

اثر تنش خشکی بر تجمع پرولین، قندهای محلول و تغییرات عناصر سدیم و پتاسیم در ژنوتیپ‌های لوبیا سفید

مسعود زاده باقری^۱، محمد مجتبی کامل منش^۲، شورانگیز جوانمردی^۳

چکیده

به منظور بررسی برخی از تغییرات فیزیولوژیک، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به اجرا در آمد. فاکتور اول دو سطح آبیاری (آبیاری نرمال و تنش خشکی) و فاکتور دوم شامل سه ژنوتیپ لوبیا سفید (دانشکده، شکوفا و G11867) بود، که بر اساس شاخص های مورفولوژیک به ترتیب به عنوان حساس، نیمه متحمل و متحمل دسته بندی شده بودند. در مرحله ۵۰ درصد گل‌دهی نمونه برداری انجام شد و میزان قندهای محلول، محتوای پرولین و عناصر سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری گردید. نتایج آزمایش نشان داد که غلظت قندهای محلول، محتوای پرولین و یون پتاسیم در اثر تنش خشکی افزایش و یون سدیم کاهش یافت. ژنوتیپ متحمل G11867 بیشترین میزان قندهای محلول و یون سدیم را دارا بود. ژنوتیپ حساس دانشکده از بیشترین میزان یون پتاسیم و پرولین برخوردار بود. نتایج آزمایش نشان داد که تجمع بیشتر پتاسیم و محتوای پرولین لوبیا در شرایط خشکی می تواند یک سازگاری برای تحمل به خشکی باشد که به بقاء و تولید در شرایط خشکی کمک می کند.

کلمات کلیدی: پرولین، تنش خشکی، قندهای محلول، لوبیا سفید، سدیم، پتاسیم

مقدمه و بررسی منابع علمی

پس از غلات، دومین منبع مهم غذایی جوامع بشری حبوبات است. حبوبات نسبت به غلات در تمامی مراحل رشد به میزان آب بیشتری نیاز دارند. با توجه به محدودیت اراضی، مؤثرترین عامل در افزایش تولید لوبیا، انجام تحقیقات در زمینه به‌زراعی و به‌نژادی در جهت افزایش عملکرد در واحد سطح می‌باشد. استفاده از صفات فیزیولوژیک بهترین روش برای تولید سریع ارقام جدید است (Turner and Nicolas, 1987)، ولی اصلاح برای محیط‌های نامطلوب، نیاز به درک عمیق فرآیندهای تعیین‌کننده عملکرد دارد (Blum, 1985). درک بهتر پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاهان به تنش‌های محیطی می‌تواند اصلاح‌گر را در برنامه‌هایی که هدف آن‌ها اصلاح برای تحمل ارقام گیاهی به خشکی یا شوری است، یاری نماید (Kerepesi and Galiba, 2000). دو راه عمده برای تشخیص صفات فیزیولوژیک مربوط به نمو گیاهان زراعی تحت تنش غیرزنده وجود دارد. راه اول، پی بردن به دلایل فیزیولوژیک احتمالی مؤثر در اختلافات عملکردی مشاهده شده است. راه دوم تعیین تیپ ایده‌آل^۱ برای تنش محیطی مورد نظر، براساس درک فرآیندهای فیزیولوژیک است (El-Jafari, 2000). از نتایج آزمایش‌ها چنین بر می‌آید که تحمل به

تنش خشکی، در نتیجه عمل فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف بوده و ممکن است در یک ژنوتیپ متحمل خاص، تمام پارامترها یا فرآیندها همبستگی مثبتی با تحمل خشکی نداشته باشند (Chandrasekar et al, 2000). تجمع محافظین اسمزی یکی از مهم‌ترین عوامل حفظ گیاهان در مقابل تنش‌های غیر زنده است. در این میان می‌توان به تجمع پرولین، قندهای محلول و برخی از یونها اشاره کرد (Slama et al, 2006/ Yin and Koch, 1996/ Vyn, 2002). مشخص شده است که کاهش تورژسانس، عامل اولیه تجمع پرولین در تنش‌های شوری و خشکی است. کاهش تورژسانس باعث فعال شدن یک توالی پیچیده از فرآیندهای تطابقی مرتبط با سطح تحمل گیاه به تنش می‌شود (Ghorbani-Javid, 2000). طبق اظهارات تسگان (Tsugane, 1999)، پرولین علاوه بر شرکت در تنظیم اسمزی، نقش‌های مهمی مانند حفاظت از سیستم‌های غشایی سلول، سمیت‌زدایی و تنظیم اسیدیته سیتوزل را نیز بر عهده دارد (Hare et al, 1998). همچنین طبق نظر بارکر و همکاران (Barker et al, 1993)، پرولین از طریق حفظ ظرفیت آبگیری در سیتوپلاسم سلول منجر به حفظ ماکرومولکول‌ها از جمله آنزیم‌ها می‌شود تا از تشکیل اشکال نامطلوب و یا قطعه قطعه شدن آنها جلوگیری به عمل آید. در دوره تنش، گیاه به

^۱ - Ideotype

تنش سبب اختلال در تقسیم بندی یون ها می شود که جزء اصلی برای تقسیم بندی یون-ها، ژن های مربوط به کانال های پادبر^۱ سدیم-پتاسیم می باشد (Bohnert et al, 1999). این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه ای نقش ایفا می کند (Shabala et al, 2000). خشکی یکی از عوامل محدود کننده تولید لوبیا می باشد. ترکان و همکاران (Turkan et al, 2005) در بررسی واکنش لاین های اهلی و وحشی لوبیا، نسبت به تنش خشکی بیان داشتند که، تیمار پلی اتیلن گلیکول مقدار محتوای نسبی آب گونه *P. vulgaris* را کاهش داد اما در گونه *p. acutifolius* بی تأثیر بود و تجمع اسید آمینه پرولین در *p. acutifolius* در شرایط تنش خشکی بیش از *P. vulgaris* گزارش کردند. نظر به اهمیت کم آبی در کشور و کشت وسیع لوبیا، بررسی خصوصیات آن به ویژه شناخت مکانیسم های مقاومت به خشکی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هدف از این پژوهش مطالعه تغییرات کربوهیدرات های محلول، محتوای پرولین، و دو عنصر سدیم و پتاسیم در شرایط تنش و نقش آنها در مقاومت به خشکی می باشد.

منظور گریز از پلاسمولیز و ادامه تورژانس در سلول های خود، مولکول های درشت نظیر نشاسته را به ساکاروز و سپس مولکول های کوچکتری مانند گلوکز و فرکتوز تبدیل می کند که این موضوع موجب منفی تر شدن پتانسیل آب در سلول ها و تنظیم اسمزی می شود (Irigoyen, 1992). علاوه بر آن، کاهش مصرف قند نیز عامل دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول می تواند باشد (Irigoyen, 1992). افزایش غلظت یون ها نیز عموماً پدیده ای است که در شرایط تنش خشکی اتفاق می افتد (Iannucci et al, 2002). گزارش ها حاکی از آن است که پتاسیم نقش اساسی در تنظیم اسمزی گیاهان دارد و ممکن است تغییرات آن با تغییرات قندها و سایر اسیدهای آمینه نیز همراه باشد (Kameli and Losel, 1995). (Cakmak, 2005) در پژوهشی اظهار داشت که پتاسیم نقش حیاتی در فتوسنتز دارد چون باعث افزایش مستقیم رشد، شاخص سطح برگ و جذب CO₂ می شود و افزایش انتقال مواد فتوسنتزی به خارج برگ را تسهیل می کند. این فعالیت نتیجه تشکیل ATP بیشتر است که برای تجمع مواد فتوسنتزی در آوندهای آبکش لازم است. جذب و جداسازی بر تقسیم بندی یون ها نه تنها در هنگام رشد طبیعی، بلکه برای رشد در شرایط شوری و خشکی مهم می باشد، زیرا این دو

¹ - Antiport

مواد و روش ها

این تحقیق در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا گردید. عامل اصلی شامل سطوح مختلف آبیاری (آبیاری نرمال و تنش خشکی) بود. جهت اعمال تنش، در مرحله ۵۰ درصد گلدهی آبیاری قطع و در ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه که توسط تانسیومتر محاسبه شد، نمونه برداری از برگ بوته‌های لوبیا صورت گرفت. پس از نمونه برداری کرت‌ها آبیاری شدند. کرت‌های فرعی شامل سه ژنوتیپ، مشتمل بر رقم حساس دانشکده، رقم نیمه متحمل شکوفا و ژنوتیپ متحمل G11867 بود که از مرکز ملی تحقیقات لوبیای خمین اخذ شدند. هر کرت شامل سه ردیف کشت به طول دو و نیم متر بود و فاصله بوته‌ها از هم هشت سانتی‌متر برای هر سه ژنوتیپ در نظر گرفته شد. بین هر دو کرت فرعی یک ردیف نکاشت و بین هر دو کرت اصلی نیز سه متر فاصله در نظر گرفته شد. کشت بذر در اواسط خرداد ماه انجام گرفت. کلیه عملیات داشت (کوددهی، آبیاری و مبارزه با علفهای هرز، آفات و بیماری‌ها) به فراخور نیاز انجام شد. به منظور سنجش محتوای یون‌های پتاسیم و سدیم، به هر نمونه برگ، ۲۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک و اسید استیک اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت که به نمونه استراحت داده شد، با استفاده از کاغذ

صافی واتمن ۵، نمونه‌ها را صاف شده و توسط دستگاه فلیم فتومتر^۱ مدل Jenway.pfp7 اندازه‌گیری انجام شد (, Khosh kholg Sima, 1999). برای سنجش قندهای محلول به نمونه‌های خشک برگ، الکل ۸۰ درصد افزوده شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به نمونه‌ها اضافه گردید و جذب نوری آنها در طول موج ۴۸۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (, LABoMed, UVD-2960. INC) قرائت شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز و تعیین میزان قند بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک صورت گرفت (Kochert, 1978). محتوای پرولین آزاد بر اساس روش باتس و همکاران (, Bates et al, 1973) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید و بر حسب میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ گزارش شد. به این منظور، پس از توزین برگ‌های تر و همگن‌سازی آنها در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفاسالیسیلیک ۳ درصد، نمونه‌ها سانتریفوژ شده و معرف نین‌هیدرین و اسید استیک خالص به سوپر ناتانت افزوده شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت یک ساعت، ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافی و محلول بالایی جدا گردید و در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

¹ - Phylum photometer

معنی دار بود. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها (شکل ۲) در شرایط تحت تنش نشان داد که بیشترین میزان سدیم مربوط به ژنوتیپ‌های شکوفا و G11867 بود که اختلاف معنی داری به لحاظ آماری با یکدیگر نداشتند. طبق نظر جسکس (Jeschkes, 1986) سدیم می‌تواند در برخی از فرآیندهای سلولی جانشین پتاسیم شود. در این آزمایش نیز دلیل اینکه میزان یون پتاسیم در ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل پایین تر از ژنوتیپ حساس بوده است، به دلیل جایگزینی، یون سدیم با یون پتاسیم بوده است.

با توجه به شکل (۳) مشاهده می‌شود که در این مطالعه تنش خشکی باعث افزایش میزان پرولین شده است و در بین ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ حساس دانشکده بیشترین میزان پرولین را در شرایط تنش دارا بود. افزایش چشمگیر میزان پرولین این ژنوتیپ در شرایط تحت تنش نسبت به شرایط نرمال در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها می‌تواند ناشی از تجزیه بیشتر پروتئین باشد. اختصاص کربن بیشتر در ساختار مواد آلی مؤثر در تنظیم اسمزی، از جمله پرولین می‌تواند باعث کاهش رشد شود (Natali et al, 1991).

کلیه تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تغییرات محتوای یون پتاسیم برگ تحت تأثیر ژنوتیپ، پتانسیل آب و اثر متقابل این دو بوده و از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۱). با توجه به شکل (۱) مشاهده می‌شود که تنش خشکی اعمال شده در این آزمایش باعث افزایش محتوای یون پتاسیم شده است، که این افزایش در ژنوتیپ حساس دانشکده در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها بیشتر است. افزایش یون پتاسیم در ژنوتیپ حساس را می‌توان ناشی از افزایش جذب و یا کاهش انتقال آن دانست، و به این طریق به زنده مانی خود در شرایط تنش کمک کرده است. طبق نظر سوین و همکاران (Sween et al, 2003) تحمیل تنش خشکی بر ریشه گیاهان سبب تغییر سرعت جذب مواد معدنی و گردش آنها در پیکره گیاه می‌شود که این امر سبب تغییر pH شیره خام شده که منجر به انباشته شدن مواد معدنی از جمله پتاسیم می‌شود.

بر طبق جدول (۱) تغییرات میزان سدیم ژنوتیپ‌ها با یکدیگر از نظر آماری دارای اختلاف

Table 1. Variance analysis of the characteristics

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

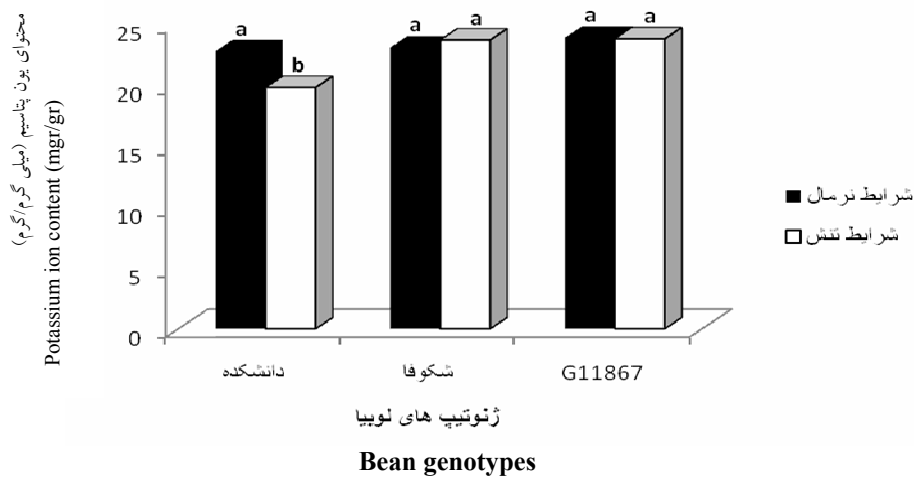
Mean square میانگین مربعات				degree of freedom	منابع تغییر sources of variation
مقدار کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrate content	مقدار پرولین Proline content	مقدار یون سدیم Sodium ion content	مقدار یون پتاسیم Potassium ion content		
4826.06 ^{ns}	0.020 ^{ns}	2.84 ^{ns}	126.59 ^{ns}	2	تکرار Replication
10834.90*	0.436**	2.90 ^{ns}	112860.00**	1	سطح آبیاری irrigation surfaces (A)
617.78	0.008	1.30	293.54	2	اشتباه اصلی Experimental error (E _a)
4722.20*	0.089**	4.68**	23833.19**	2	ژنوتیپ genotype (B)
362.28 ^{ns}	0.014 ^{ns}	11.74**	4960.07**	2	ژنوتیپ X آبیاری irrigation surfaces × genotype
1213.28	0.008	0.43	187.85	8	اشتباه فرعی Experimental error (E _b)
6.24	10.91	2.88	1.91	-	ضریب تغییرات Coefficient of variation

* و **: به ترتیب بدون معنی، معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱^{ns}

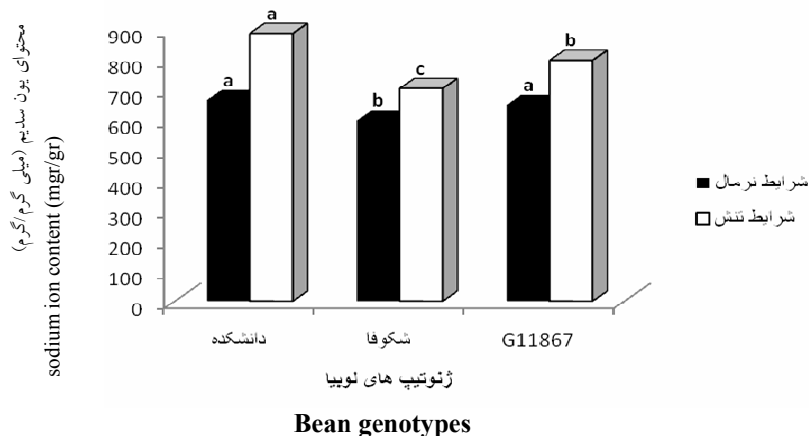
ns, *, ** are significant at 0.05 and 0.01, respectively

با توجه به شکل (۴) مشاهده می شود که تنش خشکی باعث افزایش معنی دار قندهای محلول در برگ ژنوتیپ های لویا شده است. مواد فتوسنتزی پس از تولید در برگ به طرف مقصدهای مواد فتوسنتزی (دانه) انتقال می یابند، بنابراین تجمع کربوهیدرات های محلول در برگ در مرحله دوم معرف عدم انتقال آنها به این مقصدها به واسطه پایین بودن ظرفیت مقصد (دانه) و عدم نیاز دانه به کربوهیدرات های محلول یا بالا بودن قدرت برگ در تولید این ترکیبات و یا نیاز به کربوهیدرات های محلول در تنظیم اسمزی برگ است (Ahmadi et al, 2004).

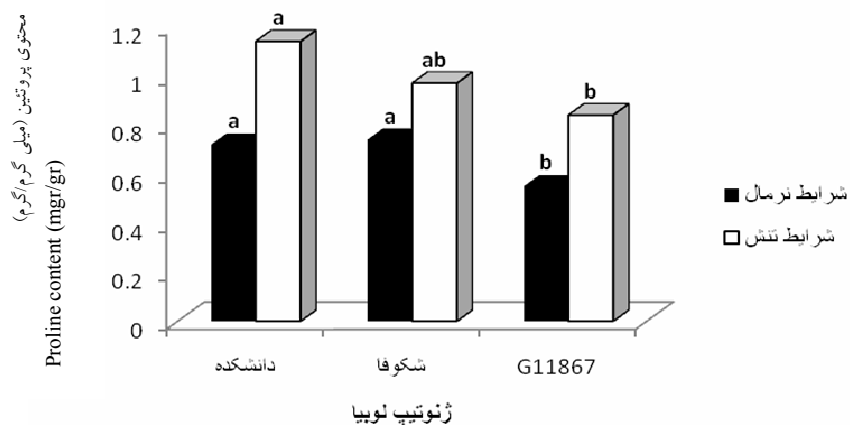
تغییراتی که در هنگام تنش در بیوستنز پرولین رخ می دهد، شامل: هیدرولیز پروتئین ها و فرایندهای تخریب اکسیداسیونی آنها است که موجب تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش می شود. باید به این نکته توجه کرد که مقدار اکسیداسیون پرولین در گیاهان تحت شرایط نرمال آنقدر کم است که مقادیر بالای پرولین را در شرایط تنش نمی تواند توجیه کند، بنابراین افزایش غلظت پرولین در شرایط تنش در گیاهان غالباً به علت سنتز خودبخودی آن می باشد (Stadan et al, 1999).



شکل ۱- اثر متقابل ژنوتیپ‌های لوبیا سفید در شرایط نرمال و تنش خشکی از لحاظ یون پتاسیم
 Fig1. Comparing white bean genotypes regarding potassium ion content (mg/gr).

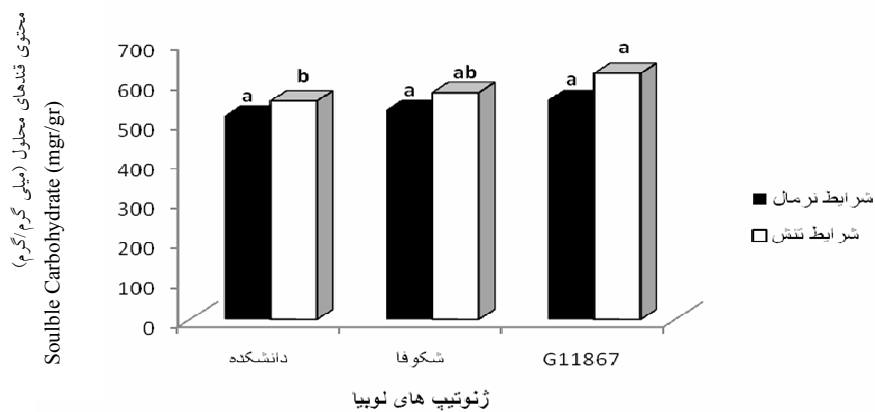


شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ‌های لوبیا سفید در شرایط نرمال و تنش خشکی از لحاظ یون سدیم
 Fig.2. Comparing white bean genotypes regarding sodium ion content (mg/gr).



ژنوتیپ لوبیا

شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ های لوبیا سفید در شرایط نرمال و تنش خشکی از لحاظ محتوای پرولین
Figure. 3. Comparing white bean genotypes regarding proline content (mg/gr).



ژنوتیپ های لوبیا

شکل ۴- اثر متقابل ژنوتیپ های لوبیا سفید در شرایط نرمال و تنش خشکی از لحاظ قندهای محلول
Figure. 4. Comparing white bean genotypes regarding soluble carbohydrate content (mg/gr)

Huang, 2001) مطابقت دارد. اما یون پتاسیم در ژنوتیپ حساس دانشکده نسبت به ژنوتیپ های متحمل و نیمه متحمل بیشتر افزایش یافته است. به نظر می رسد که افزایش معنی دار یون پتاسیم در شرایط تنش، نشان دهنده نقش این یون در کاهش پتانسیل اسمزی و انجام ساز و کار تنظیم اسمزی در ژنوتیپ حساس باشد. همچنین یون پتاسیم در باز و بسته شدن روزنه ها و حفظ تعادل یونی نقش دارد. گزارش شده است که افزایش غلظت پتاسیم می تواند نقش مهمی در افزایش هدایت روزنه ای داشته باشد (Patakas et al, 2002). قند و یون پتاسیم از مواد اسمزی مؤثر در گیاه لوبیا می باشد که افزایش شدت تنش خشکی بر مقدار آنها می-افزاید و این امر بیشتر در برگ های بالغ به چشم می خورد. چنین به نظر می رسد که، برگ های بالغ نقش حفاظتی دارند و سبب ایجاد نسبت معقولی از پتاسیم به سدیم در بافت های جوان می شوند. همچنین، افزایش یون پتاسیم در برگ-های تحت تنش ممکن است ناشی از افزایش جذب و یا کاهش انتقال و یا تغییرات نامتجانس رشد در بخش های مختلف باشد. بنابراین بهتر است در مناطقی که مشکل تنش خشکی وجود دارد از کودهایی که ترکیبات آنها حاوی یون پتاسیم است استفاده کرد تا گیاه در این شرایط بتواند به زندهمانی خود کمک کند و تا حدودی عملکرد خود را حفظ کند.

افزایش محتوای قند ممکن است ناشی از کاهش نیاز به مواد فتوسنتزی به دلیل کاهش رشد باشد (Ehdaie et al, 2006). بیشترین میزان قند مربوط به ژنوتیپ متحمل G11867 بوده و کمترین میزان قند را رقم حساس دانشکده دارا بوده است (شکل ۴). قندهای محلول به عنوان مصداقی از محافظین اسمزی هم می توانند منبعی برای کربن باشند و هم منبعی برای حفظ و نگهداری و رشد دوباره در بهبود گیاه باشند (Chaves et al, 2002). مارتین و همکاران (Martin et al, 1993) گزارش نمودند که ترکیباتی همانند کربوهیدرات های محلول در تنظیم اسمزی و مکانیسم های حفاظتی نقش دارند.

انباشت یون سدیم و خصوصاً قندهای محلول در ژنوتیپ متحمل و نیمه متحمل به خشکی نسبت به ژنوتیپ حساس بسیار مشهودتر بوده است. با توجه به سایر اطلاعات این تحقیق می توان رابطه مثبت این متابولیت ها را با ساز و کار تنظیم اسمزی و میزان بالاتر آب در گیاه متحمل دید. می توان استدلال کرد که انباشت قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر نقش-های فیزیولوژیکی مهمی که از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ حتمی ایفا می کنند، می توانند باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و به این ترتیب در ساز و کار تحمل به خشکی نقش مهمی داشته باشند. از این نظر نتایج به دست آمده با نتایج جیانگ و هانگ (Jiang and

References

منابع مورد استفاده

- ✓ Ahmadi, A., A. Siosemardeh. 2004. Effect drought stress in soluble carbohydrate, chlorophyll and proline to wheat cultivar four configure Iran climate different. Journal of Agronomy Science Iran. 3 (35): 753-763.(In Persian).
- ✓ Barker, D.L., C.Y. Sullivan and L.E. Moser. 1993. Water deficits effect on osmotic potential, cell wall elasticity and prolin in five grass. Journal of Agronomy. 85: 2750-275.
- ✓ Bates, I. S., R. P. Waldern, and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Journal of Plant Nutria and Soil Science. 39: 205-207.
- ✓ Blum, A. 1985. Breeding crop varieties for stress environments. Crit. Rev. Journal of Plant Science. 2: 199-238.
- ✓ Bohnert, H.J., D.E. Nelson, and R.G. Jensen. 1999. Adaptation to environmental stresses. Journal of Plant Cell. 7: 1099-1111.
- ✓ Cakmak, I. 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plant. Journal of Plant Nutria and Soil Science. 168: 521-530.
- ✓ Chandrasekar, V., R. K. Sairam, and G. C. Srivastava. 2000. Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. Journal of Agronomy and Crop Science. 185: 219-227.
- ✓ Chaves, M.M. J.S. Pereira, J. Maroco, M.L. Rodrigues, C.P.P. Ricardo, M.L. Osorio, I. Carvalho, T. Faria, and C. Pinheiro. 2002. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth. Journal of Annals of Botany. 89: 907-916.
- ✓ Ehdaie, B., G.A. Alloush, M.A. Madore, and J.G. Waines. 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. postanthesis changes in internode dry matter. Journal of Crop Science. 46: 735- 746.
- ✓ El-Jafari, S. 2000. Durum wheat breeding for abiotic stresses resistance: Defining physiological traits and criteria options Mediterranean's. Serie A. 40: 251-256.
- ✓ Ghorbani-Javid, M., F. Moradi, G.H.A. Akbari and A. Dadi. 2006. Role some metabolites in osmotic adjustment in Alfalfa under drought stress. Journal of Agronomy Iran. 8(2): 90-105.(In Persian).
- ✓ Hare, P. D., W. A. Cress, and J. Van Standen. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Journal of Plant Cell Environment. 21: 535-553.
- ✓ Iannucci, A., M. Russo, L. Arena, N. D. Fonzo, and P. Martiniello. 2002. Water deficit effects on osmotic adjustment and solute accumulation in leaves of annual clovers. Journal of Europe Agronomy. 16: 111-122.

-
- ✓ Irigoyen, J. J., D. W. Emerrich and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Journal of Physiology Plant*. 84: 55-60.
 - ✓ Jeschks W. D .1984. K⁺ Na⁺ exchange at cellular membranes, intracellular compartmentation, and salt tolerance. In: R.C. Staples, G.H. Toenniessen, eds. *Salinity Tolerance in Plants*. New York: Wiley, 37.
 - ✓ Jiang, Y., and B. Huang. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought pre-conditioning enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. *Journal of Crop Science*. 41: 1168-1173.
 - ✓ Kameli, A., and D. M. Lösel. 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *Journal of Plant Physiology*. 145: 363-366.
 - ✓ Kerepesi, I., and G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in carbohydrate content in wheat seedlings. *Journal of Crop Science*. 40: 482-487.
 - ✓ Khosh Kholgh Sima, N.A. 1999. Physiological, aspects of fodder production salt-affected solids. Doctoral thesis. Hiroshima. Japan.
 - ✓ Koch, K. E. 1996. Carbohydrate modulated gene expression in plants; *Annu. Rev. Plant Physiol. Journal of Plant Biology*. 47: 509-540.
 - ✓ Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method In: Helebust J.A. and Craig, J.S. (ed.): *Hand book of physiological method*: 56-97.
 - ✓ Martin, M. F. Miceli, J.A. Morgan, M. Scalet, and G. Zerbi. 1993. Synthesis of osmotically active substrates in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *Journal of Agriculture and Crop Science*. 171: 176-184.
 - ✓ Natali, S., C. Bignami, and A. Fusari. 1991. Water consumption, photosynthesis, transpiration and leaf water potential in *Olea europaea* L. cv. "Frantoio" at different levels of available water. *Journal of Agriculture*. 121(3): 205-212.
 - ✓ Patakas, A., N. Nikolaou, E. Zioziou, K. Radoglou, and B. Noitsakis. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Journal of Plant Science*. 163: 361-367.
 - ✓ Shabala, S., O. Babourina, and L. Newman. 2000. Ion-specific mechanisms of osmo-regulation in bean mesophyll cells. *Journal of Experimental Botany*. 51: 1243-1253.
 - ✓ Slama, I. D. Messedi, T. Ghnaya, A. Savoure, and C. Abdelly. 2006. Effects of water deficit on growth and proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Environmental and Experimental Botany*. 56: 231-238.

- ✓ Sween, D.W. J.H. Long, and M.B. Kirkham. 2003. A signal irrigation to improve early maturing soybean yeild and quality. *Journal of Soil Science*. 67: 235-240.
- ✓ Staden J., P. D. Hare and W. A. Cress. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany*. 50 (333): 413- 434.
- ✓ Tsugane, K., K. Kobayashi, Y. Niwa, Y. Ohba, K. Wada and H. Kobayashi. 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photo-autotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant mutant that grows photo-autotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. Journal of Plant Cell*. 11: 1195–1206.
- ✓ Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir and H. Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P.vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Journal of Plant Science*. 168: 223-231.
- ✓ Turner, N. C., and M. E. Nicolas. 1987. Drought resistance of wheat for light-textured climate. In: *Drought tolerance in winter cereals*. Srivastava, J. P., E. Procrddu, E. Acevedo. And S, Varma (eds.). pp: 203-216.
- ✓ Yin, X., and T.Y. Vyn. 2002. Soybean responses to potassium placement and tillage alternatives following no-till. *Journal of Agronomy*. 94: 1367 -1374.