

مقایسه اثرات جیبرلین و پاکلوبوترازول بر میزان سدیم، پتاسیم، ترکیبات فنلی و فعالیت برخی آنزیم‌های مسیر سنتزی آن در گیاه سورگوم شیرین (*Sorghum bicolor*) تحت تنش شوری

امیرحسین فرقانی^۱، عباس المدرس^۲ و علی‌اکبر احسان‌پور^{۳*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۶)

چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان در سراسر جهان محسوب می‌شود. امروزه استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد به منظور افزایش مقاومت گیاهان به شوری گسترش یافته است. در این مطالعه اثر جیبرلین و پاکلوبوترازول (بازدارنده جیبرلین) در کاهش اثرات شوری بر گیاه سورگوم شیرین ارزیابی شد. بدین منظور پس از جوانه‌زنی، گیاهان با محلول غذایی هوگلند در چهار سطح شوری همراه با پاکلوبوترازول ($17\mu\text{M}$) و جیبرلین ($17\mu\text{M}$) به مدت ۱۲ روز تیمار شدند. نتایج نشان داد که بالاترین سطح تنش شوری بدون تیمار هورمونی، وزن تر و خشک ساقه را به ترتیب ۴۴ و ۲۲ درصد کاهش درحالی که وزن تر (۴۶٪) و خشک (۱۶٪) ریشه افزایش یافت. گیاهان تیمار شده با $17\mu\text{M}$ جیبرلین و پاکلوبوترازول در شرایط شوری شاخص‌های فوق را به ترتیب در ساقه و ریشه بهبود بخشیدند. تیمار پاکلوبوترازول با افزایش غلظت پتاسیم در ریشه و انتقال چشم‌گیر آن به ساقه اثرات منفی شوری را نسبت به گیاهان شاهد کاهش داد، اما جیبرلین میزان انتقال سدیم به ساقه را در 150 mM شوری، ۳۹٪ افزایش داد. پاکلوبوترازول در تنش شوری با افزایش فعالیت آنزیم PAL ترکیبات فنلی را در اندام هوایی افزایش داد، بنابراین جیبرلین و پاکلوبوترازول با انتقال مواد به ترتیب به سمت ساقه و ریشه امکان ایجاد مقاومت به شوری را ایجاد نمودند. به نظر می‌رسد تیمار پاکلوبوترازول با گسترش رشد ریشه‌ای، ایجاد تعادل یونی بهتر در ریشه و افزایش ترکیبات فنلی نقش مؤثرتری در مقاومت به شوری دارد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد، مقاومت به شوری، تعادل یونی، بازدارنده جیبرلین، PAL، TAL

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ehsanpou@sci.ui.ac.ir

مقدمه

شوری یک فاکتور محدود کننده در کشاورزی و تولید محصول است. در واقع افزایش غلظت یون‌ها، علت شوری خاک‌ها در سراسر جهان است. در این میان سدیم و کلر مهم‌ترین یون‌های مناطق شور هستند و نمک این دو عنصر (NaCl) بیشترین آسیب را برای رشدونمو گیاهان دارد. اثرات منفی شوری بر رشد و پیری برگ‌ها مربوط به تنش اسمتیک و سمیت یون‌ها به‌ویژه سدیم و کلر است (۲۶ و ۴۲).

گیاه سورگوم شیرین (*Sorghum bicolor*) معمولاً در مناطقی با بارش کم، دمای نسبتاً بالا و خاک‌های شور رشد می‌یابد، بنابراین این گیاه نسبتاً به شوری مقاوم است و به‌خوبی به شرایط کم‌آبی سازگار شده و مشخص شده است مرحله جوانه‌زنی این گیاه، نسبت به بقیه مراحل رشد به شوری بیشتر مقاوم است (۲۸ و ۳۴). سورگوم علاوه بر اینکه از جنبه غذایی و منبع سوخت زیستی اهمیت فراوانی دارد، به‌عنوان یک گیاه مدل برای بررسی مکانیسم‌های خشکی و مقاومت به شوری در غلات نیز موردتوجه قرار گرفته است (۳۵ و ۴۲).

مکانیسم‌های مقاومت به شوری تحت شرایط خاص در گیاهان متفاوت است. بسیاری از متابولیت‌ها در اثر تیمار شوری تغییر می‌یابد که از میان آنها، پارامترهایی مانند؛ وزن تر و خشک، محتوی یونی، مقدار فنل کل به‌عنوان برخی از شاخص‌های مقاومت به شوری محسوب می‌شوند. کنترل تجمع یون‌ها در شرایط شوری در گیاهان عالی با محدود کردن یون در بافت پارانشیم ریشه صورت می‌گیرد و یا با توزیع مجدد یون‌های اضافی در برگ‌های پیر انجام می‌شود. یکی از نشانه‌های تنش شوری خروج پتاسیم از سلول‌ها و کاهش مخزن پتاسیمی درون سلولی است؛ بنابراین کاهش روند خروج پتاسیم یکی از فاکتورهای مقاومت به شوری است. سمیت یون سدیم به‌دلیل رقابت و جایگزینی این عنصر با یون پتاسیم موجب اختلال در عملکرد سلول می‌شود. بیش از ۵۰ آنزیم با یون پتاسیم فعال می‌شوند و سدیم نمی‌تواند جایگزین مناسبی برای عملکرد این آنزیم‌ها باشد؛ بنابراین افزایش غلظت سدیم و یا

کاهش غلظت پتاسیم و به‌عبارت‌دیگر افزایش نسبت سدیم به پتاسیم بسیاری از واکنش‌های آنزیمی را مختل می‌نماید (۶ و ۳۴). تنظیم ترکیبات فنولی یکی دیگر از راه‌کارهای گیاهان برای مقابله با تنش‌های محیطی است. این ترکیبات می‌توانند گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را خنثی نمایند و همچنین از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده جلوگیری نمایند. فنل‌ها گروه بزرگی از ترکیبات را تشکیل می‌دهند که در مسیر بیوسنتز این ترکیبات دو آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز (PAL) و تیروزین آمونیالایز (TAL) جزو مهم‌ترین آنزیم‌ها شناخته می‌شوند. این آنزیم‌ها از طریق دآمیناسیون فنیل آلانین و تیروزین به‌ترتیب برای تولید t - سینامیک اسید و P - کوماریک اسید و با آزاد کردن آمونیوم عمل می‌کنند و پیش‌ساز ترکیبات فنولی را مهیا می‌سازند. گزارش‌های بسیاری در خصوص نقش این دو آنزیم همراه با افزایش ترکیبات فنلی در گیاهان تک لپه‌ای برای مقاومت به تنش‌های محیطی وجود دارد (۵).

در پاسخ به تنش‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نظیر جیبرلیک اسید، اکسین و سیتوکینین نقش فعالی در انتقال پیام سلولی دارند، با این وجود مکانیسم عمل جیبرلین (GA) در خصوص مقاومت به شوری به‌خوبی مشخص نیست (۲۵). تریازول‌ها به‌عنوان بازدارنده سنتز جیبرلین، بر مسیر ایزوپروپونوئیدها اثر دارند و سطح هورمون‌های گیاه را تغییر می‌دهند به‌گونه‌ای که کاهش میزان اتیلن و افزایش سیتوکینین و آبسزیک اسید ازجمله اثرات آنها گزارش شده است (۱۳). پاکلوبوترازول به‌عنوان یک قارچ‌کش استفاده می‌شود و با بازدارندگی سنتز جیبرلین (GA) به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد نیز شناخته می‌شود. همچنین کاربرد این ترکیبات، گیاهان را در برابر انواع تنش محافظت می‌نماید. بنابراین تریازول‌ها به‌عنوان ترکیبات محافظتی چند منظوره گیاهی نیز شناخته می‌شوند (۲۴). پاکلوبوترازول (Paclobutrazol) یا به‌عبارت بهتر- (2RS)-1-(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-1, 2, 4-triazol-1-yl-penten-3-ol از خانواده تریازول‌ها است که به‌صورت گسترده برای مقاومت گیاه به انواع تنش‌ها استفاده می‌شود. پاکلوبوترازول (PBZ) علاوه بر مسدود کردن مسیر

براساس مطالعات اولیه مؤثرترین غلظت در نظر گرفته شد). گلدان‌های بدون نمک و یا حاوی نمک ولی بدون GA و PBZ به‌عنوان شاهد هر سطح استفاده شد. محلول تیمارها هر ۴ روز تعویض و گیاهچه‌های تیمار شده ۱۲ روزه برای اندازه‌گیری فاکتورهای مختلف مورد استفاده قرار گرفتند.

وزن تر و خشک

برای اندازه‌گیری وزن خشک بخش‌های مختلف گیاه در آون با دمای ۷۰°C برای ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس وزن خشک ساقه و ریشه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم

ابتدا بخش هوایی و ریشه هر یک از تیمارها به‌طور جداگانه به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس ۰/۰۱ گرم پودر خشک حاصله را با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک اسید ۳٪ مخلوط و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال انکوبه شد. در ادامه نمونه‌ها با کاغذ صافی، صاف گردیده و مقدار سدیم و پتاسیم با دستگاه شعله‌سنج (Halstead Essex-corning- انگلستان) با استفاده از محلول‌های استاندارد تعیین گردید. همچنین ضریب انتقال (TF) سدیم و پتاسیم از فرمول زیر محاسبه شد (۴۰).

(۱)

$$TF = \frac{[Na \text{ or } K] \text{ in Shoot}}{[Na \text{ or } K] \text{ in Root}}$$

اندازه‌گیری فنل کل

فنل کل در برگ‌های گیاه با استفاده از واکنشگر فولین (Folin and Ciocalteu) تعیین شد (۴۱). نمونه‌های برگ (۱g/۰) با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد هموزنایز و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۲۰۰۰g سانتریفیوژ شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین و ۱ میلی‌لیتر Na_2CO_3 (۰/۷/۵) به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی اضافه شد. جذب نمونه‌ها در ۷۶۰

سنتز جیبرلین، با تولید گونه‌های اکسیژن‌کنشگر (ROS) اثرات منفی تنش شوری را کم می‌نماید (۱۳ و ۱۸). از طرف دیگر گزارش‌هایی مبنی برافزایش مقاومت به شوری در گیاه توسط جیبرلیک اسید نیز در منابع علمی وجود دارد ولی مسیر عملکرد این هورمون در افزایش مقاومت به تنش شوری به‌خوبی شناخته نشده است. به نظر می‌رسد مکانیسم عمل جیبرلین و پاکلوبوترازول به‌عنوان یک ممانعت‌کننده بیوستنز جیبرلیک اسید در مقاومت به شوری از دو مسیر متفاوت است. بنابر اطلاعات ما تاکنون هیچ مطالعه مقایسه‌ای در این زمینه صورت نگرفته است. هدف این مطالعه در گیاه سورگوم به‌عنوان یک گیاه مدل این است که چگونه PBZ و GA در شرایط تنش شوری بر تغییرات یون‌های سدیم و پتاسیم و آنزیم‌های PAL و TAL که مسیر سنتز فنل‌ها را هدایت می‌کنند، اثر نموده موجب تغییر در میزان مقاومت به تنش شوری می‌شوند.

مواد و روش‌ها

کشت هیدروپونیک

به‌منظور رسیدن به اهداف مورد مطالعه، بذره‌های گیاه سورگوم شیرین (*Sorghum bicolor* [L.] Moench cv. Sofra) از دانشگاه اصفهان تهیه شد و طی سال‌های ۹۵ - ۱۳۹۴ مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا بذرها به مدت ۲ - ۱ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده و سپس با سدیم هیپوکلراید (۱۵٪) استریل شدند. پس از سه بار شستشوی بذرها با آب مقطر استریل، به گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت و ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول هوگلند با pH معادل ۵/۸ (۲۱) انتقال یافتند. گلدان‌ها در اتاق کشت با دمای $25 \pm 1^\circ C$ با ۱۶ ساعت روشنایی ($44 \mu\text{mol phot m}^{-2} \text{s}^{-1}$) و ۸ ساعت تاریکی رشد داده شدند. بعد از ۴ روز جهت تیمار شوری هر گلدان با تعداد ۵ نهال یکنواخت، با محلول غذایی هوگلند حاوی ۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl جایگزین شدند. در هر سطح شوری تیمارهای جداگانه‌ای از پاکلوبوترازول ($17 \mu\text{M}$) و جیبرلین ($17 \mu\text{M}$) نیز اعمال گردید (غلظت استفاده‌شده از هورمون‌ها

نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160- ژاپن) قرائت شد و مقدار فنل با استفاده از منحنی استاندارد رسم شده توسط گالیک اسید تعیین شد.

اندازه‌گیری آنتوسیانین

آنتوسیانین کل براساس روش کار واگنر (۴۴) استخراج و اندازه‌گیری شد. به این منظور عصاره برگ تازه با متانول اسیدی (۹۹:۱v/v) تهیه و آنتوسیانین استخراج شد. غلظت آنتوسیانین‌ها براساس ضریب خاموشی $33000 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ محاسبه و تعیین گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL

۱۰۰ میلی گرم بافت تازه برگ با ۲ میلی لیتر بافر استخراج (۵۰ میلی مولار تریس - کلریدریک اسید با اسیدیته ۸/۵) حاوی ۱۵ میلی مولار بتا- مرکاپتواتانول همگن شد. سپس به مدت ۵ دقیقه با نیروی ۴۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شد و از محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL استفاده شد. به این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از محلول فوق را به ۹۰۰ میلی لیتر بافر واکنش (۵۰۰ میکرومولار تریس - کلریدریک اسید با اسیدیته ۸) حاوی ۶ میکرومول فنیل آلانین اضافه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در پایان با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر کلریدریک اسید با غلظت ۵ نرمال واکنش متوقف شد و جذب سینامیک اسید در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد (۷).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم TAL

۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی فوق به ۹۰۰ میلی لیتر بافر واکنش (۵۰۰ میکرومولار تریس - کلریدریک اسید با اسیدیته ۸/۱) حاوی ۵/۵ میکرومول تیروزین اضافه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در پایان با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر کلریدریک اسید با غلظت ۵ نرمال واکنش متوقف شد و جذب کوماریک اسید در طول موج ۳۳۳

نانومتر خوانده شد (۷).

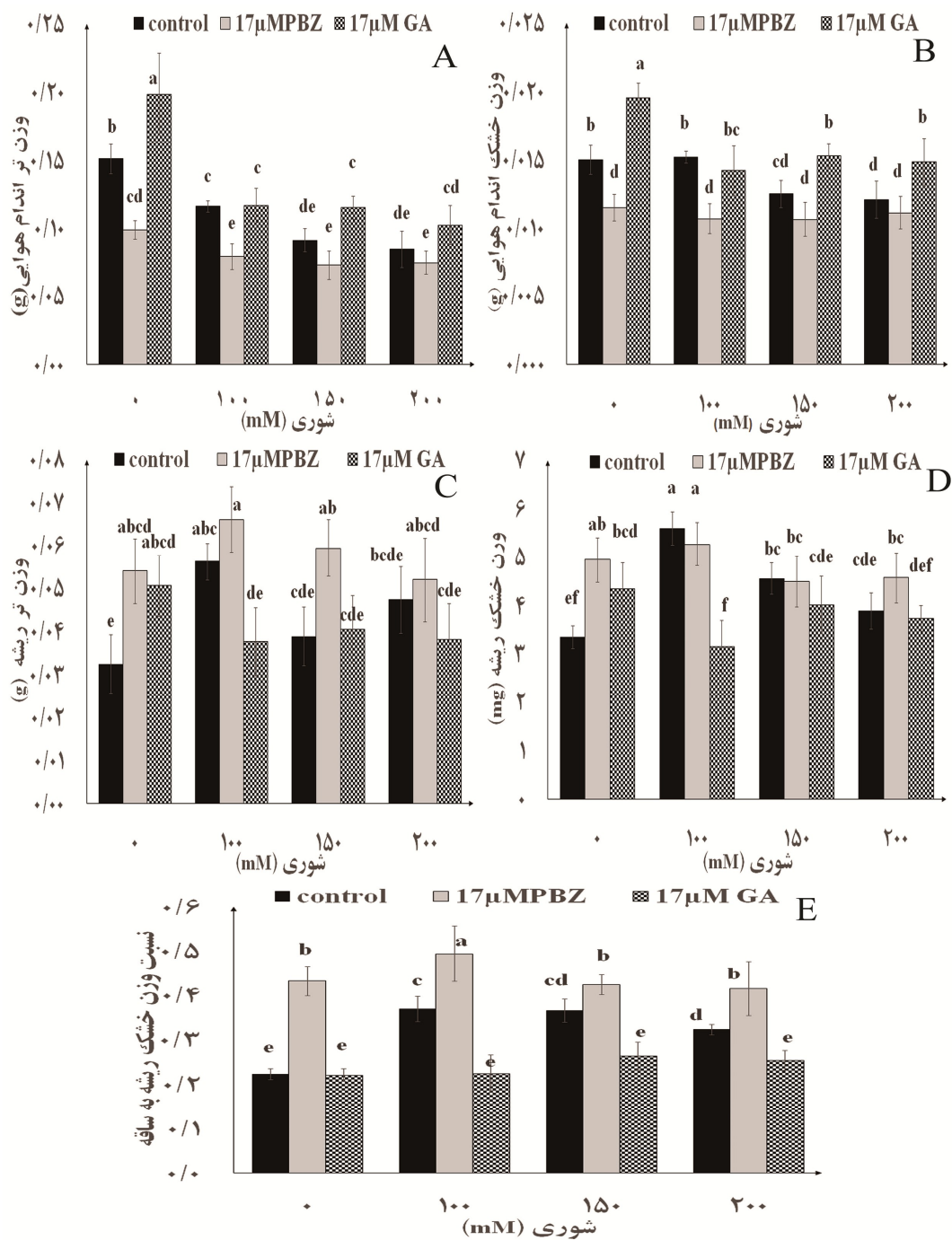
تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها حداقل با سه تکرار انجام و واریانس داده‌ها با Two-way ANOVA آنالیز و میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ مقایسه شد.

نتایج

صفات رویشی

نتایج نشان داد که وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه تحت تنش شوری، تیمار پاکلوبوترازول و جیبرلین قرار گرفت. آنالیز داده‌ها مشخص نمود که وزن تر و خشک اندام هوایی در پاسخ به بالاترین تنش شوری به ترتیب ۴۴٪ و ۲۲٪ کاهش یافت. به علاوه وزن تر و خشک ساقه سورگوم شیرین تحت تنش شوری به خصوص در غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار با استفاده از جیبرلین بیش از ۲۰٪ بهبود یافت. با این وجود بیشترین وزن تر و خشک ساقه مربوط به تیمار جیبرلین در شرایط بدون تنش بود. (شکل ۱. A تا B). در این آزمایش، شوری وزن تر و خشک ریشه را افزایش داد. نتایج مشخص کرد که شوری ۲۰۰mM وزن تر و خشک ریشه را به ترتیب ۴۶ و ۱۶ درصد افزایش داد. وزن تر و خشک ریشه در تیمارهای پاکلوبوترازول کمتر تحت تأثیر شوری قرار گرفت و این تیمار اثرات نامطلوب شوری در ریشه را بهبود بخشید. به عنوان مثال وزن تر ریشه گیاهان تحت تیمار PBZ در غلظت ۱۵۰ میلی مولار نمک ۵۶ درصد نسبت به کنترل افزایش یافت. به علاوه گیاه در پاسخ به تنش شوری نسبت وزن خشک ریشه به ساقه خود را افزایش داد که تیمارهای PBZ این شاخص را در شرایط شوری و بدون تنش به طور چشم‌گیری افزایش دادند. بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به ساقه مربوط به تیمار PBZ در شوری ۱۰۰ میلی مولار بود که نسبت به کنترل خود ۳۴ درصد افزایش داشت. (شکل ۱. C تا E).



شکل ۱. تغییرات وزن تر و خشک ساقه (A و B) و ریشه (C و D) و نسبت وزن خشک ریشه به ساقه (E) هر بوته تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

مقدار سدیم در ریشه و ساقه

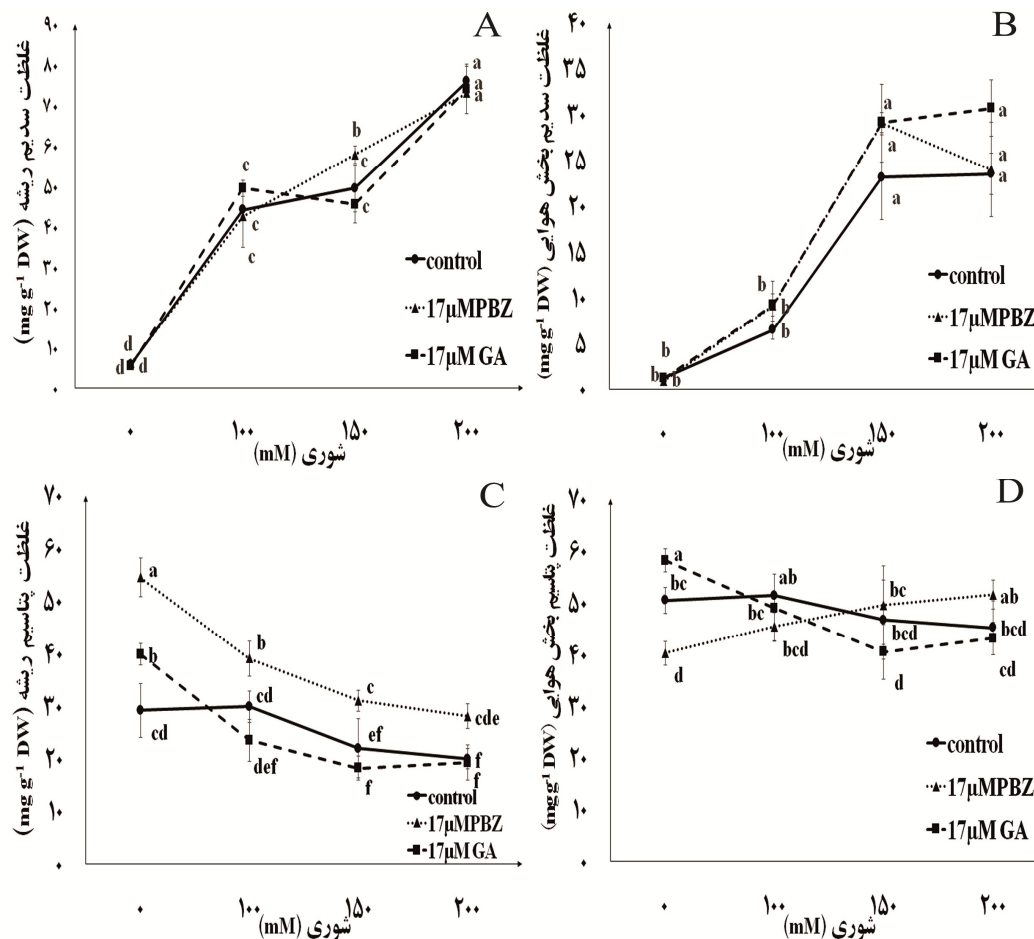
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش غلظت نمک در محیط کشت مقدار سدیم در ریشه و ساقه نیز افزایش یافت. بیشترین غلظت سدیم در ریشه گیاه تیمار شده با شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای PBZ و GA نشان نداد ولی بیش از ۱۳ برابر غلظت سدیم در گیاه بدون تنش بود. تنها در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری، غلظت سدیم ریشه تیمار شده با پاکلوبوترازول اختلاف معنی‌داری با تیمار جیبرلین و کنترل نشان داد (شکل ۲- A) که ۱۷ درصد بیشتر از کنترل در شرایط مشابه بود.

بر اساس نتایج حاصل، غلظت سدیم در ساقه تحت تأثیر جیبرلین و بازدارنده آن قرار نگرفت. بیشترین مقدار سدیم ساقه در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار تحت تیمار جیبرلین حاصل گردید (۳۰٪ بیشتر از کنترل)، اما این میزان در شرایط مشابه با کنترل و PBZ اختلاف معنی‌داری نشان نداد. علاوه بر این تغییرات غلظت سدیم از شوری ۱۵۰ به ۲۰۰ میلی‌مولار باعث اختلاف معنی‌داری در غلظت این عنصر در بخش هوایی نشد و به نرخ ثابتی رسید (شکل ۲- B). ضریب انتقال سدیم با افزایش شوری تا ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت و در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار روند کاهشی نشان داد. بیشترین میزان انتقال سدیم مربوط به تیمار جیبرلین در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد که ۳۹ درصد بیشتر از کنترل در شرایط مشابه بود و اختلاف معنی‌داری با کنترل نشان داد؛ اما تیمارهای پاکلوبوترازول در این میزان شوری و دیگر غلظت‌های نمک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با گیاهان کنترل در شرایط یکسان نشان ندادند (شکل ۳- A).

در خصوص غلظت پتاسیم نتایج بیانگر کاهش غلظت این عنصر با افزایش شدت تنش شوری در ریشه و ساقه بود. در بخش هوایی تغییرات غلظت پتاسیم برای گیاهان کنترل بسیار کم و با توجه به آنالیز داده‌ها این تغییرات معنی‌دار نبود (۱۱ درصد کاهش در شوری ۲۰۰ mM نمک)؛ اما در خصوص تیمار جیبرلین، با افزایش شوری مقدار پتاسیم بخش هوایی

به‌شدت تحت تأثیر قرار گرفت و کاهش معنی‌داری نسبت به حالت بدون تنش نشان داد (۲۶٪ کاهش در شوری ۲۰۰ mM نمک). اما تیمار پاکلوبوترازول، روند متفاوتی نشان داد. براساس آنالیز داده‌ها، غلظت پتاسیم در ساقه گیاهان تحت تیمار PBZ و شوری روند افزایشی داشت به‌گونه‌ای که مقدار این عنصر در شرایط ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک تحت تیمار PBZ و GA اختلاف معنی‌داری نشان داد و PBZ در بیشترین مقدار شوری، ۲۸ درصد غلظت پتاسیم را نسبت به تیمار خود در شرایط بدون نمک افزایش داد. کمترین مقدار پتاسیم ساقه مربوط به تیمار پاکلوبوترازول در شرایط بدون تنش و بیشترین مقدار آن نیز مربوط به تیمار جیبرلین در شرایط مشابه بود که اختلاف معنی‌داری با PBZ و گیاه کنترل داشت (شکل ۲- D). در ریشه غلظت پتاسیم با افزایش شوری کاهش یافت. بر این اساس گیاهان کنترل در شوری ۲۰۰ mM در مقایسه با شرایط بدون نمک ۳۱ درصد کاهش پتاسیم ریشه را نشان دادند. اما در همه غلظت‌های مختلف شوری، میزان پتاسیم ریشه در تیمار پاکلوبوترازول از جیبرلین و گیاهان کنترل بیشتر بود و اختلاف معنی‌داری را ایجاد نمود. به‌عنوان مثال تیمار PBZ در غلظت ۲۰۰ mM نمک نسبت به کنترل در شرایط مشابه بیش از ۴۰ درصد پتاسیم بیشتری تجمع داد. جیبرلین تقریباً شرایط مشابه کنترل نشان داد و تنها در شرایط بدون تنش مقدار پتاسیم ریشه تحت تیمار جیبرلین از کنترل بیشتر و اختلاف معنی‌داری با کنترل نشان داد. بیشترین غلظت پتاسیم ریشه مربوط به تیمار PBZ در شرایط بدون نمک و کمترین مقدار پتاسیم مربوط به تیمارهای کنترل و جیبرلین در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک بود (شکل ۲- C).

با توجه به شکل ۳ مشخص شد که با افزایش شوری ضریب انتقال پتاسیم از ریشه به ساقه افزایش یافت. اگرچه جیبرلین و پاکلوبوترازول نیز چنین روندی را نشان دادند اما میزان انتقال پتاسیم در تیمارهای پاکلوبوترازول بسیار کمتر و اختلاف معنی‌داری با تیمار جیبرلین و کنترل در شرایط بدون تنش، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار شوری نشان داد. تنها در غلظت

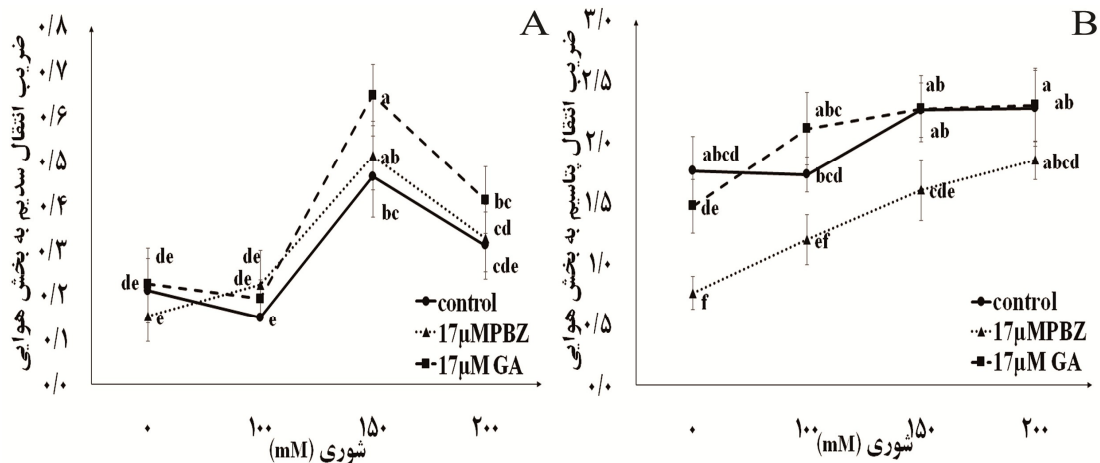


شکل ۲. تغییرات غلظت سدیم در ریشه (A) و ساقه (B) به همراه تغییرات پتاسیم در ریشه (C) و ساقه (D) تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

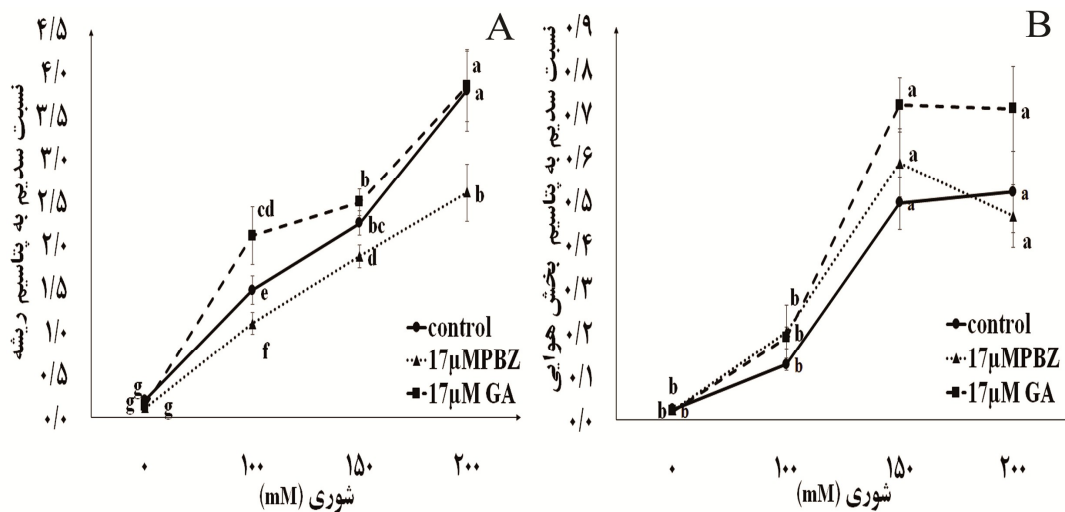
پاکلوبوترازول نسبت به کنترل و جیبرلین کمترین افزایش نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه در تمام غلظت‌های نمک را نشان داد. برای نمونه در بالاترین مقدار نمک این نسبت در تیمار PBZ نسبت به کنترل در شرایط مشابه بیش از ۳۱ درصد کاهش داشت. در مقابل، تیمار جیبرلین این نسبت را در شوری ۱۰۰ mM در مقایسه با کنترل ۴۲٪ افزایش داد به گونه‌ای که از نظر آماری با کنترل و PBZ اختلاف معنی‌داری ایجاد کرد. در ساقه نیز شبیه ریشه با افزایش غلظت نمک، نسبت سدیم به پتاسیم افزایش معنی‌دار داشت اما در غلظت ۲۰۰ میلی مولار نسبت به غلظت ۱۵۰ mM نمک تغییری نشان نداد، به گونه‌ای

۲۰۰ میلی مولار نمک، با افزایش ضریب انتقال این عنصر اختلاف معنی‌داری بین گیاهان تحت تیمار PBZ و جیبرلین و کنترل مشاهده نشد. نکته حائز اهمیت این است که گیاهان تحت تیمار جیبرلین تقریباً شبیه گیاهان کنترل عمل نمودند اما درصد افزایش این تغییرات در شوری ۲۰۰ mM در مقایسه با حالت بدون تنش به ترتیب برای PBZ، GA و کنترل ۱۴۴، ۵۶ و ۲۹ درصد بود. به عبارت دیگر تیمار پاکلوبوترازول بیشتر از جیبرلین نرخ انتقال پتاسیم را افزایش داد (شکل ۳- B).

شکل ۴ روند افزایشی نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و ساقه با ازدیاد نمک در محیط را نشان می‌دهد. تیمار



شکل ۳. ضریب انتقال سدیم (A) و پتاسیم به بخش هوایی (B) تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).



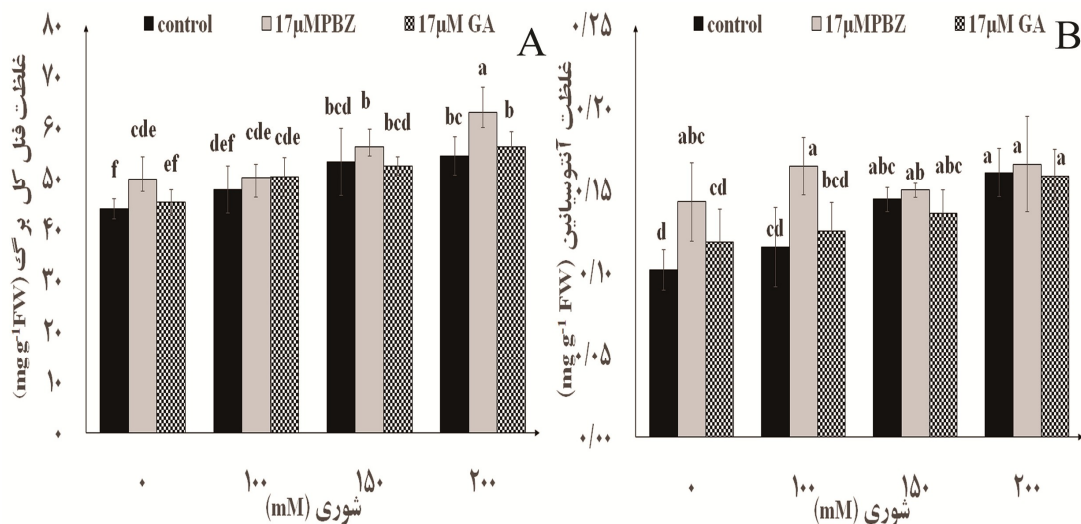
شکل ۴. تغییرات نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه (A) و ساقه (B) تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

داشتند در شکل ۵ (A) نشان داده شده است. نتایج تعیین مقدار ترکیبات فنلی نشان داد که شوری، باعث افزایش این ترکیبات در گیاهان کنترل و تحت تیمار با پاکلوبوترازول و جیبرلین شد که در شوری ۲۰۰ mM برای تیمارهای فوق نسبت به وضعیت بدون تنش به ترتیب ۲۴، ۲۷ و ۲۴ درصد افزایش داشت. بیشترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به تیمار PBZ در غلظت

که با افزایش غلظت نمک مقدار آن از نظر آماری تغییر نکرد و تیمار GA و PBZ از نظر آماری تأثیری بر آن نداشتند.

تغییرات فنل کل و آنتوسیانین

تغییرات مقدار ترکیبات فنلی در برگ‌های گیاه سورگوم شیرین که تحت تنش شوری و تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول قرار



شکل ۵. تغییرات مقدار ترکیبات فنل کل (A) و آنتوسیانین (B) تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

کمترین غلظت آنتوسیانین مربوط به گیاه کنترل در شرایط بدون تنش بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با PBZ نشان داد (شکل ۵-B).

فعالیت آنزیم PAL و TAL

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم PAL نشان داد که با افزایش شوری فعالیت این آنزیم در تیمارهای PBZ و GA افزایش یافت. به گونه‌ای که گیاهان تحت تنش شدید شوری همراه با PBZ و GA نسبت به حالت بدون تنش به ترتیب ۲۴ و ۲۸ درصد افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم ایجاد کردند. با این وجود در گیاهان کنترل، فعالیت آنزیم تغییر چندانی با تغییر شوری نداشت و بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به تیمار PBZ در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با گیاهان تحت تیمار جیبرلین (۱۶ درصد افزایش) و کنترل (۱۹ درصد افزایش) در شرایط مشابه نشان داد؛ برعکس، فعالیت آنزیم TAL در گیاه سورگوم با افزایش شوری کاهش یافت که برای گیاهان کنترل در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ۱۰ درصد کاهش فعالیت مشخص شد؛ اما فعالیت آنزیم TAL

۲۰۰ میلی‌مولار شوری بود که اختلاف معنی‌داری با کنترل (۱۶ درصد بیشتر در شرایط مشابه) و تیمار جیبرلین (۱۲ درصد بیشتر در شرایط یکسان) نشان داد. کمترین غلظت ترکیبات فنلی مربوط به گیاه شاهد در شرایط بدون شوری بود که از نظر آماری با تیمار PBZ اختلاف معنی‌داری در شرایط مشابه داشت (تقریباً ۱۳ درصد کاهش) اما مقدار آن با جیبرلین معنی‌دار نبود. در پژوهش حاضر، تنش شوری موجب افزایش غلظت آنتوسیانین در گیاهان کنترل، تحت تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول شد. بر این اساس مقدار آنتوسیانین تیمارهای فوق در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک نسبت به وضعیت بدون تنش به ترتیب ۵۶، ۳۴ و ۱۶ درصد افزایش یافت. میزان آنتوسیانین در تیمار پاکلوبوترازول در شرایط بدون تنش افزایش یافت و این میزان با وجود روند افزایشی کمتر تحت تأثیر شوری قرار گرفت. از نظر آماری بیشترین غلظت آنتوسیانین مربوط به تیمار پاکلوبوترازول در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار شوری مشاهده شد. تیمار مذکور در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار شوری اختلاف مشهودی با جیبرلین (۳۲ درصد افزایش) و کنترل (۴۲ درصد افزایش) داشت. از طرف دیگر

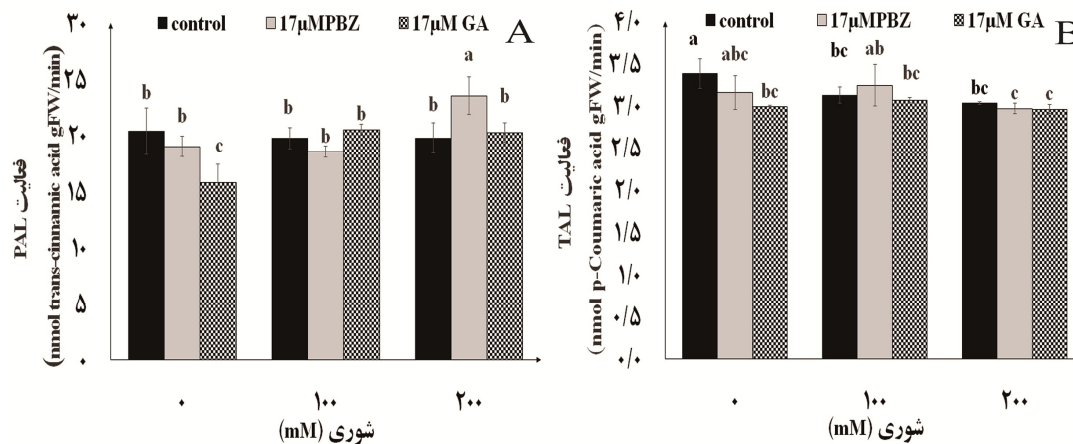
تیمارهای جیبرلین و PBZ کمتر تنش شوری قرار گرفت و از نظر آماری تغییری نیافت. بیشترین فعالیت آنزیم TAL مربوط به گیاهان شاهد بدون تنش بود که اختلاف معنی‌داری با گیاهان تحت تیمار جیبرلین در شرایط مشابه ارائه نمود (شکل ۶).

بحث

در این مطالعه پاسخ‌های برخی صفات رویشی و فیزیولوژی گیاه سورگوم شیرین به تنش شوری، جیبرلین و بازدارنده آن (PBZ) بررسی شد. از آنجایی که این گیاه نسبتاً به شوری مقاوم است و به خوبی به شرایط کم‌آبی سازگار شده است، پاسخ‌های آن به شوری می‌تواند به این سؤال مهم پاسخ دهد که چگونه جیبرلین و پاکلوبوترازول می‌توانند اثرات منفی شوری را در گیاه سورگوم شیرین کاهش دهند. به عنوان یک پاسخ کلی به شوری رشد گیاهان از طریق چند مسیر شامل شوک اسمزی، یون سمی و تغییر توازن مواد غذایی کاهش می‌یابد. بازدارندگی رشد اولیه شوری مربوط به پتانسیل آبی حاصل از غلظت بالای نمک است. برای مشخص کردن گیاهان مقاوم از برخی صفات مانند وزن خشک و نسبت تغییرات یون‌های سمی و توازن یون پتاسیم استفاده می‌شود. بدون شک تغییرات هورمونی در گیاهان در فرایند مقاومت به تنش‌های محیطی و از جمله شوری نقش بارزی دارد (۲۹ و ۴۲). در این تحقیق وزن تر و خشک ساقه با افزایش شوری کاهش یافت. اگرچه اثرات منفی شوری، به خصوص در غلظت‌های کم‌نمک، بر صفات رویشی ساقه با تیمار جیبرلین تعدیل شد اما اثرات جیبرلین با افزایش شوری کمرنگ‌تر گردید. اثرات مثبت جیبرلین بر رشد گیاهانی همچون آرابیدوپسیس، لوبیا، سورگوم خوشه‌ای و برنج در شرایط شوری گزارش شده است (۴ و ۹ و ۳۶). جیبرلین با تحریک تقسیم سلولی و طولیل شدن سلول رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اثرات مثبت این تنظیم‌کننده رشد در شرایط شوری احتمالاً مربوط به تعادل هورمونی، فرایند فتوسنتزی، جذب عناصر و انتقال بیشتر مواد به ساقه است (۱۰ و ۲۹). در

مقابل استفاده از پاکلوبوترازول به عنوان بازدارنده سنتز جیبرلین وزن تر و خشک ساقه را به صورت معنی‌داری کاهش داد. در همین راستا کاهش جیبرلین فعال در گیاه آرابیدوپسیس تحت تنش شوری بیانگر این است که کاهش رشد ناشی از شوری به دلیل تعدیل سنتز جیبرلین و افزایش فعالیت و یا بیان DELLA در گیاهان تحت تنش شوری است. نکته حائز اهمیت این است که افزایش بیان پروتئین DELLA در تیمار سورگوم خوشه‌ای با PBZ گزارش شده است (۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۲۹). بنابراین تفاوت رفتار جیبرلین و بازدارنده آن در شوری‌های کم و بالا ممکن است، به دلیل هموستازی یونی، متابولیسم جیبرلین و پایداری DELLA باشد. به صورت کلی آنالیز داده‌ها بیانگر این است که تیمار پاکلوبوترازول بیشترین تأثیر را در ریشه و جیبرلین بیشتر اثر را بر روی اندام هوایی در مقایسه با گیاهان شاهد داشته است. همان‌طور که اشاره شد علت این امر را می‌توان در تغییرات هورمونی دانست، چرا که گزارش‌هایی مبنی بر افزایش سیتوکینین و آبسزیک اسید در پاسخ به PBZ وجود دارد که افزایش سیتوکینین در ریشه یکی از عوامل مهم گسترش ریشه است (۱۳).

اگرچه سورگوم از گیاهان نسبتاً مقاوم به شوری است اما رفتار آن در بین ژنوتیپ‌های مختلف آن متفاوت است. مقاومت گیاهان به شوری براساس سه راه کار ۱- محدود کردن یون سدیم با کاهش جذب یا پمپ فعال این یون به خارج سیتوپلاسم ۲- جداسازی یون سمی در واکوئل و ۳- تجمع انتخابی این عنصر در برگ‌ها صورت می‌گیرد. از طرف دیگر افزایش یون سدیم در گیاهان به منزله حساسیت به شوری است و تجمع یون‌های سمی مانند سدیم و کلر باعث برهم زدن تعادل یونی و جذب پتاسیم می‌شود؛ بنابراین کاهش نسبت سدیم به پتاسیم (Na^+/K^+) در اندام‌های گیاهی بیانگر شاخص مقاومت به شوری است (۱، ۶ و ۲۹). در این مطالعه مشخص شد که در سورگوم شیرین واریته Sofra با افزایش سدیم مقدار آن نیز در ریشه افزایش می‌یابد و تیمارهای جیبرلین و پاکلوبوترازول نیز تأثیر بارزی بر تغییر مقدار این عنصر سمی



شکل ۶. تغییرات مقدار فعالیت آنزیم PAL (A) و TAL (B) تحت تنش شوری، تیمار جیبرلین و پاکلوبوترازول. داده‌ها میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف غیر مشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن است ($P \leq 0.05$).

PBZ بر مقدار سدیم در ریشه و ساقه است. با این وجود غلظت سدیم در بخش هوایی با افزایش غلظت نمک از ۱۵۰ به ۲۰۰ میلی‌مولار تغییر محسوسی نمی‌یابد و در یک نرخ ثابتی قرار می‌گیرد. به عبارت دیگر ماکزیمم غلظت سدیم در بخش هوایی در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار ثابت می‌شود. اما با توجه به ضریب انتقال سدیم به بخش هوایی مشخص شد که ضریب انتقال سدیم به بخش هوایی تا غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک به صورت معنی‌داری افزایش و سپس در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک این روند کاهش یافت. به عبارت دیگر رقم مورد مطالعه تا شوری ۱۵۰ میلی‌مولار امکان انتقال سدیم به بخش هوایی را می‌دهد و این غلظت نمک را به عنوان آستانه تحمل خود قلمداد می‌نماید، به گونه‌ای که با افزایش شوری به ۲۰۰ میلی‌مولار، ضریب انتقال سدیم را کاهش می‌دهد و بدین ترتیب علاوه بر کاهش اثرات سمی یون سدیم، غلظت سدیم را در هر دو سطح شوری فوق یکسان نگاه می‌دارد. این کاهش ضریب انتقال سدیم بیانگر مکانیسم محدودکننده در این گیاه است (۶ و ۴۲) که به نظر می‌رسد ناشی از رفتار ژنتیکی گیاه، توأم با کاهش جذب مواد به دلیل افزایش شوری است. نتایج مشابهی در سورگوم دانه‌ای نیز گزارش شده است (۶). در این خصوص تیمار جیبرلین در مقایسه با بازدارنده خود، باعث افزایش

ندارند. پژوهشی در میان ارقام مقاوم سورگوم شیرین مشخص نمود که رقم مورد مطالعه در این تحقیق در مرحله گیاهچه نسبت به شوری حساس است. در مطالعه مذکور مشخص شد که تفاوت در غلظت سدیم در ریشه‌های کولتیوارهای مختلف متفاوت نیست و تمام کولتیوارها، سدیم را به بخش هوایی انتقال می‌دهند. در حالی که غلظت سدیم در برگ‌ها متفاوت است و گونه‌های مقاوم سدیم کمتری را انتقال می‌دهند (۳). همچنین مطالعات صورت گرفته روی سورگوم دانه‌ای بیانگر این است که مقدار سدیم در بافت سورگوم با افزایش سدیم محیط کشت افزایش می‌یابد و مقدار سدیم در ریشه و ساقه اختلاف معنی‌داری در میان ژنوتیپ‌های مختلف ایجاد می‌نماید (۶ و ۴۲). در مطالعه حاضر نیز مقدار سدیم با افزایش شوری در ریشه و ساقه افزایش یافت که یکی از نشانه‌های اثر تنش شوری است. به نظر می‌رسد گیاه سورگوم قادر به کاهش انتقال سدیم و کلر از ریشه به ساقه است و این ترکیبات را در بخش‌هایی مانند ریشه، ساقه و برگ کده‌بندی می‌نماید. در مطالعه‌ای دیگری روی واریته‌های مقاوم و متحمل به شوری مشخص شده که گونه‌های حساس به شوری سورگوم، یون‌های سمی سدیم را بیشتر تجمع می‌دهند (۱۱) با توجه به آنالیز داده‌ها به نظر می‌رسد که تأثیر نمک بیشتر از اثرات جیبرلین و

قابل توجه ضریب انتقال سدیم به بخش هوایی شد. این افزایش ضریب انتقال احتمالاً مربوط به افزایش جذب عناصر، کاهش مقاومت روزه‌ای در پاسخ به هورمون جیبرلین در غلظت‌های کم شوری است که نفوذپذیری یا انتقال مواد به ساقه را افزایش می‌دهد (۱۲ و ۳۲). با این وجود گزارش‌هایی مبنی بر کاهش محتوی سدیم در گیاهانی مانند گندم در ساقه و ریشه تحت تیمار جیبرلین و شوری وجود دارد. در این تحقیق پاکلوبوترازول اثر معنی‌داری بر ضریب انتقال سدیم نداشت و شبیه گیاهان کنترل عمل نمود. البته در خصوص پاکلوبوترازول در گیاهانی همچون گندم، گزارش‌ها حاکی از کاهش سدیم در اندام هوایی است اما در ریشه کاهش سدیم و یا عدم تأثیر بر جذب سدیم نیز گزارش شده است (۲۰، ۳۸، ۳۹ و ۴۳). به نظر می‌رسد با توجه به اثر PBZ در توسعه ریشه و افزایش نسبت ریشه به ساقه، افزایش سدیم در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مربوط به اثر توسعه سیستم ریشه‌ای و نهایتاً افزایش جذب عناصر است (۲۰، ۳۹ و ۴۶). در خصوص یون پتاسیم، مطالعات بیانگر کاهش یون پتاسیم به دلیل رقابت با یون سدیم و افزایش نسبت سدیم به پتاسیم است (۱۹، ۲۲ و ۴۲). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که گیاه سورگوم شیرین برای مقابله با تنش شوری علاوه بر استفاده از مکانیسم محدود کننده برای یون سدیم در تنش‌های بالا، مقدار غلظت پتاسیم بخش هوایی خود را در محدوده ثابتی نگه می‌دارد و مانع کاهش آن در تنش‌های شدید می‌شود. به این منظور گیاه ضریب انتقال پتاسیم به بخش هوایی خود را افزایش داده است تا غلظت پتاسیم دستخوش تغییر چندانی نشود. لذا علاوه بر اثرات سدیم بر کاهش پتاسیم در ریشه، افزایش ضریب انتقال آن به اندام هوایی باعث کاهش پتاسیم در ریشه گردیده است. از طرفی تجمع انتخابی سدیم در ریشه بیش از ساقه به‌عنوان مکانیسمی در مقاومت به شوری حداقل از دو مسیر صورت می‌گیرد. اول حفظ پتانسیل اسمتیک به‌منظور جذب آب و دوم محدود کردن انتقال سدیم به ریشه است (۳۷). با این وجود پاکلوبوترازول در این روند نقش بارزتری داشته است، زیرا این تنظیم‌کننده رشد با افزایش

چشم‌گیر پتاسیم در ریشه هم در شرایط شوری و هم بدون تنش، پایین بودن ضریب انتقال پتاسیم خود را در مقایسه با کنترل و جیبرلین جبران کرده است، به‌گونه‌ای که غلظت پتاسیم در ساقه تحت تیمار PBZ افزایش و اختلاف معنی‌داری در شوری‌های بالا با تیمار جیبرلین ایجاد می‌نماید. این شیوه سبب گردید که نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه تحت تیمار پاکلوبوترازول به‌طور محسوسی کمتر از کنترل و تیمار جیبرلین شود که این کاهش در اندام‌های گیاهی بیانگر شاخص مقاومت به شوری است (۲۹). تیمار جیبرلین، غلظت پتاسیم را در ساقه کاهش داد. هرچند این کاهش تفاوت معنی‌داری با گیاهان کنترل در شوری بالا ندارد اما با بازدارنده خود، معنی‌دار است و میزان کاهش پتاسیم ساقه در تیمارهای جیبرلین رشد بیشتری دارد که به احتمال زیاد به دلیل افزایش نرخ انتقال سدیم به بخش هوایی در تیمارهای جیبرلین و بالطبع کاهش پتاسیم به دلیل رقابت با سدیم است (۲۰). کاهش یون پتاسیم، مطابق با کاهش بسیار شدید در طول برگ‌های گیاهان حساس تحت تنش شوری گزارش شده است که برای بزرگ شدن سلول‌ها به‌خصوص در برگ‌های جوان لازم است (۱۱). اثر مثبت پاکلوبوترازول بر روی محتوی سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و ساقه گیاهانی همچون مرکبات گزارش شده است. (۳۸ و ۳۹). همچنین در گندم پاکلوبوترازول باعث کاهش سدیم در رقم حساس به شوری شده است و مقدار پتاسیم را در ریشه و ساقه تحت تیمار PBZ و شوری افزایش داده است (۱۹).

امروزه به‌خوبی آشکار شده است که تنش‌های زیستی مانند شوری، تغییراتی در متابولیسم اولیه و نهایتاً متابولیت‌های ثانویه مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها ایجاد می‌نمایند. در این مطالعه فنل کل و آنتوسیانین تحت تیمار پاکلوبوترازول و شوری افزایش یافت. افزایش این ترکیبات در پاسخ به آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن‌کنشگر بسیار مهم است (۴۵). آزمایش‌ها روی گیاهانی همچون چغندرقد نیز مشخص کرده است که گونه‌های مقاوم به شوری مقدار ترکیبات فنل و

آنتوسیانین خود را تا سه برابر نسبت به گیاهان حساس افزایش داده‌اند (۴۵). مطابق با این یافته‌ها، مقدار فنل کل برگ‌های نهال انبه و دیگر گیاهان در پاسخ به PBZ و دیگر ترکیبات تریازول افزایش یافت (۸، ۱۶، ۱۷ و ۴۵). به‌علاوه تریازول‌ها منجر به افزایش آبسبزیک اسید در لوبیا گردید و افزایش ترکیبات فنلی در گیاه *Ocimum sanctum* با تیمار PBZ و آبسبزیک اسید در همه مراحل رشد مشاهده شد (۱۶ و ۲۷). لذا تغییرات هورمونی، افزایش ROS و حتی تغلیظ حاصل از تنش و PBZ می‌تواند از عوامل افزایش این ترکیبات در تیمار PBZ باشد. در خصوص جیبرلین نتایج متضادی در نقش این هورمون در افزایش یا کاهش فنل کل و آنتوسیانین گزارش شده است (۱۵ و ۲۷). در مطالعه حاضر اگرچه ترکیبات فوق تحت تیمار جیبرلین افزایش اندکی یافته است، اما اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارد. افزایش فنل کل در گیاهان تحت تیمار شوری همراه با جیبرلین و پاکلوبوترازول می‌تواند تحت تأثیر فعالیت آنزیم‌های مسیر آن باشد. لذا برای بررسی علت افزایش ترکیبات فنلی، فعالیت آنزیم PAL و TAL مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج آشکار کرد که فعالیت آنزیم PAL با مقدار فنل کل مطابقت داشت. به‌عبارت بهتر با افزایش شوری فعالیت آنزیم در تیمارهای جیبرلین و PBZ افزایش یافت و در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار تیمار PBZ اختلاف معنی‌داری با گیاهان کنترل و شاهد ایجاد کرد که دقیقاً با فعالیت آنزیم PAL تحت تیمار پاکلوبوترازول تطابق دارد. لذا افزایش مقدار فنل کل در تیمار مذکور ناشی از فعالیت بالای این آنزیم در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار است. نقش تنظیم‌کننده‌های رشدی بر فعالیت آنزیم PAL و TAL و ترکیبات فنلی به‌خوبی روشن نیست و مطالعات محدودی در این زمینه وجود دارد؛ اما گزارش‌های ضد و نقیضی در خصوص اثرات مثبت و منفی جیبرلین و بازدارنده آن یعنی PBZ بر افزایش و کاهش ترکیبات فنلی و آنزیم‌های مسیر سنتزی آنها وجود دارد (۲۳، ۳۰، ۳۱ و ۳۳) که به‌نظر می‌رسد

وابسته به گیاه و مراحل رشد و نمو است. نتایج بررسی فعالیت آنزیم TAL نشان می‌دهد که با افزایش شوری به‌صورت معکوس از فعالیت آنزیم TAL در سورگوم کاسته شد. اما تیمارهای جیبرلین و پاکلوبوترازول از کاهش معنی‌دار آن جلوگیری کردند. لذا به‌نظر می‌رسد افزایش ترکیبات فنلی در تیمار PBZ ناشی از افزایش فعالیت PAL و عدم کاهش فعالیت TAL باشد. اگرچه گزارش‌هایی در خصوص افزایش فعالیت آنزیم TAL در پاسخ به شوری وجود دارد، اما نتایج ما در خصوص گیاهان کنترل روند کاهشی را نشان داد. فعالیت آنزیم TAL بیشتر در خصوص گیاهان تک‌لپه‌ای بارز است و گزارش شده است که علاوه بر آنزیم PAL نوع دیگری به‌نام PTALs وجود دارند (۲) که قادرند هم فنیل آلانین و هم تیروزین را به‌عنوان سوبسترا مصرف نمایند. نقش آنزیم TAL در رشد گیاهان تک‌لپه و بعضی گیاهان دولپه مشخص نیست ولی مطالعات اخیر مشخص نموده که آنزیم‌های TAL مشتق از PTAL می‌توانند تغییراتی در درصد مونوپلیم‌های لیگنین ایجاد نماید و بیشتر دارای یک نقش کمکی یا فرعی در تولید ترکیبات فنلی باشد (۵). بنابراین به‌نظر می‌رسد کاهش فعالیت آنزیم فوق در گیاه کنترل با افزایش شوری به‌دلیل نقش فرعی آن باشد.

بنابر نتایج حاصله می‌توان بیان داشت که GA و PBZ با انتقال مواد به‌ترتیب به سمت ساقه و ریشه امکان ایجاد مقاومت به شوری را ایجاد می‌نمایند، اما به‌نظر می‌رسد تیمار PBZ با گسترش سیستم ریشه‌ای، ایجاد تعادل یونی بهتر در ریشه، افزایش ترکیبات فنلی که همراه با افزایش فعالیت آنزیم PAL است نقش مؤثرتری در پاسخ به استرس شوری دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه اصفهان، دانشگاه پیام نور و قطب تنش‌های گیاهی تشکر می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

1. Akula, R. and G. A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1720-1731.
2. Alla, M. M. N., M. E. Younis, O. A. El-Shihaby and Z. M. El-Bastawisy. 2002. Kinetin regulation of growth and secondary metabolism in waterlogging and salinity treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *Acta Physiologiae Plantarum* 24: 19-27.
3. Almodares, A., M. Hadi, B. Kholdebarin, B. Samedani and Z. A. Kharazian. 2014. The response of sweet sorghum cultivars to salt stress and accumulation of Na⁺, Cl⁻ and K⁺ ions in relation to salinity. *Journal of Environmental Biology* 35: 733.
4. Alonso-Ramírez, A., D. Rodríguez, D. Reyes, J. A. Jiménez, G. Nicolás, M. López-Climent, A. Gómez-Cadenas and C. Nicolás. 2009. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in Arabidopsis seeds. *Plant Physiology* 150: 1335-1344.
5. Barros, J., J. C. Serrani-Yarce, F. Chen, D. Baxter, B. J. Venables and R. A. Dixon. 2016. Role of bifunctional ammonia-lyase in grass cell wall biosynthesis. *Nature Plants* 2: 16050.
6. Bavei, V., B. Shiran and A. Arzani. 2011. Evaluation of salinity tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) using ion accumulation, proline and peroxidase criteria. *Plant Growth Regulation* 64: 275-285.
7. Beaudoin-Eagan, L. D. and T. A. Thorpe. 1985. Tyrosine and phenylalanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus cultures. *Plant Physiology* 78: 438-441.
8. Buchenauer, H. and E. Röhner. 1981. Effect of triadimefon and triadimenol on growth of various plant species as well as on gibberellin content and sterol metabolism in shoots of barley seedlings. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 15: 58-70.
9. Chakrabarti, N. and S. Mukherji. 2003. Alleviation of NaCl stress by pretreatment with phytohormones in *Vigna radiata*. *Biologia Plantarum* 46: 589-594.
10. Colebrook, E. H., S. G. Thomas, A. L. Phillips and P. Hedden. 2014. The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *Journal of Experimental Biology* 217: 67-75.
11. De Lacerda, C. F., J. Cambraia, M. A. Oliva, H. A. Ruiz and J. T. N. Prisco. 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 49: 107-120.
12. Fahad, S., S. Hussain, A. Matloob, F. A. Khan, A. Khaliq, S. Saud, S. Hassan, D. Shan, F. Khan and N. Ullah. 2015. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Regulation* 75: 391-404.
13. Fletcher, R., A. Gilley, N. Sankhla and T. D. Davis. 1999. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews* 24: 55-138.
14. Gao, S., X. Xie, S. Yang, Z. Chen and X. Wang. 2012. The changes of GA level and signaling are involved in the regulation of mesocotyl elongation during blue light mediated de-etiolation in *Sorghum bicolor*. *Molecular Biology Reports* 39: 4091-4100.
15. Giannakoula, A. E., I. F. Ilias, J. J. D. Maksimović, V. M. Maksimović and B. D. Živanović. 2012. The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *Journal of Food Composition and Analysis* 28: 46-53.
16. Gopi, R., C. A. Jaleel, V. Divyanair, M. Azooz and R. Panneerselvam. 2009. Effect of paclobutrazol and ABA on total phenol contents in different parts of holy basil (*Ocimum sanctum*). *Academic Journal of Plant Sciences* 2: 97-101.
17. Gopi, R., C. A. Jaleel, R. Sairam, G. Lakshmanan, M. Gomathinayagam and R. Panneerselvam. 2007. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass, electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 60: 180-186.

18. Hajihashemi, S. and A. Ehsanpour. 2013. Influence of exogenously applied paclobutrazol on some physiological traits and growth of *Stevia rebaudiana* under in vitro drought stress. *Biologia* 68: 414-420.
19. Hajihashemi, S. and K. Kiarostami. 2007. Effects of paclobutrazol and salt stress on growth and ionic contents in two cultivars of wheat. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10: 41-48.
20. Hajihashemi, S., K. Kiarostami, A. Saboora and S. Enteshari. 2007. Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in salt-stressed wheat plants. *Plant Growth Regulation* 53: 117-128.
21. Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *Circular California Agricultural Experiment Station* 347: 1-32.
22. Horie, T., I. Karahara and M. Katsuhara. 2012. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice* 5: 11.
23. Iqbal, M. and M. Ashraf. 2013. Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis. *Environmental and Experimental Botany* 86: 76-85.
24. Jaleel, C. A., R. Gopi, P. Manivannan, A. Kishorekumar, M. Gomathinayagam and R. P. Vam. 2007. Changes in biochemical constituents and induction of early sprouting by triadimefon treatment in white yam (*Dioscorea rotundata* Poir.) tubers during storage. *Journal of Zhejiang University Science B* 8: 283-288.
25. Javid, M. G., A. Sorooshzadeh, F. Moradi, S. A. M. M. Sanavy and I. Allahdadi. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. *Australian Journal of Crop Science* 5: 726.
26. Ji, H., J. M. Pardo, G. Batelli, M. J. Van Oosten, R. A. Bressan and X. Li. 2013. The Salt Overly Sensitive (SOS) pathway: established and emerging roles. *Molecular Plant* 6: 275-286.
27. Jiang, Y. and D. C. Joyce. 2003. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulation* 39: 171-174.
28. Kafi, M., M. Shariat Jafari and A. Moayedi. 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.
29. Khan, N. A., R. Nazar, N. Iqbal and N. A. Anjum. 2012. Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
30. Liang, Z., Y. Ma, T. Xu, B. Cui, Y. Liu, Z. Guo and D. Yang. 2013. Effects of abscisic acid, gibberellin, ethylene and their interactions on production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* bunge hairy roots. *PloS ONE* 8: e72806.
31. Matsuki, M. 1996. Regulation of plant phenolic synthesis: from biochemistry to ecology and evolution. *Australian Journal of Botany* 44: 613-634.
32. Mohammed, A. 2007. Physiological aspects of mungbean plant (*Vigna radiata* L. Wilczek) in response to salt stress and gibberellic acid treatment. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3: 200-213.
33. Montero, T., E. Mollá, M. A. Martín-Cabrejas and F. J. López-Andréu. 1998. Effects of gibberellic acid (GA3) on strawberry PAL (phenylalanine ammonia-lyase) and TAL (tyrosine ammonia-lyase) enzyme activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 77: 230-234.
34. Netondo, G. W., J. C. Onyango and E. Beck. 2004. Sorghum and salinity: I. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. *Crop Science* 44: 797.
35. Ngara, R., R. Ndimba, J. Borch-Jensen, O. N. Jensen and B. Ndimba. 2012. Identification and profiling of salinity stress-responsive proteins in *Sorghum bicolor* seedlings. *Journal of Proteomics* 75: 4139-4150.
36. Prakash, L. and G. Prathapasenan. 1990. NaCl- and gibberellic acid-induced changes in the content of auxin and the activities of cellulase and pectin lyase during leaf growth in rice (*Oryza sativa*). *Annals of Botany* 65: 251-257.
37. Renault, S., C. Croser, J. A. Franklin and J. J. Zwiazek. 2001. Effects of NaCl and Na₂SO₄ on red-osier dogwood (*Cornus stolonifera* Michx.) seedlings. *Plant and Soil* 233: 261-268.

38. Sharma, D. K., A. Dubey, M. Srivastav, A. Singh, R. Pandey and A. Dahuja. 2013. Effect of paclobutrazol and putrescine on antioxidant enzymes activity and nutrients content in salt tolerant citrus rootstock sour orange under sodium chloride stress. *Journal of Plant Nutrition* 36: 1765-1779.
39. Sharma, D. K., A. Dubey, M. Srivastav, A. Singh, R. Sairam, R. Pandey, A. Dahuja and C. Kaur. 2011. Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 30: 301-311.
40. Shi, G., C. Liu, M. Cui, Y. Ma and Q. Cai. 2012. Cadmium tolerance and bioaccumulation of 18 hemp accessions. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 168: 163-173.
41. Singleton, V. L., R. Orthofer and R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152-178.
42. Tari, I., G. Laskay, Z. Takacs and P. Poor. 2013. Response of Sorghum to abiotic stresses: a review. *Journal of Agronomy and Crop Science* 199: 264-274.
43. Trivedi, S. and L. Erdei. 1990. The effects of paclobutrazol and tetcyclacis on mineral distribution in wheat under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 136: 503-506.
44. Wagner, G. J. 1979. Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
45. Wahid, A. and A. Ghazanfar. 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. *Journal of Plant Physiology* 163: 723-730.
46. Yim, K. O., Y. Kwon and D. Bayer. 1997. Growth responses and allocation of assimilates of rice seedlings by paclobutrazol and gibberellin treatment. *Journal of Plant Growth Regulation* 16: 35-41.

Comparative Effects of Gibberellin and Paclobutrazol on Na and K Content, Phenolic Compounds and the Activity of Some Enzymes in its Biosynthesis Pathway in Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor*) under Salt Stress

A. H. Forghani¹, A. Almodares² and A. A. Ehsanpour^{3*}

(Received: September 26-2016; Accepted: December 26-2016)

Abstract

Salinity is one of the most important restricting factors for plant growth and production around the world. The use of plant growth regulators has been expanded for improving salt tolerance in recent decades. In this investigation the effect of gibberellic acid (GA) and paclobutrazol (GA inhibitors) were evaluated for ameliorating negative effects of salt stress in sweet sorghum. After germination, the plants in 4 levels of salinity were cultured in Hoagland solution then seedlings were treated by GA and paclobutrazol (PBZ) for 12 days. The results showed that the highest level of salinity without hormone treatment reduced the fresh and dry shoot weight by 44 and 22%, respectively, and increased the fresh (46%) and dry (16%) root weight. Treating Plants with 17 Mm GA and PBZ led to improvement of the above traits in the salt-stricken plants. PBZ treatment decreased negative effects of salinity and increased potassium (K^+) content in roots and its transfer from root to shoot. Whereas, translocation factor of sodium was increased about 39% by GA treatment at the presence of 150mM salt. PBZ enhanced phenol content in shoots by increasing PAL activity. Therefore, GA and PBZ improved salt tolerance by transferring some ions toward shoot and root respectively. It seemed that, PBZ has an effective role in salt resistance by increasing of root growth, phenol content and maintaining the ionic balance.

Keywords: Plant growth regulators, Salt tolerance, Ionic balance, GA inhibitor, PAL, TAL

1, 2, 3. PhD Student, Associate Professor and Professor, Respectively, Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

*. Corresponding Author, Email: ehsanpou@sci.ui.ac.ir