



فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.ihd.iaushk.ac.ir



اثر تنش شوری بر رشد رویشی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و دفاعی در گیاه زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe.)

ایمانه دهقانی^۱، اکبر مستاجران^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی علوم، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان (مسئول مکاتبات: Iddehghani88@gmail.com)

۲- استاد دانشکده‌ی علوم، گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان

چکیده	شناسه مقاله
<p>مقدمه و هدف: گیاه زنجبیل با نام علمی <i>Zingiber officinale</i> Roscoe. متعلق به خانواده زنجبیلی (<i>Zingiberaceae</i>) می‌باشد که علاوه بر ارزش غذایی در صنایع داروسازی نیز کاربرد وسیعی دارد. به دلیل قرارگیری کشور ایران در مناطق شور، شوری یکی از مشکلات اساسی در کشت گونه‌های گیاهی بومی و نیز غیربومی نظیر زنجبیل می‌باشد و از آن جا که تنش شوری سبب فعال شدن سیستم آنتی اکسیدانی و دفاعی در گیاهان می‌باشد. لذا در پژوهش حاضر اثر سطوح مختلف تنش شوری بر روی خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه زنجبیل مورد بررسی قرار گرفت. روش تحقیق: این تحقیق در یک طرح بلوک‌های تصادفی در سه تکرار انجام شد که تیمار شوری در ۴ سطح با استفاده از کلرور سدیم در محلول غذایی هوگلند در سطوح شوری ۲ (شاهد)، ۴، ۶ و ۸ دسی زیمنس بر متر در یک دوره ۱۴ روزه بر روی گیاهان یک‌ماهه اعمال گردید. نتایج و بحث: نتایج این مطالعه نشان داد که گیاه زنجبیل دارای تحمل متوسط نسبت به نمک NaCl بوده و افزایش شوری سبب کاهش غلظت کلروفیل a، b، نسبت کلروفیل a/b و کلروفیل کل شده و در نتیجه کاهش رشد و تجمع ماده خشک را به دنبال داشت. علی‌رغم اثر مضر شوری بر رشد رویشی زنجبیل شوری ۴ dsm⁻¹ سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز و دفاعی نظیر PAL (Phenylalanine) Ammonia Lyase و TAL (Tyrosine Ammonia Lyase) نسبت به شاهد گردید ولی شوری های ۶ و ۸ dsm⁻¹ سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شد. توصیه کاربردی / صنعتی: با توجه به نتایج تحقیق به نظر می‌رسد که با کشت گیاه در شوری‌های ۲ و ۴ dsm⁻¹ بتوان از خواص آنتی اکسیدانی و دفاعی آن در صنایع غذایی، داروسازی و عطر سازی بیشتر بهره جست. احتمالاً کشت این گیاه جهت بهره‌برداری از ریزوم در شرایط کنترل شده گل-خانه‌ای و فراهم نمودن شرایط فیزیولوژیکی مناسب نیز امکان پذیر می‌باشد.</p>	<p>تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۸/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۹ نوع مقاله: پژوهشی موضوع: اکوفیزیولوژی گیاهان دارویی</p> <p>کلید واژگان:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ تنش شوری ✓ زنجبیل ✓ رشد رویشی ✓ آنزیم‌های آنتی اکسیدان

۱- مقدمه
و نیمه خشک جهان از جمله ایران وقوع می‌یابد یک تنش عمده محیطی برای گیاهان زراعی که سبب کاهش تولید غذا می‌شود (Dasgan et al., 2002 ; Choukr-Allah, 1996).

بنابراین توجه به تنش شوری به عنوان یک مشکل اساسی در ایران بسیار ضروری می‌باشد. شوری از طریق اثر متقابل یونی، اسمزی و تغذیه‌ای سبب تغییرات پیچیده‌ای در گیاه می‌شود (Khadri et al., 2007) که نتیجه آن تغییرات آناتومیکی و فیزیولوژیکی گیاه به منظور اجتناب و یا سازگاری گیاه با این عامل محیطی است. بنابراین از نظر فیزیولوژیکی شوری سبب کاهش رشد رویشی گیاه نظیر کاهش وزن تر و خشک و نیز کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین طی تنش شوری مانند سایر تنش‌ها انواع اکسیژن فعال نظیر رادیکال سوپر اکسید (O₂⁻)، پراکسید هیدروژن (H₂O₂) و رادیکال هیدروکسیل (OH⁻) تولید می‌شوند و سبب آسیب به غشاهای و سایر ماکرومولکول‌های مهم می‌شوند (Hernandez et al., 1993). شواهد

گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* Roscoe. متعلق به خانواده زنجبیلی (*Zingiberaceae*) می‌باشد. این گیاه در ایران در تناوب زراعی قرار نداشته و به طور خودرو نیز نمی‌روید، ولی گونه گیاهی *Inula helenium* L. متعلق به خانواده ستاره آسا (*Asteraceae*) تحت عنوان زنجبیل شامی در ایران در اطراف تهران، غرب و نواحی شمالی به طور پراکنده رشد می‌کند (صمصام شریعت، ۱۳۷۴). قطعات ریزوم خشک این گیاه در بازارهای ایران به نام زنجبیل به فروش می‌رسد (زرگری، ۱۳۷۰؛ قاسمی دهکردی، ۱۳۸۱). ریزوم زنجبیل به عنوان ادویه‌ای مطبوع و اشتها آور در صنایع غذایی (قاسمی دهکردی، ۱۳۸۱؛ Bone, 1990; Hill, 1952) و برای ساخت اسانس و تأمین اولتوزوزین مورد نیاز در صنایع عطر سازی استفاده می‌شود، هم‌چنین به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد قارچی قوی، زنجبیل در صنایع داروسازی ارزش فوق العاده‌ای دارد. تنش شوری که معمولاً در مناطق خشک



شکل ۱- انتقال گیاهچه‌های زنجبیل به محیط آب کشت

۲-۲-۱- اعمال تیمار شوری

پس از رسیدن گیاهان به مرحله دو تا سه برگه تیمار شوری آغاز گردید. تیمارها در چهار سطح شوری از کلوروسدیم با EC ۲ (شاهد)، ۴، ۶ و ۸ dsm^{-1} به عنوان تنش شوری در یک طرح بلوک‌های تصادفی در ۳ تکرار اعمال گردید. گیاهچه‌ها پس از ۳۰ روز به محیط نمکی جهت اعمال تیمار منتقل گردید؛ به این ترتیب که ابتدا به منظور سازگاری، گیاهچه‌ها به مدت ۷ روز در سطح شوری ۴ dsm^{-1} و سپس به مدت ۷ روز در سطوح تیمار ۴، ۶ و ۸ dsm^{-1} قرار گرفت.

۲-۲-۳- جمع‌آوری و آماده کردن نمونه‌های گیاهی

نمونه‌های گیاهی پس از یک دوره ۱۴ روزه تیمار دهی برداشت گردید و وزن تر اندام‌های مختلف گیاه نظیر ساقه، برگ، ریشه و ریزوم توزین شد. ۰/۰۵ گرم از وزن تر بخش‌های مختلف گیاه جدا شده و نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک با دمای ۷۰°C قرار گرفت. و بعد از ثابت شدن وزن ثانویه، وزن خشک هر بخش از گیاه محاسبه گردید.

۲-۲-۴- تجزیه‌های آنزیمی

- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم بر اساس سرعت ناپدید شدن آب اکسیژنه با استفاده از روش تجرا و هم‌کاران (Tejera et al., 2007) با کمی تغییرات ارزیابی شد.

- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL و TAL

عصاره‌گیری و ارزیابی فعالیت آنزیم‌ها بر اساس روش بیودیون-اگان و ترپه (Beaudoin-Egan & Thorpe, 1985) انجام شد.

بسیار خوبی مبنی بر وجود ارتباط بین کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش تحمل به نمک و کارایی سیستم آنتی اکسیداتیو وجود دارد (Alscher et al., 2002; Borsani et al., 2003; Acar et al., 2001) Hasegawa et al., 2000; Cacmak et al., 1993 (Scandalios, 1993).

از آنزیم‌های دخیل در کاهش آسیب اکسیداتیو، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. جمع‌آوری کننده اولیه H_2O_2 آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD; EC 1.15.1.1) می‌باشد که (O_2^-) را به (H_2O_2) تبدیل می‌کند. محصول سمی این واکنش به وسیله آسکوربات پراکسیداز (APOX; EC 1.11.1.11) از بین رفته و در آخر به کمک دو آنزیم دی‌هیدرو آسکوربات ردوکتاز (EC 1.8.5.1) و گلوکاتایون ردوکتاز (EC 1.6.4.2) (Asada & Takahashi, 1987; Salin, 1991) توسط کاتالاز (EC 1.11.1.6) جمع‌آوری می‌گردد (Dhindsa et al., 1981). کارایی این آنزیم نسبت به سیستم آسکوربات پراکسیداز-گلوکاتایون ردوکتاز (APOX-GR) کمتر می‌باشد. در اثر تنش شوری در متابولیسم ثانویه گیاه تغییراتی رخ داده و ممکن است مکانیسم دفاعی گیاه را بر هم بزند. نمونه‌ای از این تغییرات، تغییر فعالیت آنزیم PAL و TAL در پاسخ به تنش شوری می‌باشد که منجر به افزایش میزان تولید ترکیبات فنلی و سبب تغییر در پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌گردد (Nemat Alla & Younis, 1995). آنزیم PAL و TAL که از طریق دامینه کردن فنیل آلانین و تیروزین و با آزادسازی یک یون آمونیوم به ترتیب p-cinnamic acid و coumaric acid را تولید می‌کنند. گاهی اوقات به عنوان آنزیم‌های کلیدی بیوزنز فیتوآلکسین‌ها در بافت‌های گیاهی برای دفاع گیاهی در برابر عوامل تنش زیستی و غیر زیستی (Redman, 1999) و به عنوان شاخص تنش به کار می‌روند (Hoagland & Duke, 1981).

با توجه به غیر بومی بودن و عدم رویش گیاه زنجبیل در ایران و نیز با نظر به این که تنش شوری در ایران یکی از مشکلات عمده کشت گونه‌های غیر بومی می‌باشد؛ هم‌چنین به دلیل وجود پتانسیل آنتی اکسیداتیو بسیار زیاد در گیاه زنجبیل و احتمال بالارفتن این پتانسیل در شرایط تنش در این تحقیق ابتدا تأثیر تنش شوری بر میزان رشد رویشی جهت ارزیابی میزان تحمل به نمک گیاه زنجبیل و سپس پاسخ گیاه به شوری از نظر میزان تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو کاتالاز و آنزیم‌های دفاعی PAL و TAL بررسی شد. بررسی میزان تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو و دفاعی در گیاه زنجبیل به دلیل اهمیت فوق العاده این آنزیم‌ها در بهبود تحمل به نمک و نیز افزایش میزان ترکیبات فنلی و در نهایت بالا رفتن میزان خواص دارویی گیاه زنجبیل می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- کشت گیاهان در محیط آب کشت (هیدروپونیک)

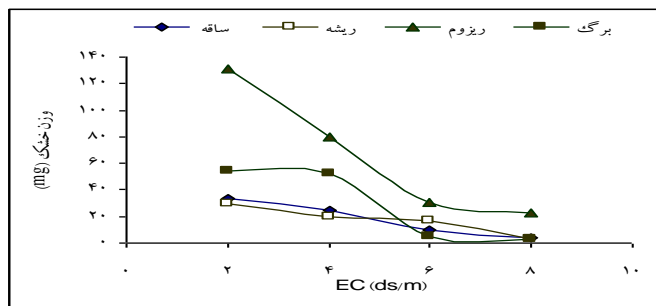
قطعات ریزوم زنجبیلی که حداقل دارای یک جوانه رویشی بودند پس از ضد عفونی شدن با قارچ کش بنومیل ۱/۰٪ به منظور جوانه‌زنی در گلدان‌های کوچک حاوی پرلیت دانه درشت به مدت ۱۴-۲۱ روز در دمای $25 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت $60 \pm 5\%$ درصد کشت شدند. گیاهچه‌ها پس از ایجاد ریشه از ریزوم مادری جدا گشته و پس از ضد عفونی شدن با قارچ کش بنومیل ۱/۰٪ به محیط آب کشت (هیدروپونیک) اتوکلاو شده حاوی محلول غذایی هوگلدن با اسیدیته ۶/۵ منتقل و در محیطی با دمای $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ، رطوبت $60 \pm 5\%$ درصد و شدت نور ۱۲۰۰-۱۴۰۰ لوکس با فتوپریود ۸/۱۶ (روشنایی/تاریکی) در فاصله ۳۰ سانتی متری منبع نوری از گیاه در طول دوره رشد نگهداری شدند. محلول غذایی دو بار در هفته تعویض گردید (شکل ۱).

پدیده رایج در مطالعات متعددی گزارش و دلایل مختلفی برای این کاهش ذکر می‌گردد، از جمله این که تنش شوری از طریق تخریب غشای تیلاکوئیدی سبب کاهش میزان کلروفیل گردد (Ashraf & Bhatti, 2000). براساس نتایج این تحقیق و گزارشات قبلی (Demiral et al., 2005) به نظر می‌رسد که یکی دیگر از دلایل کاهش میزان کلروفیل کل احتمالاً می‌تواند به دلیل تأثیر شوری بر روی بسته شدن روزنه‌ها باشد (Kawasaki et al., 2001). نتایج این تحقیق با نتایج سایرین (Netondo et al., 2004) بر روی گیاه ذرت خوشه‌ای (سورگوم) مطابقت دارد. بنابراین کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز عدم عملکرد صحیح روزنه‌ها با افزایش سدیم در محیط سبب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاهچه‌های زنجبیل می‌گردد (Netondo et al., 2004).

۳-۲- اثر تنش شوری بر وزن خشک

با توجه به نتایج حاصل، در بین اندام‌های مختلف گیاه به ترتیب ریزوم، برگ، ساقه و ریشه بیشترین وزن خشک را دارا بودند (شکل ۳ و جدول ۱) که نتایج به دست آمده احتمالاً به این دلیل است که ریزوم به عنوان یک اندام ذخیره کننده جهت حفظ بقای گیاه به ویژه در شرایط نامساعد عمل می‌کند و هم‌چنین در برگ واکنش‌های فتوسنتزی انجام می‌گردد.

بنابراین گیاه با استفاده از فرآیندهای تحمل به نمک سعی در حفظ این دو اندام حیاتی دارد ولی با توجه به این که شوری سبب کاهش شدید وزن خشک ریشه گردید، بنابراین به نظر می‌رسد که علی‌رغم این تلاش‌ها شوری سبب وارد شدن حجم بسیار زیاد سدیم به درون گیاه و تخریب سیستم‌های آنزیمی و سنتز پروتئین گشته و میزان فتوسنتز را از طریق کاهش میزان رنگدانه‌ها و در نتیجه رشد و توسعه سلولی کاهش می‌دهد. بنابراین کاهش‌های شدید در وزن ریشه را به دلیل سمیت سدیم می‌توانست دانست.



شکل ۳- اثر تنش شوری بر مقدار وزن خشک اجزاء مختلف گیاه زنجبیل

هم‌چنین مقادیر وزن خشک در اندام‌های مختلف گیاه با یکدیگر تفاوت داشت (جدول ۱). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که شوری ۶ و ۸ dsm^{-1} نسبت به ۲ و ۴ dsm^{-1} اثر بیشتری بر روی کاهش وزن خشک برگ دارد و افزایش شوری سبب کاهش بیشتر وزن خشک بخش‌های هوایی می‌گردد که می‌تواند به دلیل افزایش غلظت سدیم و کلر در این قسمت‌ها از طریق افزایش در سرعت انتقال سدیم و کلر به اجزای هوایی باشد که خود سبب کاهش رشد این اندام‌ها (Barret-Lennard, 2003) خواهد شد.

با توجه به نتایج به دست آمده، مشاهده می‌شود که ریشه در شوری‌های ۲ و ۴ dsm^{-1} به دلیل تماس مستقیم با محلول نمک از تنش شوری رنج برده و کمترین میزان وزن خشک را تولید

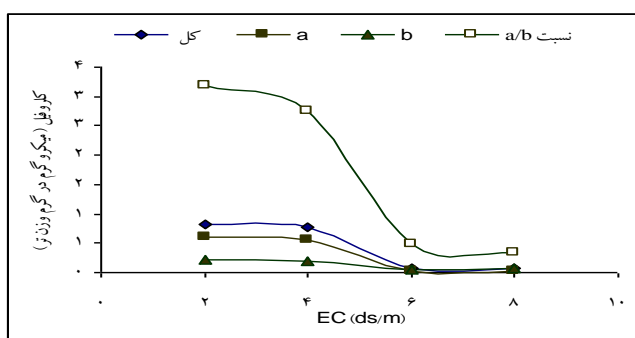
۲-۵- اندازه‌گیری مقدار کلروفیل

مقدار کلروفیل a, b و کلروفیل کل با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1949) بر حسب میلی‌گرم در بافت گیاهی محاسبه گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اثر تنش شوری بر رشد رویشی

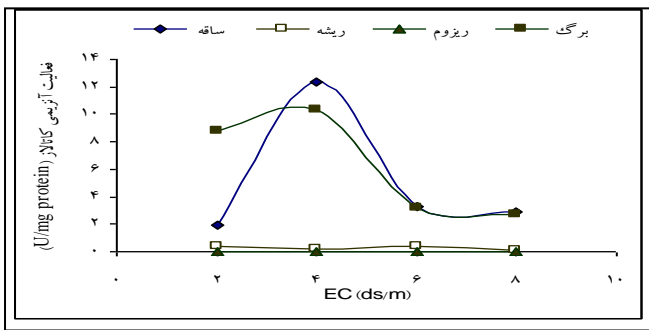
افزایش شوری سبب کاهش مقدار کلروفیل a, b و کلروفیل کل گردید و نیز میزان کلروفیل در شوری ۶ و ۸ dsm^{-1} نسبت به شاهد کاهش یافت. کاهش در میزان کلروفیل a و b سبب کاهش نسبت کلروفیل a/b و میزان کلروفیل کل گردید، به طوری که با افزایش شوری از ۴ dsm^{-1} به ۶ dsm^{-1} نسبت کلروفیل a/b به میزان ۸۸/۹٪ کاهش یافت و افزایش شوری در سطح ۶ و ۸ dsm^{-1} به ترتیب سبب کاهش ۹۰٪ و ۹۰/۱٪ میزان کلروفیل کل برگ نسبت به شاهد گردید. این نتایج با یافته‌های سایرین (Reddy & Vora, 1986; Netondo et al., 2004) مطابقت دارد. نتایج مطالعات آن‌ها نشان می‌دهد که کاهش غلظت کلروفیل در سلول‌های مزوفیل برگ به دلیل اثر بازدارنده شوری بر سنتز کلروفیل و یا تشدید تجزیه آن می‌باشد که این کاهش غلظت بر روی مقدار جذب خالص CO_2 فتوسنتزی اثر می‌گذارد (شکل ۲) و با افزایش شوری میزان کلروفیل کاهش می‌یابد.



شکل ۲- تغییر در مقدار و نسبت انواع کلروفیل برگ گیاه زنجبیل در اثر تیمار شوری

نتایج این تحقیق نشان دهنده تأثیر آشکار غلظت نمک بر مقدار رنگدانه گیاهچه‌های زنجبیل می‌باشد، به طوری که سطوح شوری بالا سبب کاهش معنی‌دار میزان رنگدانه‌های a, b و در نتیجه کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان شاهد می‌شود که با نتایج به دست آمده توسط آل صبحی و هم‌کاران (Al-Sobhi et al., 2006) مطابقت دارد. هم‌چنین عدم تغییر میزان رنگدانه در غلظت نمک پائین و در عوض کاهش شدید میزان کلروفیل در شوری‌های بسیار بالا با نتایج آل صبحی و هم‌کاران (Al-Sobhi et al., 2006) مطابقت دارد.

به طور کلی میزان کلروفیل به طور چشم‌گیری در تیمارهایی با غلظت نمک بالا کاهش پیدا می‌کند که ممکن است به این دلیل باشد که میزان کلروفیل کل و اجزاء آن (کلروفیل a و b) به نوع و غلظت نمک موجود در اطراف ریشه وابسته می‌باشد و این نتایج با نتایج سایرین (Hajar et al., 1993; Ahmed et al., 1978) مطابقت می‌کند. نتایج نشان می‌دهند که کلروفیل a نسبت به کلروفیل b غالب بوده اما با افزایش سطوح شوری اختلاف مقادیر این دو رنگدانه فتوسنتزی کمتر و در نتیجه نسبت کلروفیل a/b کاهش می‌یابد که با نتایج به دست آمده در مورد سایر گیاهان مطابقت دارد (Hajar et al., 1993). در کل کاهش در میزان رنگدانه کلروفیل در اثر تنش شوری به عنوان یک



شکل ۴- اثر افزایش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه زنجبیل

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش شوری در ساقه افزایش می‌یابد و این در حالی است که ریشه به دلیل تماس مستقیم با محلول نمکی فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمی دارد، به طوری که با افزایش غلظت نمک از 4 dsm^{-1} فعالیت آنزیمی کم می‌شود که احتمالاً به دلیل آسیب ناشی از ورود نمک به ریشه، سیستم سنتز پروتئین غیر فعال شده و قادر به بیان ژن‌های کد کننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ریشه نمی‌باشد و میزان ROS بیش از حد سبب تخریب سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی (Alscher *et al.*, 2002) از حد سبب تخریب سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی (Asada & Takahashi, 1987 ; توزیع نمک در سایر اجزای گیاه غلظت نمک و در نتیجه میزان ROS تولید شده کمتر شده و به حدی است که سبب تخریب سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی نمی‌گردد، بنابراین با افزایش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز در ساقه افزایش می‌یابد. پیشنهاد شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز برای حذف اثر سمیت H_2O_2 تولید شده در شرایط تنش ضروری می‌باشد (Willekens *et al.*, 1995).

شواهد بسیار خوبی مبنی بر وجود ارتباط بین کاهش آسیب‌آکسیداتیو و افزایش تحمل به نمک و سایر تنش‌های محیطی و کارایی سیستم آنتی‌اکسیداتیو وجود دارد (Cacmak *et al.*, 1993; Borsani *et al.*, 2003; Hasegawa *et al.*, 2000 ; Scandalios, 1993).

نموده‌است (جدول ۱). بنابراین بر طبق نتایج این تحقیق گیاه زنجبیل از طریق سازوکارهای ذکر شده در بالا قادر به تحمل اولین سطح شوری یعنی 4 dsm^{-1} می‌باشد ولی افزایش شوری از این حد سبب کاهش رشد شدید گیاه می‌گردد. نتایج این تحقیق با نتایج میر و هم‌کاران (Mer *et al.*, 2000) بر روی جو مطابقت دارد.

کاهش رشد رویشی و به عبارت دیگر کاهش وزن خشک در اثر تیمار شوری در هر چهار اندام برگ، ساقه، ریشه و ریزوم احتمالاً به دلیل کاهش سطح فتوسنتز و هم‌چنین کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی نظیر کلروفیل a و b، جذب خالص CO_2 و هدایت روزنه‌ای و بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش شوری می‌باشد (Netondo *et al.*, 2004). عامل محتمل دیگری که سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد اثر بازدارنده تنش شوری بر روی فرآیند جذب و انتقال مواد فتوسنتزی می‌باشد (Demiral *et al.*, 2005). کاهش توان فتوسنتزی تحت شرایط تنش شوری، با کاهش کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II (PSII) در نتیجه تأثیر ساختاری شوری بر فتوسیستم II در ارتباط است (El-Shintinway, 2000; Lutts *et al.*, 1996). به طور کلی کاهش وزن خشک در اثر تنش شوری به دلیل کاهش جذب آب و بازدارندگی محصولات فتوسنتزی و سنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشد (Nemat Alla *et al.*, 2002). نتایج این تحقیق با نتایج سقیب و هم‌کاران (Saqib *et al.*, 2005) مطابقت دارد و نشان می‌دهد که در اثر افزایش شوری سرعت فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و رشد اندام هوایی کاهش می‌یابد (Al-Yassin, 2004; Saqib *et al.*, 2002; Çiçek & Cakirlar, 2002; Munns *et al.*, 2000; 2005).

۳-۳- اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که در گیاه زنجبیل با افزایش شوری تا 4 dsm^{-1} میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد افزایش یافته و سپس با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه گیاه تا میزان ۶ و 8 dsm^{-1} کاهش می‌یابد. غلظت پایین نمک (4 dsm^{-1}) در ریشه و برگ سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد گردیده و این در حالی است که با افزایش شوری از 6 dsm^{-1} به بالا آسیب ناشی از نمک شدید شده و سبب کاهش چشم‌گیر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد می‌گردد. در ریزوم نیز با افزایش شوری تا ۴ و 6 dsm^{-1} فعالیت آنزیم تغییر معنی‌داری نکرده ولی با افزایش شوری در سطح 8 dsm^{-1} میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش می‌یابد. در ساقه روند افزایشی در فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش شوری نسبت به شاهد مشاهده می‌شود (شکل ۴).

جدول ۱- میانگین وزن خشک اندام‌های مختلف زنجبیل در سطوح مختلف شوری

مقدار کل وزن خشک (mg)	ریزوم		برگ		ساقه		ریشه		شوری (dsm^{-1})
	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	
۲۴۸/۵	-	۱۳۰/۸ ^a	-	۵۴/۴ ^a	-	۳۳/۸ ^a	-	۲۹/۵ ^a	۲
۱۷۶/۸	-۳۹/۳	۷۹/۴ ^b	-۳/۵	۵۲/۵ ^a	-۲۶/۶	۲۴/۸ ^b	-۳۱/۸	۲۰/۱ ^a	۴
۶۱/۲	-۷۶/۸	۳۰/۴ ^c	-۹۱/۶	۴/۶ ^b	-۷۱/۸	۹/۵ ^c	-۴۳/۲	۱۶/۷ ^b	۶
۳۲/۲	-۸۲/۶	۲۲/۷ ^d	-۹۵/۴	۲/۵ ^c	-۸۷/۹	۴/۱ ^d	-۸۹/۹	۳/۰ ^c	۸

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌داری است.

جدول ۲- مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز (Umg⁻¹ protein) در بافت تر و نسبت تغییرات آن در سطوح مختلف تیمار شوری

مقدار میانگین فعالیت آنزیم	ریشه		ساقه		برگ		ریزوم		شوری (dsm ⁻¹)
	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	
۲	۰/۴۲ ^a	-	۱/۹ ^a	-	۸/۸ ^a	-	۰/۰۴ ^a	-	۲/۸
۴	۱/۲۸ ^b	۲۰۲/۸	۱۲/۴ ^b	۵۴۴/۰	۱۰/۳ ^b	۱۷/۰	۰/۰۴ ^a	۴/۲	۶
۶	۰/۴۲ ^a	-۱/۳	۳/۳ ^c	۱۷۰/۶	۳/۲ ^c	-۶۳/۸	۰/۰۴ ^a	۱۰/۸	۱/۷
۸	۰/۰۶ ^a	-۸۶/۱	۲/۹ ^d	۵۲/۲	۲/۷ ^d	-۶۸/۷	۰/۰۱ ^b	-۸۳/۵	۱/۴

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی داری است.

بازدارندگی آنزیم کاتالاز در اندام‌های مختلف، متنوع است زیرا که غلظت سدیم در اندام‌ها متفاوت می‌باشد. بنابراین می‌توان چنین بیان نمود که متفاوت بودن فعالیت آنزیمی در ریشه، ساقه، برگ و ریزوم می‌تواند به دلیل تأثیر غلظت‌های متفاوت NaCl در این اندام‌ها باشد که این مطلب با نتایج به دست آمده از روند تغییرات سدیم در اثر شوری مطابقت دارد. به عبارت دیگر به ترتیب برگ، ریشه، ساقه و ریزوم بیشترین سدیم را دارا می‌باشند و بیشتر بودن سدیم ریشه سبب بازدارندگی بیشتر آنزیم کاتالاز و کاهش بیشتر فعالیت آنزیم می‌باشد. چنان‌چه مشاهده می‌شود در اندام‌های متفاوت گیاه، ریشه کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز را دارا می‌باشند. شاهد دیگر برای این مدعا نتایج به دست آمده از سایر مطالعات (Shimizu & Kobayashi, 1984) است که بیان کردند فعالیت کاتالاز به وسیله رادیکال سوپر اکسید و سایر ROS ها بازداشته می‌شوند و نیز اینگنل و هم کاران (Engel et al., 2006) بیان کردند که اغلب، کاتالاز توسط یک واکنش نیمه حساس و وابسته به O₂ غیر فعال می‌گردند (Hernandez et al., 1993; Hernandez et al., 2003; Hsu & Kao, 2003; خدری و هم کاران (Khadri et al., 2007) دریافتند که تنش شوری سبب بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز می‌شود اما فعالیت این آنزیم‌ها به طور معنی داری در حضور پرولین در مقایسه با عدم حضور پرولین بیشتر بود (Halliwell, 1987; Foyer & Halliwell, 1976; Khadri et al., 2007) و این نشان می‌دهد که پرولین دارای فعالیت آنتی اکسیدانی نیز می‌باشد (Okuma et al., 2004). این نتایج با یافته‌های خدری و هم کاران (Khadri et al., 2007) مشابه می‌باشد که مشاهده کردند فعالیت کاتالاز و پراکسیداز طی تنش شدید شوری کاهش پیدا می‌کند ولی در حضور پرولین افزایش می‌یابد.

۳-۴ اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم PAL و TAL

نتایج حاصل نشان داد که مقادیر فعالیت آنزیم PAL در اثر افزایش شوری در اندام‌ها متفاوت می‌باشند (جدول ۳). در ریشه میزان فعالیت آنزیم در شوری ۴، ۶ و ۸ dsm⁻¹ نسبت به شاهد افزایش نشان می‌دهد ولی نسبت این افزایش در شوری ۴ dsm⁻¹ بیشتر بوده و در شوری‌های بالاتر نسبت افزایش فعالیت آنزیم نسبت به شاهد کاهش می‌یابد که احتمالاً نشان دهنده اثر سدیم بر روی فعالیت آنزیم می‌باشد. روند افزایش در فعالیت آنزیم ریشه نسبت به شاهد نشان می‌دهد که آنزیم PAL نقش دفاعی در برابر

آسیب‌های ناشی از تنش داشته و آسیب وارده را جبران می‌نماید البته کارایی این آنزیم با افزایش شوری کاهش می‌یابد. بنابراین در ریشه با افزایش شوری انتظار افزایش محسوسی در ترکیبات فنلی نمی‌رود. میزان فعالیت آنزیم PAL ریزوم در اثر افزایش شوری در سطح ۴ و ۶ dsm⁻¹ نسبت به شاهد تغییر چندانی نکرده ولی با افزایش شوری تا ۸ dsm⁻¹ نسبت به شاهد افزایش می‌یابد که با توجه به غلظت پائین سدیم در شوری کمتر در ریزوم اثر بازدارندگی روی آنزیم کمتر بوده و نیز در اثر افزایش بیوسنتز پرولین فعالیت بیشتر آنزیم PAL سبب افزایش ترکیبات فنلی می‌گردد (احتمالاً از طریق مسیر بیوسنتز پنتوز فسفات وابسته به پرولین). افزایش بیوسنتز پرولین در اثر تنش شوری سبب فعال شدن آنزیم‌های مسیر پنتوز فسفات در سیتوزول شده (Phang, 1985) و به این ترتیب سبب افزایش تولید قندهای ۵ کربنه، بازهای پورین و تحریک مسیر فنیل پروپانوئید جهت تولید ترکیبات دفاعی فنلی (Shetty, 1997) در برابر تنش شوری می‌گردد که خود نوعی سازوکار برای تخفیف دادن اثر شوری بر روی گیاه از طریق افزایش جمع آوری ROS و کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

جدول ۴ نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم TAL مشابه آنزیم PAL در ریشه با افزایش شوری نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده ولی نسبت این افزایش در شوری بالای ۴ dsm⁻¹ بسیار کمتر می‌گردد که نشان دهنده نقش دفاعی این آنزیم نسبت به شوری می‌باشد. در ساقه مشابه آنزیم PAL فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد افزایش پیدا می‌کند که آن را می‌توان به دلیل پائین تر بودن غلظت سدیم در ساقه دانست. در برگ‌ها روندی مشابه با ساقه در فعالیت آنزیم TAL مشاهده می‌گردد به طوری که حتی در غلظت‌های بالای نمک میزان فعالیت نسبت به کنترل افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد آنزیم PAL در مقایسه با آنزیم TAL نسبت به غلظت‌های ۶ و ۸ حساس تر می‌باشد و فعالیت آن کاهش می‌یابد (شکل ۷). آنزیم TAL در ریزوم گیاه بر خلاف آنزیم PAL نسبت به شاهد کاهش فعالیت نشان داد که این کاهش فعالیت در مورد آنزیم TAL احتمالاً نشان دهنده حساسیت بیشتر نسبت به PAL می‌باشد و در ریزوم فعالیت آنزیم PAL بیشتر از TAL می‌باشد. شل و پارکر (Schell & Parker, 1990) پیشنهاد کردند که مسیر فنیل پروپانوئید به راحتی به وسیله تغییر در فعالیت آنزیم‌های کلیدی PAL و TAL فعال می‌شود.

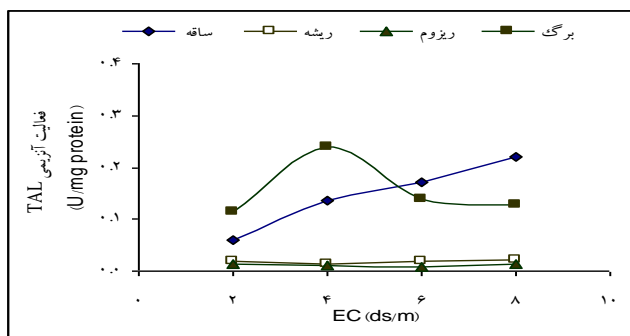
جدول ۳- مقدار فعالیت آنزیم PAL (Umg^{-1}) در بافت تر و نسبت تغییرات آن در سطوح مختلف تیمار شوری

مقدار میانگین فعالیت آنزیم	ریشه		برگ		ساقه		شوری (dsm^{-1})
	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	
۰/۰۹۲	۰/۰۰۷ a	-	۰/۳۱۵ a	-	۰/۰۰۴ a	-	۲
۰/۱۷۹	۰/۱۳۲ b	۱۹۵۱/۳	۰/۵۴۲ b	۷۲/۰	۰/۰۰۹ b	۱۴۹	۴
۰/۰۵۷	۰/۰۲۷ a	۳۱۱/۲	۰/۱۳۶ c	-۵۶/۸	۰/۰۰۹ b	۱۶۶/۹	۶
۰/۰۵۵	۰/۰۱۵ a	۱۲۵/۹	۰/۱۰۰ d	-۶۸/۲	۰/۰۱۰ b	۱۷۲/۲	۸

جدول ۴- مقدار فعالیت آنزیم مقادیر فعالیت آنزیم TAL (Umg^{-1} protein) در بافت تر و نسبت تغییرات آن در سطوح مختلف تیمار شوری

مقدار میانگین فعالیت آنزیم	ریشه		برگ		ساقه		شوری (dsm^{-1})
	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	مقدار (mg)	%	
۰/۰۵	۰/۰۲ a	-	۰/۱۱ a	-	۰/۰۶ a	-	۲
۰/۱۲	۰/۰۹ b	۴۰۶/۴	۰/۲۴ b	۱۰۹/۲	۰/۱۴ b	۱۲۸/۵	۴
۰/۰۹	۰/۰۲ a	۴/۱	۰/۱۴ a	۲۱/۵	۰/۱۷ c	۱۸۵/۴	۶
۰/۰۹	۰/۰۲ a	۲۷/۲	۰/۱۳ a	۱۲/۷	۰/۲۲ d	۲۶۶/۵	۸

تیروزین عمل کرده و با آزاد سازی یک یون آمونیوم t-cinnamic acid و p-coumaric acid را به ترتیب تولید می کند (Hoagland & Duke, 1981). افزایش فعالیت آنزیم PAL سبب آثار مخربی نیز می شود که نتیجه آن بازداشته شدن رشد و مرگ گیاه می باشد. ثابت شده است که فعالیت زیاد آنزیم PAL ممکن است Phe را از جریان سنتز پروتئین و سایر فرآیندهای سلولی خارج نماید (Hoagland and Duke, 1981).

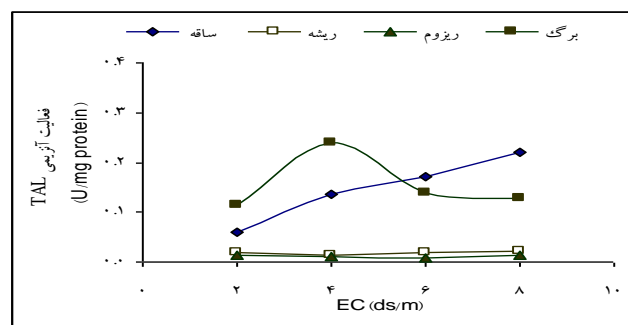


شکل ۵- اثر افزایش شوری بر میزان فعالیت آنزیم مقادیر فعالیت آنزیم PAL در گیاه زنجبیل

افزایش فعالیت آنزیم PAL در برگ، ساقه و ریشه و آنزیم TAL در برگ و ساقه با افزایش شوری از ۲ به ۴ dsm^{-1} احتمالاً به دلیل وجود یک فرآیند دفاعی در گیاه جهت مقابله با اثرات مخرب ROS ایجاد شده می باشد و کاهش فعالیت آنزیمها با افزایش شوری بالاتر از این حد احتمالاً به دلیل اثرات بازدارنده غلظت بالای ROS بر روی فعالیت این آنزیمها می باشد.

لازم به ذکر است که در اثر تنش شوری در ساخت ترکیبات ثانویه تغییراتی رخ داده و ممکن است فرآیند دفاعی گیاه را بر هم بزند. نمونه ای از این تغییرات تغییر فعالیت آنزیم PAL و TAL می باشد که سبب تولید ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی و غیره شده و در نتیجه سبب تغییر در پاسخهای دفاعی گیاه می گردد (Nemat Alla & Younis, 1995). نتایج ما با نتایج به دست آمده توسط نعمت الله و یونس (Nemat Alla & Younis, 1995) مطابقت دارد. تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان تحت تنش به دلیل تحریک فعالیت PAL و TAL می باشد. این نتایج ثابت می کند که این آنزیمها از طریق تولید فنیل پروپانوئیدها تشکیل ترکیبات فنلی را کنترل می کنند. بنابراین به نظر می رسد که هر تغییری در فعالیت این آنزیمها می تواند سبب تغییر در تشکیل ترکیبات ثانویه گردند. این نتیجه گیری بر طبق نتایج به دست آمده توسط سایرین (Hoagland & Duke, 1981; Nemat Alla & Younis, 2002) که ثابت کردند که ترکیبات ثانویه از جمله ترکیبات فنلی به وسیله آنزیمهای PAL و TAL و Chalcone isomerase کنترل می شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که آنزیم PAL و TAL از طریق دامینه کردن فنیل آلانین و

- Arnon, D. I. 1949. Copper enzyme in isolated chloroplasts, 1, Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- Asada, K. & Takahashi, M. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: D.J. Kyde, C.J. Osmond and C. Arntun (Editors), Photo-inhibition. Elsevier, Amsterdam, PP. 227-287.
- Ashraf, M. Y. & Bhatti, A. S. 2000. Effect of salinity on growth and chlorophyll content of rice. *Pakistan Journal of Sciences Indian Research*, 43: 130-131.
- Barret-Lennard, E. G., 2003. The interaction between waterlogging and salinity higher plants: Causes, consequences and implications. *Plant Soil*, 253: 35 - 54.
- Beaudoin-Egan, L. D. & Thorpe, T. A., 1985. Tyrosine and phenylalanine ammonialyase activities during shoot inhibition in tobacco callus cultures. *Plant Physiology*, 78: 438-441.
- Bone, M. E. 1990. Root a new antiemetic. The effect of ginger root on postoperative nausea and vomiting after major gynecological surgery. *Anaesthesia*, 45: 669-671.
- Borsani, O., Valpuesta, V. & Botella, M. A. 2003. Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 73: 101-115.
- Cacmak, I., Strbac, D. & Marschner, H. 1993. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seed. *Journal of Experimental Botany*, 44: 127-132.
- Chaparzadeh, N., Amico, M. L., Nejad, R. K., Izzo, R. & Izzo, F. N. 2004. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42: 695-701.
- Choukr-Allah, R. 1996. The potential of halophytes in the development and rehabilitation of arid and semi-arid zones. In: R. Choukr-Allah, C.V. Malcolm and A. Hamdy (Editors), *Halophytes and Biosaline Agriculture*. Marcel Dekker, New York, USA, PP. 3-13.
- Çiçek, N. & Cakırlar, H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Plant Physiology*, 28: 66-74.
- Dasgan, H.Y., Aktas, H., Abak, K. & Cakmak, I. 2002. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses. *Plant Science*, 163: 695-703.
- Demiral, M. A., Aydin, M. & Yorulmaz, A., 2005. Effect of salinity on growth chemical composition and antioxidative enzyme activity of two Malting Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 29: 117-123.
- Dhindsa, R. A., Plumb-Dhindsa, P. & Thorpe, T. A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 126: 93-101.
- Engel, N., Schmidt, M., Lutz, C. & Feierabend, J. 2006. Molecular identification, heterologous expression and properties of light-insensitive plant catalases. *Plant, Cell and Environment*, 29: 593-607.
- El-Shintinway, F. 2000. Photosynthesis in two wheat cultivars differing in salt susceptibility. *Photosynthetica*, 38: 615-620.
- Foyer, C. H. & Halliwell, B. 1976. The presence of glutathion and glutathion reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133: 21-25.
- Hajar, A.S., Heikal, M.M., Maghrabi, Y.M. & Abuzinadah, R.A. 1993. Responses of *Arachis ahyogaea* (Peanut) to salinity stress. *Journal of King University Science*, 5: 5-13.
- Halliwell, B. 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation, and antioxidant protection in chloroplasts. *Chemistry and Physics of Lipids*, 44: 327-340.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. & Bohnert, H. J. 2000. Plant cellular and molecular response to high salinity. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 463-499.



شکل ۶- اثر افزایش شوری بر میزان فعالیت آنزیم مقادیر فعالیت آنزیم TAL در گیاه زنجبیل

۴- نتیجه گیری

با توجه به مشاهدات تحقیق حاضر می توان چنین نتیجه گیری نمود که زنجبیل گیاهی است با دارای تحمل متوسط نسبت به نمک NaCl، به طوری که تا شوری ۴ $ds\ m^{-1}$ تحمل سازش با نمک را داشته و سیستم های آنتی اکسیدانی و دفاعی گیاه تا این سطح شوری تشدید شده و فعالیت آنزیم ها افزایش پیدا می کند، ولی افزایش شوری تا ۶ و ۸ $ds\ m^{-1}$ سبب تخریب این سیستم ها و کاهش فعالیت آنزیمی می گردد که خود به دلیل آسیب ناشی از سمیت سدیم می باشد، ولی به هر حال تا حدودی افزایش آنتی اکسیدان ها در مقایسه با شاهد مشاهده می گردد. از طرفی ورود یون سدیم به داخل گیاه به دلیل عدم وجود فرآیند ممانعت از ورود سدیم به ریشه بر روی دستگاه فتوسنتزی تأثیر داشته و کاهش رنگدانه های فتوسنتزی و نیز عدم عملکرد صحیح روزه ها با افزایش سدیم در محیط سبب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاهچه های زنجبیل و کاهش تجمع ماده خشک می گردد. با توجه به نتایج به دست آمده شاید بتوان با کشت گیاه در شوری های ۲ و ۴ $ds\ m^{-1}$ از خواص آنتی اکسیدانی و دفاعی آن بیشتر بهره برداری نمود.

۵- منابع مورد استفاده

- زرگری، ع. ۱۳۷۰. گیاهان دارویی. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. صفحات: ۵۵۲-۵۵۶.
- مصمص شریعت، ه. ۱۳۷۴. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. نشر مانی، اصفهان. صفحات: ۲۷۴-۲۷۵.
- قاسمی دهرکردی، ن. ۱۳۸۱. فارماکوپه گیاهی ایران. وزارت بهداشت- درمان و آموزش پزشکی، معاونت غذا و دارو، ۳۸۷-۳۹۴.
- Acar, O., Turkan, I. & Ozdemir, F. 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Acta Physiologia Plantarum*, 23: 351-356.
- Ahmed, A. M., Heikal, M. M. & Shaddad, M. A. 1978. Photosynthetic activity, pigment content and growth of *Helianthus annuus* and *Linum usitatissimum* plants as influenced by salinization treatments. *Bulletin of the Forest Science of Assiut University*, 7: 49-56.
- Alscher, R. G., Erturk, N. & Health, L. S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1331-1341.
- Al-Sobhi, O. A., Al-Zahrani, H. S. & Al-Ahmadi, S. B. 2006. Effect of salinity on chlorophyll and carbohydrate contents of *Calotropis Procera* seedlings. *Scientific Journal of Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 7: 105-115.
- Al-Yassin, A. 2004. Influence of salinity on citrus: a review paper. *Journal of Central European Agriculture*, 5: 263-272.

- Salin, M. L. 1991. Chloroplast and mitochondrial mechanism for protection against oxygen toxicity. *Free Radical Research Communications*, 12: 851-858.
- Saqib, M., Akhtar, J. & Qureshi, R. H. 2005. Na⁺ exclusion and salt resistance of wheat (*Triticum aestivum*) in saline-waterlogged conditions are improved by the development of adventitious nodal roots and cortical root aerenchyma. *Plant Science*, 169: 125-130.
- Scandalios, J. G., 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, 101: 7-12.
- Schell, R. D. & Parker, J. E. 1990. Elicitor recognition and signal transduction in plant gene activation. *Zeitschrift fur Naturforsch*, 450: 569-575.
- Shetty, K. 1997. Biotechnology to harness the benefits of dietary phenolics, focus on Lamiaceae. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 6: 162-171.
- Shimizu, N. & Kobayashi, K. 1984. The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. *Journal of Biological Chemistry*, 259: 4414-4418.
- Tejera Garcia, N. A., Iribarne, C., Palma, F. & Lluch, C. 2007. Inhibition of the catalase activity from *Phaseolus vulgaris* and *Medicago sativa* by sodium chloride. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45: 535-541.
- Tejera, N. A., Soussi, M. & Lluch, C. 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 17-24.
- Willekens, H., Inze, D., Montagu, M. V. & Camp, W. V. 1995. Catalases in plants. *Molecular Breeding*, 1: 207-228.
- Hernandez, J. A. Corpas, F. J., Gomez, M., Rio, L. A. D. & Sevilla, F. 1993. Salt induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 89: 103-110.
- Hernandez, J. A. Ferrer, M. A., Jimenez, A., Barcelo, A. R. & Sevilla, F. 2000. Antioxidant systems and O₂/H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesion in minor veins. *Plant Physiology*, 127: 817-831.
- Hill, A.F. 1952. Economic botany McGraw-Hill Book Company, New York. PP. 439- 501.
- Hoagland, R. E. & Duke, S. O. 1981. Effect of herbicides on extractable phenylalanine ammonia lyase activity in light and dark- grown soybean (*Glycine max* L.) seedlings. *Weed science*, 29: 433.
- Hsu, S. Y. & Kao, C. H. 2003. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. *Plant Growth Regulator*, 39: 83-90.
- Kawasaki, S., Borchert, C. & Deyholos, M. 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant cell*, 13: 889-905.
- Khadri, M., Tejera, N. A. and Lluch, C. 2007. Sodium chloride-ABA interaction in two common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars differing in salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 211-218.
- Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouharmont, J. 1996. Effects of various salts and mannitol on ion and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) callus cultures. *Journal of Plant Physiology*, 149: 186-195.
- McCord, G. M. 2000. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, 108: 652-659.
- Mer, R. K., Prajith, P. K. & Pandya, D. H. 2000. Effects of salt on germination of seeds and growth of young plants of *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Cicer aestivum* and *Brassica juncea*. *Journal of Agronomy & Crop Science*, 185: 209-217.
- Munns, R., Hare, R. A., James, R. A. & Rebetzke, G. J. 2000. Genetic variation for improving the salt resistance of durum wheat. *Australian Journal of Agriculture Research*, 51: 69-74.
- Nemat Alla, M. M. 2000. The influence of naphthalic anhydride and l-aminobenzotriazole on maize resistance to herbicides, secondary metabolism responses. *Egyptian Journal of Physiological Science*, 23 : 399-43.
- Nemat Alla, M. M. & Younis, M. E. 1995. Herbicide effects on phenolic metabolism in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 46: 1731-1736.
- Nemat Alla, M. M., Younis, M. E., El-Shihaby, O. A. & El-Bastawisy, Z. M. 2002. Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *Acta Physiologia Plantarum*, 24: 19-27.
- Netondo, G. W., Onyango, J. C. & Beck, E. 2004. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Science*, 44: 797-805.
- Okuma, E., Murakami, Y., Shimoishi, Y., Tada, M. & Murata, Y. 2004. Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50: 1301-1305.
- Phang, J. M. 1985. The regulatory functions of proline and pyrroline-5-carboxylic acid. *Current Topics in Cellular Regulation*, 25: 91-132.
- Reddy, M. P. & Vora, A. B. 1986. Changes in pigment composition, Hill reaction activity and saccharides metabolism in Bajra (*Pennisetum typhoides* S & H) leaves under NaCl salinity. *Photosynthetica*, 20: 50-55.
- Redman, R. E. 1999. Osmotic and specific ion effects on the germination of alfalfa. *Canadian Journal of Botany*, 52: 803-808.