

اثر پرایمینگ تنظیم کننده پیکس بر شاخص‌های رشد و سیستم آنتی اکسیدانی دانه رست پنبه در سطوح مختلف شوری

عمران عالیشاه^۱، مریم نیakan^{*}^۲، شهربانو غفوری^۱

۱. مرکز تحقیقات پنبه، گرگان، ایران

۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۲۰

چکیده

در این تحقیق اثر بیش تیمار تنظیم کننده پیکس بر درصد جوانه زنی، پارامترهای رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و دو اسید آمینه پرولین و گلیسین بتایین دانه رست پنبه رقم سپید ۲ در پاسخ به دو سطح شوری مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در غالب طرح کاملاً تصادفی و دو غلظت از پیکس (۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر) و دو سطح از نمک کلرید سدیم (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی مول) در محیط پتروی دیش انجام شد. دانه‌های پنبه در ابتدا به مدت ۵ ساعت با دو غلظت از پیکس پیش تیمار شده و سپس به پتروی‌های حاوی دو سطح از نمک منتقل و درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، وزن تر و خشک دانه رست و نیز فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و محتوای پرولین و گلی سین بتایین در دانه رست مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری به خصوص نوع شدید آن سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و پارامترهای رشد دانه رست پنبه گشت و پرایمینگ با پیکس سبب بهبود صدمات ناشی از شوری بر این پارامترها شد. همچنین پرایمینگ با پیکس در غلظت ۱۵ گرم در لیتر سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح مختلف شوری شد در صورتیکه اثر این پرایمینگ بر فعالیت آنزیم پراکسیداز روند نزولی داشت. میزان پرولین و گلیسین بتایین نیز تنها در شوری متوسط در پیش تیمار با پیکس افزایش معنی‌داری یافت.

کلمات کلیدی: آنتی اکسیدان، پنبه، پیکس، رشد، شوری

مقدمه

(۲۰۰۹) پاسخ پنبه (رقم ۱۲ Gcot) به شوری را در مرحله جوانه‌زنی مورد مطالعه و بررسی قرار دادند و به این نتیجه دست یافتند که افزایش شوری، درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و قدرت گیاهچه را کاهش داد. همچنین ۲۳ ژنوتیپ پنبه دریافتند استرس شوری باعث کاهش قابل ملاحظه در طول ریشه و ساقه می‌شود. نتایج بررسی‌های Jung و همکاران (۱۹۹۵) نشان دادند که با افزایش شوری، طول گیاه، سطح برگ، وزن تر و خشک پنبه در دو رقم مورد

بررسی اثر شوری بر سرعت و درصد جوانه‌زنی و همچنین رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه در بسیاری از گیاهان زراعی نشان داده است که تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی یک آزمون قابل اطمینان در ارزیابی تحمل بسیاری از گونه‌های است زیرا شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و همچنین کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌گردد (Gulzar and Ajmalkhan, 2001). شوری خاک از عوامل موثر در کم کردن عملکرد زراعت پنبه است (Ashraf, Weiping, 2002).

* Email:neda.niakan@gmail.com

تجمع متابولیت‌های ثانویه به عنوان یکی از پاسخ‌های احتمالی گیاهان به تغییرات پتانسیل اسمزی در محیط است. در گونه‌های مختلف گیاهی بین ترکیبات آمونیوم چهارتایی مثل گلایسین بتائین، بتا آلانین بتائین و پرولین که از متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند و شوری همبستگی مثبت مشاهده شده است. این ترکیبات آلی در حال حاضر به عنوان تنظیم کننده اسمزی شناخته می‌شوند و از میان آنها نقش گلایسین بتائین در استرس شوری دارای اهمیت است (Hasegawa et al., 2000). افزایش گلایسین بتائین در پاسخ به استرس شوری در ذرت و سورگوم مشاهده شده است (Yang et al., 2003) و Kanagaraj (Kanagaraj and Desingh, 2007) اثر افزایش شوری آب بر محتوای گلایسین بتائین را در دو رقم پنجه، مورد بررسی قرار دادند و دریافتند گیاهانی که تحت تنش شوری قرار گرفتند میزان گلایسین بتائین بالاتری را داشتند. گلایسین بتائین مانند یک ترکیب اسمزی غیرسمی از آنزیم‌ها و ترکیبات یونی محافظت کرده و از تاثیر نمک جلوگیری می‌کند.

پرولین اسید آمینه‌ای است که تحت استرس شوری و خشکی به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی به طور گستردگی در گیاهان عالی تجمع می‌یابد. تجمع پرولین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی بسیار فعال به طور معمول در سیتوسل رخ می‌دهد و به طور قابل ملاحظه‌ای به تنظیم اسمزی سیتوپلاسمی، ثبات غشاء و فرآیندهای غشایی کمک می‌کند (Abraham et al., 2003; Rontein et al., 2002).

Delauney و همکاران (1993) نشان دادند که برای بیوستز پرولین در گیاهان عالی دو راه استفاده از اورنیتین و گلوتامات وجود دارد و افزایش این دو ماده در اثر استرس شوری می‌تواند منجر به افزایش پرولین گردد.

مواد تنظیم کننده رشد یا هورمون‌های مصنوعی به عنوان یک ابزار مدیریتی در بالا بردن سودمندی زراعی استفاده می‌شود. تنظیم کننده‌های رشد به غیر از مواد غذایی که در بر دارند دارای ترکیبات آلی هستند که می‌توانند بر روی فیزیولوژی گیاه تأثیر بگذارند و با تنظیم و تعدیل رشد

مطالعه کاهش می‌یابد. رضایی و همکاران (۱۳۸۳) مشخص کردند شوری موجب کاهش طول ریشه چه و ساقه چه در هر دو رقم سای اکرا (مقاوم به شوری) و ساحل (حساس به شوری) می‌گردد.

استرس شوری موجب تجمع گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) در سلول می‌شود، که می‌تواند به غشاء لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برساند (Mittler, 2002). آسیب غشاء و فرآیندهای غشایی در اثر سمیت ناشی از ROS در بیشتر گیاهان در معرض تنش اتفاق می‌افتد (Zhu, 2001; Cost et al., 2005). رادیکال‌های آزاد اکسیژن با پراکسیداسیون لیپید، به غشاء آسیب می‌رسانند (Khan and Panda, 2008; Khan and Panda, 2006). آسیب غشاء و فرآیندهای Mandhania et al., 2006 غشایی در اثر سمیت ناشی از ROS در بیشتر گیاهان در معرض تنش اتفاق می‌افتد (Zhu, 2001; Cost et al., 2005.., Mandhania et al., 2006). از دست دادن توانایی تشخیص رادیکال‌های آزاد در طول استرس معمولاً به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان منجر می‌شود (Mittova et al., 2002). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در پنجه مقاوم به شوری گزارش شده است (Meloni et al., 2003) و Gossett و همکاران (1994) در پژوهشی میزان اثر تنش شوری را بر میزان آنتی اکسیدان‌ها دورقم پنجه مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که گیاه پنجه برای کاهش اثرات تنش شوری میزان آنتی اکسیدان‌ها را در خود افزایش می‌دهد. در ارقام حساس به شوری در پنجه بین فعالیت پر اکسیدازی و افزایش تنش شوری همبستگی مثبت وجود دارد (رضایی و همکاران, ۱۳۸۵) و Desingh (Desingh, 2007) نیز در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که آنزیم‌های کلیدی آنتی اکسیدانی شامل سوپر اکسید دسموتاز، کاتالاز و پر اکسیداز با افزایش شوری به طور معنی‌داری در پنجه افزایش می‌یابند.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه پنبه (*Gossypium hirsutum*), رقم سپید ۲ از مرکز تحقیقات پنبه کشور واقع در استان گلستان، شهرستان گرگان تهیه گردید. به منظور بررسی اثرات شوری و پیکس (مپی کوات کلرايد) و اثر متقابل پیکس و شوری بر درصد جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد و سیستم آنتی اکسیدانی رقم مذکور آزمایش در مرحله جوانه‌زنی (دانه رست) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل چهار غلاظت محلول پیکس (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر) و دو سطح شوری (۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مول NaCl) بود.

محلول مپی کوات کلرايد (پیکس) جهت دلیته کردن (کرک زدایی)، بذرها در اسید سولفوریک ۹۸ درصد به مدت ۵ ثانیه نگهداری و در مرحله بعدی با محلول ۴۰ درصد آب ژاول به مدت ۱۵ دقیقه ضدغونی شدند. سپس به مدت ۵ ساعت با محلول پیکس با غلاظت ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم در لیتر پیش تیمار شده و بعد از طی شدن زمان فوق به پلیت‌های اصلی منتقل و با توجه به نوع تیمار به آنها نمک کلرید سدیم‌های در غلاظت‌های ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مول اضافه شد. پلیت‌ها در ژرمنیاتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ روز قرار داده شدند.

درصد جوانه‌زنی

جوانه‌زنی بذرها بعد از ۷۲ ساعت (روز سوم) بررسی و از رابطه زیر درصد جوانه‌زنی محاسبه شد دانه‌هایی که طول ریشه چه آنها ۱ میلی‌متر یا بیشتر بود به عنوان بذرهای جوانه زده در نظر گرفته شدند.

n = تعداد بذرهای جوانه زده

N = تعداد کل بذرها ی کشت شده

$PG = \frac{n}{N} \times 100$ = درصد جوانه‌زنی

- تعیین وزن تر و خشک

جهت تعیین وزن تر، ۵ عدد بذر از تکرار هر تیمار به طور تصادفی انتخاب و وزن تر آنها در روز چهارم توسط ترازوی دیجیتال بر حسب گرم وزن گردید.

رویشی و زایشی عملکرد را بالا ببرند. به طور کلی کاربرد مواد تنظیم کننده رشد در پنبه باعث کنترل رشد رویشی، تحریک افزایش محصول، بهبود کیفیت الیاف و زودرسی می‌شود. مپی کوات کلرايد (پیکس) بیشترین مصرف را در بین مواد تنظیم کننده رشد دارد به عنوان یک تنظیم کننده رشد رویشی در مدیریت کشت پنبه استفاده می‌شود (Jost et al., 2006).

از آنجایی که دانه پنبه در اوایل مرحله رویشی به خشکی، شوری و سرما حساس است، بنابراین خسارت‌های ناشی از این عوامل نیز در این مراحل بیشتر است. در این شرایط استفاده از مواد تنظیم کننده رشد جهت بهبود جوانه‌زنی می‌تواند کمک زیادی به افزایش عملکرد نماید (Morrow and Krieg, 1990).

تحقیقات نشان داده است که تیمار نمودن بذرها قبل از کاشت با پیکس می‌تواند یک ابزار موافقیت آمیز در تولید پنبه باشد. پیکس می‌تواند در فیزیولوژی بذر تغییراتی ایجاد کند و دیواره سلولی را تحت تاثیر قرار دهد (Zhang et al., 1990).

گزارش شده است پیکس سبب افزایش مقاومت گیاه پنبه در برابر تنش‌های محیطی می‌گردد. به عنوان مثال در پژوهشی مشخص شد دانه رست‌هایی که با پیکس آغشته شده بودند و سپس تحت استرس شوری قرار گرفتند کمتر تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفتند و میزان جذب آب توسط ریشه‌های آنها بیشتر بود. گیاهچه‌های این دانه‌ها کوتاه‌تر و متراکم‌تر و محتوی کلروفیل و رشد ریشه‌های آنها نیز بیشتر بود (York, 1983).

تاكنوون مطالعات متعددی در رابطه با اثر پیکس بر پارامترهای رشد در گیاه پنبه صورت گرفته است، ولیکن تحقیقات موجود بیرامون اثر این تنظیم کننده بر فرآیندهای بیوشیمیابی در پاسخ به تنش‌های محیطی اندک می‌باشد، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر پرایمینگ پیکس بر شاخص‌های رشد و ارتباط آن با سیستم آنتی اکسیدانی دانه‌رست پنبه در سطوح مختلف شوری بود.

و بعد از ۵/۲ ساعت جذب آن در طول موج ۳۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار گلایسین بتأثیر بر حسب میلی‌مول بر گرم وزن خشک نمونه اندازه‌گیری گشت (Sairam et al., 2004).

- سنجش پرولین

۰/۴ گرم بافت گیاه را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفو سالیسیلیک اسید ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه گردید. پس از صاف کردن محلول، ۲ میلی‌لیتر از آن با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال مخلوط گردید و ۱ ساعت در دمای ۹۶ درجه حمام آب گرم قرار گرفت.

بعد از این مدت لوله‌ها در حمام آب یخ سرد شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد. با ثابت نگهداشتن لوله‌ها دو لایه کامل‌آمجزا در آنها تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی برای اندازه‌گیری جذب پرولین نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از شاهد تولوئن استفاده می‌شود. مقدار پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر نمونه اندازه‌گیری گشت (Bates, 1973).

محاسبات آماری در قالب کاملاً تصادفی و با چهار تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از روش دانکن در سطح ۵٪ و نرمافزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرمافزار Excel استفاده شد.

نتایج

اثر تیمارهای مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر درصد جوانه‌زنی بذر پنبه

در این تحقیق مشاهده شد با افزایش شوری درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد کاهش یافت. در شوری ۱۵۰ میلی‌مول، پرایمینگ با غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس موجب افزایش جوانه‌زنی نسبت به شوری ۱۵۰ میلی‌مول بدون پیکس، گشت. در شوری ۳۵۰ میلی‌مول، بیش تیمار با غلظت‌های مختلف پیکس منجر به افزایش جوانه‌زنی نسبت به شوری ۳۵۰ میلی‌مول بدون پیکس گردید (شکل ۱).

جهت تعیین وزن خشک دانه رست‌ها، ۵ دانه رست در روز چهارم در داخل آون دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و سپس توزین شدند.

- اندازه‌گیری طول ریشه چه

طول ریشه چه در روز چهارم بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

- سنجش فعالیت آنزیمی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، عصاره آنزیمی آماده شد.

- سنجش فعالیت کاتالازی

۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵٪ مولار با pH ۷ و میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و سپس ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی استخراج شده به آن اضافه و تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم بر حسب $OD_{min}^{-1} FW^{-1} g^{-1}$ در نظر گرفته شد (Machly and Chance, 1995).

- سنجش فعالیت پراکسیدازی

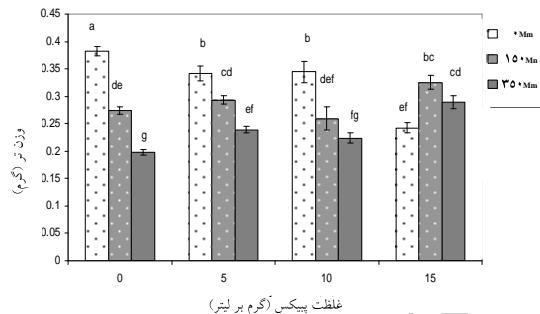
۰/۴ میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار با pH ۵ و میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین ۱٪ مولار در الکل ۵۰ درجه را با هم مخلوط کرده و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به مخلوط فوق اضافه گردید و تغییرات جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد $OD_{min}^{-1} FW^{-1} g^{-1}$ در نظر گرفته شد (Koroi, 1989).

- سنجش گلایسین بتأثیر

۰/۵ گرم از پودر خشک شده (دانه رست، برگ چهارم و ریشه) در ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و در دمای ۲۵ درجه شیکر شد. محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و با نسبت برابر با اسید سولفوریک ۲ نرمال رقيق شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از آن جدا و با ۰/۸ میلی‌لیتر یدید - یدین پناسیم سرد (لوگل) مخلوط شد. محلول به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۰۰۰ سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۹۰۰۰ سانتی‌گراد ریزو شد. ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی جدا و با ۰/۱ میلی‌لیتر ۲،۱ دی‌کلرو اتان حل شد. شدیداً ورتکس شده

بررسی اثر پیکس و شوری و اثر متقابل آنها بر وزن تر دانه رست پنبه

وزن تر دانه رست پنبه در پرایمینگ با مقادیر مختلف پیکس و شوری صفر، نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد (شکل ۳). همانگونه که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، وزن تر دانه رست‌های پنبه در پرایمینگ با پیکس در مقادیر ۵ و ۱۰، ۱۰ و ۱۵ گرم بر لیتر دارای اختلاف معنی‌داری بود. در پیکس ۵ گرم بر لیتر، بین شوری ۳۵۰ میلی‌مول نسبت به شوری ۱۵۰ و صفر میلی‌مول تفاوت معنی‌داری مشاهده گشت. غلظت ۱۰ گرم بر لیتر پیکس بین غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مول تفاوت معنی‌داری دیده نشد اما نسبت به شوری صفر تفاوت معنی‌دار بود. در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس، بین شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به ۳۵۰ میلی‌مول اختلاف معنی‌داری در وزن تر دانه رست مشاهده گشت (شکل ۳).



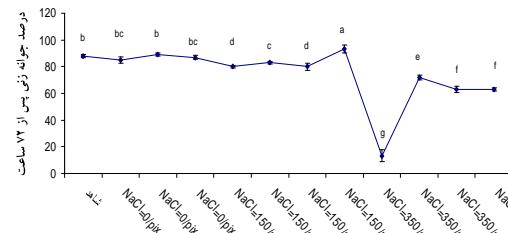
شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر وزن تر دانه رست پنبه

بر وزن تر دانه رست پنبه رقم سپید ۲

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر پیکس و شوری و اثر متقابل آنها بر وزن خشک دانه رست پنبه

مطابق با نتایج بدست آمده وزن خشک دانه رست بین تیمارهای مختلف شوری نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را به نمایش گذاشت. بین پرایمینگ با پیکس ۵ گرم بر لیتر و تیمارهای مختلف شوری وزن خشک دانه رست تفاوت معنی‌دار بود. در پیکس ۱۰ گرم بر لیتر، بین شوری ۳۵۰ میلی‌مول نسبت به ۱۵۰ میلی‌مول و شوری صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده گشت ولی وزن خشک دانه رست تفاوت معنی‌داری بین شوری ۱۵۰ میلی‌مول و شوری نداشت. در

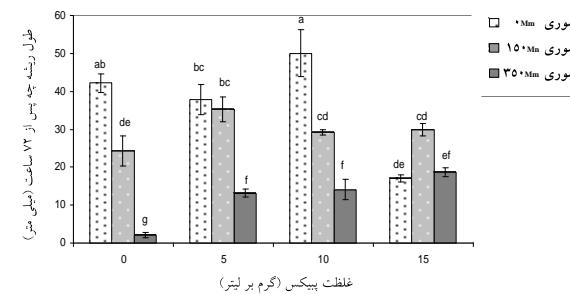


شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر درصد جوانه‌زنی بذر پنبه رقم سپید ۲

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر طول ریشه‌چه دانه رست پنبه

مطابق با نتایج بدست آمده همچنین در شوری صفر و پرایمینگ با پیکس در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر طول ریشه‌چه ایجاد نمود و بین بقیه تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در بیش تیمار با پیکس ۵ گرم بر لیتر، بین شوری ۳۵۰ میلی‌مول نسبت به شوری صفر و ۱۵۰ میلی‌مول با این غلظت پیکس، تفاوت معنی‌داری در طول ریشه‌چه مشاهده گشت. در غلظت ۱۰ گرم بر لیتر بین غلظت‌های مختلف پیکس نسبت به هم تفاوت معنی‌داری در طول ریشه‌چه دیده شد. در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس بین شوری ۱۵۰ میلی‌مول نسبت به ۳۵۰ میلی‌مول و شوری صفر طول ریشه‌چه دارای اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۲).

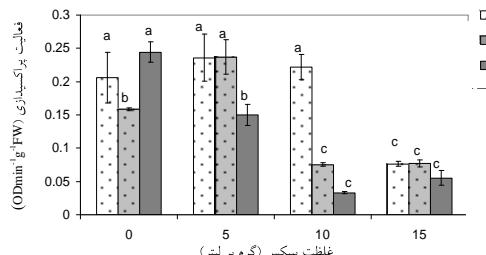


شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر طول ریشه‌چه دانه رست پنبه رقم سپید ۲

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر فعالیت پراکسیدازی دانه رست پنبه

نتایج آنالیز واریانس در رابطه با تأثیر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر فعالیت پراکسیدازی دانه رست پنبه در شکل ۶ نشان داده شده است. طبق نتایج بدست آمده بدون پرایمینگ با پیکس و تحت تیمارهای مختلف شوری، بین شوری 150 میلیمول و شاهد از نظر فعالیت پراکسیدازی تفاوت معنی‌داری مشاهده گشت، ولی بین شوری 350 میلیمول و شاهد تفاوت معنی‌دار نبود. همچنین فعالیت آنزیم در شوری صفر و پرایمینگ با غلظت 15 گرم بر لیتر پیکس نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بین بقیه تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در غلظت 5 گرم بر لیتر پیکس، بین شوری 350 میلیمول نسبت به شوری 150 میلیمول و صفر تفاوت معنی‌دار مشاهده گشت. فعالیت پراکسیداز در غلظت 10 گرم بر لیتر پیکس و بین شوری $150\text{ و }350\text{ میلیمول}$ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.



شکل ۶: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها

بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در دانه رست پنبه رقم سپید ۲

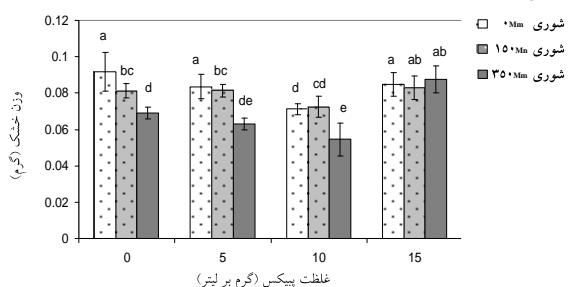
* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر محتوی گلایسین بتائین دانه رست پنبه

در تیمارهای مختلف شوری، محتوای گلایسین بتائین بین شوری 150 میلیمول و شاهد تفاوت معنی‌نبوود، اما بین شوری 350 میلیمول نسبت به شاهد و شوری 150 میلیمول اختلاف در میزان این اسید آمینه معنی‌دار بود. همچنین پرایمینگ با مقادیر مختلف پیکس اختلاف معنی‌داری را در میزان این اسید آمینه ایجاد ننمود. در غلظت 10 گرم بر لیتر پیکس، بین شوری 350 میلیمول نسبت به شوری 150 میلیمول تفاوت معنی‌دار بوده ولی بین شوری 150 میلیمول

غلظت 15 گرم بر لیتر پیکس، بین شوری 150 میلیمول و 350 میلیمول و شوری صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد

(شکل ۴).



شکل ۴: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها

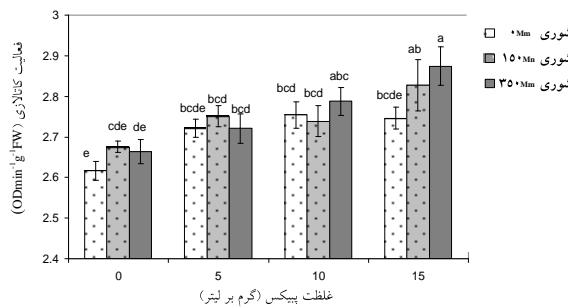
بر وزن خشک دانه رست پنبه رقم سپید ۲

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بررسی اثر شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر فعالیت

کاتالازی دانه رست پنبه

بدون پرایمینگ با پیکس فعالیت آنزیم کاتالاز در دانه رست پنبه در مقادیر مختلف نمک اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین فعالیت آنزیم در شوری صفر و تیمار با پیکس در غلظت 10 گرم بر لیتر نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد و بین بقیه تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در پیکس $5\text{ و }10\text{ گرم بر لیتر}$ ، بین تیمارهای مختلف شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در غلظت 15 گرم بر لیتر پیکس نیز بین شوری 150 میلیمول نسبت به 350 میلیمول اختلاف معنی‌دار نداشت. در غلظت 15 گرم بر لیتر پیکس نیز بین شوری 350 میلیمول تفاوت بین شوری 150 میلیمول نسبت به 150 میلیمول اختلاف معنی‌دار نداشت. نگشت ولی تفاوت بین شوری 350 میلیمول و شوری صفر معنی‌دار بود (شکل ۵).



شکل ۵: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها

بر فعالیت آنزیم کاتالاز در دانه رست پنبه رقم سپید ۲

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی‌دار نمی‌باشد.

بحث

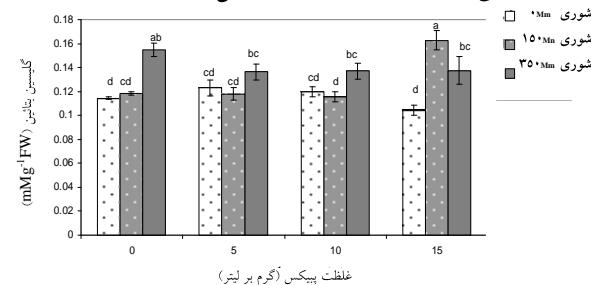
در این تحقیق مشاهده شد با افزایش شوری درصد جوانهزنی نسبت به شاهد کاهش یافت و پرایمینگ با پیکس منجر به افزایش جوانهزنی گشت (شکل ۱). درصد و سرعت جوانهزنی یکی از مهمترین فاکتورهای است که تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد. کاهش سرعت و درصد جوانهزنی در پاسخ به افزایش شوری دربیزور بسیاری از گیاهان گزارش شده است (احتشامی و چائی‌چی، ۱۳۷۴، Gulzar et al., 2001). بیشترین حساسیت پنهان به شوری در طول جوانهزنی و مراحل اولیه رشد و نمو است (Weiping et al., 2009).

تحقیقات به عمل آمده نشان می‌دهد که کاهش سرعت و درصد جوانهزنی تحت استرس شوری به این دلیل است که تنفس شوری با ایجاد سمومیت در اثر تجمع عناصر بویژه سدیم و افزایش پتانسیل اسمزی محلول، تولید یون‌های سمی و تغییر در تعادل عناصر غذایی، جوانهزنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش یون Na^+ با مختلط نمودن فعالیت حیاتی بذرها در حال جوانه زدن، علاوه بر کاهش رشد، مانع از حفظ اختلاف پتانسیل کافی برای ورود آب به بذر شده و موجب اختلال در متابولیسم هیدرات‌های کربن می‌شود (Koochek and Abbassia, 2008).

در پژوهشی مشخص شد کاربرد پیکس تحت تنفس شوری، موجب افزایش جوانهزنی گردید که احتمالاً به دلیل فعال شدن آنزیم‌هایی مثل سلولاز و پکتیناز در دیواره سلولی، تحت تأثیر پیکس و شل شدن و انعطاف پذیری دیواره سلولی است (Hodges et al., 1991).

همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با افزایش شوری طول ریشه چه نسبت به شاهد کاهش یافت. در شوری ۳۵۰ میلی‌مول پرایمینگ با مقادیر بالای پیکس منجر به افزایش معنی‌دار طول ریشه چه نسبت به شوری ۳۵۰ میلی‌مول بدون پرایمینگ گشت (شکل ۲). با آزمایشاتی که روی جو، گندم، نخود و برنج انجام شد، مشخص گردید که طول ریشه چه گیاهان زراعی مختلف با افزایش شوری کاهش می‌یابد. این کاهش طول ریشه را می‌توان به دلیل کاهش

و صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. همچنین در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس، بین غلظت‌های مختلف شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده گشت (شکل ۷).

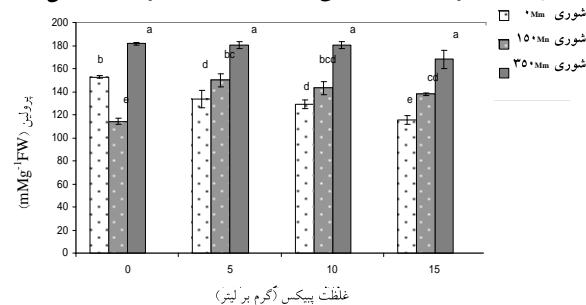


شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها

بر محتوى گلایسین بثناین در دانه رست پنهان رقم سپید ۲ * میانگین‌های با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی دار نمی‌باشد.

بررسی اثر شوری و پیکس و اثر متقابل آنها بر محتوى پرولین دانه رست پنهان

مطابق با نتایج بدست آمده میزان پرولین بین شوری ۱۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مول و شاهد داری تفاوت معنی‌داری بود. همچنین پرایمینگ با غلظت‌های مختلف پیکس تفاوت معنی‌داری را در میزان این اسید آمینه حاصل نمود. محتوى پرولین در پرایمینگ با ۵ و ۱۰ گرم بر لیتر پیکس تفاوت معنی‌دار را نشان نداد، ولی بین این دو غلظت نسبت به پیکس ۱۵ گرم بر لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. در غلظت ۵ گرم بر لیتر پیکس، بین غلظت‌های مختلف شوری تفاوت معنی‌داری در محتوى پرولین مشاهده گشت. میزان اسید آمینه برولین در پرایمینگ با غلظت ۱۰ گرم بر لیتر پیکس و شوری ۳۵۰ میلی‌مول نسبت به شوری ۱۵۰ میلی‌مول تفاوت معنی‌دار بوده ولی بین شوری ۱۵۰ میلی‌مول و شوری صفر اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۸).



شکل ۸: اثر غلظت‌های مختلف شوری و پیکس و اثر متقابل آنها

بر محتوى پرولین در دانه رست پنهان رقم سپید ۲

* میانگین‌های با حروف مشابه از نظر آماری ($P \leq 0.05$) معنی دار نمی‌باشد.

and William, 2000). چنانچه در شکل‌های ۳ و ۴ مشخص است پرایمینگ با غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس در شوری ۳۵۰ میلی‌مول بیشترین طول ریشه را نسبت به سایر غلظت‌های پیکس در این شوری نشان می‌دهد که احتمالاً افزایش طول ریشه چه منجر به افزایش وزن تر و خشک دانه رست می‌گردد.

نتایج این تحقیق نشان داد افزایش شوری اثر معنی‌داری بر فعالیت کاتالازی دانه رست نسبت به شاهد نداشت ولیکن کاربرد پیکس منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالازی دانه رست گردید (شکل ۵). کاتالاز از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی درون سلولی است که عمدتاً در پراکسی زوم و کمر در سیتوسل وجود دارد و طی واکنش دو مرحله‌ای H_2O_2 را به آب و اکسیژن احیا می‌کند. کاتالاز در کاهش اثرات مضر استرس شدید موثر است و از سلول‌ها در برابر H_2O_2 محافظت می‌کند به ویژه در مواردی که گلوتاتیون و گلوتاتیون پر اکسیداز محدود است در افزایش مقاومت به استرنس اکسیداتیو نقش مهمی دارد (Valko et al., 2006). در پژوهش اخیر شوری اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت کاتالازی نداشت که احتمالاً به نظر می‌رسد به علت اینکه رقم مورد سنجش (سپید ۲) مقاوم به شوری محسوب می‌شود به نظر می‌رسد در این غلظت از شوری نیازی به فعالیت کاتالازی ندارد. چنانچه در شکل ۵ مشخص است پرایمینگ با غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس در شوری ۳۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مول بیشترین جوانه‌زنی را نسبت به سایر غلظت‌های پیکس در این شوری نشان داد. افزایش جوانه‌زنی منجر به افزایش تنفس و تولید بیشتر پراکسید هیدروژن می‌گردد (Mittler, 2002). احتمالاً در چنین شرایطی افزایش فعالیت کاتالازی به عنوان یک آنتی اکسیدان و جاروب کننده پراکسید هیدروژن برای محافظت بیشتر سلول انجام می‌گیرد.

چنانچه در شکل ۶ مشخص است شوری ۱۵۰ میلی‌مول موجب کاهش معنی‌داری فعالیت پراکسیدازی دانه رست نسبت به شاهد گشت و شوری ۳۵۰ میلی‌مول اثر معنی‌داری بر فعالیت پراکسیدازی دانه رست نسبت به شاهد نشان نداد.

شدید جذب آب توسط گیاه دانست که به واسطه کاهش پتانسیل آب اطراف ریشه توسط نمک ایجاد می‌گردد و پیدایش ریشه چه و برآمده شدن آن که بستگی به جذب آب دارد کاهش می‌یابد. وقتی پتانسیل آب محیط پایین می‌آید مواد محلول در سلول انباسته شده و باعث پایین آمدن پتانسیل آب سلول می‌شود که نوعی سازگاری با تنش شوری به حساب می‌آید و این عمل به سلول امکان می‌دهد که حتی در پتانسیل پایین آب نیز فرایندهای زیستی خود را انجام دهد. همچنین کاهش طول ریشه چه در اثر شوری ممکن است به دلیل کاهش غلظت یون Ca^{2+} و افزایش یون Na^+ در Zahid et al, 2000; Nuran et al, 2002; Mer (et al., 2000)

(Egilla و Oosterhuis ۱۹۹۶) دریافتند آگهشتگی بذرها با پیکس قبل از کشت در مراحل اولیه جوانه‌زنی موجب افزایش طول ریشه می‌شود. افزایش طول ریشه چه در این حالت شاید به دلیل بر هم کنش هورمون‌ها و تاثیر هورمون‌هایی مثل اکسین، اتیلن و سیتوکینین بر طول ریشه چه باشد و فعال شدن آنزیم‌هایی مثل سلولاز و پکتیناز در دیواره سلولی بذر که منجر به شل شدن و انعطاف‌پذیری دیواره سلولی می‌گردد.

مطابق با نتایج بدست آمده با افزایش شوری وزن تر و خشک دانه رست نسبت به شاهد به طور معنی‌دار کاهش یافت. در شوری ۳۵۰ میلی‌مول، پرایمینگ با غلظت ۱۵ گرم بر لیتر پیکس منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک دانه نسبت به شوری ۳۵۰ میلی‌مول بدون پیکس گشت (اشکال ۳ و ۴).

Yilmaz و Ekis (۲۰۰۳) علت کاهش وزن تر و خشک را از نظر فیزیولوژیکی، کاهش انتقال مواد غذایی از لپه به محور جنینی دانه لوبیا دانستند و بیان داشتند عواملی که در واقع رشد محور جنینی را تحت تاثیر قرار می‌دهند بر تحرک مواد غذایی و انتقال آن از لپه به محور جنینی نیز اثر می‌نمایند. طبق گزارشی پیکس موجب افزایش طول ریشه چه و نهایتاً افزایش وزن تر و خشک می‌گردد (Oosterhuis

میلی مول مقدار گلایسین بتائین دانه رست به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داشت همخوانی دارد. با توجه به نقش گلایسین بتائین در حفظ و تنظیم اسمزی در سلول های گیاهی (Larher et al., 1996)، حفظ غشای پلاسمایی و ساختمان نوع چهارم پروتئین و تسهیل انتقال الکترون (Murata and Atoshi, 2001)، محافظت از فعالیت پروتئین و چربی غشاء (Byerrum et al., 1956) می توان این ترکیب را به عنوان یکی از عوامل مقاومت فیزیولوژیک در برابر شوری خاک در مراحل اولیه جوانه زنی دانست.

شوری ۱۵۰ میلی مول موجب کاهش معنی داری و شوری ۳۵۰ میلی مول منجر به افزایش معنی دار مقدار پروولین دانه رست نسبت به شاهد گردید. در شوری ۱۵۰ میلی مول، پیکس موجب افزایش معنی دار مقدار پروولین دانه رست گردید (شکل ۸). استرس شوری مقدار پروولین آزاد در بسیاری از گیاهان را افزایش می دهد. اثر شوری بر تجمع پروولین در بسیاری از گونه های گیاهی نظری چغندر قند، گوجه فرنگی، بونج و توت گزارش شده است (Wainchan et al., 2003; Sadiq et al., 2002).

یافته های پژوهش حاضر مشخص کرد در شوری ۳۵۰ میلی مول بدون پیکس، مقدار پروولین دانه رست به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش داشت که با دیگر پژوهش های انجام شده در این زمینه همخوانی داشت.

Kumar و همکاران (۱۹۸۷) در پژوهشی دریافت در تنش شوری تجمع بالای پروولین در رقم سای اکرا دیده می شود و به این نتیجه اذعان نمود که این گیاه از استراتژی تجمع پروولین در مقاومت به شوری پیروی می کند. ظاهرا در پژوهش حاضر نیز در شوری ۳۵۰ میلی مول رقم سپید ۲ از استراتژی افزایش پروولین بهره می گیرد. به نظر می رسد کاهش پروولین در تیمار ۱۵۰ میلی مول به دلیل شرکت پروولین در ساختار پروتئین ها و آنزیم ها جهت پایداری آنها باشد به همین دلیل است که گاهی پروولین محافظت با وزن ملکولی پایین نامیده می شود (میرمحمدی میبدی و قره ریاضی، ۱۳۸۱).

در شوری ۳۵۰ میلی مول، پرایمینگ با غلظت های مختلف پیکس منجر به کاهش معنی دار فعالیت پراکسیدازی دانه رست نسبت به شوری ۳۵۰ میلی مول بدون پیکس شدند. (نمودار ۶). فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت بر اساس میزان غلظت نمک و ژنوتیپ گیاه تغییر می کند. در این راستا مشاهده شده است در رقم های حساس به نمک فعالیت پراکسیداز تحت تنفس شوری افزایش می یابد (Gossett et al., 1994). رضایی و همکاران (۱۳۸۳) در پژوهشی در یافتند که افزایش شوری موجب افزایش فعالیت پراکسیدازی در رقم ساحل (حساس به شوری) و کاهش فعالیت پراکسیدازی در رقم سای اکرا (مقاوم به شوری) می گردد. با توجه به اینکه رقم سپید ۲ یک رقم مقاوم به شوری به حساب می آید به نظر می رسد با افزایش شوری فعالیت پراکسیدازی در آن باید کاهش یابد که این نتیجه با یافته پژوهش حاضر همخوانی دارد. پراکسیداز در گیاهان با بیوسنتر دیواره سلولی و تولید لیگنین و سوبرین در ارتباط است. فعالیت پراکسیدازی احتمالاً منجر به تبدیل اسید فرولیک به اسید دی فرولیک در همی سلولز شده یا منجر به نامحلول شدن گلیکو پروتئین های غنی از هیدروکسی پروولین می شود که منجر به استحکام دیواره سلولی و کوتوله شدن گیاه می گردد (Potter and Fry, 1993). در پژوهش حاضر تحت تیمار با پیکس فعالیت پراکسیدازی یا کاهش یافته یا تغییر معنی داری نداشته، بنابراین می توان نتیجه گرفت از ویژگی های رقم سپید ۲ عدم نیاز به فعالیت پراکسیدازی بوده است.

از سوی دیگر شوری ۳۵۰ میلی مول موجب افزایش معنی دار مقدار گلایسین بتائین دانه رست نسبت به شاهد گردید. در شوری ۱۵۰ میلی مول و پرایمینگ با پیکس در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر موجب افزایش معنی دار مقدار گلایسین بتائین دانه رست نسبت به سایر تیمار ها در این شوری گردید (شکل ۷).

با افزایش شوری گلایسین بتائین به عنوان اسمولیت قوی و موثر در گیاه افزایش می یابد (McNell et al., 2001). که با یافته های پژوهش حاضر که مشخص کرد در شوری ۳۵۰

salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.*, 51: 363–372.

Akhtar, J., and Azhar, F.M. (2001). Response of *Gossypium hirsutum* L. Hybrids to NaCl salinity at Seedling Stage. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2:233–235

Ashraf, M. (2002). Salt tolerance of cotton: Some new advances. Crit. In: Pessarakli M. (ed.): *Handbook of Photosynthesis*. Marcel Dekker, New York: 859–875.

Atoshi, S., and Murata, N. (2001). The use of bacterial choline oxidase a glycine betaine synthesizing enzyme to creat stress- resistant transgenic plants. *Plant Physiology*, 125: 180- 188.

Bates, L.S., Walden, R.P., and Tears, I.D. (1973). Rapid termination of free praline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-208.

Byerrum, R.U., Sato, C.S.M., and Ball, C.D. (1956). Utilazation of betaine as a methyle group in tobacco. *Plant Physiology*, 31:374-377

Cost, P., Neto, A., Bezerra, M., Prisco, T., and Filho, E. (2005). Antioxidant– enzymatic system of two Sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Brazian. Journal of. Plant Physiology*, 17: 139-147.

Chance, B. and Machly, C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methodes Enzymology*. 11:764-755

Delauney, A.J. and Verma, D.P.S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal*. 4: 215-223.

Desingh, R., and Kanagaraj, G. (2007). Influence Of Salinity Stress On Phtosynthesis and Antioxidative Systems In Two Cotton Varieties. Department of Botany, Annamalai University, Annamalai Nagar - 608 002.

Ekis, H., and Yilmaz, A. (2003). Determination of the salt tolerance of some barely genotypes and the characteristics affecting tolerance. *Turkish Journal Agriculture*, 27:257-260.

Gosset, D.G., Millhollon, E.P., and Lucas, M.C. (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science*, 34: 706-714.

Govender, K., Maredzy, A., Muyanga, S., Farrant, G.M., and Thomson, G.I., (2002). Physiological and molecular insight into drought tolerance. *African Journal Biotechnology*, 1:28-38.

Gulzar, S., and Ajmal Khan, M (2001). Seed germination of a halophyte grass *Aeluropus lagopoides*. *Annals of Botany*, 87:319-324.

در این پژوهش پرایمینگ با پیکس موجب کاهش پرولین دانه رست گردید. در این راستا اعلام شده است کاهش مقدار پرولین با کاربرد غلظت‌های مختلف پیکس به دلیل فعال شدن آنزیم پرولین اکسیداز باشد که سبب تبدیل پرولین به گلوتامات می‌شود و گلوتامات در بیوسنتز سایر اسیدهای آمینه جهت سنتز پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mundree et al., 2004)

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد پرایمینگ پیکس سبب بهبود پاسخ‌های رشد و سیستم آنتی اکسیدانی دانه رست پنبه رقم سپید ۲ بخصوص در مقادیر بالای نمک شد. بدین معنی که شوری سبب کاهش درصد جوانهزنی، طول ریشه، وزن تر و خشک دانه رست شد در حالی که پرایمینگ با پیکس سبب افزایش پارامترهای رشد یاد شده به خصوص در مقادیر بالای نمک گردید. همچنین پرایمینگ با پیکس در بالاترین مقدار کاربردی موجب افزایش فعالیت کاتالاز و کاهش فعالیت پراکسیداز در سطوح مختلف شوری شد. میزان پرولین و گلیسین بتائین نیز در شوری شدید افزایش یافت و پرایمینگ با پیکس تنها در شوری متوسط موجبات افزایش این دو اسید آمینه را فراهم نمود.

منابع

- رضابی، م.ع..، خاوری نژاد، ر.ع..، فهیمی، ح. (۱۳۸۳). پاسخ فیزیولوژیک گیاه پنبه به شوری‌های مختلف خاک. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره ۶۲، بهار ۱۳۸۳. صفحات ۶۶-۸۷
- میرمحمدی میبدی، س.ع.م.و. و قره‌ریاضی، ب. (۱۳۸۱). جنبه‌های فیزیولوژیک و بهنژادی تنش شوری گیاهان. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان.

Abbassi, F., and Koocheki, A. (2008). Effects of water deficit and salinity on germination properties of *Aeluropus* spp. *Desert* 12 : 179-184

Abraham, E., Rigo, G., Szekely G., Nagy, R., Koncz, C., and Szabados, L. (2003). Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and

- Hasegawa, P.M., Bressnan, R.A., Zhu, J.K., and Bohnert, H.J. (2000).** Plant cellular and molecular responses to high salinity, Annual. Review. Plant Physiology. 51: 463-499.
- Hodges, H.F., Reddy, V.R., and Reddy, K.R. (1991).** Mmeiquat chloride and salinity effects on photosynthesis and respiration of fruiting cotton. Crop Science. 35: 1302-1308
- Jost, P., Whitaker, J. Steve, M.B., and Bednarz, C. (2006).** Use of Plant Growth Regulators as a Management tool in Cotton. Georgia Cotton Production Guide: 37-39.
- Jung, J., Wurzer, B., and Amsberg, V. (1995).** Biological activity of new onium compounds in cotton and other crops. p. 13. In Abstracts 1975 Meeting of the Plant Growth Regulator Working Group, 2nd, Chicago.
- Khan, M.H., and Panda, S.K. (2008).** Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. Acta Physiolgy of Plant, 30: 91-89.
- Koroi, S.A.A. (1989).** Gel elektrophores tische and spectral photometris chose unter unchngen zomein fuisse der temperature auf struktur and peroxidase isoenzyme, Physiological Vegetables, 20:15-23.
- Kumar, V., Mehta N.P., and Gohil M.D. (1987).** Investigation into some physiological parameters of cotton under water stress. Annual. Arid Zone, 26: 267-275
- Larher, F., Rival-Garnier N., Lemesle P., Plasmman M., and Bouchereau, A. (1996).** The glycine betaine inhibitory effect on the osmoinduced proline response of rape leaf discs. Plant Science. 113: 21-31.
- Mandhania, S., Madan, S., and Sawhney, V. (2006).** Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. Plant Biology., 227: 227-231.
- Mer, R., Prajith, P.K., Pandya, D.H., and Dandey. A.N. (2000).** Growth of young plants of *Hordeum Vulgare*, *Triticum aestivum*.*Cicer arietinum* and *Brassica Juncea*. Journal of Agronomy and Crop Science. 186:209-217.
- McNell, S.D., Nuccio, M.L., Zeimark, M.J., and Hanson, A.D. (2001).** Enhanced synthesis of choline and glycine betaine in transgenic tobacco plants that overexpress phosphoethanolamine N-Methyl transferase, Proctec. Natural..Academic. Science. USA, 98: 101-105.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A., and Cambraia, J. (2003).** Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental. Experimental Botany, 49: 69-76.
- Mickelbart, M., and Rhodes, D. (2003).** Genotypic variation for glycine betaine in sorghum.Crop Science., 43: 162-169.
- Mittler, R. (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science. 7: 405-410
- Mittova. V., Tal. M., Volokita. M., and Guy M. (2002).** Salt stress induces up-regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species *Lycopersicon pennellii* but not in the cultivated species. Plant Physiology, 115: 393-400.
- Morrow, M.R., and Krieg, D.R., (1990).** Cotton management strategies for a short growing season environment: Water-nitrogen considerations. Agronomy Journal, 82: 52-56
- Mundree, S.G., Baker, B., Bowla, S., Peters, S., Marias, S., Wilingen, C.V., Sairam, R.K. and Tyagi, A. (2004).** Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current. Science., 86: 407-421
- Nuran, C., and Cakirlar, H. (2002).** The effect of salinity on some physiological parameters in to Maize cultivars. Plant Physiology, 28: 66-74.
- Oosterhuis, D.M., and Egilla, J.N. (1996).** Field avalution of plant growth regulator for effect on the growth and yield of cotton summary of 1995 results. P. 1213- 1215.
- Oosterhuis, D. and William, R. (2000).** The Use Of plant growth regulators and other additives in cotton production proceeding of the 2000 Cotton Research Meeting India.
- Potter, I., and Fry, S. (1993).** Xyloglucan endotransglycosylase activity in pea internodes. Plant Physiogy, 103:235-241.
- Rontein, D., Basset, G., and Hanson, A.D. (2002).** Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. Metabolism Engineer, 4:49-56. 9.
- Sadiq, M., Jamil, M., Mehdi, S.M., Sarfaraz, M., and Hassan, G. (2002).** Comparative performance of Brassica varieties/lines under salin sodic condition. Asian Journal of Plant Science.2:77-78.
- Sairam, R.K., Rao, K.V., and Srivasra, G.C.C. (2002).** Different response of relation oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163: 1037-1046.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., and Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and

antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemical.and Biological Interaction., 160: 1–40.

Wanichan, P., Kirdmanee, C., and Vutyano, C. (2003). Effect of salinity on biochemical and physiological characteristics in correlation to selection of salt-tolerance in Aromatic rice (*Oriza sativa L.*). Science Asian.29:333-339.

Weiping, C., Hou, Z., Wu, L., Liang, Y., and Wei, C. (2009). Effects of salinity and nitrogen on cotton growth in arid environment. Plant soil, 326: 61-73

Yang, W.J., Rich, P.J., Axtell, J.D., Wood, K.V., Bonham, C.C., Ejeta, G., Yang, X., and Lu, C. (2005). Photosynthesis is improved by exogenous glycine betaine in salt-stressed maize plants. Plant Physiology, 124: 343–352.

York, A.C. (1983). Response of cotton to mepiquat chloride with varying N rates and plant populations. Agron. Journal, 75:667–672.

Zahid, P., Afzal, M., and Ancheng, Y.L. (2002). Selection criteria for salt tolerance in wheat cultivars at seedling stage. Asian Jornal of Plant Science.1(2): 85-87.

Zhang, S., Cothren, J.T., and Lorenz, E.J. (1990). Mepiquat chloride seed treatment and germination temperature effects on cotton growth, nutrient partitioning, and water use efficiency. Journal of Plant Growth Regulation, 9: 195-199.

Zhu, J.K. (2001). Plant salt tolerance. Trends in Plant Science. 6: 66-71.