نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال نهم، شماره ۳۶، زمستان ۱۳۹۳ / صفحات: ۴۶-۳۴

مقایسه محتوای پرولین، گلایسین بتائین، قند محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دو گیاه‌هالوفیت *Suaeda altissima* Pall. و *Frankenia hirsute* L. در دو فصل مختلف

زینب تیموری[۱]، مه لقا قربانلی*[۲]، آرین ساطعی[۳]

[۱]کارشناس‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[۲]استاد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[۳] استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/٤ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۹

چکیده

دو گیاه هالوفیت *Frankenia hirsute* L. و *Suaeda altissima* Pall. که در منطقه صوفیکم آق‌قلا (گلستان) می‌رویند، گیاهانی می‌باشند که در زمین‌های شور و آب و هوای خشک به خوبی رشد می‌کنند. در این پژوهش دو گونه فوق در اردیبهشت‌ماه (فاز گلدهی) و شهریورماه (فاز خزان) جمع‌آوری و جهت بررسی ترکیبات پرولین، گلایسین بتائین، قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) در اندام هوایی و ریشه به آزمایشگاه منتقل شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین مقدار پرولین در اندام هوایی *F.hirsuta* (اردیبهشت) و کمترین مقدار پرولین در ریشه *S.altissima* (شهریور) بود. همچنین بیشترین محتوای گلایسین بتائین در ریشه *S.altissima* (شهریور) و کمترین مقدار آن در اندام هوایی *F.hirsuta* (اردیبهشت) مشاهده شد. در ارتباط با قندهای محلول نیز بیشترین میزان مربوط به در اندام هوایی *F.hirsuta* (اردیبهشت) و کمترین آن ریشه *F.hirsuta* (شهریور) بود. در ارتباط با آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز، نتایج نشان داد. فعالیت کاتالاز در اندام هوایی *S.altissima* (شهریور) از بیشترین مقدار و در اندام هوایی و ریشه *S.altissima* (اردیبهشت) از کمترین مقدار برخوردار بود. در ارتباط با فعالیت آنزیم پراکسیداز، نیز بیشترین فعالیت در اندام هوایی *F.hirsuta* (اردیبهشت) و کمترین در ریشه *S.altissima* (اردیبهشت) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پرولین، قندهای محلول، هالوفیت.

مقدمه[۱]

تحقیقات نشان داده است نیاز به غذا در کره زمین تا سال ۲۰۲۵، ۳۸ درصد و تا سال ۲۰۵۰، ۵۷ درصد افزایش خواهد یافت. بنابراین به منظور تأمین غذای مورد نیاز جمعیت درحال رشد، باید تولید در واحد سطح زمین افزایش یابد. حدود ۱۵درصد از اراضی جهان در اثر تغییرات فیزیکی و شیمیایی خاک و همچنین شوری تخریب شده است. خاک‌های شور در جهان در بیش از ۱۰۰ کشور جهان وجود دارند. کل اراضی شور جهان شامل خاک‌های شور و سدیک ۸۳۱ میلیون هکتار می‌باشد که به‌طور عمده در قاره-های آفریقا، آسیا، آمریکا و اقیانوسیه پراکنده شده است (Rangasmi, 2006).

عمده‌ترین اثر تنش شوری بر گیاهان کاهش یا توقف رشد می‌باشد. به‌طورکلی شوری خاک، رشد

*نویسنده مسئول: m.ghorbanli@gorganiau.ac.ir

گیاهان را از سه طریق مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد: نخست اینکه غلظت بالای نمک در خاک جذب آب توسط ریشه‌ها را مشکل ساخته و جهت جلوگیری از خروج آب سلول، نیاز به تنظیم اسمزی مجدد سلول‌ها است. دوم جذب و انتقال یون‌های غذایی مانند K^+ و Ca^{+2} در شرایط وجود سدیم زیاد از محلول خاک مختل می‌شود. در نهایت غلظت بالای نمک در محیط رشد گیاه و جذب و انتقال آن به داخل گیاه ممکن است، ایجاد سمیت نماید. نمک‌ها در اطراف ریشه بر رشد سلول و متابولیسم‌های مرتبط اثر فوری دارند. مدت زمان تجمع سمی نمک‌ها در داخل گیاه طولانی‌تر از تأثیر شوری بر روی کارکردهای گیاه است. در بیشتر گیاهان در حالی که آب از طریق ریشه‌ها به سمت بالا حرکت می‌کند، همزمان ریشه‌ها به شکل کارآمدی از ورود Na^+ و Cl^- به داخل سیستم آوند چوبی جلوگیری می‌کنند. این وضعیت درهالوفیت‌ها (شورزیست‌ها) که در فلور طبیعی خاک‌هایی با شوری بالا هستند، نسبت به غیرهالوفیت‌ها چشمگیرتر است (Munns and Tester, 2008).

پرولین به‌عنوان مهمترین اسیدآمینه در گیاهان شورپسند نظیر سوئدا ماکروکارپا و آستر تریپولیوم به حساب می‌آید. سطح پرولین موجود در گیاه با میزان غلظت کلریدسدیم محیط همبستگی نشان می‌دهد. تجمع پرولین یکی از روش‌های متابولیسمی است که در پاسخ به تنش اسمزی و یا سایر تنش‌ها توسط گیاهان به کار می‌رود (Levitte, 1980). پرولین تجمع یافته نقش‌هایی مانند ایجاد ترکیب سازگار اسمزی، ترکیب ذخیره‌ای ازت، جاروب‌کننده رادیکال‌های هیدروکسیل، تنظیم پتانسیل اکسیداسیون سلولی، تنظیم اسیدیته، حفظ تورژسانس و حجم سلول را به عهده دارد که در نهایت، باعث سازش و تحمل در برابر تنش شوری می‌شود (Nakashima et al., 1998).

گلایسین بتائین اساساً در کلروپلاست یافت می‌شود و نقش حیاتی در تنظیم و حفظ غشاء تیلاکوئیدی بازی می‌کند بنابراین کارآمدی فتوسنتز را حفظ می‌کند (Genard et al., 1991). در گیاهان گونه‌های تحمل کننده شوری بیشتر از گونه‌های حساس به شوری گلایسین بتایین را در خود انباشته می کنند. البته در گیاهان مختلف نتایج متفاوت است. به‌عنوان مثال رابطه معنی‌داری بین تجمع گلایسین بتائین و تنش شوری در واریته‌های متفاوت *Triticum*، *Agropyron*، *Elymus* یافت نشد (Wyn Jones et al., 1984). برخی گونه‌های برنج (*Oryza sativa*)، خردل (*Brassica spp.*)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) و تنباکو (*Nicotiana tabacum*) تحت شرایط تنش زا و غیر تنش زا هیچ گلایسین بتائینی را تولید نکردند (Rhodes and Hanson.,1993).

مطالعات نشان داده است که پراکسیدازها در لیگنینی و سوبرینی شدن دیواره، کاتابولیسم اکسین و مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، تحمل شوری و پیری نقش کلیدی ایفا می‌کنند (Atak et al., 2007). کاتالازها جزء آنزیم‌های ترامری هستند و تنها در پراکسی‌زوم‌ها است و برای سم زدایی ROS در طی تنش ضروری می‌باشند و زمانی که سطوح ROS بالا می‌رود این آنزیم تولید می‌شود. تعادل بین فعالیت‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز یا کاتالاز در سلول برای رساندن به حالت پایدار رادیکال‌های سوپراکسید و H_2O_2 بسیار مهم است (Mittler, 2002). افزایش فعالیت کاتالاز تحت استرس آبی توسط Da و همکاران (۲۰۰۵) در گیاه ذرت گزارش شده است.

جنس سوئدا از تیره کنوپودیاسه دارای گیاهانی یکساله، دو پایه سخت چوبی یا پایا و کاملا چوبی هستند. گل‌ها نر ماده یا پلی‌گام، منفرد یا مجتمع به صورت کروی، بدون دمگل، دارای برگکی فلس‌مانند، کوچک و غشایی و کاسه‌ای کوزه‌مانند و دارای ۵ لبه غیر پیوسته و تخمدان بدون تغییر در میوه است و کم و بیش همراه با رشد آن تغییر کرده و زائده‌دار است. پرچم‌ها ۵ عدد، کلاله ۲ تا ۳ عدد، میوه کیسه مانند، باقیمانده در کاسه ولی غیرپیوسته با آن و محتوی دانه-ای افقی یا عمودی است. این جنس دارای ١٤ گونه است که در نواحی شوره‌زار و نمکدار نقاط مختلف ایران می‌روید (قهرمان، ۱۳۸۳).

جنس فرانکنیا از تیره فرانکنیاسه دارای گیاهانی علفی، یکساله یا پایا، با ریشه نازک و یا ضخیم و ساقه‌های بسیار منشعب‌اند. گل دارای کاسه پیوسته و لوله‌ای شکل، با ٤ یا ۵ لبه و ٤ یا ۵ گلبرگ و ٤ تا ٦ پرچم آزاد است. خامه نازک و نخی، با ۳ یا ٤ شاخه که سطح درونی آنها کلاله‌ای وگرده‌گیر است. ساقه بسیار منشعب و معمولاً روی زمین گسترده است. گل‌ها کوچک و صورتی-سرخ هستند، در انتها یا محل انشعابات دو شاخه‌ای ساقه به وجود می‌آیند و در گل آذین‌های متراکم گویچه‌ای و یا به صورت منفرد قرار می‌گیرند (قهرمان، ۱۳۸۳).

هدف این پژوهش بر رسی مقایسه‌ای پرولین، گلیسین بتایین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (کاتالاز وپر اکسیداز) در دوهالوفیت *Frankenia hirsuta* و *Suaeda altissima* در دو فصل است که در نتیجه الگوهای رفتاری و مکانیسم‌های مقاومت و مقابله با تنش آنها مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

منطقه اینچه شوره زار با مساحت ١٣٤٧٠ هکتار در منطقه شور و قلیایی استان گلستان قرار گرفته است و جزو مراتع قشلاقی استان گلستان محسوب شده و در واقع در اراضی دشتی و همواره و در واحد فیزیوگرافی اراضی پست واقع است. اینچه شوره‌زار در فاصله ٦٠ کیلومتری پرپان و ٤٥ کیلومتری شمال شهر آق‌قلا در موقعیت ۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۲۵ دقیقه عرض شمالی و ٥٤ درجه و ۱۵ دقیقه تا ٥٤ درجه و ۳۰ دقیقه در طول شرقی واقع شده است. حدود اربعه آن عبارت است از : از سمت شمال به مسیر خروجی آب دریاچه آلاگل، از سمت شرق به ضلع غربی یگان بعثت و مرتع قره‌قر بزرگ، غرب به جاده پاسگاه صوفیکم و از جنوب به اراضی مزروعی و کانال زهکشی محدود می‌شود. میزان بارندگی ٢٨٤ میلی‌متر و اقلیم آن نیمه خشک و دمای متوسط سالانه ۱۷/۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. به منظور نمونه برداری از گونه مورد نظر در منطقه صوفیکم اینچه برون، ٤ بلوک به فواصل ۵۰۰ متری از یکدیگر انتخاب و در دو فصل بهار و تابستان نمونه‌ها جمع آوری و برای بررسی آزمایشات به آزمایشگاه منتقل شدند.

سنجش میزان پرولین (Bates, 1973).

۰/۲ گرم وزن تر قسمت انتهایی ریشه و یا بخش هوایی، پس از توزین، در ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد (آبی) سائیده شده و همگن حاصل با استفاده از کاغذ صاقی واتمن ۲ صاف گردید. از عصاره حاصل یک میلی‌لیتر در لوله آزمایش ریخته شد و بر روی آن ۱ میلی‌لیتر اسیدنین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک خالص اضافه گردید. لوله‌های آزمایش در حمام آب گرم به‌مدت 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 میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و به

مدت ۲۰ ثانیه به شدت تکان داده شده تا اینکه دو لایه مجزا از یکدیگر تشکیل گردیدپس از ریختن تولوئن در لوله آزمایش ۲ لایه کاملاً مشخص تشکیل شده تولوئن محتوای پرولین با جدا شدن از فاز آبی در بخش رویی محلول قرار گرفت. جذب لایه رنگین فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از شاهد تولوئن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بصورت میکرومول بر گرم وزن تر ارزیابی گردیدند.

سنجش گلیسین بتائین (Sairam et al., 2002): ۰/۵ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه در ۲۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تکان (شیکر) داده شدند. نمونه از کاغذ صافی عبور داده شد، تا زمان شروع آنالیز بعدی در فریزر قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه از فریزر خارج شده وپس از ذوب شدن یخ آن، به نسبت ۱:۱ با اسید سولفوریک ۲N رقیق گردیدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از آن جدا شده در داخل لوله آزمایش و در آب یخ به مدت یک ساعت نگهداری شدند. سپس به آنها ۰/۲ میلی‌لیتر از معرف یدید-یدین پتاسیم سرد اضافه شده به آهستگی توسط ورتکس مخلوط شدند.سپس محلول‌ها به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای یخچال (صفر تا ٤ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. نمونه‌ها در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی با میکروپیپت جدا شده و با ۹ میلی‌لیتر ۱،۲ – دی کلرو اتان (به‌عنوان معرف) حل شد.سپس شدیداً ورتکس شده و بعد از ۵/۲ ساعت جذب آن در طول موج ۳٦۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتو متر Visible–UV خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد گلیسین بتائین مقدار ایت اسید آمینه در بافت مورد نظر تعیین شد.

سنجش قندهای محلول با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک (Kochert, 1987): ابتدا برگ مشخصی از گیاه و همچنین بخش مشخصی از ریشه جهت سنجش قندهای محلول تعیین گشته و در آون در درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت خشک شدند. پس از توزین آنها توسط تراوزی دیجیتالی به هر یک از نمونه‌ها ۱۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد افزوده و در ظروف پلی اتیلن در یخچال به‌مدت یک هفته قرار داده شدند. با این عمل قندهای محلول در اتانول حل گردیده و در بخش بالایی محلول جمع می‌شوند. مراحل انجام شده جهت سنجش قندهای محلول به‌صورت زیر می‌باشد: ۱ میلی‌لیتر از بخش بالایی محلول برداشته و حجم آن را به ۲ میلی‌لیتر با آب مقطر رسانیده شد،سپس۱میلی لیتر فنل ۵ درصد به محلول فوق و۵ میلی لیتراسید سولفوریک غلیظ اضافه و جذب نوری در طول موج ٤٨۵ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه خوانده شد. برای محاسبه مقدار قندهای نمونه‌های موردنظر با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز با غلظت‌های مختلف استفاده شد.

روش استخراج عصاره آنزیمی گیاه: جهت استخراج عصاره آنزیمی گیاه توسط عصاره آنزیمی تهیه شده، ابتدا بخشی از اندام هوایی (برگ) و بخشی از اندام زیرزمینی (ریشه) گیاه توسط ترازوی دیجیتال توزین گردیدند. سپس از هر تیمار چهار تکرار انتخاب و مراحل زیر بر روی آنها صورت گرفت. مقدار تعیین شده از اندام گیاهی با چهار میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری ساییده شد تا زمانی که اندام گیاهی در داخل محلول عصاره‌گیری کاملاً همگن گردد. محلول بدست آمده از مرحله قبل به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ سانتی‌گراد قرار داده شد وسپس محلول به مدت نیم ساعت با دور g٤۰۰ سانتریفوژ گردید. محلول رویی

به دست آمده از مرحله سانتریفوژ به مدت چهار هفته قادر به نگهداری می‌باشد.

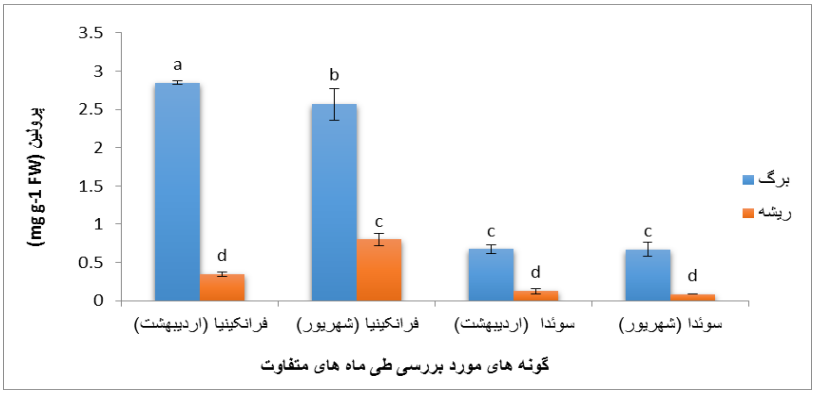
سنجش فعالیت کاتالازی (Chance and Maehly, 1995): به منظور سنجش آنزیم کاتالاز از عصاره آنزیمی استخراج شده برای فعالیت پر اکسیداز استفاده شد و مراحل زیر به‌ترتیب صورت گرفت: ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و جذب را در ۲٤۰ نانومتر خوانده شد. (کلیه مراحل در ظرف یخ انجام شود). فعالیت آنزیم بر حسب ($OD.min^{-1}.g^{-1}.FW$) سنجش شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیدازی (Koroi, 1989): به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیدازی نیز از عصاره آنزیمی گیاهی استفاده گردید و بر روی هر تیمار با چهار تکرار مراحل زیر انجام شد: ۲ میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار (pH ۵) با ۰/٤ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه ۰/۰۱ مولار مخلوط شد، سپس به مخلوط فوق ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی اضافه گردید وجذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه خوانده شد.لازم به ذکر است به‌منظور حفظ فعالیت پراکسیداز کلیه مراحل سنجش فعالیت آنزیم در ظرف یخ انجام گرفت. فعالیت این آنزیم برحسب $ODmin^{-1}g^{-1}FW$ سنجش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها براساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS برای چهار تکرار صورت گرفت و رسم شکل‌ها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد. شکل‌ها نشانگر میانگین ± SE می‌باشد

نتایج

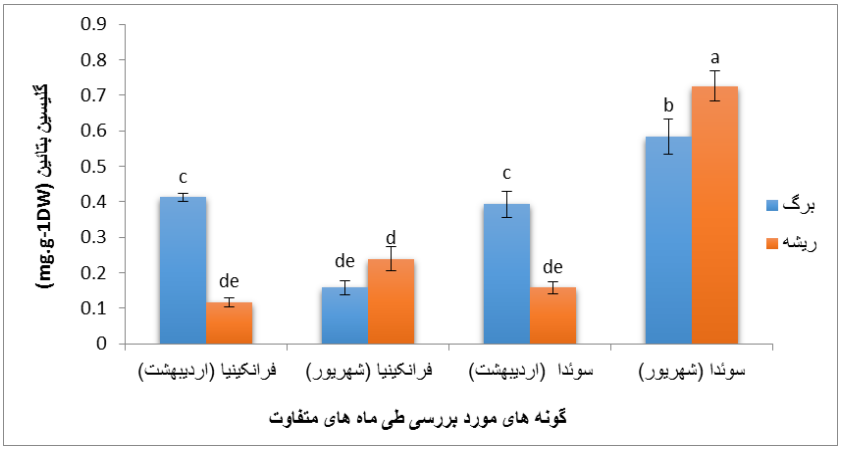
میزان پرولین اندام هوایی و ریشه: مقایسه میزان پرولین در اندام هوایی و ریشه دو گونه هالوفیت *S. altissima* و *F. hirsuta* در دو فصل بهار (ماه اردیبهشت) و تابستان (شهریور) مورد بررسی قرار گرفت. میزان پرولین در گیاه فرانکنیا در هر دو فصل مورد بررسی و در هر دو اندام (اندام هوایی و ریشه) بیشتر از میزان پرولین گیاه سوئدا بود. نتایج نشان داد که بیشترین میزان پرولین در اندام هوایی گیاه فرانکنیا در فصل بهار بود و پس از آن بیشترین میزان را پرولین اندام هوایی فرانکنیا در فصل تابستان دارا بود. تفاوت معنی داری بین میزان پرولین ریشه فرانکنیا در فصل بهار، ریشه سوئدا در فصل بهار و ریشه سوئدا در فصل تابستان مشاهده نشد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین میزان پرولین ریشه گیاه فرانکنیا در فصل تابستان، اندام هوایی گیاه سوئدا در فصل بهار و اندام هوایی گیاه سوئدا در فصل تابستان دیده نشد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه میزان پرولین در اندام هوایی و ریشه دو گونه مورد بررسی در دو فصل بهار و تابستان

حروف یکسان نشان دهنده عدم تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ >P است.

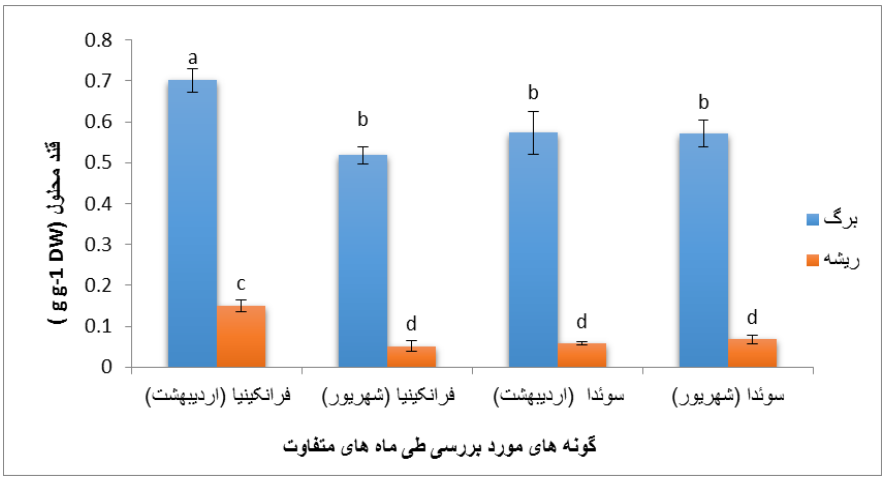
محتوای گلایسین بتائیناندام هـوایی و ریشـه: میـزان گلایسـین بتـائین در انـدام هـوایی و ریشـه دو گونـه هالوفیت *S. altissima* و *F.hirsuta* در دو فصل بهـار (ماه اردیبهشت) و تابسـتان (شـهریور) مـورد بررسـی قرار گرفت. بیشترین میزان گلایسـین بتـائین در انـدام هوایی و ریشه گیاه سوئدا در فصل تابستان دیـده شـد ($P<۰/۰۵$) (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میزان گلایسین بتائین در اندام هوایی و ریشه دو گونه مورد مطالعه در دو فصل بهار و تابستان

حروف یکسان نشان دهنده عدم تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ >P است.

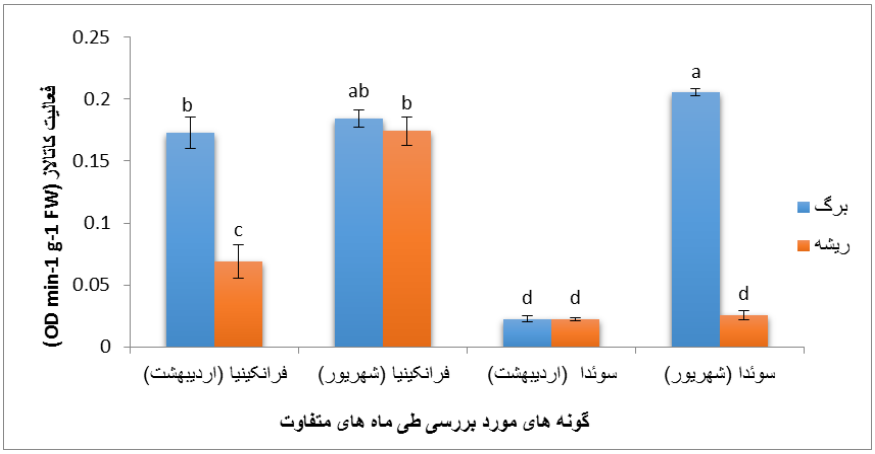
محتوای قند محلول اندام هوایی و ریشه: میزان قنـد محلـول انـدام هـوایی و ریشـه دو گونـه هالوفیـت *S. altissima* و *F.hirsuta* در دو فصـل بهـار (مـاه اردیبهشت) و تابستان (شـهریور) مـورد بررسـی قـرار گرفت. میزان قند محلـول در گیـاه فرانکنیـا در فصـل بهار بیشترین مقدار را داشت. نتـایج نشـان داد میـزان قند محلول در انـدام هـوایی و ریشـه دو گونـه مـورد بررسـی تفـاوت معنـی داری بـا یکـدیگر داشـتند ($P<۰/۰۵$) (شکل ۳).



شکل۳: مقایسه قند محلول در اندام هوایی و ریشه دو گونه مورد بررسی در دو فصل بهار و تابستان

حروف یکسان نشان دهنده عدم تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ >P است.

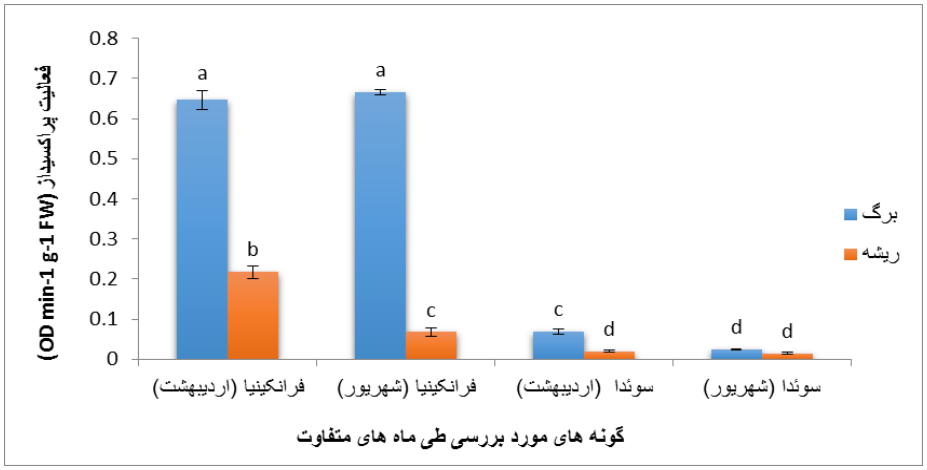
فعالیت کاتالاز اندام هوایی و ریشه: فعالیت آنزیم کاتالاز دو گونه هالوفیت *S. altissima* و *F.hirsuta* در دو فصل بهار (ماه اردیبهشت) و تابستان (شهریور) مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در اندام هوایی گیاه سوئدا در فصل تابستان و پس از آن در اندام هوایی گیاه فرانکنیا در همان فصل یافت شد. کمترین میزان فعالیت در ریشه و اندام هوایی گیاه سوئدا در فصل بهار یافت شد ($P<۰/۰۵$) (شکل ٤).



شکل٤: مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه و اندام هوایی دو گونه مورد مطالعه در فصل بهار و تابستان

حروف یکسان نشان دهنده عدم تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ >P است.

فعالیت پراکسیداز اندام هوایی و ریشه: میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز دو گونه‌هالوفیت *S. altissima* و *F.hirsuta* در دو فصل بهار (ماه اردیبهشت) و تابستان (شهریور) مورد مطالعه قرار گرفت. بیشترین میزان فعالیت پراکسیداز در اندام هوایی گیاه فرانکنیا در فصل تابستان و پس از آن در اندام هوایی گیاه فرانکنیا در فصل بهار یافت شد و تفاوت معنی داری بین آنها مشاهده نشد. کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ریشه گیاه سوئدا بود ($P<۰/۰۵$) (شکل ۵).



شکل۵: مقایسه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو گونه مورد مطالعه در دو فصل بهار و تابستان

حروف یکسان نشان دهنده عدم تغییرات معنی‌دار در سطح ۵٪ >P است.

بحث

تحقیقات نشان داده است تنش شوری از تنش‌های غیر زنده مهم است که اثرهای زیانباری بر عملکرد گیاه دارد. یکی از راهکارهای متابولیسمی گیاهان در برابرتنش‌های خشکی و شوری افزایش میزان پرولین است. افزایش پرولین نشان‌دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم فشار اسمزی می‌باشد. تنظیم اسمزی در گیاهان مکانیزم عمده اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است و به‌طورکلی به کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول در شرایط تنش‌های شوری و خشکی اطلاق می‌گردد و شدت انجام آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای بستگی دارد (Bajji et al., 1998) که این موضوع از تفاوت تجمع پرولین در دو گونه‌هالوفیت مورد بررسی این تحقیق پشتیبانی می‌کند. محتوای پرولین اندام هوایی و ریشه دو گیاه در دو فصل بهار و تابستان با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که به ترتیب اندام هوایی *F. hirsuta* بیشترین محتوای پرولین را در فصل بهار و پس از آن اندام هوایی همان گیاه در فصل تابستان بیشترین محتوای پرولین را دارا بود. به طور کلی ریشه‌های این گیاهان پرولین کمتری را نسبت به اندام هوایی تجمع دادند (شکل ۱).

در ۵ دهه اخیر محققان پیشنهاد کرده‌اند که تجمع پرولین در بافت‌های گیاه مرتبط با تحمل به شوری در گیاهان مختلف از جمله‌هالوفیت‌ها می‌باشد. Furtana و همکاران (۲۰۱۳) میزان پرولین سه گونه Limonium (*L. anatolicum* ،*L. lilacinum* ،*L. iconicum*) را در دو فصل تابستان و پاییز مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که گونه‌های مختلف در فصل‌های متفاوت میزان متفاوتی از تجمع پرولین را داشتند. محتوای پرولین در دو گونه، *L. anatolicum* ،*L. lilacinum* در تابستان و در پاییز در گونه *L. iconicum* بیشترین میزان تجمع را داشت. محققان در ارتباط با تجمع پرولین نتایج مختلفی را بیان داشتند. این تنوع در تجمع پرولین در گیاهان می‌تواند به فاکتورهای مختلفی از قبیل فاکتورهای محیطی زیستگاه و محدودیت‌های انرژی بستگی دارد. در واقع دیدگاه‌های مختلف درباره نقش پرولین در متابولیسم گیاهان تحت تنش هنوز سوال برانگیز است. در این مطالعه نیز بیشترین میزان پرولین در اندام هوایی دو گونه مشاهده شد. تنظیم اسمزی توسط تجمع پرولین در گیاهان‌هالوفیت *crassifllora*، *Atriplex halimus* ،*Salicornia europaea* ،*A.halimus* ،*Hordeum maritimum* ،*Ipomoea pes-caprae* ،*Paspalum vaginatum* ،*Phragmites australis* و گونه‌های Suaeda گزارش شده است (Nedjimi and Daoud, 2009; Sucre and Suarez, 2010).

مقدار پرولین موجود در گیاهان‌هالوفیت، متناسب با مقدار شوری موجود در آن‌ها ذکر شده است. بطوری که در گیاهان‌هالوفیت پرورش یافته در محیط عاری از نمک، میزان پرولین کاهش نشان داده است (Levitte, 1980). گزارش‌های متعددی مبنی بر وجود همبستگی مثبت بین تجمع پرولین و سازش به تنش اسمزی در گیاهان ذکر شده است (Kiyosue et al., 1996).

تحقیقات نشان داده است میزان پرولین گیاه *Suaeda maritime* با افزایش شوری افزایش یافت و میزان پرولین این گیاه در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود (Rajaravindran and Natarajan, 2012) که با نتایج این تحقیق هماهنگ است که میزان پرولین انباشته شده در ریشه کمتر از اندام هوایی بود.

از جمله ترکیبات آلی که در گیاه برای مقابله با تنش افزایش می‌یابد گلایسین بتائین می‌باشد.بعلاوه نشان داده شده است که گلایسین بتائین وظیفه

حفاظت از پروتئین‌ها و غشاءهای سلولی در مقابل دماهای بالا و تنش‌های اسمزی درون گیاه را برعهده دارد (Zhang et al., 1999; Jones et al., 1981).

نتایج این تحقیق نشان داد تفاوت معنی داری بین محتوای گلایسین بتائین در ریشه *S. altissima* در تابستان با دیگر نمونه‌ها وجود داشت. از طرفی طبق نتایج بدست آمده بیشترین محتوای گلایسین بتائین در ریشه *S. altissima* در تابستان و کمترین محتوا در ریشه *F. hirsuta* در فصل بهار یافت شد. همچنین باتوجه به نمونه مورد مطالعه، اندام و فصل مورد مطالعه محتوای گلایسین بتائین متفاوت بود (شکل ۲). تجمع بسیار زیاد گلیسین بتائین در هالوفیت‌های دیگری از قبیل *Spartina anglica* (Mulholland and Martinez et al., 2005)، *Atriplex halimus* (Otte, 2002)، *A.nummularia* (Silveira et al., 2009) و *S.portulacastrum* (Lokhande et al., 2010a,b) گزارش شده است. تجمع گلیسین بتائین در تنش شوری مرتبط با افزایش بیان ژن بتائین آلدهید دهیدروژناز در گیاه *Salicornia europaea* گزارش شده است (Moghaieb et al., 2004).

گلایسین بتائین در پاسخ به تنش در بسیاری از گیاهان زراعی از جمله چغندر قند، اسفناج، جو، گندم یافت شده است (Rhodes and Hanson,1993; Yang et al., 2003). در این گیاهان گونه‌های تحمل کننده شوری بیشتر از گونه‌های حساس به شوری بتائین گلایسین را در خود تجمع می‌دهند البته در گیاهان مختلف نتایج متفاوت است که این نتایج مختلف کار ما را پشتیبانی می‌کند. رابطه معنی‌داری بین تجمع گلایسین بتائین و تنش شوری در واریته‌های متفاوت *Triticum*، *Agropyron*، *Elymus* یافت نشد (Wyn Jones et al., 1984). برخی گونه‌های برنج (*Oryza sativa*)، خردل (*Brassica spp.*)، آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) و تنباکو (*Nicotiana tabacum*) تحت شرایط تنش زا و غیر تنش زا هیچ گلایسین بتائینی را تولید نکردند (Rhodes and Hanson,1993). گلایسین بتائین در غلظت‌های بالایی درهالوفیت‌ها تجمع می‌یابد. گفته شده است گلایسین بتائین می‌تواند اسمولیت سازگار اصلی این گیاهان باشد (Rhodes & Hanson, 1993).

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که محتوای قند محلول در اندام هوایی بسیار بالاتر از قند محلول ریشه دو گونه در دو فصل مورد بررسی بود (شکل۳). Briens و Larher (۱۹۸۲) ۱۶ گونه هالوفیت مختلف را برای بررسی قندهای محلول و دیگر اوسمولیت‌ها بررسی کردند و نتیجه گرفتند که همه گونه‌ها فروکتوز، ساکاروز و گلوکز را در خود به میزان زیادی انباشته کردند و در این میان *Plantago maritime*، *Juncus maritimus*، *Phragamites communis* و *Scripus maritimus* بیشترین میزان قند محلول را انباشته کردند.

تحقیقات نشان داده است گیاه *Suaeda maritime* در غلظت‌های شوری متفاوت میزان متفاوتی قند محلول را در ریشه و اندام هوایی تجمیع داد (Rajaravindran and Natarajan, 2012). تحت شرایط شوری کاهش سطوح کربوهیدرات می‌تواند بخاطر کاهش نرخ رشد باشد. افزایش میزان قند و به دنبال آن کاهش نشاسته در سطوح شوری بالا در چندین‌هالوفیت گزارش شده است (Ashraf and Haris, 2004).

Gill و همکاران (۲۰۱۱) میزان قندهای محلول پنج گونه‌هالوفیت را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد در دو هالوفیت *Juncus acutus* و *J. maritimus* به‌ترتیب ساکارز، گلوکز و فروکتوز تجمع چشمگیری داشتند. در گیاه *Plantago crassifolia* سوربیتول به‌عنوان قند محلول بیشترین افزایش را داشت. ولی دو گونه *Inula crithmoides* و

Sarcocornia fruticosa تجمع معنی دار قند محلولی یافت نشد. Furtana و همکاران (۲۰۱۳) میزان قند محلول سه گونه Limonium (*L. iconicum*، *L. lilacinum*، *L. anatolicum*) را موزد بررسی قرار دادند و نتایج آن‌ها نشان داد که در هر سه گونه محتوای گلوکز در فصل تابستان بیشترین مقدار را داشت. اما محتوای فروکتوز در *L. iconicum* و *L. anatolicum* در تابستان و در *L. lilacinum* در پاییز بیشترین مقدار را داشت. از طرفی Walker و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند که تجمع سطوح بالای ترکیبات آلی در گیاهان به میزان خشکی آب و هوا و شرایط تنش‌زای محیطی بستگی دارد. Morsy و همکاران (۲۰۰۸) نقش اصلی این ترکیبات آلی را ایجاد افزایش فشار اسمزی در گونه‌های‌هالوفیت معرفی نمودند.

نتایج این پژوهش نشان داد که تفاوت معنی داری بین فعالیت آنزیم کاتالازی در دو فصل در گونه *S. altissima* یافت نشد اما تفاوت بین فعالیت آنزیم کاتالازی در دو فصل در گونه *F. hirsuta* یافت شد. همچنین مقایسه بین نمونه‌های ریشه و اندام هوایی نمونه‌ها نشان داد که در همه نمونه‌ها بیشترین فعالیت آنزیم کاتالازی در اندام هوایی مشاهده شد (شکل ٤).

مطالعات کافی و همکاران(۱۳۸۲) نشان داد که افزایش شوری باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز می‌گردد. مقایسه میزان فعالیت کاتالاز نشان‌داد که بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در مرحله گلدهی گیاه و کمترین مقدار فعالیت آن در مرحله رشد رویشی ظاهر می‌شود. ضمن اینکه حداکثر فعالیت آنزیم کاتالاز در مراحل مختلف رشد گیاه کنجد، متفاوت بود. نتایج Sairam و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان داد که با افزایش سن گیاه تا مرحلهٔ ۵۰ درصد گرده افشانی، مقدار آنزیم کاتالاز افزایش یافت و با گذر از این مرحله، فعالیت آنزیم کاتالاز در شوری کاهش معنی‌داری نشان داد

نتایج این پژوهش نشان داد که. تفاوت معنی داری بین فعالیت آنزیم پراکسیدازی در دو فصل بهار تابستان در گونه *S. altissima* وجود نداشت. همچنین مقایسه بین نمونه‌های ریشه و اندام هوایی نمونه‌ها نشان داد که در همه نمونه‌ها بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیدازی در اندام هوایی و بالاترین فعالیت پراکسیدازی در *F. hirsuta* (تابستان) مشاهده شد.

پراکسیدازها در مکانیزم‌های کاهش استرس اکسیداتیو دخیل هستند که توانایی گیاهان را برای تحمل کردن به استرس بالا می‌برند. آنزیم پراکسیداز H_2O_2 را با ترکیباتی مثل فنل‌ها و یا آنتی اکسیدان‌های دیگر تجزیه می‌کند.افزایش معنی دار پراکسیداز در گیاه‌هالوفیت *Aegiceras corniculatum* (Manikandan and Venkatesan, 2004) گزارش شد. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز اساساً به علت افزایش سنتز آنزیم است که می‌تواند برای سازگاری به شرایط تنش‌زا و حفاظت از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء باشد.

میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان هالوفیت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج افزایش پراکسیداز را در گیاه *Avicennia marina* (Jitesh et al., 2006; Kavitha et al., 2010)، کاهش فعالیت کاتالاز در گیاه *Bruguiera parviflor* و *B.gymnorrhiza* (Parida et al., 2004)، افزایش در گیاه *Beta vulgaris* و *B.maritime* (Bor et al., 2003) و همچنین افزایش پراکسیداز و کاهش کاتالاز در گیاه *Crithmum maritimum* (Ben Amor et al., 2005)، *Hordeum maritimum* (Hafsi et al., 2010)، گیاه*Sesuvium portulacastrum* (Lokhande et al., 2010a,b; 2011a) گزارش شده است.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج محتوای پرولین، گلایسین بتائین، قند محلول، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز متفاوت بود که مربوط به فصل برداشت، گونه مورد مطالعه و اندام مورد بررسی می‌باشد. به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که دو گونه مورد مطالعه از طریق انباشت ترکیبات اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به تنش شوری پاسخ می‌دهند و با اینکه در شرایط یکسان زیستگاه زندگی می‌کنند الگوی رفتاری متفاوت نشان داده وبا تنش شوری مقاومت کرده وچرخه زندگی خود راکامل می‌کنند.

منابع

قهرمان، ا. (۱۳۸۳). کروموفیت‌های و ایران سیستماتیک گیاهی (جلد اول). تهران مرکز نشر دانشگاهی. چاپ سوم. ویرایش دو.

کافی، م.، کامکار، ب. و مهدوی دامغانی، ع.م. (۱۳۸۲). واکنش‌های گیاهان زراعی به محیط رشد. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

Ashraf, M. and Harris, P.J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science. 116: 3-16

Atak, C., Celik, O., Olgun, A., Alikamanoglu, S. and Rzakoulieva, A. (2007). Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue culture. Biotechnology. 2: 21-25.

Bajji, M., Kinet, J.M. and Lutts, S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* and their corresponding callus cultures. Plant Science. 137: 131-142.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teave, T.D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Ben Amor, N., Ben Hamed, K., Debez, A., Grignon, C. and Abdelly, C. (2005). Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. Plant Science. 68:889–899.

Bor, M.F., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritime* L. Plant Science. 164:77–84

Briens, M. and Larher, F. (1982). Osmoregulation in halophytic higher plants: a comparative study of soluble carbohydrates, polyols, betaines and free proline. Plant, Cell and Environmental. 25:32-35.

Brown, C.E. and Pezeshki, S.R. (2007). Threshold for recovery in the marsh halophyte *Spartina alterniflora* grown under the combined effects of salinity and soil drying. Journal Plant Physiology. 164: 274-282.

Chance, B. and Maehly, C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. methods Enzymology. 11: 764- 755.

Da, G.T., Gong, S.F., Ping, B.L., Yan, L.Y., and Sheng, Z.G. (2005). Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize. Scientia Agricultura Sinica. 38: 922-928.

Furtana, G.B., Duman, H. and Tipirdamaz, R. (2013). Seasonal changes of inorganic and organic osmolyte content in three endemic *Limonium* species of Lake Tuz (Turkey). Turkish Journal of Botany. 37: 455-463.

Genard, H., Le Saos, J., Hillard, J., Tremolieres, A., Boucaud, J. (1991). Effect of salinity on lipid composition, glycine betaine content and photosynthetic activity in chloroplasts of Suaeda maritime. Plant Physiology Biochemistry. 29 :421–427.

Gill, R., Lull, C., Boscaiu, M., Bautista, I., Lidon, A. and Vicente, O. (2011). Soluble carbohydrates as osmolytes in several halophytes from a mediterranean salt marsh. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 39(2):09-17.

Hafsi, C., Romero-Puertas, M.C., Gupta, D.K., del Riob, L.A., Sandalio, L.M. and Abdelly, C. (2010). Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium defi ciency. Environmental and Experimental Botany. 69:129–136

Inan, G., Zhang, Q., Li, P., Wang, Z., Cao, Z. and Zhang, H. (2004). Salt stress. A halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its applicability to molecular genetic analysis of growth development of extremophiles. Plant Physiology. 135: 1718-1737.

Jitesh, MN., Prashanth, SR., Sivaprakash, KR. and Parida, AK. (2006). Antioxidative

Journal of Experimental Botany. 56:2421–2431

Mittler, M. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science. 7:405–410

Moghaieb, REA., Saneoka, H. and Fujita, K. (2004). Effect of salinity on osmotic adjustment, glycine betaine accumulation and the betaine aldehyde dehydrogenase gene expression in two halophytic plants, Salicornia europaea and Suaeda maritime. Plant Science. 166:1345–1349.

Morsy, A.A., Youssef, A.M., Mosallam, H.A. and Hashem, A.M. (2008). Assessment of selected species along Alamein-Wadi El Natrun desert road. Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences. 4(10): 1276-84.

Mulholland, M.M. and Otte, M.L. (2002). The effects of nitrogen supply and salinity on DMSP, glycine betaine- and proline concentrations in leaves of *Spartina anglica*. Aquatic Botany. 72:193–200.

Munns, R., Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review Plant Soil. 59:651-681.

Nedjimi, B. and Daoud, Y. (2009). Cadmium accumulation in *Atriplex halimus* subsp. schweinfurthii and its influence on growth, proline, root hydraulic conductivity and nutrient uptake. Flora. 204:316–324.

Parida, A.K., Das, AB. and Mohanty, P. (2004). Investigations on the antioxidative defense responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguirea parvifl* ora: differential, regulations of isoforms of some antioxidant enzymes. Plant Growth Regulator. 42:213–226

Rajaravindran, M. and Natarajan, S. (2012). Effects of salinity stress on growth and antioxidant enzymes of the Halophyte *Sesuvium portulacastrum*. International Journal of Research in Plant Science. 2(1): 23-28.

Ramani, B., Reeck, T., Debez, A., Stelzer, R., Huchzermejer, B., Schmidt, A. and Papenbrock, J. (2006). *Aster tripolium* (L.) and *Sesuvium portulacastrum* L. two halophytes, two strategies to survive in saline habitats. Plant Physiology Biochemistry. 44: 395-408.

Rengasamy, P. (2006). World salinization with emphasis on Australia. Journal of Experimental Botany. 57(5):1017-1023.

Rhodes, D. and Hanson, AD. (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 44: 357–384.

response mechanism in halophytes: their role in stress defence. Journal Genetic. 85:237–25.

Kavitha K., George S., Venkataraman G., and Parida A (2010). A salt-inducible chloroplastic monodehydroascorbate reductase from halophyte *Avicennia marina* confers salt stress tolerance on transgenic Plants. Biochimie. 92: 1321–1329.

Kiyosue, T., Yoshiba, Y., Yamagucji shinozaki, K. and Shinozaki, K. (1996). A nuclear gene encoding mitochonal proline metabolism, is upregulated by proline but down regulated by dehydration in Arabidopsis. The Plant Cell. 8:1323-1335.

Kochert, G. (1978). Carbohydrate derermination by the phenolsulfuric acid method, Handbook of phycological methods, Cambridge Univ. Press, Cambridge, In: J.A. Lebust and J.S. Graig (Eds.), 96-97.

Koroi, S.A. (1989). Gel electrophoresis tissue and spectrophotometrscho unter uchungen zomeinfiuss der temperature auf struktur der amylase and peroxidase isoenzyme. Physiological Review. 20: 15-23.

Levitte, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. 2nd Ed, Academic Press, New York.

Lokhande, V.H., Nikam, T.D., Patade, V.Y., Ahire, M.L. and Suprasanna, P. (2011a). Effects of optimal and supraoptimal salinity stress on antioxidative defence, osmolytes and in vitro growth responses in *Sesuvium portulacastrum* L. Plant Cell Tissue Organic Culture. 104:41–49.

Lokhande, V.H., Nikam, TD., Suprasanna, P. (2010a). Biochemical, physiological and growth changes in response to salinity in callus cultures of *Sesuvium portulacastrum* L. Plant Cell Tissue Organic Culture. 102:17–25.

Lokhande, V.H., Nikam, T.D. and Suprasanna, P. (2010b). Differential osmotic adjustment to iso-osmotic salt and PEG stress *in vitro* in the halophyte *Sesuvium portulacastrum* L. Journal Crop Science Biotechnology. 13:251–256.

Manikandan, T. and Venkatesan, A. (2004). Influence of NaCl on growth, organic constituents and certain antioxidant enzymes of *Aegiceras corniculatum* Blanco. Geobios. 31: 30-33.

Martinez, J.P., Kinet, J.M., Bajji, M. and Lutts, S. (2005). NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L.

Wyn Jones, R.G., Gorham, J. and McDonnell, E. (1984). Organic and inorganic solute contents as selection criteria for salt tolerance in the Triticeae. In: Staples, R., Toennissen, G.H. (Eds.), Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement. Wiley and Sons, New York, pp. 189–203

Yang, W.J., Rich, P.J., Axtell, J.D., Wood, K.V., Bonham, C.C., Ejeta, G., Mickelbart, M.V. and Rhodes, D. (2003). Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. Crop Science. 43:162–169.

Youssef, A.M. (2009). Salt Tolerance Mechanisms in Some Halophytes from Saudi Arabia and Egypt. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 5(5): 623-638.

Zhang, J., Nguyen, H.T. and Blum, A. (1999). Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. Journal of Experimental Botany. 50:291-302.

Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G.C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163:1037-1046.

Silveira, J., Araujo, S., Lima, J. and Viegas, R.A. (2009). Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia.* Environmental and Experimental Botany. 66:1–8.

Sucre, B. and Suarez, N. (2010). Effect of salinity and PEG induced water stress on water status, gas exchange, solute accumulation, and leaf growth in *Ipomoea pescaprae*. Environmental and Experimental Botany. 70:192–203.

Walker, D.J., Romero, P., de Hoyos, A. and Correal, E. (2008). Seasonal changes in cold tolerance, water relations and accumulation of cations and compatible solutes in *Atriplex halimus* L. Environmental and Experimental Botany. 64: 217–224.

Wyn Jones RG & Storey R (1981). Betaines. In: Paleg LC and Aspinall D (eds.) Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants, pp. 171–204. New York: Academic Press.