

Evaluation of physiological and defense characteristics and ions contents of Red and Brooms cultivars of sorghum (*Sorghum biolor*) under salt stress stress *in vitro*

Roya Razavizadeh * and Neda Talaei Salavati

Department of Biology, Payame Noor Universtiy, PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran

Abstract

The present study was conducted to evaluate defense and physiological responses of some red and brooms cultivars of *Sorghum* to salinity stress under *in vitro* culture. Seeds of *Sorghum* cultivars were cultured on MS (Murashig and Skoog, 1962) medium containing 0, 50, 100 and 150 mM NaCl under *in vitro* condition. After 2 weeks, the effect of salinity was studied on percentage of germination, growth parameters, photosynthetic capacity (total chlorophyll and carotenoids), total anthocyanin, total flavonoids, reducing sugars, proline, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ ions, total soluble protein content, ascorbate peroxidase and catalase activities in roots and shoots. According to percentage of seed germination and growth parameters, Red and brooms cultivars were selected as susceptible and resistant to salinity in the study, respectively. The photosynthetic pigments (chlorophyll and carotenoids) and the anthocyanin content decreased by increasing salt levels in both cultivars, while flavonoids increased in three wavelengths 270, 300 and 330 nm. The results showed proline, sugar and protein contents increased in roots and shoots of two cultivars by increasing salinity. The content of Na^+ ion increased in the roots of red and brooms cultivars and shoot of Red cultivar. Ratio Na/K increased in roots of two cultivars and shoots of red by increasing salinity. Ratio Na/K in the shoots of brooms cultivar didn't change significantly under salt stress. Generally in the presence of salt, potassium decreased in roots and shoots of two cultivars. Calcium ion amount in the roots of two cultivars didn't change significantly under salt stress while it increased in shoots of two cultivars. The CAT activity increased in roots and shoots of two cultivars but APX activity increased in brooms cultivar and decreased significantly in red cultivar.

Keywords: *in vitro* culture, *Sorghum*, Salt stress

* Corresponding Author: razavi.roya@gmail.com

بررسی ویژگی‌های فیزیولوژیک، دفاعی و محتوای عناصر دو رقم قرمز و جارویی سورگوم (*Sorghum bicolor*) در تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه

رؤیا رضوی‌زاده * و ندا طلائى صلواتی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران- ایران

چکیده

پژوهش حاضر، برای بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیک و دفاعی ارقام سورگوم قرمز و جارویی نسبت به تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه طراحی شد. در ابتدا بذره‌های ارقام گیاه سورگوم در محیط کشت MS دارای غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl در شرایط درون شیشه‌ای کشت شدند. پس از ۲ هفته، اثر تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، شاخص‌های رشد، آنتوسیانین کل، فلاونوئیدها، قندهای احیاء‌کننده، پرولین، یون‌های Na^+ ، K^+ و Ca^{2+} ، پروتئین محلول کل، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بررسی شد. در پژوهش حاضر، دو رقم قرمز و جارویی، که به ترتیب ارقام حساس و مقاوم نسبت به شوری هستند براساس درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های رشد، بررسی شدند. مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل کل و کاروتنوئید) و آنتوسیانین با افزایش مقدار نمک در هر دو رقم کاهش یافت، درحالی‌که میزان فلاونوئیدها در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر افزایش یافتند. با افزایش شوری میزان پرولین، قند و پروتئین در بافت‌های ریشه و ساقه هر دو رقم افزایش پیدا کردند. محتوای یون سدیم در ریشه هر دو رقم و ساقه رقم قرمز افزایش یافت؛ ولی در ساقه رقم جارویی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. به‌طور کلی، پتاسیم در تنش شوری کاهش یافت. نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه هر دو رقم و ساقه رقم قرمز افزایش نشان داد؛ درحالی‌که نسبت سدیم به پتاسیم در ساقه رقم جارویی اثر معنی‌دار نشان نداد. شوری اثر معنی‌داری بر میزان یون کلسیم در ریشه دو رقم نداشت. در حالی‌که میزان کلسیم در ساقه هر دو رقم افزایش یافت. فعالیت آنزیم CAT در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم افزایش یافت؛ ولی فعالیت APX در رقم جارویی افزایش و در رقم قرمز کاهش معنی‌دار را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: سورگوم، شوری، کشت درون شیشه

مقدمه

گیاهان همواره در معرض تنش‌های محیطی قرار دارند که برای رشد و متابولیسم آنها زیان‌آور است. میان آنها، شوری و خشکی، مضرترین تنش‌ها شناخته شده‌اند. شوری خاک یکی از شدیدترین مشکلات زیست‌محیطی برای رشد گیاهان و در نهایت عملکرد کشاورزی است. براساس گزارش Al-Sadi و همکاران (2010) حدود ۴۰۰ میلیون هکتار از زمین‌های دنیا با تنش شوری مواجه هستند. تنش شوری در گیاهان بر اثر وجود یون‌های سدیم و کلر به وجود می‌آید و تاخیر در جوانه‌زنی و ظهور ریشه‌چه را سبب می‌شود. همچنین از حفظ نیازهای تغذیه‌ای لازم برای رشد و سلامتی گیاه جلوگیری می‌کند. تنش شوری، سمیت یونی، برهم‌خوردن فشار اسمزی و کمبود مواد معدنی را باعث می‌شود؛ در نتیجه تاثیر منفی بر فتوسنتز، فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دارد و به محدود کردن عملکرد محصول و تولید در مقادیر مختلف در گونه‌های گیاهی منجر می‌شود (Kausar et al., 2012). البته پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه، مراحل نمو گیاه و شدت تنش نیز بستگی دارد (Manchanda and Garg, 2008). سورگوم با نام علمی (*Sorghum bicolor* L.) از خانواده Poaceae یکی از گیاهان علوفه‌ای یک ساله و متحمل به نمک است که در ایران ذرت خوشه‌ای نامیده می‌شود (Kausar, et al., 2012). ارقام مختلف سورگوم دانه‌ای مانند سفید و قرمز، برای تولید غذا و فیبر استفاده می‌شوند. سورگوم علوفه‌ای مانند

سودانگراس، به علت سازگاری با شرایط خشک و کم آب، توان زیاد تولید علوفه، به شکل علوفه تر، خشک و سیلویی استفاده می‌شود. سورگوم شیرین برای تهیه الکل صنعتی و سورگوم جارویی به علت داشتن گل‌آذین‌های بزرگ و پهن معمولاً برای تهیه جارو کشت و استفاده می‌شوند (Dahlberg, 2000). این گیاه منبعی غنی از ترکیبات شیمیایی گیاهی و متابولیت‌های ثانویه مانند تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها، فنولیک اسیدها، فیتواسترول‌ها و ... است که برای سلامت انسان بسیار ارزشمند هستند؛ به طوری که گزارش‌هایی مبنی بر تاثیر این گیاه در سلامت قلبی-عروقی و نیز خاصیت ضد سرطانی سورگوم موجود است (Awika and Rooney, 2004). فناوری کشت بافت برای سنجش میزان شوری، بررسی چگونگی تحمل شوری و تغییرات فیزیولوژیک به‌ویژه در گیاهان زراعی با ارزش غذایی، دارویی یا صنعتی نقش کلیدی دارد که دستیابی به اطلاعات با ارزش علمی و عملیاتی را ممکن می‌کند. در آزمایشی بر *Phaseolus vulgaris* cv. Brunco L، با افزایش مقادیر مختلف کلرید سدیم در شرایط درون‌شیشه‌ای، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، میزان پرولین، قندهای محلول و محتوای یون سدیم افزایش و محتوای یون پتاسیم کاهش نشان داد (Nafie et al., 2015). در ارقام گندم، افزایش کلرید سدیم در محیط کشت در شرایط درون‌شیشه‌ای، کاهش فعالیت کاتالاز، مقدار کلروفیل و افزایش پروتئین را باعث شد (Sen and Alikamanoglu, 2011). وزن تر و خشک در گیاه

گوجه‌فرنگی با افزایش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای کاهش یافت (Seth and Kendurkar, 2015). انتخاب رقمی از گیاه سورگوم با سازگاری بیشتر در برابر آب و خاک شور اهمیت زیادی دارد. تحقیقات در شرایط درون‌شیشه‌ای و کنترل‌شده با فضا و زمان محدود، سیستمی ایدئال برای ارزیابی پتانسیل ژنتیکی گیاهان آزمایش شده است. بنابراین تحقیق حاضر برای بررسی میزان تحمل ارقام مختلف سورگوم به تنش شوری، واکنش‌های فیزیولوژیک، دفاعی و پتانسیل جذب عناصر در تنش شوری در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه محیط کشت MS و کاشت بذرها: بذرهای چهار رقم سورگوم (سفید، قرمز، جارویی و سودانگراس) تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان، پس از ضدعفونی شدن سطحی با الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه و آب ژاول ۲۰٪ به مدت ۱۵ دقیقه، ۴ تا ۵ مرتبه زیر لامینار و در جریان هوای استریل با آب مقطر شستشو شد. تعداد ۱۰ عدد بذر استریل در محیط‌های کشت MS جامد با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl کشت شد. شیشه‌های کشت حاوی بذر در اتاق رشد با شرایط کنترل‌شده دمایی (25 ± 2 درجه سانتیگراد) و در دوره نوری ۸/۱۶ ساعت نور/ تاریکی به مدت ۲ هفته قرار گرفتند تا گیاهان رشد کنند.

درصد جوانه‌زنی: بذرهای جوانه زده ارقام سورگوم، ۲ و ۷ روز پس از کشت در محیط‌های

کشت MS بدون کلرید سدیم (شاهد) و MS حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک شمارش شدند و درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. طول ریشه و اندام هوایی گیاهان حاصل با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی با ترازوی دیجیتالی (مدل LE623P Sartorina شرکت Sartorius، آلمان) با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشک و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری رنگ‌های فتوسنتزی: استخراج و سنجش کلروفیل و کارتنوئید براساس روش (Lichtenthaler 1987) با استون ۸۰٪ انجام شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ به ترتیب برای کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/mini 1240 شرکت SHIMADZU، ژاپن) خوانده شد.

سنجش قندهای احیاءکننده: میزان قندهای احیاءکننده در برگ‌ها و ریشه‌ها با محلول‌های سولفات مس و فسفو مولیبدات اندازه‌گیری شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/mini 1240 شرکت SHIMADZU، ژاپن) تعیین و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش شد (Nelson, 1944; Somogyi, 1952).

سنجش محتوای فلاونوئید: برای استخراج فلاونوئیدها، ۰/۱ گرم برگ گیاه با ۲/۵ میلی‌لیتر

اندازه‌گیری میزان پرولین: تعیین غلظت

پرولین با معرف نین هیدرین انجام شد. در این روش از معرف نین هیدرین و استیک اسید گلاسیال برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد. غلظت پرولین نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و در نهایت با توجه به منحنی استاندارد پرولین، میزان پرولین نمونه‌ها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bates et al., 1973).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: میزان فعالیت

آنزیم کاتالاز با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. میزان فعالیت آنزیم با ضریب خاموشی ۰/۳۹ بر میلی مولار بر سانتی متر محاسبه و بر حسب یک واحد (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه) به ازای میلی گرم وزن تر بیان شد (Aebi, 1984).

تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز:

سنجش فعالیت این آنزیم با روش Nakano و Asada (1981) انجام شد. تغییرات جذب در زمان در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت آنزیم با ضریب خاموشی معادل ۲/۸ بر میلی مولار بر سانتی متر محاسبه و بر حسب یک واحد (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه) به ازای میلی گرم وزن تر بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری: همه آزمایش‌ها بر اساس

یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد و آنالیز واریانس داده‌ها با SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. مقایسه میانگین براساس آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ محاسبه شد.

اتانول ۱٪ اسیدی کاملاً همگن شد. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها محلول رویی آن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد و در نهایت جذب هر نمونه در طول موج‌های ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد (Krizek et al., 1998).

سنجش آنتوسیانین: برای اندازه‌گیری میزان

آنتوسیانین برگ از روش واگنر (1993) استفاده شد. ۰/۱ گرم بافت برگ با ۵ میلی لیتر متانول اسیدی عصاره‌گیری و جذب هر نمونه در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV/mini 1240 شرکت SHIMADZU، ژاپن) خوانده شد. نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد. **سنجش میزان پروتئین:** پروتئین موجود در نمونه‌های گیاهی با بافر فسفات ۰/۲ مولار (PH=۷/۲) در دمای ۴ درجه سانتیگراد استخراج و مقدار پروتئین نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با روش برادفورد (۱۹۷۶) با اندکی تغییر (Olson and Markwell, 2007) اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با آلبومین سرم گاوی رسم و در نهایت غلظت پروتئین بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش محتوای یونی سدیم، پتاسیم، کلسیم و

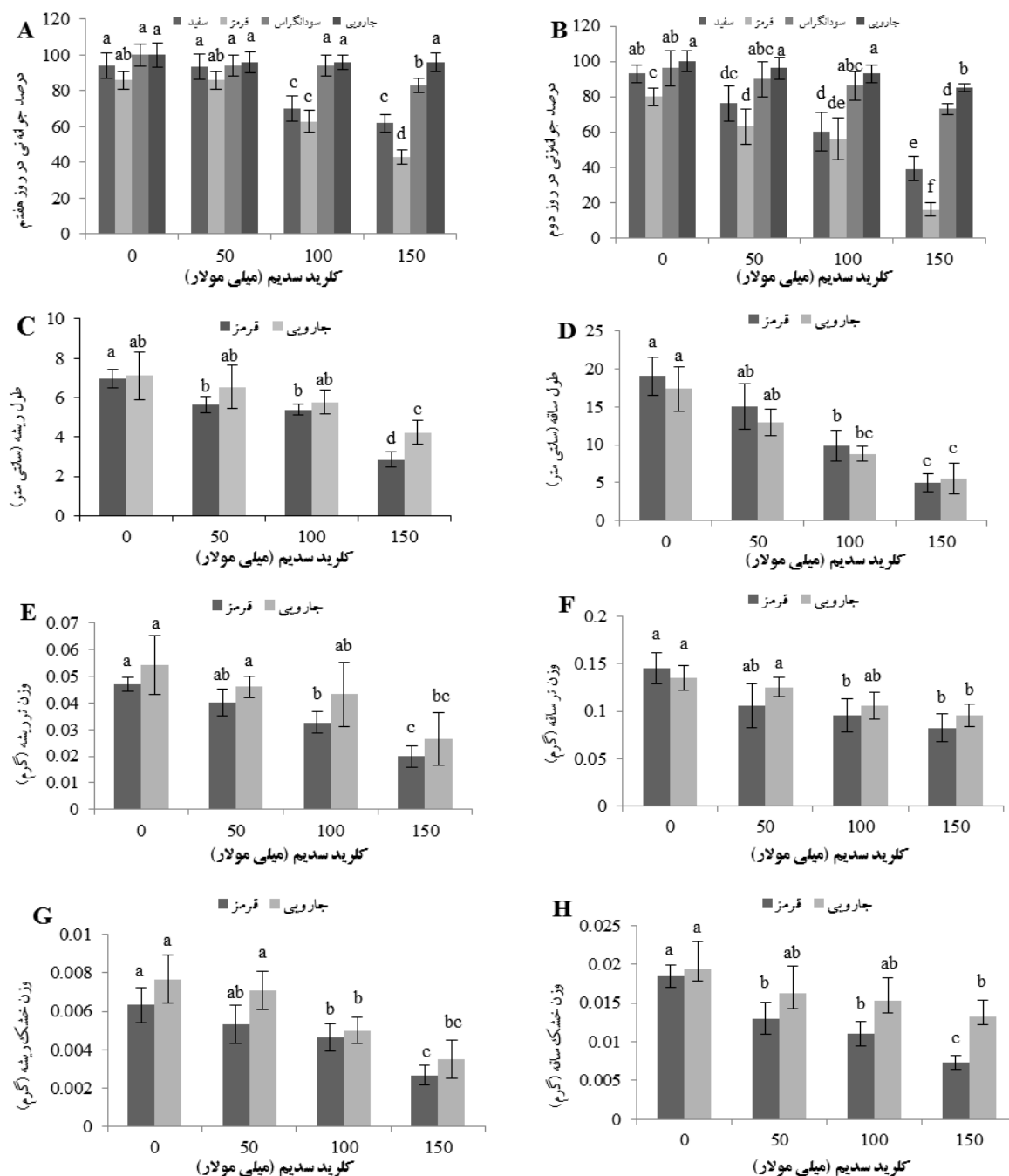
نسبت سدیم به پتاسیم: اندازه‌گیری محتوای یون‌های یاد شده پس از هضم بافت گیاهی با نیتریک اسید غلیظ با دستگاه جذب اتمی (مدل AASpect 203، شرکت CHROMOPHOR، آلمان) اندازه‌گیری و سپس مقدار آن بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد (Emami, 1996).

نتایج و بحث

تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی و شاخص‌های

رشد رویشی گیاه: در پژوهش حاضر، کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش شوری در ارقام جارویی، سفید، سودانگراس و قرمز مشاهده شد. در روز دوم، این کاهش در همه ارقام سورگوم مشاهده شد؛ اما در روز هفتم پس از کشت، رقم جارویی در هیچ یک از مقادیر شوری تفاوت معنی‌دار نشان نداد در حالی که رقم قرمز کاهش جوانه‌زنی را در همه سطوح شوری نشان داد (شکل A-B-۱). با توجه به نتایج حاصل، سورگوم جارویی، رقم مقاوم، و سورگوم قرمز، رقم حساس، برای انجام آنالیزهای دیگر در این مطالعه انتخاب شدند. تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی و شوری شرایطی ایجاد می‌کنند که با تأثیر بر مرحله جوانه‌زنی گیاه، به تغییر بسیاری از عوامل مورفولوژیک و فیزیولوژیک آن در مدت حیاتش منجر می‌شوند. برای ارزیابی اثر شوری بر سورگوم، مراحل جوانه‌زنی و ظهور ریشه ممکن است معیار مناسبی باشند. تنش شوری به دلیل کاهش آب لازم برای آب‌نوشی و اثر سمیت یون‌های سدیم و کلر، القای خواب اجباری و کاهش درصد جوانه‌زنی بذر را موجب می‌شود (Ghars et al., 2009). از سوی دیگر عواملی مانند ماهیت پوسته بذر، خواب بذر، سن بذر، پلی‌مورفیسم دانه، قدرت نهال، عوامل محیطی (دما، نور و آب) نیز بر جوانه‌زنی بذر در تنش شوری اثرگذار هستند (Wahid et al., 2011). در تحقیق حاضر، به‌طور کلی شوری، طول، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه را در ارقام قرمز و جارویی

کاهش داد (شکل C-D-E-F-۱). کاهش طول ساقه و وزن خشک ریشه دو رقم جارویی و قرمز در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. با این تفاوت که در رقم جارویی، دو غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ تفاوت معنی‌دار نسبت به یکدیگر نشان ندادند. کاهش طول ریشه و وزن خشک ساقه در رقم قرمز (رقم حساس) در همه غلظت‌های شوری و در رقم جارویی (رقم مقاوم)، تنها در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. یکی از شاخص‌های موثر در تحمل به شوری گیاهان، تنظیم اسمزی سلول و حفظ آماس سلولی است که با ساخت مواد آلی نظیر گلايسين، پرولين، سوربیتول و مانیتول انجام می‌شود. گیاهان برای ساختن این مواد انرژی زیادی مصرف می‌کنند. صرف انرژی زیاد برای تنظیم اسمزی و مقابله با شوری، کارائی ریشه را در تامین عناصر غذایی و آب برای سایر اندام‌ها کاهش می‌دهد. در نتیجه رشد اندام‌های هوایی کاهش می‌یابد (Kafi et al., 2013). طبق نتایج حاضر، کاهش وزن تر ساقه و ریشه در رقم جارویی در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار و در رقم قرمز در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. کاهش وزن خشک و تر ممکن است ناشی از صرف انرژی متابولیکی برای سازگاری به شرایط تنش، کاهش نرخ فتوسنتز در واحد سطح برگ، کاهش جذب کربن، صدمه به بافت‌ها و سمیت احتمالی ناشی از تجمع بیش از حد یون‌ها، به ویژه سدیم باشد که گیاه آن را تحمل می‌کند (Meneguzzo et al., 2000).



شکل ۱- تأثیر شوری بر درصد جوانه‌زنی در روز دوم (A) و روز هفتم (B) پس از کشت در ارقام سورگوم. طول ریشه (C) و ساقه (D)، وزن تر ریشه (E) و اندام هوایی (F)، وزن خشک ریشه (G) و اندام هوایی (H) در سورگوم قرمز و جارویی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

بررسی، حاضر کاهش میزان کلروفیل در دو رقم جارویی و قرمز را در تنش شوری نشان داد. رقم جارویی، این کاهش را در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار هم

مقدار کلروفیل کل و کارتنوئید: کلروفیل عامل
فتوسنتز کننده است و نقش بسیار مهمی در فرآیندهای رشدی گیاهان دارد (Eckhardt *et al.*, 2004). نتایج

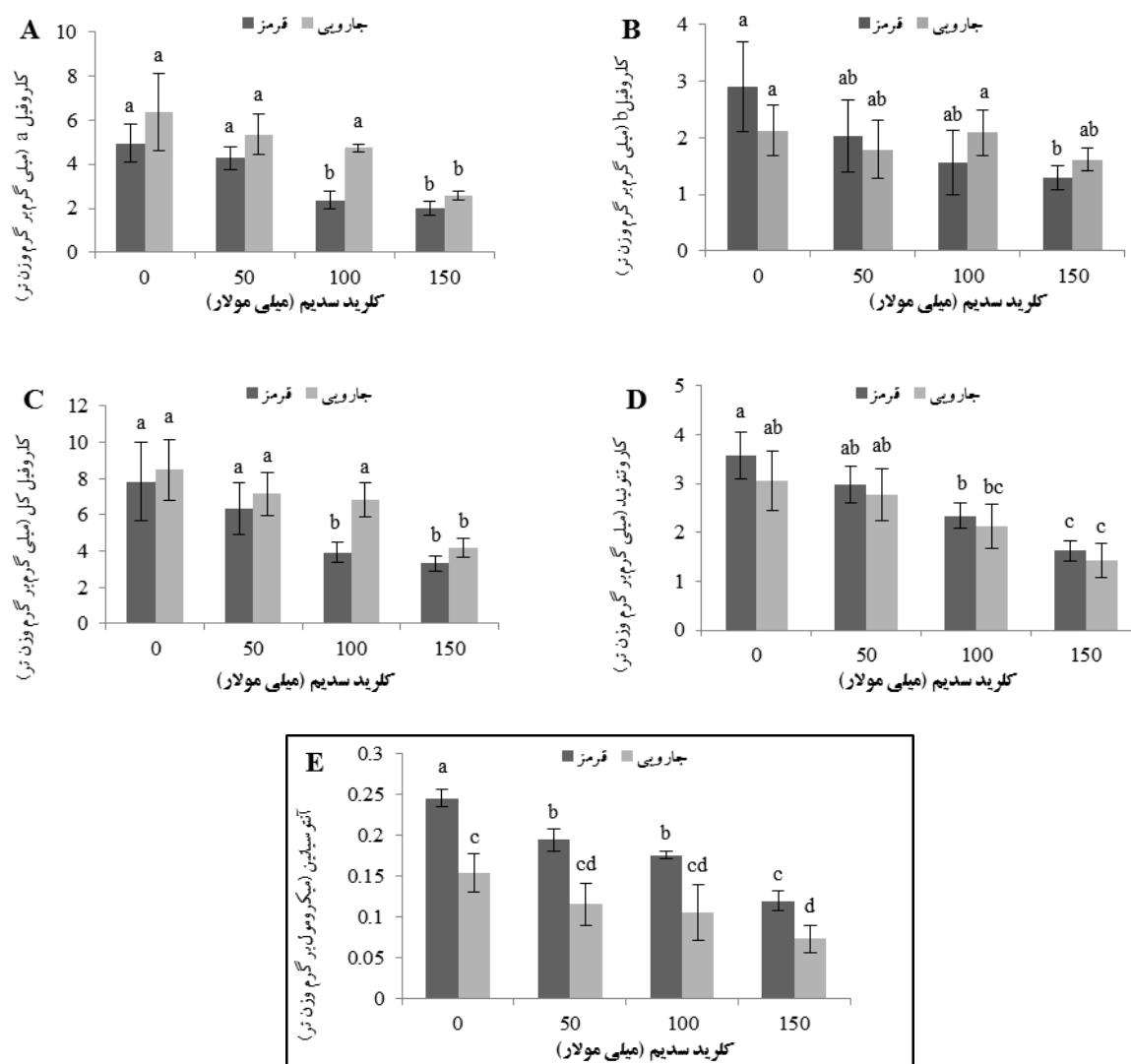
کاهش کلروفیل باشد (Bybordi, 2012). که با افزایش میزان پروکلین هر دو رقم در تنش شوری در تحقیق حاضر، مطابقت دارد. کاروتنوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی هستند که در غشاء تیلاکوئیدهای کلروپلاست یافت می‌شوند و نقش مهمی در فرایندهای گیاهی از جمله تحمل به تنش‌های اکسیداتیو دارند (Løvdalet al., 2010). براساس نتایج پژوهش حاضر، با افزایش شوری، کاهش میزان کاروتنوئید در سورگوم قرمز در همه غلظت‌های شوری و در سورگوم جارویی، تنها در بیشترین غلظت شوری نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. حساسیت این رنگیزه‌ها نسبت به تخریب اکسیداتیو، شاید یکی از علت‌های کاهش میزان آن‌ها بر اثر شوری است (شکل A-B-C-D-۲).

محتوای آنتوسیانین کل: آنتوسیانین‌ها گروهی از فلاونوئیدهای محلول در آب هستند که بیشتر این ترکیبات در لایه‌های سطحی مزوفیل و اپیدرم برگ‌ها انباشته می‌شوند (Ahmed et al., 2009). براساس نتایج تحقیق حاضر، با افزایش شوری محتوای آنتوسیانین در هر دو رقم کاهش یافت. این کاهش در رقم قرمز در همه سطوح شوری و در رقم جارویی، تنها در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. به طور کلی در پژوهش حاضر، محتوای آنتوسیانین در رقم قرمز در همه سطوح شوری بیشتر از رقم جارویی بود. Rosso و Mercadante (2007) نشان دادند که اضافه کردن قندها و نمک‌ها اثر منفی بر پایداری آنتوسیانین دارد. از علت‌های دیگر کاهش تولید آنتوسیانین ممکن است تولید پراکسید هیدروژن بر اثر تنش شوری باشد (Nikkhah et al., 2012). بر اثر تنش شوری افزایش میزان پراکسید هیدروژن در

در کلروفیل a و هم در کلروفیل کل در مقایسه با سایر سطوح شوری نشان داد. درحالی که در مقدار کلروفیل b تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در رقم قرمز، کاهش کلروفیل a و کلروفیل کل در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ و کاهش مقدار کلروفیل b در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. نسبت وزن کلروفیل a به کلروفیل b نشان‌دهنده عملکرد رنگدانه‌های نوری دستگاه فتوسنتزی است. کلروفیل b منحصر در گیرنده رنگدانه‌ای یافت می‌شود؛ درحالی که کلروفیل a هم در مراکز واکنش فتوسنتزی و هم در گیرنده‌های رنگدانه‌ای حضور دارند. میزان کلروفیل a به b در فتوسیستم I برابر ۳ و در فتوسیستم II بین ۱/۱ تا ۱/۳ متغیر است. بر پایه نتایج پژوهش حاضر، تغییر در کلروفیل کل در هر دو رقم جارویی و قرمز به هنگام شوری، حاصل تغییر در کلروفیل a تلقی شده است و کلروفیل a به شرایط تنش حساس‌تر از کلروفیل b است. شاید سمیت ناشی از تجمع یون‌های سمی کلر در سنتز کلروفیل اختلال ایجاد کرده است. گرچه هر دو یون سدیم و کلر در بسیاری از اختلالات فیزیولوژیک گیاهان نقش دارد، سمیت کلر بیشتر از سدیم است (Tavakkoli et al., 2010). مهم‌ترین علت کاهش کلروفیل در تنش شوری، کاهش فعالیت آنزیم‌های موثر در سنتز کلروفیل (ALA - دهیدروژناز) و تولید آن است (Vieira Santos, 2004). از سوی دیگر تنش شوری به افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن منجر می‌شود که تحریک‌کننده آنزیم کلروفیلاز هستند (Orabi et al., 2010). همچنین افزایش استفاده از نیتروژن برای سنتز پروکلین می‌تواند از علت‌های دیگر

افزایش بیشتری داشت که نشان‌دهنده مقادیر زیاد پراکسید هیدروژن است. همچنین ممکن است مهار سنتز آنزیم فیل آلانین آمونیاز، یکی از آنزیم‌های کلیدی مسیر بیوسنتز آنتوسیانین بر اثر تنش شوری، علت دیگر کاهش آنتوسیانین بیان شود (Hajiboland and Ebrahimi, 2011) (شکل ۲-۲).

گیاهان خانواده Poaceae مانند گندم مشاهده شده است (Rahimi-Tashi and Niknam, 2015). همچنین افزایش فعالیت کاتالاز، یکی از آنزیم‌های تجزیه‌کننده پراکسید هیدروژن، در اندام هوایی گیاه سورگوم، نشان‌دهنده افزایش پراکسید هیدروژن است. براساس نتایج بررسی حاضر، فعالیت کاتالاز در رقم قرمز

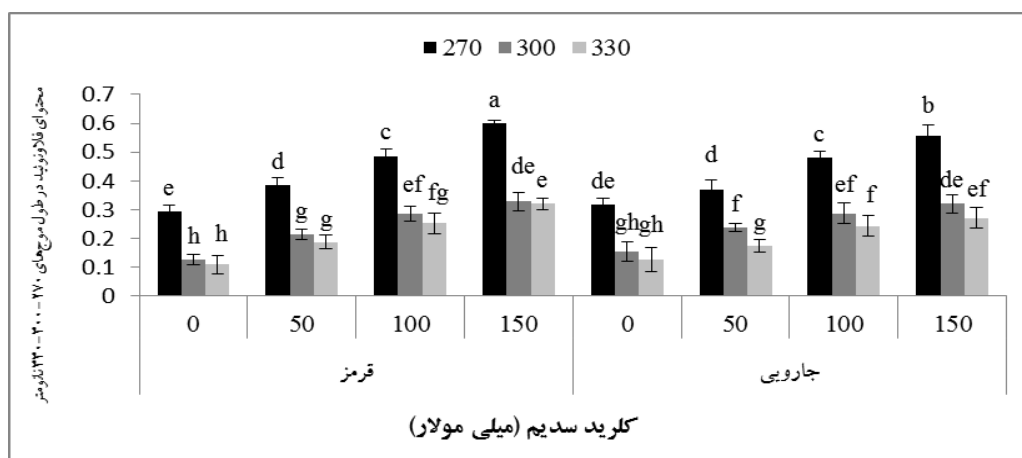


شکل ۲- تأثیر شوری بر مقدار کلروفیل a (A)، کلروفیل b (B)، کلروفیل کل (C)، کاروتنوئید (D) و محتوای آنتوسیانین (E) در سورگوم قرمز و جارویی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

محتوای فلاونوئیدها: فلاونوئیدها یکی از فعال‌ترین

متابولیت‌های ثانویه هستند. ژن‌های بیوسنتز فلاونوئیدها در وضعیت تنش، تحریک می‌شوند، تا رادیکال‌های آزاد را در محل تولیدشان قبل از اینکه به سلول آسیب برسانند خنثی کنند (Løvdal et al, 2010). نتایج این بررسی نشان داد که شوری به افزایش معنی‌دار فلاونوئیدها در سه طول موج ۲۷۰، ۳۳۰، ۳۳۰ نانومتر در گیاهان سورگوم جارویی و قرمز منجر شده است. هر دو رقم بیشترین محتوای جذب فلاونوئید را در طول موج ۲۷۰ نشان دادند. هر دو رقم بین طول موج‌های ۳۰۰ و ۳۳۰ تفاوت معنی‌دار نشان ندادند؛ در حالی که طول موج ۲۷۰ نسبت به دو طول موج ۳۰۰ و ۳۳۰، افزایش معنی‌دار را نشان داد. رقم قرمز و جارویی در طول موج ۲۷۰ در غلظت ۱۵۰ و در طول موج ۳۰۰ در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تفاوت معنی‌دار نسبت به یکدیگر نشان دادند. فلاونوئیدها به سه گروه اصلی فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها و ثوفلاونوئیدها تقسیم می‌شوند. حداقل هشت مشتق اصلی از فلاونوئیدها وجود دارد که از تغییرات در آرایش و موقعیت‌های ساختاری

گروه‌های کاربردی تشکیل می‌شوند و شامل فلاونون‌ها، فلاونول‌ها، فلاوان -۳-اول، ایزوفلاون‌ها، فلاون‌ها، دی‌هیدروکالکون‌ها، کالکون و آنتوسیانیدین‌ها هستند. مهم‌ترین تفاوت بین فلاونوئیدها مربوط به ساختار سه حلقه‌ای آن‌ها در جذب اشعه فرابنفش است. فلاون‌ها و فلاونول‌ها بیشترین جذب را در طول موج‌های بین ۳۱۰ و ۳۷۰ نانومتر دارند. دی‌هیدروکالکون‌ها و فلاوان -۳-اول بین ۲۷۰ و ۲۹۰ و کالکون‌ها بین ۳۴۵ و ۳۹۰ نانومتر بیشترین جذب را دارند. همچنین فلاونون‌ها در طول موج‌های بین ۲۷۰ و ۲۹۵ نانومتر بیشترین میزان جذب را دارند (Santos-Buelga et al., 2003). در پژوهش حاضر، با توجه به زیاده‌بودن محتوای فلاونوئیدی در طول موج ۲۷۰ نانومتر نتیجه‌گیری می‌شود که دی‌هیدروکالکون‌ها، فلاوان -۳-اول و فلاونون‌ها بیشترین انواع فلاونوئید در گیاه سورگوم جارویی و قرمز هستند. براساس تحقیقات Miladinova و همکاران (2013)، با افزایش میزان شوری در *Paulownia clones* محتوای فلاونوئید افزایش پیدا کرده است (شکل ۳-).



شکل ۳- تأثیر شوری بر محتوای فلاونوئیدها در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر در ارقام سورگوم. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

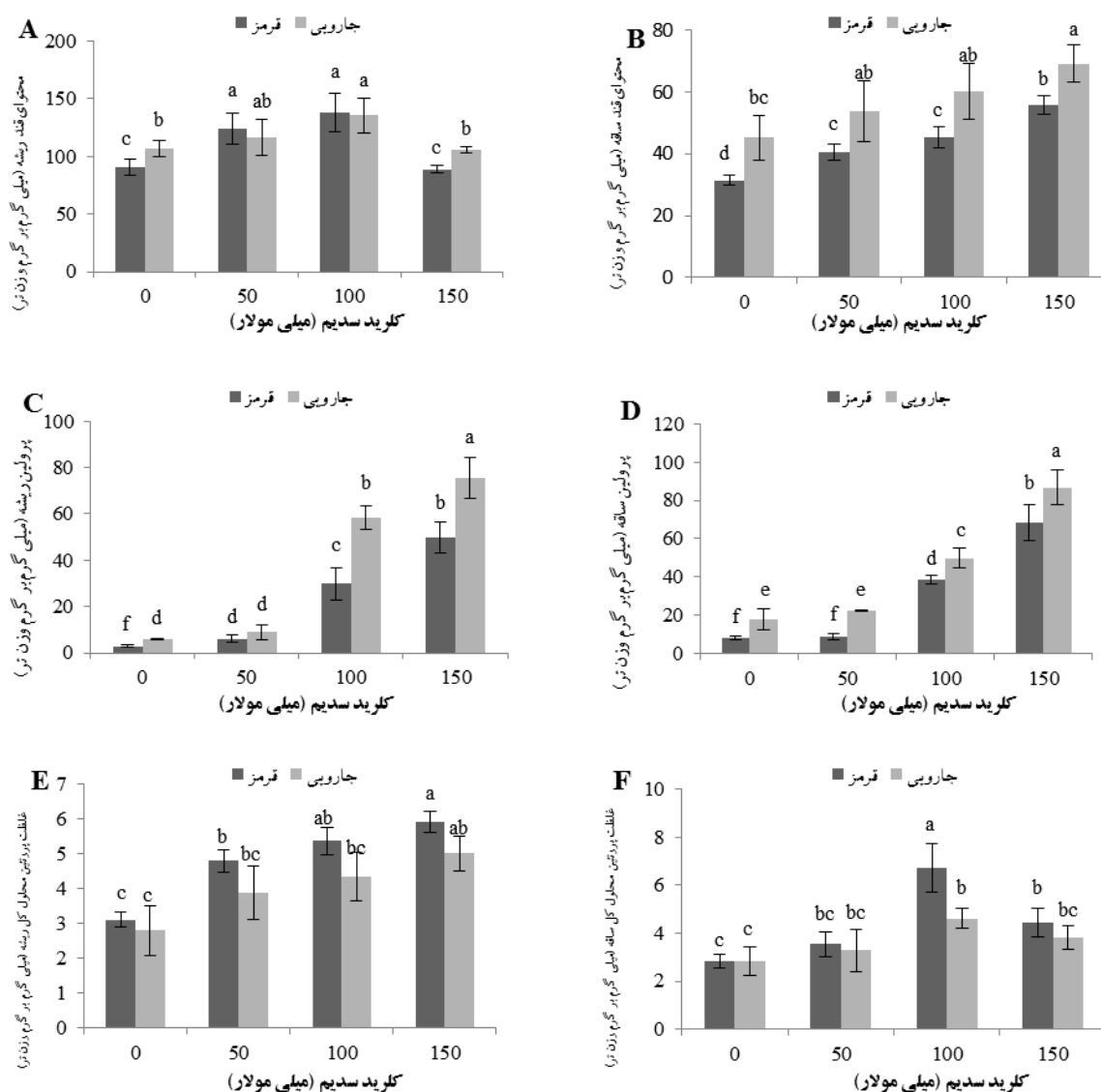
میزان قندهای احیاء‌کننده: قندها در سازش گیاهان با تنش، با تولید پیش‌سازهای لازم برای آنزیم‌های سنتتازی، تولید انرژی متابولیک، تنظیم اسمزی و تسهیل جذب آب از ریشه‌ها نقش مهمی بازی می‌کنند (Barakat, 2011). بنابراین بررسی تغییرات آن‌ها در تنش مهم است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بر اثر شوری میزان قند احیاء در دو رقم افزایش یافت. این افزایش، در ساقه رقم قرمز، در همه غلظت‌های شوری و در رقم جارویی، در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار در مقایسه با گیاهان شاهد معنی‌دار بود. به طور کلی محتوای قندهای احیاء‌کننده در اندام هوایی رقم حساس قرمز به مراتب کمتر از میزان قند موجود در اندام هوایی رقم جارویی در همه غلظت‌ها بود. در ریشه‌های رقم قرمز در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ و رقم جارویی در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید افزایش معنی‌دار قندهای احیاء نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. بر اثر تنش شوری، تخریب و هیدرولیز مولکول‌های درشت تر نظیر نشاسته و تبدیل آن‌ها به ترکیبات قندی نظیر ساکاروز و سپس به مولکول‌های کوچک‌تر مانند گلوکز و فروکتوز، منفی شدن پتانسیل آب در سلول‌ها و تنظیم اسمزی را باعث می‌شود (Bartels and Sunkar, 2005). همچنین ثابت شده است آبسبزی یک اسید که بر اثر تنش شوری افزایش می‌یابد، در افزایش فعالیت و تظاهر آنزیم اینورتاز (که ساکارز را به قندهای ساده گلوکز و فروکتوز تجزیه می‌کند) نقشی اساسی دارد (Mahajan and Tuteja, 2005). افزایش میزان قندهای احیاء‌کننده در آویشن (*Thymus vulgaris*) در تنش شوری گزارش شده است (Razavizadeh and Mohagheghian, 2015) (شکل ۴-A-B).

میزان پرولین: طبق نتایج حاضر، در ریشه‌های رقم قرمز افزایش معنی‌دار پرولین در همه غلظت‌های شوری مشاهده شد؛ در حالی که در ریشه‌های رقم جارویی و اندام هوایی هر دو رقم، افزایش میزان پرولین در شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به گیاهان شاهد و شوری ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد. پرولین اسمولیت سازگاری است که اکسیژن‌های آزاد تولیدشده در تنش‌های محیطی را حذف و از مولکول‌های بزرگ حفاظت می‌کند (Rahdari et al., 2012). همچنین افزایش مقدار پرولین نقش مهمی در حفاظت آنزیم‌های دخیل در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در مقابل تاثیرات ناشی از تنش شوری دارد (Ozturk et al., 2012). تنش شوری می‌تواند آنزیم لیگاز گلوتامات را تحریک کند و تبدیل گلوتامات به پرولین را سبب شود و در نتیجه پرولین را افزایش دهد (Bybordi, 2012). افزایش بیان ژن P5CS در تنش شوری ممکن است علت دیگر افزایش پرولین باشد (Razavizadeh and Ehsanpour, 2009) (شکل ۴-C-D).

محتوای پروتئین محلول کل: طبق نتایج پژوهش حاضر، افزایش پروتئین‌های محلول در اندام هوایی و ریشه‌های ارقام جارویی و قرمز مشاهده شد. در اندام هوایی، سورگوم قرمز این افزایش را در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ و سورگوم جارویی در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. در ریشه، افزایش پروتئین در رقم قرمز در همه غلظت‌های شوری و در رقم جارویی در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد مشاهده شد. بسیاری از بررسی‌ها نشان می‌دهد که تنش شوری ممکن است به سنتز زیاد انواع پروتئین‌ها در گیاهان متعدد منجر شود. در این حالت تنظیم فشار

افزایش یابد (Ashraf *et al.*, 2003). از جمله پروتئین‌هایی که در تنش اسمزی افزایش پیدا می‌کنند، پروتئین‌های فراوان با تأخیری جنین‌زایی (LEAها) دهیدرین‌ها، پروتئین‌های مربوط به سیستم دفاعی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره کرد (Sha Valli Khan *et al.*, 2007) (شکل E-F-۴).

اسمزی با تجمع مواد محلول آلی نظیر پروتئین‌ها، با اصلاح شاخص‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در سلول‌های گیاه انجام می‌شود. پروتئین‌ها، در پاسخ به تنش شوری، ممکن است از نو ساخته شوند یا به طور نهادی در غلظت‌های اندک موجود باشند و هنگامی که گیاهان در معرض شوری قرار می‌گیرند غلظت آن‌ها



شکل ۴- تأثیر شوری بر محتوای قندهای احیاء کننده در ریشه (A) و اندام هوایی (B)، میزان پرولین در ریشه (C) و اندام هوایی (D) و محتوای پروتئین محلول کل در ریشه (E) و اندام هوایی (F) در سورگوم قرمز و جارویی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

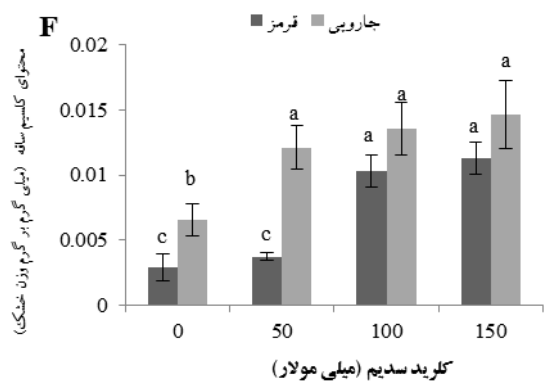
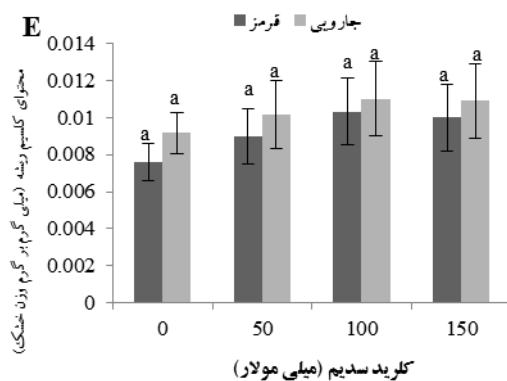
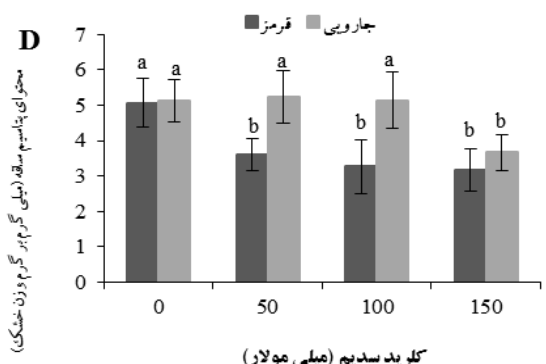
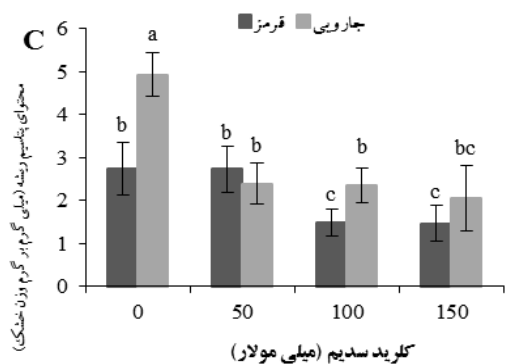
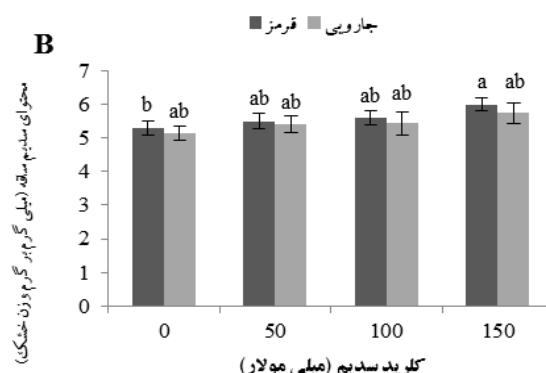
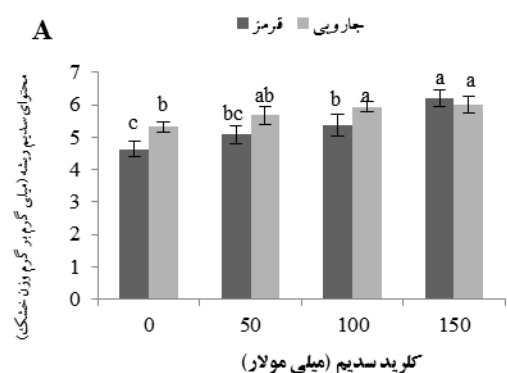
مقدار یون‌های $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ و نسبت یون

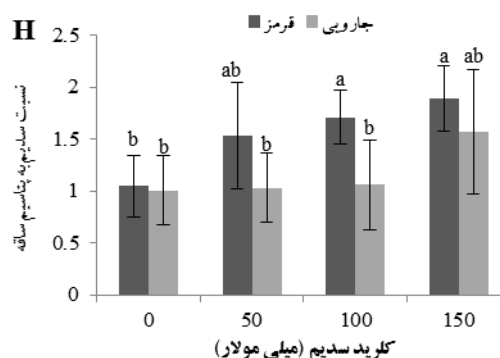
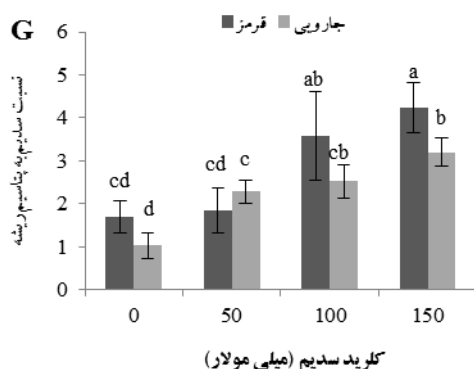
سدیم به پتاسیم: مطالعه حاضر نشان داد، غلظت‌های مختلف شوری تاثیر معنی داری بر میزان یون‌های سدیم در اندام هوایی رقم جارویی نداشت و در رقم قرمز، تنها در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری نسبت به سایر مقادیر نشان داد. در ریشه‌های هر دو رقم جارویی و قرمز افزایش سدیم کلرید، افزایش مقدار این یون در غلظت‌های شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار را باعث شد (شکل A-B-۵). افزایش یون‌های سدیم در ریشه‌های سورگوم قرمز و جارویی ممکن است به دلیل ارتباط مستقیم این اندام با شوری باشد. همچنین ریشه نخستین اندامی است که در معرض تنش قرار می‌گیرد (Shelden et al., 2013). براساس تحقیق حاضر، کاهش مقدار پتاسیم بر اثر شوری در اندام هوایی رقم جارویی در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به همه سطوح شوری مشاهده شد. درحالی‌که اندام هوایی رقم قرمز کاهش پتاسیم را در همه مقادیر شوری نسبت به شاهد نشان داد. در ریشه‌های سورگوم قرمز، کاهش مقدار پتاسیم در همه مقادیر شوری نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. ریشه‌های رقم جارویی، در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به غلظت‌های ۰ و ۵۰ میلی‌مولار، کاهش معنی‌دار پتاسیم را نشان دادند (شکل C-D-۵). پتاسیم، فراوان‌ترین کاتیون در سلول، در حفظ فشار تورگر سلولی، پتانسیل غشاء و فعالیت آنزیم‌ها به ویژه آنزیم‌های کلیدی در مسیر فتوسنتز و تنفس، سنتز پروتئین و نشاسته، سنتز ATP و ... نقش دارد (Wu et al., 2008). کاهش جذب پتاسیم به دنبال افزایش جذب سدیم، یکی از آثار مخرب تنش شوری است که به علت مشابه بودن شعاع هیدراته این دو یون، زمانی که

غلظت سدیم در محیط اطراف ریشه‌ها افزایش می‌یابد، رخ می‌دهد. در مدت تنش، سدیم با پتاسیم برای ورود به سلول رقابت می‌کند و به این ترتیب پروتئین‌های انتقال‌دهنده مشترک با تشخیص اشتباه، یون‌های سدیم را بیشتر به درون سلول هدایت و تجمع سدیم درون سلول و کاهش جذب پتاسیم را باعث می‌شوند (Aqeel Ahmad et al., 2007). در تحقیق حاضر، غلظت‌های سدیم کلرید تاثیر معنی‌دار بر میزان کلسیم ریشه‌های دو رقم نداشت، اما مقدار این یون را در اندام هوایی آن‌ها افزایش داد. افزایش یون کلسیم در سورگوم جارویی، در همه غلظت‌ها و در سورگوم قرمز، در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل E-F-۵). در محیط‌های شور، کلسیم نقش اصلی را در تنظیم انتقال یون‌ها به سلول‌های گیاه بازی می‌کند. همچنین کلسیم از انتقال سدیم از ریشه به سوی برگ جلوگیری می‌کند. نتیجه فرایندهای یادشده افزایش تحمل به تنش شوری خواهد بود (Puppala et al., 1999). افزایش غلظت کلسیم در تنش شوری شدید ممکن است به کاهش رشد بخش هوایی و رخداد اثر تغلیظ (Marschner, 1995) نیز نسبت داده شود. سورگوم به تنش شوری که قابلیت دسترسی کلسیم را کاهش می‌دهد نسبتاً متحمل است اما این تحمل با توجه به ژنوتیپ تفاوت دارد (Grattan and Maas, 1988). در راستای نتایج این مطالعه، با افزایش تنش شوری در گیاه بادام وحشی کاهش میزان پتاسیم و افزایش یون‌های سدیم و کلسیم مشاهده شد (Jahanbazy Goujani et al., 2014). در بررسی حاضر، با افزایش شوری، نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه هر دو رقم افزایش نشان داد (۵-G). رقم جارویی، این افزایش را در همه مقادیر

شوری، نسبت سدیم به پتاسیم اندک در اندام‌های گیاه در تنش شوری است که با توانایی گیاهچه در جذب فعال پتاسیم و جلوگیری از ورود سدیم به ریشه حاصل می‌شود. در آزمایش Lacerda و همکاران (2004) شوری نسبت سدیم به پتاسیم را در برگ‌های سورگوم به‌ویژه در ژنوتیپ‌های حساس افزایش داد.

سدیم کلرید نسبت به شاهد نشان داد؛ درحالی‌که در رقم قرمز، این افزایش در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ مشاهده شد. در اندام هوایی رقم قرمز، افزایش نسبت سدیم به پتاسیم، تنها در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد؛ درحالی‌که نسبت سدیم به پتاسیم در ساقه رقم جارویی، با افزایش شوری تفاوت معنی‌داری نشان نداد (H-۵).





شکل ۵- تأثیر شوری بر میزان سدیم در ریشه (A) و اندام هوایی (B)، پتاسیم ریشه (C) و اندام هوایی (D)، کلسیم ریشه (E) و اندام هوایی (F)، نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه (G) و ساقه (H) در سورگوم قرمز و جارویی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

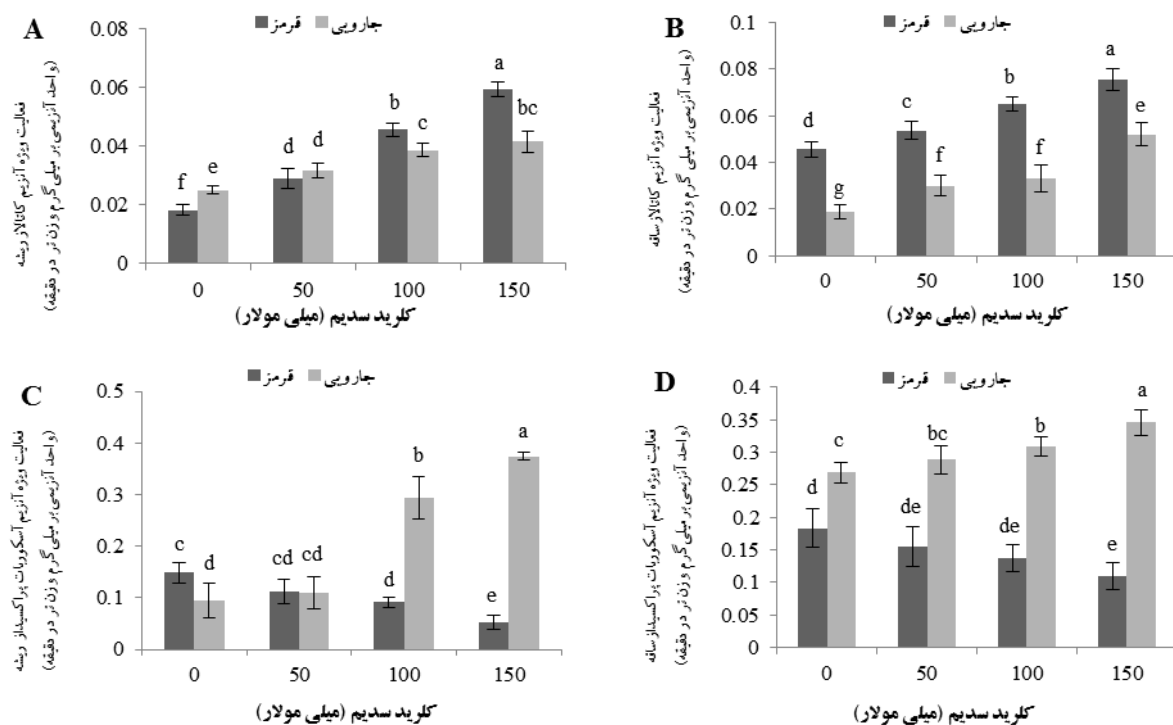
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: گونه‌های

اکسیژن فعال در تنش‌های محیطی می‌تواند بر فعالیت‌های سلول با ایجاد اکسیداسیون پروتئین، پراکسیداسیون لیپید و جلوگیری از فعالیت آنزیم تأثیر منفی بگذارد و در نهایت غیرفعال کردن سلول‌ها را سبب شوند. در حالت طبیعی بین میزان تولید ROS و فعالیت ساز و کارهای از بین برنده ROS تعادل وجود دارد؛ اما در تنش‌های محیطی و زنده، این تعادل به هم می‌خورد و تنش اکسیداتیو در گیاهان را موجب می‌شود. پاسخ آنتی‌اکسیدانی به گونه‌های گیاهی، مرحله رشد، شرایط محیطی و عوامل دیگر بستگی دارد. نتایج این مطالعه مشخص کرد که میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان CAT در اندام هوایی و ریشه‌های ارقام جارویی و قرمز بر اثر غلظت‌های مختلف شوری افزایش یافت. در هر دو رقم، افزایش فعالیت CAT در همه مقادیر شوری، هم در اندام هوایی و هم در ریشه مشاهده شد؛ با این تفاوت که در اندام هوایی رقم جارویی، بین دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ و در ریشه‌ها، بین دو غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.

به طور کلی، میزان فعالیت CAT در اندام هوایی رقم قرمز بیشتر از رقم جارویی بود (شکل A-B-۵). سنتز کاتالاز، برای بازسازی و حفاظت از فرایندهای معمول سلولی و حذف الکترون برای جلوگیری از سنتز رادیکال آزاد O_2^- در تنش، بسیار مهم است (Gupta and Huang, 2014; Kim et al., 2013). در پژوهش حاضر، غلظت‌های مختلف شوری هم در اندام هوایی و هم در ریشه رقم جارویی افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم APX را در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. در سورگوم قرمز کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم APX در اندام هوایی در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار و در ریشه در غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل C-D-۵). آسکوربات پراکسیداز بیشترین نقش حیاتی را در جمع‌آوری ROS و محافظت از سلول‌های در معرض تنش اکسیداتیو دارد. میل ترکیبی آسکوربات برای H_2O_2 نسبت به کاتالاز و سایر پراکسیدازها بیشتر است. به طور کلی، کاهش فعالیت آنزیم‌ها ممکن است به علت‌های مختلفی مانند تخریب

آنزیم‌ها در گیاهان در معرض تنش شوری ممکن است به علت بیوسنتز آنزیم‌های جدید باشد (Feierabend and Dehne, 1996).

پروتئین‌های آنزیمی با القای پروتئازهای درونی بر اثر شوری، افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و ROSها مانند H_2O_2 و سمیت ناشی از افزایش آن‌ها باشد (Hashemi *et al.*, 2010). از سوی دیگر، القاء یا افزایش فعالیت



شکل ۵- تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه (A) و اندام هوایی (B)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه (C) و اندام هوایی (D) در سورگوم قرمز و جارویی. مقادیر میانگین سه تکرار $\pm$ انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر نبود اختلاف معنی دار با آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ است.

افزایش را نشان داد؛ درحالی که در ساقه جارویی تفاوت معنی دار در نسبت سدیم به پتاسیم در هیچ یک از سطوح شوری مشاهده نشد. همچنین بر اثر شوری آنزیم‌های APX و CAT در رقم مقاوم افزایش یافتند؛ در حالی که فعالیت APX در رقم قرمز کاهش را نشان داد.

سپاسگزاری

نگارندگان از دانشگاه پیام نور استان اصفهان برای همکاری با این پروژه سپاسگزاری می کنند.

جمع بندی

بر اساس مطالعه حاضر، سورگوم قرمز (رقم حساس) در شاخص‌های رویشی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین در همه غلظت‌های شوری کاهش بیشتری نسبت به سورگوم جارویی (رقم مقاوم) نشان داد. میزان قند و یون کلسیم در اندام هوایی و میزان پرولین در هر دو بخش ریشه و اندام هوایی سورگوم جارویی در همه غلظت‌های شوری نسبت به رقم قرمز بیشتر بود. نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه هر دو رقم و ساقه رقم قرمز

منابع

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method in Enzymology 105: 121-126.
- Ahmed, N., Maekawa, M. and Noda, K. (2009) Anthocyanin accumulation and expression pattern of anthocyanin biosynthesis genes in developing wheat coleoptiles. *Biologia Plantarum* 53: 223-228.
- Al-Sadi, A. M., AL-Masoudi, R. S., Al-Habsi, N., Al-Saidi, F. A., Al-Rawahy, S. A., Ahmed, M. and Deadman, M. L. (2010) Effect of salinity on pythium damping-off of cucumber and on the tolerance of *Pythium aphanidermatum*. *Plant Pathology* 59: 112-120.
- Aqeel Ahmad, M. S., Javed, F. and Ashraf, M. (2007) Iso osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Plant Growth Regulation* 53: 53-63.
- Ashraf, M., Arfan, M. and Ahmad, A. (2003) Salt tolerance in okra: ion relations and gas exchange characteristics. *Journal of Plant Nutrition* 26(1): 63-79.
- Awika, J. M. and Rooney, L. W. (2004) Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry* 65: 1199-1221.
- Barakat, N. A. M. (2011) Oxidative stress markers and antioxidant potential of wheat treated with phytohormones under salinity stress. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 7(4): 250-267.
- Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) Drought and salt tolerance in plants. *Plant Science* 24: 23-58.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bybordi, A. (2012) Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. *Life Science Journal* 9(4): 1092-1101.
- Dahlberg, J. A. (2000) Classification and characterization of sorghum. In: *Sorghum: origin, history, technology, and production* (Eds. Smith, W. A. and Frederiksen, R. A.) 99-130. John Wiley and Sons, Inc, New York.
- Eckhardt, U., Grimm, B. and Hortensteiner, S. (2004) Recent advances in chlorophyll biosynthesis and breakdown in higher plants. *Plant Molecular Biology* 56: 1-14.
- Emami, A. (1996) Methods of plant analysis. *Journal of Soil and Water Research*. 982: 91-1378 (In Persian).
- Feierabend, J. and Dehne, S. (1996) Fate of the porphyrin cofactors during the light dependent turnover of catalase and of the photosystem II reaction center protein D1 in mature rye leaves. *Planta* 198(3): 413-422.
- Ghars, M. A., Debez, A. and Abdelly, C. (2009) Interaction between salinity and original habitat during germination of the annual aeashore halophyte *Cakile Maritima*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40: 3170-3180.
- Grattan, S. R. and Maas, E. V. (1988) Effect of salinity on phosphate accumulation and injury in soybean. II. Role of substrate Cl and Na. *Plant and Soil* 109: 65-71.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014) Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics* 2014: 1-18.

- Hajiboland, R. and Ebrahimi, N. (2011) Growth, photosynthesis and phenolics metabolism in tobacco plants under salinity and application of polyamines. *Journal of Plant Biology* 8: 13-26 (In Persian).
- Hashemi, S., Asrar, Z. and Pourseyedi, S. (2010) Effects of seed pretreatment by salicylic acid on growth and some physiological and biochemical parameters in *Lepidium sativum*. *Iranian Journal of Plant Biology* 2(2): 1-10 (In Persian).
- Jahanbazy Goujani, H., Hosseini Nasr, S. M., Sagheb-Talebi, Kh. and Hojjati, S. M. (2014) Effect of salinity stress on growth factors, proline, pigments and absorption of elements in shoot of four wild almond. *Iranian Journal of Plant Biology* 27(5): 777-787 (In Persian).
- Kafi, M., Shariat Jafari, M. H. and Moayedi, A. (2013) The sensitivity of grain Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) developmental stages to salinity stress: An integrated approach. *Journal of Agricultural Science and Technology* 15: 723-736.
- Kausar, A., Yasin Ashraf, M., Iftikhar, A., Niaz, M. and Abbass, Q. (2012) Evaluation of sorghum varieties/lines for salt tolerance using physiological indices as screening tool. *Pakistan Journal of Botany* 44(1): 47-52.
- Kim, Y. H., Latif, A. and Khan, M. (2013) Silicon application to rice root zone influenced the phytohormonal and antioxidant responses under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 33(2): 137-149.
- Krizek, D. T., Brita, S. J. and Miewcki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient level of solar UV-A and UV-B on growth of cv. new red fire lettuce. *Plant Physiology* 103(1): 1-7.
- Lacerda, C. F., Cambraria Oliva, M. A. and Ruiz, H. A. (2004) Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and root during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany* 54: 69-76.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Løvdaal, T., Olsen, K. M., Slimestad, R., Verheul, M. and Lillo, C. (2010) Synergetic effects of nitrogen depletion, temperature, and light on the content of phenolic compounds and gene expression in leaves of tomato. *Phytochemistry* 71: 605-613.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- Manchanda, G. and Garg, N. (2008) Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 595-618.
- Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2th edition, Academic Press, London.
- Meneguzzo, S., Navari-Izz, F. and Izzo, R. (2000) NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedling. *Journal of Plant Physiology* 156: 711-716.
- Miladinova, K., Ivanova, K., Georgieva, T., Geneva, M. and Markovska, Y. (2013) Influence of salt stress on *ex vitro* growth and antioxidative response of two *Paulownia* clones. Institute of Plant Physiology and Genetics, Bulgarian Academy of Sciences, Bulgaria.
- Nafie, E. M., Khalfallah, A. A. and Mansur, R. M. (2015) Syndrome effects of NaCl and epibrassinolide on certain molecular and biochemical activities of salt-sensitive *Phaseolus vulgaris* cv. Brunco L. grown under *in vitro* condition. *Life Science Journal* 12(7): 119-136.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22(5): 867-880.

- Nelson, N. (1944) A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 153: 375-380.
- Nikkhah, E., Khayyami, M. and Heidari, R. (2012) Effect of some chemicals on stability of anthocyanins from blackberry (*Morus nigra*). *Iranian Journal of Plant Biology* 25(1): 32-43 (In Persian).
- Olson, B. J. S. C. and Markwell, J. (2007) Current protocols in protein science. Detection and Assay Method 48(3.4): 1-29.
- Orabi, S. A., Salman, S. R. and Shalaby, A. F. (2010) Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences* 6(3): 252-259.
- Ozturk, L., Demir, Y., Unlukara, A., Karatas, I., Kurunc, A. and Duzdemir, O. (2012) Effects of long-term salt stress on antioxidant system, chlorophyll and proline contents in pea leaves. *Romanian Biotechnol Letters* 17(3): 7227-7236.
- Puppala, N., Fowler, J. L., Poindexter, L. and Bhardwaj, H. L. (1999) Evaluation of salinity tolerance of canola germination. In: *Perspectives on new crops and new user* (Ed. Janick, J.) 251-253. American Society for Horticultural Science Press, Alexandria, Virginia.
- Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S. M. (2012) Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) Leaves. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry* 8(1): 182-193.
- Rahimi-Tashi, T. and Niknam, V. (2015) Evaluation of salicylic acid pretreatment and salinity stress on some physiological and biochemical parameters in *Triticum aestivum* L. *Iranian Journal of Plant Biology* 28(2): 297-306 (In Persian).
- Razavizadeh, R. and Ehsanpour, A. A. (2009) Effects of salt stress on proline content, expression of delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase, and activities of catalase and ascorbate peroxidase in transgenic tobacco plants. *Biological Letters journal* 46(2): 63-75.
- Razavizadeh, R. and Mohagheghiyan, N. (2015) An investigation of changes in antioxidant enzymes activities and secondary metabolites of thyme (*Thymus vulgaris*) seedlings under *in vitro* salt stress. *Iranian Journal of Plant Biology* 26: 41-58 (In Persian).
- Rosso, V. V. and Mercadante, A. Z. (2007) Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 347-352.
- Santos-Buelga, C., García-Viguera, C. and Tomás-Barberán, F. A. (2003) On-line identification of flavonoids by HPLC coupled to diode array detection. In: *Methods in polyphenol analysis* (Eds. Santos-Buelga, C. and Williamson, G.) 92-127. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom.
- Sen, A. and Alikamanoglu, S. (2011) Effect of salt stress on growth parameters and antioxidant enzymes of different wheat (*Triticum aestivum* L) varieties on *in vitro* tissue culture. *Fresenius Environmental Bulletin* 20(1): 489-495.
- Seth, R. and Kendurkar, S. V. (2015) *In vitro* screening: an effective method for evaluation of commercial cultivars of tomato towards salinity stress. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4(1): 725-730.
- Sha Valli Khan, P. S., Hoffman, L., Renaut, J. and Housman, J. F. (2007) Current initiatives in proteomic for analysis of plant salt tolerance. *Current Sciences* 93: 807-817.

- Shelden, M. C., Roessner, U., Sharp, R. E., Tester, M. and Bacic, A. (2013) Genetic variation in the root growth response of barley genotypes to salinity stress. *Functional Plant Biology* 40(5): 516-530.
- Somogyi, M. J. (1952) Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry* 195: 19-23.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P. and McDonald, G. K. (2010) High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* 61: 4449-4459.
- Vieira Santos, C. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae* 103(1): 93-99.
- Wagner, G. J. (1993) Accumulation of cadmium in crop plants and its consequences to human health. *Advances in Agronomy* 51: 173-212.
- Wahid, A., Farooq, M., Basra, S. M. A., Rasul, E. and Siddique, K. H. M. (2011) Germination of seeds and propagules under salt stress. In: *Handbook of plant and crop stress* (Ed. Pessarakli, M.) 321-337. CRC Press, Boca Raton.
- Wu, Y., Hu, Y. and Xu, G. (2008) Interactive effects of potassium and sodium on root growth and expression of K/Na transporter genes in rice. *Plant Growth Regulation* 57(3): 271-280.

