الاخرى التي أشارت إلى ارتفاع تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراق بعض النباتات عند تعرضها لإجهاد المعادن الثقيلة (Maksymiec

and Krupa, 2006; Nogueirol *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2016; Zouari *et al.*, 2016 a,b).



شكل (11) تأثير المعاملة بالكاديوم والرصاص في تركيز بيروكسيد الهيدروجين في أوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (مايكرومول/غم).

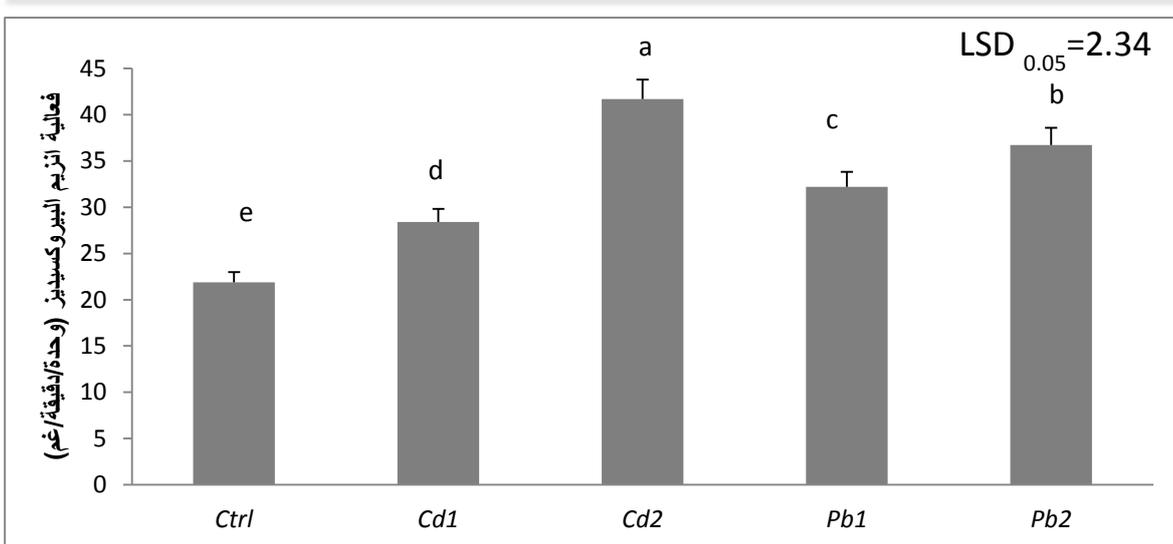
Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

7.2.3.3: فعالية انزيم البيروكسيداز

بينت نتائج تقدير فعالية انزيم البيروكسيداز الموضحة في شكل (12) أن فعالية هذا الانزيم قد ارتفعت بشكل معنوي في النباتات المعاملة بالكاديوم والرصاص سواء بالتركيز المنخفض او العالي مقارنة بالنباتات غير المعاملة، إذ سجلت معاملة المقارنة أقل فعالية انزيمية وبلغت 21.88 (وحدة/دقيقة/غم)، وارتفعت هذه الفعالية الانزيمية مع زيادة تركيز الكاديوم لتصل إلى 41.71 (وحدة/دقيقة/غم)، واختلفت معنويًا عن باقي المعاملات، تلتها معاملة الرصاص

بتركيز 276 ملغم/كغم، وبلغت فيها فعالية انزيم البيروكسيديز 36.74 (وحدة/دقيقة/غم)، والتي تفوقت بدورها معنوياً على معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص، وان المعاملة بالتركيز المنخفض من الرصاص أدت إلى رفع الفعالية الانزيمية إلى 32.20 (وحدة/دقيقة/غم) وتفوقت معنوياً على معاملة التركيز المنخفض من الكادميوم والتي بلغت 28.39 (وحدة/دقيقة/غم).

أوضحت النتائج أن المعاملة بالتركيز العالي من الكادميوم والرصاص أدت إلى رفع فعالية انزيم البيروكسيديز بنسبة 47.5% و 32% على التوالي مقارنة بالنباتات غير المعاملة، ويعد هذا التغيير في فعالية هذا الانزيم احد المؤشرات الحيوية على تعرض النبات للإجهادات الحيوية و غير الحيوية (Gill and Tuteja 2010; Gulsen *et al.*, 2010; Doganlar and Atmaca 2011) ومنها اجهاد المعادن الثقيلة (Singh *et al.*, 2006; Doganlar 2013)، فقد يلعب هذا الانزيم ادواراً مهمة في العمليات الفسيولوجية المهمة في النبات مثل النمو والتنفس والنتح (MacFarlane and Burchett, 2001; Yurekli and Porgali, 2006)، وإزالة بيروكسيد الهيدروجين (Li *et al.*, 2015)، كما لوحظ من نتائج هذه الدراسة أن ارتفاع فعالية انزيم البيروكسيديز كانت مصاحبة لارتفاع تركيز بيروكسيد الهيدروجين في الاوراق. ويساهم انزيم البيروكسيديز في التخليق الحيوي للكينين Lignin الذي يعمل على اعاقه وصول المعادن الثقيلة إلى الانسجة النباتية التي تجري فيها العمليات الحيوية المهمة (Hegedus *et al.*, 2001)، كما يحفز عملية البلمرة الطبيعية للمركبات الفينولية كاستجابة لإجهاد المعادن الثقيلة (Lavid *et al.*, 2001)، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسات اخرى أشارت إلى ارتفاع فعالية انزيم البيروكسيديز تحت إجهاد أنواع مختلفة من المعادن الثقيلة (Parmar *et al.*, 2002; Tao *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015).



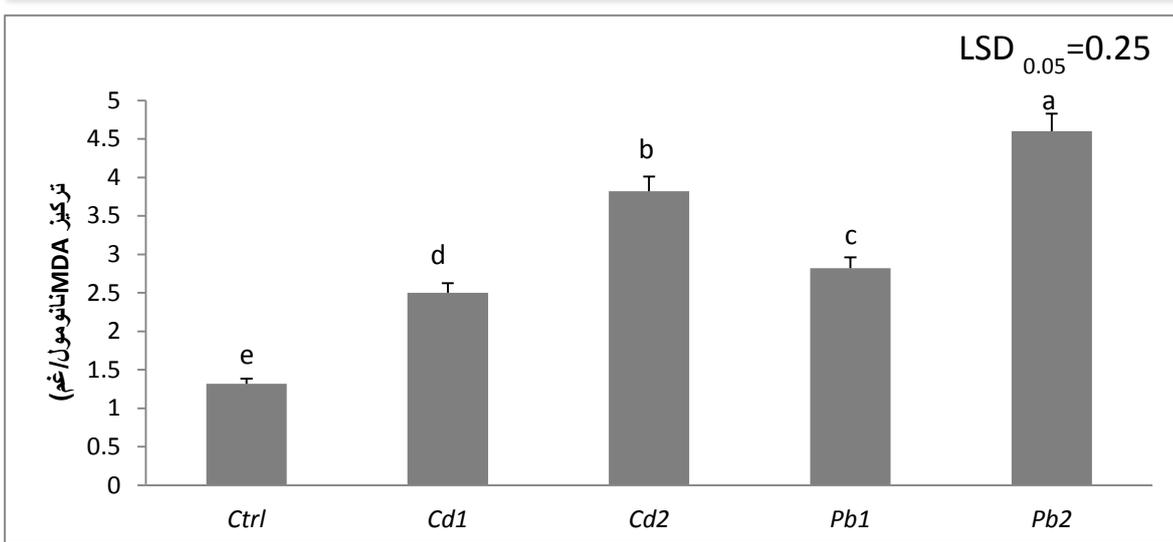
شكل (12) تأثير المعاملة بتركيز مختلف من الكاديوم والرصاص في فعالية انزيم البيروكسيديز في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي (وحدة/دقيقة/غم).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

8.2.3.3: اكسدة الدهون ومؤشر ثباتية الاغشية.

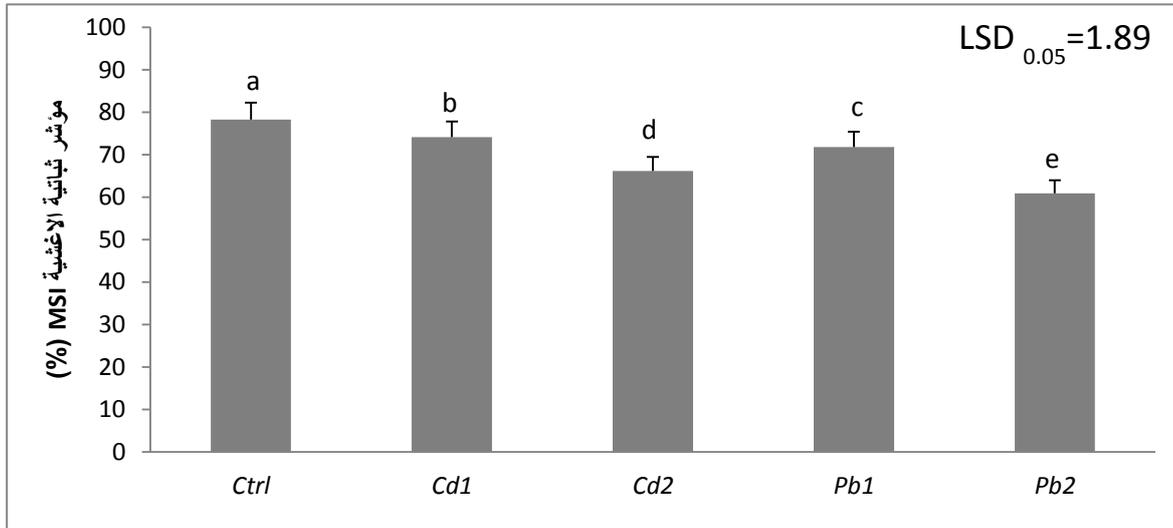
قدر تركيز مركب Malondialdehyde (MDA) في أوراق النخيل بوصفه مؤشراً على اكسدة دهون الاغشية عند تعرض النبات لإجهاد الكاديوم والرصاص، وأشارت النتائج الموضحة في شكل (13) إلى أن أقل تركيز من هذا المركب بلغ 1.32 نانومول/غم في معاملة المقارنة، إلا أن معاملة النباتات بالكاديوم والرصاص بتركيز مختلفة أدت إلى رفع تركيز هذا المركب معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وان أعلى تركيز سجل في معاملة التركيز العالي من الرصاص إذ بلغ 4.60 نانومول/غم وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، تلتها معاملة التركيز العالي من الكاديوم وبلغ تركيز مركب MDA فيها 3.82 نانومول/غم، ويلاحظ من النتائج أن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص والتي بلغ تركيز MDA 2.82 نانومول/غم تفوقت معنوياً

على معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم والتي بلغ فيها 2.50 نانومول/غم. أما بالنسبة لنتائج مؤشر ثباتيه الاغشية فقد أشارت النتائج الموضحة في شكل (14) إلى أن تعريض النباتات للكاديوم والرصاص لمدة 180 يوماً أدت إلى خفض قيمة هذا المؤشر معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة، إذ أن المعاملة بالتركيز العالية منهما تفوقت معنوياً على معاملة التركيز المنخفضة، وتبين النتائج أن معاملة الرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم أدت إلى خفض قيمة هذا المؤشر من 78.30% في معاملة المقارنة إلى 60.90%، وان هذا الانخفاض كان معنوياً مقارنة بمعاملة التركيز العالي من الكاديوم والذي بلغ 66.17%، وتبين النتائج في شكل (14) أن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص كانت أكثر تأثيراً في خفض قيمة مؤشر ثباتيه الاغشية من معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم. بينت النتائج أن تركيز مركب MDA ارتفع ثلاثة اضعاف في النباتات التي المعرضة إلى التركيز العالية من الكاديوم والرصاص مقارنة بالنباتات غير المعاملة، يعد هذا المركب هو مركباً ساماً ينتج عن عملية اكسدة الدهون سيما الدهون غير المشبعة (Agadjanyan *et al.*, 2006)، وان الزيادة في تركيز هذا المركب تحت اجهاد المعادن الثقيلة ينسجم مع نتائج عديد من الدراسات التي أشارت إلى زيادة تراكم هذا المركب في النباتات عند تعرضها لاجهاد المعادن الثقيلة (Unyayar *et al.*, 2006; Pooja *et al.*, 2012; Doganlar, 2013; Chen *et al.*, 2015; Zouari *et al.*, 2016 a) وان الزيادة في تركيز مركب MDA رافقة انخفاض في مؤشر ثباتيه الاغشية، مما يدل على أن اجهاد المعادن الثقيلة أدى إلى احداث ضرراً في الاغشية الخلوية، وقد يعزى سبب هذا الضرر إلى الاثار السامة لمركب MDA (Halliwell and Gutteridge, 1989; Sharma *et al.*, 2012)، و تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسات أشارت إلى انخفاض مؤشر قيمة ثباتية الاغشية في أوراق بعض النباتات تحت اجهاد المعادن الثقيلة مثل الفاصوليا (Howladar, 2014) والفول (Abu- Muriefah, 2015) ونخيل التمر (Zouari *et al.*, 2016 b).



شكل (13) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز MDA في أوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (نانومول/غم).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.



شكل (14) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في مؤشر ثباتية الاغشية في أوراق فساتل نخيل التمر صنف البرحي (%).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

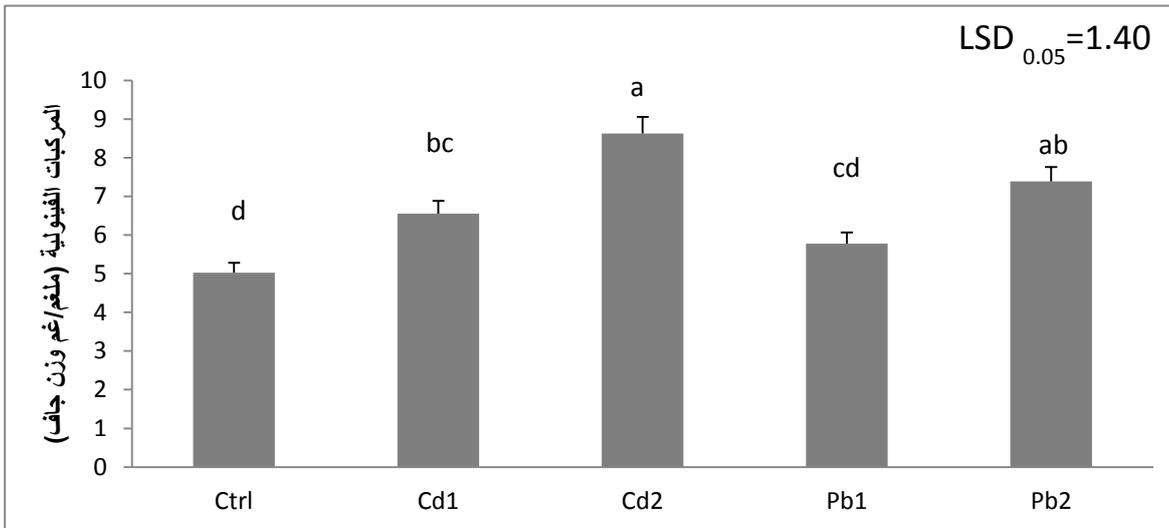
9.2.3.3: المركبات الفينولية الكلية

أشارت نتائج تقدير المركبات الفينولية الكلية في أوراق أشجار نخيل التمر بعد تعريضها لتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص لمدة 180 يوماً والموضحة في شكل (15)، إلى أن تركيز المركبات الفينولية الكلية ارتفع في معاملة المقارنة من 5.03 ملغم/غم وزن جاف إلى 8.63 و 7.39 ملغم/غم وزن جاف في معاملة الكادميوم 9 ملغم/كغم و الرصاص 276 ملغم/كغم على التوالي وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة، ويلاحظ من النتائج أن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة، إلا أن معاملة التركيز المنخفض من الكادميوم أدت إلى رفع تركيز هذه المركبات معنوياً مقارنة بالنباتات غير المعاملة إذ بلغ تركيزها 6.56 ملغم/غم وزن جاف.

تبين النتائج في الشكل (15) أن تعريض اشجار نخيل التمر للكادميوم والرصاص سيما بالتراكيز العالية أدت إلى رفع محتواها من المركبات الفينولية الكلية بنسبة 42% و 32% على التوالي مقارنة بالنباتات غير المعاملة، وجاءت هذه النتائج متفقة مع العديد من الدراسات التي أشارت إلى ارتفاع تركيز المركبات الفينولية الكلية في النباتات نتيجة تعرضها لإجهاد المعادن الثقيلة (Michalak, 2006; Janas *et al.*, 2009; Guo *et al.*, 2016; Zouari *et al.*, 2016 b).

وتتكون المركبات الفينولية من مجموعة متنوعة من النواتج الايضية مثل الفلافونويدات والتانينات واللكتين، وتعمل هذه المركبات كجزيئات مضادة للأكسدة، تعمل ضمن اليات مختلفة مثل ازالة جزيئات الاوكسجين التفاعلية أو تثبيط عملية اكسدة الدهون من خلال الارتباط مع جذر Alkoxyyl الدهني وتعديل بعض صفات الاغشية مثل النفاذية والسيولة (Arora *et al.*, 2000; Sharma *et al.*, 2012)، وتتميز المركبات الفينولية بمقدرتها على خلب او الارتباط بأيونات

المعادن الثقيلة بشكل مباشر؛ لأن الحلقة العطرية الموجودة في هذه المركبات تكون اليقة النواة (Moran *et al.*, 1997)، مما يسهم في تثبيط تفاعل Fenton الذي يعد المصدر الرئيس لانتاج ROS (Singh *et al.*, 2015)، وأشار (Diaz *et al.* (2001) إلى أن زيادة تراكم المركبات الفينولية في النباتات تحت اجهاد المعادن الثقيلة ارتبطت بزيادة فعالية الانزيمات التي تسهم في بناء هذه المركبات مثل انزيم البيروكسيداز، وهذا ينسجم مع نتائج هذه الدراسة ، إذ أن الزيادة في فعالية انزيم البيروكسيداز رافقتها زيادة في تراكم المركبات الفينولية في الاوراق، كما أن النباتات تميل إلى زيادة انتاج المركبات الفينولية كمركبات مضادة للأكسدة بديلة، نتيجة لتثبيط بعض مكونات النظام اللانزيمي المضاد للأكسدة مثل Glutathione او الانزيمي سيما انزيم Glutathione reductase (Michalak, 2006).



شكل (15) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في تركيز المركبات الفينولية الكلية (ملغم/غم وزن جاف) في أوراق فسائل نخيل التمر صنف البرحي.

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم) ؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم) ؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم) ؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم). القيم في العمود الواحد تمثل معدل ثلاث مكررات، والاحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية.

3.3.3: تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في الصفات التشريحية لأشجار نخيل

التمر صنف البرحي.

1.3.3.3: حجم الحزم الوعائية والخشب واللحاء.

بينت النتائج في الجدول (12) تأثير المعاملة بالكادميوم والرصاص في صفات الحزم الوعائية لأوراق نخيل التمر، إذ لوحظ أن المعاملة بالتراكيز العالية من الكادميوم (9 ملغم/كغم) والرصاص (276 ملغم/كغم) أدت إلى تقليل ارتفاع الحزم الوعائية مقارنة بالنباتات غير المعاملة ومعاملي التركيز المنخفض من الكادميوم (3 ملغم/كغم) والرصاص (100 ملغم/كغم)، إذ بلغ ارتفاع الحزمة الوعائية في معاملة التركيز العالي من الكادميوم 230.33 مايكرومتر (لوحة 1، صورة ج)، وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والتي بلغت 235.33 مايكرومتر (لوحة 1، صورة هـ)، بينما وجد أن أعلى ارتفاع للحزم الوعائية قد سجل في معاملة المقارنة وبلغ 300 مايكرومتر (لوحة 1، صورة أ)، وبفارق غير معنوي عن معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص. أما عن عرض الحزمة الوعائية فوجد أن التركيز العالي من الكادميوم كان الأكثر تأثيراً، إذ بلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 150.33 مايكرومتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الرصاص التي بلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 154.33 مايكرومتر، التي لم تختلف عن معاملة التركيز المنخفض من المعدن نفسه وبلغ عرض الحزمة الوعائية فيها 160 مايكرومتر. و بينت نتائج التحليل الاحصائي أن أعلى عرض للحزم الوعائية سجل في المعاملة المقارنة إذ بلغ 164 مايكرومتر وبفارق غير معنوي عن معاملي التركيز المنخفض من الكادميوم والرصاص.

كما بينت النتائج في الجدول (12) أن أعلى سمك اللحاء سجل في معاملة المقارنة

وبفارق غير معنوي عن معاملي التركيز المنخفض لكلا العنصرين، إذ بلغ 56 مايكرومتر، بينما

سجل أقل سمك للحاء في معاملة التركيز العالي من الكاديوم إذ بلغ 42 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والذي بلغ 43.66 مايكروميتر.

أما بالنسبة لسمك الخشب فقد بينت النتائج أن أعلى سمك للخشب ظهر في المعاملة المقارنة، إذ بلغ 148.33 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، في حين سجل أقل سمك للخشب في معاملة التركيز العالي من الكاديوم، إذ بلغ 103.66 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، ولوحظ أن معاملتي التركيز المنخفض من المعدنين لم تختلفا معنويًا فيما بينهما وإن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص لم تختلف معنويًا عن معاملة التركيز العالي من الرصاص والتي بلغ سمك الخشب فيها 127 مايكروميتر.

ولوحظ من خلال الفحص المجهرى أن عدد الحزم الوعائية في كل المعاملات كان ثابتًا وإن نمط توزيع الحزم تمثل بحزمة وعائية متوسطة تتوسط حزمتين كبيرتين ، وثلاث حزم وعائية صغيرة على كل جانب من الحزمة الوعائية المتوسطة . لقد اثبتت الدراسات السابقة جملةً من التغيرات التشريحية المتسببة عن المعاملة بالمعادن الثقيلة في حجم الحزم الوعائية في أوراق بعض النباتات، مثل نبات الحنطة (*Triticum aestivum* Kovacevic et al., 1999) النوعين *crispus* و *perfoliatus* التابعين للجنس *Potamogeton* (Al-Saadi et al., 2013) ، ونبات *Thalassia hemprichii* (Tupan and Azrainingsih , 2016)، ولم تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسات المذكورة أعلاه في تأثير المعادن الثقيلة في عدد الحزم الوعائية، إلا أنها اتفقت معها في خفض حجم الحزم الوعائية . أن سمية المعادن الثقيلة وتأثيرها يعتمد على عدة عوامل منها نوع المعدن الثقيلة وتركيزه و نوع النبات ومدة التعرض (Nagajyoti et al., 2010)، مما يفسر اختلاف النباتات في استجابتها لتأثيرات المعادن الثقيلة وتباين نتائج الدراسات ، وقد يعزى تأثير المعادن الثقيلة في تقليل حجم الحزم الوعائية إلى تأثيرها في خفض

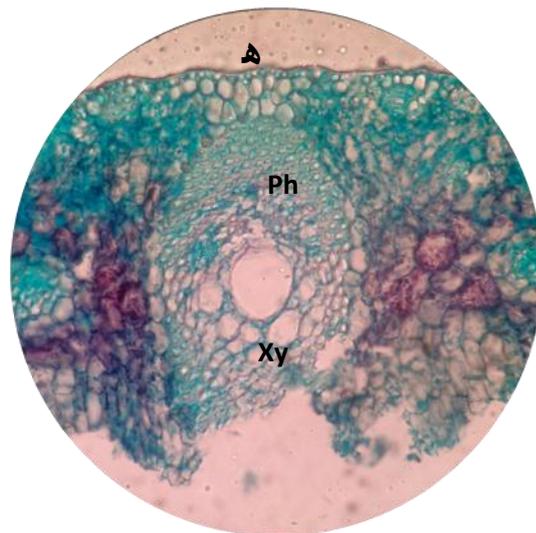
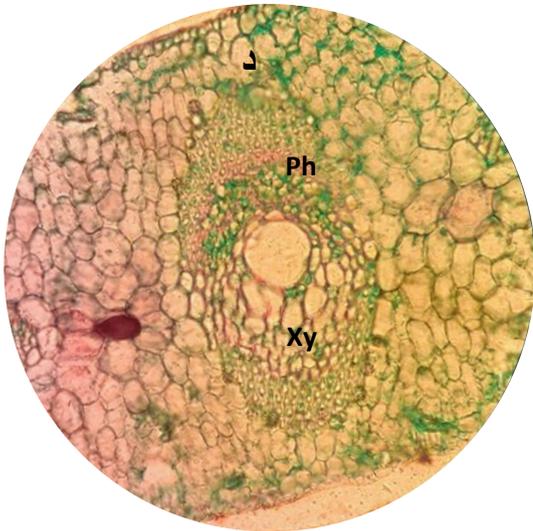
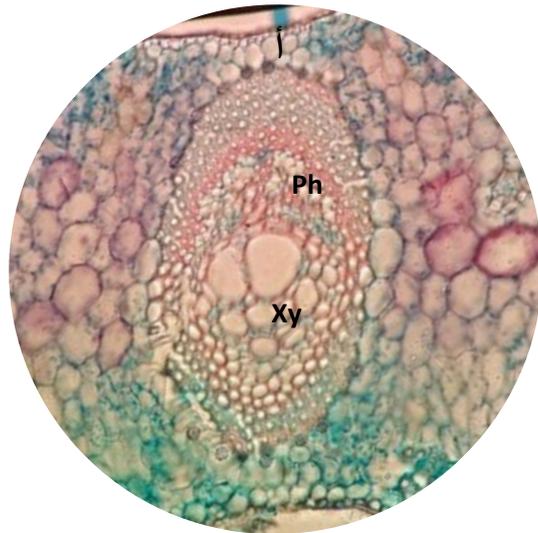
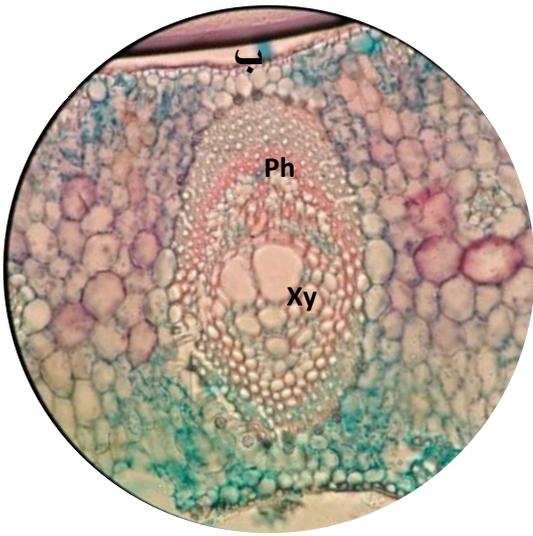
عدد وسمك العناصر الناقلة (الخشب واللحاء) المكوّنة لهذه الحزم سيما الخشب ، إذ يعد نوعاً من التكيف من قبل النبات لمواجهة التراكيز العالية من المعادن الثقيلة والمحافظة على تدفق الماء (Sandalo *et al.*, 2001) ، او إلى تدهور العناصر الناقلة سيما الانابيب الغربالية Sieve tubes في اللحاء (Vollenweider *et al.*, 2006).

جدول (12) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في حجم الحزم الوعائية الكبيرة والخشب واللحاء (مايكروميتر) لأوراق فسانل نخيل التمر صنف البرحي .

المعاملة	ارتفاع الحزمة	عرض الحزمة	سمك اللحاء	سمك الخشب
المقارنة	300.00* 5.00± a**	164.00 4.58± a	56.00 3.00± a	148.33 3.51± a
كادميوم (3 ملغم/كغم)	296.66 7.63± a	159.00 3.60± ab	53.00 2.00± a	136.33 4.04± b
كادميوم (9 ملغم/كغم)	230.33 5.03± b	150.33 1.52± c	42.00 2.64± b	103.66 2.51± d
رصاص (100 ملغم/كغم)	291.66 4.04± a	160.00 2.00± ab	51.33 2.08± a	132.66 2.51± bc
رصاص (276 ملغم/كغم)	235.33 4.50± b	154.33 6.42± bc	43.66 1.52± b	127.00 2.00± c
LSD _{0.05}	12.23	6.15	5.65	8.40

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

الاحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).



لوحة (1) تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم و
الرصاص في حجم الحزم الوعائية لأوراق نخيل التمر صنف
البرحي (X40)

Xy=خشب

Ph=لحاء

أ: معاملة المقارنة

ب: كاديوم (3 ملغم/كغم)

ج: كاديوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)

100 μ

2.3.3.3: سمك البشرة وطبقة الكيوتكل.

بينت النتائج في الجدول (13) تأثير المعاملة بالكادميوم و الرصاص في سمك البشرة العليا والسفلى وطبقة الكيوتكل، و لوحظ عدم وجود فروقات معنوية بين جميع المعاملات في تأثيرها في سمك البشرة العليا و السفلى وطبقة الكيوتكل في كلا البشريتين. وبينت الصور من لوحة 2 (أ-هـ) طبقة البشرة السفلى وطبقة الكيوتكل في معاملات الدراسة .

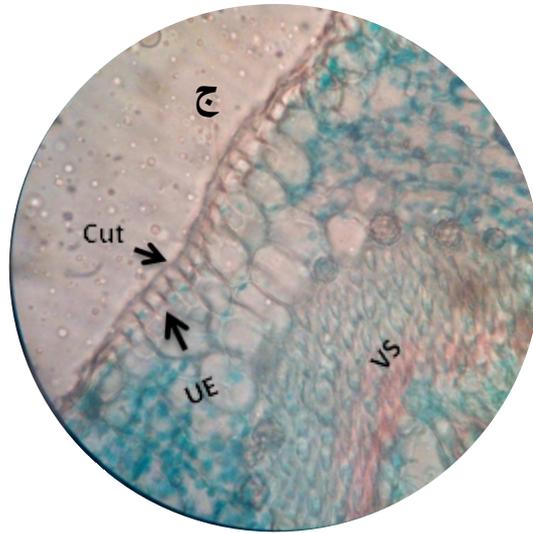
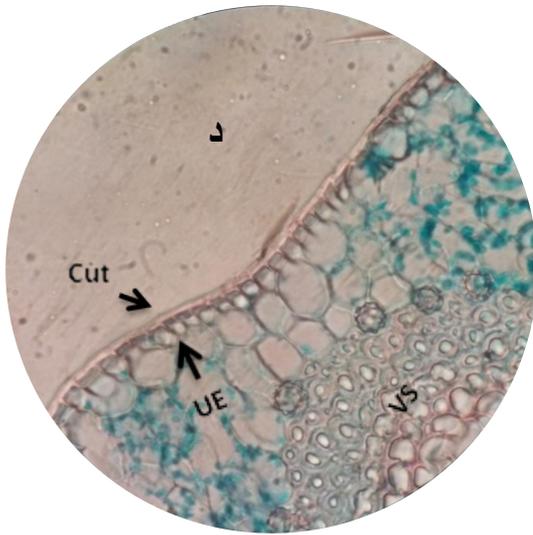
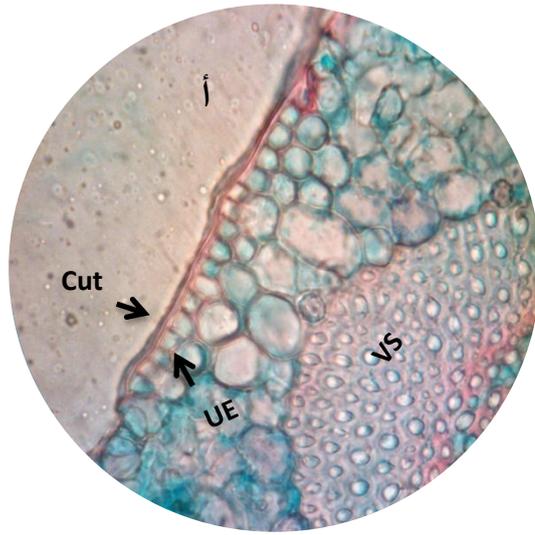
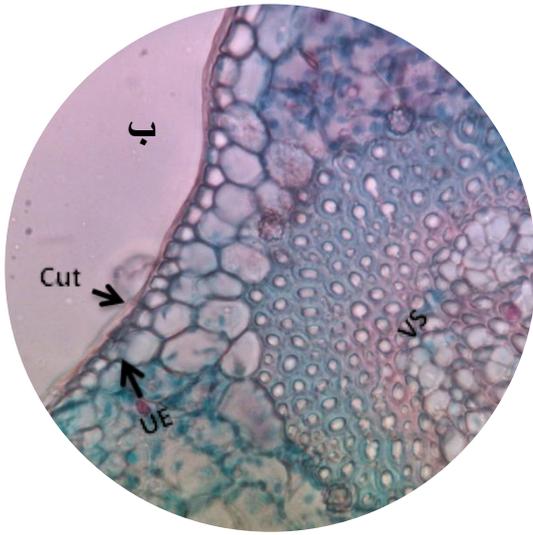
تلعب البشرة (سيما العليا) دورا مهما في عزل المعادن الثقيلة بعيدا عن خلايا النسيج المتوسط المهمة في عمليات البناء الضوئي (Gomes *et al*, 2011)، وعلى هذا الاساس فإن الدراسات التي اثبتت زيادة في سمك البشريتين العليا والسفلى في أوراق النبات عند تعرضه للإجهاد المعادن الثقيلة قد عزت ذلك إلى تجمع المعادن الثقيلة في جدران خلايا البشرة بوصفها جزءاً من اليات النبات لتخفيف اضرار المعادن الثقيلة (Vollenweider *et al.*, 2006)، إلا أن هناك العديد من الدراسات الاخرى اثبتت أن تعرض النبات لإجهاد المعادن الثقيلة يؤدي إلى تقليل سمك البشرة في الاوراق (Al-Saadi *et al.*, 2013; Lukovic *et al.*, 2012; Qaisar *et al.*, 2005).

جدول (13) سمك البشرة وطبقة الكيوتكل (مايكرومتر) في أوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص .

المعاملة	سمك البشرة السفلى	سمك البشرة العلوي	سمك كيوكل البشرة السفلى	سمك كيوكل البشرة العليا
المقارنة	10.00*	8.75	3.33	3.50
	2.5±	1.25±	0.72±	0.43±
كاديوم (3 ملغم/كغم)	9.58	7.50	2.91	2.33
	1.90±	1.25±	0.72±	1.50±
كاديوم (9 ملغم/كغم)	8.33	7.91	2.91	2.66
	1.90±	0.14±	0.72±	0.14±
رصاص (100 ملغم/كغم)	10.41	7.08	2.91	2.33
	1.90±	1.25±	0.72±	0.72±
رصاص (276 ملغم/كغم)	9.58	7.50	2.5	2.91
	1.90±	1.25±	0.00±	0.72±
LSD	NS**	NS	NS	NS

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

** NS = غير معنوي



لوحة (2) تأثير المعاملة بالكاديوم و الرصاص في خلايا البشرة وطبقة الكيوتكل في أوراق نخيل التمر صنف البرحي (100 x).

Vs=غمد الحزمة

UE=البشرة سفلى

Cut=طبقة الكيوتكل

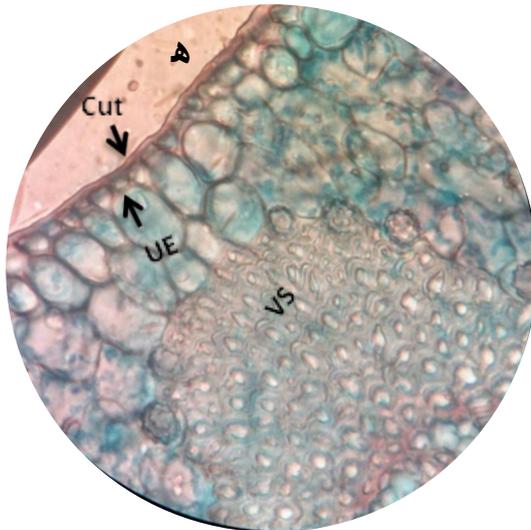
أ: معاملة المقارنة

ب: كاديوم (3 ملغم/كغم)

ج: كاديوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)



3.3.3.3: النسيج المتوسط Mesophyll والخلايا البارنكيميية.

أشارت النتائج في الجدول (14) إلى تأثير المعاملة بالكاديوم و الرصاص في سمك النسيج المتوسط لأوراق فسائل نخيل التمر، إذ لوحظ أن جميع المعاملات قد أدت إلى اختزال سمك النسيج المتوسط وبفارق معنوي عن معاملة المقارنة التي سجلت عيناتها أعلى معدل لسمك النسيج المتوسط إذ بلغ 351.66 مايكروميتر. و بينت النتائج أن المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم (9 ملغم/كغم) و الرصاص (276 ملغم/كغم) قد تفوقت معنويا في تقليل سمك النسيج المتوسط أيضاً على معاملي التركيز المنخفض لكلا المعدنين، إذ بلغ سمك النسيج المتوسط في معاملة التركيز العالي من الرصاص 251.66 مايكروميتر و 261.66 مايكروميتر لمعاملة التركيز العالي من الكاديوم، في حين لم تختلف معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم (3 ملغم/كغم) معنويا عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص (100 ملغم/كغم)، إذ بلغت 313.33 و 328.33 مايكروميتر للكاديوم والرصاص، على التوالي.

أما عن تأثير الكاديوم والرصاص في حجم الخلايا البارنكيميية، فأوضحت النتائج أن أعلى ارتفاع للخلايا البارنكيميية سجل في معاملة المقارنة إذ بلغ 45.41 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز المنخفض من الكاديوم والتي لم تختلف معنويا عن معاملة التركيز المنخفض من الرصاص، بينما سجل أقل ارتفاع للخلايا في معاملة الرصاص بالتركيز العالي والذي بلغ 32.91 مايكروميتر وبفارق غير معنوي عن معاملة التركيز العالي من الكاديوم والذي بلغ 34.33 مايكروميتر.

أما عن صفة عرض الخلايا البارنكيميية فأن نتائج الجدول نفسه أوضحت أن أعلى عرض للخلايا سجل في معاملة المقارنة إذ بلغ 38.5 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، وان أقل عرض لها سجل في عينات المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص، إذ بلغ

22.91 مايكروميتر وبفارق معنوي عن باقي المعاملات، كذلك تبين أن المعاملة بالتركيز العالي من الكاديوم تفوقت على المعاملة بالتركيز المنخفض من المعدن نفسه والرصاص إذ بلغ عرض الخلايا فيها 27.16 مايكروميتر، ولم تلاحظ اي فروقات معنوية تذكر بين معاملي التركيز المنخفض من الكاديوم والرصاص، الصورة (الوحة 3، صورة أ-ه).

أن تعرض النبات لإجهاد المعادن الثقيلة يؤدي إلى اختزال حجم الخلايا البارنكيميية في النسيج المتوسط او حتى انهيارها في التراكيز العالية (Sridhar *et al.*, 2005)، و التأثير في انقسام الخلايا (Stevovic *et al.*, 2013)، أن تعرض النباتات للتراكيز العالية من الكاديوم والرصاص يؤدي إلى اختزال سمك النسيج المتوسط في أوراق النباتات (Kovacevic *et al.*, 1999)، وقد يعود ذلك إلى اختزال حجم خلايا النسيج المتوسط فضلاً عن اختزال حجم الفجوات الهوائية (Tran and Popova, 2013). وقد اتفقت النتائج الحالية مع نتائج العديد من الدراسات في تأثير المعادن الثقيلة ومنها الكاديوم والرصاص في اختزال حجم الخلايا البارنكيميية والنسيج المتوسط منها (Al-Saadi *et al.*, 2013; Singh *et al.*, 2015; Tupan and Azrainingsih, 2016).

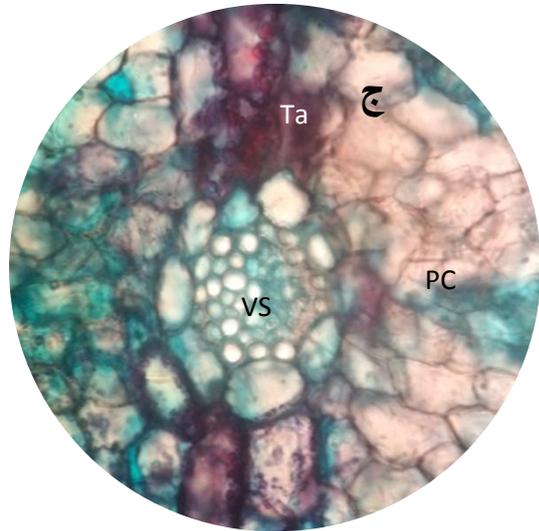
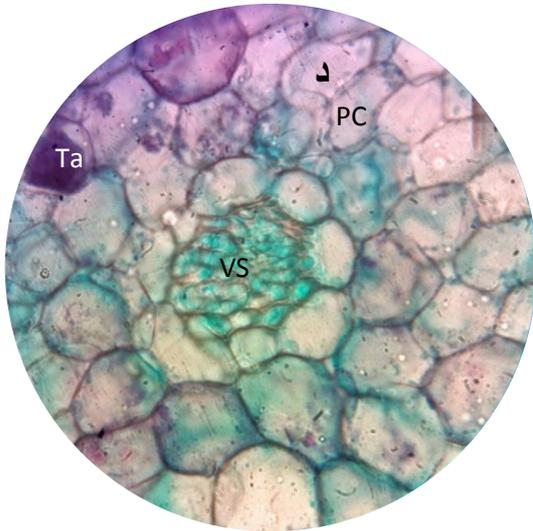
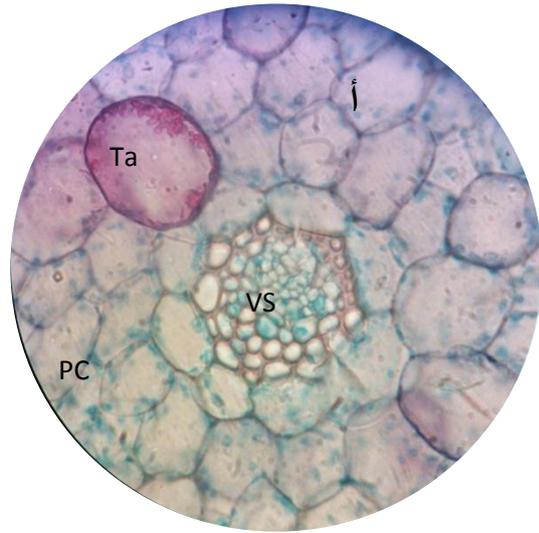
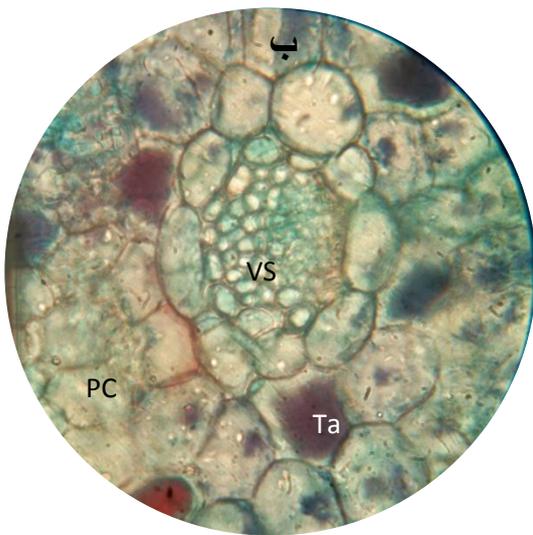
جدول (14) تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في سمك النسيج المتوسط

وحجم الخلايا البارنكيميا في أوراق نخيل التمر صنف البرحي .

عرض الخلايا البارنكيميا (مايكرومتر)	ارتفاع الخلايا البارنكيميا (مايكرومتر)	سمك النسيج المتوسط (مايكرومتر)	المعاملة
38.50 1.32± a	45.51 1.99± a	351.66* 12.58± a**	المقارنة
33.91 1.66± b	42.83 1.52± ab	313.33 7.63± b	كاديوم (3 ملغم/كغم)
27.16 3.01± c	34.33 2.84± c	261.66 20.20± c	كاديوم (9 ملغم/كغم)
31.33 1.25± b	38.75 3.30± b	328.33 23.60± b	رصاص (100 ملغم/كغم)
22.91 2.67± d	32.91 1.90± c	251.66 20.20± c	رصاص (276 ملغم/كغم)
3.77	4.37	20.18	LSD

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات لكل معاملة ± الانحراف المعياري.

** الاحرف المتشابهة في العمود الواحد تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (0.05).



لوحة (3) تأثير المعاملة بالكادميوم و الرصاص في خلايا النسيج المتوسط التي تحيط بالحزم الوعائية الصغيرة في أوراق نخيل التمر صنف البرحي (40 X).

VS = حزمة وعائية

Ta = تانين

PC = خلايا بارنكيميية

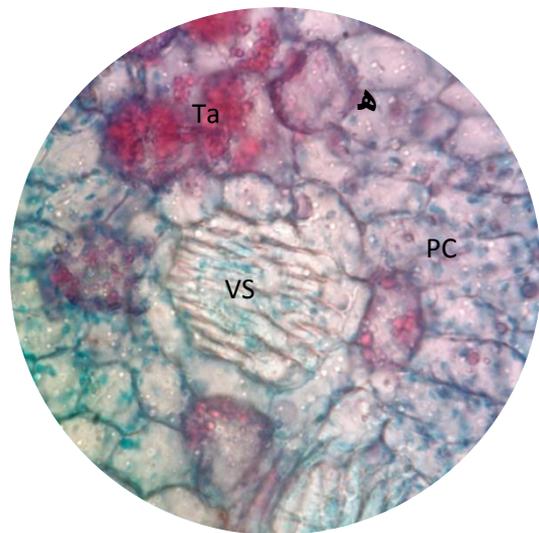
أ: معاملة المقارنة

ب: كادميوم (3 ملغم/كغم)

ج: كادميوم (9 ملغم/كغم)

د: رصاص (100 ملغم/كغم)

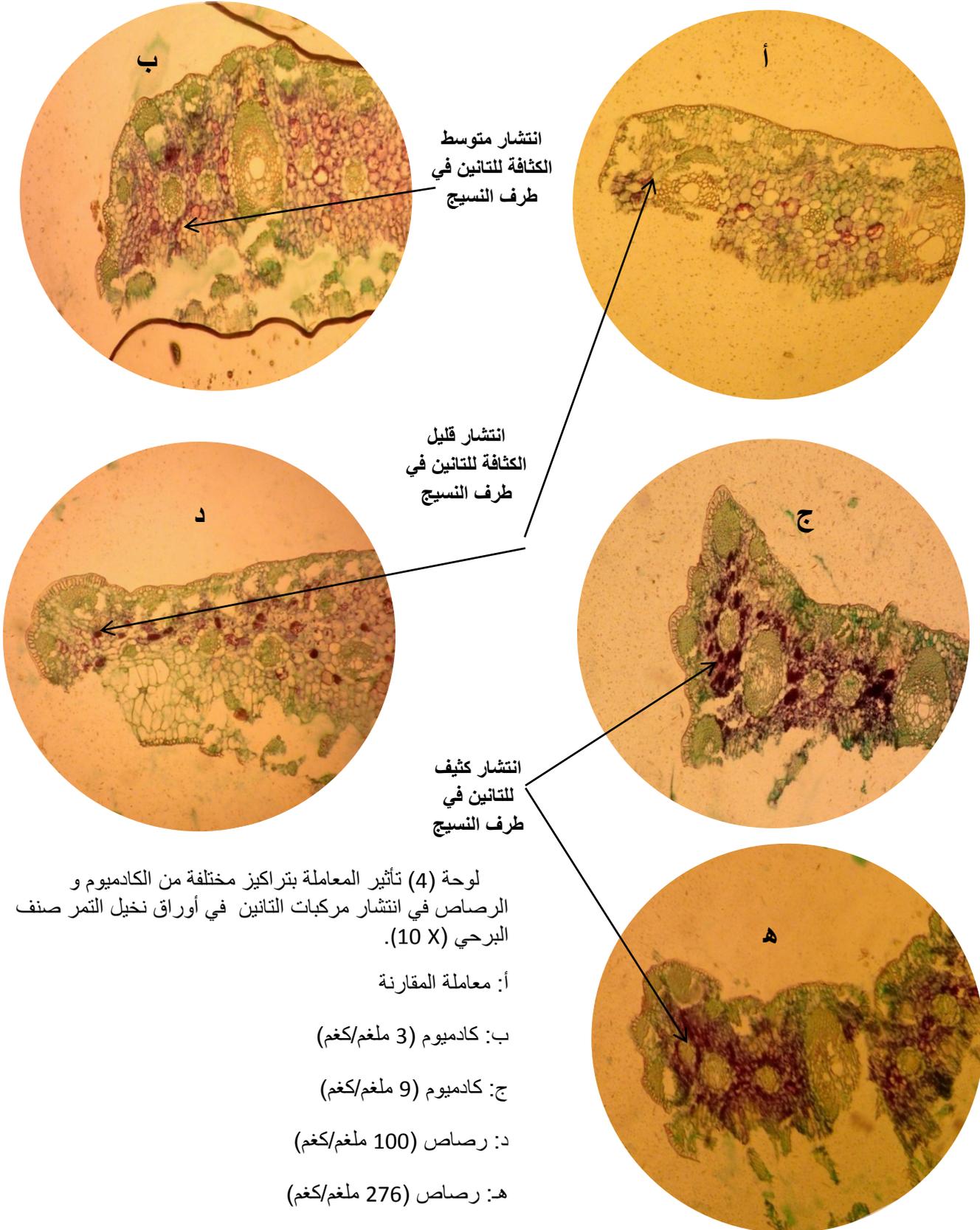
هـ: رصاص (276 ملغم/كغم)



4.3.3.3: انتشار التانين

أوضحت الصور (لوحة 4، صورة أ-هـ) انتشار مركبات التانين في خلايا أنسجة أوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بالكادميوم والرصاص فضلا عن معاملة المقارنة ، بينت مقاطع التشريح النسيجي انتشار التانين الكثيف في المعاملة بالتركيز العالي من الكادميوم (9 ملغم/كغم) (لوحة 4، صورة ج) ، و المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص (276 ملغم/كغم) (لوحة 4، صورة هـ)، ولوحظ أن مركبات التانين قد تركزت في طرف النسيج وبشكل كبير حول الحزم الوعائية الكبيرة و الصغيرة، كما لوحظ أن انتشار التانين كان أقل كثافة وبشكل واضح في معاملي التركيز المنخفض من الرصاص (100 ملغم/كغم) و معاملة المقارنة، في حين كان انتشار التانين أقل كثافة في معاملة التركيز المنخفض من الكادميوم (لوحة 4، صورة ب) عند المقارنة بانتشار التانين نسبيا في معاملة المقارنة (لوحة 4، صورة أ). وتوجد مركبات التانين بشكل طبيعي في الانسجة النباتية بكميات قليلة ويزداد إنتاج النبات لهذه المركبات عند تعرضه إلى الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress والذي تسببه زيادة تراكيز المعادن الثقيلة (Dalcorsio *et al.*, 2016; Abass *et al.*, 2013)، وينتج النبات المركبات الفينولية ومنها التانينات كآلية دفاعية غير انزيمية لتخفيف الاثار الضارة او السامه للجذور الحرة Free Radicals وانواع الاوكسجين الفعالة (ROS) التي تتكون بفعل المعادن الثقيلة (Mickalak, 2006)، وتتميز هذه المركبات بقابليتها على الارتباط بالمعادن الثقيلة وتقليل سميتها، فقد أشار McDonald *et al.* (1996) إلى احتمالية مشاركة التانين في تقليل سمية الكادميوم من خلال الارتباط معه وترسيبه في مواقع معينة من النسيج . ووجد Vollenweider *et al* (2006) زيادة متوازية بين مركبات التانين وزيادة تركيز الكادميوم في أوراق نبات *Salix viminalis* L.، كما أشار إلى أن مركبات التانين اتجهت إلى التجمع في حواف الاوراق وتركزت في جدران الخلايا وهذا يتفق مع نتائج الدراسة

الحالية. وبين (Appenroth 2010) أن بعض المعادن الثقيلة تكون سامة عندما تتجاوز تركيزا معيناً، وهذا ما قد يفسر تفوق الكاديوم والرصاص بالتراكيز العالية في تأثيراتها على التراكيز المنخفضة من كلا العنصرين.



4.3.3: تأثير المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص في الصفات

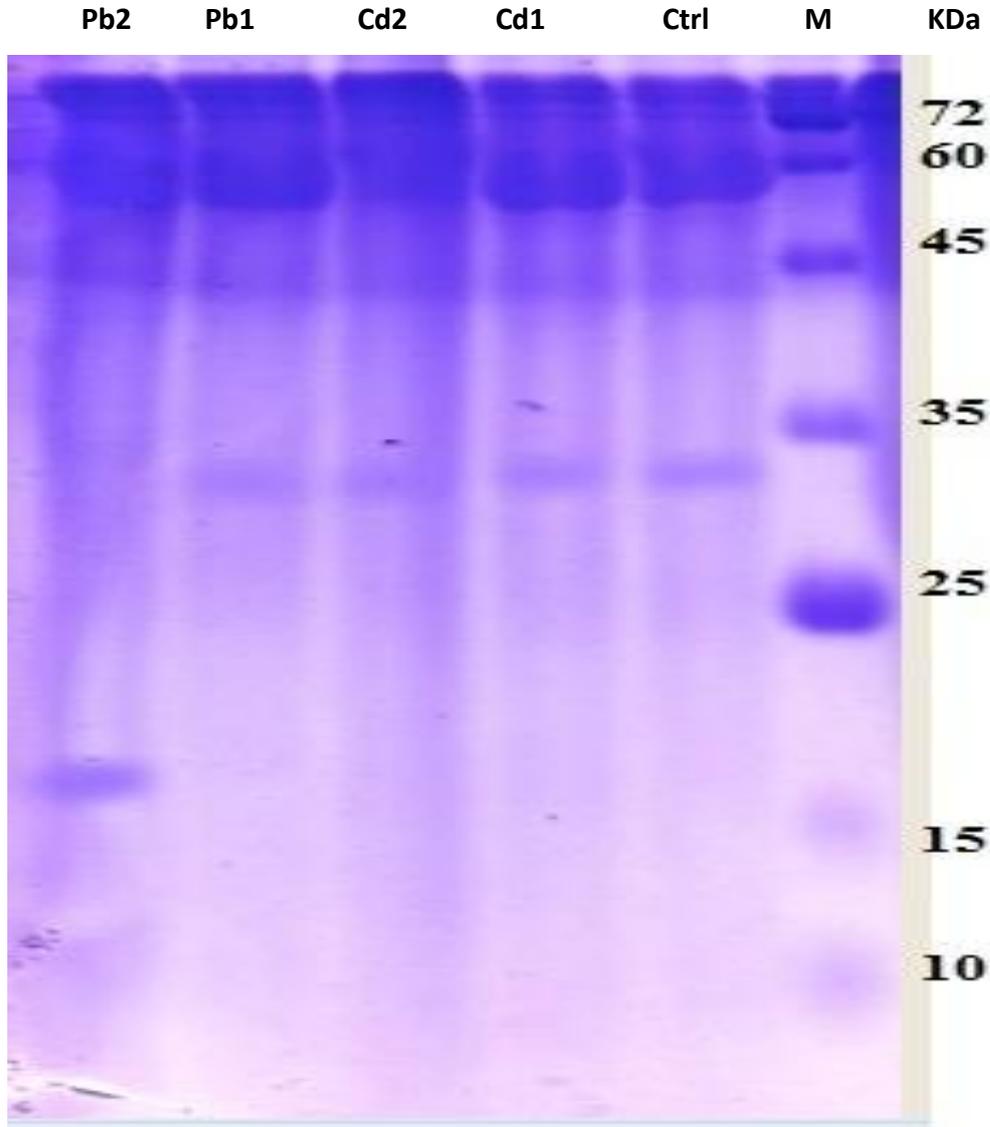
الوراثية لأشجار نخيل التمر صنف البرحي.

1.4.3.3: الترحيل الكهربائي للبروتينات الكلية الذاتية

أشارت نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات الذاتية الكلية في نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص باستخدام تقنية SDS-PAGE إلى ظهور 20 حزمة بروتينية، تراوح مدى الوزن الجزيئي لها بين 18 و 73 كيلو دالتون، مع تسجيل أربعة حزم لكل معاملة، ولوحظ من الشكل (16) والجدول (15) أن هناك ثلاث حزم ظهرت في كل المعاملات وهي 73 و 58 و 44 كيلو دالتون، بينما اختفت الحزمة 33 كيلو دالتون في معاملة الرصاص بالتركيز العالي (276 ملغم/كغم) وظهرت في باقي المعاملات، مع تسجيل ظهور جديد للحزمة 18 كيلو دالتون في معاملة التركيز العالي من الرصاص. وأشارت نتائج مؤشر التشابه الوراثي Genetic Similarity Index (GSI) حسب دليل Nei and Li (1979) والموضحة في جدول (16) إلى أن قيمة هذا المؤشر كانت 1 بين معاملات المقارنة والتركيز العالي والمنخفض من الكادميوم والتركيز المنخفض من الرصاص مما يدل على وجود تطابق وراثي بين هذه المعاملات، في حين سبب التركيز العالي من الرصاص (276 ملغم/كغم) اختلافاً بمعدل التشابه الوراثي الذي بلغ 0.75، أي أن قيمة التباعد الوراثي بين هذه المعاملة وباقي المعاملات كانت 0.25.

أوضحت نتائج تحليل المخطط التجميعي UPGMA المحسوبة على أساس التشابه والتباعد الوراثي ورسم شجرة Dendrogram إلى أن أشجار نخيل التمر المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص أدت إلى انعزال مجموعتين Clusters، احتوت المجموعة الأولى فيها على معاملات المقارنة والتركيز العالي والمنخفض من الكادميوم والتركيز المنخفض من الرصاص،

في حين انزلت معاملة الرصاص بالتركيز العالي في مجموعة لوحدها مسجلة ابعده مسافة عن باقي المعاملات بلغت 0.30 (شكل 17).



الشكل (16) نمط توزيع الحزم البروتينية في أوراق نخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص.

M= البروتين القياسي ؛ Ctrl= معاملة المقارنة ؛ Cd1= كاديوم (3 ملغم/كغم) ؛ Cd2= كاديوم (9 ملغم/كغم)

Pb1= رصاص (100 ملغم/كغم) ؛ Pb2= رصاص (276 ملغم/كغم)

جدول (15) الحزم البروتينية المتكونة واوزانها الجزيئية (كيلو دالتون) للبروتينات الذاتية الكلية لنخيل التمر صنف البرحي المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص.

Pb2	Pb1	Cd2	Cd1	Ctrl	الوزن الجزيئي	رقم الحزمة
1	1	1	1	*1	73	1
1	1	1	1	1	58	2
1	1	1	1	1	44	3
*0	1	1	1	1	33	4
1	0	0	0	0	18	5

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = كاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = كاديوم (9 ملغم/كغم)؛

Pb1 = رصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = رصاص (276 ملغم/كغم).

* 1 = ظهور؛ 0 = اختفاء

جدول (16) مؤشر التشابه الوراثي حسب مقياس Nei and Li (1979) للبروتينات الذاتية في نخيل التمر صنف البرحي المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص.

Pb2	Pb1	Cd2	Cd1	Ctrl	
0.75	1	1	1	1	Ctrl
0.75	1	1	1		Cd1
0.75	1	1			Cd2
0.75	1				Pb1
1					Pb2

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = كاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = كاديوم (9 ملغم/كغم)؛

Pb1 = رصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = رصاص (276 ملغم/كغم).



Similarity Index

الشكل (17) مخطط التحليل التجميعي بواسطة UPGAM اعتماداً على قيم التشابه الوراثي حسب لاوراق نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة الكاديوم والرصاص باستخدام طريقة SDS PAGE للبروتينات الكلية الذاتية.

=Ctrl معاملة المقارنة؛ 3 كاديوم =Cd1 (3 ملغم/كغم)؛ 9 كاديوم =Cd2 (9 ملغم/كغم)؛ 100 رصاص =Pb1 (100 ملغم/كغم)؛ 276 ملغم/كغم =Pb2 (276 ملغم/كغم).

Cophenetic Correlation Coefficient =1

tree.bio.ed.ac.uk/software

<http://genomes.urv.cat/UPGAM/>

يعد الترحيل الكهربائي للبروتينات باستخدام طريقة SDS PAGE من الطرائق الحيوية المهمة التي توضح نمط توزيع الحزم البروتينية تحت ظروف الاجهاد المختلفة مقارنة بأخرى غير معرضة للإجهاد (Ranjan *et al.*, 2013)، إذ استعملت هذه الطريقة في عديد من الدراسات التي أشارت إلى اختلاف نمط توزيع الحزم البروتينية تحت ظروف الاجهاد منها على سبيل المثال دراسة (Ahmad *et al.*, 2014) حول تأثير اجهاد الملوحة و القاعدية في اشجار التوت *Morus alba* L. و (Alegre *et al.*, 2016) حول تاثير الاشعة فوق البنفسجية في اشجار الصنوبر الشعاعي *Pinus radiata*، ودراسة (Abass *et al.*, 2017) حول تأثير تراكيز من الهرمونات النباتية في نشوء كالس نخيل التمر.

أشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص أدت إلى اختفاء حزمة بروتينية واحدة وظهور حزمة بروتينية عنها في معاملة المقارنة والمعاملات الأخرى، وقد يعود السبب في ذلك إلى السمية العالية للرصاص بهذا التركيز (276 كلغم/كغم)، إذ أشار (Appenroth 2010) إلى كون سمية المعادن الثقيلة تعتمد على تركيز المعدن نفسه، أما سبب اختفاء بعض الحزم البروتينية تحت اجهاد المعادن الثقيلة قد يعود إلى تحطم Degradation البروتينات، والتي يمكن أن تكون بشكل مباشر او غير مباشر من خلال تحفيز تكوين ROS (Shahid *et al.*, 2014)، إذ أن المعادن الثقيلة تسبب تثبيط عملية انطواء البروتين Refolding من خلال استبدال بعض العناصر الضرورية لهذه العملية مثل الزنك ومن ثم تفعيل عملية التحلل البروتيني Proteolysis والتي تقوم بها معقدات Protoosomes للبروتينات المشوهة او غير مكتملة الانطواء (Tamas *et al.*, 2014)، وأشار Sharma *et al.* (2008) إلى أن البروتينات تكون اكثر حساسية للمعادن الثقيلة في مرحلة الانطواء، وان بعض المعادن الثقيلة ومنها الرصاص تتداخل بشكل فعال مع عملية انطواء البروتين (Sharma *et al.*,

2011). أما ظهور حزمة بروتينية جديدة ذات وزن جزيئي منخفض (18 كيلو دالتون) في معاملة التركيز العالي من الرصاص (276 ملغم/كغم) قد تكون من بروتينات الاستجابة للاجهاد Plant stress protein، فقد ذكر أن تعرض النبات إلى الاجهاد يميل إلى انتاج نمط من البروتينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض التي تعرف بالبروتينات الخالبة Phytochelatins الغنية بمجموعة الثايول Thiol والتي تكون ناتجة عن فعالية انزيمية، ومجموعة اخرى من البروتينات وهي Metallothioneins الغنية بالحامض الاميني Cysteine والتي تكون ناتجة عن التعبير الجيني Gene Expression (Emamverdian *et al.*, 2015)، وتميل المعادن الثقيلة إلى الارتباط بمجموعة الثايول ومن ثم فإن هذه البروتينات تكون معقد مع هذه المعادن وتنقلها بعد ذلك إلى الفجوات في الخلايا وتقلل من خطورتها (Zagorchev *et al.*, 2013)، كما أن اختفاء او ظهور الحزم البروتينية قد يعزى إلى تأثير المعادن الثقيلة على التعبير الجيني (Kovalchuk *et al.*, 2005)، ومن الجدير بالذكر أن ظهور تلك الحزمة البروتينية ذات الوزن الجزيئي 18 كيلو دالتون في معاملة التركيز العالي من الرصاص يقع ضمن مدى الاوزان الجزيئية للبروتينات الخالبة، إذ أشار (Prasad 1995) إلى أن هذه البروتينات تقع ضمن مدى بين 7-18 كيلو دالتون. وقد أشارت عديد من الدراسات إلى اختفاء وظهور بعض الحزم البروتينية ذات اوزان جزيئية مختلفة عند معاملتها بتركيز مختلفة من الرصاص مثل دراسة (Bafeel 2010) على نبات (*Lepidium sativum* (cress) و دراسة (Iqbal *et al.* 2012) على نوعين تابعين للجنس *Brassica* هما *B. carinata* و *B. juncea*، وعلى نبات *Abutilon indicum* L. (Sahoo *et al.*, 2015).

2.4.3.3: استعمال تقانة ISSR في الكشف عن التغيرات الوراثية في نخيل التمر

المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص

استعملت خمس بادئات من ISSR في الكشف عن التغيرات الوراثية المحتملة لنخيل التمر صنف البرحي المعاملة بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص، وبينت نتائج الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز أن اربع بادئات تمكنت من مضاعفة DNA وتكوين حزم هي 818 و 822 و 834 و 855، بينما فشل البادئ 815 في مضاعفة DNA واعطاء اي حزمة، ووضح جدول (17) أن العدد الكلي الحزم المسجلة للبادئات الاربعة بلغ 147 حزمة كان منها 137 حزمة متشابهة Monomorphic لكل المعاملات، و 10 حزم متباينة Polymorphic ظهرت جميعها في معاملة التركيز العالي من الرصاص، وتراوحت احجام الحزم المتكونة بين 500 إلى 2200 زوج قاعدة.

1.2.4.3.3: البادئ 818

توضح اللوحة 5 الصورة (أ) الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز للحمض النووي DNA المضاعف بواسطة البادئ 818، ولوحظ أن العدد الكلي للحزم المتكونة كان 35 حزمة، وسُجل ظهور سبعة حزم لكل معاملة، تراوح حجمها بين 550 إلى 1800 زوج قاعدة، ظهر منها ستة حزم في كل المعاملات هي 550 و 680 و 1100 و 1400 و 1700 و 1800 زوج قاعدة بينما ظهرت الحزمة 800 زوج قاعدة في كل المعاملات واختفت في معاملة التركيز العالي من الرصاص، ولوحظ أن الحزمة 960 زوج قاعدة ظهرت في معاملة التركيز العالي من الرصاص فقط، ولوحظ من جدول (17) أن كفاءة هذا البادئ كانت 23.80% ونسبة التعددية الشكلية 5.71% والقوة التشخيصية 20%.

2.2.4.3.3: البادئ 822

سجل هذا البادئ ظهور 43 حزمة وهي الاعلى مقارنة بالبادئات الاخرى، تراوح حجمها بين 500 إلى 2200 زوج قاعدة، وظهرت تسعة حزم في كل المعاملات عدا معاملة التركيز العالي من الرصاص التي سجلت ظهور ثمانية حزم، إذ توضح اللوحة 5 الصورة (ب) اختفاء حزمتين في معاملة التركيز العالي من الرصاص هي 1840 و 500 زوج قاعدة، وظهر حزمة جديدة هما 400 زوج قاعدة فقط في معاملة التركيز العالي من الرصاص، ولوحظ من جدول (17) أن كفاءة هذه البادئ كانت 29.25% وهي الاعلى مقارنة بالبادئات الاخرى، والنسبة المئوية للتعددية الشكلية 6.97% والقوة التشخيصية 30% وهي الاعلى مع البادئ 855.

3.2.4.3.3: البادئ 834

توضح اللوحة 5 الصورة (ج) نتائج الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز المحتوي على عينات من الحمض النووي DNA لنخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص والمضاعف باستعمال البادئ 834، ولوحظ أن عدد الحزم المسجلة كان 35 حزمة، تراوح حجمها من 550 إلى 2000 زوج قاعدة، بواقع سبعة حزم لكل معاملة، واشتركت كل المعاملات في ستة حزم كان حجمها 2000 و 1560 و 1370 و 1100 و 640 و 550 زوج قاعدة، بينما ظهرت الحزمة 900 زوج قاعدة في كل المعاملات واختفت في معاملة التركيز العالي من الرصاص كذلك فإن الحزمة 70 زوج قاعدة ظهرت فقط في معاملة التركيز العالي من الرصاص. وكانت كفاءة هذا البادئ 23.80% ونسبة التعددية الشكلية 5.71% و القوة التشخيصية 20% وهي مشابهة لقيم البادئ 818 كما مبين في جدول (17).

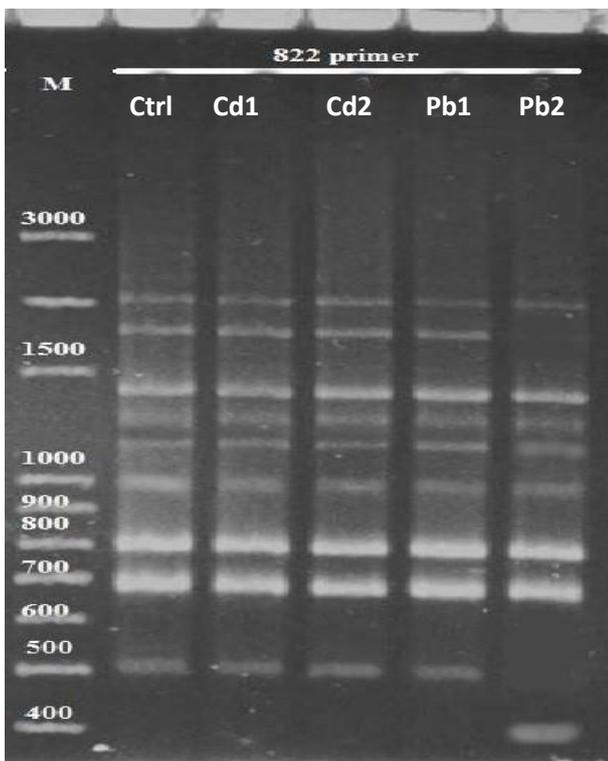
4.2.4.3.3: البادئ 855

سجل هذا البادئ 34 حزمة لكل المعاملات وهو الاقل بين البادئات المستخدمة وزعت هذه الحزم بواقع 7 حزم لكل معاملة، عدا معاملة الرصاص بالتركيز العالي والتي سجلت ست حزم، وتراوح حجم الحزم المسجلة بين 580 و 1800 زوج قاعدة، ولوحظ من اللوحة 5 الصورة (د) أن الحزم 1800 و 1650 و 800 و 730 و 580 زوج قاعدة ظهرت في جميع المعاملات، ولوحظ كذلك اختفاء الحزمتين 1180 و 980 زوج قاعدة في معاملة التركيز العالي من الرصاص وظهرها في باقي المعاملات، وظهور الحزمة 870 زوج قاعدة في معاملة التركيز العالي من الرصاص فقط، ولوحظ أن هذا البادئ سجل أعلى نسبة مئوية للتعددية الشكلية مقارنة بالبادئات الاخرى إذ بلغت 8.82% كما مبين في جدول (17)، بينما كانت كفاءته 23.12% والقوة التشخيصية له 30%.

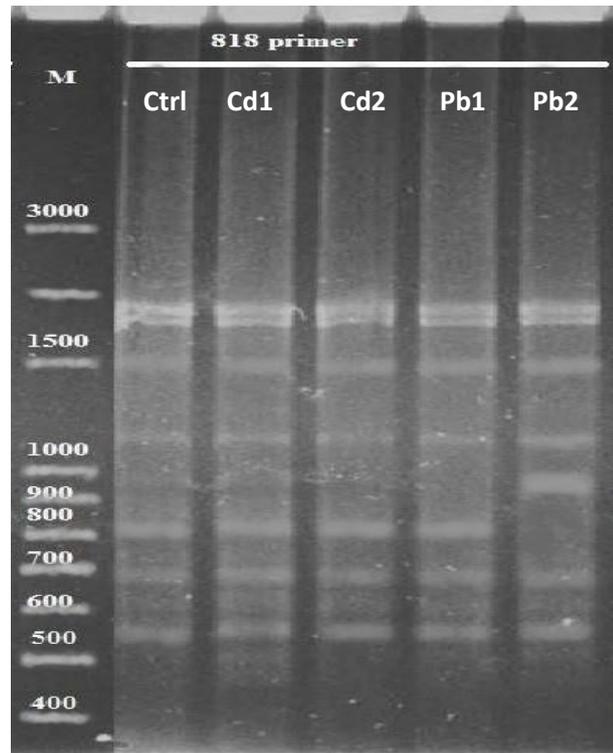
جدول (17) عدد حزم الحمض النووي DNA المتضاعفة والحزم المتباينة لبادئات

مختلفة من ISSR وكفاءتها ونسبة التباين وقوتها التشخيصية

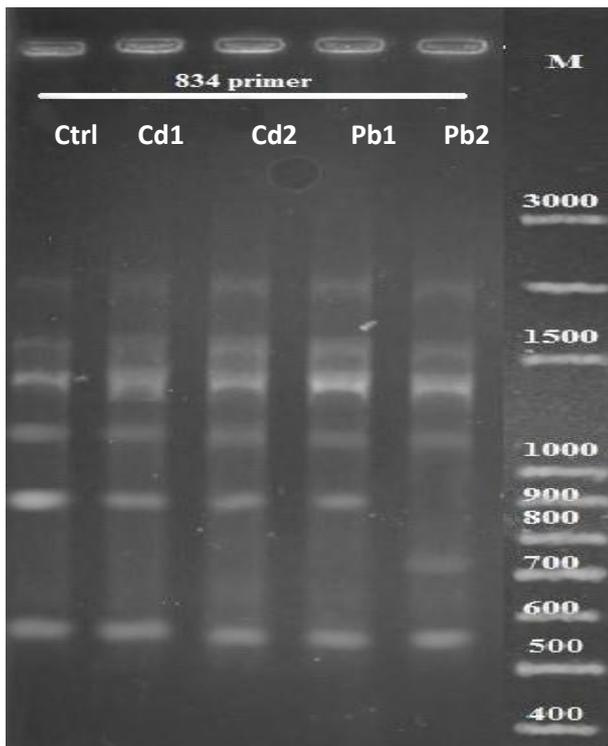
تعريف البادئ	العدد الكلي للحزم المسجلة	عدد الحزم المتباينة	مدى الحزم المضاعفة (زوج قاعدة)	كفاءة البادئ (%)	نسبة التباين (%)	القوة التشخيصية للبادئ (%)
818	35	2	1800-550	23.80	5.71	20
822	43	3	2200-500	29.25	6.97	30
834	35	2	2000-550	23.80	5.71	20
855	34	3	1800-580	23.12	8.82	30
العدد الكلي	147	10				



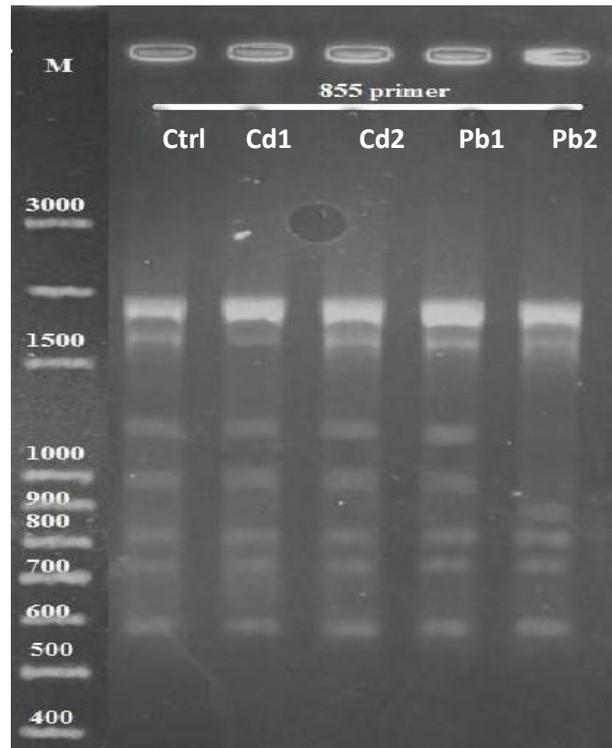
الصورة (ب)



الصورة (أ)



الصورة (د)



الصورة (ج)

لوحة (5) الترحيل الكهربائي لحزم DNA المتضاعفة باستخدام مؤشر ISSR لعينات من نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص. M=مؤشر DNA القياسي (100) bp؛ Ctrl= معاملة المقارنة؛ Cd1 = كاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = كاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = رصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = رصاص (276 ملغم/كغم).

3.4.3.3: مؤشر التشابه الوراثي (GSI) Genetic Similarity Index

لنخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة من الكادميوم والرصاص وفقاً لبادئات ISSR.

أشارت النتائج في الجدول (18) إلى مؤشر التشابه الوراثي لنخيل التمر المعامل بالكادميوم بتركيز 3 و 9 ملغم/كغم والرصاص بتركيز 100 و 276 ملغم/كغم، ولوحظ من النتائج أن النخيل المعامل بالكادميوم بكلا التركيزين والرصاص بالتركيز المنخفض كانت مشابهة وراثياً للنخيل غير المعامل في قطع الحمض النووي DNA المضاعفة باستعمال اربع بادئات من ISSR، إذ كانت قيمة مؤشر التشابه الوراثي عند المقارنة بين هذه المعاملات تساوي واحد، مما يدل على عدم وجود حزم متباينة بين المعاملات وتساوي الحزم المتضاعفة من جهة العدد ومتشابهة من حيث الحجم بينما أظهرت نتائج الجدول نفسة أن معاملة التركيز العالي من الرصاص أدت إلى خفض قيمة هذا المؤشر إلى 80% بينها وبين باقي المعاملات، مما يدل على ظهور واختفاء بعض الحزم في هذه المعاملة مقارنة بباقي المعاملات.

واوضح مخطط التحليل التجميعي Dendrogram الشكل (18) انعزال معاملة التركيز العالي من الرصاص في مجموعة منفردة Cluster عن باقي المعاملات التي تجمعت في مجموعة واحدة وبأعلى مسافة بلغت 20%، واعتمد هذا الانعزال على مؤشر التشابه الوراثي بين المعاملات، والذي ينتج من مدى التشابه والاختلاف في الحزم الناتجة من عملية الترحيل الكهربائي لعينات DNA المضاعفة باستعمال مؤشرات ISSR.

جدول (18) مؤشر التشابه الوراثي (GSI) للحمض النووي DNA في نخيل التمر

المعامل بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص والمضاعف باستخدام تقنية ISSR.

Pb2	Pb1	Cd2	Cd1	Ctrl	
0.80	1	1	1	1	Ctrl
0.80	1	1	1		Cd1
0.80	1	1			Cd2
0.80	1				Pb1
1					Pb2

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = كاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = كاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = رصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = رصاص (276 ملغم/كغم).

4.4.3.3: مؤشر ثبات القالب الوراثي Genome Template Stability

(GTS) لنخيل التمر المعامل بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص.

أشارت نتائج مؤشر ثبات القالب الوراثي GTS المعتمدة على مدى التشابه والتباين

بين الحزم المتكونة في النخيل المعامل بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص مقارنة بالنخيل

غير المعامل والموضحة في شكل (19) إلى أن المعاملة بالتركيز العالي والمنخفض من الكاديوم

والتركيز المنخفض من الرصاص لم تؤثر في ثباتية القالب الوراثي في النخيل، بينما أدت المعاملة

بالرصاص بتركيز 276 ملغم/كغم إلى خفض قيمة هذا المؤشر إلى 70%، مما يدل على السمية

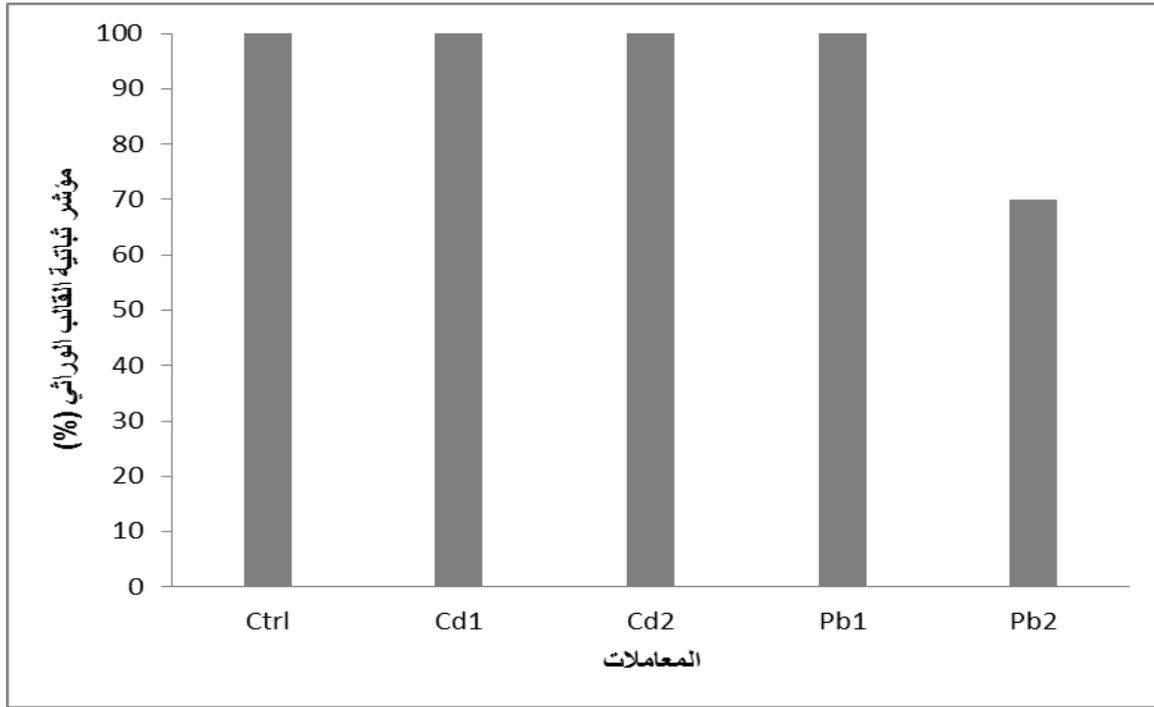
الوراثية Genotoxicity للرصاص عند هذا التركيز.



الشكل (18) مخطط التحليل التجميعي بواسطة UPGAM اعتماداً على قيم النشابة الوراثي حسب Nie and Li (1979) لاوراق نخيل التمر المعامل بتراكيز مختلفة الكاديوم والرصاص باستخدام مؤشر .ISSR.

=Ctrl معاملة المقارنة؛ Cd1 = كاديوم (3 ملغم/كغم)؛ Cd2 = كاديوم (9 ملغم/كغم)؛ Pb1 = رصاص (100 ملغم/كغم)؛ Pb2 = رصاص (276 ملغم/كغم).

Cophenetic Correlation Coefficient = 1 <http://genomes.urv.cat/UPGAM/> tree.bio.ed.ac.uk/software



شكل (19) تأثير المعاملة بتركيز مختلفة من الكاديوم والرصاص في مؤشر ثباتية القالب الوراثي GTS لنخيل التمر صنف البرحي (%).

Ctrl = معاملة المقارنة؛ Cd1 = معاملة الكاديوم (3 ملغم/كغم) ؛ Cd2 = معاملة الكاديوم (9 ملغم/كغم) ؛ Pb1 = معاملة الرصاص (100 ملغم/كغم) ؛ Pb2 = معاملة الرصاص (276 ملغم/كغم).

يعد استعمال مؤشرات ISSR من التقنيات الفعالة في تحديد التنوع الوراثي في نخيل التمر (Karim *et al.*, 2010)، إلا أن استعمال هذه التقنية كان لغرض معرفة التقارب والتباين الوراثي بين الاصناف المختلفة، وتعد الدراسة الحالية الاولى التي تستعمل مؤشرات DNA في تحديد التباين الوراثي لنخيل التمر تحت ظروف إجهاد المعادن الثقيلة ، إلا انها استخدمت في العديد من الدراسات لتحديد التباين الوراثي تحت إجهاد أنواع مختلفة من المعادن الثقيلة على عدة نباتات اخرى، منها على سبيل المثال دراسة تراكيز مختلفة من الكاديوم والرصاص والزنك على نبات الجرجير (*Eruca sativa* (L.) (Al-Qurainy, 2010)، ودراسة تراكيز مختلفة من

الرصاص في الثبات الوراثي في نبات الشعير (*Hordeum vulgare* L.) Mahfouz and Rayan, 2016).

وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى ظهور واختفاء بعض حزم الحمض النووي DNA في اشجار النخيل عند معاملتها بالتركيز العالي من الرصاص، وقد يعزى اختفاء وظهور بعض الحزم إلى حدوث طفرات Mutations تتمثل بإضافة أو حذف قاعدة مفردة Single base، أو إلى إعادة ترتيب الكروموسومات المعقدة Complex Chromosomal Rearrangement (Atienzar *et al.*, 2000)، أو إلى كسر شريط DNA سواء شريط مفرد Break single strand أو الشريط المزدوج Break double strand (Shahid *et al.*, 2014). وأشار Abdelmigid (2009) إلى أن ظهور الحزم الجديدة قد يعزى إلى حدوث طفرات بينما يعزى اختفاء الحزم إلى حدوث ضرر على DNA. ويمكن أن تسبب المعادن الثقيلة ضرراً للحمض النووي DNA بصورة غير مباشرة عن طريق تحفيز ROS (Gichner *et al.*, 2006)، وأشار Jones *et al.* (2011) إلى أن جذر الهيدروكسيل هو أكثر أنواع ROS فعالية في إلحاق الضرر بجميع مكونات الحمض النووي DNA، أو بصورة مباشرة من خلال ارتباط المعادن الثقيلة مع الحمض النووي أو من خلال ارتباطها مع البروتينات (Naz *et al.*, 2015)، وان هذا الارتباط يؤدي إلى إعاقة ميكانيكيات إصلاح أو تضاعف DNA (Shahid *et al.*, 2011)، وذلك من خلال تثبيط الانزيمات التي تسهم في هذه الميكانيكيات (Gastaldo *et al.*, 2007). وأشار Malar *et al.* (2014) إلى أن معاملة نبات *Sesbania grandiflora* L. بالرصاص بتركيز 200 ملغم/كغم أدى ظهور خمسة حزم متباينة من DNA، وان عدد حزم المتباينة ازداد مع زيادة تركيز الرصاص إذ أدت المعاملة بالتركيز 1000 ملغم/كغم إلى ظهور تسعة حزم متباينة، كما بين Mahfouz and Rayan (2016) أن معاملة نبات الشعير بتركيز 150 ملغم/كغم أدت

إلى ظهور تسعة حزم جديدة واختفاء 23 حزمة مقارنة بالنباتات غير المعاملة، باستعمال تسع بادئات من ISSR.

وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى أن قيمة مؤشر التشابه الوراثي بين النباتات المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص ومعاملة المقارنة كانت 0.80 وقيمة مؤشر ثباتية القالب الوراثي GTS كانت 0.70، أن قيمة هذه المؤشرات تدل على مستوى الضرر الذي لحق بالحمض النووي DNA عند المعاملة بالتركيز العالي من الرصاص، وان قيمة مؤشر ثباتية القالب الوراثي تعكس التباين في نمط توزيع الحزم البروتينية وحزم DNA.

واتفقت نتائج هذه الدراسة في بيان التأثيرات السامة للرصاص بالتركيز العالي على ثباتية القالب الوراثي في نخيل التمر مع دراسات على نباتات اخرى بينت أن الرصاص بالتركيز المرتفعة (150-200 ملغم/كغم)، أدت إلى التأثير في ثباتية القالب الوراثي إذ قللته إلى معدل 70.59 و 83.75 % في نباتي *S. grandiflora* و *H. vulgare* على التوالي (Malar et al., 2014; Mahfouz and Rayan, 2016).

جدول (4) مواصفات التربة لمواقع الدراسة في موسمي الامطار والجفاف

الفاو		ابي الخصيب		طريق الزبير		شط العرب		محطة النجيبية		القرنة		الوحدة	الصفة
جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار	جفاف	امطار		
7.80	7.22	7.30	7.25	7.49	6.91	7.50	7.10	7.59	7.50	7.68	7.45*		pH
14.46	17.53	10.80	9.30	16.93	10.36	7.26	8.16	5.46	5.10	9.30	7.83	ديسيمنز/م	Ec
1.14	1.23	2.50	2.75	1.57	1.55	0.74	0.84	5.34	5.63	0.85	0.89	%	OM
14.65	14.68	16.53	19.97	9.29	10.28	13.71	12.75	20.88	22.15	13.25	14.10	سنتيمول/كغم	CEC
8.89		4.89		75.80		8.12		41.10		11.82		%	رمل
55.84		47.10		16.00		51.32		30.50		44.46		%	طين
35.27		48.01		8.20		40.56		28.40		43.72		%	غرين
طينية Clay		طينية غرينيه Silty Clay		رملية مزيجية Sandy Loam		طينية غرينيه Silty Clay		طينية مزيجيه Clay Loam		طينية غرينيه Silty Clay			نسجة التربة

* تمثل القيم في الجدول معدل ثلاث مكررات

CEC = سعة تبادل الايونات الموجبة

OM = المادة العضوية

Ec = التوصيل الكهربائي

pH = الرقم الهيدروجيني

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

يمكن تلخيص اهم الاستنتاجات التي توصلت اليها هذه الدراسة بما يلي:

1. ارتفاع مستوى التلوث بالكاديوم والرصاص في تربة وهواء محافظة البصرة.
2. وجود تغاير موسمي في تراكيز المعادن الثقيلة بين موسمي الامطار والجفاف، إذ كان معدل تركيزها الكلي في التربة في موسم الجفاف أعلى من موسم الامطار.
3. ان لصفات التربة تأثير كبير في جاهزية المعادن الثقيلة للامتصاص من قبل النباتات، سيما محتوى التربة من المادة العضوية وسعتها التبادلية للأيونات الموجبة.

4. زيادة تركيز الكاديوم والرصاص في المعاملات أدى إلى زيادة تراكمها في التربة وأوراق نخيل التمر.

5. ادت المعاملة بالكاديوم والرصاص سيما التراكيز العالية منها الى التأثير في الصفات الكيموحيوية لأوراق فسائل نخيل التمر ويمكن تلخيصها كالآتي:

أ: تقليل محتوى الاوراق من صبغات الكلوروفيل والكاروتينويدات وزيادة محتواها من صبغة الانثوسيانين، وانخفاض مؤشر ثباتيه الكلوروفيل.

ب: ارتفاع محتواها من الكربوهيدرات الكلية والبرولين والاحماض الامينية الحرة وبيروكسيد الهيدروجين وفعالية انزيم البيروكسيديز.

ج: انخفاض محتواها من البروتينات الكلية الذائبة.

د: حدوث عملية اكسده لدهون الاغشية في اوراق نخيل التمر، من خلال ارتفاع محتواها من مركب (MDA) Malondialdehyde، وانخفاض قيمة مؤشر ثباتية الاغشية.

ه: ارتفاع محتواها من المركبات الفينولية الكلية.

6. إن المعاملة بالكادميوم والرصاص أدت إلى التأثير في الصفات التشريحية لنخيل التمر، وكان التأثير واضحاً من خلال:

أ: تقليل حجم الحزم الوعائية وعناصرها الناقلة (الخشب واللحاء) وحجم النسيج المتوسط وحجم الخلايا البارانكيميية.

ب: انتشار التانين بشكل كثيف سيما في طرف انسجة الورقة.

7. سبب الرصاص بالتركيز 276 تغاييراً وراثياً في اشجار نخيل التمر، بينما لم يكن للكادميوم بالتركيزين 3 و 9 ملغم/كغم والرصاص بالتركيز 100 ملغم/كغم المدروسة تأثيراً في هذه الصفات، وفقاً لمؤشري ترحيل البروتينات و ISSR.

التوصيات

1. إجراء المزيد من الدراسات، والتوسع في المعادن الثقيلة المدروسة والمناطق في محافظة البصرة.
2. إجراء دراسات حول تركيز المعادن الثقيلة في ثمار النخيل، بسبب الاستهلاك المحلي الكبير لهذه الثمار.
3. إجراء معالجات حيوية Bioremediation للأراضي الزراعية الملوثة بالمعادن الثقيلة.
4. فحص الترب الزراعية قبل زراعة المحاصيل، لأنها قد تكون مدخلاً للمعادن الثقيلة للسلسلة الغذائية.
5. معالجة اسباب انبعاث المعادن الثقيلة الى الهواء ومنها عمليات استخراج النفط و الوقود المستخدم في محطات توليد الكهرباء والمركبات.
6. معالجة رمي الفضلات الصناعية ومياه والمجاري في مصادر المياه التي تستخدم في ري الاراضي الزراعية.

المصادر العربية

- ابراهيم، عبد الباسط عودة (2008). نخلة التمر شجرة الحياة. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والاراضي القاحلة (اكساد)، 380 صفحة.
- بشور، عصام وانطوان الصايغ (2007). طرق تحليل التربة في المناطق الجافة وشبة الجافة. منظمة الاغذية والزراعة (FAO)، روما، 101 صفحة.
- البيضان، عباس حميد و حوراء رمضان يونس و حامد طالب السعد (2015). تقييم التلوث الجيوكيميائي لبعض العناصر الثقيلة في ترب محافظة البصرة. مجلة علوم ذي قار. 5(2): 34-41.
- حسن، وصال فخري و اقبال فخري حسن و احمد حنون جاسم (2011). اثار المتدفقات الصناعية في تلويث المياه القريبة من نقاط التصريف في محافظة البصرة/العراق. مجلة ابحاث البصرة (العلميات). 37 (1): 21-32.
- حميد، قحطان عدنان (2012). الاضرار البيئية الناتجة من تأثير عوادم السيارات في مدينة البصرة لعام 2003. مجلة جامعة ذي قار العلمية. 7(2): 1-11.
- راين، جون، جورج اسطفان و عبد الرشيد (2003). تحليل التربة والنبات دليل مختبري. المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا)، 172 صفحة.
- السهلي، عبد العزيز و سعيد السكاري و محمد الزيدي (2013). تأثير الكاديوم على الدنا (DNA) في نبات الكوسة Squash باستخدام تقنية التتابعات البينية البسيطة (ISSR). المجلة السعودية لعلوم الحياة. 20(5): 67-76.

العاني، حسين محمد يوسف (2000). فصل فلز الفناديوم واوكسيد الحديد من مخلفات حرق الوقود الثقيل. رسالة ماجستير في هندسة المعادن، الجامعة التكنولوجية- بغداد، 70 صفحة.

عزيز، نايف محسن (1998). دراسة تاثير الهيدروكربونات والعناصر النزرة في ثمار نخيل التمر *Phoenix dactylifera* L. صنف السابر وأوراقه. رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة البصرة، 67 صفحة.

غالب، حسام حسن علي (2008). اطلس نخيل التمر في دولة الامارات العربية المتحدة، المجلد الاول، مركز زايد للتراث والتاريخ، 439 صفحة.

الغزي، اسراء عامر عايد (2010). قياس بعض الملوثات المنبعثة من عوادم مولدات الطاقة الكهربائية وتراكيزها في اوراق بعض نباتات الحدائق المنزلية في مناطق مختلفة من محافظة البصرة. رسالة ماجستير، كلية العلوم-جامعة البصرة. 123 صفحة.

References

- Abass M. H. (2016). Responses of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) callus to biotic and abiotic stresses. Emir. J. Food Agric. 28(1):66-74.
- Abass M. H., Al-Utbi S. D. and Al-Samir E. A. H. (2016). Morphological and biochemical impact of different decontamination agents on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) procallus. Aust. J. Crop Sci. 10:1022-1029.
- Abass M.H., Al-Utbi S.D. and Al-Samir E.A.H. (2017). Genotoxicity assessment of high concentrations of 2,4-D, NAA and Dicamba on date palm callus (*Phoenix dactylifera* L.) using protein profile and RAPD markers. J. Genet. Eng. Biotechnol. (in press).
- Abass M.H., Hassan Z.K. and Al-Jabary K.M.A. (2015). Assessment of heavy metals pollution in soil and date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaves sampled from Basra/Iraq governorate. AES Bioflux. 7 (1):52-59.
- Abass M.H. and Morris P.C.M. (2013). The *Hordeum vulgare* signaling protein MAP kinase 4 is a regulator of biotic and abiotic stress responses. J. Plant Physiol., 170:1353-1359.
- Abdelmigid, H. M. (2010). Qualitative assessment of cadmium stress using genome template stability in *Hordeum vulgare*. Egypt. J. Genet. Cytol., 39: 291-303.
- Abdullahi M.S. (2013). Toxic effects of lead in human: an overview. GARJEST. 2(6): 157-162.
- Abollino O., Aceto M., Malandrino M., Mentasti E., Sarzanini C. and Petrella F. (2002). Heavy metals in agricultural soils from

- Piedmont, Italy. Distribution, speciation and chemometric data treatment. *Chemosphere*. 49:545–557.
- Abu-Muriefah S. S. (2015). Effects of silicon on membrane characteristics, photosynthetic pigments, antioxidative ability, and mineral element contents of Faba bean (*Vicia faba* L.) plants grown under Cd and Pb stress. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 2(6):1–17.
- Acosta J.A., Jansen B., Kalbitz K., Faz A. and Marteniz-Marteniz S. (2011). Salinity increases mobility of heavy metals in soils. *Chemosphere*. 85: 1318-1324.
- Adriano D.C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: Biochemistry, Bioavailability and Risks of Metals. Springer-Verlag: New York, NY, USA. 867 pp.
- Agadjanyan Z. S., Dugin S. F. and Dmitriev L. F. (2006). Cumene peroxide and Fe ($^{2+}$) ascorbate-induced lipid peroxidation and effect of phosphoglucose isomerase. *Mol. Cell. Biochem.* 289:49-53.
- Ahmad P., Ozturk M., Sharma S. and Gucel S. (2014). Effect of sodium carbonate-induced salinity-alkalinity on some key osmoprotectants, protein profile, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in two mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *J. plant interactions* 9(1): 460-467.
- Aksoy A. and Ozturk M. (1996). *Phoenix dactylifera* L. as a Biomonitor of heavy metal pollution in Turkey. *J. Trace and Microprobe Tech.* 14(3): 605-614.
- Alansari M., Al-Kazzaz A.A. and Khierallah H.S. (2014). Assessment of genetic distance among some Iraqi date palm cultivars (*Phoenix*

- dactylifera* L.) using randomized amplified polymorphic DNA. Iraqi J. Sci. 55:1833-1843.
- Al-Dabbas M.A., Hussain G.A. and Al-Jaberi M.H.A. (2015). The effect of dust storm and industrial area on air quality of Salah Al-Dain-Iraq. J. Basrah Research (Sciences). 41(2): 26-38.
- Aldoobie N.F. and Beltagi M.S. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants to heavy metals stress. Afr. J. of Biotechnol. 12(29): 4614-4622.
- Alegre S., Pascual J., Nagler M., Weckwerth W., Canal M.J. and Valledor L. (2016). Dataset of UV induced changes in nuclear proteome obtained by GeLC-Orbitrap/MS in *Pinus radiata* needles. Data in Brief. 7: 1477-1482.
- Al-Khashman O.A. Al-Muhtaseb A.H. and Ibrahim K. A. (2011). Date palm *Phoenix dactylifera* L. leaves as biomonitors of atmospheric metal pollution in arid and semi-arid environments. Environ. Pollut. 159:1635-1640.
- Al-Khlaifat A.L. and Al-Khashman O.A. (2007). Atmospheric heavy metal pollution in Aqaba City, Jordan, using *Phoenix dactylifera* L. leaves. Atmos. Environ. 41(39):8891-8897.
- Alloway B.J. (1995). Soil processes and the behavior of heavy metals. **In:** Alloway B. (ed.). Heavy metals in soils. Chapman and Hall. New York NY. pp: 11-37.
- Al-Qurainy F. (2010). Application of inter simple sequence repeat (ISSR marker) to detect genotoxic effect of heavy metals on *Eruca sativa* (L.). Afr. J. Biotechnol. 9(4): 467-474.

- Al-Saadi S. A. A. M., Al-Asaadi W. M. and Al-Waheeb A. N. H. (2013). The effect of some heavy metals accumulation on physiological and anatomical characteristic of some Potamogeton L. plant. J. Eco. Environ. Sci. 4(1):100-108.
- Al-Samir E. A. H., Al-Utbi S. D. and Abass M. H. (2015). Phytotoxic effect of 2, 4-D and dicamba on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) tissue cultures at initiation stage. AAB Bioflux 7(2):96-108.
- Al-Shayeb S.M. and Seaward M.R.D. (2000). Sampling standardization of date palm *Phoenix dactylifera* L. leaflets as a biomonitor of metal pollutants in arid environments. Asian J. Chem. 12(4): 977-989.
- Al-Shayeb S.M., Al-Rajhi M.A. and Seaward M.R.D. (1995). The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) as a biomonitor of lead and other elements in arid environments. Sci. Total Environ. 168:1–10.
- Al-Yahyai R. and Manickavasagan A. (2012). An overview of date palm production. **In:** Manickavasagan A., Essa M. and Sukumar E. (eds.). Dates: production, processing, food and medical values. CRC press, Boca Raton, Florida, USA, pp: 3-12.
- An C. and Mou Z. (2011). Salicylic acid and its function in plant immunity. J. Integr. Plant Biol. 53 412–428.
- Anantharaju P.G., Gowda P.C., Vimalambike M.G. and Madhunapantula. (2016). An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. Nutrition J. 15:99-115.
- Anju M., Sanskrit G., Suresh B.S. and Nidhi S. (2014). *In vitro* accumulation of cadmium chloride in papaya seedling and its impact on plant protein. Int. J. of Ayurveda Pharma Res. 2(3): 54-62.

- Anjum S.A., Ashraf U., Khan I., Tanveer M., Saleem M.F. and Wang L. (2016). Aluminum and Chromium toxicity in Maize: implications for agronomic attributes, net photosynthesis, physio-biochemical oscillations, and metal accumulation in different plant parts. *Water Air Soil Pollut.* 227:326-340.
- Appenroth K. J., Krech K., Keresztes A., Fischer W. and Koloczek H. (2010). Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation. *Chemosphere.* 87:216-23.
- Appenroth K.J. (2010). What are heavy metals in plant sciences? *Acta Physiol. Plant.* 32: 615-619.
- Arici S.E., Kafkas E. and Kaymak S. (2014). Phenolic compounds of apple cultivars resistant or susceptible to *Venturia inaequalis*. *Pharm Biol.* 52 (7): 904–908.
- Arnon D.I.(1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24:1-15.
- Arora A., Byrem T. M., Nair M. G. and Strasburg G. M. (2000). Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids. *Arch Biochem Biophys.* 373:102–109.
- Arora A., Nair M.G. and Strasburg G.M. (1998). Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in liposomal system. *Free Radic. Bio. Med.* 24:1355-1363.
- Asare-Boamah N. K., Hofstra G., Fletcher R. A. and Dumbroff E. B. (1986). Triadimefon protects bean plants from water stress through its effects on abscisic acid. *Plant Cell Physiol.* 27:383-390.

-
- Asgher M., Khan N. A., Khan M. I. R., Fatma M. and Masood A. (2014). Ethylene production is associated with alleviation of cadmium-induced oxidative stress by sulfur in mustard types differing in ethylene sensitivity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 106:54–61.
- Ashworth D.J. and Alloway B.J. (2004). Soil mobility of sewage sludge derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environ. Pollut.* 127: 137–144.
- Atienzar F. A., Cordi B., Donkin M. B., Evenden A. J., Jha A. N. and Depledge M. H. (2000). Comparison of ultraviolet-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA with chlorophyll fluorescence and growth in a marine macroalgae, *Palmaria palmate*. *Aquatic Toxicology*, 50: 1-12.
- Atienzar F.A., Conradi M., Evenden A.J., Jha A.N. and Depledge M.H. (1999). Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: Comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo [a] pyrene. *Environ. Toxicol. Chem.* 18(10): 2275-2285.
- Averill-Bates D.A. and Przybytkowski E. (1994). The role of glucose in cellular defences against cytotoxicity of hydrogen peroxide in Chinese hamster ovary cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 312:52–58.
- Azzez Z.A., Al-Sallihy A.A. and Rasheed K.A. (2016). Effects of heavy metals emission from Al-Dura power station on the soil surrounding. *The Global J. of Science Frontier Research (GJSFR)*. 16(2): 1-6.
- Baby S., Singh N. A., Shrivastava P., Nath S. R., Kumar S. S., Singh D. and Vivek K. (2008). Impact of dust emission on plant vegetation
-

- of vicinity of cement plant. Environ. Engin. Manag. J. 7(1): 31-35.
- Baek S., Han T., Ahn S., Kang H., Cho M. R., Lee S. and Im K. (2012). Effects of heavy metals on plant growths and pigment contents in *Arabidopsis thaliana*. Plant Pathol J. 28:446-452.
- Bafeel S.O. (2010). Physiological and Biochemical Aspects of Tolerance in *Lepidium sativum* (cress) to Lead Toxicity. Catrina J. 5 (1):1-7.
- Bajpai R. and Upreti D.K. (2012). Accumulation and toxic effect of arsenic and other heavy metals in a contaminated area of West Bengal, India, in the lichen *Pyxine cocolos* (Sw.) Nyl. Ecotoxicol. Environ. Saf. 83:63-70.
- Balasoorya B.I.W.K., Samson R., Mbikwa F., Vitharana U.W.A., Boeckx P. and Van Meirvenne M. (2009). Biomonitoring of urban habitat by anatomical and chemical leaf characteristics. Environ. Exp. Bot. 65: 386-394.
- Bandehagh A. (2013). Comparative study of some characteristics in leaves and roots of two Canola Genotypes under Lead Stress. J. Plant Physiol. Breed. 1(1): 23-33.
- Bang J. and Hesterberg D. (2004). Dissolution of trace element contaminants from two coastal plain soils as affected by pH. J. Environ. Qual. 33:891-901.
- Barancikova C. and Makovnikova J. (2003). The influence of humic acid quality on the sorption and mobility of heavy metals. Plant Soil Environ. 49(12): 565-571.
- Barceloux D.G. (1999). Cobalt. J. Clinical Toxicology. 37(2): 201-216.

-
- Bates L. S., Waldren R. P. and Teare I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *J. Plant and Soil*. 39:205-207.
- Bavei V., Shiran B., Khodambashi M. and Ranjbar A. (2011). Protein electrophoretic profiles and physiochemical indicators of salinity tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) *Afr. J. Biotechnol.* 10(14):2683-2697.
- Baycu G., Tolunay D., Ozden H. and Gunebakans S. (2006). Ecophysiological and seasonal variations in Cd, Pb, Zn, and Ni concentrations in the leaves of urban deciduous trees in Istanbul. *Environ. Pollut.* 143(3): 545-554.
- Bealey W. J., Long S., Spurgeon D. J. Leith I. and Cape J. N. (2008). Review and implementation study of biomonitoring for assessment of air quality outcomes. Bristol, Environment Agency, 170pp. (Science Report - SC030175/SR2).
- Berlizov A.N., Blum O.B., Filby R.H. Malyuk I.A. and Tryshyn V.V. (2007). Testing applicability of black poplar (*Populus nigra* L.) bark to heavy metal air pollution monitoring in urban and industrial regions. *Sci.Total Environ.*372: 693-706.
- Bhardwaj P., Chaturvedi A.K. and Prasad P. (2009). Effect of Enhanced Lead and Cadmium in soil on Physiological and Biochemical attributes of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Nat. Sci.* 7(8): 63-75.
- Bhatia S.C. (2009). Environmental pollution and control in chemical process industries. 2nd edition, Khanna Publishers, New Delhi, pp. 1133
-

- Bhatt I. and Tripathi B.N. (2011) Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. *Biotechnol. Adv.* 29:850–859.
- Bhattacharjee S. (2005). Reactive oxygen species and oxidative burst: roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Curr. Sci.* 89:1113–1121.
- Blasco B., Graham N.S. and Broadley M.R. (2015). Antioxidant response and carboxylate metabolism in *Brassica rapa* exposed to different external Zn, Ca, and MG supply. *J. Plant Physiol.* 176:16–24.
- Bonet A., Lelu-Walter M., Faugeron C., Gloaguen V. and Saladin G. (2016). Physiological responses of the hybrid larch (*Larix × eurolepis* Henry) to cadmium exposure and distribution of cadmium in plantlets. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23(9): 8617-8626.
- Borisova M.M., Kozuleva M.A., Rudenko N.N., Naydov I.A., Klenina I.B, and Ivanov B.N. (2012). Photosynthetic electron flow to oxygen and diffusion of hydrogen peroxide through the chloroplast envelope via aquaporins. *Biochim. Biophys. Acta.* 1817(8):1314-1321.
- Boudreaux K.A. (2012). Carbohydrates. **In:** Searger S.L. and Slabaugh M.R. (eds). *Organic and biochemistry for today*, 8th Edi. Cengage Learning, pp:200-238.
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 38:248-252.

- Candan N. and Tarhan L. (2003). Relationship among chlorophyll-carotenoid content, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels by Mg^{2+} deficiency in the *Mentha pulegium* leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 41:35-40.
- Carol R.J. and Dolan L. (2006). The role of reactive oxygen species in cell growth: lessons from root hairs. *J. Exp. Bot.* 57(8): 1829-1834.
- Carreras H.A. and Pignata M.L. (2002). Biomonitoring of heavy metals and air quality in Cordoba city, Argentina, using transplanted lichens. *Environ. Pollut.* 117(1): 77-87.
- Cenkci S., Cigerci I. H., Yildiz M., Ozay C., Bozdogan A. and Terzi H. (2010). Lead contamination reduces chlorophyll biosynthesis and genomic template stability in *Brassica rapa* L. *Environ. Exp. Bot.* 67(3):467-473.
- Chaffei C., Pageau K., Suzuki A., Gouia H., Ghorbel M. H. and Masclaux-Daubresse C. (2004). Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. *Plant Cell Physiol.* 45:1681–1693.
- Chen F., Wang F., Wu F., Mao W., Zhang G. and Zhou M. (2010). Modulation of exogenous glutathione in antioxidant defense system against Cd stress in the two barley genotypes differing in Cd tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 48:663–672.
- Chen F., Wang S., Mou S., Azimuddin I., Zhang D., Pan X., Al-Misned F. A. and Mortuza M.G. (2015). Physiological responses and accumulation of heavy metals and arsenic of *Medicago sativa* L. growing on acidic copper mine tailings in arid lands. *J. Geochem. Explor.* 157:27–35.

- Chen J., Tan M., Li Y., Zhang Y., Lu W., Tong Y., Zhang G. and Li Y. (2005). A lead isotope record of Shanghai atmospheric lead emissions in total suspended particles during the period of phasing out of leaded gasoline. *Atmos. Environ.* 39: 1245–1253.
- Chen W., Feng L., Huang Z. and Su H. (2012). Hispidin produced from *Phellinus linteus* protects against peroxy nitrite-mediated DNA damage and hydroxyl radical generation. *Chem. Bio. Interact.* 199: 137–142.
- Cheng H., Zhou T., Li Q., Lu L. and Lin C. (2014). Anthropogenic Chromium Emissions in China from 1990 to 2009. *PLoS ONE.* 9(2): e87753.
- Chibuikwe G. U. and Obiora S. C. (2014). Heavy metal polluted soils: Effect on plants and bioremediation methods. *Appl. Environ. Soil Sci.* vol. 2014, Article ID 752708, pp. 12.
- Clemens S., Palmgrn M. G. and Kramer U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci.* 7:309-15.
- Collin V. C., Eymery F., Genty B., Rey P. and Havaux M. (2008). Vitamin E is essential for the tolerance of *Arabidopsis thaliana* to metal-induced oxidative stress. *Plant Cell Environ.* 31:244–257.
- Cooper G.M. and Hausman R.E. (2007). *The cell: a molecular approach.* 4th ed. ASM Press, Sinauer Associates. 765 p.
- Corpas F.J., Leterrier M., Valderrama R., Airaki M., Chaki M., Palma J.M. and Barroso J.B. (2011). Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress. *Plant Sci.* 181:604–611.

-
- Cozzolino V., Pigna M., Di Meo V., Caporale A. G. and Violante A. (2010). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus supply on the growth of *Lactuca sativa* L. and arsenic and phosphorus availability in an arsenic polluted soil under nonsterile conditions. *Appl. Soil Ecol.* 45:262–268.
- Cruz J.A., Avenson T.J., Kanazawa A., Tahizawa K., Edwards G.E. and Kramer D.M. (2005). Plasticity in light reactions of photosynthesis for energy production and photoprotection. *J. Exp. Bot.* 56(411): 395-406.
- Cuypers A., Smeets K., Ruytinx J., Opdenakker K., Keunen E., Remans T., Horemans N., Vanhoudt N., Van Sanden S., Van Belleghem F., Yvese G., Jana C. and Jacoa V. (2011). The cellular redox state as a modulator in cadmium and copper responses in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *J. Plant Physiol.* 168:309–316.
- Dai J., Becquer T., Rouiller J.H., Reversat G., Reversat F.B. and Lavelle P. (2004). Influence of heavy metals on C and N mineralization and microbial biomass in Zn, Pb, Cu, and Cd-contaminated soils. *Applied Soil Ecology* 25(2): 99-109.
- Dalcorso, G., Manara A. and Furini A. (2013). An overview of heavy metals challenge in plants: from root to shoot. *Metallomics.* 5(9):1117-1132.
- Dalman O., Demirak A. and Balci A. (2006). Determination of heavy metals (Cd, Pb) and trace element (Cu, Zn) in sediments and fish of the Southeastern Aegean sea (Turkey) by atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 95: 157-162.
-

-
- Dar S. H., Agnihotri R. K., Sharma R. and Ahmad S. (2010). Nickel and lead induced variations in pigment composition of *Triticum aestivum* L. Res. J. Agri. Sci. 1:128-131.
- Davidson C.M. (2013). Methods for the determination of heavy metals and metalloids in soil. **In:** Alloway B.J. (Eds.). Heavy metals in soil. Springer, Netherlands. pp: 97-140.
- Dawood M. G., Taie H. A. A., Nassar R. M. A., Abdelhamid M. T. and Schmidhalter U. (2014). The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under sea water stress. S Afr. J. Bot. 93:54–63.
- Del Rio D., Borges G. and Crozier A. (2010). Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects. Br. J. Nutr. 104: 67–90.
- Dezhban A., Shirvany A., Attarod P., Delshad M., Matinizadeh M. and Khoshnevis M. (2015). Cadmium and lead effects on chlorophyll fluorescence, chlorophyll pigments and proline of *Robinia pseudoacacia*. J. For. Res. 26(2):323-329.
- Diaz J., Bernal A., Pomar F. and Merino F. (2001). Induction of shikimate dehydrogenase and peroxidase in pepper (*Capsicum annuum* L.) seedlings in response to copper stress and its relation to lignification. Plant Sci. 161 (1): 179-188.
- Dikilitas M., Kocyigit A. and ve Yigit, F. (2009). A molecular based fast method to determine the extent of DNA damages in higher plants and fungi. Afr. J. Biotechnol. 8(14): 3118-3127.
-

-
- Dinakar N., Nagajyothi P.C., Suresh S., Udaykiram Y. and Damodharam T. (2008). Phytotoxicity of cadmium on protein, proline and antioxidant enzyme activities in growing *Arachis hypogaea* L. seedlings. *J. Environ. Sci.* 20: 196-206.
- Divrikli U. Mendil D. Tuzen M. Soylak M. Elci L. (2006). Trace Metal Pollution From Traffic in Denizli-Turkey During Dry Season. *Biomed. Environ. Sci.* 19: 254-261.
- Djingova, R. and Kuleff I. (2000). Instrumental techniques for trace analysis. **In:** Vernet, J.P (ed). Trace elements: Their distribution and effects in the environment, Elsevier Science Ltd., United Kingdom. pp. 146.
- Doganlar Z. B. (2013). Metal accumulation and physiological responses induced by copper and cadmium in *Lemna gibba*, *L. minor* and *Spirodela polyrhiza*. *Chem. Speciation Bioavailability* 25(2):79-88.
- Doganlar Z.B. and Atmaca M. (2011). Influence of airborne pollution on Cd, Zn, Pb, Cu, and Al accumulation and physiological parameters of plant leaves in Antakya (Turkey). *Water Air soil pollut.* 214(1): 509-523.
- Doganlar Z.B., Doganlar O., Erdogan S. and Onal Y. (2012). Heavy metal pollution and physiological changes in the leaves of some shrub, palm and tree species in urban areas of Adana, Turkey. *Chem. Speciation Bioavailability*, 24(2): 65-78.
- Doyle J.J. and Doyle J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 12: 13-15.
-

-
- Duffus J.H. (2002). “Heavy metal” - a meaningless term? Pure Appl. Chem. 74:793–807.
- Duquesnoy I., Goupil P., Nadaud I., Branlard G., Piquet-Pissaloux A. and Ledoigt G. (2009). Identification of *Agrostis tenuis* leaf proteins in response to As (V) and As (III) induced stress using a proteomics approach. Plant Sci. 176:206–213.
- Durowoju O.S., Odiyo J.O. and Ekosse G.E. (2016). Variations of heavy metals from geothermal spring to surrounding soil and *Mangifera Indica*–Siloam Village, Limpopo Province. Sustainability 8(1):1-12.
- Duruibe J.O., Ogbegu M.O.C. and Egwurugwu J.N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effect. Int. J. phys. sci. 2(5): 112-118.
- Efe S.I. (2010). Spatial variation in acid and some heavy metal composition of rainwater harvesting in the oil-producing region of Nigeria. Nat. Hazards. 55: 307-319.
- Eldahshan O.A. and Singab A.B. (2013). Carotenoids. J. Pharmacogn. Phytochem. 2(1): 225-234.
- Elloumi N., Zouari M., Chaari C., Jomni C., Ben Rouina B. and Ben Abdallah F. (2014). Ecophysiological responses of almond (*Prunus dulcis*) seedlings to cadmium stress. Biologia J. 69(5):604–609.
- Emamverdian A., Ding Y., Mokhberdoran F. and Xie Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. Sci. World J. 2015, Article ID 756120, 18 pages.
-

- European Union (2006). Commission regulator (EC) No.1881/2006 of 19th December, 2006 setting maximum levels of certain contaminants in foodstuffs. Off. J. Eur. Union L., 364: 4-24.
- Feigl G., Kumar D., Lehotai N., Tugyi N., Molnar A., Ordog A., Szepesi A., Gemes K., Laskay G. and Erdei L. (2013). Physiological and morphological responses of the root system of Indian mustard *Brassica juncea* L. Czern. and rapeseed *Brassica napus* L. to copper stress. Ecotoxicol. Environ. Saf. 94:179-189.
- Fodor F. (2002) Physiological responses of vascular plants to heavy metals. **In:** Prasad M.N.V. and Strzalka K. (Eds) Physiology and biochemistry of metal toxicity and tolerance in plants. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht. pp: 149–177.
- Forstner U. (1980). Trace metals analysis of polluted sediment. Part 1. Assessment of sources and intensities. Environ. Technol. Lett.1: 494-505.
- Gallego S. M., Pena L. B., Barcia R. A., Azpilicueta C. E., Iannone M. F. and Rosales E. P. (2012). Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: insight into regulatory mechanisms. Environ. Exp. Bot. 83, 33–46.
- Galston A.W. (1992). Photosynthesis as a basis for life support on earth and space. Bioscience. 42(7): 490-493.
- Gastaldo J., Viau M., Bencokova Z., Joubert A., Charvet A., Balosso J. and Foray M. (2007). Lead contamination results in late and slowly repairable DNA double-strand breaks and impacts upon the ATM-dependent signaling pathways, Toxicol. Lett. 173: 201-214.

-
- Gaweda M. (2007). Changes in the content of some carbohydrates in vegetables cumulating lead. *Polish J. Environ. Stud.* 16(1):57-62.
- Ghasemzadeh A. and Ghasemzadeh N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *J. Med. Plants Res.* 5(31): 6697-6703.
- Gichner T., Patkova Z., Szakova J. and Demnerova K. (2006). Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65:420–426.
- Gill R.A., Zang L., Ali B., Farooq M.A., Cui P., Yang S., Ali S. and Zhou W. (2015). Chromium-induced physio-chemical and ultrastructural changes in four cultivars of *Brassica napus* L. *Chemosphere.* 120:154–164.
- Gill S.S. and Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48:909–930.
- Gomes M. P., Le Manach S. G., Maccario S., Labrecque M., Lucotte M. and Juneau P. (2015). Differential effects of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) on photosynthesis and chlorophyll metabolism in willow plant. *Pestic. Biochem. Physiol.* 130:65-70.
- Gomes, M.P., Marques T.C., Nogueira M.O., Castro E.M. and Soares A.M. (2011). Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Sci. Agri.* 68 (5): 566-573.
-

-
- Gonnelli C. and Renella G. (2013). Chromium and Nickel. **In:** Alloway B. (ed). Heavy metals in soils. Springer Netherlands, pp: 313- 334.
- Gostin I. (2010). Structural change in silver fir needles in response to air pollution. *Analel Univ. Oradea, fascicula. Boil.* 17(2):300-305.
- Gould K.S., Mckelvei J. and Markham K.R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury, *Plant Cell Environ.* 25: 1261-1269.
- Govindjee G. and Coleman W.J. (1990). How plants make oxygen. *Sci. Am.*262: 50:58.
- Gowayed, S.M.H. and Almaghrabi O.A. (2013). Effect of copper and cadmium on germination and anatomical structure of leaf and root in Maize *Zea mays* L. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 7(1):548-555.
- Guan-fu F. (2011). Changes of oxidative stress and soluble sugar in anthers involve in rice pollen abortion under drought stress. *Agri. Sci. China* 10:1016–1025.
- Gulsen O., Eickhoff T., Heng-Moss T., Shearman R., Baxendale F., Sarath G. and Lee D.(2010). Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm-season turf grasses challenged by *Blissus occiduus*. *Arthropod Plant Interact.* 4:45-55.
- Guo B., Liu C., Ding N., Fu Q., Lin Y., Li h. and Li N. (2016). Silicon alleviates cadmium toxicity in two cypress varieties by strengthening the exodermis tissues and stimulating phenolic exudation of roots. *J. Plant Growth Regul.* 35:420-429.
-

- Guo Y., Feng H., Chen C., Jia C., Xiong F. and Lu L. (2013). Heavy metal concentrations in soil and agriculture products near an industrial district. *Polish J. Environ. Stud.* 22(5): 1357-1362.
- Gupta D. K., Huang H. G., Nicoloso F. T., Schetinger M. R., Farias J. G., Li T. Q., Razafindrabe B. H., Aryal N. and Inouhe M. (2013). Effect of Hg, As and Pb on biomass production, photosynthetic rate, nutrients uptake and phytochelatin induction in *Pfaffia glomerata*. *Ecotoxicology* 22(9):1403–1412.
- Gupta M. and Sarin N.B. (2009). Heavy metal induced DNA changes in a quatic macrophytes: RAPD analysis and identification of SCAR marker .*J. Environ. Sci.* 21 (5), 686-690.
- Gupta S., Satpati S., Nayek S. and Garai D. (2010). Effect of wastewater irrigation on vegetables in relation to bioaccumulation of heavy metals and biochemical changes. *Environ. Monit. Assess.* 165(1-4): 169-177.
- Gupta V.K. and Sharma S.K. (2006). Plants as natural antioxidants. *Natural Product Radiance.* 5(4): 326-334.
- Hale K. L., McGrath S. P., Lombi S. E., Stack S. M., Terry N., Pickering I. J., George G. N. and Pilon-Smits E. A. H. (2001). Molybdenum sequestration in Brassica species. A role for anthocyanins? *Plant Physiol.* 126:1391–1402.
- Halliwell B. and Gutteridge J. M. C. (1989). *Free radicals in biology and medicine.* Oxford University Press, Oxford, UK, 2nd edition. 543 p.
- Hamoud M.A., El-Shanshory A.R., Al-Sodany Y.M. and El-Karim S.G. (2005). Genetic diversity among *Ipomoea carnea* jacq

- .Populations from different habitats types in Nile-Delta region of Egypt. Egypt. J. Exp. Bot. 1:1-10.
- Hare P., Cress W. A. and Staden V. J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environ. 21:535-553.
- Harmens H., Den Hartog P. R., Ten Bookum W. M. and Verkleij J. A. C. (1993). Increased zinc tolerance in *Silene vulgaris* (Moench.) Garcke is not due to increased production of phytochelatins. Plant Physiol. 103:1305–1309.
- Hatje V., Payne T.E., Hill D.M., McOrist G., Birch G.F. and Szymczak R. (2003). Kinetics of trace element uptake and release by particles in estuarine waters: effects of pH, salinity, and particle loading. Environ. Int. 29, 619–629.
- He J., Yue X., Wang R. and Zhang Y. (2011). Ethylene mediates UV-B induced stomatal closure via peroxidase-dependent hydrogen peroxide synthesis in *Vicia faba* L. J. Exp. Bot. 62 : 2657-2666.
- Heath R. L. and Packer L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem. Biophys. 125:189–198.
- Hegedus A., Erdei S. and Horvath G. (2001). Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. Plant Sci. 16:1085-1093.
- Heiss S., Wachter A., Bogs J., Cobbett C. and Rausch T. (2003). Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure. J. Exp. Bot. 54:1833-1839.

- Hernandez-Rodriguez P., Diaz C., Dalmau E. and Quintero G. (2011). A comparison between Polymerase Chain Reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *J. Microbiol. Methods*, 84: 1-7.
- Hernberg S. (2000). Lead poisoning in a historical perspective. *Am. J. Ind. Med.*, 38(3):244-254.
- Hopkin S.P. (1989). *Ecophysiology of Metals in Terrestrial Invertebrates*. Springer Netherlands, pp. 366.
- Hopkins W.G. and Huner N.P.A. (2008). *Introduction to plant physiology*. 4th Ed. John Wiley and Sons Inc. USA. 523 p.
- Hossain Z. and Komatsu S. (2013). Contribution of proteomic studies towards understanding plant heavy metal stress response. *Front. Plant Sci.* 3, article: 310.
- Howladar S. M. (2014). A novel *Moringa oleifera* leaf extract can mitigate the stress effects of salinity and cadmium in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 100(1):69–75.
- Hsu Y. T. and Kao C. H. (2003). Changes in protein and amino acid contents in two cultivars of rice seedlings with different apparent tolerance to cadmium. *Plant Growth Regul.* 40:147–155.
- <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.12.003>.
- Huang S.S., Liao Q.L., Hua M., Wu X.M., Bi K.S., Yan C.Y., Chen B. and Zhang X.Y. (2007). Survey of heavy metal pollution and assessment of agricultural soil in Yangzhong district, Jiangsu Province, China. *Chemosphere.* 67: 2148–2155.
- Hummel M., Rahmani F., Smeekens S. and Hanson J. (2009). Sucrose mediated translational control. *Ann. Bot.* 104:1–7.

-
- Iqbal M., Bakht J., Shafi M. and Ullah R. (2012). Effect of heavy metals and EDTA application on heavy metals uptake and gene expression in different *Brassica* species. *Afr. J. Biotech.* 11(30): 7649-7658.
- Ismail O.S. and Umukoro G.E. (2012). Global impact of gas flaring. *Energy and Power Engineering.* 4:290-302.
- Izbicki J.A., Ball J.W., Bullen T.D. and Satley S.J. (2008). Chromium, Chromium isotopes and selected trace elements, western Mojave Desert, USA, *Appl. Chem.*, 23:1325-1352.
- Jada C.D. and Fulekar M.H. (2009). Phytoremediation of heavy metals; recent techniques. *Afr. J. Biotechnol.* 8(6): 921-928.
- Jamers A., Lenjou M., Deraedt P., Bockstaele D. V., Blust R. and Coen W. (2009). Flow cytometric analysis of the cadmium-exposed green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlorophyceae*). *Eur. J. Phycol.* 44:541–550.
- Janas K. M., Amarowicz R., Zielinska-Tomaszewska J., Kosinska A. and Posmyk M. M. (2009). Induction of phenolic compounds in two dark-grown lentil cultivars with different tolerance to copper ions. *Acta Physiol. Plant* 31:587–595.
- Jiang Z. F., Huang S. Z., Han Y. L., Zhao J. Z. and Fu J. J. (2012). Physiological response of Cu and Cu mine tailing remediation of *Paulownia fortunei* (Seem) Hemsl. *Ecotoxicology* 21:759–767.
- Johnson D.V. (2011). Introduction: Date palm biotechnology from theory to practice. **In:** Jain S.S., Al-Khayri J.M. and Johnson D.V. (Eds.). *Date palm biotechnology*, Springer, Dordrecht. pp. 1-14.
-

- Jones G.C., Corin K.C., van Hille R.P. and Harrison S.T.L. (2011). The generation of toxic reactive oxygen species (ROS) from mechanically activated sulphide concentrates and its effect on thermophilic bioleaching. *Miner. Eng.* 24:1198–1208.
- Jones J.B. (1984). Plants. **In:** Williams S. (ed.). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Arlington, Virginia 22209, USA. pp 38–64.
- Kadkhodaie A., Kelich S. and Baghboni A. (2012). Effect of salinity levels on heavy metals (Cd, Pb and Ni) absorption by Sunflower and Sudangrass plants. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci.* 1(12):47-53.
- Kandziora-Ciupa M., Ciepał R., Nadgorksa-Socha A. and Barczyk G. (2013). A comparative study of heavy metal accumulation and antioxidant responses in *Vaccinium myrtillus* L. leaves in polluted and non-polluted areas. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20(7):4920-4932.
- Kandziora-Ciupa M., Nadgorska-Socha A., Barczyk G. (2016). Accumulation of heavy metals and antioxidant responses in *Pinus sylvestris* L. needles in polluted and non-polluted sites. *Ecotoxicology.* 25(5): 970-981.
- Karim K., Chokri B., Amel H., Wafa H., Richid H. and Nouredine D. (2010). Genetic diversity of Tunisian date palm germplasm using ISSR markers. *Int. J. Bot.* 6: 182-186.
- Karimi L.N., Khanahmadi M. and Moradi B. (2012). Accumulation and Phytotoxicity of Lead in *Cynara scolymus*. *Ind. J. Sci. Technol.* 5:3634-3641.

-
- Khan M. I. R., Nazir F., Asgher M., Per T. S. and Khan N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *J. Plant Physiol.* 173:9–18.
- Khan S., Cao Q., Zheng Y.M., Huang Y.Z. and Zhu Y.G. (2008). Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environ. Pollut.* 152 (3): 686–692.
- Khoo H.H. and Tan R.B.H. (2006). Environmental impact evaluation of conventional fossil fuel production (oil and natural gas) and enhanced resource recovery with potential CO₂ sequestration. *Energy Fuels* 20 (5): 1914–1924.
- Kim Y. H. and Yoo Y. Z. (1996). Peroxidase production from carrot hairy root cell culture. *Enzyme Microb. Technol.* 18:531-536.
- Kochian L.V. (1991). Mechanisms of micronutrient uptake and translocation in plants. **In:** Mortvedt J. J. (ed). *Micronutrients in agriculture*. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 251–270.
- Korte N.E., Skopp J. and Fuller W.H. (1976). Trace element movement in soils: influence of soil physical and chemical properties. *Soil Sci.* 122:350-359.
- Kovacevic G., Kastori R. and Merkulov I.J. (1999). Dry matter and leaf structure in young wheat plants as affected by cadmium, lead and nickel. *Biol. Plant.* 42: 119-123.

-
- Kovalchuk I., Titov V., Hohn B. and Kovalchuk O. (2005). Transcriptome profiling reveals similarities and differences in plant responses to cadmium and lead. *Mutat. Res.* 570:149–161.
- Kramer U., Cotter-Howells J. D., Charnock J. M., Baker A. J. M. and Smith J. A. C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature* 379:635–638.
- Kranner I., Roach T., Beckett R.P., Whitaker C. and Minibayeva F.V. (2010). Extracellular production of reactive oxygen species during seed germination and early seedling growth in *Pisum sativum*. *J. Plant Physiol.* 167:805–811.
- Krupa Z., Baranowska M. and Orzot D. (1996). Can anthocyanins be considered as heavy metal indicator in higher plants? *Acta Physiol. Plant.* 18:147-151.
- Kumar N., Pal M., Singh A., Sairam R. K. and Srivastava G. C. (2010). Exogenous proline alleviates oxidative stress and increase vase life in rose (*Rosa hybrida* L ‘Grand Gala’). *Sci. Hortic.* 127: 79-85.
- Kutchan T. and Dixon R.A. (2005). Secondary metabolism: nature’s chemical reservoir under deconvolution. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8:227–229.
- Laemmli U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680-685.
- Lattanzio V. (2013). Phenolic compound: Introduction. **In:** Ramawat K.G. and Merillon J.M. (eds). *Natural products*. Springer verlag Berlin Heidelberg. pp. 1543-1580.
-

-
- Lavid N., Schwartz A., Yarden O. and Tel-Or E. (2001). The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta*. 212 (3):323-331.
- Lee J., Son Y., Pratheeshkumar P. and Shi X. (2012). Oxidative stress and metal carcinogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* 53(4): 742–757.
- Lee Y. P. and Takahashani T. (1966). An improved colorimetric determination of amino acids with the use of ninhydrine. *Anal. Biochem.* 14:71-77.
- Lesage E., Meers E., Vervaeke P., Lamsal S., Hopgood M., Tack F. M. and Verloo M. G. (2005). Enhanced phytoextraction: II. Effect of EDTA and citric acid on heavy metal uptake by *Helianthus annuus* from a calcareous soil. *Int. J. Phytoremediation* 7:143-152.
- Lesk A.M. (2010). *Introduction to Protein Science: Architecture, Function and Genomics*. Oxford University Press. 310 p.
- Li C., Yan C., Liu Y., Zhang T., Wan S. and Shan S. (2015). Phytotoxicity of cadmium on peroxidation, Superoxide dismutase, Catalase and Peroxidase activity in growing Peanut *Arachis hypogaea* L. *Afr. J. Biotechnol.* 14(13): 1151-1157.
- Lin C.C. and Kao C.H. (2001). Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings. *Plant and Soil*, 230(1): 135-143.
- Lindsay W.L. and Norvell W.A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42: 421-428.
-

-
- Lison D. (2005). Speciation of Cobalt. **In:** Cornelis R., Caruso J., Crews H. and Heumann K.(eds). Handbook of elemental speciation II- species in Environment, Food, Medicine and Occupational Health, John Wiley and sons, USA, pp:158-173.
- Liu Y., Li M., Han C., Wu F., and Tu B. and Yang P. (2013). Comparative proteomic analysis of rice shoots exposed to high arsenate. *J. Integr. Plant Biol.* 55:965-978.
- Lukovic, J., Merkulov L.J., Pajevic S., Zoric L., Nikolic N. and Boresiv M. (2012). Quantitative assessment of effect of cadmium on the histological structure of Poplar and Willow leaves. *Water Air Soil Pollut.* 223:2979-2993.
- Lutts S., Kinet J. M. and Bouharmont J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice *Oryza sativa* L. cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78:389–398.
- MacFarlane G.R. and Burchett M.D. (2001). Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Mar. Pollut. Bull.* 42(3): 233-240.
- Mahfouz H. and Rayan W.A. (2016). Assessment of lead stress using genome template stability in *Hordeum Vulgare* . *Egypt. J. Genet. Cytol.* 45:297-321.
- Maksymiec W. and Krupa Z. (2006). The effects of short-term exposition to Cd, excess Cu ions and jasmonate on oxidative stress appearing in *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Exp. Bot.* 57:187–194.
-

-
- Malar S., Manikandan R., Favas P.J.C., Sahi S.V. and Venkatachalam P. (2014). Effect of lead on phytotoxicity, growth, biochemical alteration and its role on genomic template stability in *Sesbania grandiflora*: a potential plant for phytoremediation. *Ecotox. Environ. Saf.* 108: 249-257.
- Manan F.A., Mamat D.D., Samad A.A., Ong Y.S., Ooh K.F. and Chai T.T. (2015). Heavy metal accumulation and antioxidant properties of *Nephrolepis biserrata* growing in heavy metal-contaminated soil. *Global NEST J.* 17(3): 544-554.
- Marschner H.1. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press, London. 889 p.
- McBride M.B. (2002): Cadmium uptake by crops estimated from soil total Cd and pH. *Soil Sci.* 67(1): 62-67.
- McDonald M., Mile I. and Scalbert A. (1996). Precipitation of metal ions by plant polyphenols: optimal condition and origin of precipitation. *J. Agric. Food Chem.* 44:599-606.
- McGrath S.P., Zhao F.J. and Lombi E. (2001). Plant and rhizosphere process involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant Soil.* 232: 207-214.
- McLean E.O. (1982). Soil pH and lime requirement. **In:** Page A.L. (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 2 -Agronomy.* Am. Soc. Agron. Madison, 101.USA. pp: 199-223.
- Megateli S., Semsari S. and Couderchet M. (2009). Toxicity and removal of heavy metals cadmium, copper and zinc by *Lema gibba*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 72(6):1774-1780.
-

- Michalak A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish J. Environ. Stud.* 15(4):523–530.
- Miller W.P. and Miller D.M. (1987). A micro-pipette method for soil mechanical analysis, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 18 (1): 1-15.
- Mitsios K., Golia E.E. and Tsadilas C.D. (2005). Heavy metals concentrations in soil and irrigation waters in Thessaly region, Central Greece. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 36:487-501.
- Mobin M. and Khan N.A. (2007). Photosynthetic activity, pigment composition and antioxidative response of two mustard (*Brassica juncea*) cultivars differing in photosynthetic capacity subjected to cadmium stress. *J. Plant Physiol.* 164:601–610
- Modaihsh A.S., Al-Swailem M.S. and Mahjoub M.O. (2004). Heavy metals content of commercial inorganic fertilizers used in the kingdom of Saudi Arabia. *Agric. Mar. Sci.* 9(1):21–25.
- Mohan M.M., Narayanan S.L. and S.M. Ibrahim. (2000). Chlorophyll stability index (CSI): Its impact on salt tolerance in rice. *International Rice Research Notes* 25:38–40.
- Moore R.C., Clark W.D. and Vodopich D.S. (2003). *Botany*. 2th Ed. McGraw Hill Company, U.S.A. 919 p.
- Moran J.F., Klucas R.V., Grayer R.J., Abian J. and Becana M. (1997). Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: prooxidant and antioxidant properties. *Free Radic. Biol. Med.* 22(5)861-870.
- Moreira I.N., Mourato M.P., Reis R. and Martins L.L. (2015). Oxidative Stress Induced by Cadmium and Copper in *Brassica rapa*

- Leaves: Indicators of Stress, Oxidative Damage, and Antioxidant Mechanisms. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 46(6): 2475-2489.
- Morrow H. (2010). Cadmium and cadmium alloys. **In:** Krik-othmer (ed). *Encyclopedia of chemical technology.* John Wiley and sons, USA. pp: 1-36.
- Morselli L., Brusori B., Passarini F., Bernardi E., Francaviglia R. and Gatelata L. (2004). Heavy Metal Monitoring at a Mediterranean an Natural Ecosystem of Central Italy Trends in Different Environmental Matrixes. *Environ. Int.* 30(2): 173-181.
- Moya J.L., Ros R. and Picazo L. (1995). Heavy Metal-Hormone interactions in rice plants: Effects on growth, net photosynthesis, and carbohydrate distribution. *J. Plant Growth Regul.* 14:61-67.
- Mulgrew A. and Williams P. (2000). Biomonitoring of air quality using plants. Air Hygiene report No. 10. WHO collaborating center for air quality management and air pollution control. Germany, pp. 171.
- Mysliwa-Kurdziel B., Prasad M.N.V. and Stralka K. (2004) Photosynthesis in heavy metal stress plants. **In:** Prasad M.N.V. (ed.) *Heavy metal stress in plants*, 3rd ed. Springer, Berlin, pp: 146-181.
- Nagajyoti, P.C., Lee K.D. and Sreekanth T.V.M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ. Chem. Lett.* 8:199-216.
- Naidu B. P., Paleg L. G., Aspinall D., Jennings A. C. and Jones G. P. (1991). Amino acid and glycine beatin accumulation in cold-stressed wheat seedlings. *Phytochem.* 30:407-409.

-
- Nareshkumar A., Krishnappa B.V., Kirankumar T.V., Kiranmai K., Lokesh U., Sudhakarbabu O. and Sudhakar C. (2014). Effect of Pb-stress on growth and mineral status of two groundnut *Arachis hypogaea* L. cultivars. *J. of Plant Sci.* 2(6): 304-310.
- Naz A., Khan S., Muhammad S., Khalid S., Alam S., Siddique S., Ahmed T. and Scholz M. (2015). Toxicity and bioaccumulation of heavy metals in spinach (*Spinacia oleracea*) grown in a controlled environment, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 12: 7400-7416.
- Nei M. and Li W. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases (molecular evolution/ mitochondrial DNA/nucleotide diversity). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 79(10): 5269-5273.
- Neill S. O. and Gould K. S. (2003). Anthocyanins in leaves: light attenuators or antioxidants? *Funct. Plant Biol.* 30:865-873.
- Nieder R. and Benbi D.K. (2008). Carbon and Nitrogen in the terrestrial environment. Springer Science and Business Media B.V. 432 p.
- Nogueirol R.C., Monterio F.A., Gratao P.L., Da Silva B.K.D. and Azevedo R.A. (2016) Cadmium application in Tomato: Nutritional imbalance and oxidative stress. *Water Air Soil pollut.* 227:210-230.
- Norby J.G. (2000). The origin and the meaning of the little p in pH. *Trends Biochem. Sci.* 25:36-37.
- Nordberg G.F. (2009). Historical perspective on Cadmium. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238(3): 192-200.
-

-
- Norwood M., Truesdale M.R., Richter A. and Scott P. (2000). Photosynthetic carbohydrate in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *J. Exp. Bot.* 51(343):159-165.
- Nriagu J.O. (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature.* 333: 47-49.
- Nwadinigwe C. A., Udo G. J. and Nwadinigwe, A. O. (2014). Seasonal variations of heavy metal concentrations in sediment samples around major tributaries in Ibeno Coastal Area, Niger Delta, Nigeria. *Int. J. Sci. Technol. Res.* 3(11): 254-265.
- Odat S. and Alshammari A.M. (2011). Seasonal variations of soil heavy metal contaminants along urban roads: A case study from the city of Hail, Saudi Arabia. *Jordan J. of Civ. Eng.* 5(4): 581-591.
- Oluyemi E.A., Feuyit G., Oyekunle J.A.O. and Ogunfowokan A.O. (2008). Seasonal variations heavy metal concentrations in soil and some selected crops at a landfill in Nigeria. *Afr. J. Environ. Sci. Technol.* 2(5): 89-96.
- Onder S. and Dursun S. (2006). Air borne heavy metal pollution of *Cedrus libani* (A. Rich.) in the city centre of Konya (Turkey). *Atmos. Environ.* 40(6):1122–1133.
- Opdenakker K., Remans T., Keunen E., Vangronsveld J. and Cuypers A. (2012). Exposure of *Arabidopsis thaliana* to Cd or Cu excess leads to oxidative stress mediated alterations in MAPKinase transcript levels. *Environ. Exp. Bot.* 83, 53–61.
- Osobamiro M.T. and Adewuyi G.O. (2015). Levels of Heavy Metals in the Soil: Effects of Season, Agronomic Practice and Soil Geology. *J. Agric. Chem. Environ.* (4): 109-117.
-

-
- Pal S.K., Wallis S.G. and Arthur S. (2011). Assessment of heavy metals emission from traffic on road surfaces. *Cent. Eur. J. Chem.* 9(2): 314-319.
- Papazoglou E. G. (2011). Responses of *Cynara cardunculus* L. to single and combined cadmium and nickel treatment conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74:195–202.
- Parmar N.G., Vithalani S.D. and Chanda S.V. (2002). Alteration in growth and peroxidase activity by heavy metals in *Phaseolus* seedlings. *Acta Physiol. Plant* 24(1): 89-95.
- Parmar P., Kumari N. and Sharma V. (2013). Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. *Bot. Stud.* 54:1-6.
- Parmar P., Panchal K., Raj K. and Subramanian R.B. (2015). Impact of Heavy Metal Cadmium on Leaf Physiology of Grass (Sedges). *J. Chem. Appl. Biochem.* 2(1): 115-117.
- Pedron F., Petruzzelli G., Barbafieri M. and Tassi E. (2009). Strategies to use phytoextraction in very acidic soil contaminated by heavy metals. *Chemosphere.* 75:808–814.
- Peng H. and Zhang J. (2009). Plant genomic DNA methylation in response to stresses: Potential applications and challenges in plant breeding. *Prog. Nat. Sci.* 19(9): 1037-1045.
- Pinto E., Carvalho A. P., Cardozo K. H. M., Malcata F. X., Maria, dos Anjos F. M. and Colepicolo P. (2011). Effects of heavy metals and light levels on the biosynthesis of carotenoids and fatty acids in the Macroalgae *gracilaria tenuistipitata* (var. liui Zhang and Xia). *Braz. J. Pharmacognosy* 21(2):349-354.
-

-
- Polemio M. and Rhoades J.D. (1977). Determining cation exchange capacity: A new procedure for calcareous and gypsiferous soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41:524-528.
- Pooja V., Ram A. and Gadi B. R. (2012). Effect of salicylic acid on photosynthetic pigments and some biochemical content in *Vigna* seedlings under cadmium stress. *J. Chem. Bio. Phys. Sci. Section B.* 2(4):1801-1809.
- Pourrut B., Shahid M., Douay F., Dumat C. and Pinelli E. (2013). Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. **In:** Corpas F.J., Palma J.M. and Gupta D.K (Eds). *Heavy metal stress in plants.* Springer, Berlin, pp. 121–147.
- Prasad M. N. V. (1995). Inhibition of maize leaf chlorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. *Photosynthetica.* 31:635–640.
- Prasad T. K. (1996). Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities. *The Plant J.* 10:1017-1026.
- Qaisar, M., Ping Z., Rehan S.M., Ejaz I., Rashid A.M. and Yousaf H. (2005). Anatomical studies on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) under the influence of textile wastewater. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 6:991–998.
- Rai M.K., Kalia R.K., Singh R., Gangola M.P. and Dhawan A.K. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection—an overview of the recent progress. *Environ. Exp. Bot.* 71:89–98.
-

-
- Rai V.K. (2002). Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biologia Plantarum*. 45(2): 481-487.
- Raicu V. and Popescu A. (2008). Integrated molecular and cellular biophysics. Springer Netherlands. 250 p.
- Ranjan S., Poosapati A., Vardhan H. and Matcha R. (2013). Seed storage protein profile of few leguminous grains grown in India using SDS PAGE. *Int. J. Adv. Biotech. Res.* 4(4): 505-510.
- Rascio N. and Navari-Izzo F. (2011). Heavy metal hyper accumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Sci.* 180:169-181.
- Reichman S. M. (2002). The responses of plant to metal toxicity. A review focusing on copper, manganese and zinc. Melbourne: Australian Mineral and Energy Environmental Foundation. 54 p.
- Rhodes J. M., Woollorton L. S. C. (1978). The biosynthesis of phenolic compounds in wounded plant storage tissues. **In:** Kahl G. (Ed). *Biochemistry of wounded plant tissues*. Walter de Gruyter and Co. Berlin Germany. pp. 243-276
- Richards L.A. (1954). *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*. U. S. Department of Agriculture Handbook No. 60 Washington D. C. USA. 160 pp.
- Romero-Puertas M. C., Corpas F. J., Rodriguez-Serrano M., Gomez M., Del Rio L. A. and Sandalio L. M. (2007). Differential expression and regulation of antioxidative enzymes by Cd in pea plants. *J. Plant Physiol.* 164:1346–1357.
-

- Ross S.M. (1994). Sources and forms of potentially toxic metals in soil plant systems. **In:** Ross S.M. (ed.). Toxic metals in soil-plant system. Chichester: John Wiley & Sons, pp: 3-25.
- Rout J.R., Ram S.S., Das R., Chakraborty A., Sudarshan M. and Sahoo S.L. (2013). Copper-stress induced alterations in protein profile and antioxidant enzymes activities in the *in vitro* grown *Withania somnifera* L., *Physiol. Mol. Biol. Plant*, 19(3):353-361.
- Sabatini S. E., Chaufan G., Juarez A. B., Coalova L., Bianchi L., Eppis M. R. and de Molina M. C. R. (2009). Dietary copper effects in the estuarine crab, *Neohelice (Chasmagnathus) granulata*, maintained at two different salinities. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 150(4):521-527.
- Sahoo S.L., Mohanty S., Rout S. and Kanugo S. (2015). The effect of lead toxicity on growth and antioxidant enzyme expression of *Abutilon indicum* L. *Int. J. Pharm Pharm. Sci.* 7(2): 134-138.
- Sairam R. K., Shukla D. S. and Saxena D. C. (1997). Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes. *Biol. Plant* 40:357-364.
- Salomon R.N. (1995). Introduction to quantitative reverse transcription polymerase chain reaction. *Diag. Mol. Pathol.* 4:82-84.
- Sandalio, L. M., Dalurzo H. C., Gomez M., Romero-Puertas M.C. and del Rio L.A. (2001). Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* 52:2115-21.
- Sarma J., Devi P., Gogoi N. and Devi Y.M. (2014). Effect of Cobalt induced stress on *Triticum aestivum* L. crop. *Asain J. Agri. Biol.* 2(2): 137-147.

- Schulte E.E. (1995). Recommended soil organic matter tests. **In:** Sims J.T. and Wolf A.M. (Eds.). Recommended Soil Testing Procedures for the Northeastern United. Agricultural Experiment Station, University of Delaware, Newark, DL. pp: 52–60.
- Seis H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 4:180-183.
- Sergiev I., Alexieva V. and Karanov E.V. (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences* 51:121–124.
- Shah S.U. (2012). Importance of genotoxicity and S2a guidelines for genotoxicity testing for pharmaceuticals .*IOSR J. of Pharmacy and Biological Sciences*, 1(2): 43-54.
- Shaheen M.A., El-Nakhlawy F.S., Almeahmadi F.M., Ihsan M.Z. and Al-Shareef A.R. (2016). Assessment of seasonal variation for air pollutant accumulation by *Zizyphus* tree under washing treatment. *Environ. Monit. Assess.* 188(6): 343-354.
- Shahid M., Pinelli E., Pourrut B., Silvestre J. and Dumat C. (2011). Lead induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 74: 78-84.
- Shahid M., Pourrut B., Dumat C., Nadeem M., Aslam M. and Pinelli E. (2014). Heavy metal induced reactive oxygen species: phytotoxicity and physiochemical changes in plants. **In:** Whitacre D.M. (ed). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Vol. 232, Springer sciences+ Business Media, pp.1-44.

-
- Shakoor M.B., Ali S., Hameed A., Farid M., Hussain S., Yasmeen T., Najeeb U., Bharwana S.A. and Abbasi G.H. (2014). Citric acid improves lead (Pb) phytoextraction in *Brassica napus* L. by mitigating Pb-induced morphological and biochemical damages. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 109:38–47.
- Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S. and Pessarakli M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* Vol. 2012, Article ID 217037. 26 pages.
- Sharma R.J. and Agrawal M. (2005). Biological effects of heavy metals: An overview. *J. Exp. Bot.* 26(2):301–313.
- Sharma S. S., Schat H. and Vooijs R. (1998). *In vitro* alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline. *Phytochemistry.* 46:1531–1535.
- Sharma S.K., Goloubinoff P. and Christen P. (2011). Non-native proteins as newly identified targets of heavy metals and metalloids. **In** Banfalvi G. (ed.). *Cellular effects of heavy metals*. Springer: Heidelberg, Germany, pp: 263–274.
- Sharma S.K., Goloubinoff P. and Christen P. (2008). Heavy metal ions are potent inhibitors of protein folding. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 372:341–345.
- Shen Y., Zhang Y., Chen J., Lin H., Zhao., Peng H., Liu L., Yuan G., Zhang S., Zhang Z. and Pan G. (2012). Genome expression profile analysis reveals important transcripts in maize roots responding to the stress of heavy metal Pb. *Physiol. Plant* 147:270–282.
-

-
- Sherene T. (2010). Mobility and transport of heavy metals in polluted soil environment. *Biological Forum*. 2(2): 112-121.
- Shri U.P., Angela G. and Shakar M.C. (2016). Changes in the growth of *Crotalaria juncea* L. under Nickel stress. *Int. J. Curr. Sci.* 19(1): 6-15.
- Shrivastav R. (2001). Atmospheric heavy metals pollution, development of chronology records and geochemical monitoring. *Resonance*. 6(4):62-68.
- Singh N.K., Rai U.N., Tewari A. and Singh M. (2010). Metal accumulation and growth response in *Vigna radiata* L. inoculated with chromate tolerant rhizobacteria and grown on tannery sludge amended soil. *Bull, Environ. Contam. Toxicol.* 84:118–124.
- Singh R., Gautam N. Mishra A. and Gupta R. (2011). Heavy metals and living system, an overview. *Ind. J. Pharmacol.* 43(3):246-253.
- Singh S., Eapen S. and D'Souza S.F. (2006). Cadmium accumulation and its influence on lipid peroxidation and antioxidative system in an aquatic plant, *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*. 62(2): 233-246.
- Singh S., Srivastava P.K., Kumar D., Tripathi D.K., Chauhan D.K. and Prasad S.M. (2015). Morpho-anatomical and biochemical adapting strategies of maize (*Zea mays* L.) seedlings against lead and chromium stresses. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 4(3): 286-295.
- Singleton V. L. and Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16:144-158.
-

-
- Sinha S., Bhatt K., Pandey K., Singh S. and Saxena R. (2003). Interactive metal accumulation and its toxic effects under repeated exposure in submerged plant *Najas indica* Cham. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 704:696–704.
- Smirnioudi V., Thomaidis M.S., Piperaki E.A. and Siskos P.A. (1998). Determination of trace metals in wet and dust deposition in Greece, Fresenius Environ. Bul. 7:85-90.
- Smirnoff N. and Stewart G. R. (1987). Nitrogen assimilation and zinc toxicity to zinc-tolerant and non-tolerant clones of *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. New Phytol. 107:671–680.
- Smolders E. and Mertens J. (2013). Cadmium. **In:** Alloway B. (ed). Heavy metals in soils. Springer Netherlands, pp: 283- 311.
- Sridhar, B.B.M., Diehl S.V., Han F.X., Monts D.L. and Su Y. (2005). Anatomical changes due to uptake and accumulation of Zn and Cd in Indian mustard (*Brassica juncea*). Environ. Exp. Bot. 54:131-141.
- Srivastava R.K., Pandey P., Rajpoot R., Rani T. and Dubey R.S. (2014). Cadmium and lead interactive effects on oxidative stress and antioxidative responses in rice seedlings. Protoplasma. 251(5): 1047-1065.
- Steinnes E. (2013). Lead. **In:** Alloway B. (ed). Heavy metals in soils. Springer Netherlands, pp: 395-409.
- Stevovic, S., Devrnja N. and Calic-Dragosavac D. (2013). Environmental impact quantification and correlation between site location and contents and structure of Tansy. Afr. J. Biotechnol. 10(26): 5075-5083.
-

-
- Strzalka K., Kostecka-Guga A. and Latowski D. (2003). Carotenoids and environmental stress in plants: significance of carotenoid-mediated modulation of membrane physical properties. *Russian J. Plant Physiol.* 50(2):168–173.
- Suciu I., Cosma C., Todica M., Bolboaca S.D. and Jantschi L. (2008). Analysis of soil heavy metals pollution and pattern in central Transvania, *inter. J. Mol. Sci.* 9: 434-453.
- Sukreeyapongse O., Holm P.E., Strobel B.W., Panichsakpatana S., Magid J. and Hansen H.C.B. (2002). pH-Dependent release of cadmium, copper and lead from natural and sludge amended soils. *J. Environ. Qual.*, 31:1901-1909.
- Sun R. and Chen L. (2016). Assessment of Heavy Metal Pollution in Topsoil around Beijing Metropolis. *PLoS ONE* 11(5): 1-13.
- Taiz L. and Zeiger E. (2002). *Plant Physiology*, 3rd Ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 690 p.
- Tamas M.J., Sharma S.K., Ibstedt S., Jacobson T. and Christen P. (2014). Heavy metals and metalloids As a cause for protein misfolding and aggregation. *Biomolecules*, 4: 252-267.
- Tan K.H. (2009). *Environmental soil science*. 3rd Ed. CRC press, Boca Raton, Florida, USA, 600 p.
- Tanyolac B. (2003). Inter-simple sequences repeat (ISSR) and RAPD variation among wild barley (*Hordeum. vulgare* subsp. *spontaneum*) populations from west Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 611–614.

- Tao Y.M, Chen Y.Z., Tan T., Liu X.C. Yang D.L. and Liang S.C. (2012). Comparison of antioxidant responses to cadmium and lead in *Bruguiera gymnorrhiza* seedlings. *Biol. Plantarum*, 56(1): 149-152.
- Therriault G., Nkongolo K. and Michel P. (2014). Genetic and metal analyses of fragmented populations of *Betula papyrifera* (Marsh) in a mining reclaimed region: identification of population–diagnostic molecular marker. *Eco. Evol.* 4(17): 3435-3443.
- Tran T.A. and Popova L.P. (2013). Functions and toxicity of cadmium in plant: recent advances and future prospects. *Turk. J. Bot.* 37:1-13.
- Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*. 2:1231-1246.
- Tsuda K. and Somssich I.E. (2015). Transcriptional networks in plant immunity. *New Phytologist*. 206(3): 932-947.
- Tupan, I.C., Azrianingsih R. (2016). Accumulation and deposition of lead heavy metal in the tissues of roots, rhizomes and leaves of seagrass *Thalassia hemprichii* (Monocotyledoneae, Hydrocharitaceae). *AAFL Bioflux* 9(3):580 589.
- Turrens J. F. (2003). Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J. Physiol.* 552: 335–344.
- Unyayar S., Celik A., Cekic F. C. and Gozel A. (2006). Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. *Mutagenesis*. 21:77-81.
- Uren N.C. (2013). Cobalt and Manganese. **In:** Alloway B. (Ed). Heavy metals in soils. Springer Netherlands, pp: 335- 366.

- Van Der Perk M. and Van Gaans P.F.M. (1997). Variation in composition of stream bed sediments in a small watercourse. *Water Air Soil Pollut.* 96: 107–131.
- Vassilev A. and Lidon F. (2012). Cd-induced membrane damages and changes in soluble protein and free amino acid contents in young barley plants. *Emir. J. Food Agric.* 23(2):130-136.
- Viehweger K. (2014). How plants cope with heavy metals. *Bot. Stud.* 55(35):1–12.
- Vijayan K. (2005). Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Polymorphism and Its Application in Mulberry Genome Analysis, *Int. J. Indust. Entomol.* 10(2): 79-86.
- Vollenweider P., Cosio C., Gunthardt-Goerg M. S. and Keller C. (2006). Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium-tolerant willow (*Salix viminalis* L). Part II Microlocalization and cellular effects of cadmium. *Environ. Exp. Bot.* 58: 25–40.
- Wade G.L. (2012). *Organic Chemistry* 8th Edi. Pearson publisher. 1320 p.
- Walsh M.P., Weaver C.S. and Faiz A. (1996). *Air pollution from motor vehicles: Standards and technologies for controlling.* World Bank publications. 246 p.
- Wang A.S., Angle J.S., Chaney R.L., Delorme T.A. and Reeves R.D. (2006). Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*. *Plant Soil.* 281:325–337.
- Wang H., Wang P. F. and Zhang H. (2009). Use of phosphorus to alleviate stress induced by cadmium and zinc in two submerged macrophytes. *Afr. J. Biotechnol.* 8:2176-2183.

-
- Wang Y., Li, Y. Ma C. and Qiu D. (2016). Gas exchange, photosystem II photochemistry, and the antioxidant system of longan plant *Dimocarpus longan* Lour. leaves in response to lead (Pb) stress. *Plant Omics*. 9(4): 240-247.
- Watanabe S., Kojima K., Ide Y. and Sasaki S. (2000). Effect of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 63:199-206.
- Weast R.C. (1984). *CRC Handbook of chemistry and physics*, 64th Ed. Boca Raton, CRC Press, pp. 2303.
- Wedepohl K.H. (1995). The composition of the continental crust. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 59:1217–1232
- Willey R.L. (1971). *Microtechnique: A laboratory guide*. McMillan Pub. Co. New York.
- Williams L. E., Pittman J. K. and Hall J. L. (2000). Emerging mechanisms of heavy metals transport in plant. *Biochim. Biophys. Acta.* 1465:104-126.
- Winkel-Shirley B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5(3):218-223.
- Wolterbeek B. (2002). Biomonitoring of trace element air pollution: Principles, possibilities and perspectives. *Environ. Pollut.* 120: 11–21.
- Wu G., Kang H., Zhang X., Shao H., Chu L. and Ruan C. (2010). A critical review on the bioremoval of hazardous heavy metals from contaminated soils: issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. *J. Hazard Mater.* 174:1-8.
-

- Wu K., Jones R., Dannaeburger L. and Scolnik P.A. (1994). Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic Acids Res.* 22: 3257–3258.
- Xu J., Zhu Y., Ge Q., Li Y., Sun J., Zhang Y. and Liu X. (2012). Comparative physiological responses of *Solanum nigrum* and *Solanum torvum* to cadmium stress. *New Phytol.* 196:125–138.
- Yadav P., Kumar S., Reddy K.P. and Murthy I.Y.L.N. (2014). Oxidative stress and antioxidant defense system in plant. **In:** Kumar P.A. and Govil J.N. (Eds). *Biotechnology Vol.2.* Studium Press, LLS, USA. pp:262-281.
- Yadav S.K. (2010). Heavy metals toxicity in plants: an overview of glutathione and phytochelatins in heavy metal stress tolerance of plant. *South African J. Bot.* 76: 167-179.
- Yahaya M.I., Ezeh G.C., Musa Y.F. and Mohammed S.Y. (2010). Analysis of heavy metals concentrations in road sides soil in Yauri, Nigeria. *Afr. J. Pur. Appl. chem.* 4(3): 22-30.
- Yahaya M.I., Mohammed S. and Abdullahi, B.K. (2009). Seasonal variation of heavy metals concentration in Abattoir dumping site soil in Nigeria. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 13(4): 9-13.
- Yan H., Filardo F., Hu X., Zhao X. and Fu D. (2015). Cadmium stress alters the redox reaction and hormone balance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23(4). 3758-3769.
- Yang Y., Nan Z., Zhao Z., Wang S., Wang Z. and Wang X. (2011). Chemical fractionations and bioavailability of cadmium and zinc to cole (*Brassica campestris* L.) grown in the multi-metals

- contaminated oasis soil, northwest of China. *J. Environ. Sci. (China)* 23:275–281.
- Yeh C., Chien P. and Huang H. (2007). Distinct signaling pathways for induction of MAP kinase activities by cadmium and copper in rice roots. *J. Exp. Bot.* 58: 659–671.
- You M., Huang Y., Lu J. and Li C. (2015). Environmental implications of heavy metals in soil from Huainan, China. *Anal. Lett.* 48: 1802-1814.
- Yurekli F. and Porgal Z. B. (2006). The effects of excessive exposure to copper in bean plants. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 48:7-13.
- Zadak Z., Hyspler R., Ticha A., Hronek M., Fikrova P., Rathouska J., Hrcniarikova D. and Stetina R. (2009). Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiol. Res.* 58(1): 13–17.
- Zagorchev L.S., Kranner C.E. and Odjakova I. (2013). A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. *Int. J. Molecular Sci.* 14:7405-7432.
- Zaid A. and De Wet P. F. (2002). Botanical and systematic description of the date palm. **In:** Zaid A. and Arias-Jimenez E. J. (Eds.). *Date Palm Cultivation. FAO Plant Production and Protection Rev.1*, Rome, Italy. pp: 156
- Zeng F., Ali S., Zhang H., Ouyang Y., Qiu B., Wu F. and Zhang G. (2011). The influence of pH and organic matter content in paddy soil on heavy metal availability and their uptake by rice plants. *Environ. Pollut.* 159:84-91.
- Zeng X. W., Qiu R. L., Ying R. R., Tang Y. T., Tang L. and Fang X. H. (2011). The differentially expressed proteome in Zn/Cd

- hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch. In response to Zn and Cd. *Chemosphere*. 82:321–328.
- Zhang M.K., Liu Z.Y. and Wang H. (2010). Use of single extraction methods to predict bioavailability of heavy metals in polluted soils to rice. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 41(7):820–831.
- Zhang X., Zhang X., Gao B., Li Z., Xia H., Li H. and Li J. (2014). Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of an energy crop, king grass (*Pennisetum americanum* x *P. purpureum*). *Biomass Bioenergy* 67:179–187.
- Zhao K., Liu X.M., Xu J.M. and Selim H.M. (2010). Heavy metal contaminations in a soil-rice system: identification of spatial dependence in relation to soil properties of paddy fields. *J. Hazard. Mater.* 181:778-787.
- Zietkiewicz E., Rafalski A. and Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20, 176-183.
- Zouari M., Ben Ahmed C., Zorrig W., Elloumia N., Rabhi M., Delmaild D., Ben Rouinab B., Labroussec P. and Ben Abdallaha F. (2016 a). Exogenous proline mediates alleviation of cadmium stress by promoting photosynthetic activity, water status and antioxidative enzymes activities of young date palm *Phoenix dactylifera* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 128:100–108.
- Zouari M., Elloumi N., Ahmed C., Delmail D., Rouina B., Abdallah F. and Labrousse P. (2016 b). Exogenous proline enhance growth, mineral uptake, antioxidant defense and reduced cadmium-induced oxidative damage in young date palm *Phoenix dactylifera* L. *Ecol. Eng.* 86: 202-209.

Zurayk R., Sukkariah B. and Baalbaki R. (2001). Common hydrophytes as bioindicators of Nickel, Chromium and Cadmium Pollution. *Water Air Soil Pollut.* 127(1): 373-388.

Summary

The present study was conducted at the laboratories of Biology Department and Date Palm Research Centre- University of Basra to evaluate the level of different heavy metals pollutants (Lead Pb, Cadmium Cd, Chromium Cr and Cobalt Co) at different areas in Basra governorate during the rainy and dry seasons of 2014-2015. The possibility of using date palm trees as a biomonitor of heavy metals pollution at Basra, and the biochemical; anatomical and molecular impacts of different concentrations of Pb and Cd on date palm offshoots of cv. Barhi.

Soils and date palm leaves were collected during the dry and rainy seasons from six different areas in Basra governorates including Al-Qurna district; Najibia Power station; Shat-Al-Arab district; Zubair High way (from the city centre towards Al-Zubair district); Abu-Alkaseb district and Al-Faw district. Soil chemical and physical characteristics have been studied. The total and available concentrations of Pb; Cd; Cr and Co have been analyzed in examined soils, as well as, in date palm leaves using Atomic absorption spectroscopy.

After determination the minimum and maximum concentrations of heavy metals that exceeded the permissible levels according to European standards, a lab experiment was performed on two years old tissue culture derived date palm offshoots of cv.Barhi. The date palm offshoots were treated with two concentrations of Cd as 3 and 9 mg/kg, and Pb as 100 and 276 mg/kg was followed up to 180 days. The impact of Pb and Cd treatments were evaluated on the biochemical and anatomical features, as well as, on molecular level employing Protein profile by SDS-PAGE technique and ISSR analysis.

The results of heavy metal pollution survey can be summarized as follow:

1- The highest concentrations of total Heavy Metals were observed during the dry season; while the lowest concentration ones were seen at rainy season. The highest concentration of Pb was found in Al-Qurna which was 276 mg/kg, while the highest Cd; Co and Cr levels were observed in Al-Najibia power station and reached the values of 9.65; 145.85 and 44.74 mg/kg; respectively. The lowest Pb and Cr concentration at Al-Faw area and reached 100.78 and 46.26 mg/kg; respectively, and for Cd and Co at Shat-Al-Arab area which were 3.16 and 23.58 mg/kg; respectively.

2- Results of analyses revealed that the highest available Heavy metals concentration were reported at Al- Najibia power station during the rainy season (with an exception of Cr which was higher at dry season) and reached the values of 32.43; 1.84; 26.86 and 14.17 mg/kg; respectively. The lowest concentrations of Heavy metals were seen during dry season at Al-Zubair high way and reached the levels of 13.95; 0.59; 5.94 and 4.12 mg/kg.

3- The results showed that the highest levels of Heavy metals in date palm leaves samples were found during the dry season; the highest Pb and Cd were found in Al- Najibia power station and reached 43.34 and 5.67 mg/kg; respectively, while the highest Cr concentration was observed in Al-Qurna area (17.73 mg/kg); Co at Abu-Alkhasseb area (24.87 mg/kg); the lowest Pb and Co concentrations were reported in al-Faw area and reached 23.56 and 8 mg/kg; respectively. The lowest Cd level was seen in Shat- Al- Arab area (1.48 mg/kg); Cr in Abu-Alkhasseb area (3.47 mg/kg).

Regarding the lab experiment, the results showed that Heavy metals content in soil and date palm leaves were higher after treatment with Pb and Cd, this increase in Heavy metals content was positively correlated with increasing concentrations of Heavy metals treatment.

In terms of date palm biochemical responses to Heavy metals treatments, the results showed that:

1- The high concentration of Heavy metals led to a significant reduction in chlorophyll and carotenoids, and an increase in anthocyanins pigments. The lowest level of chlorophyll a; b and total chlorophyll were reported at high Pb concentration 276 mg/kg which reached the averages of 2.15; 1.13 and 3.28 mg/g FW; respectively. The lowest carotenoids level was seen at Pb treatment (1.00 mg/kg FW) and without significant difference than Cd treatment at 9 mg/kg. Regarding anthocyanins analysis, results revealed that Pb treatment at high concentration led to increase anthocyanins levels from 0.068 mg/g FW in control treatment to 0.129 mg/g FW, without any significant difference than Cd treatment at 9 mg/kg, the chlorophyll stability index was decreased significantly in Pb treatment and reached the average of 58.79%.

2- Total soluble carbohydrates concentrations in date palm leaves was increased as a consequence for Pb and Cd treatments; the highest carbohydrates level was reported in Cd at 9 mg/kg and reached a value of 16.35 mg/kg.

3- Proline content in date palm leaves was increased to a high level due to treatment of Pb at high concentration (276 mg/kg) and reached 10.88 $\mu\text{mole/g}$ compared with control treatment 2.67 $\mu\text{mole/g}$.

4- The treatments of Pb at both concentrations and Cd at high concentration led to an increase free amino acid levels in date palm leaves, with a significant difference than control and Cd at low concentration.

5- Total soluble protein levels were reduced after the treatment of date palm offshoots with Cd at 9 mg/kg and reached the average of 2.89 mg/kg, compared to other treatments.

6- Cd treatment at high concentration (9 mg/kg) led to an increase in the level of hydrogen peroxide up to 2.31 $\mu\text{mole/g}$ compared with 0.84 $\mu\text{mole/g}$ at control treatment.

7- The hydrogen peroxidase activity was increased as a consequence to Cd treatment at high concentration (9 mg/kg) and reported the activity of 41.71 unit/min/g.

8- High concentration of Pb led to increase the level of malondialdehyde (MAD) from 1.32 nanomole/g at control treatment to 4.60 nanomole/g. Additionally, this treatment led to decrease membrane stability index up to 60.90% compared with control treatment (100%).

9- Cd treatment at high concentration (9 mg/kg) led to increase the phenolic compounds level in treated date palm leaves, the phenolic level was 5.03 mg/kg and increased significantly to 8.63 mg/kg at this treatment.

Regarding anatomical study, the results showed that the treatment of Pb and Cd at high concentrations led to decrease the height and width of vascular bundles in date palm leaves, as well as, decrease the thickness of phloem and xylem. A reduction in mesophyll thickness and parenchyma size were observed as a consequence to these treatments. No change in cuticle and epidermal thickness was observed at both Cd and Pb treatments. A remarkable increase in tannins distribution across the leaves sections was observed at Cd and Pb treatments at high concentrations.

In terms of molecular impact of Heavy metals on date palm genome, results revealed that only Pb treatment at high concentration (276 mg/kg) led to a change on molecular level. The genetic similarity was 75% for this treatment compared to control one using SDS-PAGE, and was 80% using ISSR technique.

High concentration of Pb (276 mg/kg) led to decrease the genome template stability up to 80% compared to control one (100%). which indicates that Pb at high concentration led to a genetic variations.



**Seasonal Variation of Heavy Metals Pollution and the
Impact of Cadmium and Lead Treatments on Some
Biochemical, Anatomical and Genetic Features of Date
palm *Phoenix dactylifera* L. Barhi cv.**

A Thesis

Submitted to the council of Science College- Basrah
University in partial fulfillment of the requirements for the
degree of Doctor of Philosophy in Biology
(Plant Physiology)

By

Kearallah Moussa Awad Al-Jabary

M.Sc. in Agriculture 2002 (Plant Physiology)

Supervisors

Assist. Prof. Dr. Jabbar D. Naema

Prof. Dr. Mohammed H. Abass

MAY 2017