

اثر تنش شوری و افزایش دی‌اکسید کربن بر تجمع پرولین، کربوهیدرات و سایر صفات مورفوفیزیولوژیک گل زلف عروس (*Amaranthus tricolor* L.)

مریم کمالی^{۱*}، محمود شور^۱، علی تهرانی‌فر^۱، مرتضی گلدانی^۲ و یحیی سلاح‌ورزی^۳

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۱)

چکیده

افزایش غلظت دی‌اکسید کربن اتمسفری اثر مستقیمی بر فعالیت‌های گیاهی دارد. آزمایشی به‌منظور بررسی اثر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن هوا از ۳۸۰ به ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گل زلف عروس (*Amaranthus tricolor* L.) تحت سه تیمار شوری (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. نتایج نشان داد که برهمکنش شوری و دی‌اکسید کربن در صفاتی مثل وزن خشک کل، نشت الکترولیت، محتوای رطوبت نسبی و میزان جذب یون سدیم از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود، ولی برهمکنش این دو تیمار در صفاتی مثل غلظت پرولین و کربوهیدرات کل تفاوت معنی‌داری از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ نشان نداد. بیشترین محتوای رطوبت نسبی در غلظت ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید کربن، زمانی که گیاهان تنها با آب مقطر (بدون تنش شوری) آبیاری شدند، مشاهده شد. اعمال تیمارهای ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید کربن در بیشترین سطح نمک، درصد نشت الکترولیت را به‌ترتیب به میزان ۲۶ و ۱۹ درصد نسبت به میانگین شاهد دی‌اکسید کربن کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: غلظت سدیم، محتوای رطوبت نسبی، نشت الکترولیت

مقدمه

نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه می‌گردد (۸). در بافت‌های گیاهی، زیاد بودن نسبت پتاسیم به سدیم به عنوان یکی از سازوکارهای فیزیولوژیک مهم در ایجاد تحمل به شوری در برخی گونه‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (۱۶).

تغییر محتوای پرولین یکی دیگر از پدیده‌های غالب گزارش شده می‌باشد که به وسیله تنش‌های شوری و خشکی در گیاهان القا می‌شود و اغلب پذیرفته شده که در سازوکارهای بردباری به تنش دخیل می‌باشد؛ اگرچه نقش دقیق آن هنوز یک موضوع بحث‌انگیز باقی مانده است (۲۳).

زلف عروس (آمارانتوس، افروز) با نام علمی *Amaranthus tricolor* L. گیاهی برگ‌زینتی، یکساله و دارای سیستم فتوسنتزی چهارکربنه از خانواده تاج خروس است. آمارانتوس در طب سنتی برای درمان اسهال، زخم معده و سردرد استفاده می‌شود. این گیاه مقاومت به خشکی متوسط دارد؛ ولی مقاومت به شوری آن مورد مطالعه قرار نگرفته است (۱۴). بن‌لوچ و همکاران (۸) گزارش نمودند که افزایش یون سدیم در محیط ریشه سبب کاهش میزان جذب یون پتاسیم و

۱. گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. مرکز تحقیقات انار فردوس

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.kamali57@yahoo.com

پرویلین یکی از پایدارترین اسیدهای آمینه است که در برابر هیدرولیز اسیدی اکسیداتیو به توکسین‌ها مقاومت می‌کند و کمترین اثر بازدارندگی را در رشد سلول‌ها در بین تمام اسیدهای آمینه دارد (۲۰). تجمع زیاد پرویلین، گیاه را قادر می‌سازد که پتانسیل اسمزی را حفظ کند (۳۴).

از دیگر موادی که در شرایط تنش در گیاه تجمع می‌یابد، قندهای محلول می‌باشند که تحت تنش، به عنوان عوامل اسمزی و یا به عنوان حفاظت‌کننده‌های اسمزی (۹ و ۱۷) عمل می‌نمایند. افزایش قند طی تنش، به طور معنی‌داری با تنظیم اسمزی و حفظ آماس همبستگی دارد و به عنوان حفاظت‌کننده اسمزی، باعث پایداری پروتئین‌ها و غشاهای می‌شود (۳۲). قندهای محلول و پرویلین می‌توانند در تنظیم اسمزی به عنوان مواد محلول سازگار استفاده شوند (۱۷).

وجود مقدار کافی پتاسیم برای زنده ماندن گیاه در محیط‌های شور ضروری است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که غلظت پتاسیم در بافت‌های گیاهی با افزایش شوری کاهش می‌یابد (۲). گیاهان در معرض تنش شوری و خشکی به پتاسیم بیشتری در گیاه نیاز دارند، که به دلیل حفظ غلظت زیاد استرومایی پتاسیم در چنین شرایطی است (۲).

دی‌اکسید کربن یکی از نیازهای چهارگانه گیاهان (نور، مواد مغذی، آب و دی‌اکسید کربن) برای رشد می‌باشد (۳۶). افزایش غلظت دی‌اکسید کربن تا ۶۶۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش تولید میوه‌های گیاهان سه‌کرنه، دانه، برگ و دانه‌های گیاهان لگومینه به ترتیب به میزان ۳۱، ۳۱، ۲۵ و ۳۱ درصد شد (۱۸). در اثر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن، سطح برگ گیاه سویا افزایش یافته، ولی نسبت برگ به جرم کل تقریباً ثابت ماند (۳۳). افزایش دی‌اکسید کربن منجر به افزایش زیست‌توده و عملکرد دانه گیاه سویا به ترتیب به میزان ۴۰ و ۳۰ درصد گردید (۶). آخرین شواهد از مطالعات مربوط به افزایش دی‌اکسید کربن نشان می‌دهد که غنی‌سازی دی‌اکسید کربن اثر مستقیمی بر فتوسنتز گیاهان چهارکرنه ندارد، با این وجود، شرایط گیاهان تحت تنش‌هایی مثل تنش خشکی یا شوری با

افزایش دی‌اکسید کربن بهبود یافته است (۲۱). همچنین، تأثیر دی‌اکسید کربن بر گیاهان می‌تواند در نتیجه سایر عوامل محیطی، مثل شوری، تغییر یابد (۳۰). تحقیقات و بررسی‌هایی که در مورد اثر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن بر گیاهان مختلف انجام پذیرفته حاکی از افزایش عملکرد این گیاهان در اثر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن می‌باشد. لوپز و همکاران (۲۰)، بیان کردند که با افزایش گاز دی‌اکسید کربن اتمسفر، گیاهان بهتر می‌توانند تنش‌های آبی از قبیل خشکی و یا شرایط شوری را با کاهش تعلق و افزایش پتانسیل آبی تحمل کنند.

گیسلر و همکاران (۱۳)، گزارش کردند که غنی‌سازی با گاز دی‌اکسید کربن منجر به افزایش معنی‌دار میزان فتوسنتز و در نتیجه افزایش تحمل به شوری می‌شود. ضمن اینکه روابط آبی را نیز بهبود می‌بخشد. بخشی از انرژی اضافی ناشی از غنی‌سازی دی‌اکسید کربن به منظور افزایش تحمل به شوری مصرف می‌شود. مثلاً میزان پرویلین، بخصوص در برگ‌ها، که اولین اندامی است که تحت تأثیر افزایش گاز دی‌اکسید کربن قرار می‌گیرند، افزایش می‌یابد. این می‌تواند به دلیل افزایش مقاومت به نمک در شرایط غنی‌سازی با گاز دی‌اکسید کربن باشد (۱۳). ملگار و همکاران (۲۶)، بیان کردند که مکانیزم تحمل به شوری در گلیکوفیت‌ها وابسته به توانایی محدود کردن جذب یون‌های سدیم و کلر و یا توانایی انتقال این یون‌ها از ناحیه ریشه به بخش‌های هوایی است. زیتون، رقم Koroneiki، تحت تنش شوری، در شرایط غنی‌سازی گاز دی‌اکسید کربن، غلظت‌هایی کمتر از یون‌های سدیم در برگ و ریشه داشت.

با توجه به افزایش غلظت دی‌اکسید کربن در سال‌های آینده در اتمسفر و تأثیر آن بر رشد گیاه و تأثیر تنش شوری بر صفات رشدی گیاهان، این آزمایش با هدف بررسی دو عامل فوق‌بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گل‌آماراتوس انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، به صورت آزمایش کرت‌های

برگ‌ها، ریشه و اندام هوایی گیاه جهت اندازه‌گیری وزن خشک به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به آون منتقل شدند و با ترازوی دیجیتال مدل GF-300 با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند. از حاصل جمع وزن خشک بخش هوایی و ریشه، وزن کل گیاه به دست آمد. نسبت ریشه به اندام هوایی (R/S) نیز از تقسیم وزن خشک ریشه به وزن خشک بخش هوایی حاصل شد. برای به دست آوردن درصد محتوای نسبی آب برگ (RWC)، قطعات یک سانتی متری برگ از هر تیمار آزمایشی جدا شده و بلافاصله توزین شد (W_F). سپس برگ‌ها در دمای ۷۰ درجه خشک و توزین شدند (W_D) و درصد محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد:

$$RWC = ((W_F - W_D) / W_F) \times 100 \quad [1]$$

به منظور اندازه‌گیری درصد پایداری غشای سلول‌های برگ، ابتدا قطعاتی برگ پس از شستشو همراه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در لوله‌های آزمایش قرار گرفتند. سپس لوله‌ها به مدت ۱۷ تا ۱۸ ساعت به وسیله شیکر به شدت تکان داده شدند. در این مرحله، هدایت الکتریکی اولیه (C_i) به وسیله دستگاه هدایت سنج (ساخت شرکت Jenway انگلیس، مدل ۴۳۱۰) اندازه‌گیری شد. سپس، لوله‌های آزمایش جهت کشته شدن سلول‌های برگ به اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه انتقال داده شدند. بدین طریق، هدایت الکتریکی بیشینه (C_m) نیز پس از سرد شدن محتویات داخل لوله‌های آزمایش اندازه‌گیری شد. در نهایت، درصد نشت الکترولیت (EL) از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$EL = (C_i / C_m) \times 100 \quad [2]$$

جهت اندازه‌گیری محتوای پرولین، ۰/۱ گرم برگ خشک طبق روش بیتز و همکاران (۷) عصاره‌گیری شده و غلظت پرولین استخراج استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Jenway Model 6305) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری کربوهیدرات کل، ۰/۵ گرم نمونه از برگ گیاه وزن شد. بعد از هضم نمونه‌های برگ، جذب طول موج

خرد شده (اسپلیت پلات) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل: سه سطح غلظت دی اکسید کربن (۳۸۰، ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی گرم در لیتر) به عنوان کرت اصلی و سه سطح شوری (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) به عنوان کرت فرعی بودند. بذر گل زلف عروس (*Amaranthus tricolor* L.) برای انجام این آزمایش از شرکت فروش بذر باغ فرید تهران تأمین شد.

کشت بذر در سینی‌های حاوی کوکوپیت انجام شد و بعد از جوانه‌زنی، گیاهان در مرحله چهار برگی به گلدان‌هایی با قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۸ سانتی متر منتقل شدند. گلدان‌ها با مخلوط خاک زراعی، ماسه، کود حیوانی و خاک برگ به نسبت ۴:۲:۱:۱ پر شدند. خصوصیات خاک مورد نظر در جدول ۱ ارائه شده است. دمای محیط حدود ۲۷ درجه سلسیوس در طول روز و ۱۸ درجه سلسیوس در شب، با رطوبت نسبی حدود ۷۰٪ تنظیم شد. برای تنظیم دی اکسید کربن با غلظت‌های مورد نظر، از یک سیستم کاملاً خودکار استفاده گردید. یک فتوسل دستور روشن و خاموش شدن را به ترتیب در روز و شب انجام می‌داد و با استفاده از کپسول‌های ۵۰ کیلوپی دی اکسید کربن، شیرهای برقی و زمان‌سنج‌هایی که در مسیر قرار داده شده بودند، تزریق گاز صورت می‌گرفت. با استفاده از یک CO_2 متر قابل حمل، اندازه‌گیری غلظت دی اکسید کربن در طول روز انجام می‌گرفت. گیاهان موجود در داخل اتاقک‌های رشد به مدت ۸۰ روز تحت تأثیر دی اکسید کربن قرار گرفتند. اعمال تیمارهای شوری همزمان با اعمال تیمارهای دی اکسید کربن در مرحله حدود شش برگی و با آب حاوی مقادیر متفاوت از نمک کلرید سدیم با غلظت‌های مورد نظر انجام شد. میزان آب آبیاری با توجه به ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها در هر روز ۳۰۰ میلی لیتر در نظر گرفته شد. به منظور جلوگیری از تجمع نمک، هدایت الکتریکی آب زهکش گلدان‌ها به طور مرتب اندازه‌گیری شده و زمانی که مقدار آن ۱/۵ برابر هدایت الکتریکی آب آبیاری می‌شد، آبشویی صورت می‌گرفت.

در پایان آزمایش و پس از مشاهده علائم ناشی از تنش در

جدول ۱. برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

شن	سیلت	رس	سدیم	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	آهک	ماده آلی	نیتروژن	pH	EC
(%)	(%)	(%)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(mg/L)	(%)	(%)	(%)	عصاره اشباع	(dS/m)
۴۹/۸	۲۵/۴	۲۴/۸	۱/۲	۰/۵۹	۳/۲	۱/۵	۹	۳/۴۱	۰/۰۴۹	۷	۰/۹۸

۶۲۵ نانومتر توسط عصاره‌های حاصل با دستگاه اسپکتروفوتومتر و غلظت کربوهیدرات‌ها با استفاده از منحنی استاندارد منحنی محاسبه گردید (۱۵).

برای استخراج سدیم و پتاسیم، از روش هضم تر استفاده شد (۳۵). به این منظور، به ۵ گرم نمونه گیاهی خشک (بخش هوایی گیاه)، در زیر هود، ۵ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه شده و یک شب در دمای اتاق نگهداری شد. روز بعد، بشرهای حاوی نمونه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس تا خروج کامل بخار خرمایی رنگ حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۲ میلی‌لیتر اسید پرکلریک غلیظ به نمونه‌ها اضافه شد و دوباره در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد تا نمونه کاملاً سفید و شفاف شود. در این مرحله، نمونه‌ها از کاغذ صافی عبور داده و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شدند. سپس، غلظت سدیم و پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری شدند. برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار MSTAT-C و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) استفاده شد. نمودارها نیز توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

وزن خشک کل و نسبت ریشه به اندام هوایی

تجزیه واریانس مربوط به وزن خشک کل و نسبت وزن خشک ریشه به بخش هوایی (R/S) نشان داد که بین غلظت‌های متفاوت دی‌اکسید کربن و همچنین سطوح مختلف شوری از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). از سوی دیگر، برهمکنش شوری و دی‌اکسید کربن نیز بر مقادیر وزن خشک کل ($P < 0/01$) و نسبت R/S ($P < 0/05$) معنی‌دار بود. بررسی اثر متقابل دی‌اکسید کربن و شوری نشان داد که بیشترین وزن خشک کل در بیشترین غلظت دی‌اکسید کربن و

در سطوح صفر و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک به دست آمد (شکل ۱). با افزایش دی‌اکسید کربن از ۳۸۰ به ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر، نسبت R/S از ۰/۱۸ به ۰/۲۶ رسید (جدول ۳). ضمن اینکه در بررسی نسبت R/S مشاهده شد که بیشترین مقادیر فوق در تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار نمک و غلظت ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر دی‌اکسید کربن بود (جدول ۴).

با افزایش دی‌اکسید کربن، افزایش وزن خشک همراه با برگ‌های بیشتر و بزرگتر در بنفشه آفریقایی و ایجاد ساقه ضخیم‌تر و طویل‌تر در شاخه‌های جانبی داودی مشاهده شد (۲۸). روزما (۳۱)، گزارش کرد که کاهش رشد حاصل از تنش آب می‌تواند در نتیجه غنی‌سازی با گاز دی‌اکسید کربن خنثی شود و رشد در شرایط شوری در بعضی گیاهان سه‌کربنه و چهارکربنه در صورتی که این گیاهان در معرض سطوح زیاد دی‌اکسید کربن (۲۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار گیرند، افزایش پیدا می‌کند. باومن و استرین (۱۰)، نتایج مشابهی را در مورد گیاه چهارکربنه *Andropogon glomeratus* گزارش کردند.

عمده‌ترین اثر تنش شوری بر گیاهان، جلوگیری از رشد می‌باشد، که ممکن است به دلیل کاهش تقسیم سلولی، عدم تعادل یونی، کاهش جذب آب، اختلال در جذب عناصر، اثر یون‌های سمی، به‌ویژه سدیم، اختلال در جذب، احیا و متابولیسم نیتروژن و پروتئین، بسته شدن جزئی یا کلی روزنه‌ها و کاهش کارایی فتوسنتز باشد. زواره و همکاران (۳) گزارش کردند که بررسی‌ها روی بیش از ۷۰ گزارش منتشر شده و ۴۳۰ مشاهده مربوط به ۳۷ گونه گیاهی نشان داده که دو برابر نمودن غلظت دی‌اکسید کربن، عملکرد گیاهان را تا ۳۳٪ افزایش می‌دهد. با این حال، دیده می‌شود که تمام اندام‌های یک گیاه به یک میزان از هوای غنی از دی‌اکسید کربن بهره نمی‌برند. برای نمونه، افزایش غلظت

جدول ۲. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات مورفوفیزیولوژیک اندازه گیری شده در گل زلف عروس

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن خشک کل	نسبت ریشه به اندام هوایی	محتوای رطوبت نسبی	نشت الکترولیت
دی اکسید کربن	۲	۱۲۰/۰ **	۰/۰۴۷ **	۱۴۷۲/۲ **	۱۲۶۷/۸ **
خطا	۶	۱/۲۰	۰/۰۰۱	۲۸/۲	۲۲/۰۷
تنش شوری	۲	۱۰۴/۸ **	۰/۰۰۸ **	۲۴۷۵/۶ **	۴۶۷۵/۱ **
دی اکسید کربن × تنش شوری	۴	۱۲/۵ **	۰/۰۰۵ *	۶۸۷/۴ **	۶۲۳/۶ **
خطا	۱۲	۱/۴۳	۰/۰۰۱	۷/۵۴	۷۱/۸

** و * به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال خطای ۱٪ و ۵٪

دی اکسید کربن باعث شد که نسبت R/S که نشان دهنده توزیع ماده خشک بین اندام های زیرزمینی و هوایی است، در بیشتر گیاهان مورد مطالعه افزایش یافته، در مواردی بدون تغییر بماند و در ۳۷/۵٪ از موارد کاهش یابد (۳). در تحقیق حاضر، نسبت R/S با افزایش غلظت دی اکسید کربن از سطح شاهد به ۱۰۵۰ میلی گرم در لیتر افزایش نشان داد.

محتوای رطوبت نسبی برگ و نشت الکترولیت

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثرهای ساده دی اکسید کربن، شوری و برهمکنش شوری و دی اکسید کربن بر درصد محتوای رطوبت نسبی معنی دار شد ($P < 0/01$). بیشترین محتوای رطوبت نسبی در غلظت ۷۰۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن، زمانی که گیاهان تنها با آب مقطر (بدون تنش شوری) آبیاری شدند مشاهده شد.

اثر ساده و متقابل دو عامل مورد بررسی بر درصد نشت الکترولیت نیز معنی دار بود ($P < 0/01$). بررسی اثر متقابل دو عامل دی اکسید کربن و شوری نشان داد که افزایش دی اکسید کربن می تواند در کاهش درصد نشت الکترولیت مؤثر باشد. اعمال تیمارهای ۷۰۰ و ۱۰۵۰ میلی گرم در لیتر دی اکسید کربن در بیشترین سطح نمک، درصد نشت الکترولیت را به ترتیب به میزان ۲۶ و ۱۹ درصد نسبت به میانگین شاهد دی اکسید کربن کاهش داد (جدول ۴).

محتوای نسبی آب برگ همبستگی زیادی با پتانسیل آب برگ دارد و کاهش محتوای نسبی آب برگ منجر به بسته شدن

روزنه ها، کاهش فتوسنتز و در مقادیر شدید منجر به توقف انتقال الکترون، ممانعت نوری و تخریب غشا می شود. افزایش آب بافت ها را می توان به افزایش غلظت دی اکسید کربن نسبت داد (۲۷). افزایش غلظت دی اکسید کربن می تواند به طور مستقیم بر رشد گیاهان اثر بگذارد، زیرا باعث تحریک و افزایش فتوسنتز و کاهش تنفس و در نتیجه افزایش و بهبود کارایی مصرف آب می شود (۲۷). ضمن اینکه افزایش غلظت دی اکسید کربن موجب بسته شدن جزئی روزنه ها می شود. این کاهش هدایت روزنه ای باعث کاهش تعرق در واحد سطح برگ می شود. کاهش در سرعت از دست دادن آب برگ می تواند به دلیل کاهش تعرق و کاهش نیاز به آب در شرایط افزایش غلظت دی اکسید کربن باشد (۱۲).

لوپز و همکاران (۲۰)، با بررسی برهمکنش شوری و دی اکسید کربن در گیاه جو گزارش کردند که در تیمار شاهد میزان محتوای رطوبت نسبی ۹۷٪ بود، ولی در بیشترین سطح شوری (۲۴۰ میلی مولار) در دی اکسید کربن ۳۵۰ میلی گرم در لیتر (شاهد) به ۸۵٪ رسید. این در حالی است که در همین سطح از شوری، با افزایش گاز دی اکسید کربن تا ۷۰۰ میلی گرم در لیتر میزان محتوای رطوبت نسبی به ۹۰٪ رسید. در گیاه *Aster tripolium* مشاهده شد که محتوای نسبی آب برگ با افزایش شوری از شاهد تا ۲۵٪ نمک دریا از ۸۶ تا ۸۸ درصد افزایش یافت؛ ولی با افزایش میزان شوری، رو به کاهش گذاشت (۱۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرهای ساده دی‌اکسید کربن و شوری بر صفات مورفوفیزیولوژیک زلف عروس

تیما	وزن خشک کل (گرم در بوته)	نسبت ریشه به اندام هوایی (R/S)	محتوای رطوبت نسبی (%)	نشت الکترولیت (%)
دی‌اکسید کربن (mg/L)				
۳۸۰	۷/۰۷ b	۰/۱۸ b	۴۵/۰۹ b	۵۴/۹۱ a
۷۰۰	۸/۲۳ b	۰/۱۲ c	۶۷/۰۵ a	۳۶/۸۹ b
۱۰۵۰	۱۳/۹۰ a	۰/۲۶ a	۶۷/۴۳ a	۵۹/۲۹ a
شوری (mM)				
۰	۱۳/۰۷ a	۰/۱۸ ab	۷۷/۱۳ a	۲۵/۹۲ c
۱۵۰	۹/۸۷ b	۰/۱۶ b	۵۸/۴۰ b	۵۴/۱۵ b
۳۰۰	۶/۲۵ c	۰/۲۲ a	۴۴/۰۵ c	۷۱/۰۳ a

میانگین‌هایی که در هر ستون برای هر عامل دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۴. مقایسه میانگین برهمکنش اثرهای دی‌اکسید کربن و شوری بر صفات نشت الکترولیت و محتوای رطوبت نسبی گل زلف عروس

دی‌اکسید کربن (mg/L)	شوری (mM)	نسبت ریشه به اندام هوایی (R/S)	نشت الکترولیت (%)	محتوای رطوبت نسبی (%)
۰	۰	۰/۱۴ e	۲۲/۸۰ d	۷۵/۳۹ b
۳۸۰	۱۵۰	۰/۱۷ de	۵۸/۰۹ c	۴۴/۶۹ e
۳۰۰	۳۰۰	۰/۲۴ bc	۸۳/۸۵ a	۱۵/۱۹ f
۰	۰	۰/۱۳ e	۲۲/۲۷ d	۸۱/۷۶ a
۷۰۰	۱۵۰	۰/۱۱ e	۲۶/۴۴ d	۷۱/۹۶ bc
۳۰۰	۳۰۰	۰/۱۱ e	۶۱/۹۶ c	۴۷/۴۳ e
۰	۰	۰/۲۸ ab	۳۲/۶۸ d	۷۴/۲۳ bc
۱۰۵۰	۱۵۰	۰/۲۰ cd	۷۷/۹۰ ab	۵۸/۵۴ d
۳۰۰	۳۰۰	۰/۳۱ a	۶۷/۲۷ bc	۶۹/۵۳ c

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند.

غلظت پرولین برگ

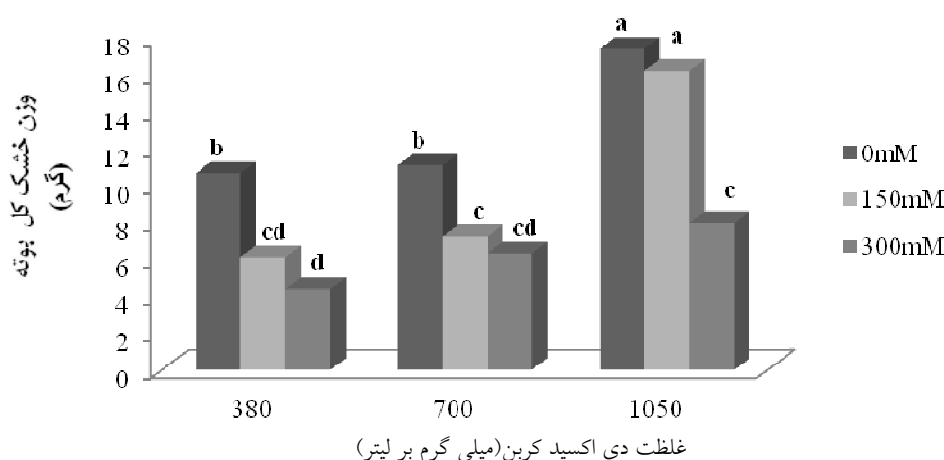
نتایج نشان داد با افزایش دی‌اکسید کربن میزان پرولین برگ گیاه زلف عروس به طور ناچیز رو به افزایش گذاشت، هرچند این میزان معنی‌دار نبود (جدول ۵ و ۶). افزایش شوری نیز میزان پرولین را افزایش داد ($P < 0.01$). همان‌طور که در جدول ۶ مشاهده می‌شود، میزان پرولین در برگ از ۰/۵۶ میکرومول بر گرم وزن تر در تیمار شاهد شوری (صفر میلی‌مولار) به ۰/۹۸

میکرومول در هر گرم وزن تر در تیمار ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم رسید. برهمکنش دو عامل مورد بررسی نیز در هیچ‌یک از سطوح آزمایش اختلاف معنی‌داری نشان نداد. لازم به توضیح است که بر اساس نتایج جدول ۵، اگرچه میزان پرولین با افزایش دی‌اکسید کربن در این آزمایش معنی‌دار نشد، ولی روند افزایشی نشان داد. به عبارتی دیگر، اگر میزان دی‌اکسید کربن از مقادیر فوق بیشتر باشد، احتمال

جدول ۵. میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برخی صفات بیوشیمیایی اندازه گیری شده در گل زلف عروس

منابع تغییر	درجه آزادی	پرولین	کربوهیدرات کل	سدیم	پتاسیم	پتاسیم/سدیم
دی اکسید کربن	۲	۰/۰۱۷ ^{ns}	۳۹/۱۶ ^{ns}	۰/۱۵ ^{**}	۰/۰۲ [*]	۰/۸۸ ^{ns}
خطا	۶	۰/۰۱۹	۱۶۵/۵۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۳۲
تنش شوری	۲	۰/۴۱۲ ^{**}	۱۱۹۷۹/۳۸ ^{**}	۲/۹۹ ^{**}	۰/۴۴ ^{**}	۸۷/۴۵ ^{**}
دی اکسید کربن × تنش شوری	۴	۰/۰۱۳ ^{ns}	۲۰۸/۱ ^{ns}	۰/۰۳ ^{**}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۳۶ ^{ns}
خطا	۱۲	۰/۰۱۹	۱۱۶/۳۱	۰/۰۰۷	۰/۰۳	۰/۳۷

ns و * و ** به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار



شکل ۱. اثر متقابل غلظت های متفاوت دی اکسید کربن و سطوح شوری بر وزن خشک کل

شوری تا ۳۰۰ میلی مولار، میزان کربوهیدرات برگ اختلاف معنی داری را در سطح احتمال ۱٪ نشان داد (جدول ۵). به این ترتیب، کربوهیدرات کل در بیشترین سطح تنش نسبت به شاهد، ۶۲٪ افزایش نشان داد. جهت تعادل یونی در واکوئل، سیتوپلاسم موادی با وزن مولکولی کم به نام مواد سازگار تولید می کند. این مواد در واکنش های بیوشیمیایی سلول اختلال ایجاد نکرده و موجب حفظ تعادل اسمزی و ادامه جذب آب، حفظ ساختارهای سلولی، ترکیبات پروتئینی و آنزیمی می شود. این مواد شامل پرولین، گلیسین بتائین و پولیول ها می باشند. پولیول ها قند های غیر احیایی هستند که میزان زیادی کربن در شرایط تنش ذخیره می کنند. کربوهیدرات هایی مانند قندها (گلوکز، فروکتوز و ساکارز) و نشاسته تحت تنش تجمع می یابند، که نقش اصلی آنها حفاظت اسمزی، تنظیم اسمزی و ذخیره کربن است (۴).

معنی دار شدن صفت فوق نیز وجود خواهد داشت. از طرفی، برهمکنش دو عامل شوری و دی اکسید کربن در هیچیک از سطوح تحت آزمایش معنی دار نشد.

علی و همکاران (۷) در مطالعات خود روی گیاه *Bacopa monnieri* به این نتیجه رسیدند که پرولین به مانند یک مولکول تنظیمی و علامت دهنده است که قادر خواهد بود موقعی که گیاه در معرض تنش شوری قرار دارد مقاومت گیاه به شوری را افزایش دهد

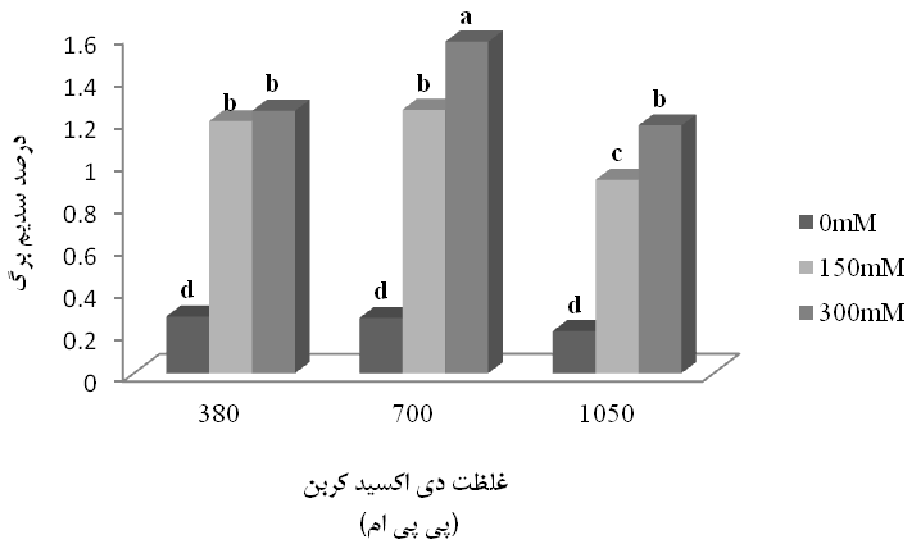
کربوهیدرات کل

در گیاه زلف عروس، افزایش دی اکسید کربن و برهمکنش دی اکسید کربن و تنش شوری بر میزان کربوهیدرات کل برگ اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۵). از طرفی، با افزایش

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر دی‌اکسید کربن و شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی گل زلف عروس

تیما	پرویلین ($\mu\text{mol/gfw}$)	کربوهیدرات کل (mg/gdw)	سدیم (%)	پتاسیم (%)	پتاسیم/سدیم
دی‌اکسید کربن (mg/L)					
۳۸۰	۰/۷۵	۶۷/۳۸	۰/۹۰ b	۰/۲۹ b	۲/۵۵ a
۷۰۰	۰/۷۸	۷۰/۱۲	۱/۰۲ a	۱/۴۰ a	۲/۸۵ a
۱۰۵۰	۰/۸۴	۷۱/۴۸	۰/۷۶ c	۱/۳۵ ab	۳/۱۸ a
شوری (mM)					
۰	۰/۵۶ c	۴۱/۶۰ c	۰/۲۴ c	۱/۵۳ a	۶/۴۵ a
۱۵۰	۰/۸۳ b	۵۶/۴۷ b	۱/۱۲ b	۱/۴۰ b	۱/۲۹ b
۳۰۰	۰/۹۸ a	۱۱۰/۹۰ a	۱/۳۳ a	۱/۱۰ c	۰/۸۴ c

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون LSD ($p < 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند



شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های متفاوت دی‌اکسید کربن و سطوح شوری بر درصد سدیم برگ زلف عروس

غلظت سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم برگ

بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس، درصد سدیم موجود در برگ نمونه‌های گیاهی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. اثر ساده دی‌اکسید کربن بر درصد پتاسیم نمونه‌های برگ در سطح احتمال ۵٪ و اثر ساده شوری بر درصد پتاسیم در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. ولی برهمکنش دو عامل شوری و دی‌اکسید کربن بر درصد پتاسیم اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

اندازه‌گیری نسبت پتاسیم به سدیم در برگ گیاه آمارانتوس نیز نشان داد که اثر ساده دی‌اکسید کربن و برهمکنش دی‌اکسید کربن و شوری در هیچ‌یک از سطوح مورد اندازه‌گیری معنی‌دار نیست. اثر ساده شوری نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. با افزایش شوری، میزان سدیم برگ گیاه افزایش یافت و از ۰/۲ درصد در تیمار شاهد به ۱/۳ درصد در تنش شدید (۳۰۰ میلی‌مولار) رسید. افزایش دی‌اکسید کربن تا ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر، درصد سدیم را افزایش داد. ولی با افزایش غلظت دی‌اکسید کربن تا

تا کنون مکانیزم‌های بیولوژیک و مولکولی در گیاهان مقاوم به شوری به خوبی شناخته نشده‌اند، اما معلوم شده که تحمل به شوری تا حد زیادی مربوط به تجمع کم سدیم در بافت گیاه است. افزایش توانایی در جذب انتخابی پتاسیم از محیطی که دارای مقادیر زیاد سدیم است ممکن است اهمیت زیادی در تحمل به شوری داشته باشد (۱۱). در واقع، علت کاهش جذب پتاسیم در شرایط شور، انتقال کاتیون‌ها و یون‌های سدیم با یک پروتئین مشترک است که یون سدیم برای انتشار به درون سلول با یون پتاسیم رقابت می‌نماید (۲۹).

در مطالعه‌ای که ماتیسوس و همکاران (۲۴) در مورد گیاه چهارکربنه *Spartina densiflora* با سه سطح شوری (صفر، ۱۷۱ و ۵۱۰ میلی‌مولار) و دو سطح دی اکسید کربن (۳۸۰ و ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر) انجام دادند گزارش کردند که در هر دو سطح دی اکسید کربن، میزان یون سدیم با افزایش شوری در برگ‌ها افزایش و میزان یون پتاسیم کاهش یافت و بیشترین میزان مواد معدنی در شرایط شاهد دی اکسید کربن گزارش شد. راجرز و همکاران (۳۰) گزارش کردند که اغلب با افزایش دی اکسید کربن میزان عناصر غذایی کاهش می‌یابد و این کاهش می‌تواند به دلیل افزایش زیست‌توده کل باشد. در زیتون، تجمع یون‌های سدیم با افزایش دی اکسید کربن معنی‌دار نشد (۲۶).

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش گلخانه‌ای، افزایش میزان گاز دی اکسید کربن تا سطح ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را در افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی و میزان وزن خشک گیاه داشت. ضمن اینکه می‌توان افزایش درصد محتوای رطوبت نسبی برگ را از دیگر آثار غنی‌سازی با گاز دی اکسید کربن دانست. کمترین میزان تجمع سدیم برگی در غلظت ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد و با افزایش دی اکسید کربن، نسبت به سطح ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش تجمع پتاسیم در برگ‌ها دیده شد.

۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان سدیم را نسبت به شاهد کم کرد، به‌طوری که این میزان از ۰/۹٪ در تیمار شاهد (۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر) به ۰/۷٪ در تیمار ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر رسید.

بررسی برهمکنش دی اکسید کربن و شوری نیز نشان داد که در غلظت ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر دی اکسید کربن، درصد سدیم از ۰/۲۶ در شاهد به ۱/۲۴ در تنش ۳۰۰ میلی‌مولار رسید (شکل ۲). اگرچه برهمکنش دو فاکتور مورد بررسی بر درصد پتاسیم معنی‌دار نشد، ولی اندازه‌گیری‌ها نشان داد که با افزایش شوری، درصد پتاسیم به شدت کم می‌شود. میزان پتاسیم برگی در تنش ۳۰۰ میلی‌مولار برابر ۱/۱٪ اندازه‌گیری شد (جدول ۶). این در حالی است که اعمال دی اکسید کربن، درصد پتاسیم را تا حدی بهبود بخشید. نسبت پتاسیم به سدیم برگ گیاه آماراتوس نیز با افزایش شوری رو به کاهش گذاشت و از ۱/۵۸ در شاهد کلرید سدیم به ۷/۶ در تنش شدید (۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) رسید.

افزایش دی اکسید کربن تا ۷۰۰ میلی‌گرم در لیتر، درصد سدیم را افزایش داد، ولی با افزایش غلظت دی اکسید کربن تا ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر، میزان سدیم را نسبت به شاهد کم کرد. به‌طوری که این میزان از ۰/۹٪ در تیمار شاهد (۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر) به ۰/۷٪ در تیمار ۱۰۵۰ میلی‌گرم در لیتر رسید.

بررسی برهمکنش دی اکسید کربن و شوری نیز نشان داد که در غلظت ۳۸۰ میلی‌گرم در لیتر دی اکسید کربن، درصد سدیم از ۰/۲۶ در شاهد به ۱/۲۴ در تنش ۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم رسید (شکل ۲). اگرچه برهمکنش دو فاکتور مورد بررسی بر درصد پتاسیم معنی‌دار نشد، ولی اندازه‌گیری‌ها نشان داد که با افزایش شوری، درصد پتاسیم به شدت کم می‌شود. میزان پتاسیم برگی در تنش ۳۰۰ میلی‌مولار برابر ۱/۱٪ اندازه‌گیری شد (جدول ۶). این در حالی است که اعمال دی اکسید کربن، درصد پتاسیم را تا حدی بهبود بخشید. نسبت پتاسیم به سدیم برگ گیاه آماراتوس نیز با افزایش شوری رو به کاهش گذاشت و از ۱/۵۸ در شاهد کلرید سدیم به ۷/۶ در تنش شدید (۳۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) رسید.

منابع مورد استفاده

۱. انورخواه، س. ۱۳۸۶. بررسی اثر افزایش غلظت دی‌اکسید کربن بر رقابت چندگونه زراعی و علف هرز C_4 و سه‌کرنه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
۲. کمال نژاد، ج.، ص. فرهی آشتیانی، و ف. قناتی. ۱۳۸۵. بررسی اثرات شوری و پتاسیم بر میزان رشد رویشی و زایشی در دو رقم جو ریحان و افضل. نشریه علوم دانشگاه تربیت معلم ۶(۱): ۶۹۶-۶۸۵.
۳. زواره، م.، ح. رحیمیان مشهدی، گ. هوگنبوم، ر. توکل افشاری، م. نصیری محلاتی و ف. شریف زاده. ۱۳۸۵. اثر تغییر دما و افزایش غلظت دی‌اکسید کربن بر تسهیم ماده خشک به ریشه ژنوتیپ‌های کنجد (*Sesamum indicum* L.). علوم کشاورزی ایران ۳۷: ۱۴۵-۱۵۶.
۴. کافی، م.، ا. برزوئی، م. صالحی، ع. کمندی، ع. معصومی و ج. نباتی. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۵۰۲ صفحه.
5. Ali, G., P.S. Srivastava and M. Iqbal. 1999. Proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in *Bacopa monniera* regenerants grown under NaCl stress. Biol. Plantarum 42: 89-95.
6. Allen, Jr., L.H. 1991. Effects of increasing carbon dioxide levels and climate change on plant growth, evapotranspiration, and water resources. PP. 101-147. In: Managing Water Resources in the West under Conditions of Climate Uncertainty, Proc. of a Colloquium, Scottsdale, AZ, National Academies Press, Washington, DC.
7. Bates, L.S., R.P. Waldran and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Soil 39: 205-208.
8. Benlloch, M., M.A. Ojeda, J. Ramos and A. Rodrigues-Navarro. 1994. Salt sensitivity and low discrimination between potassium and sodium. Plant Soil 166: 117-123.
9. Bohnert, H.J., D.E. Nelson and R.G. Jensen. 1999. Adaptations to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.
10. Bowman, W.D. and B.R. Strain. 1987. Interaction between CO_2 enrichment and salinity stress in the C_4 non-halophyte *Andropogon glomeratus* (Walter) BSP. Plant, Cell Environ. 10: 267-270.
11. Bybordi, A. and S.J. Tabatabaei. 2009. Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus*). Not. Bot. Hort. Agrobi. 37(1): 71-76.
12. Casella, E., J.F. Soussana and P. Loiseau. 1996. Long-term effects of CO_2 enrichment and temperature increase on a temperate grass sward. Plant Soil 182: 83-99.
13. Geissler, N., S. Hussin and H.W. Koyro. 2009. Interactive effects of NaCl salinity and elevated atmospheric CO_2 concentration on growth, photosynthesis, water relations and chemical composition of the potential cash crop halophyte *Aster tripolium* L. Environ. Exp. Bot. 65: 220-231.
14. Gilman, E.F. and T. Howe. 2012. *Amaranthus tricolor* Joseph's Coat Amaranth, Fountain Plant. Visit the EDIS website at <http://edis.ifas.ufl.edu>
15. Hedge, J. and E.B.T. Hofreiter. 1962. PP. 17-22. In: Whistler, R.L. and B. Miller (Eds.), Carbohydrate Chemistry, Academic Press, New York.
16. Hoagland, D.R. and D.S. Arnon. 1950. The water culture method for growing plants without soil. Calif. Agric. Exp. Stn. 374: 1-32.
17. Ingram, J. and D. Bartels. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Ann. Rev. Physiol. Mol. Biol. Plants 47: 377-403.
18. Kimball, B.A. 1986. Influence of elevated CO_2 on crop yield. PP. 105-115. In: Enoch, H.Z. and B.A. Kimball (Eds.), Carbon Dioxide Enrichment of Greenhouse Crops, 2, Physiology, Yield and Economics, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL.
19. Kimball, B.A., K. Kobayashi and M. Bindi. 2002. Responses of agricultural crops to free-air CO_2 enrichment. Adv. Agron. 77: 293-368.
20. Lopez, U.P., A. Robredo Lacuesta, M. Mena-Petite and A.M. Noz-Rueda. 2009. The impact of salt stress on the water status of barley plants is partially mitigated by elevated CO_2 . Environ. Exp. Bot. 66: 463-470.
21. Leakey, A.D.B. 2009. Rising atmospheric carbon dioxide concentration and the future of C_4 crops for food and fuel. Proc. R. Soc. 276: 2333-2343.
22. Lee, E.H., R.C. Pausch, R.A. Rowland, C.L. Mulchi and B.F.T. Rudorff. 1997. Responses of field-grown soybean (cv. Essex) to elevated SO_2 under two atmospheric CO_2 concentrations. Environ. Exp. Bot. 37: 85-93.

23. Lutts, S., V. Majerus and J.M. Kinet. 1999. NaCl effect on proline metabolism in rice seedlings. *Plant Physiol.* 105: 450-458.
24. Mateos-Naranjo, E., S. Redondo-Gomez, R. Alvarez, J. Cambrolle, J. Gandullo and M.E. Figueroa. 2010. Synergic effect of salinity and CO₂ enrichment on growth and photosynthetic responses of the invasive cordgrass *Spartina densiflora*. *J. Exp. Bot.* 61(6): 1643-1654.
25. Mohammad, M., H. Malkawi and R. Shibili. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. *J. Plant Nutr.* 26(1): 125-137.
26. Melgar, J.C., J.P. Syvertsen and F. Garcia-Sanchez. 2008. Can elevated CO₂ improve salt tolerance in olive trees? *J. Plant Physiol.* 165: 631-640.
27. Mishra, R.S., M.Z. Abdin and D.C. Uprety. 1999. Interactive effects of elevated CO₂ and moisture stress on the photosynthesis, water relation and growth of *Brassica species*. *Agron. Crop Sci.* 182: 223-229.
28. Mortensen, L.M. 1986. Effect of relative humidity on growth and flowering of some greenhouse plants. *Sci. Hort.* 29: 301-307.
29. Parvaiz, A. and S. Satyawati. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environ.* 54: 89-99.
30. Rogers, H.H., G.B. Runion, S.A. Prior, A.J. Price and H.A. Torbert. 2008. Effects of elevated atmospheric CO₂ on invasive plants: Comparison of Purple and Yellow Nutsedge (*Cyperus rotundus* L. and *C. esculentus* L.). *J. Environ. Qual.* 37: 395-400.
31. Rozema, J. 1993. Plant responses to atmospheric carbon dioxide enrichment: Interactions with some soil and atmospheric conditions. *Vegetatio* 104/105: 173-190.
32. Sanchez, F.J., M. Manzanares, E.F. De Andres, J.L. Tenorio and L. Ayerbe. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Res.* 59: 225-235.
33. Sionit, N., B.R. Strain and E.P. Flint. 1987. Interaction of temperature and CO₂ enrichment on soybean: Growth and dry matter partitioning. *Can. J. Plant Sci.* 67: 59-67.
34. Sudhakar, C., P.S. Reddy and K. Veeranjanyulu. 1993. Effect of salt stress on the enzymes of proline synthesis and oxidation in greengram (*Phaseolus aureus* roxb.) seedlings. *J. Plant Physiol.* 141: 621-623.
35. Yash, K. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, 320 p.
36. Ziska, L.H. and J.A. Bunce. 2006. Plant responses to raising atmospheric carbone dioxide. PP. 17-47. *In*: Morison, J.I.L. and M.D. Morecroft (Eds.), *Plant Growth and Climate Change*, Blackwell Publishing, Ltd., Oxford.