تاثير كلوريد الصوديوم ومستخلص لاوراق نبات الكُبر(*Capparis spinosa* L.) في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني لنخيل التمر (*Phoenix dactylifera L.*) صنف البرحي.

مؤيد فاضل عباس** عباس مهدي جاسم ** احمد دينار خلف الاسدي*

** قسم البستنة وهندسة الحدائق – كلية الزراعة – جامعة البصرة – البصرة – العراق .

* مديرية زراعة ذي قار– ذي قار – العراق .

الخلاصـة

اجريت الدراسة الحالية خلال الفترة من شباط 2012 ولغاية شباط 2014 بهدف تحسين التحمل الملحي لاشجار نخيل التمر صنف البرحي وذلك باستخدام زراعة الخلايا والانسجة النباتية والمعاملة بملح كلوريد الصوديوم منفرداً او متداخلاً مع المستخلص المائي لاوراق الكُبر . تم تعريض الكالس الجنيني الناتج من زراعة ارباع البراعم الطرفية shoot tip والمزروع على وسط Murashige and skoog (MS) الى كلوريد الصوديوم بتراكيز 0 و 200 و 300 و 400 mM بصورة منفردة او بالاشتراك مع المستخلص المائي لاوراق الكُبر بتراكيز 0 و 25 و 50 غم / لتر ، وتم دراسة تاثير العوامل المشار اليها اعلاة في فعالية انزيمي peroxidase و catalase . وقد استخدم التصميم العشوائي الكامل وقورنت الفروق بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي معدل وعلى مستوى احتمال 5 % . ويمكن تلخيص النتائج كالاتي : ادت المعاملة بكلوريد الصوديوم بتركيز 300 mM الى خفض معنوي في فعالية انزيم الـ peroxidase ، اما معاملة المستخلص المائي لاوراق الكُبر بتركيز 25 غم / لتر ومعاملة تداخلة مع كلوريد الصوديوم بتركيز 300 mM فقد ادت الى زيادة معنوية في فعالية انزيم peroxidase ، بينما معاملة كلوريد الصوديوم بتركيز 400 mM ومعاملة المستخلص المائي لاوراق الكُبر بتركيز 25 غم / لتر ومعاملة تداخلهما ، فقد ادت الى زيادة معنوية في فعالية انزيم الـ catalase .

* مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الثالث

* الكلمات المفتاحية : الكُبر ، الكالس الجنيني ، peroxidase ، catalase

المقدمـة

تُعد الملوحة (ملوحة التربة أو ملوحة ماء الري) من اهم المشاكل التي تواجه الزراعة على نطاق عالمي وعلى وجه الخصوص في المناطق الجافة وشبه الجافة (Munns and Tester,2008) . وتؤثر الملوحة في مايقارب من % 20 من الأراضي المروية في العالم ، ويعد العراق في مقدمة البلدان العربية والأسيوية من حيث المساحة الكلية المتأثرة بالملوحة (Batanony,1996) ، وقد تفاقمت مشكلة الملوحة في العراق في السنوات الأخيرة بسبب شحة الأمطار والموارد المائية وتدهور نوعيتها وسوء ادارتها.

ان التاثيرات الضارة للملوحة في نمو النبات وانتاجيتة تعود الى التسمم الايوني للخلية ioncytotoxicity (بالدرجة الرئيسية ايونات Na^+ و Cl^- و So_4^-) ، الشد الازموزي ، نقص المغذيات ، الشد التاكسدي ، وكذلك حدوث اختلال في التوزان الهرموني (Munns and Tester , 2008) .

وتعد نخلة التمر *Phoenix dactylifera* L. من اهم اشجار الفاكهة في العراق وبعض مناطق الشرق الاوسط ، وبالرغم من ان شجرة نخلة التمر هي اكثر تحملاً للملوحة مقارنة ببعض اشجار الفاكهة مثل الحمضيات والزيتون (Greenway and Munns, 1980) . الا ان انتاجية نخيل التمر تبدأ بالانخفاض عندما تصل مستويات الملوحة الى 48 mM من كلوريد الصوديوم ، ولايكون هناك انتاج للثمار عند مستويات ملوحة قدرها 240 mM (Hassan , 1991) ، ومع زيادة ملوحة التربة في العراق ، فانة من الاهمية بمكان استخدام بعض الاستراتيجيات لتحسين التحمل الملحي لاشجار النخيل وبالطبع فأن افضل وسيلة لتحقيق ذلك يكون في استنباط اصناف زراعية من نخيل التمر متحملة للملوحة (Salt tolerant Cultivars)، الا ان هذا الهدف صعب التحقيق في الوقت الحاضر ، نظراً لأن صفة تحمل الملوحة هي صفة معقدة من الناحية الوراثية حيث يسيطر عليها العديد من الجينات(multiganic trait) وهذه الصفة يصعب نقلها حتى بأستخدام تقانات هندسة النبات الوراثية (Flowers,2004) ، لذا فمن الضروري أستخدام بعض التقانات البديلة الممكنة في الوقت الحاضر بهدف تحسين التحمل الملحي للنباتات ، ولقد أوضحت الدراسات ان تقنية زراعة الخلايا والأنسجة النباتية

هي فعالة في الحصول على محاصيل زراعية متحملة للملوحة ، بما في ذلك نخيل التمر حيث يتم انتخاب الخلايا المتحملة للملوحة واكثارها ومن ثم اخلافها الى نباتات متحملة للملوحة (Jasim *et al.*,2010) .

نبات الكُبر هو من النباتات ذوات الفلقتين Dicotyledons واسمة العلمي *Capparis spinosa* L. ويعود الى العائلة القبارية (Capparaceae) ويعرف بعدة اسماء منها القبار او الكُبر او الشفلح وغيرها (Jacobs , 1965 و بابوجيان ، 2007) ، وهو نبات معمر ينتشر في مناطق غرب اسيا ووسطها وفي بلدان حوض البحر الابيض المتوسط وفي العراق والسعودية وغيرها من بلدان العالم ، وينمو هذا النبات في مدى بيئي واسع فهو ينمو في المناطق المنخفضة والترب القاحلة والمالحة، ويتحمل الظروف القاسية مثل الجفاف والملوحة (Mouterde , 1966) .

وقد اظهرت الدراسات الكيميائية ان نبات الكُبر يحتوي على مواد فلافونويدية Flavonoids وهي مواد مضادة للاكسدة ، ومواد صابونية Sopnins وراتنجية Resins بالاضافة الى Capric acid (Al – Rawi and Chakravarty , 1988 و Calis *et al.* , 2002 و Germano *et al.*,2002 و قبيسي ، 2007) .

وجد (Sher and Alyemeni ,(2010 ان انسجة نبات الكُبر تحتوي على نسبة عالية من ايون الصوديوم بلغت 2960 ملغم / 100 غم وزن طري ، وذكر ياسر (2011) ان المستخلص المائي لاوراق الكُبر يحتوي على مواد فعالة مثل المركبات القلوانية والصابونية والكلايكوسيدية والتانينات والفينولات والراتنجات والتربينات .

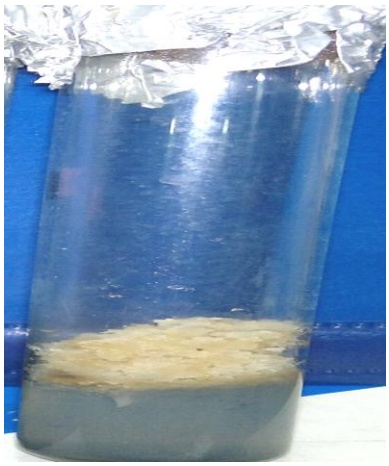
ان اضافة المستخلص المائي لاوراق نبات الكُبر (*Capparis spinosa L.*) الى الوسط الغذائي يعتقد انة قد يساهم في زيادة قابلية الخلايا على تحمل ظروف الشد الملحي كون نبات الكُبر من النباتات المتحملة للملوحة فهو ينمو في المناطق الجافة والمالحة ، وبالنظر لقلة الدراسات عن استخدام

تقانة زراعة الخلايا والانسجة النباتية والمعاملة ببعض المركبات الكيميائية او المستخلصات النباتية في تحسين التحمل الملحي لاشجار نخيل التمر صنف البرحي ، فقد اجريت الدراسة الحالية والتي تضمنت دراسة تاثير تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم (0 و 200 و 300 و 400 mM) بصورة منفردة ومتداخلة مع المستخلص المائي لاوراق نبات الكُبر بتراكيز (0 و 25 و 50 غم / لتر) في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني .

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة للفترة من شباط 2012 ولغاية شباط 2014 في المختبر التقني للزراعة النسيجية التابع للقطاع الخاص والكائن في منطقة الفيحاء / قضاء شط العرب / محافظة البصرة .

استعمل الكالس الجنيني لنخيل التمر صنف برحي وبعمر ستة أشهر (لوحة 1) والناتج من زراعة البراعم القمية shoot tip في الوسط الغذائي (Murashige and Skoog , 1962) والمعروف اختصاراً بأملاح MS والمذكورة تفاصيله في الجدول (1) مع إضافة المواد المذكورة في الجدول (2)



اللوحة (1) الكالس الجنيني

الجدول (1) تركيز الأملاح اللاعضوية لوسط "MS ".

المجموعة	اسم المادة	الرمز الكيميائي	الكمية غم/لتر
النترات nitrates	نترات الأمونيوم Ammonium nitrates	NH_4NO_3	1.650
	نترات البوتاسيوم Potassium nitrates	KNO_3	1.900
الكبريتات sulphates	كبريتات المغنيسيوم المائية Magnesium sulphates Hydrated	$MgSO_4.7H_2O$	0.370
	كبريتات المنغنيزالمائية manganes sulphate hydrated	$MnSO_4.H_2O$	0.169
	كبريتات الخارصين المائية Zinc sulphates hydrated	$ZnSO_4.7H_2O$	0.0086
	كبريتات النحاس المائية Cupric sulphates hydrated	$CuSO_4.5H2O$	0.000025
الـ P.B.Mo	فوسفات البوتاسيوم الثنائيه الهيدروجين Potassium dihydrogen phosphates	KH_2PO_4	0.170
	حامض البوريك Boric acid	H_3BO_3	0.0062
	موليبيدات الصوديوم المائيه Sodium molybdate hydrated	$NaMoO_4.2H_2O$	0.00025
الهاليدات halides	كلوريد الكالسيوم المائي Calcium chloride hydrated	$CaCl_2.2H_2O$	0.440
	آيوديد البوتاسيوم Potassium Iodide	KI	0.00083
	كلوريد الكوبلت المائي Cobulte chloride hydrated	$CoCl_2.6H_2O$	0.000025
الحديد المخلبي	كبريتات الحديدوز المائية Ferrous sulphate hydrated	$FeSO_4.7H_2O$	0.02784
	المادة المخلبية بشكل ملح ثنائي الصوديوم tetreacetic acid Ethylene di amine	Na_2-EDTA	0.03724

الجدول(2) تراكيز المواد المضافة إلى الوسط الغذائي .

المادة	الكمية(ملغم/ لتر)
السكروز Sucrose	30000
أورثوفوسفات الصوديوم الحامضية Sodium Hydrogen Ortho Phsphates	170

ميزو أينوسيتول Meso Inositol	100
كبريتات الأدنين Adenine Sulphates	40
ثيامين-HCl Thiamine-HCl	0.5
الحامض الاميني الكلايسين Glycine	2
نفثالين حامض الخليك NAA Nphthalene acetic acid	30
ايزوبنتايل ادنين Isopentenyl adenine	3
فحم منشط متعادل Neutralized Activated Charcoal	3000
اكار Agar نوع Himedia	7000

تحضير الوسط الغذائي Preparation of nutrient medium

1. حضر الوسط الخاص بنمو الكالس الجنيني وتطوره ، وذلك بإضافة (4.4 غم) من أملاح MS الجاهز المزودة بمجموعة فيتامينات Gamborg على أساس ملغم / لتر (مايوانيسيتول 100 و حامض النيكوتين 1 و البيرودوكسين 0.1 والثيامين 10) والمصنعة من قبل شركة phytotechnology (.Lab) إلى 700 سم^3 من الماء المقطر في دورق حجمي سعة واحد لتر والموضوع على سخان مزود بخلاط مغناطيسي Magnetic stirrers hot plate .
2. أضيفت المواد التالية وبتركيز غم / لتر (30 سكروز و 0.170 ارثروفوسفات الصوديوم الحامضية و 0.040 كبريتات الأدنين و0.100 مسحوق الفحم النشط و 0.005 كلايسين) .

3. إضافة منظمي النمو (Naphthalene acetic acid (NAA و (Benzyl adenine (BA بتركيز (0.5 ملغم / لتر) لكل منهما ولكل معاملات الدراسة ، وقد أذيب الاوكسين NAA في هيدروكسيد الصوديوم (0.1) عياري ، أما السايتوكاينين BA أذيب في حامض الهيدروكلوريك (0.1) عياري .

4. ضبط الأس الهيدروجيني PH للوسط على 5.7 باستخدام جهاز PH meter من نوع Lutron موديل 206 وذلك من خلال معايرة الوسط الغذائي بمحلولي هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك 0.1 عياري ثم أكمل الحجم إلى اللتر .

5. إضافة (6 غم) من مسحوق الاكر ومن ثم سخن الوسط الغذائي إلى درجة حرارة 90° م .

6. وزع الوسط الغذائي بواقع (25 مل) للأنبوبة الواحدة قياس 2.4 × 20 سم وسدت فوهات الأنابيب بالأسفنج ولفت بأوراق الألمنيوم Aluminum foil وبعدها عقمت الأنابيب وأدوات الزراعة تعقيماً بخارياً في جهاز التعقيم البخاري Autoclave على درجة حرارة 121°م وتحت ضغط 1.05 كغم / سم² لمدة 20 دقيقة.

7. بعد الانتهاء من التعقيم أخرجت الأنابيب وأدوات الزراعة وثم رجت الأنابيب لغرض تجانس الوسط الغذائي وتركت لتبرد وحفظت في مكان معقم وتركت لمدة خمسة أيام للتأكد من عدم تلوثها حيث يتم استبعاد الأنابيب الملوثة ومن ثم استخدمت في الزراعة .

نفذت التجارب بشكل مستقل لغرض دراسة تأثير ملح كلوريد الصوديوم والمستخلص المائي لاوراق نبات الكُبر في بعض المكونات الكيميائية للكالس الجنيني لنخيل التمر صنف البرحي وزيادة تحملة للشد الملحي وكانت كالأتي :

1 . تجربة إضافة تراكيز ملح كلوريد الصوديوم إلى الوسط الغذائي .

استعمل ملح كلوريد الصوديوم بتراكيز (0 و200 و300 و400 mM) وذلك باضافتة الى محلول الوسط الغذائي ، وتمت زراعة الكالس الجنيني على التراكيز الملحية لفترة (40 – 45يوم) لكل أعادة

زراعة ومن ثم اختيرت الخلايا والأنسجة الحية المتحملة للملوحة وتمت أعادة زراعتها على أوساط غذائية جديدة وذلك لغرض نمو الأجنة وتطورها واستغرق ذلك من (28 – 30 أسبوع). حضنت جميع الزروعات على درجة حرارة (27 ±1 م°) وشدة إضاءة (1000 لوكس) لمرحلة الكالس الجنيني و (2000 لوكس) لمرحلة الأجنة و (5000 لوكس) لمرحلة النبيتات ولمدة (16 ساعة) .

ويبين الجدول (3) معدل التوصيل الكهربائي (Electric Conductivity (EC للأوساط الغذائية بعد إضافة التراكيز المختلفة من ملح كلوريد الصوديوم ، وأظهرت معاملة المقارنة للوسط الغذائي الخالي من ملح كلوريد الصوديوم توصيلاً كهربائياً بسبب احتواء هذا الوسط أساساً على أملاح الكالسيوم والمغنيسيوم والأملاح الأخرى .

جدول (3) التوصيل الكهربائي لوسط MS بعد اضافة تراكيز ملح كلوريد الصوديوم .

تركيز كلوريد الصوديوم mM	EC ds . m^{-1}
0	5.1
200	16.2
300	23.5
400	31.62

2 . **تجربة إضافة مستخلص أوراق الكُبر *Capparis spinosa L.* وتداخله مع كلوريد الصوديوم .**

استعمل المستخلص المائي لأوراق نبات الكُبر بتراكيز (0 و 25 و 50 غم / لتر)، حيث تم اخذ الوزن المطلوب لكل تركيز من الاوراق وتم غسلها جيداً بماء مقطر ومعقم وبعدها قطعت جيداً بواسطة سكين معقمة ووضعت في اناء يحتوي (500 مل) ماء مقطر وعلى نار هادئة حتى درجة الغليان ومن ثم رشح المستخلص بواسطة قماش ململ ناعم جداً حتى يتم التخلص من بقايا الاوراق تماماً ، وبذلك يكون المستخلص جاهزاً لأضافته إلى الأوساط الغذائية المحتوية على تراكيز (0 و 200 و 300 و 400 mM) من ملح كلوريد الصوديوم ، وزرع الكالس الجنيني على هذه الأوساط الغذائية لغرض نموه وتطوره إلى أجنة ، وحضنت جميع الزروعات بنفس طريقة التجربة السابقة .

تقدير الفعالية الأنزيمية .

1 . تقدير فعالية أنزيم البيروكسيديز Peroxidase activity

اخذ 150 ملغم وزن طري من الكالس الجنيني ثم غسل بالماء المقطر الخالي من الايونات ثم اضيف الية 2.5 مل من المحلول الدارئ الفوسفاتي Potassium phosphate buffer بتركيز 0.05 مولاري والذي يتكون من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH_2PO_4) و فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين (K_2HPO_4) وبدالة هيدروجينية مقدارها 6 ، ثم نبذ بجهاز النبذ المركزي على 12000 دورة / دقيقة ولمدة 20 دقيقة ثم اضيف الية 250 مايكروليتر لكل من صبغة الكوايكول Gauiacol بتركيز 0.5 % وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 0.3 % حجم / حجم و 2.5 مل من المحلول الدارئ الفوسفاتي .

وتمت قراءة كمية الامتصاص مباشرةً في جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer وبطول موجي 470 nm (Kim *et al.* , 1988) ، وبواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة ، وقدرت الفعالية الانزيمية على اساس وحدة امتصاص انزيمية لكل غرام وزن طري .

حسبت الفعالية الانزيمية باستعمال المعادلة التالية :

$$\text{الفعالية الانزيمية (وحدة امتصاص/غم وزن طري)} = \frac{\text{القراءة للجهاز}}{\text{حجم الاستخلاص}} \times \text{الحجم الماخوذ للقراءة}$$

2 . تقدير فعالية انزيم الكاتاليز Catalase activity

اخذ 300 ملغم من الوزن الطري للكالس الجنيني ثم غسل بالماء المقطر الخالي من الايونات وسحقت بهاون خزفي مبرد واضيف لها 6 مل من المحلول الدارئ الفوسفاتي الذي يتكون من 50 mM فوسفات البوتاسيوم و 0.1 EDTA و (PVP) 4 % و 0.2 mM حامض الاسكوربيك ، وبعدها اجريت عملية النبذ المركزي لهذا المستخلص على قوة 12000 دورة / دقيقة وعلى درجة حرارة 4°م لمدة 20 دقيقة وبعدها قدرت الفعالية الانزيمية للرائق باستعمال جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer على طول موجي 240 nm اعتماداً على التغير في امتصاصية مزيج التفاعل والذي يقوم باختزال H_2O_2 (Aebi , 1984) . وحسبت الفعالية الانزيمية باستخدام معامل H_2O_2 (40 mM / سم) على امتصاصية 240 nm ، وقدرت على اساس وحدة امتصاص انزيمية لكل غرام وزن طري .

تصميم التجارب والتحليل الإحصائي .

Experiments Design and Statistical Analysis

نفذت تجارب الدراسة كتجارب مستقلة و حسب التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C . R . D) وكالاتي :

1 . تجربة إضافة ملح كلوريد الصوديوم الى الوسط الغذائي (تجربة الملوحة) نفذت كتجربة بسيطة وبثلاثة مكررات للانزيمات المدروسة.

2 . نفذت تجربة المستخلص المائي لاوراق نبات الكُبر كتجربة عامليه Factorial Experiments مستقلة وبواقع ثلاثة مكررات للانزيمات المدروسة .

3 . تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي (2007) Genstat 7.2 وقورنت المتوسطات باستخدام اقل فرق معنوي معدل LSD – Revised (R.L.S.D) على مستوى احتمال0.05 (الراوي وخلف الله ، 1980) .

النتائج والمناقشة

1 . تاثير كلوريد الصوديوم في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني .

فعالية انزيم البيروكسيديز. Peroxidase Activity

اظهرت النتائج في الجدول (4) حصول أنخفاض معنوي في نشاط انزيم البيروكسيديز مع زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ، اذ سجلت معاملة كلوريد الصوديوم 300 mM اقل فعالية لأنزيم البيروكسيديز بلغت 13.45 وحدة امتصاص انزيمية /غم وزن طري مقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت اعلى فعالية لأنزيم البيروكسيديز التي بلغت (23.60 وحدة امتصاص /غم وزن طري) .

فعالية انزيم الكاتاليز Catalase Activity

يلاحظ من الجدول (4) ان فعالية أنزيم الكاتاليز ازدادت معنوياً بزيادة تراكيز كلوريد الصوديوم ، وقد تفوقت معاملة كلوريد الصوديوم (400 mM) حيث سجلت أعلى فعالية لانزيم الكاتاليز التي بلغت 30.64 وحدة امتصاص /غم وزن طري مقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت اقل فعالية للانزيم بلغت (12.18 وحدة امتصاص أنزيمية /غم وزن طري).

وربما يعود السبب في انخفاض نشاط انزيم البيروكسيديز مع زيادة تركيز كلوريد الصوديوم الى التأثيرات السمية لأيونات الصوديوم والكلور في الأغشية الخلوية نظراً لامتصاصها من قبل الخلايا وتراكمها فيها بكميات كبيرة نتيجة زيادة تركيزها في الوسط الغذائي بسبب زيادة تركيز كلوريد الصوديوم ، لاسيما وان هناك العديد من الدراسات التي أكدت ان الشد الملحي يمكن ان يستحث حالة من الشد التأكسدي Oxidative Stress في النباتات والتي ينتج عنها تكون اشكال الأوكسيجين الفعالة Active

oxygea species(AOS) مثل (O_2^-) Super oxide و Hydrogen peroxide(H_2O_2) و (OH^-) Hydroxyl radicals الضارة لبقاء النباتات تحت ظروف الشد (Ashraf and Harris , 2004 و Jehan *et al.*,2012) ، والتي تسبب اضرار كبيرة في عمليات الايض في النبات من خلال الشد التاكسدي الذي تسبب لدهون الاغشية والبروتينات والاحماض النووية (Kusvuran *et al.*,2007 و Li , 2009 و Chookhampaeng ,2011) .

وان التوازن بين انتاج الانواع الاوكسجينية الفعالة (الجذور الحرة) وفعاليات الانزيمات المضادة للاكسدة ومنها انزيم البيروكسيديز يقلل بدرجة كبيرة من اثار الشد التاكسدي الناتج من الانواع الاوكسجينية ، وان المستويات العالية من الانواع الاوكسجينية الفعالة بسبب زيادة تركيز كلوريد الصوديوم في وسط النمو قد تسبب تثبيط فعالية بعض الانزيمات المضادة للاكسدة ومنها انزيم البيروكسيديز ، فقد اشار Lee *et al.*,(2001) ان زيادة انتاج الجذور الحرة بكميات كبيرة وزيادة نشاطها يسبب انخفاض في فعالية بعض الانزيمات المضادة للاكسدة وقد يكون منها انزيم البيروكسيديز ، وان الفعاليات وتغير الانماط للانزيمات المضادة للاكسدة تعتمد على نوع الانزيم ،كما ان مرحلة التخصص للنسيج النباتي تؤثر في فعالية الانزيمات المضادة للاكسدة وذلك بتغير عملية التعبير الجيني وفق مراحل التخصص المختلفة (Jamil *et al.*,2011) . وبينت النتائج في الجدول (4) ان فعالية انزيم الكاتاليز ازدادت معنوياً بزيادة تركيز كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي ، وقد يعزى ذلك الى ان النباتات تمتلك انظمة دفاعية لازالة او التقليل من التاثيرات الضارة للانواع الاوكسجينية المتكونة بتاثير الشد الملحي ومن اهمها انزيم Super oxide dismutase (SOD) وانزيم Catalase (CAT) . (Ashraf and Foolad , 2007 و Ashraf *et al.*, 2008 و Ashraf , 2009) ،

الجدول(4) تأثير كلوريد الصوديوم في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني .

كلوريد الصوديوم mM	البيروكسيديز وحدة امتصاص انزيمية/ غم وزن طري	الكاتاليز وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري
0	23.60	12.18
200	21.49	19.54
300	13.45	29.74
400	17.10	30.64
R.L.S.D 0.05	البيروكسيديز	الكاتاليز
	0.096	0.786

حيث يعتبر انزيم الكاتاليز هو خط الدفاع الثاني في الخلية الذي يعمل على تحويل بيروكسيد الهيدروجين الضار جداً الى ماء وجزيئة اوكسجين وذلك لان تركيز بيروكسيد الهيدروجين يزداد في الخلية نتيجة الشد التاكسدي للملوحة بالاضافة الى كمياتة الناتجة من عمل انزيم Superoxide dismutase (SOD) ، فقد وجد كل من(2002) , Geebelen *et al.* و(2003) ,Alscher *et al.* ان هذا الانزيم يقوم بالبحث عن Superoxide anions ويحولة الى بيروكسيد الهيدروجين وعدُّوة خط الدفاع الاول في النبات . وقد يعود السبب في زيادة فعالية انزيم الكاتاليز Catalase الى ان زيادة التراكيز الملحية قد سببت زيادة في أنتاج الأثيلين (Lutts and Bouhamont , 1996)، وان الأثيلين قد يسبب زيادة في فعالية انزيم الكاتاليز .

وتتفق نتائج هذه الدراسة مع (1988),.Kim *et al* الذي وجد أنخفاضاً في فعالية انزيم البيروكسيديز في كالس ثلاثة اصناف من الرز بزيادة الشد الملحي ، كما أتفقت هذه الدراسة مع (2010) , Amirjani الذي وجد انخفاض في نشاط الأنزيمات المضادة للأكسدة ومنها البيروكسيديز مع زيادة مستويات كلوريد الصوديوم . وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (2011) , Bhutta عند دراسته نشاط انزيم الكاتاليز لصنفين من نبات الحنطة النامية تحت ظروف الشد الملحي ، فقد وجد حدوث زيادة في نشاط انزيم الكاتليز في الصنف (24-8 المتحمل للملوحة) بزيادة مستويات كلوريد الصوديوم ،بينما في الصنف (27 - DN الحساس للملوحة) أظهر الأنزيم نشاط مستمر في جميع مستويات كلوريد الصوديوم ، وكذلك اتفقت نتائج هذه الدراسة مع (2012),Abbaspour خلال دراسته أثر الشد الملحي على فعالية أنزيم الـ Catalase في نبات الفستق ، فقد وجد زيادة في فعالية هذا الأنزيم مع زيادة التراكيز الملحية (0 و 100 و 200 و350 mM) من ملح كلوريد الصوديوم .

2. تاثير المستخلص المائي لاوراق الكُبر وتداخلة مع كلوريد الصوديوم في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني .

فعالية انزيم البيروكسيديز . Peroxidase Activity

اظهرت النتائج في الجدول (5) ان المستخلص المائي لاوراق الكُبر قد ادى الى زيادة معنوية في فعالية انزيم البيروكسيديز، وقد تفوقت معاملة 25 غم / لتر اذ سجلت اعلى فعالية للانزيم بلغت 22.24 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري ، مقارنة بمعاملة السيطرة التي سجلت اقل فعالية والتي بلغت 18.91 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري . اما التداخل الثنائي بين كلوريد الصوديوم والمستخلص المائي لاوراق الكُبر فقد كان معنوياً ، حيث حدثت زيادة في فعالية الانزيم ، وتفوقت معاملة التداخل بين (كلوريد الصوديوم 300 mM + المستخلص المائي لاوراق الكُبر 25 غم / لتر) اذ سجلت اعلى فعالية للانزيم بلغت 25.07 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري ، بينما سجلت معاملة التداخل بين

(كلوريد الصوديوم 300 mM + المستخلص المائي لاوراق الكُبر 0 غم / لتر) اقل فعالية والتي بلغت 13.45 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري .

فعالية انزيم الكاتاليز Catalase Activity

اوضحت النتائج في الجدول (5) ان اضافة المستخلص المائي لاوراق الكُبر قد ادت الى زيادة معنوية في فعالية انزيم الكاتاليز، وقد تفوقت معاملة 25 غم / لتر اذ سجلت اعلى فعالية للانزيم والتي بلغت 25.43 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري ، بينما سجلت معاملة 50 غم / لتر اقل فعالية للانزيم بلغت 18.80 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري . اما التداخل الثنائي بين كلوريد الصوديوم والمستخلص المائي لاوراق الكُبر فقد كان معنوياً في زيادة فعالية انزيم الكاتاليز ، وقداعطت معاملة التداخل بين (كلوريد الصوديوم 400 mM + المستخلص المائي لاوراق الكُبر 25 غم / لتر) اعلى فعالية للانزيم بلغت 31.00 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري ، في حين كانت اقل فعالية للانزيم في معاملة التداخل (كلوريد الصوديوم 0 mM + المستخلص المائي لاوراق الكُبر 0 غم / لتر) والتي بلغت 12.18 وحدة امتصاص انزيمية / غم وزن طري .

لقد اوضحت النتائج في الدراسة الحالية ان المستخلص المائي لاوراق الكُبر وتداخلاتة مع كلوريد الصوديوم قد ادت الى زيادة معنوية في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز ، وقد تفوقت معاملة 25 غم / لتر اذ سجلت اعلى معدل لفعالية الانزيمين ، وهذة النتائج تدل على ان مستخلص اوراق الكُبر قد شجع الانسجة على زيادة محتواها من انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز كاحد الوسائل الدفاعية لمواجهة التاثيرات الضارة للملوحة . وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج العديد من الدراسات منها Amirjani , (2010) و Bhutta , (2011) و Kusvuran *et al.* , (2012) و Wang *et al.* , (2013) على نباتات فول الصويا والحنطة والرقي والتفاح على التوالي .

الجدول (5) تأثير مستخلص أوراق الكُبر وكلوريد الصوديوم والتداخل بينهما في فعالية انزيمي البيروكسيديز والكاتاليز للكالس الجنيني .

الصفات	الكُبر غم/لتر	كلوريد الصوديوم mM				متوسط الكُبر
		0	200	300	400	
البيروكسيديز وحدة امتصاص / غم وزن طري	0	23.60	21.49	13.45	17.10	18.91
	25	21.88	22.29	25.07	19.73	22.24
	50	19.45	20.29	20.65	20.97	20.34
	متوسط كلوريد الصوديوم	21.64	21.36	19.72	19.27	
الكاتاليز وحدة امتصاص / غم وزن طري	0	12.18	19.54	29.74	30.64	23.03
	25	18.86	24.11	27.74	31.00	25.43
	50	15.39	18.77	19.42	21.62	18.80
	متوسط كلوريد الصوديوم	15.48	20.81	25.63	27.75	

	البيروكسيديز			الكاتاليز		
R.L.S.D 0.05	NaCl	الكبر	للتداخل	NaCl	الكبر	للتداخل
	0.2115	0.1831	0.3662	0.4512	0.3908	0.7816

المصادر

الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيزمحمد خلف الله (1980) .تصميم وتحليل التجارب الزراعية.مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر– جامعة الموصل– العراق.

بابوجيان ، جورجيت (2007) . خصائص تصنيفية للقبار الشائك في سورية . منشورات مجلة جامعة حلب للعلوم الاساسية . العدد 52 .

قبيسي ، حسان (2007) . معجم الاعشاب والنباتات الطبية . دار الكتب العلمية . بيروت . لبنان .

ياسر ، محمد هاشم (2011) . تاثير مستخلصات اوراق نبات الشفلح (الكُبر) *Capparis spinosa* L. في نمو الفطرين *Fusarium oxysporum* و *Rhizoctonia solani* المعزولين من نبات الرقي *Citrullus vulgaris* . مجلة علوم ذي قار . 2 (4) : 71 – 83 .

Abbaspour , H. (2012) . Effect of salt on lipd peroxidation , antioxidative enzymes , and proline accumulation in pistachio plants , J.Medic. Plants Resch . 6 (3) : 526 – 529 .

Aebi , M. (1984) . Catalase in vitro . Methods Enzymol 105 : 121- 126.

AL-Rawi , A. and Chakravarty , H.L. (1988) Medicinal plants of Iraq. Baghdad. Iraq.

Alscher , R.G. ; Erturk, N. and Heath, L.S. (2003). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot. 53: 1131-1141.

Amirjani , M.R. (2010). Effects of salinity stress on growth, mineral composition, proline content and antioxidant enzymes of soybean. Amer. J. Physiol. 5: 350-360 .

Ashraf , M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27: 84-93.

Ashraf , M. ; Athar , H. R.; Harris , P.J. C. and Kwon, T.R.(2008).Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. Adv. Agron. 97:46-110.

Ashraf, M. and Foolad , M. R**. (**2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59**,** 206-216 .

Ashraf , M. and Harris , P.J.C. (2004).Potential biochemical indictators of salinity tolerance in plant . plant sci.166 : 3 - 16 .

Batanoay , K. H. (1996) . Ecophysiology of Halophytes and their traditional use in the Arab World. In : Halophytes and biosalinse agricultuse,(eds,choukar–allah,etal.) New Yoric , pp 73 – 94.

Bhutta , W.M. (2011). Antioxidant activity of enzymatic system of two different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars growing under salt stress. Plant, Soil and Environment, *57*: 101–107.

Calis , I. ; Kuruuzum , A. ; Lorenzetto , P. A. and Ruedi , P. (2002). (6S) – Hydroxy – 3 - oxo – a – ionol glucosides from *Cappris spinosa* fruits. Phytochemistry, 59 : 451 - 457.

Chookhampaeng , S. (2011). The effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. Europ. J. Sci. Resch. 49: 103-109 .

Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. J. Expt. Bot. 55: 307-319.

Geebelen, W. ; Vangronsveld , J. ; Adriano, D.C.; Van Poucke, L.C. and Clijsters , H. (2002) . Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris.* Physiol. Plant. 115: 377-384.

Genstat , (2007) . Seventh Edition (DE3) , Service Pack 1 , Version 7.2.0.220 ., Lawes Agricultyral Trust .

Germano , M. P. ; De – Pasquale , R. ; De – Angelo , S. ; Catania , S. ; Silvari , V. and Cost , S. (2002). Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. J. Agric. Food Chem., 50 : 1168 - 1171.

Greenway, H. and Munns, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology. 31: 149-190.

Hassan , M. M.(1991) .Comparative studies on salt tolerance of date palm. Proc. Inter Conf .Plant Grow . Drough and Salinity in Arab Reg. Dec. , 1991,Giza , Egypt.

Jacobs , M. (1965). The Genus *Capparis* (*Capparaceae*) from the Indus to the pacific. Blumea, 12 (3) : 385 – 541 .

Jamil , A. ; Ashraf , M. and Foolad , M.R. (2011). Gene expressionprofiling of plants under salt stress. *Cri. Rev. Plant Sci.*, 30 : 435 - 458.

Jasim , A. M. ; Abbas , M. F. and AL-zubiady , B. H. (2010) . Effect of salt stress and proline on chemical content of embryo genic callus and somatic embryos of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv.Ashkar. Act. Hort.882 : 219 – 224.

Jehan , B. ; Khan , M.J. ; Shafi , M. ; Khan , M.A. and Sharif ,M. (2012). Effect of salinity and ABA application on praline production and yield in wheat genotypes. *Pak. J. Bot.*,44(3): 873 - 878.

Kim , Y. ; Chung , T. and Choi , W. (1988) . Increased regeneration from NaCl tolerant callus in rice . Euphytica , 39 : 207 – 212 .

Kusvuran , S. ; Ellialtioglu , S. ; Yasar , F. and Abak , K. (2007). Effects of salt stresson ıon accumulations and some of the antioxidant enzymes activities in melon (*Cucumis melo* L.). Int. J. Food, Agric. Environ. 2(5) : 351- 354.

Kusvuran , S. ; Ellialtioglu , S. ; Yasar , F. and Abak , K. (2012) . Antioxidative enzyme activities in the leaves and callus tissues of salt – tolerant and salt – susceptible melon varieties under salinity , African J. of Biotechnology 11 (3) : 635 – 641 .

Lee , D.H. ; Kim, Y.S. and Lee, C.B.,(2001) . The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). J. Plant Physiol.,158 : 737-745 .

Li , Y. (2009). Physiological responses of tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum)* to Salt Stres. Modern Appl. Sci. 3(3): 171-176.

Lutts ,S. j. Kint and Bouhamont , J. (1996) . NaCl – induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars differing in salinity resistance . Annals of Bot. 78 : 389 – 398 .

Mouterde , P. (1966). Nouvelle Flora du Liban et de La Syria. Tom II, Dar el – Machreq (Editeurs), Bayreuth, Liban.

Munns , R. and Tester , M. (2008) . Mechanism of salinity tolerance Annu. Rev. plant Biol.,59:651-681.

Murashige ,T. and Skoog , F. (1962) . A revised medium for rapid growth and bioassays with tabaco tissue culture.Physiol. Plant. 15 : 473 - 497.

Sher , H. And Alyemeni , M. N. (2010) . Ethnobotanical and pharmaceutical evalution of (*Capparis spinosa* L.) validity of local folk and Unani system of medicine . J. Medic. Plants Resch 4 (17) : 1751 – 1756 .

Wang , K. ; Zhang , L. ; Gao , M. , Lv , L. ; Zhao , Y. ; Zhang , B. L. ; Han , M. and Alva , A. K. (2013) . Influence of salt stress on growth and antioxidant responses of two *Malus* species at callus and plantlet stages , Pak. J. Bot. , 45 (2) : 375 – 381 .

Effect of sodium chloride and Caper (*Capparis spinosa* L.) extract on the peroxidase and catalase activity of embryogenic callus of date palm *(Phoenix dactylifera L.)* Cv. Barhi .

**Muayed F. Abbas **Abbas M. Jassem * Ahmed Dinar Al – Asadi

**Horticulture and Landscape Design Department – Agriculture College – Basrah Univ.

*Thi – qar Agriculture , Thi – qar , Iraq .

SUMMARY

The present study was carried out during the period from Feb. 2012 up to Feb. 2014 with the objecitive of improving salt tolerace of date palm cv. Barhee using tissue culture and exogenous application of sodium chloride and water extract of Caper leaves . The embryogenic callus produced from shoot tips were cultured on MS medium and subjected to various concentrations of NaCl at 0 , 200 , 300 or 400 mM alone or combination with the water extract of Caper leaves at 0 , 25 and 50 g . L^{-1} . The effect of the above treatments and their combination were studied in relation to their effects on the activities of peroxidase and catalase .

The results may be summarized as follows:

Treatment with NaCl at 300 mM caused a significant decreased in the activity of peroxidase , but Treatments with water extract of Caper leaves at 25 g / L and the interactions among NaCl at 300 mM + water extract of Caper at 25 g / L caused a sgnificant increase in the activity of peroxidase , wheras treatments with NaCl at 400 mM , water extract of Caper leaves at 50 g . L^{-1} and the interactions among NaCl at 400 mM + water extract of Caper leaves at 25 g . L^{-1} caused a significant increase in activity of catalase .

Keywords : Caper , Embryogenic , Peroxidase , Catalase .