

## مطالعه تنش شوری درون‌شیشه‌ای بر تجمع اسمولیت‌ها و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توده‌های بومی گل محمدی

سحر عزیزی<sup>۱</sup>، حنیفه سید حاجی زاده<sup>۱\*</sup>، احمد آقایی<sup>۲</sup> و سارا رضایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

<sup>۳</sup> گروه مهندسی تولید و ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰)

### چکیده

تنش شوری از جمله عامل‌های مهم محیطی است که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان می‌گردد. گل محمدی از گیاهان مهم دارویی و زینتی کشور است و با توجه به اینکه گسترش گیاهان متحمل به شوری یکی از هدف‌های مهم برنامه‌های به‌نژادی و تولیدی است، بدین منظور آزمایشی در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ در آزمایشگاه گروه علوم و مهندسی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه؛ تحت شرایط درون‌شیشه‌ای، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی چهار توده بومی آتشی، بی‌خار، چهار فصل و کاشان در پنج سطح شوری صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم انجام و صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توده‌های مختلف گل محمدی تحت تأثیر شوری افزایش معنی‌داری در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های سازگار نشان دادند. توده بومی آتشی با داشتن میزان بالای رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، پرولین، پروتئین محلول کل و بیش‌ترین افزایش در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و از طرفی با داشتن کم‌ترین میزان پراکسید هیدروژن و نشت الکترولیت نسبت به سه توده بومی دیگر از مکانیسم محافظت بهتری در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش شوری برخوردار بود. ژنوتیپ آتشی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در برابر تنش شوری مطلوب‌ترین و متحمل‌ترین توده با بالاترین سطح بهینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های سازگار و نیز غلظت زیاد پروتئین محلول کل بود و آستانه تحمل توده آتشی نسبت به تنش شوری اعمال‌شده در شرایط درون‌شیشه‌ای غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم برآورد شد.

کلمات کلیدی: آستانه تحمل، آنتی‌اکسیدان، تنش غیرزیستی، ریزازدیدی، صفات بیوشیمیایی

### مقدمه

خانواده است که در انگلیسی به آن گل‌سرخ و در فارسی گل محمدی می‌گویند (Moein et al., 2016). اعضای خانواده روزاسه به طور گسترده در صنایع دارویی و غذایی مورد

جنس *Rosa* از خانواده Rosacea حدود ۲۰۰ گونه و ۱۸۰۰۰ رقم دارد که *Rosa damascena* از مهم‌ترین گونه‌های این

آنتی‌اکسیدانی افزایش یافتند (Ali *et al.*, 2014).

مدل‌سازی تنش غیرزیستی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای یکی از راه‌های امیدوارکننده برای اصلاح گیاهان برای تحمل در برابر عوامل محیطی است. مزایای انتخاب در شرایط درون‌شیشه‌ای شامل کنترل دقیق شرایط کشت و ترکیب ماده غذایی است. اهداف اصلی انتخاب در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای شامل (۱) توسعه الگوریتمی برای ساخت سیستم‌های مدل انتخابی در شرایط درون‌شیشه‌ای، (۲) به دست آوردن گیاهانی با افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و (۳) توسعه فناوری‌های ریزازدیادی برای گیاهان است (Kruglova *et al.*, 2018). اخیراً براساس برنامه‌های کاربردی اراضی در ایران، به دلیل تحمل به خشکی، شوری و اهمیت اقتصادی آن، علاقه فزاینده‌ای برای تقویت سطح زیرکشت گیاه گل‌محمدی وجود دارد. برای این منظور جمع‌آوری، ارزیابی و حفاظت از کشت‌های محلی از الحاق‌های موجود مورد نیاز است و نیز با توجه به اینکه گسترش گیاهان متحمل به تنش یکی از هدف‌های مهم برنامه‌های به‌نژادی و تولیدی است. لذا با توجه به اهمیت اقتصادی این گل و شورشدن آب و خاک در اثر خشکسالی‌های اخیر، به نظر می‌رسد که گزینش گل‌محمدی متحمل به شوری می‌تواند از اهمیت برخوردار باشد. بنابراین این پژوهش کوششی برای یافتن مقدار تحمل به شوری توده‌های بومی گل‌محمدی ایران در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای است.

#### مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری مواد گیاهی و استقرار اولیه ریزنمونه‌ها.** به منظور تهیه ریزنمونه، چهار توده بومی گل‌محمدی با نام‌های چهار فصل و کاشان از محلات (۵۳/۲۱۴۷ درجه شمالی، ۵۳/۳۰۲۱ درجه شرقی) و آتشی و بی‌خار از مزرعه تحقیقاتی واقع در آذرشهر (۳۷/۳۰۱۲ درجه شمالی، ۴۵ درجه شرقی) خریداری شدند و به گلخانه تحقیقاتی دانشگاه مراغه، گروه علوم و مهندسی باغبانی منتقل شدند. قلمه‌هایی از هر کدام از توده‌های بومی جدا و سپس برای کشت در شرایط درون‌شیشه‌ای به

استفاده قرار می‌گیرند (Ercisli, 2007). گل‌محمدی در مقیاس وسیع در سه کشور ایران، بلغارستان و ترکیه کشت می‌شود (Nunes and Miguel, 2017). مهم‌ترین فرآورده‌های گل‌محمدی عبارتند از اسانس، کانکریت و گلاب (Kumar *et al.*, 2013).

یکی از رایج‌ترین تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری است. تخمین زده شده که ۵۷ درصد از زمین در سرتاسر جهان و تقریباً ۲۰ درصد از زمین‌های آبی تحت تأثیر شوری شدید قرار دارند (Abd El-Gawad *et al.*, 2021). مطالعات ثابت کرده که تنش شوری برای رشد و توسعه محصولات موجود، از طریق فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، از جمله سنتز کلروفیل، فتوسنتز، تنفس و هموستاز یونی مضر است (Bin-Jumah *et al.*, 2021). گزارش شده که در دسترس بودن نمک‌های سمی اضافی در سطح درون سلولی باعث تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود که منجر به القای تنش اکسیداتیو می‌شود (Salem *et al.*, 2020). این ROS شامل رادیکال‌هایی مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، هیدروکسیل و پراکسید است که برای متابولیسم و رشد گیاه در غلظت‌های شدید مضر هستند (Ahanger and Agarwal, 2017). تجمع ROS در بافت گیاه می‌تواند منجر به اکسیداسیون لیپیدها (Soliman *et al.*, 2020)، پروتئین‌ها (Krishnamurthy and Rathinasabapathi, 2013)، اسیدهای نوکلئیک (Rashad *et al.*, 2020) و کلروفیل (Soliman *et al.*, 2020) شود و در نتیجه یکپارچگی ساختاری و عملکردی را مختل کند. در سلول‌ها برای جلوگیری از تأثیر مخرب ROS انباشته‌شده و همچنین جلوگیری از تولید بیشتر آنها، چندین مکانیسم دفاعی برای بهبود عملکرد سلولی در حال تکامل هستند (Panieri and Santoro, 2016). در مطالعه‌ای مقدار تحمل به شوری گل‌محمدی در سه سطح شوری ۱، ۲ و ۳ دسی‌زیمنس بر متر سنجیده و بیان شد که با افزایش سطح شوری سطح برگ، مقدار محتوای نسبی آب برگ، کلروفیل برگ و مقدار عنصرهای نیتروژن، فسفر، کلسیم، پتاسیم و منیزیم کاهش و مقدار قندهای محلول، پرولین و فعالیت آنزیم‌های



شکل ۱- شاخساره‌های پرآوری شده توده‌های بومی گل محمدی

ببندد. سپس از شاخساره‌های اولیه برای پرآوری استفاده شد و به اتافک رشد منتقل شدند. بعد از سه مرحله واكشت شاخساره‌ها، در مراحل بعدی از شاخساره‌های پرآوری شده از گیاه مادری (شکل ۱) برای اعمال تیمار استفاده شد.

**تیمار شوری و استقرار شاخساره:** به منظور القای تنش شوری از کلرید سدیم در پنج سطح صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار معادل با فشار صفر، ۱/۲۵-، ۲/۵-، ۳/۷- و ۵- مگاپاسکال تهیه و به محیط‌کشت شاخساره‌های پرآوری شده اضافه شد. شاخساره‌ها بعد از چهار هفته برای داده‌برداری جمع‌آوری و صفات زیر اندازه‌گیری شدند.

**اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی:** برای تعیین شاخص پایداری غشای سلولی، ۰/۱ گرم از شاخساره‌های برداشت شده از هر تیمار، توزین و داخل دو گروه لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شدند. سپس هدایت الکتریکی یک گروه از نمونه‌ها، پس از ۳۰ دقیقه قرارگرفتن در بن‌ماری ۴۰ درجه سانتی‌گراد و گروه دیگر پس از ۱۰ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، به وسیله EC meter (مدل (Jenway, UK) اندازه‌گیری و سپس شاخص پایداری غشا (Membrane Stability Index) براساس رابطه (۱) محاسبه شد (Sairam et al., 2001).  
رابطه (۱):

$$MSI = 1 - C_1/C_2 \times 100$$

$C_1$  = هدایت الکتریکی اولیه

$C_2$  = هدایت الکتریکی ثانویه

آزمایشگاه علوم و مهندسی باغبانی منتقل شدند. در پژوهش حاضر به منظور ضدعفونی سطحی، ریز نمونه‌ها در ابتدا به مدت نیم ساعت زیر آب جاری قرار گرفتند و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محلول آب و مایع ظرفشویی بر روی شیکر قرار گرفتند سپس به زیر هود لامینار منتقل شدند و بعد از سه بار شستشو با آب مقطر درون هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شدند و بعد از سه بار شستشو درون اتانول ۷۰ درصد به مدت دو دقیقه غوطه‌ور شدند. پس از شستشو با آب مقطر به درون محیط‌کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی ویتامین‌های آلی و معدنی که با ۷/۵ گرم در لیتر آگار جامد شده بود، کشت شدند. هر لیتر از محیط‌کشت حاوی ۰/۱ گرم در لیتر میواینوزیتول و ۲۰ گرم در لیتر ساکارز بود. تمام شیشه‌های حاوی ریزنمونه به اتافک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی، ۱۶ ساعت روشنایی و رطوبت ۷۰ درصد منتقل شدند.

**تهیه محیط پرآوری و استقرار ثانویه:** مراحل تهیه محیط پرآوری همانند محیط MS بود با این تفاوت که به این محیط به جای کلات آهن اصلی (Na<sub>2</sub>EDTA)، ۱۳۰ میلی‌گرم بر لیتر کلات آهن تغییر یافته (EDDHA-Fe) اضافه شده بود. بعد از اتوکلاو شدن به زیر هود منتقل شده، هورمون بنزینیل آدنین (BA) به میزان ۳۶۰ میکروگرم بر لیتر و ایندول بوتیریک اسید (IBA) به میزان ۳۰ میکروگرم بر لیتر با استفاده از فیلتر صافی ۰/۲۲ میکرومتری (شرکت مرک) به محیط اتوکلاو شده اضافه شد و در هر شیشه کشت ۲۵ میلی‌لیتر محیط اضافه گردید تا

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی: برای سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شاخساره‌های تحت تنش، توسط ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم (pH=۷) حاوی یک مولار کلرید سدیم، یک درصد پلی‌ونیل پیرولیدین و یک میلی‌مولار EDTA بر روی یخ هموژنیزه و خرد شدند. سپس با دور ۲۰۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (مدل Z 216 MK, Germany) گردیده و محلول فوقانی که عصاره آنزیمی شاخساره‌های تنش یافته بود، جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم‌ها برداشت و برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) مورد استفاده قرار گرفت. سوپراکسید دیسموتاز از روش اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلو تترازولیم کلراید (NBT) اندازه‌گیری و در طول موج ۵۶۰ نانومتر میزان جذب آن خوانده شد (Gupta *et al.*, 1993). برای اندازه‌گیری فعالیت گایاکول پراکسیداز، میزان جذب واکنشی آنزیمی در طول موج ۴۷۰ نانومتر در زمان شروع واکنش و یک دقیقه پس از آن خوانده شد (Mencarelli *et al.*, 1995). سنجش فعالیت پلی‌فنل اکسیداز (PPO) با ۴-متیل کاتکول به‌عنوان سوبسترا مطابق با روش Zauberman و همکاران (۱۹۹۱) مورد سنجش قرار گرفت. سنجش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز توسط روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) صورت گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز جذب واکنش آنزیمی در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد (Yoshimura *et al.*, 2000). فعالیت کاتالاز طبق روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد.

به منظور تهیه محلول برادفورد ۰/۵ گرم کوماسی بلو همراه با ۲۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد مخلوط کرده و پس از عبور از کاغذ صافی در تاریکی مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از آن را برداشته و سپس مقدار ۲۰ میلی‌لیتر اسید ارتوفسفریک ۸۵ درصد اضافه کرده و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در این روش برای استخراج عصاره پروتئینی ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول برادفورد مخلوط کرده و در طول موج ۵۹۵ نانومتر در اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) خوانده شد (Bradford, 1976). میزان

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت، قطعات مساوی از برگ‌ها در هر تکرار را جدا کرده درون فالكون‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر انتقال داده و پس از ۳۰ ثانیه ورتکس نمونه‌ها، EC هر نمونه اندازه‌گیری شد (EC<sub>0</sub>). برای اندازه‌گیری EC اولیه (EC<sub>1</sub>) نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و میزان EC نمونه‌ها با دستگاه EC سنج دستی (مدل Jenway, UK) خوانده شد. در مرحله بعد، لوله‌های آزمایش حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و بعد از خنک شدن لوله‌ها مجدداً EC نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC<sub>2</sub>) و در نهایت درصد نشت یونی با رابطه (۲) محاسبه شد (Zhao *et al.*, 1992).

رابطه (۲)

$$\text{Electrolyte leakage} = [(EC_1 - EC_0) / (EC_2 - EC_0)] \times 100$$

برای اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی برگ (RWC)، از هر شاخساره یک برگ سالم تهیه و با ترازو وزن شد (FW). سپس برگ‌ها در پتری‌دیش حاوی آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در یخچال و دمای ۲ درجه سانتی‌گراد غوطه‌ور شدند. برگ‌ها دوباره وزن شد تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW)، برگ‌ها داخل پاکت گذاشته شدند و به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس وزن شدند. سپس محتوای رطوبت نسبی برگ براساس رابطه (۳) محاسبه شد (Babu *et al.*, 1999).

رابطه (۳)

$$RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

به منظور اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی از اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) استفاده و میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل *a*، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل *b* و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها خوانده و براساس رابطه (۴) محاسبه شدند (Arnon, 1949).

رابطه (۴)

$$\text{Chl } a = [12.7 (A663) - 2.69 (A645)] \times V/1000FW$$

$$\text{Chl } b = [22.9 (A645) - 4.68(A663)] \times V/1000FW$$

$$\text{Chl total} = [20.2 (A645) + 8.02(A663)] \times V/1000FW$$

$$\text{Car} = 100(A470) + 3.27(\text{mg Chl } a) - 104(\text{mg Chl } b)/227$$

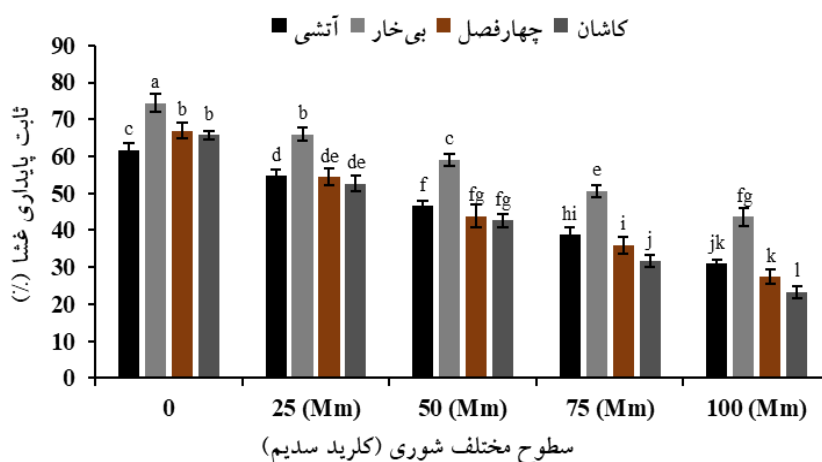
این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد که در آن اثر ژنوتیپ و شوری مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC ver 2.1 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد آنالیز و نمودارها با نرم‌افزار Office 2016 رسم شدند.

### نتایج و بحث

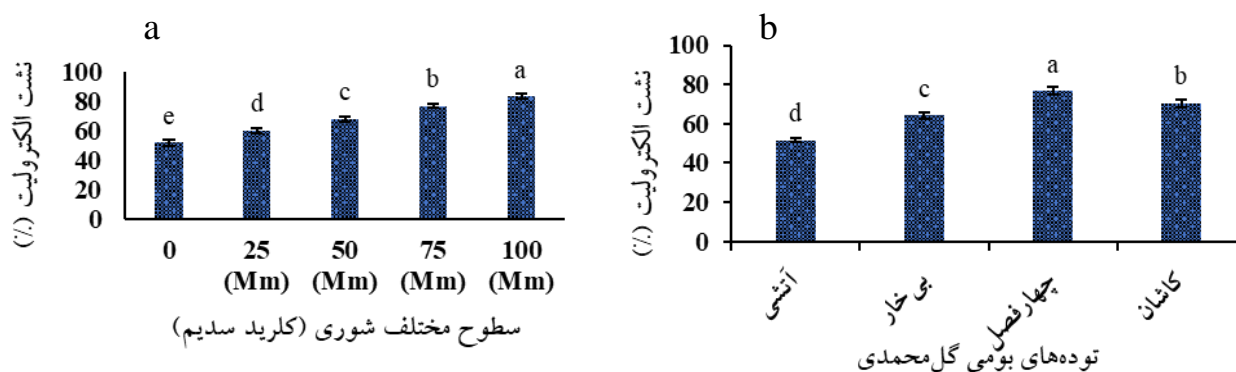
**صفات فیزیولوژیکی:** افزایش نشت الکترولیت با کاهش معنی‌دار در میزان ثابت پایداری غشا و محتوای رطوبت نسبی همراه بود. بیش‌ترین میزان ثابت پایداری غشا در توده بومی بی‌خار (۷۴/۴۶ درصد) در شاخساره‌های شاهد مشاهده و کم‌ترین میزان (۲۳/۳۳ درصد) آن مربوط به توده کاشان در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. توده کاشان بیش‌ترین (۲/۸۲ برابر) کاهش را نسبت به سایر توده‌های بومی و گیاهان شاهد داشت (شکل ۲). با توجه به شکل ۳a بیش‌ترین (۸۳/۴۲) میزان این نشت الکترولیت در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به دست آمد و کم‌ترین (۵۱/۷) میزان هم در شاخساره‌های شاهد مشاهده گردید. همچنین بیش‌ترین میزان این شاخص در توده چهار فصل مشاهده شد (شکل ۳b). بیش‌ترین میزان محتوای رطوبت نسبی برگ در گیاهان شاهد به دست آمد و کم‌ترین مقدار هم در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۴a). با توجه به شکل ۴b بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار محتوای رطوبت نسبی برگ به ترتیب در توده‌های آتشی و چهار فصل مشاهده گردید.

Stevens و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که حفظ یکپارچگی غشای سلولی در تحمل به شوری مهم است. ثابت پایداری غشا در این تحقیق زمانی که گیاهان در معرض تنش شوری قرار گرفتند کاهش یافت (شکل ۲). آسیب گسترده مشاهده شده در ۱۰۰ میلی‌مولار در مواجهه طولانی مدت می‌تواند ناشی از پتاسیل آبی باشد که در آن اسمولارسته محیط از شیریه گیاه پیشی می‌گیرد و باعث پژمردگی گیاه و از دست دادن آب می‌شود (Naik and Devaraj, 2016). بدون شک RWC یکی

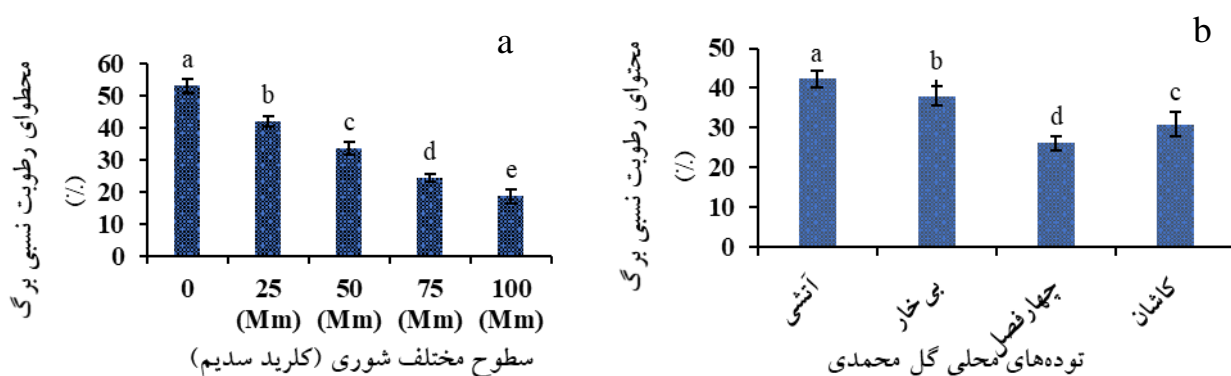
کربوهیدرات با استفاده از معرف آتروم در طول موج ۶۲۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) خوانده شد (Dubois et al., 1956). برای اندازه‌گیری مقدار پرولین ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی با استفاده از ازت مایع در هاون چینی خرد شده، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سولفو سالیسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه نموده و سانتیفریوژ (مدل Z 216 MK, Germany) شدند. مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را برداشته و درون لوله‌های شیشه‌ای ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده و نمونه‌ها را در حمام آب گرم به مدت یک ساعت حرارت داده و سپس درون حمام یخ قرار گرفتند. سپس مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و مقدار پرولین به وسیله اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد (Bates et al., 1973). برای اندازه‌گیری هیدروژن پراکسید، ۰/۵ گرم نمونه گیاهی با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱٪ تری‌کلرو استیک اسید (TCA) درون هاون چینی عصاره‌گیری شد. محلول به دست آمده سانتیفریوژ (مدل Z 216 MK, Germany) شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به میکروتیوب‌های جدید ریخته و ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (PH=۷) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) ۱ مولار به آن اضافه شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) در طول موج ۳۹۰ نانومتر جذب نمونه‌ها خوانده شد (Velikova et al., 2000). برای اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید مقدار ۰/۵ گرم از نمونه برگ تازه با ۱/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۱٪، در هاون له گردید. سپس نمونه‌های حاصل سانتیفریوژ (مدل Z 216 MK, Germany) شدند. پس از سانتیفریوژ به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول بالای یک میلی‌لیتر محلول اسید تیوباربیئوریک (TBA) که حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد است، اضافه گردید و نهایتاً میزان جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Heath and Packer, 1968).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری بر میزان شاخص پایداری غشا در چهار توده بومی گل محمدی تحت کشت درون شیشه‌ای. (میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهند).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر ساده تنش شوری بر (a) میزان نشست الکتروولت، (b) درصد نشست الکتروولت در توده‌های بومی گل محمدی تحت کشت درون شیشه‌ای. (میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهند).



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر ساده تنش شوری بر (a) میزان محتوای رطوبت نسبی، (b) درصد محتوای رطوبت نسبی در توده‌های بومی گل محمدی تحت کشت درون شیشه‌ای. (میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD تفاوت معنی داری نشان نمی‌دهند).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر میزان رنگیزه‌های فتوستتزی در چهار توده بومی گل محمدی تحت کشت درون شیشه‌ای

ژنوتیپ	سطح شوری (mM)	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل کل	کارتنوئید
آتشی	کنترل	۰/۷۳۵ ± ۰/۰۳۵ <sup>a</sup>	۰/۴۸۴ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۲۲ ± ۰/۰۹۲ <sup>a</sup>	۰/۴۶۸ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>
بی‌خار		۰/۵۹۴ ± ۰/۰۴۵ <sup>c</sup>	۰/۴۰۷ ± ۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۱/۰۰۲ ± ۰/۰۹ <sup>c</sup>	۰/۲۵۱ ± ۰/۰۲۶ <sup>g</sup>
چهارفصل		۰/۴۸۶ ± ۰/۰۵ <sup>d</sup>	۰/۲۸۳ ± ۰/۰۳۱ <sup>ef</sup>	۰/۷۷ ± ۰/۰۵۵ <sup>e</sup>	۰/۳۵۶ ± ۰/۰۴ <sup>d</sup>
کاشان		۰/۵۵ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۰/۳۵۵ ± ۰/۰۳ <sup>cd</sup>	۰/۹۰۵ ± ۰/۰۷ <sup>d</sup>	۰/۳۱۳ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>
آتشی	۲۵	۰/۶۵۷ ± ۰/۰۲۵ <sup>b</sup>	۰/۴۵۷ ± ۰/۰۳۵ <sup>ab</sup>	۱/۱۱۶ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۰/۴۲۳ ± ۰/۰۴۸ <sup>b</sup>
بی‌خار		۰/۴۹۲ ± ۰/۰۳ <sup>d</sup>	۰/۳۱۹ ± ۰/۰۴۶ <sup>de</sup>	۰/۸۱۱ ± ۰/۰۵ <sup>e</sup>	۰/۱۹۷ ± ۰/۰۱ <sup>i</sup>
چهارفصل		۰/۳۷۳ ± ۰/۰۲ <sup>e</sup>	۰/۲۰۶ ± ۰/۰۳۱ <sup>gh</sup>	۰/۵۷۹ ± ۰/۰۴۸ <sup>f</sup>	۰/۲۸۶ ± ۰/۰۲۵ <sup>f</sup>
کاشان		۰/۳۶۷ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>	۰/۲۳۲ ± ۰/۰۲۴ <sup>fg</sup>	۰/۵۹۹ ± ۰/۰۴ <sup>f</sup>	۰/۱۶۵ ± ۰/۰۱۵ <sup>h</sup>
آتشی	۵۰	۰/۵۴۷ ± ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۰/۳۹۲ ± ۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۰/۹۳۹ ± ۰/۰۸ <sup>d</sup>	۰/۳۷۳ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>
بی‌خار		۰/۳۷۹ ± ۰/۰۴ <sup>e</sup>	۰/۲۳۲ ± ۰/۰۳ <sup>fg</sup>	۰/۶۱۲ ± ۰/۰۵ <sup>f</sup>	۰/۱۳۵ ± ۰/۰۱ <sup>k</sup>
چهارفصل		۰/۲۰۸ ± ۰/۰۱۶ <sup>hi</sup>	۰/۱۵۷ ± ۰/۰۱۵ <sup>h-j</sup>	۰/۳۶۵ ± ۰/۰۳ <sup>i</sup>	۰/۲۳ ± ۰/۰۲ <sup>h</sup>
کاشان		۰/۲۶۱ ± ۰/۰۱۷ <sup>fg</sup>	۰/۱۶۱ ± ۰/۰۲۳ <sup>h-j</sup>	۰/۴۲۲ ± ۰/۰۴ <sup>h</sup>	۰/۱۲۷ ± ۰/۰۱ <sup>k</sup>
آتشی	۷۵	۰/۵۲ ± ۰/۰۲۱ <sup>d</sup>	۰/۳۰۹ ± ۰/۰۳ <sup>de</sup>	۰/۷۶۱ ± ۰/۰۶ <sup>e</sup>	۰/۳۲۶ ± ۰/۰۲۸ <sup>e</sup>
بی‌خار		۰/۲۹۹ ± ۰/۰۲۴ <sup>f</sup>	۰/۱۸ ± ۰/۰۱۱ <sup>g-i</sup>	۰/۴۷۹ ± ۰/۰۳ <sup>g</sup>	۰/۱۰۹ ± ۰/۰۱ <sup>l</sup>
چهارفصل		۰/۱۵۷ ± ۰/۰۳ <sup>i</sup>	۰/۱۱۴ ± ۰/۰۱۴ <sup>k</sup>	۰/۲۷۱ ± ۰/۰۲ <sup>j</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۱ <sup>kl</sup>
کاشان		۰/۱۷۱ ± ۰/۰۱ <sup>i</sup>	۰/۱۱۵ ± ۰/۰۱۸ <sup>l-k</sup>	۰/۲۸۶ ± ۰/۰۲ <sup>j</sup>	۰/۰۸۷ ± ۰/۰۰۵ <sup>m</sup>
آتشی	۱۰۰	۰/۳۷۱ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>	۰/۲۳۱ ± ۰/۰۳ <sup>fg</sup>	۰/۶۰۳ ± ۰/۰۴ <sup>f</sup>	۰/۲۷ ± ۰/۰۲ <sup>f</sup>
بی‌خار		۰/۲۲۷ ± ۰/۰۱۴ <sup>gh</sup>	۰/۱۱۶ ± ۰/۰۲ <sup>i-k</sup>	۰/۳۴۳ ± ۰/۰۲۵ <sup>i</sup>	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۱ <sup>m</sup>
چهارفصل		۰/۰۸۳ ± ۰/۰۰۸ <sup>j</sup>	۰/۰۵۴ ± ۰/۰۰۳ <sup>k</sup>	۰/۱۳۸ ± ۰/۰۱۵ <sup>k</sup>	۰/۰۶۷ ± ۰/۰۰۶ <sup>n</sup>
کاشان		۰/۱۰۳ ± ۰/۰۰۹ <sup>j</sup>	۰/۰۶۴ ± ۰/۰۰۳ <sup>k</sup>	۰/۱۶۷ ± ۰/۰۱۲ <sup>k</sup>	۰/۰۵۲ ± ۰/۰۰۵ <sup>n</sup>
		۰/۰۵۲	۰/۰۶۶	۰/۰۴۲	۰/۰۲۶
LSD (0.05)					

میانگین‌های دارای حرف مشترک برای ردیف دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD نمی‌باشند.

MSI شد و این کاهش با افزایش سطح شوری در همه توده‌های بومی گل محمدی تشدید شد.

**رنگیزه‌های فتوستتزی:** اثر منفی شوری بر رنگیزه‌های فتوستتزی در تمام نمونه‌های گیاه گل محمدی مشاهده شد. بیش‌ترین میزان کلروفیل *a* (۰/۷۳۵۳) میلی‌گرم بر گرم وزن تازه، کلروفیل *b* (۰/۴۸۴۷) میلی‌گرم بر گرم وزن تر) کلروفیل کل (۱/۲۲) میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) و کاروتنوئید (۰/۴۶۸) میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در شاخساره‌های شاهد توده آتشی حاصل شد. کم‌ترین میزان این رنگیزه‌ها در شوری ۱۰۰

از اولین صفات گیاهی است که تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد، زیرا تنش آبی اغلب زمانی رخ می‌دهد که گیاهان در معرض غلظت‌های بالای نمک در محلول خاک قرار گیرند (Kavas *et al.*, 2013). پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی یکی از مهم‌ترین نشانه‌های آسیب و نشت یونی در شرایط تنش شوری است که غشای سلولی آسیب می‌بیند و نفوذپذیری انتخابی غشا مختل می‌شود (Saed-Moucheshi *et al.*, 2015). تنش شوری باعث کاهش معنی‌داری در RWC و

پروتئین‌های تخصصی مورد نیاز برای تحمل شوری از طریق فعالسازی ABA آغاز می‌شود (Arefian et al., 2014). واکنش رادیکال‌های آزاد با پروتئین‌ها و تغییرات ناشی از آن در ساختار پروتئین، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده و کاهش تولید برخی از انواع اسیدهای آمینه آزاد را می‌توان از مهم‌ترین عوامل کاهش محتوای پروتئین در شرایط تنش نام برد (Saed-Moucheshi et al., 2014). Mousavi و همکاران (۲۰۲۰)، در گیاه سیب‌زمینی رقم آگریا (*Solanum tuberosum* L. cv. Agria) در کشت درون‌شیشه‌ای نشان دادند که با افزایش سطح شوری، میزان پروتئین کاهش می‌یابد و رابطه معکوس بین شوری و پروتئین گیاهی وجود دارد. در نتیجه کمترین میزان پروتئین در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در توده‌های بومی گل‌محمدی مشاهده شد. روند میزان کربوهیدرات کل تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار افزایشی بود و فقط در توده چهارفصل و در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار میزان این صفت کاهش یافت. توده آتشی با ۲/۶ برابر در مقایسه با شاخساره‌های شاهد بیش‌ترین میزان افزایش را تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در میزان کربوهیدرات کل نشان داد (جدول ۲). مطالعات بیانگر این است که فندها با برهمکنش با فسفولیپیدها، غشای پلاسمایی را در طول تنش گیاه تثبیت می‌کنند. تحت تنش شوری، تجمع بیشتر کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها ممکن است به تنظیم اسمزی برگ کمک کند (Ali et al., 2018). میزان تجمع کربوهیدرات در میان گونه‌های مقاوم به شوری متفاوت است (Conde et al., 2011). غلظت بالای کلرید می‌تواند باعث افزایش سطح کربوهیدرات در بافت‌های گیاهی یا تخریب نشاسته در گونه‌های حساس شود، درحالی‌که گونه‌های متحمل به شوری تجمع نشاسته کمتری دارند (Maathuis et al., 2014). میزان پرولین در همه توده‌های بومی گل‌محمدی افزایش یافت ولی بیش‌ترین میزان (۴۲/۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر) آن در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در توده آتشی و کم‌ترین میزان آن (۴/۳۹۵ میکرومول بر گرم وزن تازه) در شاخساره‌های شاهد توده کاشان مشاهده شد (جدول ۲). تجمع اسمولیت‌ها، به ویژه پرولین، یک پدیده رایج در گیاهان است. علاوه بر نقش

میلی‌مولار و در توده‌های کاشان و چهار فصل مشاهده شد. در بین این توده‌های بومی، توده آتشی کم‌ترین کاهش رنگیزه‌های فتوستتزی را داشت (جدول ۱).

ثابت شده است که محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها شاخص‌های مهمی از شدت تنش اسمزی مؤثر بر گیاهان هستند (Darko et al., 2019). تنش شوری مانند بسیاری از تنش‌های غیرزیستی باعث تولید ROS می‌گردد که گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) باعث آسیب به غشا و ماکرومولکول‌های ضروری دیگر مثل رنگیزه‌های فتوستتزی، پروتئین، DNA و لیپیدها می‌شود (Chernane et al., 2015). کلرید سدیم سبب تخریب کلروفیل موجود در کلروپلاست از طریق آنزیم کلروفیل‌از در شرایط تنش می‌شود. افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از به دلیل افزایش تولید اتیلن در شرایط تنش است (Khan, 2003). کاروتنوئیدها دارای دو وظیفه اصلی در فتوستتزی، محافظت کلروپلاست از اکسیداتیو نوری به عنوان رنگیزه کمکی و نقش آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی در مقابل تنش‌های اکسیداتیو هستند. کاروتنوئیدها از طریق چرخه زانتوفیل و اکسیداسیون از کلروفیل در برابر فتواکسیداسیون محافظت می‌کنند (Mane et al., 2010).

#### صفات بیوشیمیایی: نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)

نشان داد که برهمکنش بین تنش شوری و توده‌های بومی گل‌محمدی بر روی اسمولیت‌ها و بیومارکرهای اکسیداتیو در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بطوریکه میزان پروتئین تا شوری ۲۵ میلی‌مولار در هر چهار توده بومی گل‌محمدی (آتشی، بی‌خار، چهارفصل و کاشان) افزایش یافت و سپس روند آن کاهش شد. بیش‌ترین میزان پروتئین محلول کل (۱/۸۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در شوری ۲۵ میلی‌مولار در توده بومی آتشی و کم‌ترین میزان آن در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار (۰/۳۵۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) در توده بومی چهارفصل حاصل شد (جدول ۲).

گیاهان زمانی که در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند واکنشی دوگانه به الگوهای پروتئینی دارند. تنش شوری غلظت کلی پروتئین را کاهش می‌دهد درحالی‌که همزمان سنتز سایر



جدول ۲- جدول مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر صفات بیوشیمیایی در چهار توده بومی گل محمدی تحت کشت درون شیشه‌ای

ژنوتیپ	سطح شوری (mM)	پروتئین محلول کل (mg g <sup>-1</sup> FW)	کربوهیدرات (mg g <sup>-1</sup> FW)	پروکلین	هیدروژن پراکسید (μg L <sup>-1</sup> )	مالون دی‌آلدئید (μmol g <sup>-1</sup> Fw)
آتشی	۱/۵۸ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۵/۷۲ ± ۰/۶ <sup>h</sup>	۱۵/۳۷ ± ۱/۰۳ <sup>g</sup>	۱۵/۳۷ ± ۱/۰۳ <sup>g</sup>	۱/۹۱ ± ۰/۳۸ <sup>m</sup>	۱/۲۳ ± ۰/۲ <sup>o</sup>
بی‌خار	۱/۴۲ ± ۰/۰۹ <sup>e</sup>	۴/۶۸ ± ۰/۵۷ <sup>i</sup>	۱۲/۵۳ ± ۰/۹۴ <sup>ij</sup>	۱۲/۵۳ ± ۰/۹۴ <sup>ij</sup>	۱/۷۲ ± ۰/۳۵ <sup>n</sup>	۱/۰۰۵ ± ۰/۰۸ <sup>p</sup>
چهارفصل	۰/۹۱ ± ۰/۰۸ <sup>g</sup>	۲/۷۵ ± ۰/۴۸ <sup>m</sup>	۷/۳۱ ± ۰/۷۸ <sup>m</sup>	۷/۳۱ ± ۰/۷۸ <sup>m</sup>	۲/۱۱۵ ± ۰/۴۲ <sup>l</sup>	۲/۰۶ ± ۰/۲۲ <sup>l</sup>
کاشان	۱/۰۸ ± ۰/۰۸ <sup>f</sup>	۳/۷۹ ± ۰/۵۲ <sup>k</sup>	۴/۸۷ ± ۰/۵ <sup>o</sup>	۴/۸۷ ± ۰/۵ <sup>o</sup>	۱/۸۸ ± ۰/۳۶ <sup>m</sup>	۴/۵۳ ± ۰/۶۳ <sup>f</sup>
آتشی	۱/۸۲ ± ۰/۴ <sup>a</sup>	۶/۷ ± ۰/۶۵ <sup>g</sup>	۲۱/۲ ± ۱/۰۸ <sup>e</sup>	۲۱/۲ ± ۱/۰۸ <sup>e</sup>	۲/۲ ± ۰/۴۵ <sup>kl</sup>	۱/۷۴ ± ۰/۲۵ <sup>m</sup>
بی‌خار	۱/۶۲ ± ۰/۳۲ <sup>b</sup>	۶/۵ ± ۰/۶ <sup>g</sup>	۱۴/۴ ± ۰/۹۲ <sup>gh</sup>	۱۴/۴ ± ۰/۹۲ <sup>gh</sup>	۲/۰۷۸ ± ۰/۴ <sup>l</sup>	۱/۵۴ ± ۰/۱۵ <sup>n</sup>
چهارفصل	۱/۲۲ ± ۰/۱ <sup>e</sup>	۳/۵۸ ± ۰/۵۸ <sup>k</sup>	۹/۱۳۶ ± ۰/۸۴ <sup>l</sup>	۹/۱۳۶ ± ۰/۸۴ <sup>l</sup>	۲/۵۲۳ ± ۰/۳۲ <sup>j</sup>	۲/۷۳ ± ۰/۱۸ <sup>j</sup>
کاشان	۱/۳۲ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	۵/۳ ± ۰/۶ <sup>i</sup>	۶/۰۶۴ ± ۰/۵۳ <sup>n</sup>	۶/۰۶۴ ± ۰/۵۳ <sup>n</sup>	۲/۲۵۴ ± ۰/۲۵ <sup>k</sup>	۵/۳۳ ± ۰/۴۸ <sup>d</sup>
آتشی	۱/۳۹ ± ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۹/۳۷ ± ۰/۸ <sup>c</sup>	۲۴/۱۵ ± ۱/۱۵ <sup>d</sup>	۲۴/۱۵ ± ۱/۱۵ <sup>d</sup>	۲/۵۸ ± ۰/۴۳ <sup>j</sup>	۲/۶۶ ± ۰/۳۳ <sup>j</sup>
بی‌خار	۱/۲۳ ± ۰/۰۶۵ <sup>e</sup>	۸/۸ ± ۰/۷ <sup>d</sup>	۱۸/۱۵ ± ۱/۰۱ <sup>f</sup>	۱۸/۱۵ ± ۱/۰۱ <sup>f</sup>	۲/۸۵ ± ۰/۴۸ <sup>i</sup>	۲/۴۸ ± ۰/۳ <sup>k</sup>
چهارفصل	۰/۶۳ ± ۰/۰۴۲ <sup>i</sup>	۵/۰۸ ± ۰/۶۷ <sup>i</sup>	۱۱/۶ ± ۰/۸ <sup>j</sup>	۱۱/۶ ± ۰/۸ <sup>j</sup>	۳/۶۴ ± ۰/۵۲ <sup>g</sup>	۳/۲۷ ± ۰/۴ <sup>i</sup>
کاشان	۰/۸۱ ± ۰/۰۷۲ <sup>h</sup>	۷/۲۸ ± ۰/۷۴ <sup>f</sup>	۸/۴۵ ± ۰/۷ <sup>lm</sup>	۸/۴۵ ± ۰/۷ <sup>lm</sup>	۳/۰۵۸ ± ۰/۵ <sup>h</sup>	۵/۹۲ ± ۰/۵۵ <sup>c</sup>
آتشی	۱/۲۳ ± ۰/۰۹ <sup>e</sup>	۱۰/۷ ± ۰/۹ <sup>b</sup>	۳۶/۸۴ ± ۱/۳۲ <sup>b</sup>	۳۶/۸۴ ± ۱/۳۲ <sup>b</sup>	۳/۵۳ ± ۰/۵۳ <sup>g</sup>	۳/۲ ± ۰/۲۶ <sup>i</sup>
بی‌خار	۱/۱ ± ۰/۰۸۵ <sup>f</sup>	۹/۲ ± ۰/۸۴ <sup>c</sup>	۲۰/۶۶ ± ۱/۰۵ <sup>e</sup>	۲۰/۶۶ ± ۱/۰۵ <sup>e</sup>	۳/۹ ± ۰/۲۳ <sup>f</sup>	۳/۲۷ ± ۰/۲۲ <sup>i</sup>
چهارفصل	۰/۴۸ ± ۰/۰۳ <sup>j</sup>	۳/۱ ± ۰/۴۵ <sup>l</sup>	۱۳/۷۲ ± ۰/۸ <sup>h</sup>	۱۳/۷۲ ± ۰/۸ <sup>h</sup>	۴/۶۳ ± ۰/۶ <sup>c</sup>	۴/۶۸ ± ۰/۴۸ <sup>e</sup>
کاشان	۰/۶۳ ± ۰/۰۴ <sup>i</sup>	۸/۳ ± ۰/۷ <sup>e</sup>	۱۰/۳ ± ۰/۷۲ <sup>k</sup>	۱۰/۳ ± ۰/۷۲ <sup>k</sup>	۴/۰۸ ± ۰/۵۳ <sup>c</sup>	۶/۸۶ ± ۰/۷ <sup>b</sup>
آتشی	۱/۱۳ ± ۰/۱ <sup>f</sup>	۱۵/۱ ± ۰/۹۷ <sup>a</sup>	۴۲/۶۶ ± ۱/۴ <sup>a</sup>	۴۲/۶۶ ± ۱/۴ <sup>a</sup>	۴/۰۶ ± ۰/۶۲ <sup>e</sup>	۳/۶۴ ± ۰/۲۵ <sup>h</sup>
بی‌خار	۰/۹۳ ± ۰/۰۷ <sup>g</sup>	۱۰/۸۵ ± ۰/۸۸ <sup>b</sup>	۲۵/۴۲ ± ۱/۱ <sup>c</sup>	۲۵/۴۲ ± ۱/۱ <sup>c</sup>	۴/۴۲ ± ۰/۳۲ <sup>d</sup>	۳/۸۲ ± ۰/۳۴ <sup>g</sup>
چهارفصل	۰/۳۵ ± ۰/۰۲۲ <sup>k</sup>	۲/۲۸ ± ۰/۲ <sup>n</sup>	۱۷/۹ ± ۱/۰۲ <sup>f</sup>	۱۷/۹ ± ۱/۰۲ <sup>f</sup>	۵/۳۵ ± ۰/۶۶ <sup>a</sup>	۵/۴۲ ± ۰/۴۵ <sup>d</sup>
کاشان	۰/۵۰۲ ± ۰/۰۳ <sup>j</sup>	۹/۲۲ ± ۰/۸۲ <sup>c</sup>	۱۳/۲۶ ± ۰/۹۶ <sup>hi</sup>	۱۳/۲۶ ± ۰/۹۶ <sup>hi</sup>	۴/۸۷ ± ۰/۴۳ <sup>b</sup>	۸/۱۳ ± ۰/۷۳ <sup>a</sup>
LSD (0.05)						

میانگین‌های دارای حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD نمی‌باشند.

توده‌های بومی بی‌خار و کاشان به ترتیب با ۲/۱ و ۲/۶ برابر کم‌ترین و بیش‌ترین کاهش را در میزان پراکسید هیدروژن داشتند (جدول ۲). آسیب به غشای سلولی ناشی از تنش شوری، می‌تواند تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال سوپراکسید ( $O_2^{\cdot-}$ )، پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال هیدروکسیل را تحریک کند (Demiral and Turkan, 2005). مالون دی‌آلدئید را افزایش داد. میزان مالون دی‌آلدئید با افزایش سطح کلرید سدیم به ۱۰۰ میلی‌مولار در توده‌های بومی آتشی،

اسمولیت، پروکلین به حذف ROS، تثبیت ساختارهای درون سلولی، تعدیل هموستاز سلولی، تأمین انرژی و عملکرد به عنوان سیگنال کمک می‌کند (Sharma et al., 2011). بیش‌ترین میزان پراکسید هیدروژن (۵/۳۵۸ میکروگرم بر لیتر) در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در توده بومی چهارفصل مشاهده گردید و کم‌ترین میزان آن (۱/۷۲۲ میکروگرم بر لیتر) هم در شاخساره‌های شاهد توده بی‌خار حاصل شد. و از نظر فیزیولوژی گیاهی،  $H_2O_2$  مضرترین رادیکال اکسیژن فعال است (Aliniaiefard et al., 2016). تنش شوری میزان

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در چهار توده بومی گل محمدی تحت کشت درون-شیشه‌ای

کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز	گایاکول پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	سطح شوری		
						ژنوتیپ	(mM)	
(Unit mg <sup>-1</sup> protein)								
۰/۴۲ ± ۰/۰۲ <sup>ij</sup>	۰/۰۶۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>f-h</sup>	۰/۲۲ ± ۰/۰۱۹ <sup>hi</sup>	۰/۰۷۶ ± ۰/۰۰۷ <sup>fg</sup>	۰/۷۸ ± ۰/۰۳۷ <sup>h</sup>	۰/۹۲ ± ۰/۰۰۶ <sup>e</sup>	آتشی		
۰/۳۳ ± ۰/۰۱۵ <sup>kl</sup>	۰/۰۳۷ ± ۰/۰۰۱ <sup>j-l</sup>	۰/۱۵ ± ۰/۰۱۴ <sup>ij</sup>	۰/۰۲۹ ± ۰/۰۰۲ <sup>lm</sup>	۰/۶۵ ± ۰/۰۲۵ <sup>i</sup>	۰/۸۱ ± ۰/۰۵۵ <sup>g</sup>	کنترل	بی‌خار	
۰/۲۳ ± ۰/۰۱۲ <sup>m</sup>	۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۱ <sup>m</sup>	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۰۱ <sup>l</sup>	۰/۰۲۱ ± ۰/۰۰۱ <sup>m</sup>	۰/۳۸ ± ۰/۰۱۵ <sup>l</sup>	۰/۴۴ ± ۰/۰۳۶ <sup>k</sup>	چهارفصل	چهارفصل	
۰/۳۱ ± ۰/۰۱۹ <sup>l</sup>	۰/۰۰۳ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>k-m</sup>	۰/۰۹۸ ± ۰/۰۱۳ <sup>kl</sup>	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۰۱ <sup>lm</sup>	۰/۵۷ ± ۰/۰۰۳ <sup>k</sup>	۰/۷۳ ± ۰/۰۰۵ <sup>h</sup>	کاشان	کاشان	
۰/۶۲ ± ۰/۰۲۲ <sup>g</sup>	۰/۰۷۵ ± ۰/۰۰۲ <sup>ef</sup>	۰/۳۵ ± ۰/۰۰۲ <sup>g</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۰۰۶ <sup>d</sup>	۰/۹۳ ± ۰/۰۰۶ <sup>f</sup>	۱/۰۸ ± ۰/۰۰۷ <sup>۸d</sup>	آتشی		
۰/۴۵ ± ۰/۰۱۸ <sup>i</sup>	۰/۰۵۲ ± ۰/۰۰۲ <sup>h-j</sup>	۰/۱۹ ± ۰/۰۱۶ <sup>h-j</sup>	۰/۰۳۹ ± ۰/۰۰۲ <sup>i-k</sup>	۰/۸۵ ± ۰/۰۰۶ <sup>۵g</sup>	۰/۹۵ ± ۰/۰۰۷ <sup>۲e</sup>	۲۵	بی‌خار	
۰/۳۸ ± ۰/۰۱۷ <sup>jk</sup>	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۰۱ <sup>lm</sup>	۰/۱۳ ± ۰/۰۱۱ <sup>jk</sup>	۰/۰۲۷ ± ۰/۰۰۱ <sup>k-m</sup>	۰/۵۴ ± ۰/۰۰۲ <sup>k</sup>	۰/۴۵ ± ۰/۰۰۳ <sup>۲k</sup>	چهارفصل	چهارفصل	
۰/۴۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>i</sup>	۰/۰۴۵ ± ۰/۰۰۲ <sup>i-k</sup>	۰/۱۶ ± ۰/۰۱۳ <sup>ij</sup>	۰/۰۳۴ ± ۰/۰۰۲ <sup>j-l</sup>	۰/۷۲ ± ۰/۰۰۴ <sup>i</sup>	۰/۸۶ ± ۰/۰۰۶ <sup>۵f</sup>	کاشان	کاشان	
۰/۷۸ ± ۰/۰۱۸ <sup>ef</sup>	۰/۰۹۲ ± ۰/۰۰۰۳ <sup>d</sup>	۰/۵۱ ± ۰/۰۱۱ <sup>d</sup>	۰/۱۹ ± ۰/۰۰۰۹ <sup>c</sup>	۱/۲۶ ± ۰/۰۰۸ <sup>c</sup>	۱/۲۶ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	آتشی		
۰/۶۱ ± ۰/۰۲۲ <sup>g</sup>	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>e-g</sup>	۰/۴۳ ± ۰/۰۱۵ <sup>ef</sup>	۰/۰۶۳ ± ۰/۰۰۰۳ <sup>gh</sup>	۱/۰۸ ± ۰/۰۰۷ <sup>۲e</sup>	۱/۰۹ ± ۰/۰۰۸ <sup>d</sup>	۵۰	بی‌خار	
۰/۵۲ ± ۰/۰۰۲ <sup>h</sup>	۰/۰۴۳ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>i-l</sup>	۰/۲۴ ± ۰/۰۱۸ <sup>h</sup>	۰/۰۴۶ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>ij</sup>	۰/۶۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>۶j</sup>	۰/۵۷ ± ۰/۰۰۳ <sup>۲j</sup>	چهارفصل	چهارفصل	
۰/۶۰۱ ± ۰/۰۲۷ <sup>g</sup>	۰/۰۶۸ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>f-h</sup>	۰/۳۴ ± ۰/۰۰۲ <sup>g</sup>	۰/۰۵۱ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>hi</sup>	۰/۸۴ ± ۰/۰۰۵ <sup>g</sup>	۰/۹۳ ± ۰/۰۰۶ <sup>۲e</sup>	کاشان	کاشان	
۱/۰۸ ± ۰/۰۲۵ <sup>b</sup>	۰/۱۶ ± ۰/۰۱۲ <sup>b</sup>	۰/۷۴ ± ۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۰/۲۸ ± ۰/۰۱۵ <sup>b</sup>	۱/۶۶ ± ۰/۰۰۸ <sup>b</sup>	۱/۴۲ ± ۰/۰۱۵ <sup>b</sup>	آتشی		
۰/۸۵ ± ۰/۰۰۳ <sup>d</sup>	۰/۰۸۹ ± ۰/۰۰۰۳ <sup>de</sup>	۰/۶۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>۵c</sup>	۰/۱۲ ± ۰/۰۰۰۷ <sup>d</sup>	۱/۳ ± ۰/۰۰۷ <sup>۳c</sup>	۱/۲۳ ± ۰/۰۰۰ <sup>c</sup>	۷۵	بی‌خار	
۰/۶۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>۵g</sup>	۰/۰۵۸ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>g-i</sup>	۰/۳۵ ± ۰/۰۰۲ <sup>۱fg</sup>	۰/۰۷ ± ۰/۰۰۰۴ <sup>g</sup>	۰/۷۵ ± ۰/۰۰۳ <sup>۵hi</sup>	۰/۶۶ ± ۰/۰۰۳ <sup>i</sup>	چهارفصل	چهارفصل	
۰/۸۰۳ ± ۰/۰۰۲ <sup>۳e</sup>	۰/۰۸۵ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>de</sup>	۰/۵۰۸ ± ۰/۰۱۶ <sup>d</sup>	۰/۰۷۸ ± ۰/۰۰۰۴ <sup>fg</sup>	۱/۰۳ ± ۰/۰۰۶ <sup>۵e</sup>	۱/۰۷ ± ۰/۰۰۶ <sup>۲d</sup>	کاشان	کاشان	
۱/۳۴۳ ± ۰/۰۰۳ <sup>a</sup>	۰/۲۹ ± ۰/۰۰۲ <sup>۳a</sup>	۰/۹۲ ± ۰/۰۰۴ <sup>a</sup>	۰/۳۸ ± ۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	۲/۰۲ ± ۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	۱/۹۵ ± ۰/۰۰۲ <sup>a</sup>	آتشی		
۱/۱۲ ± ۰/۰۰۳ <sup>۲b</sup>	۰/۱۳ ± ۰/۰۰۱ <sup>۷c</sup>	۰/۷۶ ± ۰/۰۰۱ <sup>۶b</sup>	۰/۱۸ ± ۰/۰۰۰۸ <sup>c</sup>	۱/۶۱ ± ۰/۰۱۲ <sup>b</sup>	۱/۳۹ ± ۰/۰۰۹ <sup>۵b</sup>	۱۰۰	بی‌خار	
۰/۷۴ ± ۰/۰۰۱ <sup>f</sup>	۰/۰۷۴ ± ۰/۰۰۰۲ <sup>e-g</sup>	۰/۴۷ ± ۰/۰۰۲ <sup>۴de</sup>	۰/۰۹۱ ± ۰/۰۰۰۷ <sup>ef</sup>	۰/۸۴ ± ۰/۰۰۵ <sup>g</sup>	۰/۷۳ ± ۰/۰۰۳ <sup>۵h</sup>	چهارفصل	چهارفصل	
۰/۹۳ ± ۰/۰۰۳ <sup>۴c</sup>	۰/۰۹۸ ± ۰/۰۰۰۱ <sup>d</sup>	۰/۶۲ ± ۰/۰۰۱ <sup>۹c</sup>	۰/۱۰۱ ± ۰/۰۰۰۸ <sup>e</sup>	۱/۱۹ ± ۰/۰۰۹ <sup>۲d</sup>	۱/۲۱ ± ۰/۰۰۷ <sup>۵c</sup>	کاشان	کاشان	
۰/۰۴۳	۰/۰۱۲	۰/۰۶۳	۰/۰۱۶	۰/۰۵۱	۰/۰۵۶	LSD (0.05)		

میانگین‌های دارای حرف مشترک دارای اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD نمی‌باشند.

می‌دهد که چه میزان آسیب اکسیداتیو ممکن است تحت تنش ایجاد شود (Wang *et al.*, 2016). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش بین تنش شوری و توده‌های بومی گل‌محمدی بر روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بطوریکه با افزایش شوری میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه توده‌های بومی افزایش یافت. توده بومی آتشی دارای

بی‌خار، چهارفصل و کاشان به ترتیب به اندازه ۲/۹، ۳/۷، ۲/۶ و ۱/۸ برابر افزایش نشان داد (جدول ۲). مالون دی‌آلدئید (MDA) که محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشا ناشی از ROS است، به‌طورکلی نشانگر میزان آسیب غشای سلولی در گیاهان تحت تنش است (Wu *et al.*, 2017). افزایش محتوای MDA (در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی) در شرایط شوری نشان



شکل ۵- مقایسه توده‌های بومی گل محمدی در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار، ۲۸ روز بعد از تنش

آنزیم‌های *POX*، *SOD*، *PPO*، *CAT*، *GPX* و *APX* به‌طور قابل‌توجهی در شرایط شوری تحریک شدند (جدول ۳). افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط درون‌شیشه‌ای ممکن است نشان دهد که غربالگری در شرایط درون‌شیشه‌ای شرایط بهتری را برای مطالعه و سازگاری با تنش فراهم می‌کند (Ghalkhani *et al.*, 2020) همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود غربالگری درون شیشه‌ای میزان تحمل توده‌های بومی مختلف را بطور کامل به تصویر کشیده است. بر این اساس و با توجه به نتایج حاصل از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلف، میزان تحمل توده آتشی نسبت به شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بیشتر از بی‌خار بوده و توده‌های کاشان و چهارفصل در ردیف‌های بعدی قرار دارند.

### نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد تنش شوری موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های توده‌های بومی گل محمدی (آتشی، بی‌خار، چهارفصل و کاشان) شد. البته در بین توده‌های گل محمدی توده آتشی دارای بالاترین میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های سازگار بود و توده چهارفصل کم‌ترین میزان را دارا بود. نتایج صفات فیزیولوژیکی نشان داد شوری بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی تأثیر منفی گذاشت. توده آتشی دارای بالاترین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بود. از سوی دیگر میزان تخریب لپیدهای غشا که با شاخص زیستی مالون دی‌آلدئید اندازه‌گیری شد، در نتیجه تنش افزایش یافت. این امر

بیش‌ترین (۱/۸۹۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بود و توده بومی چهارفصل کم‌ترین (۴۴/۰۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) میزان این آنزیم را در شاخساره‌های شاهد دارا بود (جدول ۳). با توجه به جدول ۳ توده بومی آتشی بیش‌ترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (*POX*، *SOD*، *PPO*، *CAT*، *GPX* و *APX*) را در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار دارا بود. کم‌ترین میزان آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز در توده چهارفصل شاخساره‌های شاهد (کنترل) مشاهده گردید. بیش‌ترین میزان افزایش در آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار به ترتیب با ۲/۵ و ۴/۷ برابر نسبت به شاخساره‌های شاهد توده آتشی داشت و توده بی‌خار بیش‌ترین میزان افزایش در آنزیم‌های پلی‌فنول اکسیداز و کاتالاز تا شوری ۱۰۰ میلی‌مولار با ۶ و ۳/۳ برابر نسبت به شاخساره‌های شاهد داشت. افزایش فعالیت آنزیم‌ها نشان‌دهنده پاسخ دفاعی به آسیب بافت ناشی از کلرید سدیم در محیط کشت است. نتایج مشابهی در مطالعه‌ای بر روی سیب در شرایط درون‌شیشه‌ای گزارش شده است (Molassiotis *et al.*, 2006). در شرایط پایدار، ROS از طریق سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف سم‌زدایی می‌شود. تعادل بین تولید و سم‌زدایی ROS ممکن است توسط تنش‌های محیطی مختلف مختل شود. این اختلالات در تعادل باعث افزایش سریع غلظت درون سلولی ROS می‌شود که می‌تواند بر ساختار سلولی تأثیر بگذارد (Ashraf, 2009). در مطالعه حاضر، فعالیت

آنتی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در برابر تنش شوری مطلوب‌ترین و متحمل‌ترین توده با بالاترین سطح بهینه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های سازگار و نیز غلظت زیاد پروتئین محلول کل شناسایی شد.

نشان‌دهنده میزان تنش شدید وارده به توده‌های بومی گل محمدی است. به نظر می‌رسد علیرغم تنش شدید وارد شده به توده‌های بومی گل محمدی، مکانیزم‌های دخیل در مقاومت به تنش در این نمونه‌ها به خوبی عمل نموده‌اند و مکانیزم‌های محافظت اسمزی و آنتی‌اکسیدانی از مرگ و زوال ریزنمونه‌ها جلوگیری به عمل آورده‌اند. همچنین مشخص گردید توده

## منابع

- Abd El-Gawad, H. G., Mukherjee, S., Farag, R., Abd Elbar, O. H., Hikal, M., Abou El-Yazied, A., ... & Ibrahim, M. F. (2021). Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)-induced signaling events and field performance associated with mitigation of drought stress in *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Signaling and Behavior*, 16(2), 1853384. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1853384>.
- Ahanger, M. A., & Agarwal, R. M. (2017). Salinity stress induced alterations in antioxidant metabolism and nitrogen assimilation in wheat (*Triticum aestivum* L.) as influenced by potassium supplementation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 115, 449-460. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.017>.
- Ali, E. F., Bazaid, S. A., & Hassan, F. (2014). Salinity tolerance of Taif roses by gibberellic acid (GA3). *International Journal of Science and Research*, 3(11), 184-192.
- Ali, S. H. A. H. I. D., Khan, N., Nouroz, F. A. I. S. A. L., Erum, S., & Nasim, W. A. J. I. D. (2018). Effects of sucrose and growth regulators on the microtuberization of cip potato (*Solanum tuberosum*) germplasm. *Pakistan Journal of Botany*, 1, 763-768.
- Aliniaiefard, S., Hajilou, J., & Tabatabaei, S. J. (2016). Photosynthetic and growth responses of olive to proline and salicylic acid under salinity condition. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 44(2), 579-585. <https://doi.org/10.15835/nbha44210413>.
- Arefian, M., Vessal, S., & Bagheri, A. (2014). Biochemical changes in response to salinity in chickpea (*Cicer arietinum* L.) during early stages of seedling growth. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 24, 1849-1857.
- Arnon, I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>.
- Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, 27(1), 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>.
- Babu, R. C., Pathan, M. S., Blum, A., & Nguyen, H. T. (1999). Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Science*, 39(1), 150-158. <https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X003900010024x>.
- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>.
- Bin-Jumah, M., Abdel-Fattah, A. F. M., Saied, E. M., El-Seedi, H. R., & Abdel-Daim, M. M. (2021). Acrylamide-induced peripheral neuropathy: Manifestations, mechanisms, and potential treatment modalities. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 13031-13046. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12287-6>.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Chernane, H., Latique, S., Mansori, M., & El Kaoua, M. (2015). Salt stress tolerance and antioxidative mechanisms in wheat plants (*Triticum durum* L.) by seaweed extracts application. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 8, 36-44. <https://doi.org/10.9790/2380-08313644>.
- Conde, A., Chaves, M. M., & Geros, H. (2011). Membrane transport, sensing and signaling in plant adaptation to environmental stress. *Plant and Cell Physiology*, 52(9), 1583-1602. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr107>.
- Darko, E., Vegh, B., Khalil, R., Marcek, T., Szalai, G., Pal, M., & Janda, T. (2019). Metabolic responses of wheat seedlings to osmotic stress induced by various osmolytes under iso-osmotic conditions. *PLoS One*, 14(12), 0226151. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226151>.
- Demiral, T., & Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53(3), 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.03.017>.

- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. A. M. E. L. A., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. <https://doi.org/10.1093/jxb/32.1.93>.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Ercisli, S. (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry*, 104(4), 1379-1384. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.053>.
- Ghalkhani, E., Hassanpour, H., & Niknam, V. (2020). Sinusoidal vibration alleviates salt stress by induction of antioxidative enzymes and anatomical changes in *Mentha pulegium* (L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-3017-4>.
- Gupta, A. S., Webb, R. P., Holaday, A. S., & Allen, R. D. (1993). Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress (induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase-overexpressing plants). *Plant Physiology*, 103(4), 1067-1073. <https://doi.org/10.1104/pp.103.4.1067>.
- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1).
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315-319. <https://doi.org/10.1104/pp.57.2.315>.
- Kavas, M., Baloglu, M. C., Akca, O., Kose, F. S., & Gokçay, D. (2013). Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. *Turkish Journal of Biology*, 37(4), 491-498. <https://doi.org/10.3906/biy-1210-55>.
- Khan, N. A. (2003). NaCl-inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat. *Biologia Plantarum*, 47(3), 437-440. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000023890.01126.43>.
- Krishnamurthy, A., & Rathinasabapathi, B. (2013). Oxidative stress tolerance in plants: Novel interplay between auxin and reactive oxygen species signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 8(10), e25761. <https://doi.org/10.4161/psb.25761>.
- Kruglova, N. N., Titova, G. E., & Seldimirova, O. A. (2018). Callusogenesis as an in vitro morphogenesis pathway in cereals. *Russian Journal of Developmental Biology*, 49, 245-259. <https://doi.org/10.1134/S106236041805003X>.
- Kumar, R., Sharma, S., Sood, S., Agnihotri, V. K., & Singh, B. (2013). Effect of diurnal variability and storage conditions on essential oil content and quality of damask rose (*Rosa damascena* Mill.) flowers in north western Himalayas. *Scientia Horticulturae*, 154, 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.002>.
- Maathuis, F. J., Ahmad, I., & Patishtan, J. (2014). Regulation of Na<sup>+</sup> fluxes in plants. *Frontiers in Plant Science*, 5, 467. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00467>.
- Mane, A. V., Karadge, B. A., & Samant, J. S. (2010). Salinity induced changes in photosynthetic pigments and polyphenols of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(3), 338-347.
- Mencarelli, F., Agostini, R., Botondi, R., & Massantini, R. (1995). Ethylene production, ACC content, PAL and POD activities in excised sections of straight and bent gerbera scapes. *Journal of Horticultural Science*, 70(3), 409-416. <https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515310>.
- Moein, M., Etemadfar, H., & Zarshenas, M. M. (2016). Investigation of different Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) oil samples from traditional markets in Fars (Iran); focusing on the extraction method. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 51-58.
- Molassiotis, A. N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G., & Therios, E. (2006). Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum*, 50(3), 331-338. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0046-9>.
- Mousavi, S. N., Ebadi, M., Khorshidi, M., Hokmabadi, H., & Masoudian, N. (2020). Effect of salinity on photosynthetic and enzymatic activities and tuberization yield in the genotype of potato cultivar Agria under in vitro conditions. *Revista de Agricultura Neotropical*, 7(3), 8-19. <https://doi.org/10.32404/rean.v7i3.4028>.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Naik, H. N. K., & Devaraj, V. R. (2016). Effect of salinity stress on antioxidant defense system of Niger (*Guizotia abyssinica* Cass). *American Journal of Plant Sciences*, 7(6), 980-990. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.76093>.
- Nunes, H., & Miguel, M. G. (2017). *Rosa damascena* essential oils: A brief review about chemical composition and biological properties. *Trends in Phytochemical Research*, 1(3), 111-128.
- Panieri, E., & Santoro, M. M. (2016). ROS homeostasis and metabolism: A dangerous liason in cancer cells. *Cell Death & Disease*, 7(6), e2253--e2253. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.105>.

- Rashad, Y., Aseel, D., Hammad, S., & Elkelish, A. (2020). *Rhizophagus irregularis* and *Rhizoctonia solani* differentially elicit systemic transcriptional expression of polyphenol biosynthetic pathways genes in sunflower. *Biomolecules*, 10(3), 379. <https://doi.org/10.3390/biom10030379>.
- Saed-Moucheshi, A., Hasheminasab, H., Khaledian, Z., & Pessarakli, M. (2015). Exploring morpho-physiological relationships among drought resistance related traits in wheat genotypes using multivariate techniques. *Journal of Plant Nutrition*, 38(13), 2077-2095. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1009099>.
- Saed-Moucheshi, A., Shekoofa, A., & Pessarakli, M. (2014). Reactive oxygen species (ROS) generation and detoxifying in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 37(10), 1573-1585. <https://doi.org/10.1080/01904167.2013.868483>.
- Sairam, K., Rao, Ch V, Babu, M. Dora. & Goel, R. K. (2001). Prophylactic and curative effects of *Bacopa monniera* in gastric ulcer models. *Phytomedicine*, 8(6), 423-430. [https://doi.org/10.1078/S0944-7113\(04\)70060-4](https://doi.org/10.1078/S0944-7113(04)70060-4).
- Salem, S. S., El-Belely, E. F., Niedbała, G., Alnoman, M. M., Hassan, S. E. D., Eid, A. M., ... & Fouda, A. (2020). Bactericidal and in-vitro cytotoxic efficacy of silver nanoparticles (Ag-NPs) fabricated by endophytic actinomycetes and their use as coating for the textile fabrics. *Nanomaterials*, 10(10), 2082. <https://doi.org/10.3390/nano10102082>.
- Sharma, S., Villamor, J. G., & Verslues, P. E. (2011). Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential. *Plant Physiology*, 157(1), 292-304. <https://doi.org/10.1104/pp.111.183210>.
- Soliman, M. H., Abdulmajeed, A. M., Alhaithloul, H., Alharbi, B. M., El-Esawi, M. A., Hasanuzzaman, M., & Elkelish, A. (2020). Saponin bioprimer positively stimulates antioxidants defense, osmolytes metabolism and ionic status to confer salt stress tolerance in soybean. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-03098-w>.
- Stevens, J., Senaratna, T., & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilisation. *Plant Growth Regulation*, 49, 77-83. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-0019-1>.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1), 59-66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1).
- Wang, M., Zhao, X., Xiao, Z., Yin, X., Xing, T., & Xia, G. (2016). A wheat superoxide dismutase gene TaSOD<sub>2</sub> enhances salt resistance through modulating redox homeostasis by promoting NADPH oxidase activity. *Plant Molecular Biology*, 91, 115-130. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0446-y>.
- Wu, G. Q., Feng, R. J., Li, S. J., & Du, Y. Y. (2017). Exogenous application of proline alleviates salt-induced toxicity in sainfoin seedlings. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 27(1).
- Yoshimura, K., Yabuta, Y., Ishikawa, T., & Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123(1), 223-234. <https://doi.org/10.1104/pp.123.1.223>.
- Zauberman, G., Ronen, R., Akerman, M., Weksler, A., Rot, I., & Fuchs, Y. (1991). Post-harvest retention of the red colour of litchi fruit pericarp. *Scientia Horticulturae*, 47(1-2), 89-97. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(91\)90030-3](https://doi.org/10.1016/0304-4238(91)90030-3)
- Zhao, Y., Aspinall, D., & Paleg, L. G. (1992). Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. *Journal of Plant Physiology*, 140(5), 541-543. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80785-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80785-6).

## Study of *in vitro*-induced salinity on osmolytes accumulation and physiological and biochemical traits of Damask rose landraces

Sahar Azizi<sup>1</sup>, Hanifeh Seyed Hajizadeh<sup>1\*</sup>, Ahmad Aghae<sup>2</sup> and Sara Rezaei<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

<sup>2</sup> Department of Plant Biology, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

<sup>3</sup> Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

(Received: 19/03/2023, Accepted: 20/06/2023)

### Abstract

Salinity is one of the important environmental factors that reduces the growth and performance of plants, especially in arid and semi-arid regions of the world. Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) is one of the most important medicinal and ornamental plants in the country. Considering that the expansion of plants tolerant to salinity stress is one of the important goals of breeding and production programs, in this case a factorial experiment in a completely randomized design with three replications was done during 2020–2021 in the laboratory of the Department of Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, under *in vitro* conditions on four Damask landraces including Atashi, Bikhar, Chaharfasl and Kashan at 5 salinity levels of 0, 25, 50, 75 and 100 mM NaCl and the physiological and biochemical traits of them were evaluated. The results showed that the physiological and biochemical characteristics of Damask landraces caused an increase in antioxidant enzyme activities and compatible osmolytes. The Atashi landrace with high photosynthetic pigments, relative water content, proline, total soluble protein and the highest increase in antioxidant enzymes activity and, on the other hand, the lowest amount of hydrogen peroxide and electrolyte leakage, was more tolerant to salinity compared to other landraces. Compared to other genotypes, the Atashi genotype was the most favorable and tolerant, with the highest optimal level of antioxidant activity and the accumulation of compatible osmolytes, as well as a high concentration of total soluble protein. The tolerance threshold of Atashi landrace to the *in vitro*-induced salinity was estimated at 75 mM NaCl.

**Keywords:** Abiotic stress, Antioxidant, Biochemical traits, Micropropagation, Tolerant threshold

Corresponding author, Email: hajizade@maragheh.ac.ir