داروهای گیاهی، پیش شماره ۱/ (بهار ۱۳۸۹)، صفحه ۱ تا ۸

فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.jhd.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

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۸/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۹

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: اکوفیزیولوژی گیاهان دارویی

کلید واژگان:

- تنش شوری
- زنجبیل
- رشد رویشی
- آنزیم های آنتی اکسیدان

چکیده

مقدمه و هدف: گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* Roscoe. متعلق به خانواده زنجبیل(*Zingiberaceae*) 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 می باشد 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 اکسیدانتی 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 برروی 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 Ammonia Lyase (Phenylalanine) PAL 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 می باشد.

۱- مقدمه

گیاه زنجبیل با نام علمی *Zingiber officinale* Roscoe. متعلق به خانواده زنجبیل (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 شریت، ۱۳۷۴). قطعات ریزوم خشک این گیاه در بازارهای ایران به نام زنجبیل به فروش می‌رسد (زرگری، ۱۳۷۰ ؛ قاسمی‌دهکردی، ۱۳۸۱). ریزوم زنجبیل به عنوان ادویه‌ای مطبوع و اشتها آور در صنایع غذایی (قاسمی‌دهکردی، ۱۳۸۱; Bone, 1990; Hill, 1952) و برای ساخت اسانس و تأمین اولئورزین مورد نیاز در صنایع عطرسازی 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 و نیمه‌خشک 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 فیزیولوژیک شوری سبب کاهش رشد رویشی گیاه نظیر کاهش وزن تر و خشک و نیز کاهش میزان کلروفیل می گردد. هم‌چنین طی تنش شوری مانند سایر تنش‌ها انواع اکسیژن فعال نظیر رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^-) تولید می‌شوند و سبب آسیب به غشاها و سایر ماکرومولکول‌های مهم می‌شوند(Hernandez *et al*., 1993). شواهد

بسیار خوبی مبنی بر وجود ارتباط بین کاهش آسیب اکسیداتیو و افزایش تحمل به نمک و کارآیی 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).

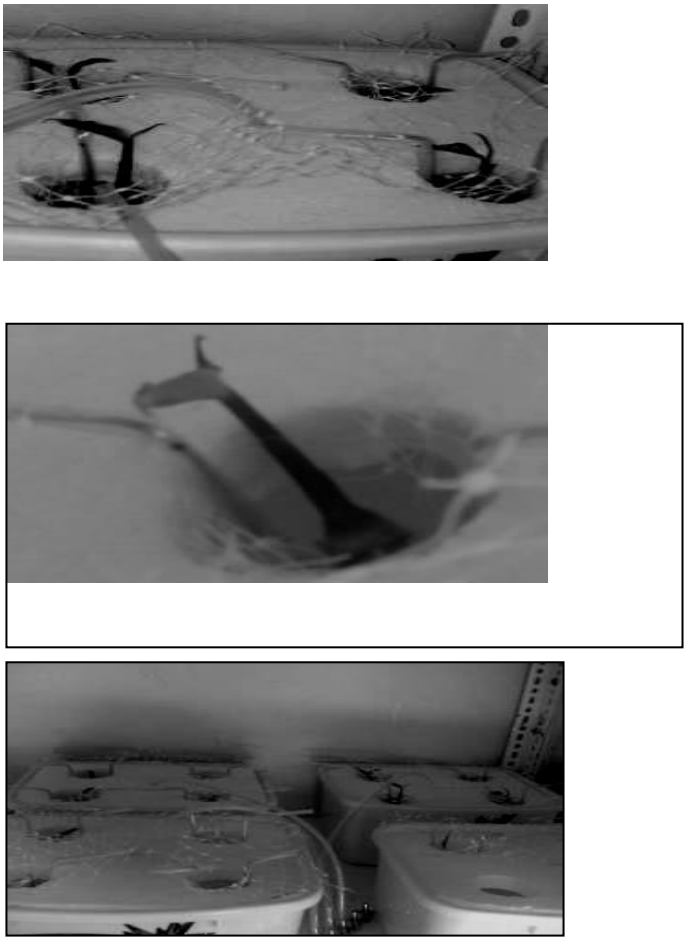
از آنزیم‌های دخیل در کاهش آسیب اکسیداتیو، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. جمع آوری کننده اولیه H_2O_2 آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD; EC 1.15.1.1) می‌باشد که (O_2^-) را به (H_2O_2) تبدیل می‌کند. محصول سمی این واکنش به وسیله آسکوربات پراکسیداز (APOX;EC 1.11.1.11) از بین رفته و در آخر به کمک دو آنزیم دی‌هیدرو آسکوربات ردوکتاز(EC 1.8.5.1) و گلوتاتیون ردوکتاز (EC 1.6.4.2) آسکوربیک اسید تولید می‌گردد (Asada & Takahashi, 1987 ; Salin, 1991). H_2O_2 توسط کاتالاز (EC1.11.1.6) جمع‌آوری می‌گردد (Dhindsa *et al*., 1981). کارآیی این آنزیم نسبت به سیستم آسکوربات پراکسیداز-گلوتاتیون 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 TAL و PAL 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 دآمینه کردن فنیل آلانین و تیروزین و با آزادسازی یک یون آمونیوم به ترتیب t-cinnamic acid و p-coumaric acid را تولید می‌کنند. گاهی اوقات به عنوان آنزیم‌های کلیدی بیوژنز 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 این‌که 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 اکسیدانی کاتالاز و آنزیم‌های دفاعی PAL و TAL بررسی شد. بررسی میزان تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی 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 قارچ‌کش بنومیل ۰/۱٪ به منظور جوانه‌زنی در گلدان‌های کوچک حاوی پریلیت دانه درشت به مدت ۱۴-۲۱ روز در دمای ۲۵±۲°C و رطوبت ۵±۶۰ درصد کشت شدند. گیاهچه‌ها پس از ایجاد ریشه از ریزوم مادری جدا گشته و پس از ضد عفونی شدن با قارچ‌کش بنومیل ۰/۱٪ به محیط آب کشت (هیدروپونیک) اتوکلاو شده حاوی محلول غذایی هوگلند با اسیدیته ۶/۵ منتقل و در محیطی با دمای۲۵±۲°C، رطوبت ۵±۶۰ 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).



شکل ۱- انتقال گیاهچه‌های زنجبیل به محیط آب کشت

۲-۲- اعمال تیمار شوری

پس از رسیدن گیاهان به مرحله دو تا سه برگی تیمار شوری آغاز گردید. تیمارها درچهار سطح شوری ازکلرورسدیم 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 به‌منظور 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.

۲-۳- 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.

۲-۴-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.

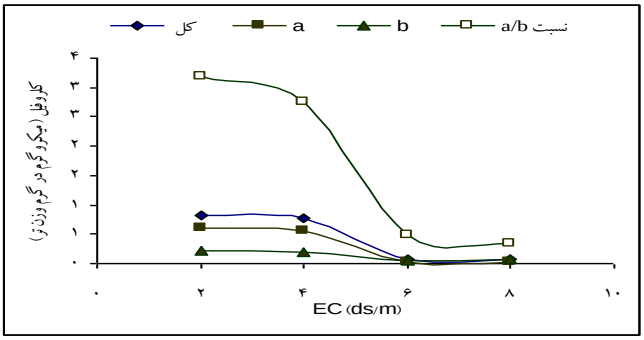
۲-۵- اندازه‌گیری مقدار کلروفیل

مقدار کلرفیل a، b و کلرفیل 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 ۹۰/۱٪ و ۹۰٪ 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 (شکل۲) و با افزایش شوری میزان کلروفیل کاهش می‌یابد.



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

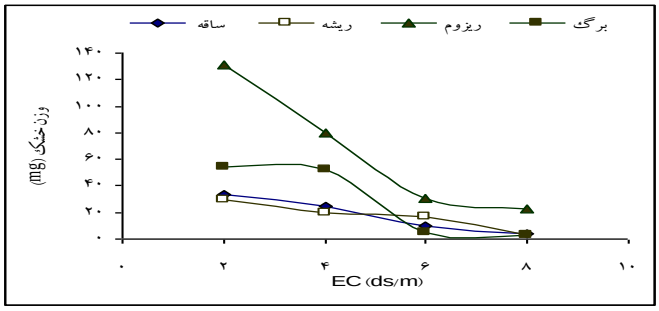
نتایج این تحقیق نشان دهنده تأثیر آشکار غلظت نمک بر مقدار رنگدانه گیاهچه‌های زنجبیل می‌باشد، به‌طوری‌که سطوح شوری بالا سبب کاهش معنی‌دار میزان رنگدانه‌های a، b و در نتیجه کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان شاهد می‌شود که با نتایج به دست آمده توسط اِل صبحی و هم‌کاران (Al-Sobhi *et al*., 2006) مطابقت دارد.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

به طورکلی 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) مطابق می‌باشد. 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 پدیده رایج در مطالعات متعددی گزارش و دلایل مختلفی برای این کاهش ذکر می‌گردد، از جمله این‌که 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 دیگراز دلایل کاهش میزان کلروفیل کل احتمالاً می‌تواند به دلیل تاثیر شوری برروی 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 به‌دست 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 می گردد.

بنابراین گیاه با استفاده از فرآیندهای تحمل به نمک سعی در حفظ این دو اندام حیاتی دارد ولی با توجه به این‌که 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.

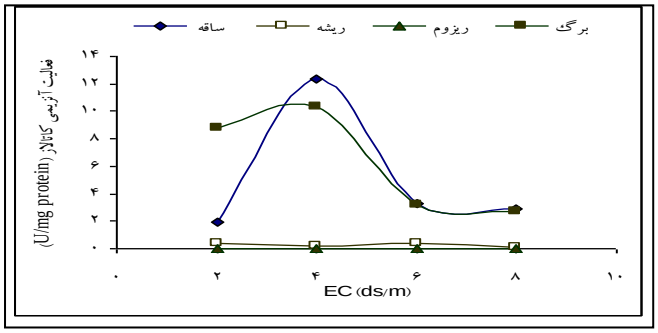
با توجه به نتایج به‌دست آمده، مشاهده می‌شود که ریشه در شوری‌های ۲ و ۴ dsm^{-1} به دلیل تماس مستقیم با محلول نمک از تنش شوری رنج برده و کمترین میزان وزن خشک را تولید

نموده‌است(جدول ۱). بنـابراین بـر طبـق نتـایج ایـن تحقیـق گیـاه زنجبیل از طریق سازوکارهای ذکر شده در بالا قادر به تحمل اولـین سطح شوری یعنی ۴ dsm^{-1} می‌باشد ولی افزایش شوری از این حـد سبب کاهش رشد شدید گیاه می‌گردد. نتایج این تحقیق با نتایج مِر و هم‌کاران (Mer *et al*., 2000) بر روی جو مطابقت دارد.

کاهش رشد رویشی و به عبارت دیگر کاهش وزن خشک در اثـر تیمار شوری در هر چهار اندام برگ، ساقه، ریشه و ریزوم احتمالاً بـه دلیل کاهش سطح فتوسنتز و هم‌چنین کاهش رنگیـزه‌هـای فتوسـنتزی نظیر کلروفیل a و b ، جذب خالص CO_2 و هدایت روزنه‌ای و بسته شـدن روزنه ها در اثر تنش شـوری مـی‌باشـد (Netondo *et al*., 2004). عامـل محتمل دیگری که سبب کاهش فتوسنتز مـی‌گـردد اثـر بازدارنـده تـنش شوری بر روی فرآیند جذب و انتقال مواد فتوسنتزی می‌باشـد (Demiral *et al*., 2005). کاهش توان فتوسنتزی تحـت شـرایط تـنش شـوری، بـا کـاهش کـارآیی فتوشـیمیایی فتوسیسـتم II (PSII) در نتیجـه تـأثیر ساختاری شوری بر فتوسیستم II در ارتبـاط اسـت (El-Shintinway, ; Lutts *et al*., 1996 2000). به طور کلـی کـاهش وزن خشـک در اثـر تـنش شـوری بـه دلیـل کـاهش جـذب آب و بازدارنـدگی محصـولات فتوسنتزی و سنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشد(Nemat Alla *et al*., 2002). نتایج این تحقیق بـا نتـایج سـقیب و هـم‌کـاران (Saqib *et al*., 2005) مطابقت دارد و نشان می‌دهد که در اثر افزایش شوری سرعت فتوسـنتز، هدایت روزنه‌ای و رشد اندام هوایی کاهش می یابـد (Al-Yassin, 2004 ; Ciçek & Cakirlar, 2002 ; Munns *et al*., 2000; Saqib *et al*., 2005).

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

نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که در گیـاه زنجبیـل بـا افـزایش شوری تا ۴ dsm^{-1} میزان فعالیـت آنـزیم کاتـالاز نسـبت بـه شـاهد افزایش یافته و سپس با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه گیاه تا میـزان ۶ و ۸ dsm^{-1} کـاهش مـی‌یابـد. غلظـت پـایین نمـک (۴ dsm^{-1}) در ریشه و بـرگ سـبب افـزایش فعالیـت آنـزیم کاتـالاز نسبت به شاهد گردیده و این در حالی است که با افزایش شـوری از ۶ dsm^{-1} به بالا آسیب ناشی از نمک شـدید شـده و سـبب کـاهش چشم‌گیر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شـاهد مـی‌گـردد. در ریزوم نیز با افـزایش شـوری تـا ۴ و ۶ dsm^{-1} فعالیـت آنـزیم تغییـر معنی‌داری نکرده ولی با افـزایش شـوری در سـطح ۸ dsm^{-1} میـزان فعالیت آنزیم کاتالاز کـاهش مـی‌یابـد. در سـاقه رونـد افزایشـی در فعالیت آنزیم کاتالاز با افـزایش شـوری نسـبت بـه شـاهد مشـاهده می‌شود(شکل ۴).



شکل ۴- اثر افزایش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتـالاز در گیـاه زنجبیل

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش شوری در ساقه افزایش مـی‌یابـد و این در حالی است که ریشه بـه دلیـل تمـاس مسـتقیم بـا محلـول نمکـی فعالیت آنتی اکسیدانی کمی دارد، به‌طوری‌که با افزایش غلظـت نمـک از ۴ dsm^{-1} فعالیت آنزیمی کم می‌شود که احتمالاً به دلیل آسیب ناشـی از ورود نمک به ریشه، سیستم سنتز پروتئین غیر فعال شده و قادر به بیان ژن‌هـای کد کننده آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ریشه نمی‌باشد و میزان ROS بـیش از حد سبب تخریب سیستم آنزیمی آنتی اکسـیدانی (Alscher *et al*., 2002 ; Asada & Takahashi, 1987) می‌گـردد ولـی در طـول جریـان تعـرق بـا توزیع نمک در سایر اجـزای گیـاه غلظـت نمـک و در نتیجـه میـزان ROS تولید شده کمتر شده و به حدی است که سـبب تخریـب سیسـتم دفـاعی آنتی اکسیدانی نمی‌گردد، بنابراین با افزایش شوری فعالیت آنزیم کاتـالاز در ساقه افزایش می‌یابد. پیشنهاد شده است کـه فعالیـت آنـزیم کاتـالاز بـرای حذف اثر سمیت H_2O_2 تولیـد شـده در شـرایط تـنش ضـروری مـی‌باشـد (Willekens *et al*., 1995).

شواهد بسیار خوبی مبنی بر وجود ارتباط بین کاهش آسیب اکسـیداتیو و افزایش تحمل به نمک و سایر تنش‌های محیطی و کارآیی سیسـتم آنتـی اکسـیداتیو وجـود دارد (Cacmak *et al*., 1993; Borsani *et al*., 2003; Hasegawa *et al*., 2000 ; Scandalios, 1993).

جدول۱- میانگین وزن خشک اندام های مختلف زنجبیل در سطوح مختلف شوری

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

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی داری است.

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

شوری (dsm^{-1})	ریشه		ساقه		برگ		ریزوم		مقدار میانگین فعالیت آنزیم
	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 براین 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 اِنگل و هم کاران (Engel *et al*., 2006) بیان کردند که اغلب، کاتالاز توسط یک واکنش نیمه حساس و وابسته به O_2 غیر فعال می‌گردند (Hernandez *et al*., 1993; Hernandez *et al*., 2000; Hsu & Kao, 2003). خدری و هم‌کاران (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 می باشند (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 کارآیی 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 می گردد (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 4 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 آن‌را می‌توان به دلیل پائین‌تر 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 غلظت های dsm^{-1} ۶ و ۸ حساس‌تر 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

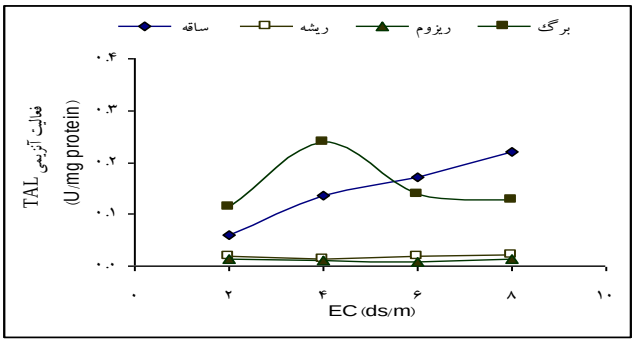
شوری (dsm^{-1})	ریشه		ساقه		برگ		ریزوم		مقدار میانگین فعالیت آنزیم
	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	
۲	۰/۰۰۷ a	–	۰/۰۰۴ a	–	۰/۳۱۵ a	–	۰/۰۴۱ a	–	۰/۰۹۲
۴	۰/۱۳۲ b	۱۹۵۱/۳	۰/۰۰۹ b	۱۴۹	۰/۵۴۲ b	۷۲/۰	۰/۰۳۳ a	-۲۰	۰/۱۷۹
۶	۰/۰۲۷ a	۳۱۱/۲	۰/۰۰۹ b	۱۶۶/۹	۰/۱۳۶ c	-۵۶/۸	۰/۰۵۴ a	۳۱/۱	۰/۰۵۷
۸	۰/۰۱۵ a	۱۲۵/۹	۰/۰۱۰ b	۱۷۲/۲	۰/۱۰۰ d	-۶۸/۲	۰/۰۹۵ b	۱۳۲/۲	۰/۰۵۵

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

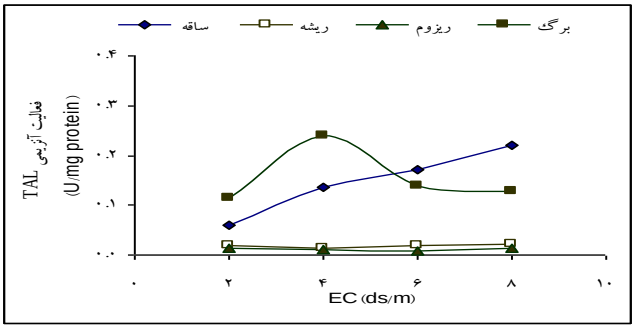
شوری (dsm^{-1})	ریشه		ساقه		برگ		ریزوم		مقدار میانگین فعالیت آنزیم
	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	مقدار(mg)	٪	
۲	۰/۰۲ a	–	۰/۰۶ a	–	۰/۱۱ a	–	۰/۰۱ a	–	۰/۰۵
۴	۰/۰۹ b	۴۰۶/۴	۰/۱۴ b	۱۲۸/۵	۰/۲۴ b	۱۰۹/۲	۰/۰۱ a	-۲۶/۹	۰/۱۲
۶	۰/۰۲ a	۴/۱	۰/۱۷ c	۱۸۵/۴	۰/۱۴ a	۲۱/۵	۰/۰۱ a	-۴۳/۸	۰/۰۹
۸	۰/۰۲ a	۲۷/۲	۰/۲۲ d	۲۶۶/۵	۰/۱۳ a	۱۲/۷	۰/۰۱ a	-۶/۰	۰/۰۹

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 می‌باشد و کاهش فعالیت آنزیم‌ها با افزایش شوری بالاتر از این حد احتمالاً به دلیل اثرات بازدارنده غلظت بالای ROS بر روی فعالیت این آنزیم‌ها می‌باشد.

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. نمونه‌ای از این تغییرات تغییر فعالیت آنزیم TAL و PAL می‌باشد که سبب تولید ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی و غیره شده و در نتیجه سبب تغییر در پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌گردد (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 می‌باشد. این نتایج ثابت می‌کند که این آنزیم‌ها از طریق تولید فنیل پروپانوئیدها تشکیل ترکیبات فنلی را کنترل می‌کنند. بنابراین به نظر می رسد که هر تغییری در فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند سبب تغییر در تشکیل ترکیبات ثانویه گردند. این نتیجه گیری بر طبق نتایج به دست آمده توسط سایرین به دست آمد (Hoagland & Duke, 1981; Nemat Alla & Younis, 1995; Nemat Alla *et al*., 2002) که ثابت کردند که ترکیبات ثانویه از جمله ترکیبات فنلی به وسیله آنزیم‌های PAL و TAL و Chalcone isomerase کنترل می‌شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که آنزیم PAL و TAL از طریق دآمینه کردن فنیل آلانین و تیروزین عمل کرده و با آزاد سازی یک یون آمونیوم t-cinnamic acid و p-coumaric acid را به ترتیب تولید می‌کند (Hoagland & Duke, 1981). افزایش فعالیت آنزیم PAL سبب آثار مخربی نیز می‌شود که نتیجه آن بازداشته شدن رشد و مرگ گیاه می‌باشد. 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).



شکل۵- اثر افزایش شوری بر میزان فعالیت آنزیم مقادیر فعالیت آنزیم PAL در گیاه زنجبیل



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 می‌توان چنین نتیجه گیری نمود که زنجبیل گیاهی است با دارای تحمل متوسط نسبت به نمک NaCl ، به طوری که تا شوری ۴ dsm^{-1} تحمل سازش با نمک را داشته و سیستم‌های آنتی اکسیدانی و دفاعی گیاه تا این سطح شوری تشدید شده و فعالیت آنزیم‌ها افزایش پیدا می‌کند، ولی افزایش شوری تا ۶ و ۸ dsm^{-1} سبب تخریب این سیستم‌ها و کاهش فعالیت آنزیمی می‌گردد که خود به دلیل آسیب ناشی از سمیت سدیم می‌باشد، ولی به هر حال تا حدودی افزایش آنتی اکسیدان‌ها در مقایسه با شاهد مشاهده می‌گردد. 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 رنگدانه‌های فتوسنتزی و نیز عدم عملکرد صحیح روزنه‌ها با افزایش سدیم در محیط سبب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گیاهچه‌های زنجبیل و کاهش تجمع ماده خشک می‌گردد. با توجه به نتایج به دست آمده شاید بتوان با کشت گیاه در شوری‌های ۲ و ۴ dsm^{-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.

صمصام‌شریعت, ه. ۱۳۷۴. پرورش و تکثیر گیاهان دارویی. نشر مانی, اصفهان. صفحات: ۲۷۴-۲۷۵.

قاسمی‌دهکردی، 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 vulgar* 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 annus* 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.

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. *Anasestheia*, 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.

Ciçek, N. & Cakirlar, 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 proxidation, 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 ahypogaea (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.

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 (*Triricum 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 Journale 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 mitochondrai. *Physiologia Plantarum*, 89: 103-110.

Hernandez, J. A. Ferrer, M. A., Jimenez, A., Barcelo, A. R. & Sevilla, F. 2000. Antioxidant systems snd O-2/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. *Austrialian 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 Experimantal 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-carboxylicacid*. *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.