گیاه و زیست فناوری ایران
Iranian Journal of Plant & Biotechnology (IJPB)

مقاله پژوهشی

مطالعه اثر شوری آب آبیاری بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی ژنوتیپ‌های موتانت پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)

مجید جعفرآقایی (نویسنده مسئول)*

* استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران، majidjafaraghaei@yahoo.com

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۲

Studying the effect of irrigation water salinity on the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system of cotton mutant genotypes

Majid Jafar Aghaee (Corresponding author)*

* Assistant Professor, Horticulture Crop Research Department, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfehan, Iran, majidjafaraghaei@yahoo.com

Received: March 2023 Accepted: October 2023

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی کارایی سیستم‌های آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های موتانت پنبه تحت شرایط شوری آب آبیاری به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل آبیاری با شوری‌های ٤ (شاهد)، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به عنوان کرت‌های اصلی و دو سه ژنوتیپ شایان، موتانت ال-ام-۱۶۷۳ و ال-ام-۱۳۰۳ به عنوان کرت‌های فرعی بودند. نتایج نشان داد شوری میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید را در ارقام پنبه افزایش داد و به دنبال آن میزان آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی نیز افزایش یافت. افزایش تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شاخص کلروفیل را به خصوص در ارقام حساس کاهش داد. همچنین نتایج نشان داد در شرایط آبیاری با آب شور با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بیشترین میزان آنتی اکسیدانت‌های غیرآنزیمی از قبیل پرولین، اسید آسکوربیک، فنل، فلاونوئید و آنتوسیانین حاصل گردید. بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم ال-ام-۱۳۰۳ و در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود. بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر حاصل گردید. بر اساس نتایج مشخص شد رقم ال-ام-۱۳۰۳ بیشترین حساسیت را به تنش شوری داشته و در شرایط شوری آب آبیاری به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید میزان آنتی اکسیدانت‌های غیرآنزیمی و مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی برای غلبه بر تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: آنتی‌اکسیدانت، پرولین، شوری، کاتالاز، کلرفیل

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران
سال ۱۴۰۲، دوره ۱۸، شماره ۳، صص ۴۰-۲۷

Abstract

This study was conducted in order to investigate the efficiency of antioxidant systems of cotton mutant genotypes under irrigation water salinity conditions in the form of split plots based on a randomized complete block design with three replications. The treatments included irrigation with salinities of 4 (control), 8 and 12 $ds.m^{-1}$ as main plots and two or three Shayan genotypes, mutant LM-1673 and LM-1303 as sub-plots. The results showed that salinity increased the amount of hydrogen peroxide and malondialdehyde in cotton cultivars, and then the amount of enzymatic and non-enzymatic antioxidants also increased. The increase in the production of hydrogen peroxide and malondialdehyde in salinity of 12 decisiemens/m decreased the chlorophyll index, especially in sensitive cultivars. Also, the results showed that the highest amount of non-enzymatic antioxidants such as proline, ascorbic acid, phenol, flavonoid and anthocyanin was obtained in the irrigation conditions with salt water with a salinity of 12 $ds.m^{-1}$. The highest level of catalase enzyme activity was in LM-1303 cultivar and at the salinity level of 12 $ds.m^{-1}$. The highest level of activity of superoxide dismutase and glutathione reductase enzymes was obtained in the salinity treatment of 8 $ds.m^{-1}$. Based on the results, it was found that the variety LM-1303 has the most sensitivity to salinity stress, and in irrigation water salinity, due to the increase in lipid peroxidation caused by the production of hydrogen peroxide and malondialdehyde, the amount of non-enzymatic antioxidants and the amount of activity of enzymatic antioxidants for overcoming oxidative stress increases.

Keywords: Antioxidant, Catalase, Chlorophyll, Proline, Salinity

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
autumn2023, Vol 18, No 3, Pp 27-40

مقدمه و کلیات

شوری یکی از عوامل تنش‌زای محیطی است که نه تنها رشد و نمو گیاهان را تهدید می‌کند بلکه محدوده توزیع و پراکندگی گیاهان را در اکوسیستم‌های مختلف تعیین می‌نماید (Ismail and Horie, 2017). در حال حاضر نیمی از اراضی قابل کشت ایران (۹/۵ میلیون هکتار) متاثر از شوری است که اثر عمده‌ای در کاهش سطح زیر کشت و عملکرد محصولات زراعی دارند (Nabiollahi *et al*., 2017). تنش اکسیداتیو به عنوان تنش ثانویه ناشی از تنش‌های محیطی از قبیل شوری یک پدیده فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده است که حاصل تولید بیش از اندازه و تجمع انواع فعال اکسیژن می‌باشد و در گیاهان عالی، تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی رخ می‌دهد (Ismail and Horie, 2017). افزایش پراکسیداسیون لیپید کاهش سیالیت غشا، افزایش نشت مواد از غشا، آسیب به پروتئین‌های غشا و در نهایت غیرفعال شدن گیرنده‌ها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی می‌باشد (Gill and Tuteja, 2010). شوری با افزایش میزان گونه های فعال اکسیژن محتوای رنگیزه‌های گیاهی را نیز کاهش داده و در نتیجه میزان فتوسنتز و تولید در گیاه را کاهش می دهد (Sarani *et al*., 2012). Roshani و Mirghasemi (2014) نیز با مطالعه واکنش ۱۲ ژنوتیپ مختلف پنبه گزارش نمودند که پاسخ این ژنوتیپ‌ها به تنش شوری متفاوت بوده به طوری که از نظر میزان کلروفیل برگ نیز دارای اختلاف بودند و همچنین آنها بیان نمودند که رقم گلستان دارای بالاترین میزان کلروفیل نسبت به سایر ارقام بود. گیاه برای جبران خسارات ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی برخوردار بوده که پالایش این گونه‌های فعال اکسیژن را بر عهده دارند. سامانه آنتی‌اکسیدانی گیاهان شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی از قبیل پرولین، آسکوربیک اسید، آلفا توکوفرول، آنتوسیانین، فنول و فلاونوئید و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز هستند که وظیفه پالایش گونه‌های فعال اکسیژن را در شرایط مختلف بر عهده دارند (Moller *et al*., 2017). در اثر وقوع تنش در گیاهان تولید برخی متابولیت‌های با وزن مولکولی کم که نقش اسمولیتی حفاظتی بر عهده دارند از قبیل پرولین افزایش می‌یابد (Hoekstra *et al*., 2018). به عقیده‌ی Oliveira و همکاران (2012) آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی سبب کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند. گیاهان با سطح بالای آنتی‌اکسیدان‌ها دارای مقاومت بالایی به آسیب اکسیداتیو می‌باشند (Kibria *et al*., 2017). هدف از اجرای این مطالعه بررسی سامانه‌های آنزیمی و غیرآنزیمی دفاع آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های پنبه تحت شرایط آبیاری با آب شور می‌باشد.

فرآیند پژوهش

تحقیق حاضر به منظور بررسی خصوصیات آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های موتانت پنبه از قبیل سیتم‌های آنتی اکسیدانی آنزییمی و غیرآنزیمی تحت شرایط آبیاری با آب شور در ایستگاه تحقیقات شوری و اصلاح اراضی رودشت در مرکز تحقیقات کشاورزی

و منابع طبیعی استان اصفهان صورت گرفت. این آزمایش در قالب کرت های خرد شده و بر پایه‌ی طرح بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آب آبیاری با شوری‌های ٤ (شاهد)، ٨ و ١٢ دسی زیمنس بر متر به عنوان کرت‌های اصلی و سه ژنوتیپ موتانت (ال-ام-١٦٧٣، ال ام-١٣٠٣) و شایان (شاهد) به عنوان کرت‌های فرعی در نظر گرفته شدند. نمونه برداری در زمان ابتدای غوزه‌دهی، انجام و ویژگی‌ها بیوشیمیایی مربوطه اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید به روش Du و Bramlage (1992) همراه با تغیراتی انجام شد. در این روش میزان پراکسیداسیون لیپید براساس مقدار مالون دی آلدهید (MDA) موجود در هر عصاره طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$LP=[[(A_{532}-A_{600})-[(A_{440}-A_{600})(MA)]]/157000] * 10^6$$

LP مقدار مالون دی‌آلدئید بر حسب نانومول بر میلی لیتر و MA نسبت جذب مولی ساکارز در غلظت‌های ١٠-١ میلی‌مولار در ٥٣٢ و ٤٤٠ نانومتر است که به‌ترتیب ٨/٤ و١٤٧ محاسبه شد که نسبتی معادل ٠/٠٥٧١ می‌باشد. برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن از هر نمونه ٠/٣ گرم با ١/٥ میلی لیتر تری‌کلرواستیک اسید ٠/١ درصد در هاون چینی هموژنیزه و به مدت ١٥ دقیقه در ١٥٠٠٠ دور در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ و سپس از طول موج ٣٩٠ نانومتر استفاده گردید (Ghiazdowska *et al.*, 2010). برای اندازه‌گیری پرولین ٠/٥ گرم از نمونه با ١٠ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ٣/٣ درصد به مدت ١٥ دقیقه در ١٢٠٠٠ دور سانتریفیوژ و اندازه گیری در طول موج ٥٢٠ نانومتر صورت گرفت (Bates *et al.*, 1973). برای اندازه‌گیری اسیدآسکوربیک ٠/٢ گرم نمونه با ٢ میلی لیتر اسیدپرکلریک ٠/٥ میلی مولار مخلوط پس از سانتریفیوژ جذب نوری نمونه ها در طول موج ٧٣٥ نانومتر قرائت شد (Zhang *et al.*, 2010). برای سنجش فنل و فلاونوئیدها هر کدام از عصاره‌های متانولی با ١/٥ میلی لیتر متانول، ٠/١میلی لیتر کلرید آلومینیوم، ٠/١میلی لیتر استات پتاسیم و ٢/٨ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و جذب هر ترکیب واکنشی در طول موج ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتراندازه گیری شد (Chang *et al.*, 2002). برای ارزیابی پروتئین محلول به کمک سرم آلبومن گاوی، مقدار ٢٠ میکرو لیتر عصاره هر نمونه با سه میلی‌لیتر معرف برادفورد مخلوط و سپس میزان جذب نور در طول موج ٥٩٥ نانومتر قرائت گردید (Bradford, 1976). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز یک گرم نمونه با ٣ میلی لیتر بافر استخراج مخلوط و پس سانتریفیوژ جذب در طول موج ٢٤٠ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه گیری و از یک دقیقه اول آن با ضریب خاموشی ٠/٠٣٩٤ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر برای محاسبه فعالیت کاتالاز استفاده گردید (Chance and Maehly, 1955). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ٢ گرم نمونه با ٤ میلی لیتر بافر استخراج مخلوط و پس از سانتریفیوژ جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر به مدت ٤ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول آن با ضریب خاموشی ٢/٤٧ بر میلی‌مول بر سانتی‌متر برای محاسبه فعالیت پراکسیداز استفاده گردید (Chance and Maehly, 1955).

واکنش سنجش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز روی نمونه حاوی ۱۰۰ میلی مول فسفات پتاسیم، ۱ میلی مول EDTA و ۰/۲ پلی وینیل فسفات، ۲ میلی‌مول EDTA ، یک و نیم میلی مول کلرور منیزیم، ۰/۵ میلی‌مول اکسید گلوتاتیون، ۵۰ میکرو مول NADH بود که جذب در ۳٤۰ نانومتر قرائت گردید (Sgherri *et al.*, 1994). آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای آماری SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش مشخص شد که اثر تیمار شوری آب آبیاری بر صفات اندازه‌گیری شده از قبیل شاخص کلروفیل SPAD، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، محتوای پرولین، اسید آسکوربیک، فنول، فلاونوئید، آنتوسیانین، پروتئین محلول و فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز معنی‌دار گردید. این در حالی بود که اثر تیمار ژنوتیپ بر صفات شاخص کلروفیل SPAD، پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدئید، اسید آسکوربیک، فنول و فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز اثر معنی‌دار داشت. همچنین نتایج نشان داد اثر متقابل شوری آب آبیاری و ژنوتیپ بر صفات شاخص کلروفیل SPAD، مالون دی آلدئید، اسید آسکوربیک و فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد، ولی بر سایر صفات اثر معنی‌داری نداشت. پراکسید هیدروژن با افزایش میزان شوری آب آبیاری افزایش یافت و نتایج نشان داد در شوری ٤، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر میزان پراکسید هیدروژن به ترتیب برابر با ۱۵۷، ۲۷۱ و ۳۱۳ نانومول بر گرم بود. همچنین با توجه به اختلاف بین ژنوتیپها، نتایج شنان داد بیشترین و کمترین میزان پراکسید هیدروژن به ترتیب به میزان ۳٦۳/۲۲ و ۲۳۰/۸۸ نانومول بر گرم در رقم شایان و ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ حاصل گردید (جدول ۱). پراکسید هیدروژن یکی از گونه‌های فعال اکسیژن بوده که در شرایط تنشی از قبیل شوری تولید آن افزایش می‌یابد و در این مطالعه مشاهده شد که میزان آن با افزایش شوری آب آبیاری افزایش یافته و ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ نیز به دلیل حساسیت بیشتر به شوری آب آبیاری میزان بیشتری از پراکسید هیدروژن را تولید نمود. ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ میزان پراکسید هیدروژن بیشتری تولید نمود که بیانگر حساسیت بیشتر این ژنوتیپ به شرایط تنش شوری بوده و همچنین افزایش میزان شوری از ٤ تا ۱۲ دسی زیمنس بر متر سبب شد که میزان تولید پراکسید هیدروژن حدود ۵۰ درصد افزایش یابد که رقم قابل توجهی در شرایط افزایش شوری آب آبیاری بود که منجر به خسارات اکسیداتیو بعدی و افزایش پراکسیداسیون لیپید می‌گردد. محتوای مالون دی آلدئید در ژنوتیپ‌های مختلف پنبه و در سطوح مختلف شوری با هم متفاوت بود به طوری که افزایش میزان شوری آب آبیاری منجر به افزایش میزان مالون دی آلدئید شد و در هر سطح از تیمار شوری نیز بیشترین میزان مالون دی آلدئید در رقم شایان حاصل گردید. براساس این نتایج مشخص شد که بالاترین میزان مالون دی آلدئید به مقدار ۹۵/۳۳ نانومول بر گرم در رقم شایان و در سطح شوری ۱۲

دسی زیمنس بر متر حاصل گردید و این تیمار با سایر تیمارهای آزمایش دارای اختلاف معنی دار بود. در سطوح مختلف شوری نیز کمترین میزان مالون دی آلدئید متعلق به ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ بود و در بین همه تیمارها کمترین میزان مالون دی آلدئید به مقدار ۲۳/۳۳ نانومول بر گرم متعلق به رقم ال ام ۱۳۰۳ و شوری ٤ دسی زیمنس بر متر بود (شکل ۱). افزایش میزان تولید مالون دی آلدئید ناشی از افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن بوده که میتواند ناشی از ضعف سامانه آنتی‌اکسیدانت باشد (Bailly, 2004). خسارت به غشا در شرایط شوری ناشی از رادیکالهای اکسیژن فعال تولیدشده است که بر لیپیدهای موجود در غشای سلول و اندامک‌های درونسلولی تأثیر گذاشته و موجب اختلال در کارکرد و ساختار غشاهای سلولی شده و در نتیجه آن میزان مالون دی آلدئید نیز افزایش می‌یابد (Zhu *et al.*, 2011). بر طبق این نتایج مشخص شد که میزان تولید مالون دی آلدئید در شرایط شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به سوری ٤ دسی زیمنس بر متر در رقم شایان، ال ام ۱۳۰۳ و ال ام ۱٦۷۳ به ترتیب ٦۰، ۵۵ و ٦۰ درصد افزایش یافت که بیانگر اهمیت و اثر تنش شوری در افزایش تولید مالون دی آلدئید و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلولی می باشد. افزایش میزان تولید پراکسید هیدروژن در شرایط شوری بیشتر آب آبیاری نیز گویای این واقعیت می‌باشد.

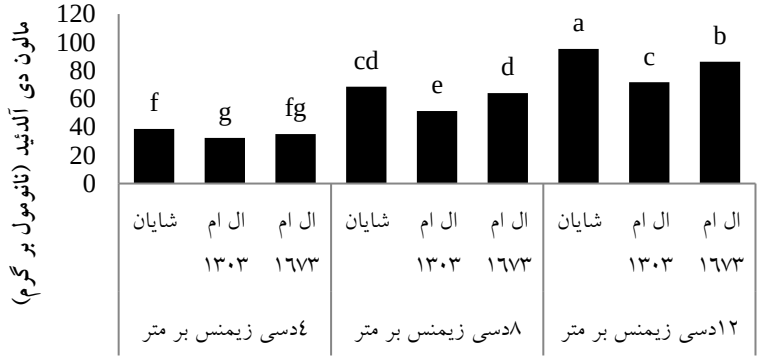
جدول ۱- مقایسات میانگین خصوصیات آنتی اکسیدانی ژنوتیپ‌های موتانت پنبه تحت شرایط آبیاری با آب شور

Table 4- Mean comparison for antioxidant traits of cotton genotypes under irrigation with saline water

تیمارها	کلروفیل (SPAD)	پراکسید هیدروژن (نانومول بر گرم)	مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم)	آسکوربیک اسید (میلی‌گرم بر گرم)	فنل (میلی‌گرم بر گرم)	فلاونوئید (میلی‌گرم بر گرم)	آنتوسیانین (میکرومول بر گرم)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم)	کاتالاز (نانومول بر گرم در دقیقه)	پراکسیداز (میکرومول بر گرم در دقیقه)	سوپراکسید دیسموتاز (میکرومول بر گرم در دقیقه)	گلوتاتیون ریداکتاز(میکرومول بر گرم در دقیقه)
شوری($dS.m^{-1}$)													
٤	۵٦^{a}	۱۵۷^{c}	۳۵/۳۳^{c}	٤۹/۵^{b}	٤^{b}	٤۸/۱۱^{c}	۱/۳٦^{c}	۳۰۱^{b}	۳/۷^{b}	۷۰۰^{c}	۳۹^{a}	۰/٦۱^{b}	۰/۳۵^{c}
۸	٤۷/۵۵^{b}	۲۷۱^{b}	٦۱/۳۳^{b}	۵۵/۲^{b}	٤/۷۷^{b}	۵۹/۲۲^{b}	۲/٤۲^{b}	۳۲۸^{b}	۵^{b}	۲۰۱۳^{b}	۳۱^{b}	۱/۷۵^{a}	۱/٦۱^{a}
۱۲	٤۱^{c}	۳۱۳^{a}	۸٤/٤٤^{a}	۸۹/٤^{a}	۸/۳۸^{a}	۷٦/۱۱^{a}	۳/۵۷^{a}	۳۹٦^{a}	۷^{a}	۳٤۵۹^{a}	٤۳^{a}	۰/۷۳^{b}	۰/۸٤^{b}
ژنوتیپ													
ال ام ۱٦۷۳	٤۸/٤٤^{b}	۲٤۷/۷۷^{b}	٦۱/۷۷^{b}	٦۵^{a}	۵/٤۸^{b}	٦۲/٦٦^{a}	۲/٤۷^{a}	۳۳۰^{a}	۵/۵^{a}	۲۰۹۳^{a}	۳۷/۵^{ab}	۱/۰۲^{b}	۰/۹۲^{b}
ال ام ۱۳۰۳	۵۱/۳۳^{a}	۲۳۰/۸۸^{c}	۵۱/۷۷^{c}	٦۵^{a}	٦/٤۱^{a}	٦۳/۳۳^{a}	۲/۵۸^{a}	۳٤۸^{a}	۵/۳^{a}	۲۱۷٤^{a}	٤۳^{a}	۱/۱^{a}	۱/۰۲^{a}
شایان	٤٤/۷۷^{c}	۲٦۳/۲۲^{a}	٦۷/۵۵^{a}	٦۳^{a}	۵/۲۵^{b}	۵۷/٤٤^{b}	۲/۳^{a}	۳٤۷^{a}	٤/۸^{a}	۱۹۰٦^{b}	۳۳/۸^{b}	۰/۹٦^{b}	۰/۸۷^{b}

مقادیر فاقد حرف مشترک، دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج‌درصد می‌باشند.

Means with at least one same letters had no significant difference in 5% level.

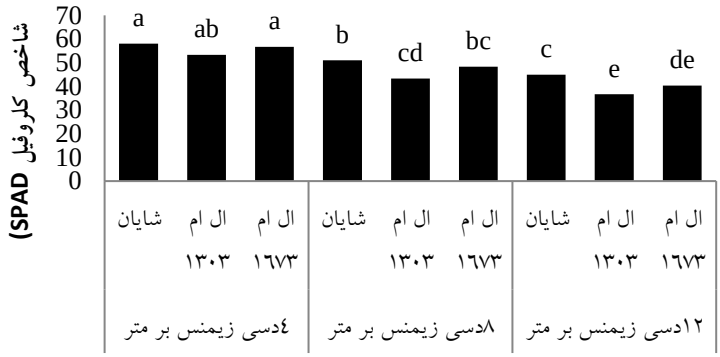


شکل ۱- اثرآبیاری با آب شور بر میزان مالون دی آلدئید ژنوتیپ‌های موتانت پنبه (در هر ستون، مقادیر فاقد یک حرف مشترک، دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج‌درصد می‌باشند)

(In each column means Fig 1- Effect of irrigation with saline water on MDA of mutant cotton genotypes with at least one same letter had no significant difference in 5%)

شاخص کلروفیل تحت تأثیر متقابل شوری آب آبیاری و ژنوتیپ قرار گرفت و نتایج نشان داد در هر سه ژنوتیپ، افزایش شوری آب آبیاری منجر به کاهش شاخص کلروفیل گردید و در سطح شوری ٤ دسی زیمنس بر متر بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. این در حالی بود که در دو سطح شوری ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بین ژنوتیپ‌ها اختلاف وجود داشت و در هر سه سطح از شوری آب آبیاری ژنوتیپهای شایان و ال او ۱۳۰۳ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان شاخص کلروفیل بودند. کمترین میزان شاخص کلروفیل به مقدار ۳۷/٦٦ در ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ و در سطح شوری آب ۱۲ دسی زیمنس بر متر حاصل گردید (شکل ۲). در این مطالعه شوری منجر به کاهش میزان شاخص کلروفیل گردید و مشاهده شد که شاخص کلروفیل در سطوح مختلف شوری در رقم ال ام ۱۳۰۳ کمتر از سایر ژنوتیپها بود که نشانه حساسیت بیشتر این رقم به شرایط شوری آب آبیاری می باشد. سعیدزاده و همکاران (۱۳۹٦) نیز بیان داشتند که ارقام حساس در شرایط شوری مقدار کلروفیل کمتری نسبت به ارقام متحمل داشتند که تأیید کننده نتایج حاصل از این مطالعه بود. کاهش شاخص کلروفیل برگ در شرایط تنش شوری توسط برخی دیگر از محققین نیز گزارش شده است (Rachoski *et al*., 2015). کاهش شاخص کلروفیل تحت تنش شوری ممکن است به علت اختلال در غشای تیلاکوئیدها، تخریب مولکول های کلروفیل در اثر فعالیت آنزیم کلروفیلاز و عدم ثبات کمپلکس پروتئین-رنگدانه و در نتیجه تخریب کلروپلاست ها در اثر افزایش غلظت یون های سمی سدیم، کلر و افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال ناشی از باشد (Hosseini *et al*., 2012). رنگیزه‌های فتوسنتزی یک سری مولکول زیستی هستند که در فرآیند فتوسنتز نقش دارند و میزان آنها در گیاهان زنده به عنوان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است و تنش شوری باعث کاهش میزان این مولکولها در سلولهای گیاهی می‌شود. در مطالعه نورمحمدی و همکاران (۱٤۰۰) نیز کاهش میزان کلروفیل برگ گیاه

استویا در اثر افزایش میزان شوری معنی‌دار بود که تأیید کننده نتایج حاصل از این مطالعه بود. این محققین در بیان دلیل این امر عنوان داشتند که دلیل اصلی کاهش میزان کلروفیل در شرایط شوری افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز می باشد.

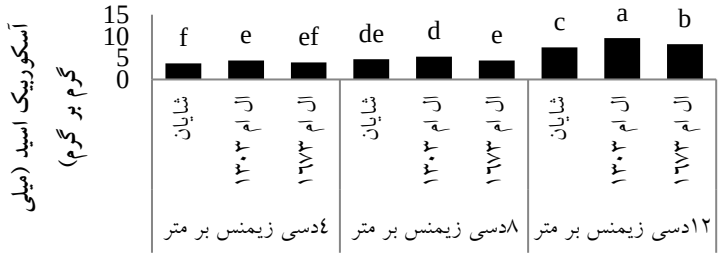


شکل ۲- اثرآبیاری با آب شور بر شاخص کلروفیل ژنوتیپ‌های موتانت پنبه (در هر ستون، مقادیر فاقد حرف مشترک، دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج‌درصد می‌باشند)

Fig 2- Effect of irrigation with saline water on SPAD of mutant cotton genotypes (In each column means with at least one same letter had no significant difference in 5%)

در شرایط آبیاری با آب شور با شوری ۱۲ د سی زی منس بر م تر بی شترین م یزان پرولین به م یزان ۸۹ می لی گرم بر گرم حا صل شد و با کاهش شدت شوری آب آبیاری م یزان تول ید پرولین ن یز کاهش یا فت به طوری که در شرایط آبیاری با آب با شوری ٤ د سی زی منس بر م تر ا ین م یزان به ٤۹ می لی گرم بر گرم (حدود ۵۰ در صد) کاهش یا فت (جدول ۱). ن تایج بر خی دی گر از مطال عات ن یز ب یانگر ا فزایش م یزان تول ید پرولین در شرایط تنش شوری می با شد (دیا نت م هارلویی و پو ستینی، ۱۳۹۷)، که با یاف ته های حا صل از ا ین مطال عه مطاب قت دا شت. تول ید پرولین من جر به تن ظیم ا سمزی در گ یاه شده و تن ظیم ا سمزی به ع نوان یک سازگاری م هم اجت ناب از تن شهای ا سمزی می با شد، ز یرا به حفظ فشار تورمی و ح جم سلول ک مک می‌ک ند (رهن مون و هم کاران، ۱۳۹۲). در ا ین مطال عه افزایش م یزان پرولین در شرایط شوری ۱۲ د سی زیمنس بر م تر ن سبت به شوری ٤ د سی زی منس بر م تر ح دود ٤۵ در صد بود که ر قم قا بل توجهی بوده و ب یانگر ا فزایش م یزان ا ین آن تی اک سیدانت غیرآنزی می در شرایط ای جاد ا سترس اک سیداتیو به ع نوان ا سترس ثانو یه در گ یاه در شرایط شوری آب آبی اری می با شد. م یزان پرولین گیا هان در سطوح مخت لف تنش شوری ب طور مع نی‌دار ا فزایش یا فت. نورمح مدی و هم کاران (۱٤۰۰) ن یز در مطال عه خود ع نوان داشتند که افزایش م یزان شوری من جر به ا فزایش م یزان پرولین در گ یاه ا ستویا گرد ید. آ سکوربیک ا سید ن یز از صفاتی بود که ت حت تأثیر متقا بل شوری و ژنوت یپ قرار گر فت و ا فزایش م یزان شوری آب آبی اری من جر به ا فزایش م یزان تول ید آن گردید و در هر سه سطح شوری ن یز ر قم ال ام ۱۳۰۳ دارای بالاترین م یزان آ سکوربیک ا سید

بود. ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ و در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس دارای بالاترین میزان آسکوربیک اسید به مقدار ۹/۵۸ میلی گرم بر گرم بود، در حالی که رقم شایان و در سطح شوری ٤ دسی زیمنس بر متر دارای کمترین میزان آسکوربیک اسید به مقدار ۳/۷ میلی گرم بر گرم بود (شکل ۳). در مطالعه حاضر مشخص شد که در سطوح مختلف شوری میزان اسید آسکوربیک در ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ بالات از دو ژنوتیپ دیگر پنبه بود و افزایش میزان شوری نیز منجر به افزایش سطح آسکوربیک اسید شد به طوری که در این رقم میزان اسید آسکوربیک در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر حدود ۵۵ درصد بالاتر از میزان آن در سطح شوری ٤ دسی زمین بر متر بود. آسکوربیک اسید از عاود آنتی اکسیدانی نابودگر گونه های فعال اکسیژن بوده که موجب پالایش یون سوپراکسید شده و از ایجاد پراکسید هیدروژن درون سلولی جلوگیری می نماید و منجر به کاهش خسارت به اسیدهای چرب و پروتئین ها می گردد (Ismail and Horie, 2017). به هر حال افزایش میزان آسکوربیک اسید به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی در پالایش گونه های فعال اکسیژن در شرایط تنش شوری در رقم شایان کمتر از دو ژنوتیپ دیگر بوده و مقدار کاهش آن نسبت به ژنوتی ال ام ۱۳۰۳ حدود ۵ درصد بود، که می‌توانند به دلیل حساسیت کمتر این رقم به شرایط شوری باشد.



شکل ۳- اثرآبیاری با آب شور بر میزان آسکوربیک اسید ژنوتیپ‌های موتانت پنبه (در هر ستون، مقادیر فاقد حرف مشترک، دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج‌درصد می‌باشند)

(In each column Fig 3- Effect of irrigation with saline water on ascorbic acid of mutant cotton genotypes means with at least one same letter had no significant difference in 5%)

براساس نتایج مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش مشخص شد که افزایش میزان شوری آب آبیاری منجر به افزایش میزان فنول گردید و در تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بالاترین میزان فنول به مقدار ۷٦/۱۱ میلی گرم بر گرم حاصل گردید حال آنکه کمترین میزان فنول به مقدار ٤۸/۱۱ میلی گرم بر گرم در تیمار شوری ٤ دسی زیمنس بر متر به دست آمد. میزان فنول در ژنوتیپ های مختلف پنبه نیز با هم متفاوت بود به طوری که بیشترین میزان فنول به مقدار ٦۳/۳۳ و کمترین آن به میزان ۵۷/٤٤ میلی گرم

بر گرم به ترتیب متعلق به ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ و رقم شایان بود (جدول ۱). شوری آب آبیاری میزان فنول را در ژنوتیپهای مختلف پنبه ا فزایش داد. فنولها از اجزای مهم محافظ سلولهای گیاهی هستند و ساختار شیمیایی مناسبی برای حذف رادیکالهای آزاد فعال دارند. این ترکیبات فعالیت آنتی‌اکسیدانی مؤثرتری از آسکوربات و توکوفرول دارند که ناشی از فعالیت بالای هیدروژن یا الکترون دهندگی آنها می‌باشد (Jovanka *et al*., 2013). نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر اثر مثبت شوری آب آبیاری بر میزان فلاونوئید پنبه بود و نتایج نشان داد میزان فلاونوئید در تیمارهای شوری ٤، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر به ترتیب برابر با ۱/۳٦، ۲/٤۲ و ۳/۵۷ میلی گرم بر گرم بود و اختلاف بین هر سه سطح از شوری با هم معنی‌دار بود (جدول ۱). فلاونوئید به عنوان کی از متابولیتهای ثانویه و یک ترکیب آنتی اکسیدانت در شرایط شوری آب آبیاری افزایش یافته و این به پالایش گونه های فعال اکسیژن و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی کمک می نماید. گیاه پنبه به عنوان یک واکنش دفاعی مناسب نسبت به افزایش شوری آب آبیاری، مقدار فلاونوئید بیشتری را نسبت به شرایط آبیاری با آب دارای شوری کمتر تولید می‌کند. بیشترین میزان آنتوسیانین در تیمار آب (۱۲ دسی زیمنس بر متر) به میزان ۳۹٦ میکرومول بر گرم اندازه‌گیری شد و نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت. گیاهان تحت تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر دارای غلظت آنتوسیانین به میزان ۳۲۸ میکرومول بر گرم بودند و گیاهان تحت تیمار شوری ٤ دسی زیمنس بر متر نیز دارای کمترین میزان آنتوسیانین به میزان ۳۰۱ میکرومول برگرم بودند (جدول ۱). در شرایط شوری شدید میزان رنگیزه آنتوسیانینی افزایش یافته که در واقع یک واکنش به شرایط اکسیداتیو ایجاد شده در شرایط شوری بوده و سبب محافظت از سلول‌های ژنوتیپ‌های پرتوتابی شده و ژنوتیپ شایان در برابر آسیب اکسیداتیو می‌گردد. نتایج نشان داد میزان پروتئین محلول نیز با افزایش شدت شوری افزایش یافت و بیشترین میزان پروتئین محلول به میزان ۷ میلی‌گرم بر گرم در شرایط آبیاری با آب ۱۲ دسی زیمنس بر متر و کمترین میزان پروتئین محلول در شرایط آبیاری با آب ٤ دسی زیمنس بر متر به دست آمد که مقدار آن ۵۰ درصد تولید پروتئین محلول در شرایط شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود. همچنین تولید پروتئین محلول در شرایط آبیاری با آب دارای شوری ۸ دسی زیمنس بر متر حدود ۵ میلی‌گرم بر گرم بود که حالتی بینابین دو تیمار دارای شوری ٤ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر داشت (جدول ۱). پنبه از گیاهان متحمل به شوری بوده که با افزایش شدت شوری می‌توان انتظار افزایش پروتئین محلول را در این گیاه داشت. در این تحقیق نیز مشاهده شد که با افزایش شدت شوری میزان پروتئین محلول در هر سه ژنوتیپ پنبه افزایش یافته ولی بین هر سه ژنوتیپ از این نظر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش میزان شوری آب آبیاری افزایش یافت و در دو سطح شوری ٤ و ۸ دسی زیمنس بر متر بین ژنوتیپ‌های مختلف پنبه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بین ژنوتیپ‌ها

اختلاف وجود داشت. هر چند در هر سه سطح از تیمار شوری آب آبیاری رقم شایان دارای کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بود، بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به مقدار ۳۷۱۹ نانومول بر گرم در دقیقه متعلق به رقم ال ام ۱۳۰۳ و در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود (شکل ٤). هر چند ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ در هر سه سطح از شوری رقم برتر بود ولی نتایج نشان داد در همه ژنوتیپ‌های پنبه افزایش شوری منجر به افزایش میان فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپید و تولید بیشتر پراکسید هیدروژن میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش یافته است زیرا وظیفه اصلی این آنزیم تجزیه پراکسید هیدروژن می‌باشد که در شرایط شوری افزایش بیشتری یافته است (Kibria *et al.*, 2017). افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط شوری در مطالعه نورمحمدی و همکاران (۱٤۰۰) نیز گزارش شده که تأیید کننده نتایج حل از این مطالعه بود. در این مطالعه در شرایط شوری شدیدی فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ بیشتر از دو ژنوتیپ دیگر بود که این ممکن است به دلیل حساسیت بیشتر این رقم به شرایط شوری آب آبیاری باشد.

شکل ٤- اثرآبیاری با آب شور بر میزان میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های موتانت پنبه (در هر ستون، مقادیر فاقد یک حرف مشترک، دارای تفاوت معنی‌دار آماری در سطح پنج‌درصد می‌باشند)

Fig 4- Effect of irrigation with saline water on catalase activity of mutant cotton genotypes (In each column means with at least one same letter had no significant difference in 5%)

تاثیر تیمار شوری بر میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز از نظر آماری در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانتی پروکسیداز در شرایط آبیاری با آب دارای شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر نسبت به تیمارهای آبیاری با آب دارای غلظت نمک ٤ و ۸ دسی زیمنس بر متر بیشتر بود (جدول ۱). در بین ژنوتیپ‌ها نیز فعالیت این آنزیم در دو ژنوتیپ ال ام ۱٦۷۳ و ال ام ۱۳۰۳بیشترین میزان بوده و بین این دو ژنوتیپ از نظر فعالیت این آنزیم اختلاف معنی‌داری مشاهده

نشد. افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان یکی از آنزیمهای آنتی اکسیدانی جهت مقابله با گونه ها فعال اکسیژن در برخی دیگر از مطالعات گزارش شده است (نورمحمدی و همکاران، ۱٤۰۰). افزایش میزان فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانت در شرایط تنش شوری و خشکی به دلیل افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن بوده که بر این سیستم اثر گذاشته و منجر به افزایش تولید آنها می گردد (Arnao and Hernandez-Ruiz, 2014). افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به منظور افزایش پالایش گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل پراکسید هیدروژن انجام می‌گردد به طوری که در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپهای پنبه در تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر حدود ۱۰ درصد افزایش یافته است که با افزایش میزان تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید تحت این شرایط هماهنگی دارد. علاوه بر این در هر سه شرایط شوری آب آبیاری بین سه ژنوتیپ مورد مطالعه از نظر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تفاوت وجود داشت. کمترین میزان فعالیت آنزیم پروکسیداز نیز در ژنوتیپ شایان مشاهده گردید. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش میزان شوری آب آبیاری تا ۸ دسی زیمنس بر متر افزایش یافته و از آن به بعد در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به میزان ۱/۷۵ میکرومول بر گرم در دقیقه متعلق به تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر بود. همچنین نتایج نشان داد در بین ژنوتیپ‌های پنبه بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به میزان ۱/۱ میکرومول بر گرم در دقیقه متعلق به ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ بود و بین دو ژنوتیپ ال ام ۱٦۷۳ (۱/۰۲ میکرومول بر گرم در دقیقه) و شایان (۰/۹٦ میکرومول بر گرم در دقیقه) اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد (جدول ۱). در این مطالعه مشخص شد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تا شوری ۸ دسی زیمنس بر متر افزایش یافته و پس از آن کاهش یافته است و علت کاهش فعالیت آن در شرایط شوری ۱۲ دسی زیمنس به دلیل افزایش بیش از حد تولید گونه های فعالی اکسیژن از قبل رادیکال سوپر اکسید بوده که منجر به غلبه بر فعالیت این آنزیم و افت فعالیت آنزیم شده است. نتایج مشابهی توسط سعیدزاده و همکاران (۱۳۹٦) در گیاه برنج گزارش شده است. افزایش میزان فعالیت آنزیم آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شرایط شوری منجر به افزایش سمیت‌زدایی یون سوپراکسید و کاهش آسیب اکسیداتیو به سلول از طریق تبدیل یون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌گردد (Jovanka *et al*., 2013). افزایش بیشتر سطح شوری تا ۱۲ دسی زیمنس بر متر منجر به کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد. کاهش میزان فعالیت این آنزیم در شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر می‌تواند ناشی از ایجاد رادیکالهای آزاد اکسیژن در شرایط تنش شوری و حمله آنها به آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و ایجاد آسیبهای اکسیداتیو باشد. در این مطالعه به نظر می رسد رقم ال ام ۱۳۰۳ که دارای فعالیت سوپراکسیددیسموتاز بیشتری بود دارای حساسیت بیشتری نسبت به تنش شوری بود. در مطالعه

سعیدزاده و همکاران (۱۳۹٦) نیز مشخص شد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در ارقام حساس به تنش شوری به دست آمد که تأیید کننده نتایج حاصل از این مطالعه بود. در مطالعه کائور و همکاران (۲۰۱٦) نیز فعالیت این آنزیمها در برگهای ارقام حساس به شوری افزایش یافت، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. روند تغییرات میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز نیز مشابه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود و بیشترین میزان فعالیت آن به مقدار ۱/٦۱ میکرومول بر گرم در دقیقه در تیمار شوری ۸ دسی زیمنس بر متر حاصل شد و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به مقدار ۰/۳۵ میکرومول بر گرم در دقیقه متعلق به تیممار شوری ٤ دسی زیمنس بر متر بود. همچنین نتایج نشان داد بالاترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز به ترتیب به مقادیر ۱/۰۲ و ۰/۸۷ میکرومول بر گرم در دقیقه در ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ و رقم شایان به دست آمد (جدول ۱). افزایش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز همانند آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بود و در شوری ۸ دسی زیمنس بر متر بالاترین میزان فعالیت را داشت. حساسیت بیشتر ژنوتیپ ال ام ۱۳۰۳ به شوری هم منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز در این ژنوتیپ شده است. Mishra و همکاران (2013) ضمن به دست آوردن نتایج مشابه گزارش کردند که ارقام متحمل‌تر به شوری فعالیت آنزیم کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز کمتری نشان دادند. در این مطالعه نیز این وضعیت در رقم شایان مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری کلی

در شرایط شوری آب آبیاری به دلیل القای تنش اکسیداتیو میزان گونه های فعال اکسیژن از قبیل پراکسید هیدروژن افزایش یافته و خسارت به غشای سلولی بیشتر می گردد. بر اساس نتایج این مطالعه مشخص شد که شرایط تنش شوری منجر به افزایش تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید در ژنوتیپهای موتانت پنبه شده و میزان پراکسیداسیون لیپید نیز افزایش یافته است. به دنبال آن میزان سیستمهای آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی فعالیت بیشتری پیدا میکنند.براساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد رقم ال ام ۱۳۰۳ بیشترین حساسیت را به تنش شوری داشته و در شرایط شوری آب آبیاری به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تولید پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید میزان پرولین، فنول، فلاونوئید، اسید آسکوربیک و آنتوسیانین افزایش یافته و همچنین و مقدار فعالیت آنزیمهای کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلئوتاتیون ردوکتاز نیز برای غلبه بر تنش اکسیداتیو افزایش می یابد.

منابع

۱) سعیدزاده، ف.، تقی زاده، ر و. ا ف، قربان. ۱۳۹٦. بررسی اثر شوری بر صفات زراعی و بیوشیمیایی ارقام مختلف برنج تحت شرایط مزرعه. فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی- دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز، ۹(۳٦): ۱۰۱-۱۲۲.

۲) دیانت مهارلویی، ز و. ک، پوستینی. ۱۳۹۷. بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی ویژگیهای فیزیولوژیک و

بیوشیمیایی یونجه. علوم گیاهان زراعی ایران، ٤٩(١): ١-١٠.

۳) رهنمون، ح.، قاسیم، ع.، نعمت، ف.، شکاری، ن و. ع، اصغرزاده. ۱۳۹۲. تاثیر تنش شوری روی برخی رفتارهای اکوفیزیولوژیکی نژادگان های گزینش شده بادام *Prunus amygdalus* B. علوم و فنون باغبانی، ۱۰(۲): ۱٦۷-۱۷٦.

٤) نورمحمدی، ز.، اسماعیل‌پور، ب.، آذرمی، ر.، شیخ علی‌پور، م.، چمنی، ا و. ر، شهبازی یاجلو. ١٤٠٠. بررسی اثر ملاتونین بر خصوصیات رشد، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه استویا تحت شرایط تنش شوری. دوفصلنامه علوم سبزیها، ٥(٩): ١-١٧.

5) Arnao, M. B. and J, Hernandez-Ruiz. 2014. Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science*, 19(12): 789-797.

6) Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14:93-107.

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

8) Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-252.

9) Chance. B. and A.C, Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidases. *Methods Enzymology*, 2: 764-775.

10) Chang, C., Yang, M. Wen, H. and J, Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolbytwocomplementarycolorimetermethods. Journal of Food Drug analysis, 10: 178-182.

11) Du, Z. and W.J, Bramlage. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 40: 1566-1570.

12) Ghiazdowska, A., Krasuska, U. and R, Bogatek. 2010. Dormancy removal in apple embryos by nitric oxide or cyanide involves modifications in ethylene biosynthetic pathway. *Plant*, 232: 1397-1407.

13) Gill, S.S. and A, Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930.

14) Hoekstra, F.A., Golovina, E.A. and J, Buitink. 2018. Mechanisms of plant desiccation tolerance. Trends in Plant Scence, 6: 431–438.

15) Hosseini, S. J., Tahmasebi, Z. and H, Pirdashti. 2012. Screening of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for NaCl tolerance at early seedling stage. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 3(8): 274-283.

16) Ismail, A. M. and T, Horie. 2017. Genomics, Physiology, and Molecular Breeding Approaches for Improving Salt Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 68: 405-434.

17) Jovanka, M.D., Nemanja, S., Svetlana, R., Zivko, J., Aleksandar, M. and M, Vesna. 2013. Differential response of three contrasting pea (*Pisum arvense*, *P. sativum* and *P. fulvum*) species to salt stress: assessment of variation in antioxidative defence and miRNA expression. *Australian Journal of Crop Science*, 7: 13. 2145-2153.

18) Kaur, N., Dhawan, M., Sharma, I. and P, K. Pati. 2016. Interdependency of Reactive Oxygen Species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. *BMC plant biology*, *16*(1): 131.

19) Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y. and M. A, Hoque. 2017. Antioxidant Defense Mechanisms of Salinity Tolerance in Rice Genotypes. *Rice Science*, 24(3): 155-162.

20) Mishra, P., Bhoomika, K. and R. S, Dubey. 2013. Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Protoplasma*, 250(1): 3-19.
21) Moller, I.M., Jensen, P.E. and A, Hansson. 2017. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review in Plant Biology*, 58: 459–481.
22) Nabiollahi, K., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Kerry, R. and S, Moradian. 2017. Assessment of soil quality indices for salt-affected agricultural land in Kurdistan Province, Iran. *Ecological Indicators*, 83: 482-494.
23) Noctor, C. and C.H, Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.
24) Oliveira, J.T.A., Andrade, N.C., Martins-Miranda, A.S., Soares, A.A., Gondim, D.M.F. and J.H, Araujo. 2012. Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51: 145–152.
25) Rachoski, M., Gazquez, A., Calzadilla, P., Bezus, R., Rodriguez, A., Ruiz, O. and S, Maiale. 2015. Chlorophyll fluorescence and lipid peroxidation changes in rice somaclonal lines subjected to salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(6): 117-128.
26) Roshani, G.h. and Mir J, Ghasemi. 2014. Study on effect of salinity on some morphological responses of 31 cotton genotypes. *Plant Environmental Physiology Journal*, 9(36): 47-57.
27) Sarani, S., Mostafa, M., Galoi, M. and B.A, Syahsar. 2012. The effects of salinity and iron on the growth, photosynthetic pigments and electrophoretic bands of German chamomile (*Marticaria chamomilla* L.) and Roman chamomile (*Anthemis nobilis* L.). *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 29(4): 732-746.
28) Sgherri, C.L.M., Liggini, S. Puliga, F. and F, Navari-Izzo. 1994. .Antioxidant system in Sporoblus stapfianus. Changes in response to desiccation and rehydration. *Phytochemistr*y, 35 : 561–565.
29) Zhang, M., Zhuo, J. J., Wang, X., Wu, S. and X. F, Wang. 2010. Optimizing seed water content: relevance to storage stability and molecular mobility. *Journal of Integrated Plant Boiogy*, 52: 324–33.
30) Zhu, X.C., Song, F.B. and S.Q, Liu. 2011. Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 9: 583-587.