نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره ویژه: پژوهش‌های فیزیولوژی گیاهی، سال نهم، شماره ویژه بهار ۱۳۹۳ / صفحات: ۱۷۴-۱۶۱

بررسی آسکوربات و گلیسین بتائین و اثر توام آنها بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش شوری خاک

ماریه عارف*[۱]، محمدعلی رضایی[۲]

[۱]کارشناس‌ارشد زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

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

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش:۹۳/۳/۱۳

چکیده

آسکوربیک اسید فراوان ترین و قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان در گیاهان است که می‌تواند اثر گونه‌های اکسیژن فعال را کاهش دهد. گلیسین بتائین نیز به عنوان یک اسمولیت سلول‌ها و بافت‌ها را در کاهش آب حمایت می‌کند.جهت بررسی اثر آسکوربات و گلیسین بتائین و اثر توام آنها بر فیزیولوژی گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش شوری خاک (EC=8 ds/m) ۱۵ بذر در هر گلدان کاشته شد و آزمایش‌های مربوط در ٤ تکرار انجام گردید. ابتدا آسکوربات گلیسین بتائین با غلظت‌های مختلف به‌ترتیب ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ پی‌پی‌ام و ۰mM، ۵، ۱۰ میلی‌مولار در هنگام غروب و به فاصله زمانی یک هفته از هم در مرحله ٦ تا ۸ برگی به‌صورت محلول پاشی بکار برده شدند. نتایج نشان داد آسکوربات و گلیسین بتائین باعث افزایش میزان کلروفیل a و b شد ولی در اثر توام آنها افزایشی مشاهده نشد. اثر هر دو تیمار باعث کاهش فعالیت کاتالاز و پروتئین اندام هوایی و ریشه گشت .همچنین میزان پروتئین ریشه در کاربرد توام آسکوربات و گلیسین بتائین افزایش یافت. در برخی از تیمارهای توام نیز افزایشی در میزان قندهای محلول در ریشه و اندام هوایی مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات، پروتئین، شوری، فتوسنتز، کاتالاز، گلیسین بتائین، نخود

مقدمه

آسکوربیک اسید یک مولکول آنتی اکسیدانی کوچک است که اعمال متابولیکی ضروری را در زندگی گیاهان و جانوران انجام می‌دهد (Arrigioni and De Tullio,2002). آسکوربیک اسید یا ویتامین C از ترکیباتی است که به وفور در گیاهان یافت می شود. ویتامین C دارای چندین نقش فیزیولوژیکی درگیاهان است، به‌عنوان مثال در فرآیندهای رشد، تمایز و متابولیسم شرکت دارد. در برخی واکنش‌های فتوسنتزی به عنوان کوفاکتور عمل می کند. آسکوربیک اسید قادر است یون‌های سوپراکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن را احیاء نماید یا به صورت غیر مستقیم با احیا ترکیباتی چون آلفا – توکوفرول در جاروب کردن رادیکال‌ها شرکت کند (قربانلی، ۱۳۸۷). گلیسین بتائین، ترکیب چهار تایی آمونیوم است و یکی از سازگارترین محلول‌ها است (Chen and Murata, 2002) که به عنوان یک اسمولیت گیاهان را با حفظ تعادل آب بین سلول‌های گیاهی و محیط محافظت می‌کند و ماکرومولکول‌ها را تحت کم آبی سلولی و

*نویسنده مسئول: marieh.aref@yahoo.com

تجمع نمک بالا تثبیت می‌کند (Robinson and Jones, 1986). تمام گیاهان نیز قادر بـه جمع‌آوری گلیسـین بتائین نیستند (Yang and Lu, 2005).

برای قرن‌ها کشـاورزی در منـاطق خشـک و نیمـه خشک بـا افـزایش شـوری خـاک روبـرو بـوده اسـت. شوری یکی از مهم ترین استرس‌ها است که رشد گیـاه و میزان محصول را کاهش مـی دهد.شـوری تقریبـاً بـر همه جنبه‌های فیزیولوژی و بیوشیمی گیاه اثر می‌گـذارد (Khan and Panda, 2008). در کشـور مـا نیـز نخـود نسبت به سـایر حبوبـات از سـطح زیرکشـت، تولیـد و اهمیت بیشتری برخوردار است، امـا عملکـرد آن نسـبتاً پـایین اسـت. پتانسـیل پـایین عملکـرد ارقـام نخـود را مـی‌تـوان بـه علـت بـه کـارگیری محـدود نهاده‌هـای کشـاورزی و عـدم اتخـاذ روش‌هـای مناسـب تولیـد دانست. عامل مهم دیگـری کـه سـبب کـاهش تولیـد و نوسان‌های عملکرد آن می‌شود، حساسیت ارقام موجـود به تنش‌های زیستی (آفات و بیماری‌ها) و غیـر زیسـتی (خشکی، شوری، سـرما و...) اسـت. درمیـان تنش‌هـای غیرزیستی شوری آب و خاک بر رشد و عملکرد نخـود تاثیر منفی دارند؛ به‌طوری‌که در خاک‌های شور عملکرد گیاه اندک است (بهبودیان و همکاران، ۱۳۸٤).

کـاهش مقـدار کلروفیـل تحـت اسـترس شـوری پدیده‌ای است که در مطالعات مختلف گـزارش شـده است و مقدار کلروفیل به‌عنوان یـک نشـانگر حسـاس بـرای وضـعیت متابولیسـم سـلولی اسـتفاده مـی‌شـود (Chutipaijit et al., 2011). مطالعات متعددی حـاکی از آن هستند که یکی از اثرات گلیسین بتائین تـاثیر آن بر افزایش میزان تولید کلروفیل‌ها اسـت. Demiral و Turkan (۲۰۰٦) افزایشـی را در محتـوای پـروتئین و کلروفیل در گوجه فرنگی تحت اسـترس خشـکی یـا شوری به‌وسیله کاربرد برگی گلیسین بتـائین مشـاهده کردند. گلیسین بتائین باعث افزایش تجمع کلروفیل‌هـا در آرابیدوپسیس‌های تراریخت تحت استرس شـوری می‌گـردد (Hayashi et al., 1998). در شـرایط تـنش خشـکی در گیـاه انیسـون، بعـد از اسـتعمال اسـید آسکوربیک ، میزان کلروفیل به دلیـل پاسـخ‌های آنتـی اکسیدانی فعال شده در گیـاه از آسـیب محفـوظ مانـد (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۸).

یکی از نتایج مقدار یون بـالا در اسـترس شـوری، تغییر در هیدراسـیون پـروتئین اسـت. شـوری مقـدار RNA را بـــه دلیـــل تغییـــر در فعالیـــت RNAase سیتوپلاسمی و سطوح DNA را نیز به‌دلیل قطع شـدن مکانیسـم‌هـای سـنتز آن کـاهش می‌دهـد (Yu and Rengel., 1999). کـاهش مقـدار پـروتئین محلـول در *Vicia faba*، *Brugiera parviflora*، *Amaranthus tricolor*، *Oryza sativa*، *Lycopersicon esculentum* تحـت تـنش شـوری گـزارش شـد (Parvaiz and Satyavati., 2008). مطالعات انجام شده بر روی پیـاز و برنج نشان داد که گلیسـین بتـائین عـلاوه بـر نقـش اسمو پروتکتانی، باعـث پایـداری غشـاءها و فعالیـت آنزیم‌ها شده و باعـث پایـداری سـاختار پروتئین‌هـای درون کمپلکس فتوسیستم ۲ می‌شود (Meloni et al., 2004). گزارش شد که محتوای پروتئین بعد از کاربرد اسید آسکوربیک اگزوژن در سـیب زمینـی (Sajid et al., 2009) و نخود (Beltagi, 2008)، افـزایش یافـت. Wimmer و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که تغییر در سطح پروتئین آندوژن به‌دلیل تغییر ساختار سلول‌ها تحت شرایط تنش است. احتمالاً این تغییر بستگی بـه گونه و کولتیـوار گیاهـان دارد (Ashraf and Harris, 2004).

Eyidogan و Oz (۲۰۰۵) افزایش معنی‌دار فعالیت کاتـالاز را در برگ‌هـای *Cicer arietinum* L. تحـت استرس شـوری گـزارش کردنـد. بـه صـورت مشـابه افزایش فعالیت کاتالاز در ریشه‌های *Cicer arietinum* L. توسط Kukreja و همکاران (۲۰۰۵) گزارش شـد. میزان گلیسین بتائین آندوژنی می‌تواند نقش چشـمگیر

متفاوتی در کنترل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هردو کولتیوار گندم در پاسخ به تنش شوری داشته باشد (Reza et al., 2006). سطوح بالای اسید آسکوربیک آندوژن برای حفظ سیستم آنتی‌اکسیدانی که گیاهان را علیه خطرات اکسیداتیوی حفاظت کند؛ ضروری است. ممکن است که آسکوربات آندوژن گیاهان را از خطرات اکسیداتیو، به وسیله کنترل حالت ردوکس سلول‌ها حفظ کند (Athar et al., 2008).

افزایش در غلظت ساکارز و سطح قندهای محلول تحت شرایط تنش شوری احتمالاً در سازگاری و ایجاد تحمل به شوری نقش دارد و از بین ترکیبات آلی مختلف، قندها بیش از ۵۰ درصد مجموع مواد متشکله پتانسیل اسمزی را تشکیل می‌دهند (Geholt et al., 2005). در استعمال گلیسین بتائین بر گیاه سویا نیز در مرحله ۱۰ برگی میزان قندهای محلول گیاه افزایشی نشان نداد. بنظر می رسد به این دلیل که گیاهان تحت هیچ تنشی قرار نگرفته بودند (رضایی، ۱۳۸۹). در مطالعه اثر کمبود آب و برهمکنش آن با اسید آسکوربیک بر مقدار قندهای محلول در سیاه دانه، (*Nigella sativa* L.) مقدار قندهای محلول در اندام هوایی و زمینی در اکثر تیمارها تفاوت معنی‌دار نشان دادند (قربانلی و همکاران، ۱۳۸۹). در این تحقیق با مطالعه اثر اسید آسکوربیک و گلیسین بتائین و اثر توام آنها بر روی رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) اثرات متفاوت هر یک از تیمارها تحت تنش یکسان شوری خاک (EC=8 dc/m) شد.

روش کار

بذر گیاه نخود (رقم آزاد) از ایستگاه تحقیقات گنبد تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ٥٤ گلدان پلاستیکی ۸ کیلویی با خاک آماده شد. بذرها در ۲۵ فروردین ۹۲ به صورت همزمان در گلدان‌ها کاشته شدند. شوری مورد نظر نیز قبل از کاشت بذرها به خاک معمولی اعمال شد. اسید آسکوربیک و گلیسین بتائین در غلظت‌های مورد نظر در آب مقطر تهیه شدند. ابتدا اسید آسکوربیک و سپس گلیسین بتائین در هنگام غروب و به فاصله زمانی یک هفته از هم در مرحله ٦ تا ۸ برگی به صورت اسپری پاشی بکار برده شدند. جهت بدست آوردن EC=8 ds/m حدود شش دهم گرم نمک را در پنجاه میلی‌لیتر آب حل و به یک کیلوگرم خاک اضافه شد که EC مورد نظر بدست می‌آید. سپس به نسبت خاک در هر گلدان این مقدار محاسبه شد.

نوع بافت	شن	رس	سیلیس	EC
لومی	٣٤/٥٪	٢٢٪	٤٣/٥٪	٨ ds/m

سنجش مقدار کلروفیل(a,b): جهت سنجش میزان کلروفیل a و b از روش Bruinsma (١٩٦٣) استفاده شد. در این روش پس از توزین، برگ‌ها در استون ۸۰ درصد همگن گشته و جذب عصاره حاوی رنگیزه‌ها در طول موج‌های ٦٤٥ و ٦٦٣ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. جهت تعیین محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی با استفاده از روابط زیر مقدار آنها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

Chla=0/0127A663 – 0/00269A645
Chlb=0/0229A645 – 0/00468A663

سنجش قندهای محلول: برای سنجش میزان قندهای محلول از روش Kochert (١٩٧٨) استفاده شد. برای این منظور ریشه و برگ گیاهان تحت تیمارهای مختلف در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ٤٨ ساعت داخل آون خشک گردید. سپس الکل اتانول ۷۰ درصد به هر یک از نمونه‌ها اضافه و در یخچال

به مدت یک هفته نگهداری شد. در مرحله بعد به ۱ میلی‌لیتر آن، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ افزوده و جذب در طول موج ٤٨٥ nm در مقابل شاهد خوانده شد. سپس با استفاده از گلوکز منحنی استاندارد ترسیم و مقدار قندهای محلول بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش Chance و Maehly (۱۹۵۵)، با همراه با تغییراتی انجام شد. به ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات منوسدیک (۵۰ میلی‌مولار) با pH برابر ٦/٨، عصاره آنزیمی (۱۰۰ میکرولیتر) و آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار (۱۰۰ میکرولیتر) اضافه شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شروع شد. محلول بلانک حاوی ۲/۹ میلی‌لیتر بافر فسفات منو سدیک (۵۰ میلی‌مولار) با pH برابر ٦/٨ و ۱۰۰ میکرولیتر میکرولیتر عصاره آنزیمی به کار برده شد. میزان کاهش جذب نور در طول موج ٢٤٠ نانومتر بین زمان‌های ۱۵ و ۷۵ ثانیه بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه اندازه گیری شد.(کلیه ی مراحل در ظرف یخ انجام شود.) فعالیت آنزیم نیز بر حسب ($OD.min^{-1}.g^{-1}.Fw$) سنجش شد.

سنجش پروتئین کل: برای سنجش میزان پروتئین کل در ریشه و برگ مراحلی در مورد نمونه‌های خشک آن‌ها انجام شد. همگن‌سازی نمونه‌ها در بافر تریس اسید کلریدریک، سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها، تهیه معرف‌های کربنات A (کربنات سدیم و سود ۰/۵ نرمال) B (سولفات مس ۱ درصد) C (تارتارات سدیم پتاسیم ۲ درصد) D (شامل معرف‌های A، B و C) و E (معرف سیو-کالتو)، افزودن ۱ میلی‌لیتر معرف D به نمونه، اضافه نمودن ۳ میلی‌لیتر معرف E ، قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، خواندن جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٦٢٥ نانومتر در مقابل شاهد، رسم منحنی استاندارد با استفاده از سرم آلبومین گاوی و محاسبه میزان پروتئینی بر حسب گرم بر گرم وزن خشک گیاه انجام شد (Lawry et al., 1951).

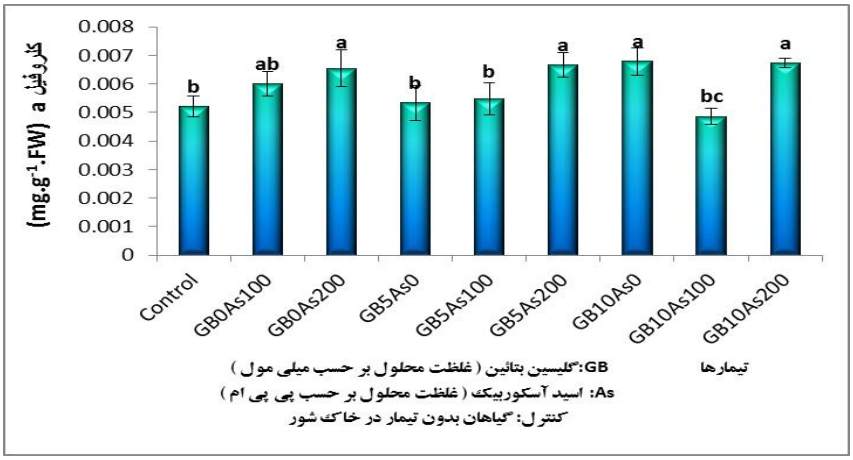
تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها براساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS برای سه تکرار با آزمون دانکن صورت گرفت و رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد. نشانگر نمودارها $\bar{X} \pm SE$ می‌باشد.

نتایج

اثر گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک اگزوژن بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

کلروفیل a: طبق نمودار شکل ۱، بیشترین میزان کلروفیل a در تیمارهای گلیسین بتائین ۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ۲۰۰pm، گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰، گلیسین بتائین۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm۰ و گلیسین بتائین۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۲۰۰ مشاهده شد که با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. کاربرد اسید آسکوربیک در هر دو غلظت منجر به افزایش کلروفیل a شد. البته این افزایش تحت تیمار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. کاربرد گلیسین بتائین نیز در غلظت‌های ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری را نسبت به شاهد موجب نشد، در حالی که در غلظت‌های ۱۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری را در میزان کلروفیل a نسبت به شاهد نشان داد. تحت تیمارهای توام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ و گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a مشاهده شد، در حالی که در تیمارهای گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار

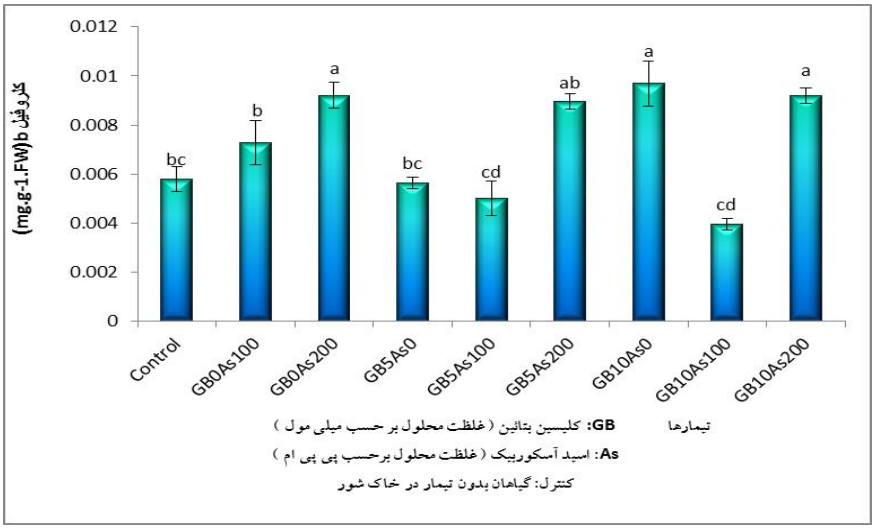
اسـید آسـکوربیک ppm ۱۰۰ و گلیسـین بتـائین ۵ میلی‌مـولار اسـید آسـکوربیک ppm ۱۰۰ اخـتلاف معنی‌داری در میزان کلروفیل a مشاهده نشد.



شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل a گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

Control: شاهد ,GB0AS10100 : محلول گلیسین بتائین ۰ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۱۰۰ پی پی ام، GB0AS200: محلول گلیسین بتائین ۰ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۲۰۰ پی پی ام، GB5AS0: محلول گلیسین بتائین ۵ میلی‌مـول، محلـول آسـکوربات ۰ پـی پـی ام، GB5AS100: محلول گلیسین بتائین ۵ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۱۰۰ پی‌پی‌ام: GB5AS200، محلول گلیسین بتائین ۵ میلی‌مول، محلول آسـکوربات ۲۰۰ پی پی ام، GB10AS0: محلول گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۰ پی پی‌ام، GB10AS100 : محلول گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۱۰۰ پی پی ام، GB10AS200 : محلول گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مول، محلول آسکوربات ۲۰۰ پی پی‌ام.

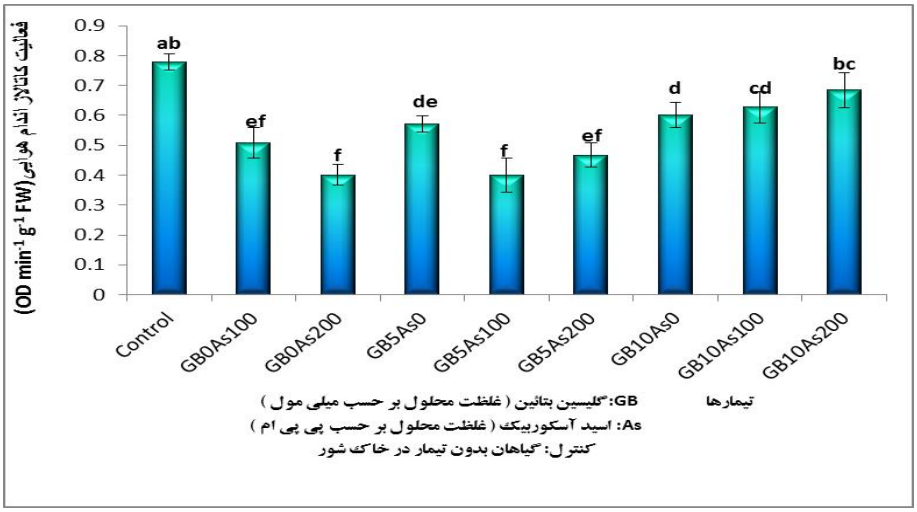
کلروفیل b: طبـق نمـودار شـکل ۲، بیشـترین میـزان کلروفیـل b تحـت تیمارهـای گلیسـین بتـائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰، گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مـولار اسیدآسـکوربیک ppm ۰ و گلیسـین بتـائین ۰ میلی‌مـولار اسـید آسـکوربیک ppm ۲۰۰ مشاهده شد و کمترین آن مربـوط بـه تیمـار گلیسـین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ بـود که البته اختلاف معنی‌داری را نسبت بـه شـاهد نشـان نداد. کاربرد اسـید آسـکوربیک در غلظـت ppm ۱۰۰ اختلاف معنی‌داری را موجب نشـد، در حـالی کـه در غلظت ppm ۲۰۰ منجر به افـزایش معنـی‌داری شـد. کاربرد گلیسین بتائین نیز در غلظت ۵ میلی‌مولار منجر به اختلاف معنی‌داری در میـزان کلروفیـل b نشـد، در حالی که غلظت ۱۰ میلی‌مولار افـزایش معنـی‌داری را نسـبت بـه شـاهد نشـان داد. تحـت تیمارهـای تـوام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مـولار اسـید آسـکوربیک ppm ۲۰۰ و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۰ افـزایش معنـی‌داری در میـزان کلروفیـل b مشاهده شد و تیمارهای گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مـولار اسـید آسـکوربیک ppm ۱۰۰ و گلیسـین بتـائین ۵ میلی‌مـولار اسـید آسـکوربیک ppm ۱۰۰ اخـتلاف معنی‌داری را با شاهد نشان ندادند.



شکل ۲: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان کلروفیل b گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

اثر گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک اگزوژن بر فعالیت کاتالاز گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

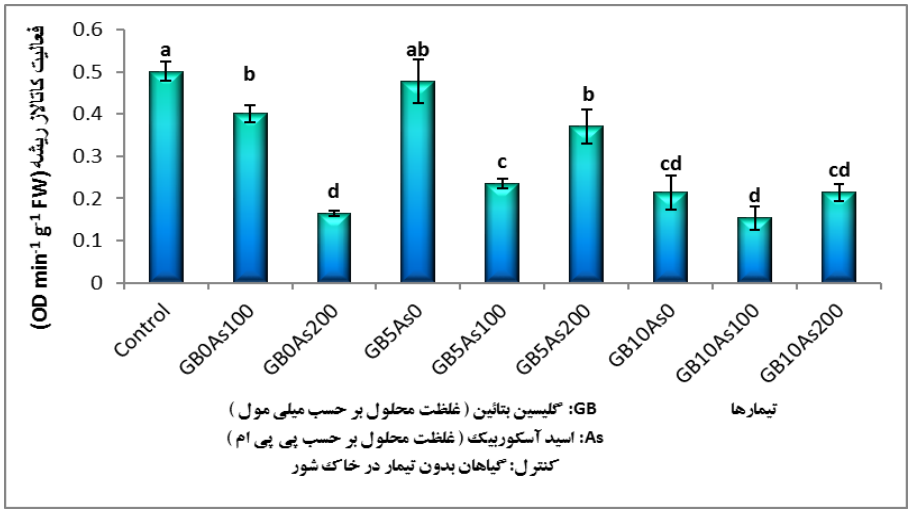
کاتالاز اندام هوایی: بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان کاتالاز در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ۱۰۰ppm مشاهده شد. تیمارهای اسید آسکوربیک در هر دو غلظت کاربردی منجر به کاهش فعالیت آنزیم شد و کاربرد گلیسین بتائین نیز در هر دو غلظت منجر به کاهش فعالیت آنزیم شد. اختلاف بین تیمارهای گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ۰ ppm و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ۰ ppm معنی‌دار نبود. کاربرد توام اسید آسکوربیک و گلیسین بتائین در تیمارها منجر به کاهش فعالیت آنزیم کاتالازی اندام هوایی شد که البته این کاهش در تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ۲۰۰ppm نسبت به شاهد معنی‌دار نبود.



شکل ۳: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر فعالیت کاتالاز اندام هوایی گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

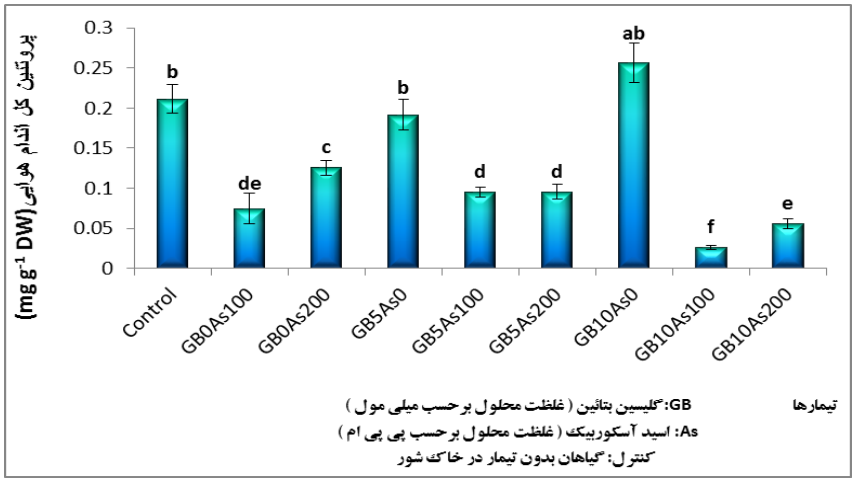
کاتالاز ریشه: طبق نمودار شکل ٤، بیشترین میزان فعالیت کاتالازی ریشه در تیمار شاهد مشاهده شد و کاربرد اسید آسکوربیک در هر دو غلظت کاربردی منجر به کاهش شد، به طوری که در غلظت ppm ۲۰۰ کاهش بیشتری را نشان داد.

کاربرد گلیسین بتائین نیز در هر دو غلظت کاهش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم موجب شد و اختلاف بین گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm۰ و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm۰ معنی‌دار بود. کاربرد گلیسین بتائین و اسیدآسکوربیک توام منجر به کاهش فعالیت آنزیم شد و بیشترین کاهش در تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۱۰۰ مشاهده شد.



شکل ٤: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر فعالیت کاتالاز ریشه گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

اثر گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک اگزوژن بر محتوای پروتئین گیاه نخود تحت تنش شوری خاک



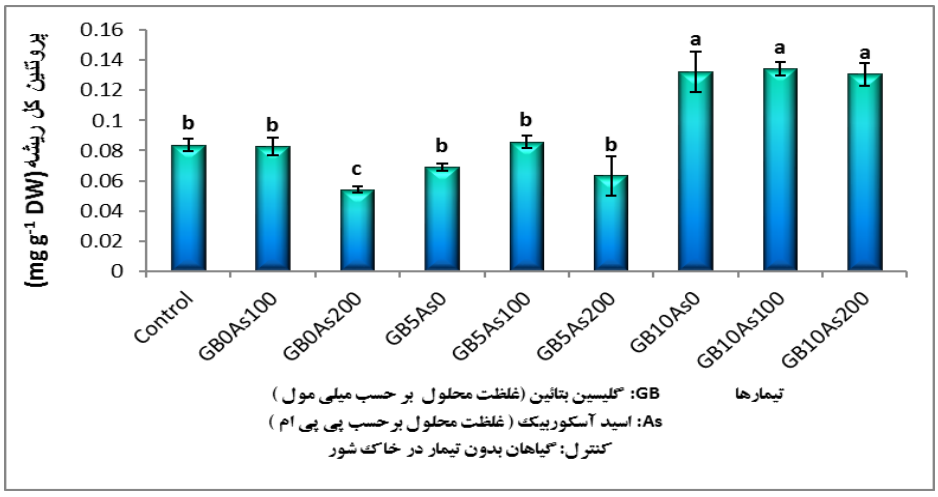
شکل۵: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان پروتئین اندام هوایی گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

پروتئین اندام هوایی: طبق نمودار شکل ۵، بیشترین میزان پروتئین اندام هوایی در تیمارهای گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۰ مشاهده شد که اختلافش با شاهد معنی‌دار نبود و کمترین آن

مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ بود. تحت تیمارهای اسید آسکوربیک در هر دو غلظت کاربردی میزان پروتئین اندام هوایی کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد و کاربرد گلیسین بتائین در هر دو غلظت منجر به اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین نسبت به شاهد نشد. کاربرد توام این دو ترکیب در همه تیمارها منجر به کاهش معنی‌داری شد، به طوری که بیشترین میزان کاهش مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ بود.

پروتئین ریشه: بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان پروتئین در تیمارهای گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm۰، گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm۲۰۰ مشاهده شد و کمترین آن مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm۲۰۰ بود. تحت تیمار اسیدآسکوربیک در غلظت‌های ppm ۱۰۰ اختلاف معنی‌داری را در میزان پروتئین ریشه نسبت به شاهد مشاهده نشد، در حالی که در تیمار گلیسین بتائین ۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ پروتئین ریشه کاهش یافت. گلیسین بتائین نیز در غلظت‌های۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری را نسبت به شاهد موجب نشد، در حالی که در تیمار ۱۰ میلی‌مولار پروتئین ریشه افزایش معنی‌داری یافت.

تحت تیمارهای توام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ پروتئین ریشه افزایش یافت، در حالی که تحت تیمارهای گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm۲۰۰ و گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm۱۰۰ اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین ریشه مشاهده نشد.



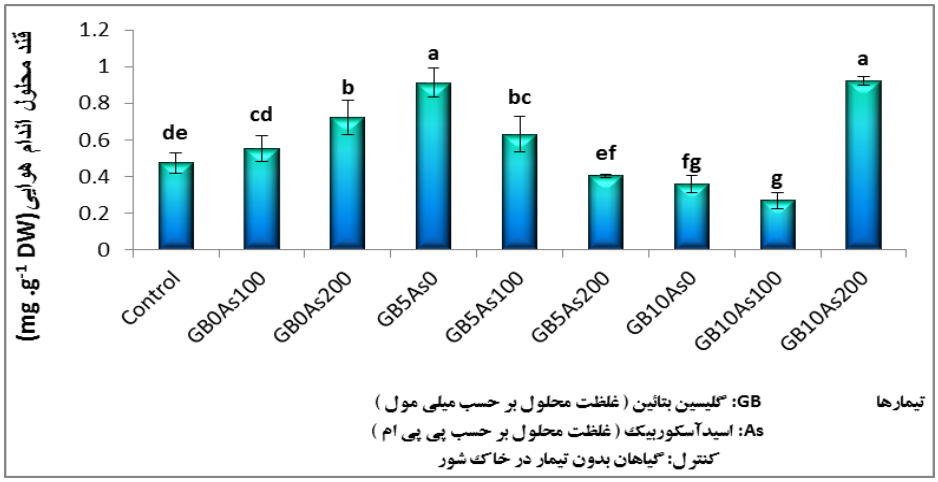
شکل ٦: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان پروتئین ریشه گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

اثر گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک اگزوژن بر قندهای محلول گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

قندهای محلول اندام هوایی: بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۰ و گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ و کمترین آن مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm

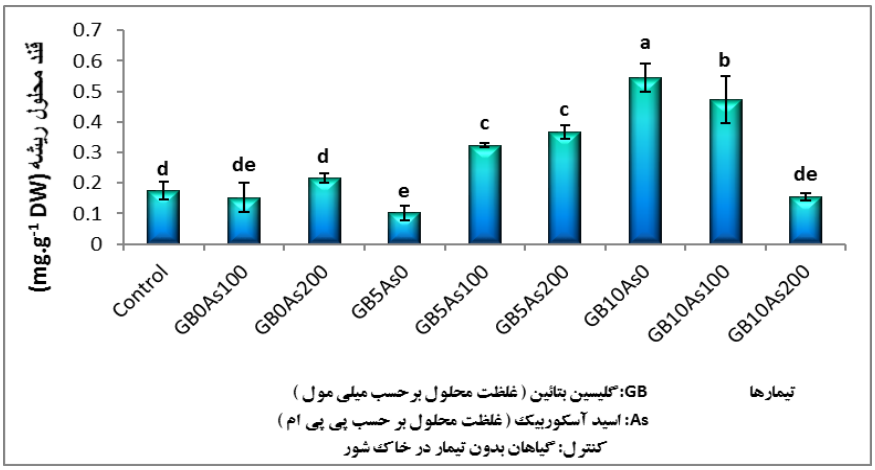
۱۰۰بود. تحت تیمارهای اسید آسکوربیک در هر دو غلظت کاربردی میزان قندهای محلول نسبت به شاهد افزایش یافت. البته این افزایش در تیمار گلیسین بتائین ۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ معنی‌دار نبود.

کاربرد گلیسین بتائین در غلظت ۵ میلی‌مولار منجر به افزایش و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار منجر به کاهش معنی‌داری در میزان قندهای محلول شد. تحت تیمارهای توام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ و گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۰ میزان قندهای محلول افزایش و تحت تیمارهای توام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۱۰۰ و گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ میزان قندهای محلول کاهش معنی‌داری یافت.



شکل ۷: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان قندهای محلول اندام هوایی گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

قندهای محلول ریشه: طبق نمودار شکل ۸، بیشترین میزان قندهای محلول ریشه در تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۰ مشاهده شد و کمترین آن مربوط به تیمار گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۰ بود. تحت تیمارهای اسیدآسکوربیک در هر دو غلظت اختلاف معنی‌داری در میزان قندهای محلول ریشه مشاهده شد و تحت تیمارهای گلیسین بتائین ۵ میلی‌مولار میزان قند کاهش و تحت تیمار ۱۰ میلی‌مولار گلیسین بتائین میزان قند افزایش یافت. تحت تیمار توام گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسید آسکوربیک ppm ۲۰۰ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که تحت تیمارهای دیگر توام افزایش معنی‌داری در میزان قندهای محلول مشاهده شد.



شکل ۸: اثر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک بر میزان قندهای محلول ریشه گیاه نخود تحت تنش شوری خاک

بحث

طبق نتایج پژوهش حاضر، میزان کلروفیل a,b تحت تیمار غلظت‌های مختلف اسیدآسکوربیک نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش تحت تیمار ppm ۲۰۰ اسیدآسکوربیک نسبت به شاهد معنی‌دار بود. گلیسین بتائین نیز در غلظت ۱۰ میلی‌مولار منجر به افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل a,b نسبت به تیمار شاهد شد و در غلظت پایین‌تر (۵ میلی‌مولار) اختلاف معنی‌داری را نسبت به تیمار شاهد نشان نداد. میزان کلروفیل a,b و تحت تیمار توام (گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۲۰۰) افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد. کاهش سیستم رنگیزه ای به‌دلیل اثرگذاری شوری بر کمپلکس پروتئین، رنگیزه و لیپید و یا به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز است. به عبارت دیگر، تغییرات در سیستم رنگیزه‌ها تحت تاثیر غلظت و زمان شوری قرار می‌گیرند (Doganlar et al., 2010).

گزارش شده است در نتیجه کاهش وضعیت ردوکس اسیدآسکوربیک، کاهشی در میزان کلروفیل و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b و افت آسیمیلاسیون CO_2 در برگ‌های تنباکو مشاهده شده است (Chen Gallie, 2004 and). تحقیقات نشان داده است استفاده از اسید آسکوربیک در باقلا (*Faba bean*) سبب افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید شده است. افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ‌های این گیاه ممکن است به علت نقش این آنتی‌اکسیدان در محافظت از کلروپلاست در برابر آسیب‌های اکسیداتیو باشد (Munne-Bosch et al., 2001).

مطالعات متعددی حاکی از آن هستند که یکی از اثرات گلیسین بتائین تاثیر آن بر افزایش میزان تولید کلروفیل‌ها است. با مطالعه روی گیاه ذرت نشان داد که تیمار گلیسین بتائین برونزاد (۱۰ میلی‌مول) موجب افزایش تولید کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئیدها شد. گلیسین بتائین باعث افزایش توان آسمیلاسیون CO_2 فتوسنتزی می‌شود (Makela et al., 1999) و کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II و هدایت روزنه ای را افزایش می‌دهد (Yung and Lu, 2005).

در مطالعه گلیسین بتائین برگیاه گندم تحت استرس فلزات سنگین، گلیسین بتائین باعث افزایش کلروفیل a و b شد که مشابه آن در مطالعه Hayat Bhatti و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شد. پیشنهاد شده که تحت شرایط کم آبی گلیسین بتائین به عنوان یک اسمولیت عمل کرده و کلروپلاست و رنگیزه‌های کلروفیل را حفاظت می‌کند (Zhao et al., 2007). که این نظر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

در تحقیق حاضر تیمار گلیسین بتائین در غلظت ۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری در میزان پروتئین برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد نشان نداد، در حالی که در غلظتهای بالاتر (۱۰ میلی‌مولار) منجر به افزایش معنی‌دار پروتئین برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد اسید آسکوربیک منجر به کاهش میزان پروتئین برگ و ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد توام آنها تحت تیمارهای (گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۲۰۰) و (گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار اسیدآسکوربیک ppm ۱۰۰) منجر به افزایش پروتئین ریشه نسبت به تیمار شاهد و کاربرد توام در همه تیمارهای مورد مطالعه منجر به کاهش پروتئین اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شد. Schobert (۱۹۹۷) اثر پایدار کنندگی گلیسین بتائین را به اثر متقابل مستقیم با یک پروتئین نسبت داد. بر طبق نظر وی، بخش هیدروفوبیک گلیسین بتائین به قسمت هیدروفوبیک پروتئین متصل می‌شود، در نتیجه در زمان خشکی، مولکول‌های آب پدیدار می شوند. این فعالیت گلیسین بتائین اجازه می‌دهد مناطق هیدروفوبیک پروتئین قابلیت دسترسی بیشتری به آب پیدا کرده و از فروریختگی پروتئین جلوگیری می‌کند. گلیسین بتائین به عنوان یک تعدیل کننده اسمزی در سیتوپلاسم در شرایط تنش خشکی موجب ثبات در آنزیم‌ها و پروتئین‌ها شده و فشار تورژسانس را حفظ می‌نماید (Wyn Jones and Storey, 1981). در مطالعه اثر اسید آسکوربیک اگزوژن بر مقاومت *Silybum marianum* L. تحت تنش شوری، ویتامین C وزن رشته‌های پروتئینی را افزایش داد؛ به‌طوری که پروتئین‌هایی با وزن‌های مولکولی ۲۰۵، ۸۷، ۸٤، ٦٥ و ٤٥ کیلودالتون مشاهده شدند (Aytül Ekmekçi and Karaman , 2012).

Bassuony و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که تیمار با اسید آسکوربیک موجب تغییر معنی‌دار در آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم پروتئین می‌شود؛ که نشان می‌دهد ویتامین‌ها ممکن است به‌عنوان فعال کننده‌های سنتز پروتئین عمل کنند؛ که این نظر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

طبق نتایج پژوهش حاضر، کاربرد اسید آسکوربیک و گلیسین بتائین در هر دو غلظت منجر به کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز) در ریشه و اندام هوایی نسبت به شاهد شد. همچنین کاربرد توام دو ترکیب ذکر شده نیز در همه تیمارها منجر به کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردید. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که گلیسین بتائین باعث پایداری و استحکام ساختارها و فعالیت‌های آنزیمی و ترکیب‌های پروتئینی می‌شود و پایداری دیواره سلولی در مقابل اثرات آسیب رسانی بیش از حد نمک، سرما، گرما و یخ زدگی از جمله فعالیت‌های آن به شمار می‌رود (Gorham, 1995).

کاربرد غلظت‌های مختلف اسید آسکوربیک در باقلا (*Faba bean*) سبب کاهش فعالیت پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شاهد گشت. می‌توان کاهش در فعالیت این آنزیم‌ها را به عملکرد مستقیم آنتی‌اکسیدآنها جهت جاروب‌سازی رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد و یا جلوگیری از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن نسبت داد (Asada, 1999).

به نظر برخی از محققان کربوهیدرات‌هایی شناسایی شدند که سبب تعدیل اثر بازدارندگی خشکی بر روی نسخه برداری از ژن‌های فتوسنتزی می‌شوند. برای نمونه، بیان ژن‌های کُدکننده زیر واحدهای کوچک و بزرگ روبیسکو در طی خشکی، بیانگر مکانیسم کنترل شده‌ای است که این امر می‌تواند یکی از دلایل تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ باشد (Koch, 1996).

طبق نتایج حاضر، کاربرد اسید آسکوربیک در هر دو غلظت منجر به افزایش قندهای محلول اندام هوایی شد و در میزان قندهای محلول ریشه اختلاف

معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. کاربرد گلیسین بتائین در غلظتهای ۵ میلی‌مولار منجر به افزایش قند اندام هوایی و کاهش قند ریشه نسبت به تیمار شاهد شد و در غلظت ۱۰ میلی‌مولار منجر به کاهش معنی‌دار در میزان قند برگ و افزایش معنی‌داری در میزان قند ریشه نسبت به تیمار شاهد شد. کاربرد توام تحت تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار آسکوربات ppm ۱۰۰ منجر به کاهش معنی‌دار در میزان قند ریشه نسبت به تیمار شاهد و تحت تیمار گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار آسکوربات ppm ۲۰۰ منجر به افزایش نسبت به تیمار شاهد شد و تحت همه تیمارهای توام منجر به افزایش قند محلول ریشه شد.

در تحقیق حاضر همچنین کاهش میزان قند محلول اندام هوایی در نتیجه ی کاربرد گلیسین بتائین ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد. به نظر می‌رسد گلیسین بتائین در غلظت ۱۰ میلی‌مولار خود به عنوان یک اسمولیت در کاهش اثرات سوء تنش مفید بوده و در نتیجه منجر به کاهش قندهای محلول اندام هوایی شد.

گزارش شده است که اسید آسکوربیک بر تشکیل پروتئین‌های دفاعی مثل انواع پروتئین کیناز و روبیسکو اثر می‌گذارد و در نتیجه باعث کاهش اثر تنش بر افزایش مقدار قندهای محلول می‌گردد (Sairam et al., 1997). نقش اسیدآسکوربیک بر روی رشد گلایول (Gladiolus) مطالعه شده است. نتایج نشان داده که به کار بردن اسید آسکوربیک به‌طور اگزوژن با غلظت ppm ۲۰۰ افزایش معنی‌داری در مقدار قند محلول و و محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی آن داشته است (Bedour et al., 2011). همچنین به‌طور مشابه در گل جعفری (*Tagetes erecta*) تحت تاثیر اسید آسکوربیک میزان قند محلول و مقدار کلروفیل افزایش یافته است (Rawia et al., 2011).

مطالعات انجام شده بر روی گیاه نشان می‌دهد کاهش قند محلول موجب کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی می‌شود در نتیجه میزان تثبیت CO_2 کاهش می‌یابد. ارتباط اسیدآسکوربیک با قند محلول به علت اثر حفاظتی آن بر روی سیستم فتوسنتزی می‌باشد (Ameer et al., 2006).

نتیجه‌گیری نهایی

اثرات زیانبار شوری در گیاهان را می توان در تمام سطوح اعم از کاهش رشد و باروری تا مرگ گیاه مشاهده نمود. تنش شوری رشد و نمو گیاهان را از طریق تنش اسمزی، سمیت یون‌ها و نامتعادل سازی تغذیه‌ای تحت تاثیر قرار می‌دهد. استفاده ازگلیسین بتائین و اسید آسکوربیک کمک زیادی به تعادل یون و سنتز بهتر اسمولیت‌ها می‌کند. مشاهده شد که در حضور گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک قندهای محلول، پروتئین و کاتالاز روند کاهشی داشتند و میزان کلروفیل افزایش یافت. بنابراین می‌توان چنین بیان کرد که گلیسین بتائین و اسید آسکوربیک می‌توانند در برابر تنش شوری از سلول محافظت کرده و شرایط بهتری را برای رشد گیاه در محیط شور فراهم کنند.

منابع

بهبودیان، ب.، لاهوتی، م. و نظامی، ا. (۱۳۸٤). بررسی اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی ارقام نخود. مجله علمی کشاورزی. شماره ۲۸. جلد ۲. صفحات ۱۳۷–۱۲۸.

رضایی، م.ع. (۱۳۸۹). اثرات گلیسین بتائین برونزاد بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و عملکرد گیاه سویا (*Glycine max* L.). فصلنامه پژوهش‌های علوم گیاهی، شماره ۱۷، جلد ۱. صفحات ۲۳–۳٦.

قربانلی، م. (۱۳۸۷). جذب و انتقال در گیاهان. انتشارات دانشگاه پیام نور. صفحه ۳۰.

قربانلی، م.، ساطعی، آ. و اسدی کاوان، ژ. (۱۳۸۸). اثر تنش خشکی و آسکوربات خارجی بر روی رنگیز ه‌های فتوسنتزی، فلاونوئیدها، ترکیبهای فنلی و میزان

پراکسیداسیون لیپیدی در گیاه انیسون (*Pimpinella anisum* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۵، شماره ٤، صفحات ٤٦٩-٤٥٦.

قربانلی، م. بخشی خانیکی، غ.، سلیمی الیزئی، ص. و هدایتی، م. (۱۳۸۹). اثرکمبود آب و برهمکنش آن با اسیدآسکوربیک بر مقدار پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز در سیاه دانه (*Nigella sativa* L.). فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. شماره ٢٦، جلد ٤، صفحات ٤٧٦-٤٦٦.

Ameer, K.H., Muhammad, S.A.A and Habib, U.R.A. (2006). Interactive effect of foliarly applied ascorbic acid and salt stress on wheat at the seedling stage. Pakistan Journal of Botany. 38 (5):1407-1414.

Arrigioni, O. and De Tullio, M.C. (2002). Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. Biochimica et Biophysica Acta. 1569(1-3):1-9.

Asada K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 50:601–63.

Ashraf, M. and Harris, P.J.V. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant science. 166: 6-16.

Athar, H.R., Khan, A. and Ashraf, M. (2008), Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat, Environmental and Experimental Botany. 63: 224-231.

Aytül Ekmekçi, B. and Karaman, M. (2012). Exogenous ascorbic acid increases resistance to salt of *Silybum marianum* (L.). African Journal of Biotechnology. 11(42): 9932-9940.

Bassuony, F.M., Hassanein, R.A., Baraka, DM., and Khalil, R.R. (2008). Physiological effects of nicotinamide and ascorbic acid on *Zea mays* plant grown under salinity stress II- Changes in nitrogen constituent, protein profiles, protease enzyme and certain inorganic cations. Australian Journal of Applied Science. 2: 350-359.

Bedour, A., Abo, L. and Rawia, A. (2011). Improving gladiolus growth, flower keeping quality by using some vitamins application. Journal of American Science. 7(3):173-169.

Beltagi, M.S. (2008). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic Changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. African Journal of Plant Science. 2(10):118-123.

Bruinsma, J. (1963). The quantitative analysis of chlorophylls a and b in plant extracts. Journal of Photochemistry and Photobiology. 2: 241-249.

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

Chen, THH. and Murata, N. (2002). Enhancement of tolerance to abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. Current Opinion in Plant Biology. 5:250-257.

Chen, Z. and Gallie, D.R. (2004). The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. Plant Cell. 16:1143–1162.

Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K. (2011). High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. indica. Australian Journal of Crop Science. 5:1191-1198.

Demiral, T. and Türkan, I. (2006). Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany. 56(1):72-79.

Doganlar ZB, Demir K, Basak H, Gul I. (2010). Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of the three different Tomato cultivars. African Agricultural Journal. 5 (15): 2056-2065.

Eyidogan, F. and Oz, M.T. (2005). Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Acta Physiology Plant. 29:485-493.

Geholt, H.S., Purohit, A. and Shekhawat, N.S. (2005). Metabolic changes and protein patterns associated with adaptation to salinity in *Sesamun indicum* cultivars. Journal of Cell and Molcular Biology 4: 31-39.

Gorham, J. (1995). Betaines in higher plants biosynthesis and role in stress metabolism. In: Amino Acids and Their Derivatives in Higher Plants, (ed.) R. M. Wallsgrove., Cambridge University Press., Cambridge. PP. 171–203.

Hayashi, H., Alia, A., Sakamato, H., Nonaka, Tong, H.H., and Murata, N. (1998). Enhanced Germination under high – salt conditions of seeds of Transgenic Arabidipsis with a bacterial gene (coda A) for coline oxidese. Journal of Plant Research. 111:357-362.

Khan, M.H. and Panda, S.K. (2008). Alterations in root lipid peroxidation and

Reza, S.H., Athar, H.U.R. and Ashraf, M. (2006). Influence of exogenously applied glycinebetaine on the photosynthetic capacity of two differently adopted wheat cultivars under salt stress. Pakistan Journal of Botany. 38:241-251.

Robinson, SP. and Jones, GP. (1986). Accumulation of glycine betaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress. Australian Journal Plant Physiology. 13: 659–668.

Sairam, A.K., Deshumk, P.S. and Skukla, D.S. (1997). Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. Agronomy and Crop Science. 178: 171-187.

Sajid, ZA., Aftab, F. (2009). Amelioration of salinity tolerance in Solanum tuberosum L. by exogenous application of ascorbic acid. In vitro Cell Development. 45: 540-549.

Schobert, B. (1977). Is there an osmotic regulatory mechanism in algae and higher plants? Journal of Theoretical Biology. 68:17–26.

Turan, MA., Katkat, V. and Taban, S. (2007). Variations in proline, chlorophyll and mineral elements contents of Wheat plants grown under salinity stress. Agronomy Journal. 6 (1): 137-141.

Wimmer, MA., Muhling, KH., and Lauchli, A.L. (2003). The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. Plant Cell Environment. 26: 1267-1274.

Wyn Jones, R.G. and Storey, R. (1981). Betaines. In: The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. (Eds. L. G. Paleg and D. Aspinall). 171-204, Academic Press, NewYork.

Yang, X. and Lu, C. (2005). Photosynthesis is improved by exogenous glycine betaine in salt stressed maize plants. Physiologia Plantarum. 124:343-352.

Yu, Q. and Rengel, Z. (1999). Drought and salinity differentially influenced activities of superoxide dismutase in narrow-leafed lupine. Plant Science.142:1-11.

Zhao, X.X., Ma, Q.Q., Liang, C., Wang, YQ. and Wang, W. (2007). Effect of glycinebetaine on function of thylakoid membranes in wheat flag leaves under drought stress. Biology Plant. 51:584–588.

antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinitystress. Acta Physiologiae Plantarum. 30:91-89.

Hayat Bhatti, K., Anwar, S., Nawaz, K., Hussain Ejaz, K., Siddiqi, H., Usman Sharif, R., Talat, A. and Khalid, A. (2013). Effect of Heavy Metal Lead (PB) Stress of Different Concentration on Wheat (*Triticum aestivum* L.). Middle-East Journal of Scientific Research. 14 (2): 148-154.

Kochert, G. (1978). Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method, In Helebust , J. A., Craig, J. S (ed) Handbook physiological methods, Cambridge university. Press Cambridge, 9697.

Koch, K.E. (1996). Carbohydrate modulated gene expression in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 47: 509–540.

Kukreja, S., Nandval, A.S., Kumar, N., Sharma, S. K., Sharma, S.K., Unvi, V., Sharma, P.K. (2005). Plant water status, H2O2 scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of Cicer arietinum roots as affected by salinity. Biology Plant. 49:305-308.

Lawry, O.D., Reserbrough, N., Foil, A.L. and Romdall, R.J. (1951). Protein measurment with the folin phenol reagent. Journal Biology and Chemistry. 193: 265-275.

Makela, P., Jokinen, K., Kontturi, M., Peltonen-Sainio, P., Pehu, E. and Somersalo, S. (1999). Foliar application of glycine betaine – a novel product from sugar beet, as an approach to increase tomato yield. Industrial Crops and Products. 7: 139–148.

Meloni, D.A., Gulotta, M.R., Martinez, C.A. and Oliva, M.A. (2004). The effect of salt stress on growth, Nitrate reductions and praline and glycinebetaine accumulation in Prosopis Alba. Barzilian. Journal Plant Physiology. 16: 39-46.

Munne-Bosch, S., Jubany-Mari, T. and Alegre, L. (2001). Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defences in chloroplasts. Plant Cell Environment. 24:1319-1327.

Parvaiz, A. and Satyavati, S. (2008). Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. Plant Soil Environment. 54: 89-99.

Rawia, A., Taha, L.S. and Ibrahiem, S. M.M. (2011). Alleviation of Adverse Effects of Salinity on Growth, and Chemical Constituents of Marigold Plants by Using Glutathione and Ascorbate. Journal of Applied Sciences. 7 (5): 714-721.