الفصل التاسع

[مناطق الرطوبة في البذرة والتفاعلات]

ان اخر مرحلة تتكون فيها البذرة في الحقل في طور التشكل تفقد فيها الماء الى حد معين بحسب نوع وجنس البذرة وموسم النضج صيفا او خريفا . تكون البذرة في مثل هذه المرحلة في طور الراحة (Rest = Quiescence) حيث تتوقف العلاقة بين البذرة والنبات الام . ان الماء هو الوسط الجيد لاذابة ونقل المواد الايضية ومنظمات النمو بما في ذلك mRNA المسؤول عن تخليق البروتينات (الانزيمات).

رطوبة البذرة وعمرها الخزني :

يتوقف طول العمر الخزني للبذرة بالدرجة الاساس على محتواها الرطوبي . ان وجود الماء في البذرة عن (حد حرج) يساعد في تدهور العديد من المركبات المتخصصة بالخزن . تحافظ بعض انواع البذور على عمر خزني جيد اذا حفظت برطوبة قياسية مثل زهرة الشمس وفستق الحقل (٦% - ٨%) والباقلاء (٨% - ١٠%) وفول الصويا والحبوب المختلفة ١٣ - ١٥% وهكذا . ان خفض الرطوبة عند الحدود المذكورة يساعد في اطالة مدة الخزن . لقد وجد مثلا ان بذور فول الصويا برطوبة ١٠% بقيت كاملة الحيوية (١٠٠% انبات) ، لعشر سنين ، فيما بقيت لسنتين فقط لما كانت برطوبة ٢٢% ولاربع سنوات لما كانت برطوبة ١٦% . (حرارة الخزن كانت ١٠مْ) . ان الرطوبة التي ذكرناها لبعض المحاصيل هي رطوبة قياسية للتجارة والتداول وهي مناسبة في الاجواء الباردة للخزن ولكن في الاجواء الحارة من الضروري خفض الرطوبة . ربما يقول قائل اذن نخفض الرطوبة الى اوطا ما يكون ونخزن البذور لاطول مدة !! الجواب كلا لان ابحاثا عديدة اكدت انه لدى خفض الرطوبة الى حد معين عن المستخدمة للخزن (٣ - ٤% لبذور الخضر و٨ - ١٢% لبذور المحاصيل) هنالك تفاعلات معينة تنشط وتؤثر سلبيا في حيوية الجنين .

لقد لوحظ مثلا ان دقيقة واحدة لتشرب بذرة فول الصويا قد زاد من نشاط انزيم (lipoxidase) كما ان نشاط المايتوكوندريا (Mitochondria) قد حدث بعد ساعات من التشرب . ان الماء الموجود في البذور المخزونة هو من نوع المقيد(bound water) حيث انه مقيد على سطوح مساحات جزيئية واسعة (Macromolecular surface) كما ان ديناميكية الحرارة في هذا الماء تختلف عما في الماء الحر (free water) . باختصار

ان هذا الماء (المقيد) هو غير قابل للانجماد تحت درجات الانجماد المعروفة . لننظر الى بذور فول الصويا بالاختبار التالي :

وضعت بذور فول الصويا برطوبات مختلفة ثم جمدت بدرجة – ٦٥ مْ ثم اعيدت الى درجة حرارة الغرفة وشربت بالماء للانبات . لقد لوحظ ان البذور التي فيها رطوبة اقل من ٣٥% من الوزن الجاف (٢٦% بالوزن الرطب) لم يتضرر انباتها بينما التي فيها اعلى من ذلك تضررت ، وكان ذلك مؤكدا الى ان الماء في البذور بنسبة اقل من ٣٥% من الوزن الجاف هو ماء bound وليس بماء حر ، علما ان البذور التي فيها رطوبة اعلى من ٣٥% قد انجمد ماؤها ولما وضعت في حرارة الغرفة فقدت (electrolytes) اساسية للانبات فضعف انباتها حتى انعدم دون رطوبة ٥٠% من الوزن الجاف .

المناطق الرطوبية في البذرة :

اكدت الدراسات المختلفة ان الماء في البذرة يقع في ثلاث صور :

١ – Chemi – sorb water: تكون جزئيات الماء مرتبطة (ionic bounding) بجزئيات الاجسام (macromolecules) .

٢ – Condensed water: متكثف حول المواقع المحبة للماء للجزيئات hydrophilic .

٣ – Bridge water : يكون جسورا بين المواقع غير المحبة للماء (hydrophobic) وبذا يكون النوع الاول هو المرتبط بقوة اكثر لانه ايوني والثاني مرتبط اقل والثالث غير مرتبط بقوة تذكر .

اذن لابد من تحديد مناطق الرطوبة في البذرة وعلاقتها مع RH في الجو المحيط بها ودرجة حرارته . لاجل حساب كمية الماء في مكونات البذرة يمكن استخدام احدى طريقتين لذلك . طريقة استخدام الخطوط الحرارية (isotherms) المرتبطة بمقدار الطاقة اللازمة بالسعرات لكل مول اما بمعادلة (Clausus – Claperon) او بمعادلة D Arcy-Watt وكلاهما يوضحان ان الماء في البذرة له ثلاث حالات او مناطق مسك :

الاولى : ٨% رطوبة ممسوك بطاقة عالية .

الثانية : ١٠ – ٢٠% ممسوك بطاقة اقل .

الثالثة اعلى من ٢٠% رطوبة ممسوك بطاقة ضعيفة .

بشكل عام تختلف طاقة مسك الماء في الحالات الثلاث باختلاف نوع البذور في البقوليات مثلا :

المنطقة الاولى Reg.١ الماء ممسوك بطاقة $KJ\ mol^{-1}$ ١٤ – ١٢ .

المنطقة الثانية Reg.٢ الماء ممسوك بطاقة $KJ\ mol^{-1}$ ٢ .

المنطقة الثالثة Reg.٣ الماء ممسوك بطاقة $KJ\ mol^{-1}$ ٠ .

من الواضح جدا ان الماء كان حراً تماما في المنطقة الثالثة . ان محاور البذرة (axes) (المناشئ الخاصة باجزاء البذرة) لها المقدرة على مسك الماء بقوة اكبر بكثير مما تمسكه الفلقتان . اذن بشكل عام فان الماء الموجود في بذرة الخزن هو ماء هيكلي (structured) اي يدخل في تركيب مركبات البذرة وبذا فهو غير قابل للانجماد لدى التجميد ووجوده في Reg.1 كانه اي مركب اخر وليس بانه ماء ، ثم يبدا باخذ صفات الماء (المذيب) عندما يكون في Reg.2 اما في Reg.3 فهو حر تماما . بشكل عام عندما تكون الرطوبة في البذرة بحدود ٣٠% (بالوزن الجاف) تكون كافة اجزاء البذرة مبتلة تماما(fully wetted) . اذن افضل وسيلة لحفظ البذور هي خفض رطوبتها ودرجة حرارة خزنها وتفريغ اواني حفظها من الهواء (vacuum) .

التفاعلات اللاانزيمية : Non – enzymatic Rxns

يحدث التاكسد الذائي في بذور فول الصويا ذات المحتوى الرطوبي ٥% - ١٩% (جاف) في جو اوكسجيني نقي فيدمر النشاط الانزيمي فيها فيتغير لون البذور . من جهة اخرى فان الدهون (lipids) في البذرة تكون محمية من ضرر هذا التاكسدّ كذلك فان الدهون المتعددة عدم التشبع لا تتضرر كثيرا ، الا ان هذه الدهون لو استخرجت من البذرة وعرضت الى نفس الظروف فانها تتضرر نتيجة التاكسد . من ذلك يتضح ان هناك اكسدة غير انزيمية تحدث داخل البذرة عند الحرارة العالية وان الاحماض الدهنية تبدو مقاومة لهذه الاكسدة (داخل البذرة) ومن المعتقد ان الاكسدة الذاتية تحدث عند الرطوبة العالية في البذرة وبالمقارنة مع الرطوبة المنخفضة فيها .

اما في البذور الجافة المخزونة فيحدث نوع اخر من الاكسدة وهو المتسبب عن مهاجمة الجذور الحرة . ان الاختبارات المطبقة على بذور فول الصويا باستخدام Electron Spin Resonance = ESR اوضحت ان مثل تلك العمليات تحدث في البذور (محاور وفلقات) عند رطوبة اقل من ١٢ - ١٥% (جاف) حيث نسبة الجذور الحرة واطئة (العضوية) عند رطوبة ١٥% - ٢٠% ، فيما كانت عالية جدا (اكثر من ٩٠% من المجموع الاقصى) عند رطوبة اقل من ٥% . كذلك وجد ان مثل هذا الضرر يحدث في بذور الجلجل Kenaf (Hibiscus cannabinus) بسبب الجذور الحرة والمتسبب عن التشرب (الرطوبة) حيث يحدث الضرر على البذرة عند المنطقتين الاولى والثالثة فيما تبقى

البذرة في المنطقة الثانية محمية . تساعد الحرارة العالية والرطوبة العالية (٨% فاكثر) في اطلاق الجذور الحرة واحداث ضرر على البذرة ، وبذا اصبح من المعتقد ان الجذور الحرة لها دور ضار في حياة البذرة عند مثل تلك الحرارة والرطوبة .

التفاعلات الانزيمية : Enzymatic Rxns

ان الاختبارات المطبقة على هذه التفاعلات هي في رطوبة اقل من ٨% . لقد لوحظ ان نشاط الانزيمات المحللة للدهون (lipolytic enzymes) محكومة اصلا بدرجة سيولة الوسط الدهني (lipid milieu) فيما يزداد فعل الانزيمات الذائبة في الماء – water soluble مع زيادة RH اعلى من ٢٥% (Reg.2) ، على العكس من ذلك فان نشاط انزيمات (lipolytic) يقل عند تلك الرطوبة النسبية وكذلك بالنسبة لاجزاء البذرة whole tissue فان الانزيمات المحللة للدهون تنقص عند الرطوبة العالية (Reg.3) . اذن فان الماء الحر غير ضروري لنشاط كافة الانزيمات غير ان وجود ماء متجمع بنسبة اقل يسهل النشاط الانزيمي . كذلك يمكن القول ان وجود الماء (substrate) ليس هو العامل الاساسي للنشاط الانزيمي لان الاهم هو حركة الوسط وبذا يرجح الدور الايجابي للماء من النوع الثاني لنشاط الحركة الجزيئية (intramolecular) للنشاط التحليلي للبروتينات .

ان الاكسدة الذاتية للدهون غير المشبعة تكون محدودة في الانسجة السليمة (غير المقطوعة) وحيث ان (lipoxidase) يمكنه ان يعمل تحت مستوى واطئ من الماء لذا اصبح من المعتقد ان الاوكسجين المستهلك في تلك العملية يعود لنشاط (lipoxidase) .

ان الاخير تحكمه (phytochrome) (الضوء الاحمر محدد له) وان الاوكسجين المستهلك في منطقة Reg.2 كان بسبب نشاط (lipoxidase) حيث اثر الضوء على استهلاك الاوكسجين عند رطوبة ٨% – ٢٥% (جاف) في البذرة واستنادا لتلك البيانات وعلى افتراض نشاط (lipoxidase) يتحدد بالرطوبة العالية في البذرة فانه من المفترض ان عمليات الاكسدة التي تحدث في Reg.2 في البذرة يمكن ان تكون انزيمية السبب وذلك عند رطوبة اكثر من ٢٤% (جاف) .

العمليات الايضية :

تعمل الانزيمات (anabolic) عند Reg.3 فيما تعمل (catabolic) في Reg.2 . هناك كما نعلم اعمال ايضية بناءة (constructive metabolism) واخرى هدمية destructive met والاخيرة تنتج (catabolites) فيما تنتج الاولى (anabolites) .

لوحظت كميات كبيرة متزايدة من O_2 المستهلك مع زيادة رطوبة البذرة عن ٢٧% و ٢٤% و ٢٠% و ١٢% في كل من بذور البزاليا والصويا والذرة الصفراء والتفاح بالتتابع وبلغت كميات الاستهلاك حدها الاقصى للبذور المذكورة عندما كانت برطوبة نسبية اعلى من كل من ٦٠% و ٤٠% و ٣٠% و ١٥% على الترتيب . يتضح من ذلك ان عمل O_2 يصبح فعالا مع زيادة الماء نحو Reg.3 الامر الذي يربط ذلك بالتنفس واستهلاك ATP عند Reg.2 وان ذلك له علاقة بالمايتوكوندريا في البذرة ، وعلى الرغم من وجود بعض الاعتراضات حول عدم اكتمال المايتوكوندريا في البذرة الا ان فعلها بصورة عالية النشاط يصبح مؤكدا لدى تشرب البذرة بالماء ، ومن المعتقد ان الذي يقوم بذلك هو (mitochondria matrix) و(mit . proteins) علماً ان (photosynthesis) يمكن دراستها وقياسها بوضوح في بذور البزاليا عند Reg.2 ولو انها صعبة القياس لكنها كانت سهلة لما زيدت الرطوبة عن ٣٥% .

امتصاص الصبغات (pigments) للضوء :

ان التفاعلات التي ذكرناها في البذرة المسببة عن (autooxidation) او (enzymatic) هي من النوع الحراري (thermal) وبذا فان الطاقة الموجودة سوف تزداد داخل البذرة مع قلة رطوبتها . لاجل معرفة الطاقة الحرارية في البذرة يمكن مقارنة الطاقة الحرة (G Δ) (free energy) مع المحسوبة من الطاقة الكامنة ، حيث وجد ان هذه الطاقة لن تكون كافية للتفاعلات ، اما اذا اقتربت $\Delta G = -KT$ (T درجة الحرارة و K ثابت Boltzmann) فيمكن ان تكون الطاقة الحرة الذائبة كافية لتلك التفاعلات . لقد وجد في كل من بذور البزاليا والخس انه عند رطوبة ١٢% و ٨% كانت قيمة :

$$\Delta G = -KT$$

وبذا فان الطاقة الحرارية اللازمة لانبات هذه البذور سوف لن تكون متوفرة فيما لو خزنت تحت المستوى الرطوبي المذكور لكل منهما . اذن هنا لابد من التساؤل هل يمكن ان تكون هناك تفاعلات غير حرارية (non thermal) ؟ وعند ذلك المستوى المنخفض من رطوبة البذرة ؟

ان اقتناص الطاقة الضوئية (absorption) من قبل الصبغات (pigments) له علاقة بالمحتوى المائي :

adsorbtion : الامدصاص مع ايونات التربة (حول السطوح) .

absorption : امتصاص كيمياوي .

absorbtion : امتصاص فيزياوي (جزئيات رمل مثلا تمتص الماء) .

ان تعويض بذور البزاليا الى ضوء (fluorescence) يوضح ان (chl.a) في البذور الجافة (Reg.1) سوف يقتنص طاقة الضوء . يمكن ان توجد في البذرة صبغة phytochrome بجانب الصبغة التي تقتنص الضوء الاحمر (Pr) او الاحمر البعيد (Pfr) ويمكن ان تتغير مقدرة الصبغات في امتصاص الضوء المذكور اذا كانت رطوبة البذرة بحدود ١٥% ، اما بذور الخس بالذات فانه يمكن معها عمل الصبغتين بصورة متبادلة حتى عند رطوبة ٤% في البذرة وحيث ان التفاعلات الحرارية تحدث في البذرة عند Reg.1 فان التفاعلات الضوئية (Photoreactions) ، يمكن ان تحدث عند اي مستوى من الماء في البذرة . لقد انبتت بذور الخس المعرضة للضوء برطوبة ١٠% بنسبة ٣٠% (fr) و ٤٥% (white light) بينما لما اضيئت برطوبة ٣٠% اصبحت نسبة الانبات ٢٥% و ٦% على الترتيب ، موضحة بذلك دور الرطوبة العالية في تحسس صبغات البذور لامتصاص الضوء والاستجابة للانبات وفي نفس الوقت مقدرة بذور الخس للتحسس للضوء حتى عند رطوبة ٤% حيث اعطت حوالي ٢٨% انبات في الضوء الاحمر (fr) و ٤٢% للضوء الابيض .

العمليات المتاثرة بمحتوى الرطوبة في البذرة :

Aging : بشكل عام يمكن ان تتدهور حيوية البذور المخزونة مع الزمن حتى عند ظروف الخزن المثالية ويبقى سبب (aging) غير واضح في حياة البذور . لقد مر بنا كيف ان العديد من العمليات يتوقف عند الرطوبة الواطئة في البذرة وانها تتغير بدرجة كبيرة عند تغير المحتوى الرطوبي فيها . من المحتمل ان آلية التعمير تتغير مع تغير المحتوى الرطوبي في البذرة . ان تفاعلات الاكسدة يمكن ان يكون لها دور في تدهور حياة البذرة وبالذات :

١ – الاكسدة الذاتية autooxidations : التي يتحمل ان يكون لها الدور الاكبر في ذلك ، وحيث ان مثل هذه العمليات تحتاج الى طاقة عالية سيما وانها تحدث عند Reg.1 الا اذا كانت تتحفز (التفاعلات) بالاضاءة لتعتمد عليها في الطاقة فلا تكون سببا في تدهور البذرة لانها تعتمد الضوء في طاقتها .

٢ – الاكسدة الانزيمية Enzymatic oxidation : كما هو الحال في lipoxidase الذي يكون فعالا في Reg.2 يمكن ان تكون له علاقة بتدهور البذرة على الاقل عند هذه الرطوبة.

٣ – عند Reg.3 : يكون احتمال التدهور او (aging) بسبب تنفس المايتوكوندريا الذي يستنزف الطاقة الغذائية من الخزين (food reserve)او بسبب الاحياء المجهرية .

توقف او عمل التفاعلات switching on and off :

تحتاج الكائنات الحية المجففة الى اضافة الماء فقط كي تستعيد فعالياتها الفسلجية . ان التجفيف هو العامل الذي يغير تخليق البروتين (من تشكل الى راحة ثم انبات بوفرة العوامل اللازمة) وتعلل هذه التغيرات على انها فيزيائية في تنظيم تسلسل تخليق البروتينات . اما في بذور الحنطة فيعتقد ان غشاء الحبة له علاقة بتنظيم حركة الماء بداخلها لاحداث الانبات وذلك مرتبط بدرجة تجفيف الحبة ، وبذا فان هذا التجفيف للحبة (ازالة الماء منها) هو تغير فيزياوي كذلك . بجانب هذه التغيرات الفيزياوية يمكن ان تكون هناك تغيرات كيمياوية لها علاقة بانشطة البذرة . مثلا في بذور الخس تصبح غير حساسة للضوء الاحمر اذا خزنت برطوبة اعلى من ٨% (dw) حيث كانت تعطي نفس نسبة الانبات (٣٠%) من ١٠% الى ٣٥% رطوبة (dw) مما يشير الى عدم تحسسها لدى تعرضها لهذا الضوء عند الرطوبة العالية .

مثال اخر في بذور الرز التي تدخل طور (after – ripening) (تفقد البذور فيها حالة السبات) وهي لا تحدث عند رطوبة اقل من ٥% وتحدث بقلة (بضعف) عند رطوبة اعلى من ١٥% او انها تحدث جيداً عند رطوبة ٥ – ١٥% .

مثال اخر كذلك في بذور بعض الاشجار مثل التفاح حيث تحتاج الى مدة تنضيد (stratification) لكسر سباتها فتصبح حساسة عند Reg.2 وحساسة اكثر عند Reg.3 .

استنادا لذلك يمكن القول انه بالاضافة الى التفاعلات الكيمياوية التي تحدث بعلاقتها مع المحتوى الرطوبي للبذرة يمكن الافتراض ان تغييرات التشكل (development) في البذرة اثناء الخزن هي نتيجة تغيرات في مركبات البذور المخزونة او انها نتيجة تفاعلات كيمياوية غير ايضية (non metabolic) تحدث في حالة البذور الجافة وعلى الاقل مناطق محددة من مناطق الرطوبة (biochemical transformation) مرتبطة بالمحتوى الرطوبي للبذرة ، وهي (التحولات) كمية ونوعية في نفس الوقت لها دورها في حياة البذرة .