نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره ویژه: پژوهش‌های فیزیولوژی گیاهی، سال نهم، شماره ویژه بهار ۱۳۹۳ / صفحات: ۲۰-۱۲

پاسخ فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) در محیط شور و غیرشور

سیده‌سمانه موسوی خورشیدی*[۱]، محمدعلی رضایی[۲]، حسین عباسپور[۳]

[۱]دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دامغان

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

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

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۱۲

چکیده

پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) یکی از مهمترین محصولات در سراسر می‌باشد و جزء گیاهان متحمل به شوری طبقه‌بندی می‌شود. ارقام مختلف این گیاه نسبت به شوری خاک واکنش‌های متفاوت نشان می‌دهند. هدف از این تحقیق، اثر تنش شوری از نظر میزان تحمل ارقام پنبه از طریق سنجش فاکتورهایی نظیر آنتوسیانین‌ها، آنتی‌اکسیدانت‌ها، پرولین و برخی عناصر تحت اثر شوری‌های مختلف بود. بر این اساس ۱۰ رقم پنبه شامل ساحل، Q28، ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹، چکوروا، کوکر ۳۴۹، سپید، سیلند، سوپر اکرا و اوپال در ۲ سطح شوری شامل خاک طبیعی و خاک کشور با هدایت‌الکتریکی ۲ و ۱۶ دسی زیمنس بر متر کشت شدند. سنجش‌ها در مرحله رشد رویشی بر روی برگ پنبه صورت گرفت. در محیط شور (۱۶ دسی زیمنس بر متر) نسبت به محیط غیرشور (۲ دسی زیمنس بر متر) غلظت یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم و کلر در همه ارقام افزایش یافت. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در محیط شور نیز در همه ارقام روند صعودی را طی نمود. بالاترین میزان آنتوسیانین مربوط به رقم سیلند در محیط شور بود. همچنین با افزایش شوری میزان پرولین در رقم‌های ساحل، شیرپان ۵۳۹، کوکر ۴۳۹ و اوپال افزایش یافت.

واژگان کلیدی: آنتوسیانین، پرولین پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)، سدیم، کلسیم، منیزیم، کلر

مقدمه

شوری در خاک سطحی و خاک‌های زیرین یکی از اصلی‌ترین تنش‌های محیطی غیرزنده برای تولید محصولات کشاورزی می‌باشد. در حدود ۲۰ درصد از نواحی تحت کشت دنیا و نزدیک به نیمی از سرزمین‌های آبیاری شده تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرند. شوری بر رشد ،تنوع گیاهی و فرآیندهای نمو یعنی جوانه‌زنی دانه، رشد دانه رست، گلدهی و میوه‌دهی اثر گذاشته و منجر به بازدهی و کاهش کیفیت می‌گردد (Zhu, 2002).

از جمله استراتژی گیاهان در مقاومت برابر تنش شوری تجمع محلول‌های سازشی است. پرولین یکی از متداول‌ترین اسمولیت‌ها سازگار و مناسب در گیاهان تحت تنش می‌باشد که با واکنش‌های بیوشیمیایی عادی تداخل ندارد (Aziz and Khan, 2003). همچنین تحقیقات نشان داده است تنش‌های محیطی در القای تولید آنتوسیانین‌ها نقش دارند. در این راستا گزارش شده است تولید آنتوسیانین در

*نویسنده مسئول: 3337189@gmail.com

ریشه، ساقه و برگ‌ها به گیاه اجازه رشد و مقاومت در برخی تنش‌های محیطی را می‌دهد (Vell, 2001).

هنگام تنش، گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ایجاد می‌گردند که باعث خسارت اکسیداتیو به ترکیبات سلولی مانند لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Masood et al., 2006; Mittler, 2002). تحقیقات نشان داده است مقابله با صدمات اکسیداتیو، باعث افزایش مقاومت گیاه به شوری می‌شود. در این ارتباط عنوان شده است گیاهان با استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، 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 دارد. این گیاهان سدیم را در سیتوپلاسم خود با روش‌های گوناگون مانند دفع سدیم از سیتوپلاسم، نگهداری در دیواره سلولی و تجمع سدیم در واکوئل به وسیله پادبرهای Na^+/H^+ واکوئلی کنترل می‌کنند (Vma, 1974).

همچنین گزارش شده است تنش شوری کمبود کلسیم را در گیاه ایجاد می‌کند و کلسیم اثر تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Hyder and Greenway, 1965). همچنین عنوان شده است که تجمع اندک 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. 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).

منیزیم نیز از جمله عناصر ضروری در گیاه بوده که در ساختار کلروفیل‌ها شرکت نموده و به‌عنوان کوفاکتور در فعال سازی آنزیم‌های فسفریلاسیون نقش ایفا می‌کند. یون منیزیم مانند پلی، پیرو فسفات، ATP و یا ADP رابا آنزیم مرتبط می‌سازد و بدین صورت در فرایندهای متابولیسمی دخالتی مهم و حیاتی دارد (کنراد و کرکبی، ۱۳٦۷). در بسیاری از گیاهان نشان داده شده است که یون سدیم 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 زمین های شور زیاد است (رضایی و خاوری‌نژاد، ۱۳۸۳). از میان گیاهان زراعی، پنبه جزء گیاهان متحمل به شوری طبقه‌بندی شده است و از محصولات مهم این استان محسوب می‌گردد .استفاده از رقم‌هایی که بتوانند شوری بیشتر را تحمل کنند در افزایش محصولات زراعی موثرند. بنابر این استفاده از رقم‌های متفاوت در خاک‌های مختلف این استان با توجه به تنوع مقاومت آنها به شوری الزامی بوده و در دستیابی به محصولات بیشتر مفید خواهد بود بنابراین هدف از انجام این تحقیق، شناخت مکانیسم‌های فیزیولوژیکی گیاه پنبه در پاسخ به استرس شوری و شناخت مکانیزم های ارقام مقاوم به شوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثرات شوری طبیعی بر گیاه پنبه، ۱۰ ژنوتیپ شامل ساحل، Q28، ٤٣٢٠٠، شیرپان ٥٣٩، چکوروا، کوکر ٣٤٩، سپید، سیلند، سوپر اکرا و اوپال در دو مزرعه کارکنده با EC کمتر از ۲ (غیرشور) و مزرعه نمونه ارتش آق قلا با EC=١٦ (شوری بالا) در قالب طرح بلوک‌های تصادفی در ۳ تکرار در ٤ خط ٦ متری کشت شدند و نمونه‌برداری از برگ‌های این ۱۰ رقم در فاز رویشی و قبل از فاز گلدهی صورت گرفت. بررسی صفات مورفولوژیکی از جمله ارتفاع گیاه در ۳ مرحله به فاصله یک ماه انجام شد.

اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم کلسیم و منیزیم برگ گیاه: مقدار ۱۰ گرم از ماده تر گیاهی (برگ) توزین شده و به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد داخل آون گذاشته شد. سپس به مدت ۸ ساعت در داخل کوره الکتریکی با دمای ٦۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از توزین، خاکستر حاصل در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و مقدار سدیم و پتاسیم آن با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر و منحنی استاندارد، تعیین و محاسبه شد (منطقی، ١٣٦٥).

برای اندازه گیری یون کلسیم ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره معدنی گیاه درون ارلن مایر ریخته شد و به آن ۲ میلی‌لیتر سود چهار نرمال و ۰/۳ گرم پودر موراکسید افزوده شد. سپس با محلول EDTA ، ۰/۰۱ نرمال تیتر شده تا رنگ آن به بنفش تغییر نماید. این کار برای دقت بیشتر در مجاورت محلول شاهد کلرید کلسیم انجام شد (منطقی، ١٣٦٥).

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

اندازه‌گیری پرولین: ۰/۲ گرم وزن تر بخش هوایی (برگ)، در ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳ درصد. 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 یک میلی‌لیتر اسیداستیک 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 میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و به‌مدت ۲۰ ثانیه به شدت تکان داده شده تا اینکه دو لایه مجزا از یکدیگر تشکیل گردید. بخش رنگی بالایی دارای تولوئن از بخش پایینی (آبی) توسط سرنگ جدا شده و در دمای آزمایشگاه خنک گردید. میزان جذب بخش بالایی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از شاهد (تولوئن) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد.

میزان پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و رابطه زیر بر اساس وزن تر محاسبه و در نهایت بصورت میکرومول بر گرم وزن تر ارزیابی گردید (Bates, 1973).

اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها: مقدار یک گرم از ماده تر گیاهی (برگ) توزین و به‌مدت ٤٨ ساعت درون محلول اسیدی متانول در دمای ٤ درجه سانتیگراد داخل یخچال گذاشته شد. پس از انقضای این مدت جذب محلول در طول موج‌های ۵۳۰ و ٦۵۸ خوانده و طبق فرمول خاص مانسینلی در مورد پنبه محاسبه شد (Mancinelli, 1998).

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

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (Arrigoni et al., 1999**):** جهت بررسی فعالیت این آنزیم از عصاره آنزیمی استخراجی استفاده گردید.

در این سنجش ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH ٦/۵ و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۵۰ میکرومولار در حمام یخ مخلوط و بلافاصله ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه گردید. سپس تغییرات جذب در طول موج ٢٦۵ نانومترخوانده شد. فعالیت این آنزیم بر حسب $oDmin^{-1}g^{-1}fw$ تعیین شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (Chance and Maehly, 1995**):** برای سنجش این آنزیم، از عصاره

آنزیمی استخراج شده استفاده شد. مراحل زیر به‌ترتیب جهت سنجش کاتالاز صورت گرفت:
۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار با pH ٦/٥ و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد با هم در ظرف یخ مخلوط و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی تازه به مخلوط فوق افزوده شد. تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت این آنزیم بر حسب $ODmin^{-1}g^{-}$ ^{1}FW بدست آمد.

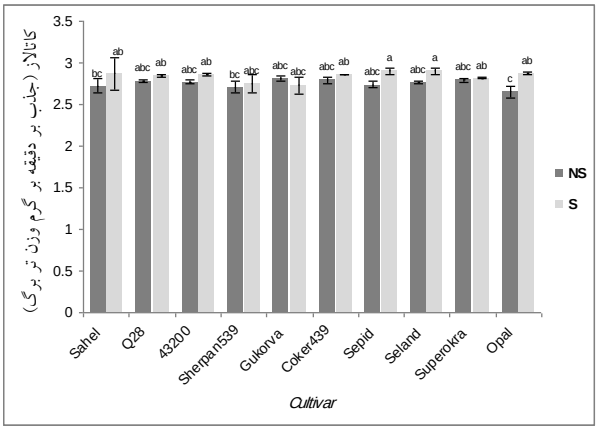
آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS 16، Office 2007; و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

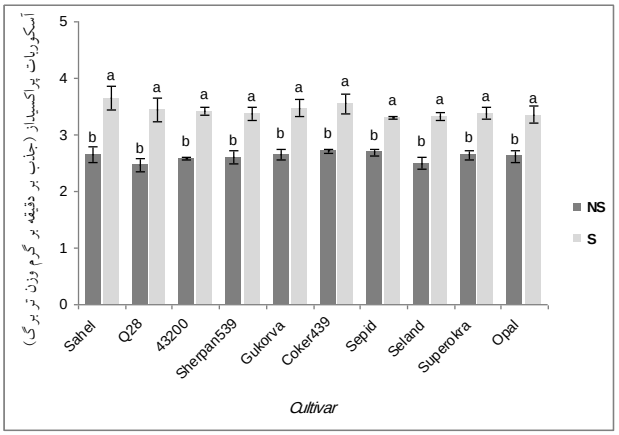
اثر شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

کاتالاز: در تحقیق حاضر مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در محیط شور (١٦ دسی زیمنس بر متر) و غیرشور (۲ دسی‌زیمنس بر متر) تفاوت معنی‌دار را در رقم اوپال نشان می‌دهد و در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۱).

آسکوربات پراکسیداز: طبق نتایج بدست آمده تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم در مقایسه دو محیط و در تمامی ارقام مشاهده شد و فعالیت آنزیم در محیط شور نسبت به غیر شور در تمامی ارقام افزایش یافت (شکل ۲).



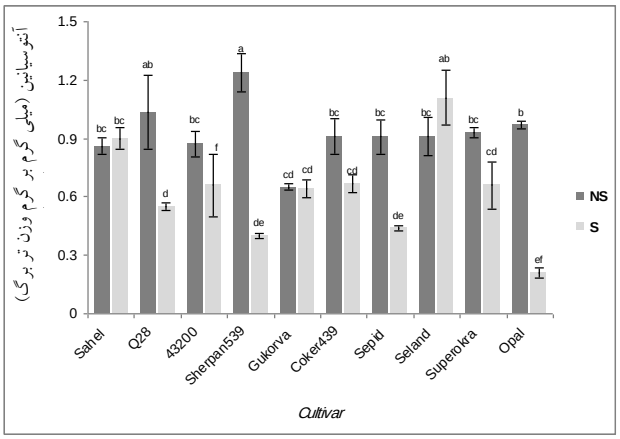
شکل ۱ : فعالیت آنزیم کاتالاز در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه



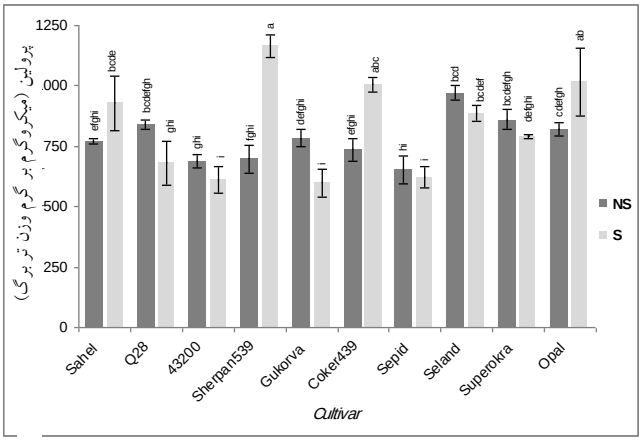
شکل ۲ : فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

اثر شوری بر میزان آنتوسیانین: با مقایسه ارقام در محیط شور و غیرشور در محیط ۱۶ نسبت به ۲ دسی زیمنس بر متر در رقم‌های ۴۳۲۰۰، شیرپان ۵۳۹، Q28، سپید و اوپال مقدار آنتوسیانین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار در وجود نداشت (شکل ۳).

اثر شوری بر میزان پرولین: طبق نتایج بدست آمده میزان پرولین در ارقام شیرپان ۵۳۹، کوکر ۴۳۹ و اوپال در محیط شور (۱۶ دسی زیمنس بر متر) نسبت به غیر شور (کمتر از ۲ دسی زیمنس بر متر) افزایش یافت و تفاوت معنی‌دار از نظر میزان پرولین در این ارقام مشاهده شد (شکل ٤).



شکل ۳ : میزان آنتوسیانین در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

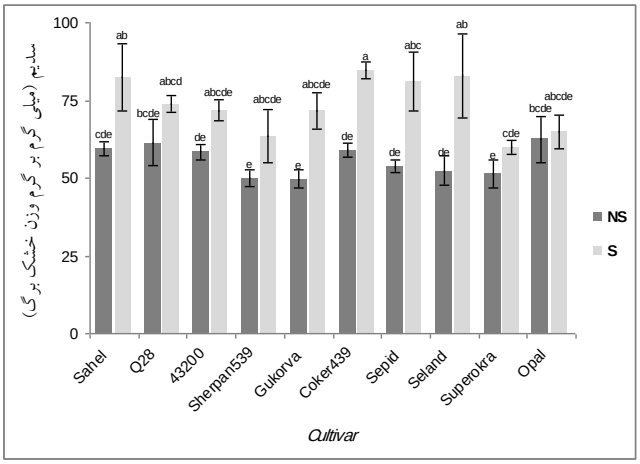


شکل ٤: میزان پرولین در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

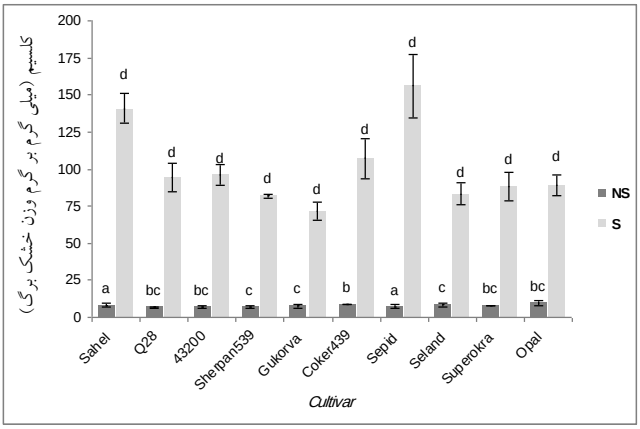
اثر شوری بر مقادیر یون‌های سدیم، کلسیم، منیزیم و کلر سدیم: چنانچه در شکل ۵ مشاهده می‌شود در محیط شور (۱٦ دسی زیمنس بر متر) در همه ارقام جذب سدیم افزایش یافت.

کلسیم: طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها میزان کلسیم در محیط شور ۱٦ دسی زیمنس بر متر در همه ارقام افزایش یافت و در همه ارقام تفاوت معنی‌دار در مقایسه دو محیط مشاهده شد (شکل ٦).

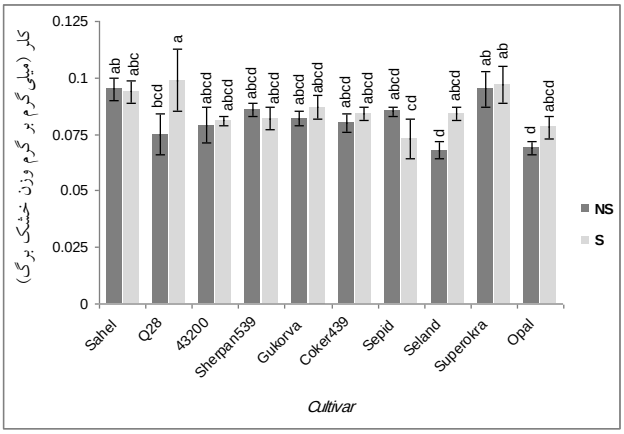
کلر: با مقایسه دو محیط شور و غیرشور، در رقم Q28 مقدار کلر افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری در محیط شور نسبت به غیرشور دیده شد. در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۷).



شکل ۵: میزان یون سدیم در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

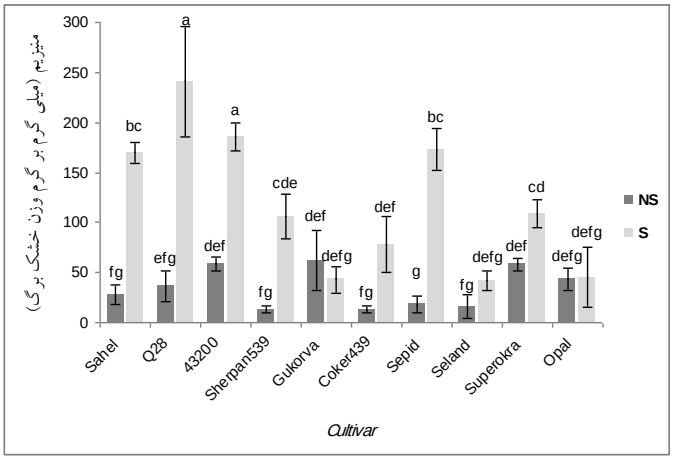


شکل ٦: میزان یون کلسیم در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه



شکل ۷: میزان یون کلر در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

منیزیم: در مقایسه میانگین، میزان منیزیم در محیط شور نسبت به محیط غیرشور افزایش نشان داد. در ارقام ساحل، Q28، ٤٣٢٠٠، شیرپان ٥٣٩ و سپید میزان منیزیم روند صعودی را طی نمود و تفاوت معنی‌داری در این ارقام مشاهده شد. در دیگر ارقام تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (شکل ٨).



شکل ٨: میزان یون منیزیم در زمین‌های شور و غیرشور در ارقام مختلف پنبه

بحث

در گیاهان هنگام تنش، گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-). پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ایجاد می‌گردند که صدمات جبران ناپذیری را به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک وارد می کند (Masood et al., 2006; Mittler, 2002). گیاهان با استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گونه‌های اکسیژن فعال را جاروب می‌نمایند (Roxas et al., 1997). 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، (Noctor et al., 2002; Weston, 1989). گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در پنبه‌های متحمل به شوری افزایش داشته است که در این تحقیق نیز فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در همه ارقام افزایش یافت. اما در رابطه با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تغییری حاصل نشد. در این راستا به نظر می‌رسد ارقام از مکانیسم افزایش کاتالاز در مقابله با شوری استفاده نکرده‌اند.

گیاهان تحت تاثیر شوری از تنش اسمزی و اثرات اختصاصی یون‌ها آسیب می‌بینند. 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)، گیاهچه‌های کازوارینا، آرابیدوپسیس (Mita et al., 1997) و عشقه (Murray, 1994) تحت تنش شوری مشاهده شده است. گزارش شده است گیاه پنبه در طی مراحل رویشی و افزایش سن و شوری به تولید آنتوسیانین‌ها مبادرت می‌ورزد. احتمالا با افزایش سن ارقام، بیوسنتز آنتوسیانین، جهت مقابله با شوری در این گیاه صورت می گیرد (رضایی و همکاران، ١٣٨٣) که با نتایج حاصله در رقم‌های ساحل و سیلند مطابقت دارد.

نقش پرولین به‌عنوان محلول سازشی (Yamaguchi, 2001). در حفظ اسمز، کاهش اسیدیته و حفظ آنزیم‌های سیتوپلاسمی (Girija et al., 2002)

در گیاهان مختلف به اثبات رسیده است. همچنین به عنوان بخش ضروری در ساختار پروتئین‌های دیواره سلول‌های گیاهی، سنتز پروتئین‌ها ، پایدای ساختارهای درون سلولی، منبع ذخیره نیتروژن و کربن (Fukutaku and Yamada, 1984) و دهنده الکترون به زنجیره الکترون تنفسی شرکت می‌کند (Harre and Cress, 1997). به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر ارقام شیرپان ۵۳۹، کوکر ٤۳۹ و اوپال از مکانیسم افزایش پرولین در مقاومت استرس شوری استفاده نموده‌اند.

نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش شوری، مقدار سدیم و کلر در تمامی ارقام، افزایش یافت. گزارش شده است افزایش مقدار سدیم و کلر در پنبه، توسط سیستم انتقالی که شامل کانال‌ها و ناقل‌ها می‌باشد انجام می‌گیرد 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 حاضر شدت جذب کلر به غلظت آن در محلول خاک بستگی داشت و با افزایش شوری خاک، میزان جذب کلر افزایش یافت. افزایش Na در ٦ ژنوتیپ از گیاه پنبه و گیاه رزماری (Kiarostami et al., 2010) در شرایط شور گزارش شده است که با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

در مورد تغییرات یون منیزیم، نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش شوری، جذب منیزیم افزایش یافت. یکی از بارز ترین نقش های ن منیزیم، شرکت در ساختار کلروفیل‌ها است. همچنین کمبود Mg^{2+} مانع بیوسنتز پروتئین‌ها می‌گردد و مشخص 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، ۱۳٦۷).

همچنین نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزایش کلسیم در شرایط شور نیز با افزایش پرولین و مقاومت بیشتر ارقام به شوری مربوط است. در این راستا 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 et al., 1986).

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به جمیع صفات مورد بررسی به نظر می‌رسد که ارقام کوکر ٤۳۹، شرپان ۵۳۹ و اوپال با استفاده از مکانیسم‌های افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و پرولین از ارقام مقاوم به شوری می‌باشند. تفاوت بین نتایج ما و گزارشات گذشته ممکن است به‌دلیل استفاده از گونه‌ها و ژنوتیپ‌ها مختلف و انجام تست‌ها در مراحل مختلف رویش و سن برگ‌ها باشد.

منابع

رضایی، م.ع.، خاوری‌نژاد، ر.ع. و فهیمی، ح. (۱۳۸۳). پاسخ فیزیولوژیک گیاه پنبه به شوری‌های مختلف خاک. پژوهش و سازندگی در باغبانی. دوره ۱۷. شماره ۱. صفحات ۸۹-۸۱.

کنراد، م.، کرکبی، ا. (۱۳٦۷). اصول تغذیه گیاه. ترجمه علی اکبر سالاردینی و مسعود مجتهدی. جلد دوم. صفحات ۱٤٤-۱۳۳.

منطقی، ن. (۱۳٦۵). تشریح روش‌ها و بررسی آزمایشگاهی روی نمونه‌های خاک و آب. موسسه تحقیقات خاک و آب. شماره ۱٦۸.

Arrigoni, O., Tullio, M.C., Paciolla, C., Vecchio, F.D., Rascio, N., Emerico, S. and Gara, L.D. (1999). Changes in onion root development induced by the inhibition of peptidyl-prolyl hydroxylase and influence of the ascorbate system on cell division and elongation. Planta. 209(4):424-434.

Ashraf, M., and Neilly, T.M.C. (1990). Responses of four *Brassica* species to sodium chloride. Environmental Experimental Botany. 30: 475-487.

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 tilieuloides*). Environmental Experimental Botany. 58:216-222.

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 transcripiton and anthocyanin pigmentation in the juvenile and nature 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. Philosophical Transactions of the Royal Society London. 355:1465-1475.

Ramanjulu, S., Veeranjaneyulu, K. and Sudhakar, C. (1993). Physiological changes induced by NaCl in mulberry var. Mysore local. Indian Journal Plant Physiology. 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. Nature Biotechnology. 15:988–991.

Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and suceptible wheat genotypes to long term salt stress. Plant Science. 162: 897-804.

Vell, R. (2001). Leaf pigment and canopy photosynthetic responses o 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.

Weston, A. (1989). Salt stress and antioxidant. Plant Physiology.84:415-435

Yamagauchi-Shinozaki, K. (2001). Biological function of proline in osmotolerance revealed in antisense transgenic plants. Jircas Newsletter. 27:1-2.

Zhu, K.J. and Shu, X.Z. (2002). Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: the influence of anion structure. International Journal of Pharmaceutics. 233(1–2): 217–225.

Aziz, I. and Khan, M.A. (2003). Proline and water status of some desert shrubs before and after rains. Pakestanian Journal Botany. 35(5): 905-906.

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

Chance, B. and Maehly, C. (1995). Assay of catalase and peroxidase methods. Enzymology. 11: 764-775.

Cramer, G.R., Lauchli, A. and Epstein, E. (1986). Effects on NaCl and $CaCl_2$ on ion activities in complex nutrient solution and root growth of cotton. Plant Physiology. 81: 792-797.

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.

Fukutako, Y. and Yamada, Y. (1984). Source of proline nitrogen in water-stressed soybean (*Glycine max*). II. Fate of N-labeled protein. Physiology Plantarum. 622-628.

Girija, C., Smith, B.N. and Swamy, P.M. (2002). Interactive effects of sodium choloride on the accumulation of proline and Glycine betaine in peanut (*Arachis hypogaeae* L.). Environmental and Experimental Botany. 47:1-10.

Harre, P.D. and Cress, W.A. (1997). Metabolic implication of stress-induced proline accumulation in plants. Plant Growth Regulation. 21:79-102.

Hyder, S.Z. and Greenway, H. (1965). Effects of Ca^{2+} on plant sensitivity to high NaCl concentration. Plant and Soil. 23: 258-260.

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. 2010:12.

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.

Kaliamoorthy, S. and Rao, A.S. (1994). Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. Indian 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 and Biochemistry. 6 (3):114-122.

Mancinelli, A.L. (1998). Anthocyanin production in Chl-rich and Chl-poor seedling. Plant Physiology. 86: 652-654.