إستخلاص حامض البرولين من نباتات متوفرة محليا

الهام عبد الملك حسون عزام حمودي خلف افراح عبد الرضا عبد المحسن
لؤي قصي هاشم غنية حسن فاضل حسن زامل غضيب نصيرهادي بريبر
وزارة العلوم والتكنولوجيا –دائرة البيئة والمياه – بغداد– العراق

المستخلص

أجريت هذه الدراسة بهدف استخلاص حامض البرولين من نباتات متوفرة محليا هي نباتي الطرفة، الطرطيع. والتي جمعت من مناطق مختلفة من مدينة بغداد. وتم استخلاص حامض البرولين من النباتات بطريقتين الأولى طريقة استخدام التلوين والننهدرين حيث تم الحصول على تراكيز مختلفة حامض البرولين تراوحت (0.192 µ mol / g) لنبات الطرطيع و (0.302µ mol /g) لنبات الطرفة، بينما التراكيز التي حصلنا عليها بالطريقة الثانية باستخدام الكحول حيث كانت التراكيز لحامض البرولين (0.811 µ mol /g) لنبات الطرطيع و (0.405 µ mol / g) لنبات الطرفة ركز مستخلص حامض البرولين إلى (28.6 µ mol /g).حيث بينت النتائج ان تركيز البرولين في نبات الطرفة اكثر من تركيزه في نبات الطرطيع. نستنتج إن طريقة ابأستخدام الكحول كانت أكفأ في الاستخلاص بحوالي 50– 60 %من طريقة بالتلوين والننهدرين. البرولين المستخلص من النباتات السابقة الذي كان بتركيز يمكن ان يستخدم كمضاف طبيعي للمياه المالحة المستخدمة للري ويمكن إن يحد من التأثيرات السلبية للمياه المالحة المستخدمة في الري.

الكلمات المفتاحية: مضافات، البرولين، استخلاص، التلوين و ملوحة.

Extract acid proline of plants available locally

Alham A.Hasson Azzam H.Al-Hadithy Afah A.Abd Al-Mohsin
Luay Q .Hashem Ghania H .Fadel Hasan Zamel Naser Hadi
Ministry of Science & Technology/ Environmental & Water Directorate
E-mail: alham.hasson yhoo@.com

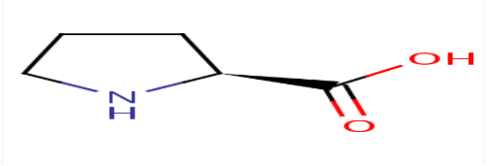
Abstract

This study aimed to extract proline acid from locally available plants (*Schangina aegyptiaca* and *Tamaricaceae*). The plant was collected from different regions of Baghdad to extract proline acid by two method, first using toluene with ninhydrin, while second using alcohol which was obtained different concentrations (0.192 µ mol /g) for the *S. aegyptiaca*and (0.302 µ mol /g) for *Tamaricaceae*,while second method with alcohol obtained (0.811 µ mol /g) from S. *aegyptiaca* and (0.405 µ mol /g) from *Tamaricaceae*, which indicated most efficient 50-60% then proline acid was concentrated to (28.6 µ mol /g). The proline concentrations in *Schangina aegyptiaca* and was higher in *Tamaricaceae*, therefore proline acid is a natural material adto reduce negative effects of salinity water of irrigation.

Key words: Additives, Proline acid، Extracting، Tolueneand Salinity.

المقدمة Introduction

تُعد المياه الجوفية والمبازل مصادراً مختلفة للمياه المالحة تختلف درجة ملوحتها باختلاف مصادرها و بالنظر لتوفر كميات هائلة من المياه الجوفية المالحة فأن إتباع أسلوب التعايش في استعمال هذه المياه أمر ضروري (1). اهتم الباحثون في محاولة إيجاد بعض التقنيات العلمية لاستخدام المياه المالحة في الزراعة بأستخدام الإدارة الجيدة (2) ولدراسة امكانية استعمال هذه المياه في الزراعة دون ان تؤثر في الانتاج الزراعي اصبح من الضروري استعمال بعض الوسائل التي تزيد من تحمل النبات للملوحة وتقليل اثارها الضارة ومن هذه الوسائل هي استعمال بعض المركبات العضوية المتوفرة بصورة طبيعية في النبات ومن هذه المركبات حامض البرولين Proline acid. **فالبرولين يتراكم في النباتات الراقية المجهدة ازموزيا من خلال تحفيز تخليقه من جديد مع وقف عمليات هدمه (3)**. اوضح (4) في دراستهم على نبات الحنطة المعرض لجهد ازموزي حيث انخفضت فعالية إنزيم (Super oxide) بزيادة تجمع الجذور الحرة المؤكسدة إذ أشاروا إلى دوره في إزالة التأثير السلبي للجذور الحرة باعتباره مقتنصا للجذور الحرة dismutase.**وأيضا هو من الأحماض الامينية التي تتراكم في النباتات عند تعرضها للإجهاد المائي والملحي وهو يلعب دور واقي أزموزي فعال** (5).البرولين ($C_5H_9O_2N$): (Acidepyrroline-2-Carboxyligne) هو احد الأحماض الامينية الأساسية الطبيعية التي تدخل في تكوين البروتينات (كازين 11% ، وكولاجين 14%) فهو عبارة عن جسم ابيض كثير ألذوبان في الماء والايثانول حيث تبلغ درجة انحلاله في الماء 162.3 غم /100 مل. وهذا تحت درجة حرارة 25 م˚ حيث يوكسد بسهولة مع النهدرين في العديد من البروتينات (6) .



ويعتبر البرولين من الأحماض الامينية غير القطبية يحتوي سلسلة جانبية الفانية تختلف عن نظيرتها في بقية الاحماض الامينية الاخرى .ينفرد البرولين بصفة تركيبية فريدة تكون فيها مجموعة NH_2 غيرة حرة إي انه له وظيفة ثانوية وليست أولية ولذلك سمي بالحامض الاميني له نواة بيرولية يعطي عند تفاعله مع النهدرين لون اصفر يتحول عند تسخينه إلى الأحمر البنفسجي، حيث إن هذا التفاعل يستعمل في الكشف عن الأحماض الامينية (7), و يعد أحد الوسائل التي تستخدم لرفع كفاءة النبات على التحمل الملحي وتقليل أضراره ويصف ضمن الأحماض الامينية المشروطة أو الواجبة الحضور في بعض الحالات الفيزيولوجية (8). فهو يخفف من تركيز الملوحة لكونه يساعد على امتصاص كميات اكبر من المياه(9). ويحمي الخلية تجاه الضرر أو أي إجهاد بيئي لما له من خصائص طبيعية يغير من طبيعة جدر الخلايا فيجعلها محبة للماء متمسكة بها ويعمل على ضبط إلpH والتالي يساعد هذا على مقاومة النباتات القساوة البيئية (10) هو حامض أميني يقوم بالحفاظ على حيوية الخليه النباتيه تحت ظروف الجفاف والملوحة لكونه يقلل ويمنع تكسر البروتين في الخليه النباتية فيحافظ على النبات (2).

يؤدي تكوين البرولين إلى منع تكسير البروتينات داخل النبات وبالتالي يمنع تحللها فوجوده يقوي الروابط بين الأحماض الامينية المكونة خاصة في مراحل نمو النبات الأولى حيث أن انكسار البروتينات في هذه المرحلة الحساسة يعرض النبات إلى الشيخوخة أو الموت (11). من اجل تطوير مقاومة النبات للملوحة أو الجفاف تستعمل طريقة الرش بمحلول البرولين مع عدم وجود أي تأثيرات سلبية شرط إن لايزيد تركيزه عن 30 جزء بالمليون لغرض دراسة تأثير تلك الإضافات في زيادة التحمل الملحي **(12**)إذأجريت العديد من الدراسات حول معاملة البذور قبل زراعتها وذلك لغرض التأثير في النمو اللاحق للبادرات عن

طريق تعديل النشاطات الأيضية قبل البزوغ الحقلي للبادرات modulating (13). الأهمية البيئية تكمن في إن البرولين حامض أميني يحمي الخلية تجاه الضرر أو أي إجهاد بيئي. لما له من خصائص طبيعية فقد يغير من طبيعة جدر الخلايا فيجعلها محبة للماء متمسكة بهاو يعمل على ضبط pH بالتالي يساعد هذا على مقاومة النبات لقساوة البيئة . يستخلص حامض البرولين من نباتات معرضه للإجهاد الملحي ومن النباتات المتوفرة في بيئتنا المحلية والتي تم اختيارها لأستخلاص حامض البرولين هي نبات الطرطيع اسمه العلمي Schanginina egyptiaca من العائلة الرمرامية Cheno podiaeae هو نبات حولي يتكاثر بالبذور ذات اوراق خيطية مبعثرة عصيرية خضراء اللون طعمها مالح والساق قائمة ومتفرعة من القاعدة وصلدة وملساء إما الأزهار فتكون عنقودية وخضراء اللون ومجتمعة حول السيقان كما ينمو نبات الطرطيع في الترب الطينية الغنية بالنتروجين(14) . نبات الطرفة: تعتبر الطرفاء من العائلة الأثلية(Tamaricaceae) شجرة معمرة صغيرة يصل ارتفاعها إلى المترين وتتكون من أغصان خشبية متفرعة وأوراق أبرية لونها أخضر فاتح ولها أزهار قرنفلية وثمار قرنفلية مخروطية الشكل (15) .

يهدف المشروع إلى استخلاص حامض البرولين من نباتات متوفرة محليا لغرض استخدامها كمضاف طبيعي للمياه المالحة المستخدمة في الري للمحاصيل الستراتيجية لتقليل أثارها السلبية على الكائنات الحية والبيئة بصورة عامة لغرض الاستخدام الناجح لهذه المياه بدون أي خسائر بيئية أو اقتصادية.

Materials and methodsالمواد وطرائق العمل

اولآ : الاستخلاص

أجريت هذه الدراسة في مركز بحوث ومختبرات المياه في مختبر بحوث إعادة استخدام المياه بهدف استخلاص حامض البرولين من نباتي الطرفة والطرطيع وتحديد محتواها من هذا الحامض حيث جمعت عينات اوراق من النباتين من عدة مناطق محيطة لبغداد وهي جسر ديالى، النهروان، التويثة، الراشدية، الرضوانية، الاسكندرية وأبو غريب ونقلت إلى المختبر وتم تنظيفها وغسلها بالماء وتحضيرها لأجراء عملية الاستخلاص للحامض الاميني (البرولين) وحسب الطريقتين:-

الطريقة الاولى : طريقة استخلاص باستخدام التلوين وشملت ثلاث عمليات وهي.

a- **عملية الاستخلاص**

1- يسحق النبات ويؤخذ منه 100 mg، ويضاف إليه ml 10 من 3% من (Sulfosalcylic acid) ويمزج جيدا باستخدام الجفنة الخزفية.

2- يرشح المزيج بواسطة ورق الترشيح (Whatman-N 42) .

3- يؤخذ 2 ml من الراشح ويضاف إليه 2 ml من (Reagentninhydrin) الذي يتكون من :

(1.25 g من ninhydrin + 30 ml من glacid acitic +20 ml من ortho phosphoric acid)

4- يضاف إلى المزيج (Reagentninhydrin) المحضر 2 ml من glacid acitic acid.

5- يجمع المزيج في أنبوب اختبار ويوضع في حمام مائي (لمدة ساعة على درجة حرارة 100مْ)

6- يبرد الأنبوب على درجة حرارة المختبر لمدة 20 ثانية .

b- **أضافة التلوين:** يؤخذ 1 ml من المحلول السابق. و يضاف إليه 4 ml من Toluene.

c- **عملية الفصل:** بعد إضافة التلوين للأنبوب تمكن من الحصول على وسط بطبقتين نقوم بعملية الرج ، نتخلص من الطبقة السفلى ونحتفظ بالطبقة العليا ونضيف كمية قليلة من Na_2So_4 لتجفيف الماء العالق. - يؤخذ 3ml من المحلول ثم نقرأ الكثافة الضوئية على جهاز الطيف - الضوئي نوع Shimadzu من نوع ياباني المنشأ (UV – 1700) على طول موجي520 نانوميتر حسب (16).

وتحسب حسب المعادلة التالية:- Y =5.4657X +4.6324

في الراشح µg.....Y

proline / ml

µ Mole proline g Fresh weight = (µg proline / ml xml of Toluene/115.5Fresh Weight in g of sample.

طريقة الاستخلاص بالكحول (الايثانول) (17) وتتلخص هذه الطريقة بما يلي :

المواد المستخدمة: حمض الخليك. الإيثانول (98%).

أنابيب اختبار ذات سعة (1.5ml).

حمام مائي(Lab. Companion) كوري الصنع.

جهاز الطرد المركزي. مقياس الطيف الضوئي(Schimadzu موديل UV-1700 ياباني الصنع) على طول موجي520 نانومتر.

عملية الاستخلاص:-

1- نأخذ 1g من النبات المقطع ونظيف اليه 20 ml من المحلول الكحولي (إيثانول 30:70ماء).

2-Action Mix:- (1% ننهايدرين يضاف إلى 60% من acetic acid و 20% إيثانول).

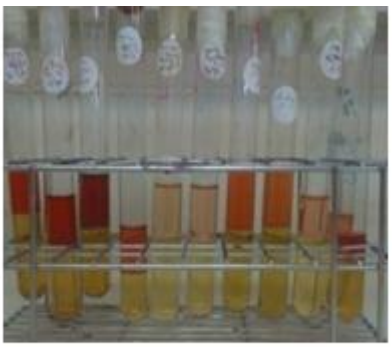
3- يوضع 1000 مايكروليتر من(Reaction Mix) في قنينة محكمة حجمها ml (1,5 – 2).

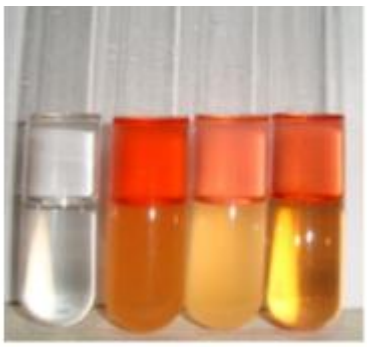
4- يضاف أكثر من 500 مايكروليتر من المستخلص الكحولي في نقطة (1).

ثانيا:- تركيز الحامض المستخلص تم تجميع التراكيز التي حصلنا عليها من النباتات وبالطريقتين لتركيزها والحصول على تركيز% 30 بواسطة جهاز (المبخر الدوار Heidolph) موديل LABOROTA 4000 الماني الصنع. ثم يقاس التركيز النهائي بجهاز المطياف الضوئي (13).

النتائج والمناقشة

الجدول (1) يبين تراكيز مختلفة من حامض البرولين حيث استخلصت بطريقة استخدم فيها كاشف النهدرين وهي مادة مؤكسدة قوية تتفاعل مع الحوامض الأمينية لتعطي مركب أزرق اللون يعتمد هذا التفاعل على وجود مجموعتي الأمين والكاربوكسيل بشكل حر وهذا التفاعل يكون حساس للكشف عن المركبات القليلة من الحوامض الأمينية وظهور لون أزرق بنفسجي أفتح من بقية الأحماض الأمينية عند إضافته إلى بروتين النبات وسبب ذلك يعود إلى احتواء البر ولين على زمرة أمينية ألفا حرة في طرف السلسلة الببتيدية فقط وهي قادرة على التفاعل مع النينهدرين حيث تقوم بنزع ثلاث ذرات من الماء وتحول الكاشف إلى لون اصفر وبعد التسخين يعطي مركب ذا لون بنفسجي يسمى صبغة رومان كما في شكل (1) وتباين في تراكيزه وأيضا استخدم حامض السلفوساليك وهو عديم اللون وهو مرسب للبروتين، لذلك نلاحظ تفاوت في محتويات الحامض للنباتات بالنسبة للمواقع المأخوذة منها كما في الشكل (2). بينت الكثير من الدراسات إن تراكم البرولين لايحدث إلا عند النباتات المجهدة فقد أكد (18) إن ارتفاع محتوى البر ولين هو نتيجة مباشرة للإجهاد الملحي الشديد.

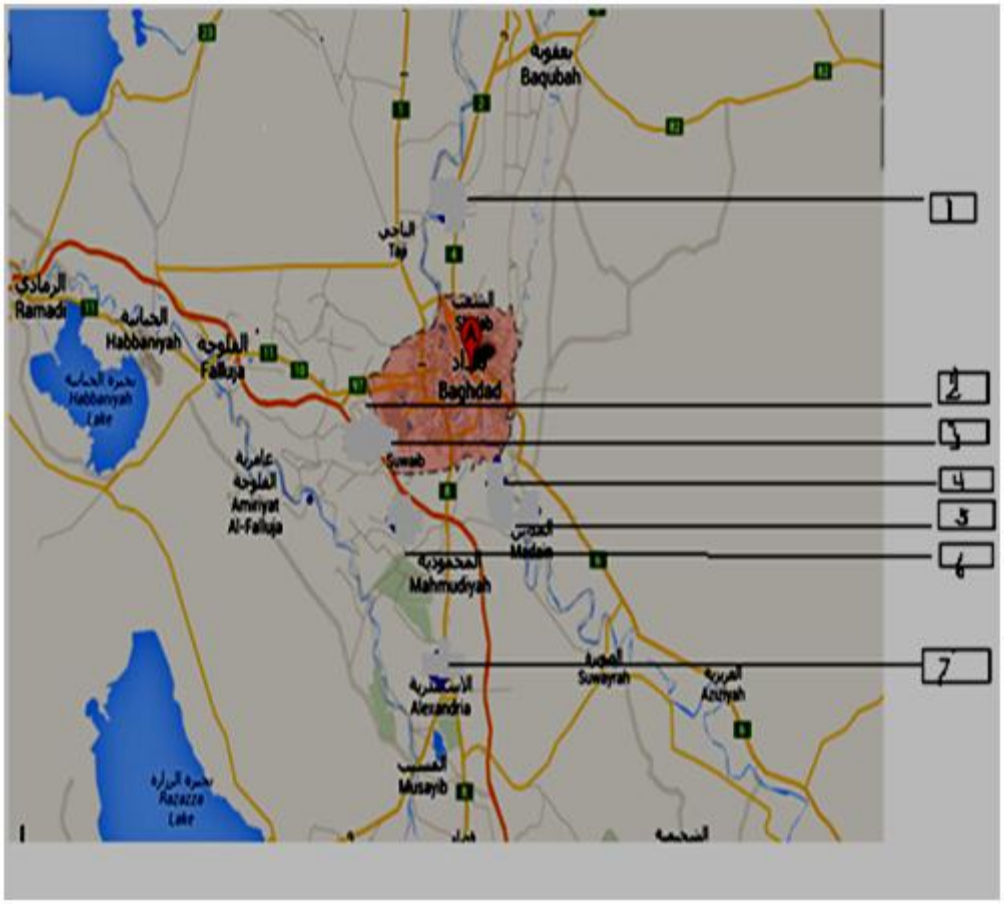




شكل (1) تراكيز مختلفة من حامض البرولين المستخلص من عدة مناطق

وهذا يتفق مع الدراسة التي قام بها (19) الذي أشار إلى إن المستويات العالية لمحتويات البرولين سجلت في حالة الإجهاد الملحي الشديد. كذلك توصل إلى هذه النتيجة (20). فارتفاع محتوى البرولين هو نتيجة استجابة وقائية للنباتات تجاه كل العوامل التي تخفض نسبة الماء في الخلايا. يبين جدول (1) تفاوت في تركيز البرولين المستخلص من نباتي الطرفة والطرطيع بطريقة استخدام التلوين، حيث نلاحظ نسبة الاستخلاص وتركيزه في النباتات تراوحت بين (0.192 – 0.124) لنبات الطر طيع و(376. 0.302) لنبات الطرفة والذي يرتبط مع التحمل الملحي للنبات وهذا يتفق مع (21) الذي أوضح إن زيادة المقاومة للشد التاكسدي وهو احد مظاهر الشد الملحي ترتبط مع تجمع البرولين. وقد لاحظنا في هذا البحث إن هناك زيادة في تجمعه في النباتات التي تنمو في ترب مالحة إذ يعتبر ككانس avenging agent والذي سيزيد من التحمل الملحي لهذه النباتات. كما يبين جدول(2) تراكيز لحامض البرولين المستخلصة بطريقة الكحول المتبعة من (17) والتي تراوحت (0.604–0.752) لنبات الطرفة و(564. 0 – 0.453) لنبات الطرطيع. وقد لوحظ من خلال النتائج ان طريقة استخدام الايثانول كانت الافضل في الاستخلاص وكان تركيز البرولين المستخلص ضعف قيمته في طريقة استخدام التلوين. ومن الملاحظ في البحوث العلمية اختلاف الوحدات المستخدمة للتعبير عن التركيز وكذلك الظروف مما ينتج عنه صعوبة في مقارنة النتائج لأنواع النباتات خاصة لحدود البقاء تحت الإجهاد الملحي ومن الوحدات نسبة مئوية % بأشكاله وزن جزيئي حجميM جزء من المليون (PPM)، مليمكافيء/ لترL\(Meq)، غرام/لتر. وقد اقترح (22) بأن تجمع البروتين يرتبط مع التحمل الملحي للنبات . كما أوضح أن زيادة المقاومة للشد ألتأكسدي وهو أحد مظاهر الشد الملحي يرتبط مع تجمع البرولين وقد لاحظنا في هذا البحث إن هناك زيادة في تجمعه في النباتات التي تنمو في ترب مالحة خلال النتائج المتحصل عليها و المدونة في الجدول (2). والشكلين (3 ،4) تبين اختلاف نسب تركيز حامض البرولين وتجمعه باختلاف التحمل الملحي للنبات وهذا يتفق مع توصل إليه (23) حيث إن البرولين أهم الأحماض الأمينية التي تتراكم في النباتات الدنيئة والراقية عند تعرضها للإجهاد المائي أو لملحي وهو يلعب دور واقي أزموزي فعال (12)، فالبرولين يتراكم في النباتات الراقية المجهدة أزموزيا من خلال تحفيز تخليقه من جديد مع وقف عملية هدمه(3) .

شكل (2) خارطة بغداد ومواقع النمذجة



1- الراشدية
2- الرضوانية
3- النهروان
4- جسر ديالى
5- التويثة
6- ابو غريب
7- الاسكندرية

200 mi
200 km

جدول (1) تراكيز حامض البرولين المستخلصة بالتلوين من نبات الطرطيع والطرفة لعدة مواقع

النبات		التوصيلية الكهربائية للتربة ($ds\ m^{-1}$)	نبات الطرطيع			نبات الطرفة		
ت	الموقع		(الامتصاصية) OD	البرولين في الرشح µ mol /g	تركيز البرولين في الوزن الطري لنبات الطرطيع µ mol /g	(الامتصاصية) OD	البرولين في الرشح µ mol /g	تركيز البرولين في الوزن الطري لنبات الطرفة µ mol /g
1	النهروان	5.5	0.540	7.583	0.124	3.130	21.767	0.376
2	الاسكندرية	6.1	1.137	10.840	0.181	3.436	23.412	0.405
3	جسر ديالى	6.7	1.311	11.797	0.204	0.137	10.846	0.173
4	الراشدية	5.8	1.426	6.045	0.104	1.411	12.344	0.213
5	التويثة	6.4	0.450	7.092	0.245	3.934	12.867	0.172
6	الرضوانية	7.1	0.320	10.827	0.180	3.913	9.934	0.295
7	ابو غريب	4.8	0.357	10.884	0.192	3.411	22.021	0.302

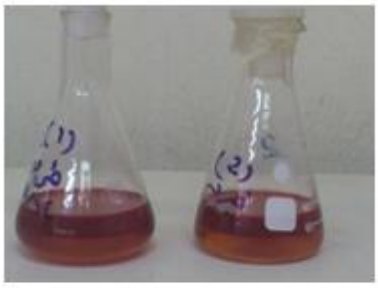
جدول (2) تراكيز حامض البرولين المستخلصة بالكحول من نبات الطرطيع والطرفة لعدة مواقع

النبات		التوصيلية الكهربائية للتربة ($ds\ m^{-1}$)	نبات الطرطيع			نبات الطرفة		
ت	الموقع		(الامتصاصية) OD	البرولين في الرشح µ mol /g	تركيز البرولين في الوزن الطري لنبات الطرطيع µ mol /g	(الامتصاصية) OD	البرولين في الرشح µ mol /g	تركيز البرولين في الوزن الطري لنبات الطرفة µ mol /g
1	النهروان	5.5	6.26	43.354	0.752	4.695	32.650	0.564
2	الاسكندرية	6.1	6.872	46.342	0.811	5.154	35.118	0.607
3	جسر ديالى	6.7	0.274	21.692	0.364	0.205	16.269	0.259
4	الراشدية	5.8	2.822	24.688	0.426	2.116	18.516	0.319
5	التويثة	6.4	7.868	24.734	0.344	5.901	18.300	0.258
6	الرضوانية	7.1	7.826	19.868	0.591	5.869	14.901	0.442
7	أبو غريب	4.8	6.822	44.042	0.604	5.116	33.031	0.453

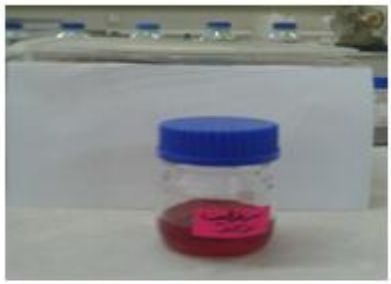
جدول (3) مقارنة بين طرق استخلاص للبرولين تحت ضغط الملوحة

Salinity levels ($ds\ m^{-1}$)	Proline طريقة التلوين	[umoles $(g\ FW)^{-1}$] طريقة الكحول	--Means
0.3 (control)	3.93	0.62	0.51
6.5	5.08	7.56	6.32
9 .7	6.39	9.96	8.17
Means	3.95	6.05	

يشير الجدول (3) إلى استخدام ثلاث مستويات من الملوحة وخلال مقارنة الطريقتين في استخلاص البرولين يظهر تباين في طريقتي الاستخلاص في نسبة تركيز حامض البرولين باختلاف ضغط الملوحة فأن معدل تركيز حامض البرولين (g 0.51 $FW)^{-1}$ عند ملوحة منخفضة (السيطرة) ، بينما معدل تركيز حامض البرولين عند ملوحة (6.5 $ds\ m^{-1}$) كان (g 6.32 $FW)^{-1}$ وأيضا ارتفع تركيزه عند ملوحة (9.7 $ds\ m^{-1}$) إلى 8.17(g $FW)^{-1}$ ونلاحظ زيادة تركيزه بازدياد الملوحة ولكن يتبين من النتائج إن نسبة استخلاصه بطريقة الكحول اعلي بنسبة 50- 60 % من طريقة الاستخلاص بطريقة التلوين وهذا يتفق مع (17). بعد جمع تركيز مختلفة من حامض البرولين تم التوصل لتركيز نهائي(28.6 µ mol /g) كما في الإشكال(3، 4) حيث يستخدم بنسبة 30 % حيث تستعمل طريقة الرش بمحلول البرولين مع عدم وجود أي تأثيرات سلبية شرط أن لا يزيد تركيزه عن 30جزء في المليون (24).



شكل(3) حامض البرولين للنباتين قبل التركيز



شكل(4) حامض البرولين بعد إجراء التركيز

الاستنتاجات Conclusions

1- يمكن استخلاص حامض البرولين من نباتات متوفرة في معظم مناطق العراق وخصوصا مناطق محيطة بمدينة بغداد.

2- استخلاص حامض البرولين بطريقتين وقد بينت النتائج طريقة الاستخلاص بالكحول اكفأ من طريقة الاستخلاص بالتلوين بنسبة 50 - 60% لحامض البرولين.

التوصيات Recommendations

1- ضرورة إنتاج حامض البرولين باستخلاصه محليا من النباتات ذات القدرات العالية على تحمل الملوحة، والمتوافرة في البيئات المحلية حتى لا تؤدي تكاليف استيراده العالية إلى الحرمان من استخدامه، حيث تصل تكلفة استيراده إلى دولار أمريكي للغرام الواحد.

2 – دراسة إمكانية استعمال المياه المالحة في الزراعة بأستخدام معالج الملوحة واستعمال وسائل تزيد من تحمل الملوحة من نباتات أخرى متواجدة في البيئة المحلية.

3– ضرورة اجراء مسح للنباتات التي تحتوي على تراكيز عالية من حامض البرولين ومتوفرة في بيئتنا المحلية.

المصادر :

1. الحديثي ، عزام حمودي . 2013. تقييم نوعية وكمية مياه المصب العام،وقائع المؤتمر الدولي الخامس للعلوم البيئية ، جامعة بابل . مجلة جامعة بابل.ص51–61 .

2. Ashraf, M. Foolad, M. R. 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance Environ Exp. Bot., 59:206- 216.

3. Delauney AJ and VermaDPS .1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant J 4: 215–223

4. Tan, J.; Zhao; Hong, J.; Han, Y.; Li, H. and Zhao, W. 2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. World J.Agric. 4(3): 307-313.

5. Toorchi, M.; Naderi, R.; Kanbar, A.; Shakiba, M.R. 2011. Response of spring canola cultivars to sodium chloride stress. *Ann. Biol. Res2*, 312-322.

6. Mubshara Saadia 1, Amer Jamil 2,*, Nudrat Aisha Akram 3 and Muhammad Ashraf Roosens N.H.C Thu T.T, Iskandar H.M, Jacobs M. 1998. Isolation of ornithine-aminotransferase DNA and effects of salt on its expression in Arabidopsis Plant.

7. Heidari, M. 2010.Nucleic acid metabolism, proline concentration and antioxidants enzyme activity incanola (*Brassica nupus* L.) under salinity stress. *Agric. Sci. China, 9*, 504–511.

8. Yong H.E. Grines. H .D et Edwards .G.E. 1998. The effects of high salinity, water-deficit, and abscisic acid on phosphoenolpyrivate carboxiylase acitivity and proline accumulation in meseinbryanthemum crystallinum cell cultures .j, Plant Physiol, 145,557.564.

9. المياح، عبدالرضا اكبر و وداد مزبان طاهر الاسدي.2012 . القدرة التراكمية لنباتي *Hydrilla verticillata Ceratophyllum* و*demersum* لبعض العناصر الثقيلة مختبريا. مجلة أبحاث البصرة، العلميات.العدد 38، الجزء *B*2

10. Heidari, M. 2010. Nucleic acid metabolism, proline concentration and antioxidants enzyme activity incanola (*Brassica nupus* L.) under salinity stress. *Agric. Sci. China*, *9*, 504-511.

11. Jeffery D. Connor, Kurt Schwabe, Darran King, Keith Knapp .2012. Irrigated agriculture and climate change: The influence of water supply variability and salinity on adaptation Ecological Economics 77 149–157.

12. Roosens N.H.C Thu T.T, Iskandar H.M, Jacobs M. 1998 . Isolation of ornithine-aminotransferase DNA and effects of salt on its expression in Arabidopsis Plant Physiol. 117,203,271.

13. الشاذلي، محمد احمد السيد . 2001 . التحمل الملحي لبعض المحاصيل خلال مراحل النمو المبكرة . رسالة ماجستير ، كلية الزراعة، جامعة الزقازيق ، مصر .

14. Martin, A. C. & Barkley, W. D. 1968. Seed Identification Manual. Oxford and IBH publishing company, India.

15. Al- Rawi. A. 1966. Poisonus plants of Iraq.

16. Bates, L.S. 1973.Rapid determination of the proline for water-stress studies. Plant soil .:39:205-207.
17. Weinberg, R., HR, Lerner and A.Poljakoff-Mayber. 1981. Kinetics of toluene induced leakage of low molecular weight solutes from excised sorghum tissues. Plant physiol., 68:1433-1438.
18. Hurd, B., Callaway, M. Smith, J. Kirchen, P. 2004. Climatic change and US water resources: from modeled watershed impacts to national estimates. Journal of the American Water Resources Association 40 (1), 129–148.
19. Apel ,K., and Hirt H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55:373-399.
20. Barbul A. 2008. Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis J Nutr.; 138:2021–4.
21. Stewart C. R. 1981. Proline accumulation biochemical aspects. In Physiology and Biochemistry of drought resistance in plants. (Paleg L. J. and Aspinal D. (eds.), Sydney, Academic Press. p. 243-259.

22. شايب، غنية .2012. شروط ومصير تراكم البرولين في الأنسجة النباتية تحت نقص الماء :انتقال صفة التراكم إلى الأجيال رسالة دكتوراه جامعة الحياة ، منتوري قسنطينة ، الجزائر.

23. Alam ET Azmi . 1990. Effect of salt stress on germination, growth, leaf anatomy and mineral element composition of wheat cultivars. Acta. phys.plant. 215- 220.

Lehninger A. L. 1982. Principes de Biochimie. ed. Flammarion medecine science, Paris, 1006 P.