Archive of SID

فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ٤، شماره ١٣، پاییز ١٣٩٤

تاثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و محتوای کلروفیل برگ در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)

سمیه کریمی، احمد ارزانی* و قدرت الله سعیدی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۲/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۱/۱۹)

چکیده:

تنش شوری از جمله عوامل مهم محیطی است که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان بویژه در مناطق خشک و نیمه خشک جهان گردیده است. فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بعنوان یکی از مکانیسم‌های دفاعی در راستای تحمل به شوری عمل می‌کند. تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز، محتوای نسبی آب و غلظت کلروفیل و کارتنوئید در هشت ژنوتیپ گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) که از نظر تحمل به تنش شوری (٤ ژنوتیپ متحمل و ٤ ژنوتیپ حساس) متفاوت بودند، مورد مقایسه قرار گرفت. این تحقیق به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای و کشت ماسه‌ای انجام شد، که تیمار شوری در پنج سطح با استفاده از کلرورسدیم در محلول غذایی هوگلند در سطوح شوری ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار اعمال گردید. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری، ژنوتیپ و اثرمتقابل شوری × ژنوتیپ بر همه صفات مورد مطالعه معنی‌دار بوده است. شوری منجر به افزایش محتوای کلروفیل و کارتنوئید برگ و فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاهش محتوای نسبی آب و فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. ژنوتیپ‌های حساس از میزان فعالیت کمتر آنزیم کاتالاز برخوردار بودند. تحت شرایط تنش شوری میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بالاتر از میزان آن در ژنوتیپ‌های حساس به شوری بود. ژنوتیپ PI-506426 بعنوان متحمل‌ترین، حاوی بیشترین محتوای رنگدانه‌های برگی در شرایط حداکثر شوری نیز بود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، تنش شوری، کاتالاز، کارتنوئید، کلروفیل، گلرنگ

مقدمه:

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) امروزه برای استفاده از شاخ و برگ، گل و دانه (استحصال روغن و غذای پرندگان) مورد کشت قرار می‌گیرد. خواص و ویژگی‌های بیولوژیکی گلرنگ از آن یک محصول چند منظوره مفید ساخته است(Bowles *et al*., 2010). به عنوان مثال روغن گلرنگ غنی از لینولئیک اسید می‌باشد که سطح کلسترول خون را کاهش می‌دهد و همچنین در درمان پوکی استخوان و دردهای مفاصل ناشی از آرتروز بسیار مفید شناخته شده است (Lee *et al*., 2002). اخیرا گزارش شده است که عصاره گل گلرنگ دارای خاصیت‌های آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریال، ضدالتهاب، ضدافسردگی و همچنین ضدسرطان می‌باشد (Asgarpanah and Kazemivash, 2013).

تنش شوری یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان زراعی در بیشتر مناطق خشک و نیمه خشک جهان است. آثار شوری بر گیاهان شامل ممانعت از رشد و تولید، کاهش فتوسنتز، تنفس وسنتز پروتئین‌ها و در نهایت، در سطوح بالاتر تنش شوری، مرگ است. بنابراین انتخاب و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_arzani@cc.iut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

شناسایی خصوصیات گیاهان متحمل به تنش شوری برای افزایش تولید گیاهان زراعی در این مناطق بسیار حائز اهمیت می‌باشد. افزایش غلظت نمک در محیط باعث عدم تعادل یونی سلولی می شود که در نهایت منجر به سمیت یونی، تنش اسمزی و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) می‌گردد (Arzani, 2008). گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید (O_2^-)، پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) و رادیکال های آزاد (OH^-) به طور معمول در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند و موجب تخریب کلروفیل، پروتئین، DNA، لیپیدها و سایر ماکرومولکول‌های مهم می‌گردد که به شدت سوخت و ساز گیاهی و رشد و عملکرد را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Sairam and Tyagi, 2004). گیاهان مختلف راهکارهای متفاوتی را برای مقابله با تنش شوری در پیش می‌گیرند که می‌تواند شامل فعال سازی سیستم نقل و انتقالات یونی، تنظیمات اسمزی، ایجاد آنزیم های آنتی اکسیدان و یا ترکیبی از سازوکارهای فوق باشد.

تولید آنزیم های آنتی‌اکسیدان در گیاهان نشان داده است که به طور بسیار کارآمدی، اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژن را برطرف می‌نماید (Ashraf and Harris, 2004). آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) مهمترین آنزیمی است که رادیکال سوپراکسید را منهدم می‌سازد و H_2O_2 و O_2 تولید می‌نماید. سپس H_2O_2 تولید شده توسط آنزیم کاتالاز و انواع مختلفی از پراکسیداز حذف می‌گردد (Mittler, 2002). کاتالاز که عمدتاً در پراکسیزوم‌ها یافت می‌شود اصلی‌ترین آنزیمی است که به طور مستقیم H_2O_2 را به مولکول آب و O_2 تبدیل می‌کند. پراکسیدازها در خارج از سلول توزیع شده‌اند و تبدیل H_2O_2 به آب را تسریع می‌نمایند. تعادل میان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک فاکتور اساسی و بحرانی برای تعیین سطح پایدار رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسیدهیدروژن است. این تعادل برای جلوگیری از تشکیل بیش از اندازه رادیکال‌های هیدروکسیل بسیار مهم است (Mittler, 2002). مطالعات مختلفی نشان داده‌است که مقاومت به تنش اکسیداتیو تا حد زیادی با مقاومت به شوری در گیاهان مرتبط می‌باشد؛ به بیان دیگرارقام متحمل به شوری از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های مختلف سازوکار دفاعی بهتری در برابر تنش اکسیداتیو نسبت به ارقام حساس نشان داده‌اند (Gossett *et al.*, 1994؛ Koca *et al*., 2007؛Hernandez and Almansa, 2002 ؛ Yildiz and Terzi, 2013 ؛Sairam *et al*., 2002).

ریشه‌های قوی، مستقیم و توسعه یافته و همچنین تعداد زیاد ریشه‌های جانبی در گیاه گلرنگ نه تنها یکی از عوامل مهم در ایجاد تحمل به خشکی در این گیاه می‌باشد بلکه به علت دوری از تجمع املاحی که در سطح خاک در نتیجه تعرق بیش از اندازه اتفاق افتاده است منجر به افزایش توان گیاه گلرنگ در برابر تنش شوری می‌گردد، چرا که خسارت شوری بر گیاه از طریق کاهش پتانسیل آب خاک و ایجاد خشکی فیزیولوژیک را به تعویق می‌اندازد (Maas, 1986). اگرچه عملکرد گلرنگ عموماً در سطوح بالای شوری خاک کاهش پیدا می‌کند، استفاده از آب شور به منظور آبیاری اثرات متفاوتی دارد (Francois *et al*., 1964 ؛Bassil and Kaffka, 2002). گزارشات متعدد نشان می‌دهد که کاهش در رشد و عملکرد گلرنگ در اثر تنش شوری به علت برخی تغییرات در فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله، تعادل یونی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان رخ داده‌است (Karray-Bouraoui *et al.*, 2011؛ Siddiqi *et al.*, 2011). بررسی پارامترهای مناسب به عنوان معیار گزینش برای تحمل به شوری در ارقام مختلف گلرنگ نشان داده‌است که تفاوت در سرعت جذب CO_2 و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a و b می‌توانند به عنوان معیارهای اصلی گزینش ارقام متحمل به شوری مورد استفاده قرار بگیرند (Siddiqi *et al*., 2009). Karray-Bouraoui و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (پلی‌فنول‌ها) در دو ژنوتیپ گلرنگ بهتر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توانسته‌است آن‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری مصون بدارد. از سوی دیگر Siddiqi و همکاران (۲۰۱۱) مقاومت بیشتر یک توده‌ی گلرنگ (safflower-39) را به خروج یون‌های Na^+ و Cl^- ، تجمع بیشتر K^+ و پرولین و همچنین افزایش فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم کاتالاز نسبت داده‌اند. جوادی‌پور و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند که میزان پرولین و گلایسین بتائین نسبت به سایر صفات بررسی شده توسط این محققین در اعطای مقاومت به شوری در رقم گلرنگ گلدشت مؤثرتر بوده‌اند.

تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد بیوشیمیایی و تغییرات یونی می‌تواند منعکس کننده نیازهای متفاوت برای مقابله با تنش شوری باشد. بنابراین، هدف مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای رنگدانه‌ها و محتوای آب نسبی برگ در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری در گلرنگ، و شناسایی معیار گزینش برای تحمل به شوری بوده است.

مواد و روش‌ها:

موادگیاهی و شرایط کشت: این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال ۱۳۹۱ با متوسط دمای روز ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و دمای شب ۲/۱±۱۵/۵ درجه سانتی‌گراد و طول روز ۱۳ الی ۱۳/۵ ساعت انجام گرفت. هشت ژنوتیپ گلرنگ، شامل چهار ژنوتیپ متحمل به شوری (PI-301055, Kurdistan 6, PI-506426, Arak) و چهار ژنوتیپ حساس به شوری (PI-405985 PI-198844, C411, 307-S6-697)، براساس عملکرد روغن شان در شرایط تنش شوری و عدم تنش در آزمایشات مزرعه‌ای در طی دو فصل زراعی ۱۳۸۷–۱۳۸۸ انتخاب شدند (Yeilaghi *et al.*, 2012). ژنوتیپ‌های PI-301055 ، PI-506426 و PI-198844 به ترتیب از ترکیه، چین و فرانسه و سایر ژنوتیپ‌ها دارای منشأ ایرانی می‌باشند. تیمار شوری به عنوان کرت اصلی و ژنوتیپ به عنوان کرت فرعی در نظر گرفته شد و آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. بذور هر ژنوتیپ در یک ردیف در سینی‌های گالوانیزه به ابعاد ۴۰×۵۰×۱۵۰ سانتی‌متری حاوی ماسه شستشو داده شده کشت و با استفاده از محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. تیمار شوری ۲۲ روز پس از جوانه‌زنی گیاهچه‌ها، در پنج سطح مختلف شوری ۰ (به عنوان شاهد)، ۵۰ ، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار با استفاده از نمک کلرور سدیم (NaCl) اعمال گردید. محلول‌ها با اضافه کردن تدریجی نمک به میزان ۵۰ میلی‌مولار در هر سطح (جهت سازگار شدن گیاهان) به غلظت نهایی رسیدند و پس از گذشت یک هفته کل تیمار شوری بر روی ژنوتیپ‌ها آغاز شد. پس از گذشت ۳۰ روز از آغاز تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، در مرحله ٦ برگی گیاهان هر تیمار به طور همزمان و در هر تکرار ۱۰ گیاهچه برداشت شدند و به صورت توده‌ای و با یک نمونه اندازه‌گیری‌های زیر بر روی آن‌ها صورت گرفت.

میزان نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل و کارتنوئید: جهت بررسی صفات فیزیولوژیک پس از اعمال تنش شوری، از جوان‌ترین برگ‌های توسعه یافته در سطح فوقانی گیاه نمونه‌برداری شد. نمونه‌های برگی تازه برای اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل استفاده گردید و سایر نمونه‌ها در ازت مایع منجمد شده و تا زمان استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

میزان نسبی آب برگ با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:
(Gonzalez and Gonzalez-Vilar, 2003)

$$\text{میزان نسبی آب برگ} = \frac{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن تر برگ}}{\text{وزن خشک برگ} - \text{وزن برگ آماس کرده}} \times 100$$

محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کل کلروفیل و کارتنوئید برگ با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استخراج و اندازه‌گیری شد. بدین‌ترتیب ۰/۵ گرم برگ در ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ ٪ هموژنیزه و از کاغذ صافی عبور داده‌شد. مقدار جذب مایع صاف شده در طول موج‌های ٦٤٦/٨، ٦٦٣/٢ و ٤٧٠ نانومتر در دستگاه UV–اسپکتروفوتومتر (U-1800 Hitachi Japan) قرائت و با استفاده از فرمول‌های استاندارد زیر مقادیر هر کدام از صفات فوق محاسبه گردید:

کلروفیل a= $[(13.36A_{663.2}-5.19A_{646.8})\times 8.1]/FW$

کلروفیل b= $[(27.43A_{646.8}-8.12A_{663.2})\times 8.1]/FW$

کلروفیل a+b= $[(5.24A_{663.2}+22.24A_{646.8})\times 8.1]/FW$

کارتنوئید= $[(4.785A_{470}+3.657A_{663.2}-12.76A_{646.8}) \times 8.1]/ FW$

$A_{663.2}$= مقدار جذب درطول موج ٦٦٣/٢ نانومتر، $A_{646.8}$=

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار جذب در طول موج ٦٤٦/٨ نانومتر، A_{470}= مقدار جذب در طول موج ٤٧٠ نانومتر، FW= وزن تازه برگ

استخراج عصاره آنزیمی: جهت تهیه عصاره آنزیمی برای تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از روش Aebi (۱۹۸٤) استفاده گردید. به همین منظور ابتدا ۱ گرم از بافت گیاهی منجمد شده با استفاده از ازت مایع در هاون چینی به طور کامل پودر شده و سپس با استفاده از یک میلی‌لیتر محلول سرد یخی شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم (pH ۷/۸)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۵ میلی‌مولار سیستئین، ۱ درصد (وزنی/حجمی) PVP، ۱۰۰ میلی‌مولار بافر Tris-HCl (pH ۷)، ۲۰ درصد گلیسرول و ۰/۲ درصد تریتون X-100 (حجمی/حجمی) هموژنیزه شدند. ماده هموژنیزه به مدت ۳۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور g ۱۸۰۰۰ قرار گرفت. لایه شناور رویی پس از سانتریفیوژ برای اندزه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: برای تعیین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) استفاده شد. بدین ترتیب که ترکیبی از ٤/۵۱ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد، ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار (pH ۷) به همراه ۵۰ میکرولیتر از عصاره برگی تهیه گردید و سپس میزان جذب ترکیب حاصله در طول موج ۲٤۰ نانومتر در مدت ۵ دقیقه هر دقیقه یکبار مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:جهت اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) استفاده شد. برای تهیه ترکیب واکنش از ٤/۵۱ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد، ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۵ مولار (pH ۷)، به علاوه ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول به همراه ۵۰ میکرولیتر عصاره برگی استفاده گردید. سپس در طول موج ٤۷۰ نانومتر در مدت ۵ دقیقه میزان جذب مخلوط واکنش فوق اندازه‌گیری شد.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, 1997) و مدل عمومی خطی (GLM) صورت گرفت و میانگین‌ها با آزمون کمترین تفاوت‌های معنی‌دار ($LSD_{5\%}$) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

میزان نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل و کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱ و ۲) نشان داد که اثر شوری، ژنوتیپ و اثرمتقابل شوری × ژنوتیپ بر همه صفات مورد مطالعه معنی‌دار بوده است. با افزایش شوری کاهش معنی‌داری در محتوای نسبی آب برگ مشاهده گردید (شکل ۱). اگرچه تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در شرایط شاهد معنی‌دار نبود ولی تحت تنش شوری این تفاوت بسیار معنی‌داری بود. در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار ژنوتیپ Arak با ٦۷/۸ درصد کمترین محتوای نسبی آب برگ را دارا بود (شکل ۱). اگرچه روند کاهشی محتوای نسبی آب برگ در پاسخ به تنش شوری در تمام ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشاهده شد ولی تفاوتی در روند پاسخگویی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به تنش شوری از این نظر وجود نداشت. دیگر مطالعات انجام شده بر روی گلرنگ نیز نشان می‌دهد که اگرچه اثر تنش شوری بر کاهش محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بوده‌است و علاوه بر این توده‌ها و رقم‌های مختلف نیز تفاوت‌های معنی‌داری از نظر این صفت داشته‌اند، اما تفاوت میان آن‌ها چندان قابل توجه نبوده‌است (Siddiqi and Ashraf, 2008). به عبارت دیگر هیچ ارتباطی میان کاهش محتوای نسبی آب و کاهش وزن تر اندام هوایی لاین‌های گلرنگ گزارش نشده‌است.

نتایج تجزیه واریانس ارائه شده در جدول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت رنگدانه‌های برگی داشته‌اند. ضمن اینکه تأثیر شوری بر این صفت معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین داده‌ها (شکل ۲) نشان داد که با افزایش تنش شوری غلظت رنگدانه‌ها در همه‌ی ژنوتیپ‌ها به استثنای 307-S6-697 افزایش یافت. در سطح تنش ۵۰ میلی مولار نمک طعام بیشترین درصد افزایش کلروفیل و کارتنوئید مشاهده گردید؛ درحالی‌که در سطوح تنش بالاتر غلظت رنگدانه‌ها به طور جزیی افزایش یافت. به

www.SID.ir

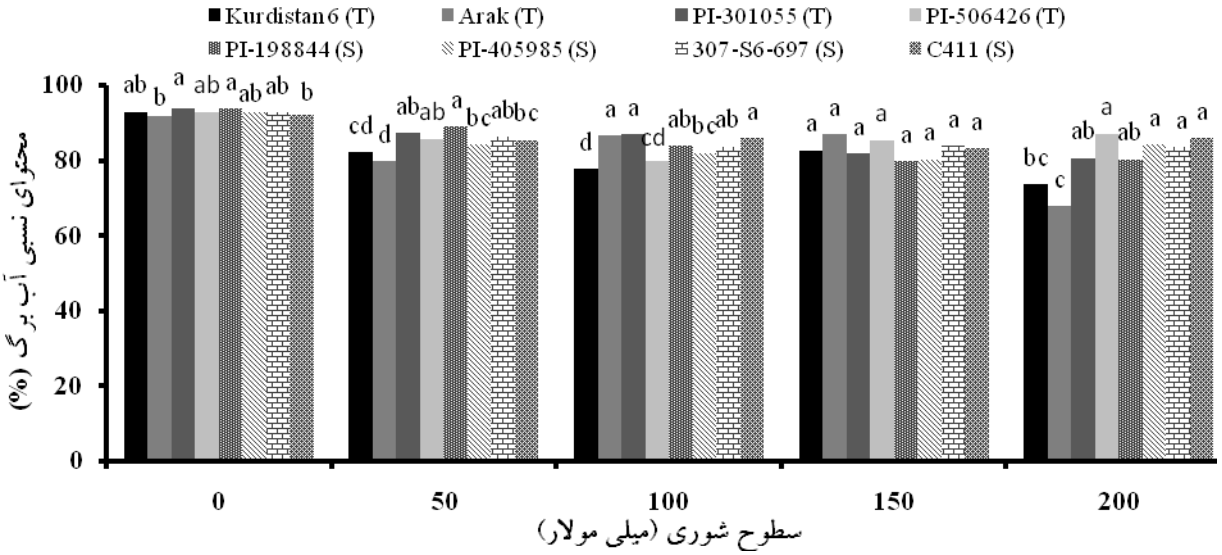
Archive of SID

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی اندازه گیری شده در ژنوتیپ‌های گلرنگ

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کارتنوئید	محتوای نسبی آب برگ	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۷۲	٤/۰۲	۲۵/۱۸	۰/۹۸	۰/٤۲	۰/۱۰×۱۰$^{-۳}$	۰/۱۰
شوری	٤	۱۸۹/۳۲**	۲۱/۲۱**	۳۵۲/۱۸**	۵/۲٤**	۵۳۱/۷۹**	۱/۲۱×۱۰$^{-۳**}$	٦/۱۲**
خطای فرعی	۸	۱/۸۳	۰/۹۵	۷/۳۵	۰/٦۱	۲۹/٤۵	۰/۰٤×۱۰$^{-۳}$	۰/۰۷
ژنوتیپ	۷	۸۲/۸۲**	۱۵/٦٤**	۲۰۰/٤۵**	۱۱/۷۹**	٤٦/٦۰**	۰/۸۷×۱۰$^{-۳**}$	۷/۵٦**
شوری × ژنوتیپ	۲۸	٦٦/۹۷**	۹/٦۷**	۱۲۳/۲٤**	٤/۸۵**	٤۰/٤۷**	۰/۳۸×۱۰$^{-۳**}$	۲/۰۰**
خطای اصلی	۷۰	۱/٤۵	۰/۹۹	۸/۹٦	۰/۸۰	۱۱/۲٦	۱/۹۱×۱۰$^{-۳}$	۰/۰۵
ضریب تغییرات(٪)		۱۱/۷۲	۲۰/۹۲	۱۹/۸۱	۲۲/۲۵	۳/۹۵	۲۷/٤۱	۱۱/٤۷

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس برش‌دهی اثر سطوح شوری برصفات فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های گلرنگ

شوری(میلی مولار)	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کارتنوئید	محتوای نسبی آب برگ	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز
۰	۷	۳۲/۰۳**	٤/۹۹**	٦۹/۲٤**	۲/۵۳**	۱/۳٦	۱/۲۰×۱۰$^{-۳**}$	۳/۱۱**
۵۰	۷	۸٤/۲۵**	۱۵/۷۳**	۱۸۸/۸۸**	۷/۵۹**	۲۵/۹۳*	۰/۱۹×۱۰$^{-۳**}$	۳/٦۵**
۱۰۰	۷	۲۸/۹۹**	۵/۷۵**	۷۱/٤۷**	۵/۲۵**	۳۱/۸۲*	/۲٦×۱۰$^{-۳**}$	۲/۵٤**
۱۵۰	۷	۱۰٤/٤۱**	۱٤/۳٤**	۱۸۸/۳۳**	۱۰/۸۷**	۱۸/۳۵	/۳۱×۱۰$^{-۳**}$	۲/٤۵**
۲۰۰	۷	۱۰۱/۲۲**	۱۳/۵۲**	۱۷۵/٤۷**	٤/۹٤**	۱۳۱/۰۰**	/٤۳×۱۰$^{-۳**}$	۳/۸۲**



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح شوری و ژنوتیپ بر محتوای رنگدانه‌های برگی در گلرنگ. حروف T و S در کنار ژنوتیپ‌ها به ترتیب نشان‌دهنده تحمل و حساسیت به تنش شوری می‌باشد (در هر سطح شوری حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد).

www.SID.ir

Archive of SID

طور استثنایی در ژنوتیپ 307-S6-697 همراه با افزایش شوری رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئید روند کاهشی نشان دادند. این در حالی است که این ژنوتیپ در شرایط شاهد بالاترین میزان رنگدانه ها را دارا می باشد (شکل ۲). در گیاهان حساس به تنش شوری مانند گندم (Ehsanzadeh *et al.*, 2009؛ Poustini *et al.*, 2007)، کلزا (Ashraf and McNeilly, 2004) و برنج (Kanawapee *et al.*, 2012) کاهش غلظت کلروفیل، در حالی‌که در گیاه متحمل به شوری چغندرقند افزایش غلظت کلروفیل تحت تنش شوری گزارش شده‌است (Dadkhah, 2011؛ Jamil *et al.*, 2007). برخلاف نتایج به دست‌آمده در این تحقیق Siddiqi و همکاران (۲۰۰۹) کاهش غلظت کلروفیل را در اثر تنش شوری در برخی از ارقام گلرنگ مشاهده نمودند. افزایش میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های گلرنگ می‌تواند نتیجه‌ی معکوس شوری بر سطح مخصوص برگ باشد که ژنوتیپ‌های تحت تأثیر شوری برگ‌های بزرگ‌تر و ضخیم‌تری دارند و یا ممکن است به علت افزایش تعداد کلروپلاست‌ها در برگ‌های تحت تأثیر تنش باشد (Jamil *et al.*, 2007).

کارتنوئیدها به عنوان آنتی اکسیدان‌های بیولوژیکی نقش بسیار مهمی در حفاظت از بافت گیاهی ایفا می‌نمایند. عدم حضور کارتنوئیدها ممکن است باعث آسیب فتواکسیداتیو شدید در بافت گیاهی گردد (Gill and Tuteja, 2010). افزایش غلظت کارتنوئیدها همراه با افزایش سطح تنش شوری احتمالاً بخشی از سازوکارهای دفاعی گیاه در مقابله با تنش شوری می‌باشد. همانگونه که در ذرت و جو نشان داده شده است تحت تنش شوری ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس غلظت کارتنوئید بالاتری را دارا بودند (Kholova *et al.*, 2010؛ Yildiz and Terzi, 2013).

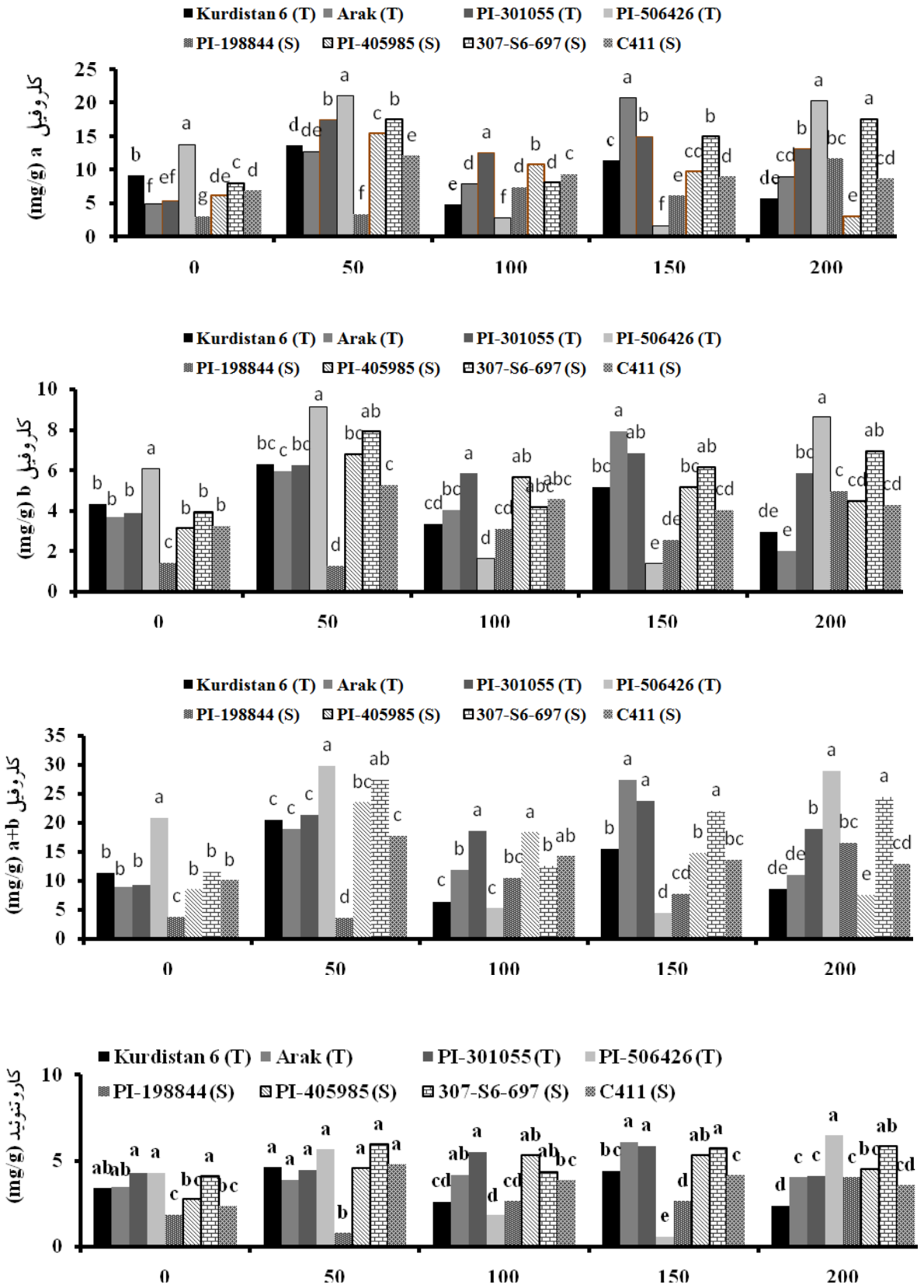
هرچند که در شرایط شاهد روند خاصی میان میزان رنگدانه‌های برگی و ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری مشاهده نگردید؛ اما در تمام سطوح تنش شوری میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بالاتر از میزان این صفات در ژنوتیپ‌های حساس به شوری بود. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که میزان رنگدانه‌های برگی در ژنوتیپ‌های گلرنگ می‌تواند معیار خوبی برای سنجش تحمل یا حساسیت آن‌ها به تنش شوری باشد. Mittal و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده نمودند که گیاهان متحمل به شوری کلزا محتوای کلروفیل بالاتری در شرایط تنش شوری نسبت به ارقام حساس دارا بودند؛ همانگونه که در گندم و گلرنگ نیز میزان کلروفیل بالاتر در شرایط تنش شوری می‌تواند به عنوان معیار انتخاب برای اصلاح مقاومت به تنش شوری به کار گرفته شود (Cuin *et al.*, 2010؛ Siddiqi *et al.*, 2009).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، سطوح مختلف شوری و اثر متقابل این دو بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز وجود دارد. در سطوح مختلف تنش شوری، فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های گلرنگ به استثنای ژنوتیپ PI-301055 به طور معنی داری کاهش یافت (شکل ۳). در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار برخلاف کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به شاهد، بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های متحمل مشاهده گردید. از سوی دیگر در تمامی سطوح تنش شوری همگام با افزایش شوری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به استثنای PI-301055 افزایش یافته‌است (شکل ۳). ژنوتیپ PI-301055 در شرایط شاهد کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و بالاترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را دارا بود و با قرار گرفتن در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار روند متفاوتی از سایر ژنوتیپ‌ها را نشان داد به طوری‌که بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در این ژنوتیپ مشاهده گردید.

Lee و همکاران (۲۰۰۱) با مطالعه‌ی واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به تنش شوری در گیاه برنج مشاهده کردند که تنش موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز شده در حالی که فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش پیدا کرده‌است. Karray-Bouraoui و همکاران (۲۰۱۱) نیز نشان دادند که تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم حساس به شوری گلرنگ کاهش

www.SID.ir

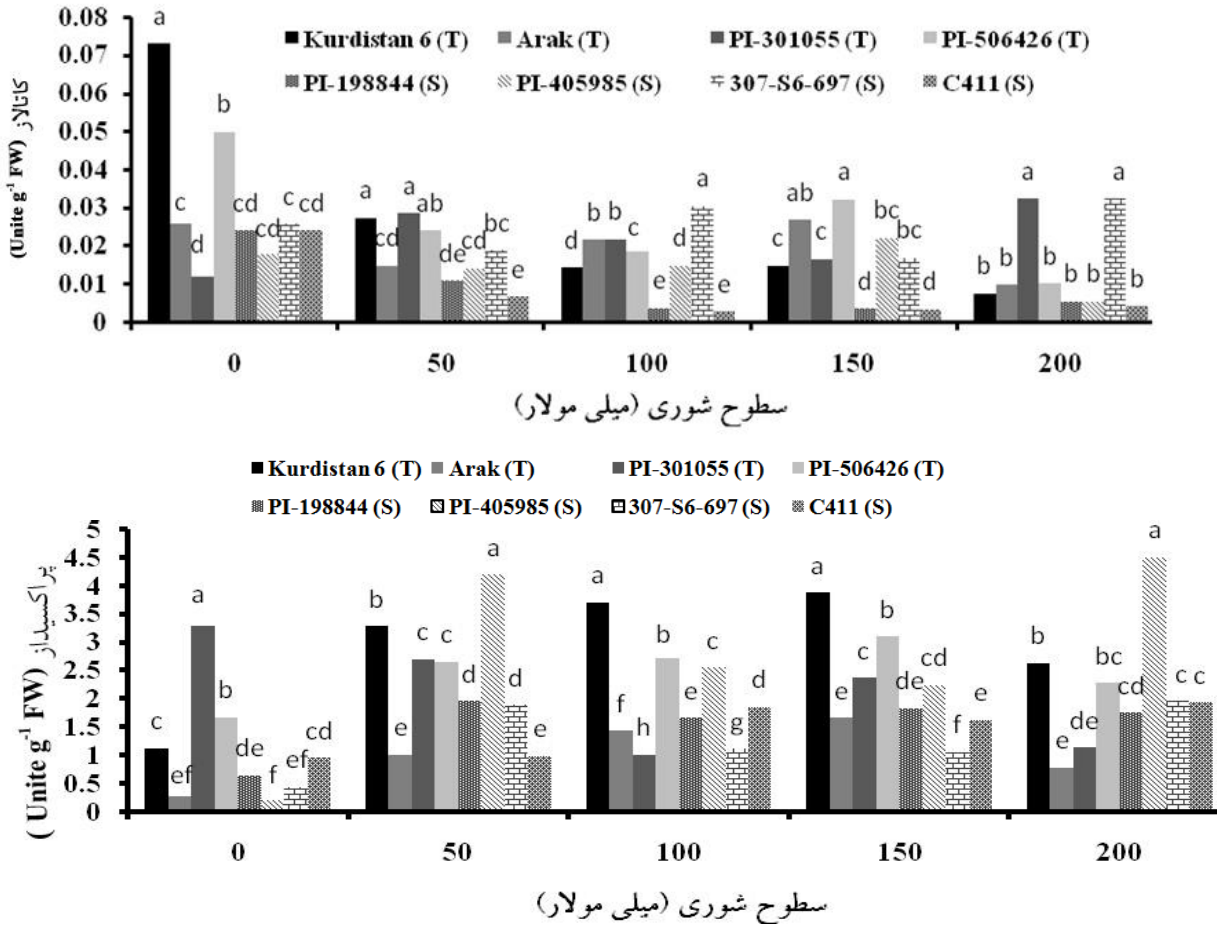
Archive of SID



شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح شوری و ژنوتیپ بر محتوای رنگدانه‌های برگی در گلرنگ. حروف T و S در کنار ژنوتیپ‌ها به ترتیب نشان‌دهنده تحمل و حساسیت به تنش شوری می‌باشد (در هر سطح شوری حرف مشترک نشان‌دهنده عدم تفاوت آماری در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در هشت ژنوتیپ گلرنگ تحت شرایط تنش شوری صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم، حروف T و S در کنار ژنوتیپ‌ها به ترتیب نشان‌دهنده تحمل و حساسیت به تنش شوری می‌باشد، میانگینهای با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

یافت در حالی‌که در رقم متحمل افزایش داشت، و فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو رقم به طور معنی داری افزایش یافته‌است. از سوی دیگر Siddiqi و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در دو رقم متحمل و حساس به شوری گلرنگ افزایش یافت در حالی‌که ژنوتیپ حساس فعالیت پراکسیداز بالاتر و ژنوتیپ متحمل فعالیت کاتالاز بالاتری داشتند. در هر صورت اگرچه روند فعال شدن آنزیم کاتالاز در اثر تنش شوری در مطالعات انجام شده بر روی گلرنگ متفاوت بوده است ولی نتیجه کلی نشان دهنده فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های مقاوم تحت شرایط شور می‌باشد.

وقتی گیاه در معرض تنش‌های محیطی نامطلوب مختلف از جمله شوری قرار می‌گیرد تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد که این امر می‌تواند موجب آسیب سلول‌ها و اجزای سلولی شود. در گیاهان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی هر دو در از بین بردن اثرات سوء گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند (Munns and Tester, 2008). آنتی‌اکسیدان‌هایی با وزن مولکولی پایین، شامل توکوفرول‌ها و کارتنوئید، می‌توانند همه‌ی انواع گونه‌های فعال اکسیژن را غیرفعال نمایند (Gill and Tuteja, 2010). همچنین آنزیم‌هایی شامل سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز که با کاهش میزان H_2O_2 و تبدیل نمودن آن به آب، نقش اساسی در دفع مسمومیت گونه‌های فعال اکسیژن ایفا می‌نمایند (Munns and Tester, 2008).

چنین به نظر می‌رسد که در مطالعه‌ی حاضر در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تنش شوری باعث غیرفعال شدن

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم کاتالاز شده‌است در حالیکه باعث افزایش معنی داری در میزان فعالیت پراکسیداز گردید و عکس این روند در ژنوتیپ PI-301055 مشاهده می‌شود. کاهش بیشتر فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های حساس گلرنگ نشان می‌دهد که فرآیند انهدام H_2O_2 تولید شده در اثر تنش شوری در این ژنوتیپ‌ها از کارآمدی کمتری برخوردار است. از سوی دیگر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان می‌دهد که فعالیت همزمان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نقش اساسی در هضم رادیکال‌های سوپراکسید و H_2O_2 ایفا می‌نماید. تفاوت روند فعالیت آنزیم‌ها در ژنوتیپ مقاوم به شوری PI-301055 نشان دهنده این واقعیت است که مشارکت فعال این آنزیم‌ها در ایجاد مقاومت به تنش شوری تا حد نسبتاً زیادی به میزان مقاومت ژنوتیپ‌هایی بستگی دارد که در معرض تنش اکسیداتیو ناشی از شوری قرار می‌گیرند (De Azevedo Neto *et al*., 2006). بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری فعالیت‌های آنتی اکسیدانی متفاوتی را انتخاب می‌نمایند. این تفاوت در سازوکار دفاعی نه تنها در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است بلکه گاهی در ژنوتیپ‌ها و ارقام یک گونه‌ی گیاهی نیز متفاوت است. تفاوت در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ممکن است در نتیجه تفاوت ژنوتیپ‌ها در میزان بسته شدن روزنه‌ها و به تبع آن تغییر در میزان تثبیت دی‌اکسیدکربن باشد (Munns and Tester, 2008). Shim و همکاران (۲۰۰۳) عنوان کردند که کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز پدیده‌ای است که در بسیاری از گونه‌های گیاهی در اثر تنش اکسیداتیو روی می‌دهد و با تجمع سالیسیلیک اسید در گیاهان تحت تأثیر تنش مرتبط می‌باشد. این محققین نشان دادند که در ارقام گندم، برنج و خیار همبستگی بسیار بالایی بین افزایش سالیسیلیک اسید و کاهش فعالیت کاتالاز وجود دارد و چنین نتیجه‌گیری کردند که کاهش فعالیت کاتالاز در گیاهان تحت تأثیر تنش، یک امر ضروری برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از تنش می‌باشد؛ به ویژه زمانی که فعالیت آنزیم کاتالاز یک عامل محدود کننده برای مهار گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد (Shim *et al*., 2003). در هر صورت اطلاعات بیشتری لازم هست تا بتوان به دلایل کاهش فعالیت این آنزیم پی برد.

نتیجه‌گیری:

تنش شوری پدیده‌ای پیچیده است که شامل تنش اسمزی، سمیت یونی، کمبود عناصرغذایی می‌باشد و بنابراین بر سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف مرتبط با رشد گیاه تأثیر بسزایی دارد. نتایج کریمی و همکاران (۲۰۱٤) در ارزیابی گلخانه‌ای ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری گلرنگ که در مطالعه حاضر نیز استفاده شده است، تأیید کننده مطالعه غربال مزرعه شور (Yeilaghi *et al*., 2012) بود، بدین ترتیب که ژنوتیپ‌های متحمل به شوری گلرنگ در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار از بالاترین میزان نسبت یونی K^+/Na^+، Ca^{2+}/Na^+ و وزن خشک اندام هوایی برخوردار بودند. تفاوت در واکنش به تنش شوری تأیید کننده ارزیابی‌های مزرعه‌ای در گروهبندی حساسیت و تحمل به تنش شوری در گیاهان گلرنگ مورد مطالعه بود. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نیز گروهبندی ژنوتیپ‌ها در مطالعات مزبور را تأیید کرد و نشان داد که واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ به تنش شوری تفاوت بسیار معنی‌داری داشت. بطوری که ژنوتیپ‌های متحمل به شوری گلرنگ بالاترین میزان رنگدانه‌های برگی و کارتنوئید را دارا بودند. ضمن اینکه فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های متحمل مورد بررسی تأیید کننده کارا بودن مکانیسم تحمل مربوطه بوده است. بدین ترتیب که وجه تمایز در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بعنوان یکی از مکانیسم‌های تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های متحمل را توجیه می‌نماید. در ضمن از میان صفات مورد مطالعه محتوای رنگدانه‌های برگی شامل کلروفیل و کارتنوئید، با توجه به سهولت سنجش و همچنین توانایی تفکیک ژنوتیپ‌های حساس و متحمل از یکدیگر، به عنوان یکی از معیارهای مناسب برای غربال ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری در گلرنگ توصیه می‌شود. ژنوتیپ PI-506426 بعنوان متحمل‌ترین، حاوی بیشترین محتوای رنگدانه‌های برگی در شرایط حداکثر شوری نیز بود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع:

جوادی پـور، ز.، موحـدی دهنـوی، م. و بلـوچی، ح. (۱۳۹۱) تغییرات میزان پرولین، قندهای محلـول، گلیسـین بتـائین و پروتئین محلول برگ شش رقم گلرنگ بهاره تحـت تـنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱: ۱۳-۲۳.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.

Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant 44: 373-383.

Asgarpanah, J. and Kazemivash, N. (2013) Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. Chinese Journal of Integrative Medicine 19: 153-159.

Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3–16.

Ashraf, M. and McNeilly, T. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences 23: 157 - 174.

Bassil, E. S. and Kaffka, S. R. (2002) Response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) to saline soils and irrigation II. Crop response to salinity. Agricultural Water Management 54: 81-92.

Bowles, V. G., Mayerhofer, R., Davis, C., Good, A. G. and Hall, J. C. (2010) A phylogenetic investigation of *Carthamus* combining sequence and microsatellite data. Plant Systematics and Evolution 287: 85-97.

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

Cuin, T. A., Parsons, D. and Shabala, S. (2010) Wheat cultivars can be screened for NaCl salinity tolerance by measuring leaf chlorophyll content and shoot sap potassium. Functional Plant Biology 37: 656-664.

Dadkhah, A. (2011) Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet (*Beta vulgaris* l.) cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology 13: 1001-1012.

De Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J ,. Abreu, C. E. B. d. and Gomes-Filho, E. (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental and Experimental Botany 56: 87-94.

Ehsanzadeh, P ,.Nekoonam, M. S., Azhar, J. N., Pourhadian, H. and Shaydaee, S. (2009) Growth, chlorophyll, and cation concentration of tetraploid wheat on a solution high in sodium chloride salt: hulled versus free-threshing genotypes. Journal of Plant Nutrition 32: 58-70.

Francois, L. E., Yermanos, D. M. and Bernstein, L. (1964) Salt tolerance of safflower. California Agriculture 18: 12-14.

Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Gonzalez, L., and Gonzalez-Vilar, M. (2003) Determination of relative water content. In: Handbook of plant ecophysiology techniques (Eds. J. Manuel and R. Goger). Pp. 207-212, Kluwer Academic Publishers, London.

Gossett, D. R., Millhollon, E. P. and Lucas, M. C. (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. Crop Science 34: 706-714.

Hernandez, J. A. and Almansa, M. S. (2002) Short-term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. Physiologia Plantarum 115: 251-257.

Jamil, M., Rehman, S. and Rha, E. S. (2007) Salinity Effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.) Pakistan Journal of Botany 39: 753-760.

Karimi, S., Arzani, A., and Saeidi, G. (2014) Differential response of ion and osmolyte accumulation to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of safflower (*Carthamus Tinctorius* L.) Research on Crops 15 (in press).

Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W. and Threerakulpisut, P. (2012) Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. Plant and Soil 358: 235-249.

Karray-Bouraoui, N., Rabhi, M., Attia, H., Harbaoui, F., Jallali, I., Ksouri, R., Msilini, N. and Lachaâl, M. (2011) Different antioxidant responses to salt stress in two different provenances of *Carthamus tinctorius* L. Acta Physiologiae Plantarum 33: 1435–1444.

Kholova, J., Sairam, R. K. and Meena, R. C. (2010) Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes. Acta Physiologiae Plantarum 32: 477-486.

Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2007) The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany 60 344-351.

Lee, D. H., Kim, Y. S. and Lee, C. B. (2001) The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Physiology 158: 737-745.

www.SID.ir

Archive of SID

SAS Institute (1997) SAS/STAT Software: Changes and Enhancements through Release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC,1162 pp.

Shim, I.-S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D.-W. and Usui, K. (2003) Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. Plant Growth Regulation 39: 285-292.

Siddiqi, E. H. and Ashraf, M. (2008) Can leaf water relation parameters be used as selection criteria for salt tolerance in safflower(*Carthamus tinctorius* L.) Pakistan Journal of Botany 40: 221-228.

Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Al-Qurainy, F. and Akram, N. A. (2011) Salt-induced modulation in inorganic nutrients, antioxidant enzymes, proline content and seed oil composition in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 91: 2785-2793.

Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Hussain, M. and Jamil, A. (2009) Assessment of inter-cultivar variation for salt tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using gas exchange characteristics as selection criteria. Pakistan Journal of Botany 41: 2251-2259.

Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M. and Pourdad, S. S. (2012) Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. Food Chemistry 130: 618-625.

Yildiz, M. and Terzi, H. (2013) Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences 19: 79-88.

Lee, J. Y ,.Chang, E. J., Kim, H. J., Park, J. H. and Choi, S. W. (2002) Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. Archives of Pharmacal Research 25: 313-319.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and cartenoids,the pigments of photosynthetic biomemberanes. In Methods Enzymol (Eds R. Douce and L. Packer). Pp. 350-382, New York: Academic Press Inc.

Maas, E. V. (1986) Salt tolerance of plants. Applied Agricultural Research 1: 12-26.

Mittal, S., Kumari, N. and Sharma, V. (2012) Differential response of salt stress on *Brassica juncea* : Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. Plant Physiology and Biochemistry 54: 17-26.

Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms o f salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Poustini, K., Siosemardeh, A. and Ranjbar, M. (2007) Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. Genetic Resources and Crop Evolution 54: 925-934.

Sairam, R. K. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science 86: 407-421.

Sairam, R. K., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.

www.SID.ir