مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۳، ۱۳۸۹ (۵۰۲-۴۹۱)

اثر تنش شوری بر متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فلورسانس کلروفیل و تنظیم‌کننده‌های اسمزی پنج رقم کلزا

مصطفی حیدری[۱]*، فاطمه مصری[۲] و زینب کیخا[۳]
۱، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل، ۲، ۳، کارشناسان پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل
(تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۱۵ - تاریخ تصویب: ۸۸/۱۱/۱۱)

چکیده

به منظور بررسی نقش آنزیم دزوکسی ریبونوکلئازI، میزان کل اسیدهای نوکلئیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) وگایاکول پراکسیداز (GPX) و دو تنظیم‌کننده اسمزی قندهای محلول و پرولین به همراه مقدار کلروفیل و فلورسانس کلروفیل بر میزان تحمل به شوری پنج رقم کلزا، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مرکز زیست فناوری دانشگاه زابل (بیوسنتر) انجام گرفت. پنج رقم کلزا به نام‌های Hyola308، Hyola401، Hyola60، Option50 و RGS003 بعنوان فاکتور A و چهار سطح شوری ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl بعنوان فاکتور B در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها نشان داد شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم دزوکسی ریبونوکلئازI و مقدار کل اسیدهای نوکلئیک موجود در بافت برگ‌ها داشت و سبب افزایش آنها گردید. میزان این دو ترکیب در بالاترین سطح تیمار شوری در رقم RGS003 نسبت به ارقام دیگر به طور معنی‌داری بالاتر بود. شوری منجر به کاهش وزن تر و خشک و افزایش مقادیر قندهای محلول و پرولین در دو بخش هوایی و ریشه ارقام کلزا شد. رقم Hyola401 بیشترین مقادیر این دو ترکیب را در هر دو بخش دارا بود. مقدار کلروفیل برگ‌ها در تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار نمک نسبت به شاهد کاهش نشان داد و اثر معنی‌داری بر میزان فلورسانس کلروفیل نداشت. میزان فعالیت دو آنزیم APX و CAT در هر دو بخش ساقه و ریشه در تیمارهای شوری افزایش معنی‌داری نشان داد ولی مقدار GPX کاهش داشت. در بین ارقام، بیشترین میزان فعالیت آنزیم CAT در هر دو بخش هوایی و ریشه را رقم Option50 و APX را رقم RGS003 به طور معنی‌داری دارا بودند. براساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد که رقم RGS003 در طی مواجه شدن با شوری از دو مکانیسم بالا بردن فعالیت آنزیم دزوکسی ریبونوکلئازI و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان استفاده می‌کند و از کارایی بالاتری نسبت به سایر ارقام برخودار بود.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای نوکلئیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده‌های اسمزی، کلزا، شوری.

* نویسنده مسئول: مصطفی حیدری تلفن: ۰۹۱۵-۵۷۱۰۹۷۲ E-mail: Haydari2005@gmail.com

مقدمه

شوری یکی از عوامل مهم کاهش رشد و عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی بخصوص در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا به شمار می‌رود. شوری منجر به کاهش رشد و تغییراتی در متابولیسم گیاهان می‌شود (Munns, 1993). کم شدن پتانسیل آب در محیط ریشه، سمیت برخی از یونها همانند Na^+ و Cl^- و نیز عدم تعادل عناصر غذایی در بخش هوایی به واسطه بر هم خوردن جذب عناصر غذایی از عوامل مهم کاهش رشد گیاهان در این شرایط به شمار می‌رود (Marschner, 1995).

کاهش بیوماس تولیدی، کم شدن کارایی فتوسنتز و تغییر در میزان تورگر برگ از اثرات اولیه شوری در گیاهان است (Munns, 2000) گزارش شده، شوری همانند دیگر تنش های محیطی می‌تواند سبب تولید رادیکالهای آزاد جهت کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو در طی بروز تنش شوری، گیاهان از یک سیستم پیچیده دفاعی آنتی اکسیژن (ROS) همانند سوپر اکسید (O_2^-)، هیدروژن پر اکسید (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) در درون سلول شود. این ترکیبات خسارت زیادی را از طریق اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می‌کنند (Appel & Hirt, 2004).

اکسیدان استفاده می‌کنند. از آنتی‌اکسیدان‌ها درگیر در این سیستم که دارای وزن مولکولی کمی هستند می‌توان به کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) اشاره کرد. این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند، بسته به گونه گیاهی و شدت تنش میزان فعالیت آنها در گیاهان تغییر می‌کند (Alscher et al., 1997).

در بسیاری از گیاهان زراعی همانند گندم (Sairam et al., 2002) و پنبه (Gosset et al., 1994) بالا رفتن میزان فعالیت این آنزیم‌ها در طی بروز تنش شوری گزارش شده است. بالا رفتن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش تنها مکانیسم تحمل به شوری نیست بلکه این مکانیسم می‌تواند در کنار ترکیبات سازگارکننده همانند پرولین و کربوهیدرات‌ها بر میزان تحمل گیاهان بیافزاید. همچنین در این شرایط از میزان فعالیت DNA کاسته می‌شود و این امر به سبب بالا رفتن میزان فعالیت آنزیم‌هایی همانند دزوکسی ریبونوکلئاز می‌باشد. گزارش شده است در شرایط تنش شوری غلظت این نوع آنزیم‌ها در درون سلول گیاهان خانواده Chenopodiaceae بالا می‌رود (ABO-Kassem, 2007).

مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش شوری تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگارکننده) تجمع می‌یابد، این ترکیبات تداخلی در فرآیندهای شیمیایی آنها وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسید آمینه، پرولین و گلیسین - بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگارکننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good & Zaplachiniski, 1994).

در اکثر گیاهان زراعی از جمله کلزا بررسی‌های متعددی در مورد واکنش به تنش شوری و تغییراتی که در میزان ترکیبات سازگارکننده آنها بوجود می‌آید صورت گرفته است اما هنوز به خوبی رابطه بین میزان این ترکیبات با مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند APX، GPX و CAT مشخص نیست و معلوم نیست که چه ارتباطی بین دو مکانیسم تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با تغییراتی که در میزان فعالیت آنزیم‌های درگیر در ساخت DNA بوجود می‌آید و چگونه اینها در مقاومت به شوری در کلزا نقش ایفا می‌کنند. لذا هدف از این آزمایش بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، APX و GPX، مقادیر کلروفیل و فلورسانس کلروفیل در پنج رقم کلزا (ارقام رایج قابل کاشت در اکثر نقاط کشور) و نیز رابطه آنها با میزان دو تنظیم‌کننده اسمزی قندهای محلول، پرولین و نیز مقادیر کل اسیدهای نوکلئیک و فعالیت آنزیم ذروکسی ریبونوکلئازI بوده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد آزمایشگاه

زیست فناوری (بیوسنتر) دانشگاه زابل در سال ۱۳۸۷ اجرا گردید. سطوح مختلف شوری شامل چهار سطح شاهد (صفر)=S_0، S_1=۱۰۰، S_2=۲۰۰ و S_3=۳۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl و پنج رقم کلزا در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. ارقام کلزا شامل Hyola308، Hyola401، Hyola60، Option50 و RGS003 بودند. بعد از جوانه دار کردن بذور ارقام کلزا در پتریدیش، گیاهچه‌ها به داخل گلدان‌های حاوی محلول غذایی هوگلند در اتاقک رشد انتقال داده شدند. ۵ روز بعد از قرارگیری گیاهان در محیط غذایی، سطوح مختلف شوری با استفاده از نمک NaCl تهیه و با اضافه کردن تدریجی آنها به میزان ۲۵ درصد هر سطح (جهت ساگار شدن گیاهان)، بعد از یک هفته کل تیمار شوری به گیاهان اعمال گردید. در طول آزمایش هر هفته محلول غذایی به صورت کامل تعویض می‌گردید. پس از ۳۰ روز اعمال تنش گیاهان موجود در هر سطح گلدان برداشت، وزن تر گیاهان، غلظت دو تنظیم‌کننده اسمزی قندهای محلول و پرولین به همراه میزان فعالیت آنزیم‌های APX، GPX و CAT در دو بخش هوایی و ریشه آنها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند.

مقادیر دو تنظیم‌کننده اسمزی قندهای محلول و پرولین در جوانترین برگ ها اندازه‌گیری شدند. قندهای محلول با استفاده از اتانول و براساس روش اسید سولفوریک (Schlegel , 1956) و پرولین با استفاده از روش .Bates et al 1973) از بافت سبز و تازه برگ‌ها استخراج و اندازه‌گیری شدند. در این بین میزان کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه SPAD و فلورسانس کلروفیل با دستگاه استرس‌متر دستی (Plant stress meter Biomontor AB) انجام گرفت.

برآورد میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبو نوکلئاز I

بعد از اعمال تیمارهای شوری و پس از برداشت گیاهان، میزان کل اسیدهای نوکلئیک موجود در بافت سبز برگ‌ها با روش Chaykin (1970) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم دزوکسی ریبوکلئازI براساس روش Kunitz (1950) در بافت سبز برگ‌ها اندازه‌گیری گردید. برای این منظور برگ‌های تازه برداشت شده گیاهان از سطوح مختلف شوری به مدت ۲۰ دقیقه در آب مقطر دوبار تقطیر قرار داده شدند. میزان ۰/۵ گرم از بافت تر برگ‌ها در سوبسترایی که براساس پروتکل Kuntiz (1950) تهیه شده بود، بعد از سانتریفوژ نمودن کردن و اضافه نمودن ۲/۵ سی‌سی از محلول بافر سوبسترا که دارای pH=۵ بود میزان فعالیت آنزیم دزوکسی ریبونوکلئاز I در طول موج ۲۶۰ نانومتر قرائت و اندازه‌گیری شد.

استخراج عصاره وروش اندازه‌گیری آنزیم‌ها

مواد و محلول‌ها

تهیه بافر Ice–Cold Extraction: این محلول شامل محلول بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷ و محلول EDTA 0.1 mM درحجم cc ۴ بود. برای محلول پتاسیم فسفات از دو نمک KH_2PO_4 و K_2HPO_4 استفاده شدند. جهت تهیه محلول ابتدا محلول ۱ مولار از هر کدام از این نمک‌ها تهیه سپس ۲۵ سی‌سی از آنها برداشت، با هم مخلوط و به حجم ۱۰۰ سی‌سی رسانده شدند. pH این محلول در حد ۷ تنظیم گردید.

تهیه محلول EDTA: این محلول در حجم ۵۰ سی‌سی و با غلظت ۰/۲ مولار ساخته شد. برای تهیه بافر Ice–Cold Extraction، ۱۶۰۰ میکرولیتر از بافر پتاسیم فسفات به همراه ۲۰ میکرولیتر EDTA برداشت و به حجم ۴cc رسانده شدند. جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ برداشت و با ۴ سی سی بافر Ice – cold extraction در هاون سرد کاملاً ساییده، به صورت همگن در آورده شدند. مخلوط همگن از کاغذ صافی عبور و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی مورد استفاده گردید. همه این عملیات‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. در نهایت جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش Beers & Sizer (1952)، آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز (APX) از روش Nakano & Asada (1981) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از روش Urbanek et al. (1991) استفاده شدند.

در نهایت داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام پذیرفت. برای رسم نمودارها و جداول از برنامه‌های EXCEL و

WORD استفاده گردید.

نتایج و بحث

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه آماری داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین ارقام، سطوح مختلف شوری و اثر متقابل این دو بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) وجود داشتند. با بالا رفتن میزان شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار بر میزان فعالیت دو آنزیم APX و CAT در هر دو بخش هوایی و ریشه به طور معنی‌داری افزوده، اما از فعالیت آنزیم GPX در این دو بخش به طور معنی‌داری کاسته شدند. این افزایش برای APX و CAT در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد به ترتیب در ریشه برابر ۸۱/۷ و۵۵/۵ درصد و در بخش هوایی به ترتیب معادل ۷۷/۶ و ۶۲/۷ درصد بودند (جدول۲).

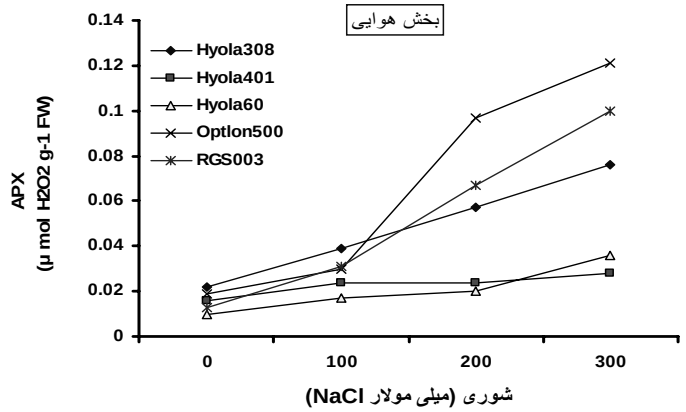
بالا رفتن میزان فعالیت تنها دو آنزیم APX و CAT در دو بخش هوایی و ریشه گیاهچه‌های کلزا نشان‌دهنده تأثیر این دو آنزیم از بین سه آنزیم آنتی‌اکسیدان بر میزان تحمل به شوری در این گیاهان می‌باشند (Appel & Hirt, 2004). در آزمایشی Alvesda Costa et al. (2005) اعلام کردند در اثر تنش شوری بر میزان فعالیت دو آنزیم APX و GPX در دو بخش هوایی و ریشه ارقام مختلف سورگوم افزوده و از فعالیت آنزیم CAT کاسته شد.

نتایج مربوط به اثرات متقابل شوری و ارقام نشان داد در طی اعمال تنش شوری، رقم Optlon50 در سطح شوری S_3 (۳۰۰ میلی‌مولار NaCl) دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم APX هم در بخش هوایی و هم در بخش ریشه می‌باشد و میزان فعالیت این آنزیم در هر دو بخش نسبت به تیمار شاهد معادل ۸۴/۳ درصد است (شکل‌های ۱ و ۲). در این بین از میزان فعالیت آنزیم GPX در هر دو بخش هوایی و ریشه همراه با بالا رفتن سطح شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار در تمامی ارقام کلزا کاسته شد. این کاهش در تمامی ارقام مشاهده گردید اما روند کاهشی این آنزیم در رقم Hyola401 در هر دو بخش هوایی و ریشه به مراتب کمتر از سایر ارقام بود (شکل‌های ۳ و ۴).

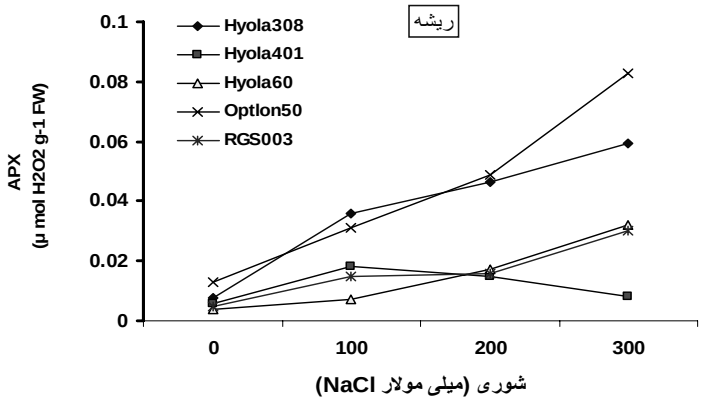
در مورد آنزیم CAT، براساس آنچه که در شکل‌های ۵ و ۶ مشاهده می‌شود، در طی اعمال تنش شوری بر میزان فعالیت این آنزیم نیز در تمامی ارقام کلزا و در هر دو بخش هوایی و ریشه افزوده شد، اما بالاترین میزان این آنزیم در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار NaCl در هر دو بخش مربوط به رقم RGS003 بود. این میزان افزایش نسبت به تیمار شاهد برای ریشه معادل ۵۵/۵ درصد و برای بخش هوایی برابر ۹۱/۱ درصد بود. در شکل ۵ دیده می‌شود که در ارقام Hyola401 و Hyola60 افزایش آنزیم CAT تنها تا سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار بود، با بالا رفتن سطح شوری از مقدار آن در بخش هوایی این ارقام کاسته شد. براساس نظر Mckersie & Leshem (1994) آنزیم CAT در پراکسیزوم، سیتوپلاسم، کلروپلاست و میتوکندری وجود دارند و سبب تبدیل H_2O_2 به H_2O و O_2 می‌شود. همچنین آنزیم APX از اسکروبات به عنوان دهنده الکترون در ابتدای سیکل گلوتاتیون-اسکوربات استفاده می‌کند و نقش مهمی در سمیت زدایی H_2O_2 در سلول دارد. براساس تحقیقات Shen et al. (1997)، شوری سبب تبدیل O_2^- به H_2O_2 در درون سلول شده، این امر مانع فعالیت چرخه کالوین و در نهایت فرآیند قندسازی در گیاهان می‌شود. لذا بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند CAT می‌تواند از اثرات سوء تشکیل H_2O_2 بر فرآیند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری کند.

براساس نتایج مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان نتیجه گرفت که ارقام مختلف کلزا در طی مواجه شدن با تنش شوری تنها بر میزان فعالیت دو آنزیم APX و CAT افزوده و از فعالیت آنزیم GPX در هر دو بخش هوایی و ریشه آنها کاسته می‌شود. بنابراین در تحمل به شوری کلزا تنها دو آنزیم آنتی‌اکسیدان APX وCAT موثرند. مشابه نتایج این آزمایش Tohidi-Moghadam et al. (2009) گزارش کردند که در طی بروز تنش خشکی نیز از میزان فعالیت آنزیم GPX در کلزا کاسته و بر مقدار SOD افزوده می‌شود. Appel & Hirt (2004) اعلام کردند که بسته به گونه گیاهی و نوع تنش، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خاصی جهت تحمل فعال

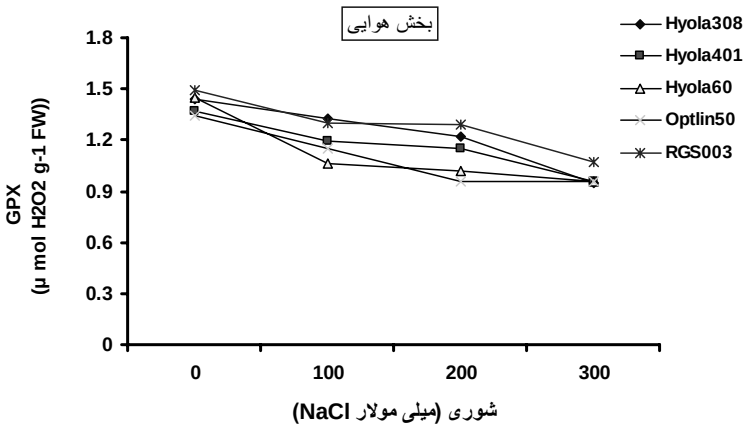
می‌شوند. برای مثال Heidari & Mesri (2008) گزارش کرد که در اقام مختلف گندم تحت تنش شوری بر میزان فعالیت هر سه آنزیم CAT، APX و GPX افزوده می‌شود.



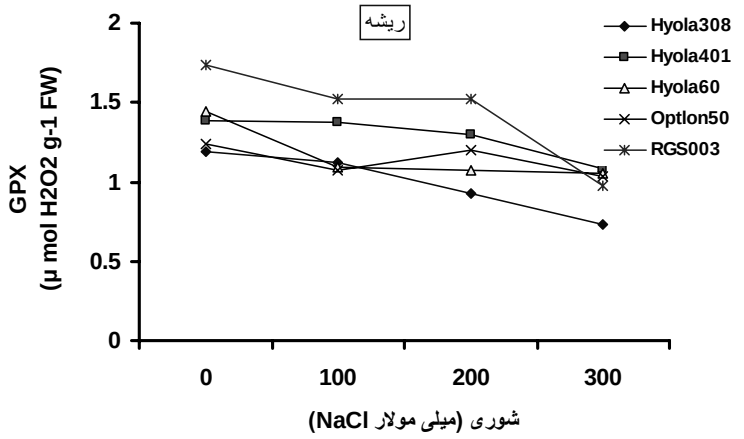
شکل ۱- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم APX در بخش هوایی کلزا



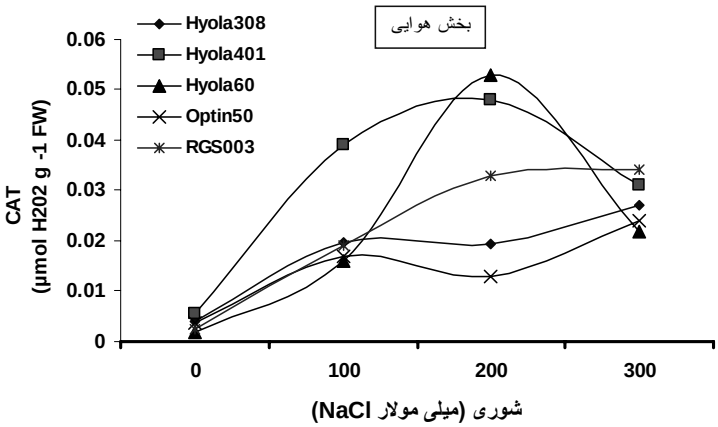
شکل ۲- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم APX در ریشه کلزا



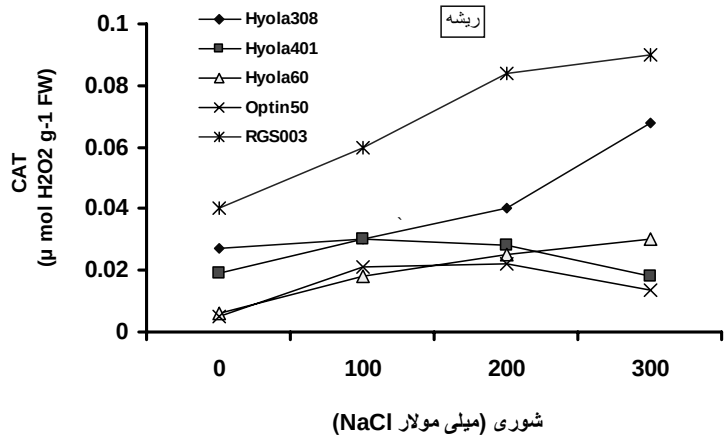
شکل ۳- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم GPX در بخش هوایی کلزا



شکل ۴- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم GPX در ریشه کلزا



شکل ۵- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم CAT در بخش هوایی کلزا



شکل ۶- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم CAT در ریشه کلزا

تنظیم‌کننده‌های اسمزی

در جدول ۱ مشاهده می‌شود شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان تجمع دو تنظیم‌کننده اسمزی قندهای محلول و پرولین در بافت سبز بخش هوایی و نیز ریشه کلزا دارد. با بالا رفتن میزان شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار بر غلظت پرولین در هر دو بخش هوایی و ریشه افزوده اما از میزان کربوهیدرات در بخش هوایی کاسته و بر مقدار آن تنها در ریشه افروده شد (جدول۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس متابولسیم اسید نوکلئیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فلورسانس کلروفیل در کلزا

تیمار	درجه آزادی	وزن خشک	پرولین ریشه	پرولین بخش هوایی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول بخش هوایی	آنزیمهای آنتی‌اکسیدان: APX ریشه	APX بخش هوایی	GPX ریشه	GPX بخش هوایی	CAT ریشه	CAT بخش هوایی	فلورسانس کروفیل: F0	Fv	Fv/Fm	کلروفیل	اسید نوکلئیک: DNaseI	کل اسید نوکلئیک
رقم	۴	۰/۰۰۰۱۵^{ns}	۰/۱۱۷**	۰/۰۶۴**	۰/۱۶**	۱/۹۵**	۰/۰۰۲۲**	۰/۰۰۴**	۰/۳۵*	۰/۰۷^{ns}	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۲**	۵۷۱۳/۳**	۳۴۸۶۲/۱^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۱۲/۱**	۱۴۵۴۰۷۳/۱**	۱۳/۸**
شوری	۳	۰/۰۰۳۲**	۲/۰۷**	۲/۱۸**	۰/۲۱**	۰/۸۹**	۰/۰۰۲۸**	۰/۰۹**	۰/۲۸*	۰/۴۴**	۰/۰۰۱۷**	۰/۰۰۱۳**	۲۷۷۰/۵*	۴۳۳۱۸/۴^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۳/۲*	۳۵۵۰۲۴/۳*	۳۴/۵**
شوری×رقم	۱۲	۰/۰۰۰۱۸^{ns}	۰/۰۵**	۰/۰۴۸**	۰/۰۷**	۰/۴۷**	۰/۰۰۰۴*	۰/۰۰۱۴**	۰/۱۲^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۰۰۵**	۰/۰۰۰۱**	۵۱۶۵/۹**	۵۱۰۳۲/۶^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۵/۲**	۲۷۳۴۹۵/۴**	۲/۳**
خطا	۴۰	۰/۰۰۰۳۷	۰/۰۰۸۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۲	۰/۰۷	۰/۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۲	۰/۱۰۹	۰/۰۳	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۲	۹۹۳/۷	۲۹۷۳۷/۸	۰/۰۰۰۹	۰/۸	۱۰۱۲۲۷/۵	۰/۶۷
%CV		۶/۳	۶/۴	۷/۲	۷/۳۸	۸/۲	۱۵/۴	۱۵/۳	۱۷/۱۲	۱۶/۱۳	۲۰/۰۶	۱۷/۹	۱۱/۸	۱۱/۶	۳/۷	۱۳/۷	۹/۷	۱۷/۳

ns، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثرات اصلی و فرعی مربوط به متابولسیم اسید نوکلئیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فلورسانس کلروفیل در کلزا

تیمار	وزن خشک	پرولین ریشه	پرولین بخش هوایی	قندهای محلول ریشه	قندهای محلول بخش هوایی	APX ریشه	APX بخش هوایی	GPX ریشه	GPX بخش هوایی	CAT ریشه	CAT بخش هوایی	فلورسانس کلروفیل: F0	Fv	Fm/Fv	کلروفیل	اسید نوکلئیک: DNaseI	کل اسید نوکلئیک
	(گرم)	(میکرو مول در گرم وزن تر)		(میکرو گرم گلوکز در گرم وزن تر)		($\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}\ mg^{-1}\ prot$)									قرائت SPAD	Unit/ml	g/mgFw
رقم																	
Hyola308	۰/۰۳۵a	۱/۴۸a	۱/۰۰۱b	۰/۴۱a	۰/۴۱d	۰/۰۳۲b	۰/۰۴۱b	۰/۰۹۹b	۱/۲۴ab	۰/۰۴۳b	۰/۰۱۷d	۲۵۵/۶bc	۱۴۴۷/۷a	۰/۸۱a	۶/۵۲b	۱۸۷۳/۶a	۵/۳۷a
Hyola401	۰/۰۳۱a	۱/۵۲a	۱/۰۰۵b	۰/۴۷a	۱/۲۲a	۰/۰۱۲c	۰/۰۲۳c	۱/۲۸ab	۱/۱۶ab	۰/۰۲۴c	۰/۰۴۳a	۲۴۶/۵c	۱۴۲۸/۷a	۰/۸۲a	۶/۳۲b	۱۴۹۲/۴b	۴/۴۷c
Hyola60	۰/۰۳۰a	۱/۴۷a	۱/۱۱a	۰/۲۱b	۰/۲۲d	۰/۰۱۵c	۰/۰۲۱c	۱/۲۳ab	۱/۱۹ab	۰/۰۲۱cd	۰/۰۳b	۳۰۰/۱a	۱۴۴۰/۳a	۰/۸۱a	۸/۲۴a	۱۲۵۷/۳b	۳/۸۱c
Option50	۰/۰۳۵a	۱/۲۷b	۰/۹۲c	۰/۴۷a	۰/۹۵b	۰/۰۴۴a	۰/۰۶۶a	۱/۱۴b	۱/۱۱b	۰/۰۱۷d	۰/۰۱۴d	۲۴۶/۶c	۱۵۱۸/۵a	۰/۸۲a	۵/۵۱c	۱۳۶۳/۸b	۳/۷۹c
RGS003	۰/۰۲۵a	۱/۵۰a	۰/۹۴c	۰/۲۷b	۰/۶۶c	۰/۰۱۶b	۰/۰۵۷a	۱/۴۴a	۱/۳۲a	۰/۰۶۸a	۰/۰۲۲c	۲۷۷/۴ab	۱۵۵۰/۲a	۰/۷۹a	۶/۹۱b	۲۰۷۵/۲a	۶/۲۹a
شوری (میلی‌مولار NaCl)																	
شاهد	۰/۰۵a	۰/۹۲d	۰/۴۳c	۰/۲۷c	۰/۸۲a	۰/۰۰۷c	۰/۰۱۶d	۱/۴۱a	۱/۴۲a	۰/۰۱۹c	۰/۰۱۳c	۲۸۲/۴a	۱۴۰۳/۶a	۰/۸۲a	۷/۳۵a	۱۴۶۹/۵b	۵/۵۹a
۱۰۰	۰/۰۳۵b	۱/۵۱c	۱/۱۱b	۰/۲۸c	۰/۸۴a	۰/۰۲۱b	۰/۰۲۸c	۱/۱۹ab	۱/۱۸a	۰/۰۳۵b	۰/۰۲۵b	۲۶۶/۱ab	۱۴۷۶/۶a	۰/۸۱ab	۶/۶۶ab	۱۴۸۹/۵b	۴/۷۶b
۲۰۰	۰/۰۲۳bc	۱/۵۹b	۱/۱۵b	۰/۴۰b	۰/۷۸a	۰/۰۲۷b	۰/۰۵b	۱/۲۱ab	۱/۲۰b	۰/۰۴۱a	۰/۰۳۶a	۲۶۹/۵ab	۱۵۳۰/۵a	۰/۸۱ab	۶/۶۶ab	۱۷۵۱/۶a	۵/۸۳a
۳۰۰	۰/۰۱۶c	۱/۷۹a	۱/۲۹a	۰/۵۲a	۰/۳۲b	۰/۰۴۱a	۰/۰۷۲a	۱/۱۶b	۱/۰۰۵c	۰/۰۴۳a	۰/۰۲۸b	۲۴۹/۴b	۱۴۷۶/۶a	۰/۸b	۶/۱۴b	۱۷۳۹/۱a	۵/۷۹a

تفاوت حروف در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

افزایش این دو ترکیب در ریشه نشان‌دهنده استفاده از آنها برای تنظیم اسمزی می‌باشد. محققین مختلف از جمله Martin et al. (1993) و Heidari & Mesri (2008) از افزایش میزان پرولین در گندم و Sultana et al. (1999) در برنج تحت تنش شوری خبر می‌دهند. Cavelierl (1983) اعلام کرد افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری در واقع نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است. در این زمان پرولین با کم کردن پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند. در این آزمایش مشخص گردید غلظت قندهای محلول و پرولین در ریشه در سطح شوری S_3 نسبت به شاهد از افزایشی معادل ۴۸/۵ درصد برخوردار بودند، اما در بخش هوایی این افزایش برای پرولین معادل ۶۶/۶ درصد بود (جدول۲). در این آزمایش همبستگی معنی‌دار و مثبتی بین قندهای محلول و پرولین در بخش ریشه به دست آمد. اما در مورد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشخص گردید که همبستگی بین پرولین با GPX منفی و تنها با دو آنزیم CAT و APX در بخش ریشه معنی‌دار و مثبت است (جدول ۳). براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ مشاهده می‌شود که اثر متقابل رقم و شوری در مورد هر دو ترکیب قندهای محلول و پرولین در دو بخش ساقه و ریشه معنی‌دار است. در زمان قرار گیری این ارقام در معرض سطوح

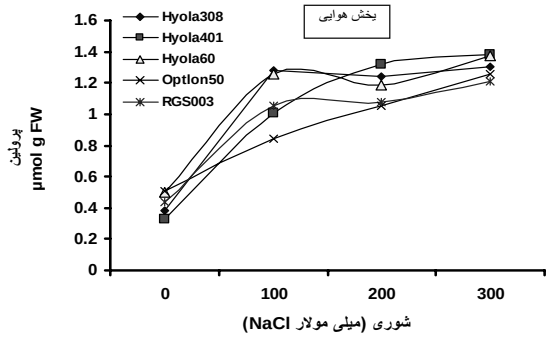
مختلف شوری، بالاترین غلظت پرولین در دو بخش هوایی و ریشه و در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار، مربوط به رقم Hyola401 بود که به ترتیب از افزایشی معادل ۷۶/۱ و ۵۸/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد برخودار بود (شکل‌های ۷ و ۸). در مورد قندهای محلول، در بخش ریشه با بالا رفتن سطح شوری بر میزان آن افزوده شد. در بالاترین سطح شوری (۳۰۰ میلی‌مولار)، رقم Hyola401 دارای بیشترین مقدار بود که از افزایشی معادل ۴۶/۱ درصد نسبت به تیمار شاهد برخودار بود (شکل ۹). اما در بخش هوایی و در همین رقم مقدار کربوهیدرات تنها تا سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش نشان داد و با بالا رفتن سطح شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار از میزان آن کاسته شد. در مورد دیگر ارقام همانطور که در شکل ۹ دیده می‌شود همراه با افزایش شوری از میزان قندهای محلول کاسته شد.

Munns (1993) اعلام کرد در ژنوتیپ‌های متحمل

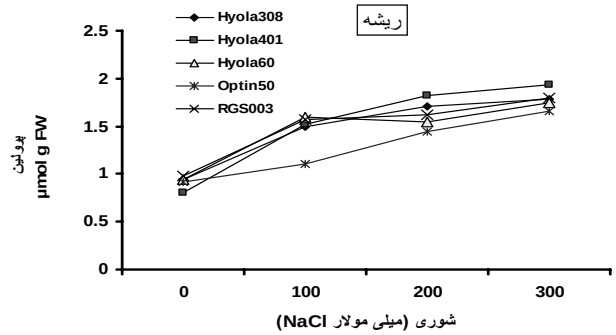
جدول ۳- ضریب همبستگی بین متابولسیم اسید نوکلئیک، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فلورسانس کلروفیل در کلزا

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴
(۱) وزن خشک	۱													
(۲) پرولین ریشه	-۰/۵۴**	۱												
(۳) پرولین بخش هوایی	-۰/۵۱**	۰/۹۳**	۱											
(۴) قندهای محلول ریشه	-۰/۲۹*	۰/۳۴**	۰/۲۴*	۱										
(۵) قندهای محلول بخش هوایی	۰/۱۶^{ns}	-۰/۲۱^{ns}	-۰/۲۷*	۰/۲۱^{ns}	۱									
(۶) APX ریشه	-۰/۱۷^{ns}	۰/۳۱*	۰/۳۸**	۰/۳۶**	-۰/۱۹^{ns}	۱								
(۷) APX بخش هوایی	-۰/۴۶**	۰/۴۱**	۰/۳۸**	۰/۳۵**	-۰/۱۴^{ns}	۰/۶۱**	۱							
(۸) GPX ریشه	۰/۱۵^{ns}	-۰/۲۵*	-۰/۳۱*	-۰/۳۳**	۰/۱۳^{ns}	-۰/۲۲*	-۰/۲۶*	۱						
(۹) GPX بخش هوایی	۰/۵۳**	-۰/۵۴**	-۰/۵۵**	-۰/۳۹*	۰/۱۲^{ns}	۰/۳۳**	-۰/۳۱*	۰/۱۳^{ns}	۱					
(۱۰) CATریشه	-۰/۳۰*	۰/۳۶**	۰/۲۵*	-۰/۰۰۵^{ns}	-۰/۰۹^{ns}	۰/۰۶^{ns}	۰/۳۷**	-۰/۰۳۵^{ns}	۰/۰۳۲^{ns}	۱				
(۱۱) CAT بخش هوایی	-۰/۲۷*	۰/۳۲*	۰/۳۲*	۰/۰۴۸^{ns}	۰/۱۴^{ns}	-۰/۰۰۹^{ns}	-۰/۰۲^{ns}	-۰/۰۹^{ns}	-۰/۱۱^{ns}	۰/۰۷^{ns}	۱			
(۱۲) Fm/Fv	۰/۱۹^{ns}	۰/۲۱^{ns}	-۰/۱۶^{ns}	-۰/۱۱^{ns}	۰/۱۱^{ns}	-۰/۱۷^{ns}	-۰/۲۵*	-۰/۱۲^{ns}	-۰/۳۹^{ns}	-۰/۳۹^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	۱		
(۱۳) کلروفیل	۰/۰۳^{ns}	-۰/۱۹^{ns}	-۰/۱۴^{ns}	-۰/۱۵^{ns}	-۰/۳۷**	۰/۳۶**	۰/۲۳*	۰/۱۶^{ns}	۰/۰۲۱^{ns}	-۰/۰۲۸^{ns}	۰/۰۰۶^{ns}	-۰/۰۴۷^{ns}	۱	
(۱۴) DNaseI	-۰/۰۷^{ns}	۰/۲۵*	۰/۱۵^{ns}	-۰/۰۰۸^{ns}	-۰/۰۵^{ns}	۰/۰۶۱^{ns}	۰/۳۵**	-۰/۰۸^{ns}	۰/۱۲^{ns}	۰/۶۳**	۰/۰۳۷^{ns}	-۰/۱۵^{ns}	-۰/۰۶۲^{ns}	۱
(۱۵) کل اسید نوکلئیک	-۰/۴۲**	۰/۶۱**	۰/۱۶^{ns}	-۰/۱۱^{ns}	۰/۲۶*	۰/۵۳**	-۰/۲۳*	-۰/۱۳^{ns}	۰/۷۱**	۰/۲۵*	-۰/۱۳^{ns}	۰/۱۷^{ns}	-۰/۲۸*	-۰/۱۷^{ns}

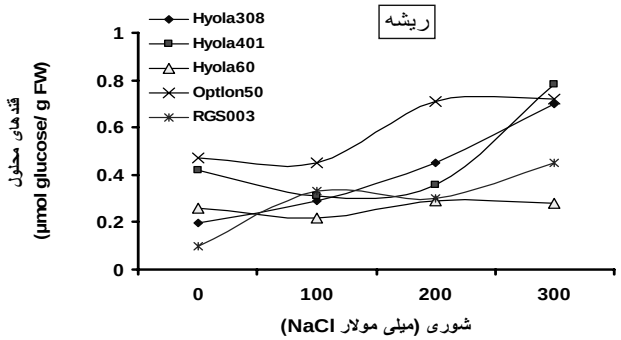
ns، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.



شکل ۷- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان پرولین در بخش هوایی کلزا



شکل ۸- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان پرولین در ریشه کلزا



شکل ۹- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان قندهای محلول در ریشه کلزا

به شوری گندم در ابتدای قرارگیری در معرض تنش بر مقدار قندهای محلول به سبب تبدیل شدن ساکارز به قندهای مونوساکارید افزوده می‌شود. Fendina et al. (1994) اعلام کردند در طی بروز تنش خشکی حفظ و نگهداری پتانسیل تورگر جهت فعال نگهداشتن فتوسنتز و ادامه رشد از طریق افزایش غلظت املاح محلول در سلول به وجود می‌آیند. قندهای محلول و پرولین مهمترین این ترکیبات هستند. در این بین پرولین بعنوان یک شاخص برای ارزیابی تحمل به تنش به شمار می رود.

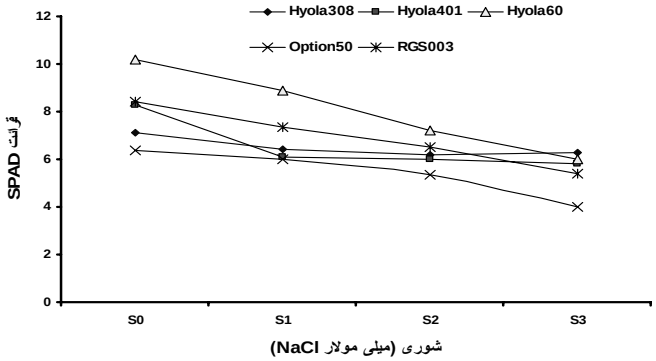
فلورسانس کلروفیل (F_v/F_m) و میزان کلروفیل برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد اثر رقم، شوری و اثر متقابل آن دو دارای تأثیر معنی‌دار بر میزان کلروفیل موجود در برگ کلزا است. در مورد فلورسانس کلروفیل این اثرات معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد، در طی اعمال تنش شوری و همراه با بالا رفتن سطح شوری، از محتوی کلروفیل موجود در برگ کلزا کاسته شد. این کاهش در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد معادل ۱۶/۳۴ درصد بود (جدول۲). مشابه نتایج این آزمایش، Zhao et al. (2007) گزارش کردند که شوری سبب کاهش میزان کلروفیل برگ در گیاه یولاف می‌شود. براساس نظر این محققین، این امر مربوط به ممانعت شوری از سنتز و یا افزایش تجزیه کلروفیل در برگ می‌باشد. در این بین هر چند اثر شوری بر روی فلورسانس کلروفیل معنی‌دار نبود اما همراه با اعمال تنش شوری و بالا رفتن سطح آن بر میزان فلورسانس کلروفیل افزوده شد. این امر نشان‌دهنده کم شدن کارایی کلروفیل در انجام فتوسنتز در طی بروز تنش شوری می‌باشد. براساس نتایج همبستگی در جدول ۳ نیز مشخص گردید، همبستگی منفی بین میزان کلروفیل و فلورسانس کلروفیل وجود دارد. Netondo et al. (2004) گزارش کردند که از ماکزیمم عملکرد کوانتوم فتوسیستم II (PSII: F_v/F_m) در گیاه سورگوم در اثر تنش شوری کاسته می‌شود. در مقابل مشابه نتیجه این آزمایش Dioniso-Sese & Tobita (1998) اعلام کردند که F_v/F_m در گیاه برنج تحت تأثیر تنش شوری قرار نمی‌گیرد.

ارقام مختلف کلزا از لحاظ میزان کلروفیل و فلورسانس کلروفیل دارای تغییراتی بودند اما این تغییرات از لحاظ آماری تنها در مورد کلروفیل معنی‌دار و در مورد فلورسانس کلروفیل معنی‌دار نبود (جدول ۱). در بین پنج رقم کلزا مورد مطالعه در این آزمایش، رقم Hyola60 دارای بیشترین میزان کلروفیل و کمترین میزان فلورسانس کلروفیل بودند. در این بین کمترین میزان کلروفیل و بالاترین مقدار فلورسانس کلروفیل نیز مربوط به رقم optlon 50 بود (جدول ۲).

اثر متقابل شوری و رقم در این آزمایش تنها در مورد کلروفیل معنی‌دار و در مورد فلورسانس کلروفیل دارای تأثیر معنی‌داری نبود (جدول ۱). همانطور که در شکل ۱۰ دیده می‌شود رقم Hyola60 در سطح شوری شاهد دارای بیشترین میزان کلروفیل می‌باشد.

براساس نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که در بین پنج رقم کلزای مورد بررسی در طی اعمال تنش شوری، برخی از این ارقام همزمان از دو مکانیسم تنظیم اسمزی و بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بخصوص در بخش ریشه خود استفاده می‌کنند. این در حالی بود که با بالا رفتن سطح شوری بر میزان دو تنظیم‌کننده اسمزی (قندهای محلول و پرولین) و فعالیت دو آنزیم APX و CAT بخصوص در بخش ریشه آنها افزوده شد. میزان استفاده هر کدام از ارقام از دو مکانیسم متفاوت بود.

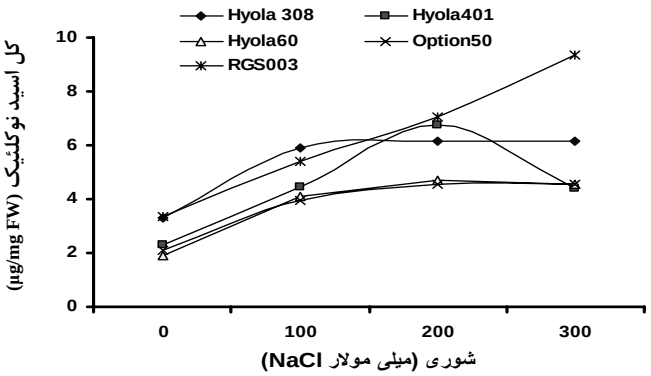


شکل ۱۰- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان کلروفیل در کلزا

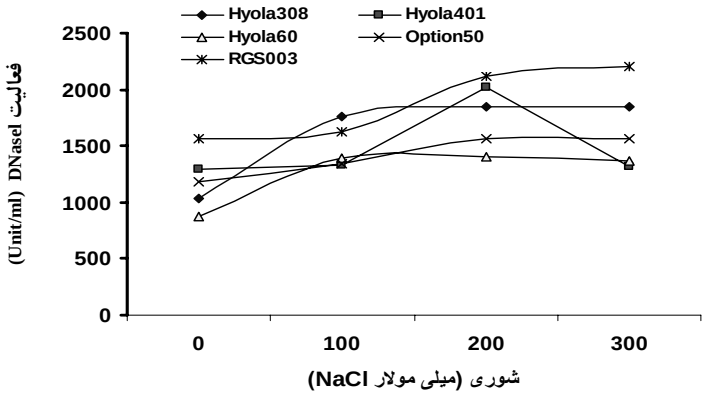
میزان کل اسیدهای نوکلئیک و آنزیم دزوکسی ریبونوکلئاز1 (DNase 1)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد اثر رقم، شوری و اثر متقابل آن دو دارای تأثیر معنی‌دار بر میزان کل اسیدها نوکلئیک و فعالیت دزوکسی ریبونوکلئاز1 (DNase 1) موجود در برگ است. مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد، در طی اعمال تنش شوری و همراه با بالا رفتن سطح شوری تنها تا ۲۰۰ میلی‌مولار، بر میزان کل اسیدهای نوکلئیک و فعالیت دزوکسی ریبونوکلئاز1 افزوده شدند. این افزایش در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد برای میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبونوکلئاز1 به ترتیب معادل ۵۵/۳ و ۱۶/۱ درصد بود (جدول ۲). مشابه نتایج این آزمایش، ABO-Kassem (2007) گزارش کردند که شوری سبب افزایش میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبونوکلئاز1 برگ در گونه‌های مختلف گیاهان خانواده Chenopodiaceae می‌شود.

هر چند در بین ارقام، رقم RGS003 از بیشترین میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبونوکلئاز1 در برگ برخودار بود اما در طی مواجه شدن این ارقام با شوری و در بالاترین سطح شوری (۳۰۰ میلی‌مولار) باز هم رقم RGS003 از بالاترین میزان این دو ترکیب برخودار بود. میزان افزایش آنزیم دزوکسی ریبونوکلئازI و مقدار کل اسیدهای نوکلئیک در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به تیمار شاهد به ترتیب معادل ۲۸/۹ و ۶۳/۸ درصد بود (شکل‌های ۱۱ و ۱۲). این امر نشان می‌دهد که این رقم از توانایی بالایی برای محافظت از DNA در سلول در طی بروز تنش شوری تا حد ۳۰۰ میلی‌مولار را داراست. براساس نظر Hasegawa et al. (2000) در طی بروز تنش شوری در گیاهان یکی از بخش های که در سلول آسیب دیده، منجر به تغییرات زیادی در بیان ژنها می‌شود DNA است. در صورتی که سلول قادر به بالا بردن فعالیت آنزیم DNase 1 باشد این امر می‌تواند مانع تجزیه و برهم خوردن ساختار DNA در سلول شود.



شکل ۱۱- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان کل اسید نوکلئیک در کلزا



شکل ۱۲- اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان فعالیت DNase1

براساس نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان بیان کرد که ارقام مختلف کلزا در طی مواجه شدن با تنش شوری جهت تحمل همزمان از دو مکانیسم تنظیم اسمزی و بالا بردن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بخصوص در بخش ریشه خود استفاده می‌کنند. در این بین میزان فعالیت آنزیم محافظتی دزوکسی ریبونوکلئاز I نیز افزایش می یابد که مانع از بین رفتن DNA در سلول در طی بروز تنش شوری می‌شود. با بالا رفتن سطح شوری بر میزان دو تنظیم‌کننده اسمزی (قندهای محلول و پرولین) و فعالیت تنها دو آنزیم APX و CAT بخصوص در بخش ریشه کلزا افزوده شد. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود همبستگی معنی‌دار و منفی بین این ترکیبات بخصوص در بخش ریشه با وزن خشک گیاه وجود دارد. براساس نظر Munns (2002) استفاده گیاهان از ترکیبات آلی همانند کربوهیدرات و پرولین برای تنظیم اسمزی جهت ادامه جذب آب از محیط شور می‌تواند برای گیاه هزینه بر نیز باشد. و این هزینه را از طریق کاهش وزن خشک اعمال می‌کند. در این آزمایش (جدول۱) مشاهده شد شوری تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک کلزا دارد و با بالارفتن شوری تا ۳۰۰ میلی‌مولار به میزان ۶۸ درصد از وزن خشک گیاهان کاسته شد (جدول ۲). هر چند بخش عمده کاهش وزن براساس نظر Munns (2002) به سبب تأثیر شوری بر جذب عناصر غذایی و عدم تولید شاخص سطح برگ کافی است اما یکی دیگر از دلایل این کاهش مرتبط با سنتز ترکیبات آلی برای تنظیم اسمزی و یا سیستم محافظتی گیاه برای مقابله با تنش است.

در بین پنج رقم کلزا در این آزمایش، رقم Optlon50 دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم CAT و رقم RGS003 دارای بیشترین فعالیت آنزیم APX بودند اما رقم Hyola401 از بیشترین میزان دو تنظیم‌کننده اسمزی (قندهای محلول و پرولین) در بخش ریشه در بالاترین سطح شوری برخوردار بود. همچنین این رقم از لحاظ تغییرات کاهش میزان کلروفیل نسبت به سایر ارقام در شرایط بروز تنش کاهش کمتری داشت و از کمترین میزان فلورسانس کلروفیل در بالاترین سطح شوری برخوردار بود. در مورد افزایش میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبونوکلئاز1 برگ، رقم RGS003 از بالاترین میزان در سطح شوری S_3 برخودار بود اما رقم Hyola401 از این لحاظ در رتبه دوم قرار داشت و این نشان می دهد که از لحاظ این سه مکانسیم تحمل به شوری، رقم Hyola401 از لحاظ استفاده از مکانیسم تنظیم اسمزی و رقم RGS003 از لحاظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، میزان کل اسیدهای نوکلئیک و دزوکسی ریبونوکلئاز1 از کارایی بالایی در بین سایر ارقام مورد مطالعه در این آزمایش برخوردارند.

REFERENCES

1. ABO-Kassem, E. D. M. (2007). Effects of salinity: Calcium interaction in growth and nucleic acid metabolism in five species of Chenopodiaceae. *Turk J Bot*, 31, 25-134.
2. Alscher, R. G., Donahus, J. R. & Cramer, C. L. (1997). Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Physiol Plant*, 100, 224-233.
3. Alvesda Costa, P. H., Azevedo Neto, A. D., Alves Bezerra, M., Tarquinio paisco. J. & Gomes-Filho, E.

(2005). Antioxidantive–enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Plant Physiol*, 17 (4), 353–361.
4. Appel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. *Plant Biol*, 55, 373-399.
5. Bates, S., Waldern, R. P. & Teare, E. D. (1973). Rapide determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
6. Beers, G, R. & Sizer, I. W. (1952). Aspectrophotometric method for measuring the breakdown to hydrogen peroxide by catalase. *Biol Chem*, 195, 133 – 140 .
7. Cavelierl, A. J. (1983). Proline and glycin-betain accumulation by spartina alterniflora loisel. in response to Nacl and nitrogen in a controlled environment. *Oecologia (berlin)*, 57, 20- 24.
8. Chaykin, S. (1970). Biochemistry laboratory techniques. Pp. 169-186. New Delhi: Wiley Eastern Private Ltd.
9. Dioniso-Sese, K. L. & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seediling to salinity stress . *Plant Sci*, 135, 1-9.
10. Fendina, I. S., Tsonev, T. D. & Guleva, E. I. (1994). As modulator of the response of *Pisum sativa* to salt stress. *J. Plant Physio*, 143, 245-449.
11. Good. A. & Zaplachiniski, S. (1994). The effects of drought on free amino acid accumulation and protein syntesis in *Brassica napus*. *Physiologia Plantarum*, 90, 9–14.
12. Gosset, D. R., Millhollon, E. P. & Lucas, M. C. (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt–tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. *Crop Sci*, 34, 106–714.
13. Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review Plant Physio Plant Mol Biol*, 51 (1), 463-499.
14. Heidari, M. & Mesri, F. (2008). Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. *Pakistan J Biol Sci*, 11(10), 1385-1389.
15. Kunitz, M. (1950). Crystalline desoxyribonuclease. 1. isolation and general properties. *J Gen Physiol*, 33, 349-62.
16. Martin, M., Miceli, F., Morgan, J. A., Scalet, M. & Zerbi, G. (1993). Synthesis of osmotically active substrates in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *J Agric Crop Sci*, 171, 176-184.
17. Mckersie, D. B. & Leshem, Y. (1994). Stress and coping in cultivated plants. Kluwer Acadamic publishes, London.
18. Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants*. 2nd Academic Press. Ltd. London.
19. Munns, R. (1993). Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmass and hypotheses. *Plant Cell and Envir*,16, 15-24.
20. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 28, 239-250.
21. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate–specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plants Cell Physiol*, 22, 867–880.
22. Netondo, G.W., Onyango, J. C. & Beck, E. (2004). Sorghum and salinityII. Gas exchange and cholorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. *Crop Sci*, 44, 806-811.
23. Sairam, R. K., Rao, K. V. & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relationto axidative stress. Antioxidant active and osmolyte consentration. *Plant Sci*, 163, 1037-1046.
24. Schlegel, H. G. (1956). Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. *Planta*, 47, 510.
25. Shen, B., Jensen, R.G. & Bohnert, H. J. (1997). Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiol*, 115, 527-532.
26. Sultana, N., Ikeda, T. & Ltoh, R. (1999). Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environ Exp Bot*, 42, 211-220.
27. Tohidi-Moghadam, H. R., Shirani-Rad, A. H. & Nour-Mohammadi, G. (2009). Effect of super absorbent application on antioxidant enzyme activities in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under water stress conditions. *American J of Agri and Biol Sci*, 4(3), 215-223.
28. Urbanek, H., Kuzniak–Gebarowska, E. & Herka, K. (1991). Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polyglacturonase. *Acta phys Plant*, 13, 43–50.
29. Zhao, G. Q., Ma, B. L. & Ren, C. Z. (2007). Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence and ion content of Naked oat in response to salinity. *Crop Sci*, 47, 123-131.