

ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) در محیط‌های شور و غیر شور

سیدجلال میرقاسمی^۱، محمدعلی رضایی^۲، سیده سمانه موسوی خورشیدی^{۲*}

۱. مؤسسه تحقیقات پنبه کشور، گرگان، ایران

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۱۰

چکیده

پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) یکی از مهمترین محصولات زراعی در سراسر دنیاست. ارقام مختلف این گیاه نسبت به شوری خاک واکنش‌های متفاوت نشان می‌دهند. به منظور بررسی اثر تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی ارقام مختلف پنبه آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های تصادفی در سه تکرار در منطقه آق قلا (گرگان) و کارکنده (کردکوی) در سال زراعی ۱۳۸۹ انجام گرفت. تیمارهای مورد بررسی شامل ژنوتیپ‌های پنبه در ۱۰ سطح (ساحل، Q28، ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹، چکرووا، کوکر ۳۴۹، سپید، سیلند، سوپر اکرا و اوپال) و شوری خاک در ۲ سطح (محیط غیرشور با هدایت الکتریکی ۲ و محیط شور با هدایت الکتریکی ۱۶ دسی زیمنس بر متر) بود و در آن صفاتی نظیر ترکیبات آنتوسیانینی، پرولین، برخی عناصر و آنتی‌اکسیدانت‌ها تحت اثر شوری‌های مختلف اندازه‌گیری شد. نمونه‌برداری در مرحله رشد رویشی از آخرین برگ‌های کامل شده گیاه پنبه در یک مرحله صورت گرفت. نتایج نشان داد که در محیط شور (۱۶ دسی زیمنس بر متر) میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و غلظت یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم کلر در همه ارقام افزایش یافت. بیشترین میزان آنتوسیانین در محیط شور و در رقم سیلند دیده شد و با افزایش شوری میزان پرولین در رقم‌های ساحل، شیرپان ۵۳۹، کوکر ۴۳۹ و اوپال بطور معنی‌داری (در سطح ۰/۵٪) افزایش یافت.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی، پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)، شوری

مقدمه

کلی رشد و فرآیندهای مختلف نمو یعنی جوانه‌زنی دانه، رشد دانه رست، گلدهی و میوه‌دهی به میزان زیادی تحت تاثیر تنش شوری قرار می‌گیرد و منجر به کاهش کمیت و کیفیت محصول می‌گردد (Gorati et al., 2010; Jempeetong and Brix, 2009). از جمله استراتژی گیاهان در مقاومت در برابر تنش شوری تجمع محلول‌های سازشی است.

شوری در خاک سطحی و خاک‌های زیرین یکی از اصلی‌ترین تنش‌های محیطی غیرزنده در تولید محصول می‌باشد. در سراسر جهان شوری خاک، تهدیدی جدی برای بهره‌برداری کشاورزی است. در حدود ۲۰٪ از نواحی تحت کشت دنیا و نزدیک به نیمی از سرزمین‌های آبیاری شده توسط شوری تحت تاثیر قرار می‌گیرند (Zhu, 2001). به طور

* Email: mosavi01@gmail.com

باعث کاهش جذب یون منیزیم می‌گردد (Sairam and Serivastava, 2002).

آمارها نشان می‌دهد در استان گلستان که از مهمترین مناطق زراعی ایران محسوب می‌شود، سطح زمین‌های شور زیاد است (رضایی و خاوری‌نژاد، ۱۳۸۳). از میان گیاهان زراعی مختلف، پنبه جزء گیاهان متحمل به شوری طبقه‌بندی شده است و از محصولات مهم این استان نیز محسوب می‌گردد. از این رو استفاده از ارقام متحمل به شوری می‌تواند در افزایش این محصول در استان گلستان موثر باشد. هدف از این تحقیق، شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف پنبه در پاسخ به استرس شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات شوری طبیعی بر گیاه پنبه، ۱۰ ژنوتیپ شامل ساحل، Q28، ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹، چکوروا، کوکر ۳۴۹، سپید، سیلند، سوپر اکرا و اوپال در سال ۱۳۸۹ در دو مزرعه کارکنده با Ec کمتر از ۲ (غیر شور) و مزرعه نمونه ارتش آق قلا با $Ec=16$ (شوری بالا) در قالب طرح بلوک‌های تصادفی در ۳ تکرار در ۴ خط ۶ متری کشت شدند و نمونه‌برداری برگ‌ها در مرحله رویشی و قبل از شروع مرحله گلدهی صورت گرفت و سنجش‌های آزمایشگاهی بر روی آن صورت گرفت.

اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم کلسیم و منیزیم

برگ گیاه

مقدار ۱۰ گرم از ماده تر گیاهی (برگ) توزین شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد داخل آون گذاشته شد، پس از این مدت، نمونه‌ها توزین شد و به مدت ۸ ساعت در داخل کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس آن را خارج نموده و پس از توزین، خاکستر حاصل در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سپس مقدار سدیم و پتاسیم آن با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر و منحنی استاندارد، تعیین و محاسبه شد (منطقی، ۱۳۶۵). برای اندازه‌گیری یون کلسیم ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره معدنی گیاه، درون ارلن مایر ریخته شد و به آن ۲ میلی

پرولین یکی از متداول‌ترین اسمولیت‌ها سازگار و مناسب در گیاهان تحت تنش می‌باشد که با واکنش‌های بیوشیمیایی عادی تداخل ندارد (Aziz and Khan, 2003). علاوه بر پرولین، تولید آنتوسیانین در ریشه، ساقه و برگ‌ها به گیاه اجازه رشد و مقاومت در برخی تنش‌های محیطی را می‌دهد (Vell, 2001).

در شرایط تنش، مولکول‌هایی مانند مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ایجاد می‌گردد که باعث خسارت اکسیداتیو به ترکیبات سلولی مانند لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Mittler, 2002; Masood et al., 2006). مقابله با خسارت اکسیداتیو، باعث افزایش مقاومت گیاه به شوری می‌شود. از این رو گیاهان با استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، گونه‌های اکسیژن فعال را جاروب می‌نمایند (Roxas et al., 1997).

مشخص شده است که سطوح بالای پتاسیم در بافت‌های جوان با میزان مقاومت به شوری در تعدادی گونه‌های گیاهی ارتباط مستقیم دارد. این گیاهان غلظت سدیم را در سیتوپلاسم خود با روش‌های گوناگون از جمله دفع سدیم از سیتوپلاسم، نگهداری در دیواره سلولی و تجمع سدیم در واکوئل به وسیله پادبرهای (Na^+/H^+) واکوئلی (Vma, 1974)، کنترل می‌کند.

همچنین تنش شوری کمبود کلسیم را در گیاه ایجاد می‌کند و کلسیم اثر تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Hyder and Greenway, 1965). گزارش شده است که تجمع کم کلر می‌تواند نشانه تحمل بیشتر گیاه به شوری باشد (Ashraf and Neilly, 1990). در مطالعه‌ای توسط Iqbal و همکاران (۱۹۹۵) افزایش کلر در شرایط شور تأیید شده است.

نقش منیزیم، شرکت آن در ساختار کلروفیل‌ها و کوفاکتور مورد نیاز در فعال ساختن همه آنزیم‌های فسفوریلاسیون است. یون منیزیم بین ساختمان پیرو فسفات ATP و یا ADP با مولکول آنزیم پلی تشکیل می‌دهد و به این صورت در سرتاسر متابولیسم ایفای نقش می‌نماید (کنراد و کرکبی، ۱۳۶۷). در بسیاری گیاهان نشان داده شده است که یون سدیم

با استفاده از اعداد جذب خوانده شده منحنی استاندارد با $r=0.98$ و $C=Abs \times 125/302 + 3/369$ محاسبه و مقدار پرولین نمونه‌ها ارزیابی گردید (C: غلظت و Abs: جذب).

اندازه‌گیری آنوسیانین‌ها

مقدار یک گرم از ماده تر گیاهی (برگ) را توزین نموده و به مدت ۴۸ ساعت درون محلول اسیدی متانول در دمای ۴ درجه سانتیگراد داخل یخچال گذاشته شد. پس از انقضای این مدت جذب محلول در طول موج‌های ۵۳۰ و ۶۵۸ خوانده و طبق فرمول خاص مانسینلی در مورد پنبه محاسبه شد (Mancinelli, 1998).

$$Ant = A_{530} - 0.25A_{658}$$

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز

جهت بررسی فعالیت این آنزیم از عصاره آنزیمی استخراجی استفاده گردید. در این سنجش ۲ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH ۶/۵ و ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی لیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار را در حمام یخ مخلوط کرده و بلافاصله ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه گردیده، سپس تغییرات جذب در طول موج ۲۶۵ نانومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم بر حسب (ODmin⁻¹g⁻¹fw) تعیین شد (Arrigoni et al., 1994).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

برای سنجش این آنزیم، از عصاره آنزیمی استخراج شده استفاده شد. مراحل زیر به ترتیب جهت سنجش کاتالاز صورت گرفت: ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH ۶/۵ و ۰/۲ میلی لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد را با هم در ظرف یخ مخلوط کرده و سپس ۰/۲ میلی لیتر عصاره آنزیمی تازه به مخلوط فوق افزوده شد. تغییرات جذب در ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم بر حسب (ODmin⁻¹g⁻¹fw) بدست آمد (Chance and Maehly, 1995).

داده‌های آزمایشی بر اساس دستورالعمل طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS در سطح ۵ درصد تجزیه واریانس شدند. همچنین رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

لیترسود چهار نرمال و حدود ۰/۳ گرم پودر موراکسید افزوده شد. سپس با محلول EDTA، ۰/۰۱ نرمال تیترا نموده تا رنگ آن به بنفش تغییر نماید. این کار برای دقت بیشتر در مجاورت محلول شاهد کلرید کلسیم انجام شد (منطقی، ۱۳۶۵)

برای اندازه‌گیری یون منیزیم ۱۰ میلی لیتر از عصاره معدنی گیاه درون ارلن مایر ریخته و به آن ۳ میلی لیتر بافر ۱۰ pH (محلول آمونیاکال) و چند قطره معرف اریوکروم سیاه افزوده شد، سپس با EDTA ۰/۰۱ تیترا شد تا رنگ آن به آبی مات تغییر کند. در این آزمایش مقدار EDTA مصرفی برای مجموع کلسیم و منیزیم است، لذا برای تعیین میزان منیزیم، مقدار کلسیم بدست آمده از آزمایش الف از آن کم شد.

اندازه‌گیری پرولین

۰/۲ گرم وزن تر بخش هوایی (برگ)، پس از توزین، در ۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ (آبی) سائیده شده و همگن حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۲ صاف گردید. از عصاره حاصل یک میلی لیتر در لوله آزمایش ریخته شد و بر روی آن ۱ میلی لیتر اسیدنیدین هیدرین و یک میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه گردید. لوله‌های آزمایش در حمام آب گرم به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بلافاصله بعد از خارج کردن لوله‌ها از حمام آب گرم به درون ظروف محتوی آب یخ (جهت متوقف شدن واکنش) منتقل شدند. در این مرحله به هر لوله آزمایش ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه شده و به مدت ۲۰ ثانیه به شدت تکان داده شده تا اینکه دو لایه مجزا از یکدیگر تشکیل گردید. بخش رنگی بالای دارای تولوئن از بخش پایینی (آبی) توسط سرنگ جدا شده و در دمای آزمایشگاه خنک گردید. میزان جذب بخش بالایی در طول موج ۲۰۵ نانومتر با استفاده از شاهد (تولوئن) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Bates, 1973).

غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و رابطه زیر بر اساس وزن تر محاسبه و در نهایت بصورت میکرومول بر گرم وزن تر ارزیابی گردیدند:

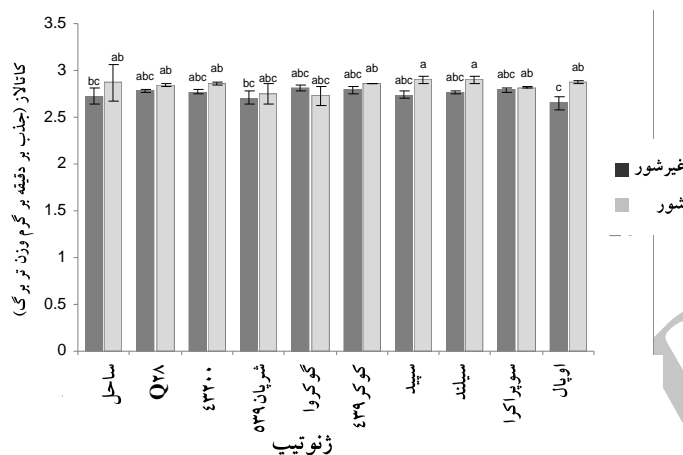
$$\text{Mol praline } g^{-1}F.w = [(\mu\text{g proline/ml toluene}) / 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mol}] / [g \text{ sample} / 2]\mu$$

نتایج

دسی زیمنس بر متر) تفاوت معنی‌دار را در رقم اوپال نشان داد و در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۱).

در تحقیق حاضر مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم

کاتالاز در محیط شور (۱۶ دسی زیمنس بر متر) و غیرشور (۲



شکل ۱: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه

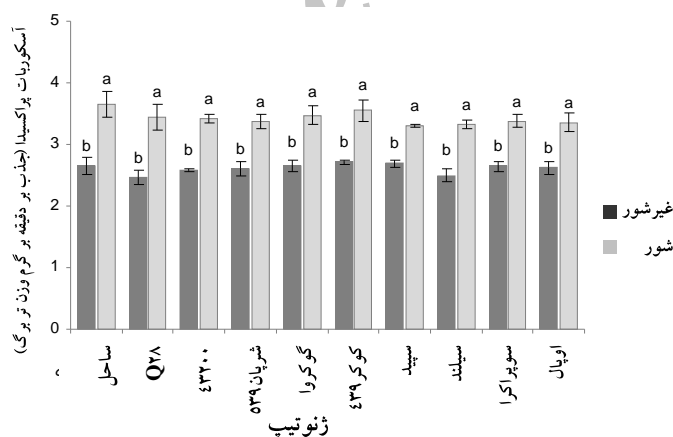
* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)

شور نسبت به غیر شور در تمامی ارقام غلظت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت (شکل ۲).

تفاوت معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم آسکوربات

پراکسیداز در محیط شور و غیرشور و در تمامی ارقام مورد

مطالعه مشاهده شد و همانگونه که ملاحظه می‌شود، در محیط



شکل ۲: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه

* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)

میزان پرولین در ارقام شیرپان ۵۳۹، کوکر ۴۳۹ و اوپال در محیط شور نسبت به غیر شور افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری در این ارقام مشاهده شد (شکل ۴).

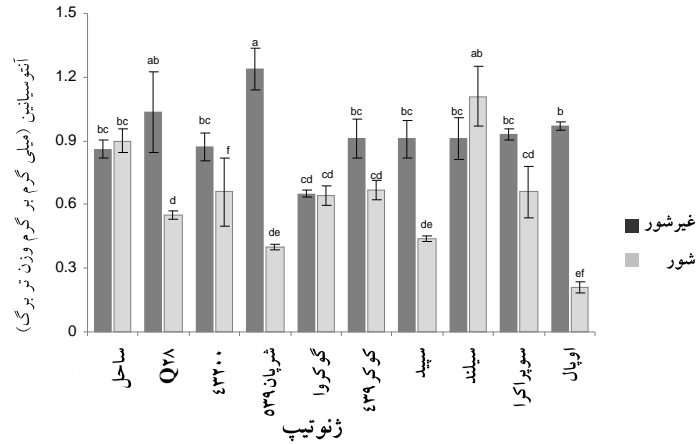
با مقایسه ارقام در محیط شور و غیرشور مقدار آنتوسیانین

در رقم‌های ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹، Q28، سید و اوپال کاهش

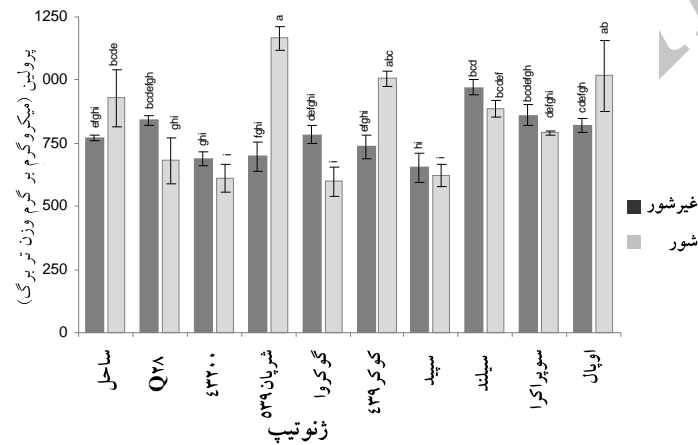
یافت. همانطور که مشاهده می‌شود، بین ارقام فوق الذکر و در

دو محیط تفاوت معنی‌دار مشاهده شد و در دیگر ارقام تفاوت

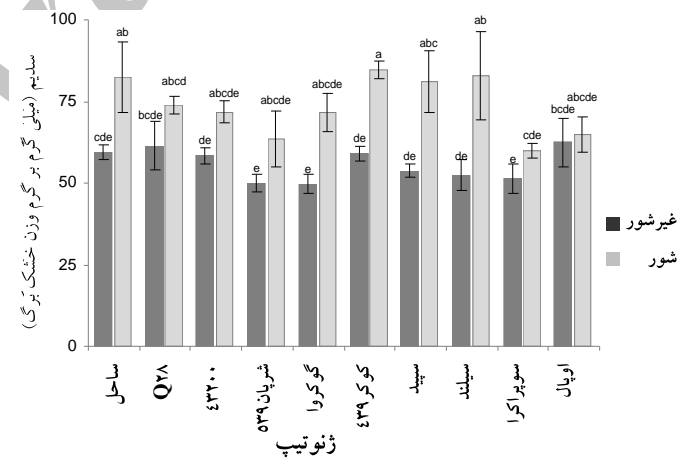
معنی‌دار دیده نشد (شکل ۳).



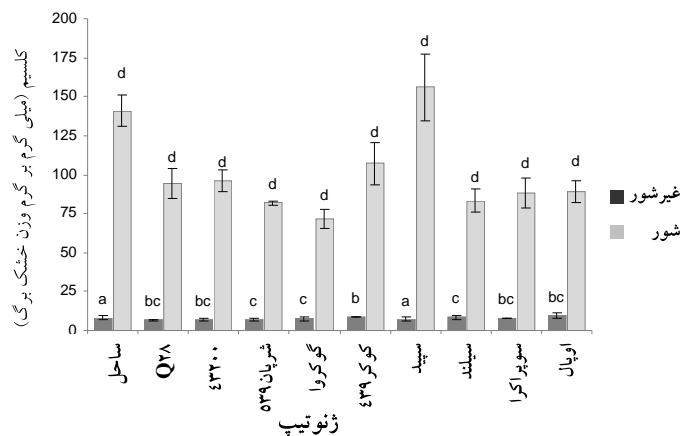
شکل ۳: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت ترکیبات انتوسیانینی در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه * میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)



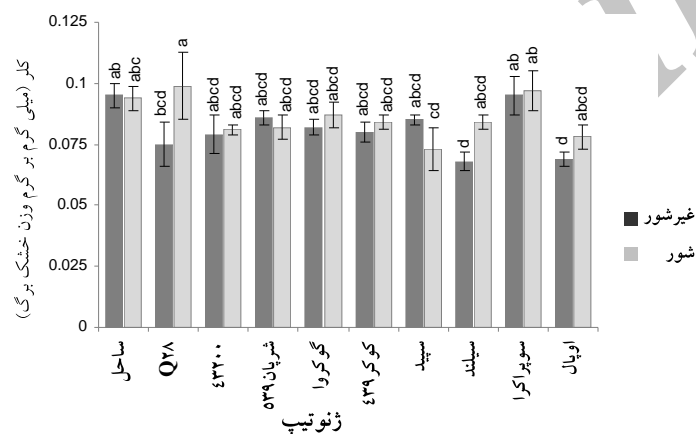
شکل ۴: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت پرولین در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه * میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)



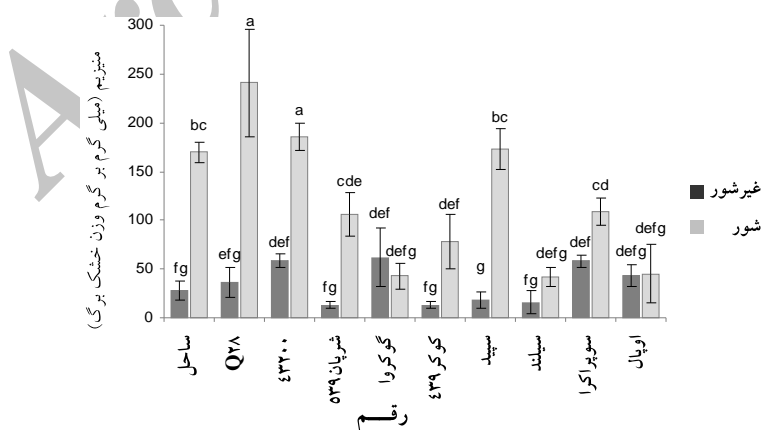
شکل ۵: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت یون سدیم کاتالاز در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه * میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)



شکل ۶: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت یون کلسیم در برگ ۱۰ ژنوتیپ پنبه
* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)



شکل ۷: اثر خاک شور و غیرشور بر فعالیت یون کلر در برگ ۱۰ رقم پنبه
* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)



شکل ۸: نمودار مقایسه میزان میانگین یون منیزیم در زمین‌های شور و غیرشور
* میانگین‌هایی با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف آماری معنی‌داری با هم ندارند ($P \leq 0.05$)

در محیط شور در همه ارقام جذب سدیم افزایش یافت (شکل ۵). میزان کلسیم در محیط شور در همه ارقام افزایش یافته و در همه ارقام تفاوت معنی‌دار در مقایسه دو محیط با هم مشاهده شده است (شکل ۶). با مقایسه دو محیط شور و غیرشور، در رقم Q28 مقدار کلر افزایش یافته و تفاوت معنی‌دار در محیط شور نسبت به غیرشور دیده شد و در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۷). مقایسه میانگین میزان منیزیم در محیط شور نسبت به محیط غیرشور در شکل ۸ نشان داده شده است. همانگونه که ملاحظه می‌شود در ارقام ساحل، Q28، ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹ و سپید میزان منیزیم افزایش یافت و تفاوت مشاهده شده در این ارقام و در دیگر ارقام معنی‌دار نبود (شکل ۸).

بحث

مقدار پراکسید هیدروژن در شرایط تنش، توسط کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز که آن را جاروب می‌کنند، تنظیم می‌شود. آسکوربات پراکسیداز، باقی مانده پراکسید هیدروژن که کاتالاز بر آن اثر ندارد را از بین می‌برد، زیرا از نظر بیوشیمیایی، نسبت به پراکسید هیدروژن، تمایل بالایی دارد و وجود آن را در ساختارهای فراسلولی، تشخیص می‌دهد (Noctor et al., 2002).

گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پنبه‌های متحمل به شوری افزایش داشته است (Meloni et al., 2003) که در این تحقیق فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در همه ارقام افزایش یافته که با گزارش Meloni و همکاران (۲۰۰۳) همخوانی دارد، اما در رابطه با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تغییری بوجود نیامده است و نشان می‌دهد در تحقیق حاضر ارقام از مکانیسم افزایش کاتالاز در مقابله با شوری استفاده نکرده‌اند.

گیاهان تحت تاثیر شوری از دو مساله شامل تنش اسمزی و اثرات اختصاصی یونها رنج می‌برند. بنابراین تنش شوری از طریق القای اسمزی می‌تواند موجب القای تجمع آنتوسیانین‌ها گردد. تجمع آنتوسیانین‌ها در ریشه‌های ذرت (Kaliamoorthy and Rao, 1994). برگ‌های توت

(Ramanjulu et al., 1993). قسمت تحتانی ساقه گیاهچه‌های کازورینا، آراییدوپسیس (Mita et al., 1997) و عشقه (Murray et al., 1994) تحت تنش شوری مشاهده شده است. گیاه پنبه در طی مراحل رویشی و افزایش سن و شوری به تولید آنتوسیانین‌ها مبادرت می‌ورزد. احتمالاً با افزایش سن ارقام، بیوستز آنتوسیانین، جهت مقابله با شوری در این گیاه صورت خواهد گرفت (رضایی و خاوری‌نژاد، ۱۳۸۴) که با نتایج حاصله در رقم‌های ساحل و سیلند مطابقت داشته است.

نقش پرولین بعنوان محلول سازشی (Yamaguchi, 2001). در حفظ اسمز، کاهش اسیدیته سیتوپلاسمی و حفظ آنزیم‌های سیتوپلاسمی (Girija et al., 2002) و به عنوان بخش ضروری ساختار پروتئین‌های ساختمانی دیواره سلول‌های گیاهی، پایدارکننده ماشین سنتز پروتئین‌ها، پایدارکننده ساختار درون سلولی در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و هیدروکسی رادیکال‌ها، منبع ذخیره‌کننده نیتروژن و کربن (Fukutaku and Yamada, 1984) دهنده الکترون به زنجیره الکترون تنفسی، تقویت‌کننده فسفریلاسیون اکسیداتیو برای تولید ATP و منبع انرژی در تثبیت نیتروژن (Harre and Cress, 1997) است. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر ارقام شیرپان ۵۳۹، کوکر ۴۳۹ و اوپال از مکانیسم افزایش پرولین در مقاومت استرس شوری استفاده نموده‌اند.

نتایج نشان داده است که با افزایش شوری، مقدار سدیم و کلر در تمامی ارقام، افزایش داشته است. تغییر افزایشی مقدار سدیم و کلر، این مساله را نشان می‌دهد که در پنبه، سیستم انتقالی شامل کانال‌ها و ناقل‌ها است که به صورت توام و با تمایل بالا نسبت به سدیم عمل می‌کنند. در ضمن طبق گزارشات متعدد، سدیم به صورت غیرفعال و تحت اثر تفاوت شیب غلظت و ولتاژ به درون سلول‌ها، انتشار می‌یابد. با توجه به آنکه کلر، یونی پرتحرک است، بنابراین خیلی سریع توسط گونه‌ها گیاهی جذب می‌شود. در تحقیق فعلی شدت جذب کلر به غلظت آن در محلول خاک بستگی دارد و با افزایش شوری خاک، میزان جذب کلر افزایش یافت. افزایش Na در ۶ ژنوتیپ از گیاه پنبه (Higbie et al., 2010) و گیاه رزماری

منابع

- رضایی، م.ع.، و خاوری نژاد، ر.ع. (۱۳۸۳). پاسخ فیزیولوژیک گیاه پنبه به شوری های مختلف خاک. پژوهش و سازندگی در باغبانی. شماره ۶۲. ص ۲۲.
- کنراد، م.، کرکبی، ا. (۱۳۶۷). اصول تغذیه گیاه. ترجمه علی اکبر سالاردینی و مسعود مجتهدی. جلد دوم. صفحه ۱۴۴-۱۳۳.
- منطقی، ن. (۱۳۶۵). تشریح روش‌ها و بررسی آزمایشگاهی روی نمونه‌های خاک و آب. موسسه تحقیقات خاک و آب. نشریه شماره ۱۶۸. ص ۱۷
- Arrigoni, O. (1994).** Ascorbate system in plant development. *J. Bioenergy, Biomember*, 26: 407-419.
- Ashraf, M., Ahmad, S. (2000).** Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fibre characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Field Crops Research*, vol. 66, no. 2, pp. 115-127.
- Ashraf, M., and Neilly, T.M.C. (1990).** Responses of four Brassica species to sodium chloride. *Environmental and Experimental Botany*. 30(3): 475-487.
- Aziz, I., and Khan, M.A. (2003).** Proline and water status of some desert shrubs before and after rains. *Pak. J. Bot*, 35(5): 905-906.
- Bates, L.S. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39(2): 205-207.
- Chance, B., and Maehly, C. (1995).** Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymology*. 11(1): 764-775.
- Cramer, G.R., (1997).** Uptake and role of ions in salt tolerance, in P. K. Jaiwal, R. P. Singh and A. Gulati, (eds.), *Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants*, Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, pp. 55-86.
- Cramer, G.R., Lauchli, A. and Epstein, E. (1986).** Effects on NaCl and CaCl₂ on ion activities in complex nutrient solution and root growth of cotton. *Plant Physiology*. 81(8): 792-797.

(Kiarostami et al., 2010) در شرایط شور گزارش شده است که با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

تحقیقات گذشته نشان داده است با افزایش شوری، جذب منیزیم افزایش می‌یابد. مشخص‌ترین نقش منیزیم، شرکت در ساختار کلروفیل‌ها است و کمبود منیزیم مانع بیوسنتز پروتئین‌ها می‌گردد و معین شده است که این اثر به علت تجزیه ریبوزوم‌ها به زیرواحدهای خود و غیرفعال شدن انتقال اسیدهای آمینه به زنجیر پلی پپتیدی توسط tRNA است (کنراد و کرکبی، ۱۳۶۷). گزارش شده است که نمک، منیزیم و کلسیم را در برگ‌ها افزایش می‌دهد که با نتایج ما هخوانی دارد. در تحقیق حاضر با افزایش شوری بیشترین میزان افزایش منیزیم مربوط به رقم Q28 بوده است

همچنین افزایش کلسیم در شرایط شور نیز با افزایش پرولین و مقاومت بیشتر ارقام به شوری مربوط است. در بررسی اثرات متقابل کلسیم و سدیم در تحمل به شوری گیاه پنبه مشاهده شد که کمبود کلسیم باعث کاهش رشد رویشی و عملکرد غوزه می‌شود و با افزایش کلسیم، سمیت سدیم کاهش می‌یابد (Cramer, 1997).

Ashraf and Ahmad (۲۰۰۰) افزایش کلسیم را در کولتیوارهای متحمل به شوری گزارش نمودند. به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر افزایش کلسیم در شرایط شور با افزایش پرولین و تحمل بیشتر ارقام به شوری مربوط می‌شود و به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های مختلف پنبه با مکانیسم بالا بردن میزان کلسیم، موجب کاهش میزان سمیت سدیم شدند.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به جمیع صفات مورد بررسی به نظر می‌رسد که ارقام کوکر ۴۳۹، شیرپان ۵۳۹ و اوپال با استفاده از مکانیسم‌های افزایش فعالیت آن‌تی اکسیدانت‌ها و پرولین از ارقام مقاوم به شوری می‌باشند. تفاوت بین نتایج ما و گزارشات گذشته ممکن است به دلیل استفاده از گونه‌ها و ژنوتیپ‌ها مختلف و انجام تست‌ها در مراحل مختلف رویش و سن برگ‌ها باشد.

- Fukutako, Y., and Yamada, Y. (1984).** Source of proline nitrogen in water-stressed soybean (*Glycine max*). II. Fate of N-labeled protein. *Physiology Plant*. 7(1): 622-628.
- Girija, C., Smith, B.N., and Swamy, P.M. (2002).** Interactive effects of sodium chloride on the accumulation of proline and Glycine betaine in peanut (*Arachis Hypogaeae* L.). *Environmental and Experimental Botany*. 47(3): 1-10.
- Gorai, M., M. Ennajeh, H. Khemira, M. Neffati. (2010).** Combined effect of NaCl-salinity and hypoxia on growth, photosynthesis, water relations and solute accumulation in *Phragmites australis* plants. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, (in press).
- Harre, P.D., and Cress, W.A. (1997).** Metabolic implication of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regal*. 21: 79-102.
- Higbie, S.M., Wang, F., Stewart, J.McD., Sterling, T.M., Lindemann, W.C., Hughs, E., and Zhang, J. (2010).** Physiological Response to Salt (NaCl) Stress in Selected Cultivated Tetraploid Cottons. *International Journal of Agronomy*. Pp. 12.
- Hyder, S. Z., and Greenway, H. (1965).** Effects of Ca²⁺ on plant sensitivity to high NaCl concentration. *Plant and Soil*, 23: 258-260.
- Iqbal, M.A., Ahmad, V., and Gilani, G. (1995).** Performance of cotton genotypes under different salinity levels. 111. Ionic composition. *Journal of Agricultural*. 33: 159-166.
- Jampeetong, A. and H. Brix. (2009).** Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*. *Aquatic Botany*. 91(3): 181-186.
- Kaliamoorthy, S., and Rao, A.S. (1994).** Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. *Ind. Journal Plant Physiology*. 37, 169-170.
- Kiarostami, Kh., Mohseni, R., and Saboora, A. (2010).** Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 6(3): 114-122.
- Mancinelli, A.L. (1998).** Anthocyanin production in Chl-rich and Chl-poor seedling. *Plant Physiology*. 86: 652-654.
- Masood, A., Shah, N.A. Zeeshan, M., and Abraham, G. (2006).** Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of *Azolla* (*Azolla pinnata* and *Azolla tiliuloides*). *Environment. Botanical*. 58, 216-222.
- Meloni, D.A., Oliva, M.A., Ruiz, H.A and Martinez, C.A. (2001).** Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress," *Journal of Plant Nutrition*, vol. 24, no. 3, pp. 599-612, 2001.
- Mita, S., Murano, N., Akaiko, M., and Nakamura, K. (1997).** Mutants of *Arabidopsis thaliana* with pleiotropic effects on the expression of the gene for beta-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. *Plant Journal*. 11: 841-851.
- Mittler, R. (2002).** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*. 7: 405-410.
- Murray, J.R., Smith, A.G., and Hackett, W.P. (1994).** Differential dihydroflavonol reductase transcript and anthocyanin pigmentation in the juvenile and mature phases of ivy (*Hedera helix* L.). *Planta*. 194: 102-109.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., and Foyer, C.H. (2002).** Peroxide processing in photosynthesis: antioxidant coupling and redox signaling. *Philos. Trans. R. Soc. London.*, 355, 1465-1475.
- Ramanjulu, S., Veeranjanyulu, K., and Sudhakar, C. (1993).** Physiological changes induced by NaCl in mulberry var. Mysore local. *Ind. J. Plant Physiol*. 36, 273-275.
- Roxas, V.P., Smith, R.K., Allen, E.R., and Allen, R.D. (1997).** Overexpression of glutathione S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. *Nat. Biotechnology*. 15: 988-991.
- Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. (2002).** Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes to long term salt stress. *Plant Sci*. 162: 897-804.
- Vell, R., (2001).** Leaf pigment and canopy photosynthetic responses to early flower removal in cotton. *Crop Science*. 41: 1522-1429.
- Vma, M.S. (1974).** Relative performance of cotton genotype under different levels of salinity in irrigation water. *Madras Agricultural-Journal*. 82 (1). 15-18.
- Yamagauchi-Shinozaki, K. (2001).** Biological function of proline in osmotolerance revealed in antisense transgenic plants. *Jircas Newsletter*. 27: 1-2.
- Zhu, J.K. (2001).** Over expression of a delta-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgenic rice. *Trends Plant Sci*. 6: 66-72.