بررسی مقایسه‌ای تاثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و دفاعی برخی ارقام گیاه سورگوم در شرایط کشت درون شیشه‌ای

رویا رضوی زاده* و الهام شهریاری
گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی٣٦٩٧-١٩٣٩٥، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ١٣٩٥/٠٦/٠١، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٥/٠٨/١٢)

چکیده:

در محیط‌های طبیعی و شرایط زراعی، گیاهان به دفعات در معرض تنش‌های محیطی قرار می‌گیرند. تنش خشکی از مهمترین عوامل کاهش دهنده محصولات کشاورزی در جهان است. در این پژوهش تاثیر تنش خشکی ناشی از مانیتول بر پارامترهای فیزیولوژیکی برخی ارقام سورگوم در شرایط کشت درون شیشه‌ای بررسی شد. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گردید. بذرها پس از ضدعفونی شدن در محیط کشتهای MS حاوی غلظت‌های صفر، ٢، ٤، ٦ و ٨ درصد وزنی مانیتول (سطوح مختلف خشکی) کشت گردیدند. درصد جوانه‌زنی بذرها هفت روز بعد از کشت و پارامترهای مورفولوژی و بیوشیمیایی سه هفته بعد از کشت اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش تنش خشکی در بین ارقام مختلف، درصد جوانه‌زنی کاهش یافته است. در تمامی ارقام با افزایش تنش طول و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و میزان کلروفیل a و b وکل و کارتنوئید کاهش یافته و در جذب فلاونوئید افزایش معنی‌دار مشاهده گردید. همچنین افزایش تنش موجب افزایش محتوای قند، آنتوسیانین، پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در اندام هوایی و ریشه ارقام سورگوم گردید. بر اساس درصد جوانه‌زنی رقم قرمز حساس‌تر و رقم سودانگراس متحمل‌تر مشاهده گردید. در مجموع نتایج نشان داد تمام ارقام سورگوم در برابر تنش خشکی، با تغییراتی در پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به نوعی مقاومت نشان دادند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالا از دلایل اصلی مقاومت در برابر تنش خشکی می‌باشد.

واژه های کلیدی: تنش خشکی، کشت درون شیشه، مانیتول، سورگوم.

مقدمه:

تنش معمولا به عنوان یک عامل خارجی که باعث تاثیر منفی بر زندگی گیاه می‌شود تعریف می‌شود. هنگامی که گیاهان در طبیعت و شرایط زراعی رشد می‌کنند در معرض تنش‌های مختلف محیطی مانند خشکی هستند(Taiz and Zeiger, 1988) تنش خشکی محدود کننده‌ترین عامل پراکندگی و حاصلخیزی گیاهان در طبیعت و کشاورزی است (Hanson and Hitz, 1982). جنس سورگوم دارای ٦٠ گونه می‌باشد. این جنس در خانواده پوآسه یا گرامینه از راسته پوآلس می باشد. خانواده گرامینه از نظر اقتصادی، پراکنش و اشغال محیطهای متنوع اکولوژیکی قابل توجه می‌باشند. از نظر تامین غذا و علوفه اهمیت دارند. سورگوم با نام علمی *Sorghum bicolor* از نظر کشاورزی و اقتصادی یکی از مهمترین محصولات در آفریقا و آمریکای لاتین است. ارقام مختلف سورگوم دانه‌ای مانند سورگوم سفید و سورگوم قرمز به عنوان تولید غذا و فیبر استفاده می‌شود و جزء اصلی مواد غذایی در سراسر مناطق نیمه‌خشک آسیا و

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: razavi.roya@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

آفریقاست. سورگوم علوفه‌ای به دلیل سازگاری با شرایط خشک و کم آب، راندمان مصرف آب بالا به دلیل سیستم فتوسنتزی C_4، توان تولیدی علوفه فراوان به صورت علوفه تر ، خشک و سیلویی از گیاهان زراعی کاربردی می‌باشد. با توجه به نیاز کم این گیاه به آبیاری و با توجه به شرایط کم آبی کشور و سازگاری این گیاه با شرایط خشک و کم آب بهتر است جهت استفاده بهینه از زمین کشاورزی جایگزین غلاتی با مصرف آب بیشتر و بازده کمتر شوند. از آنجا که گیاهان نمی‌توانند از تنش‌های محیطی مختلف فرار کنند مکانیسم‌هایی را نیاز دارند که به آنها پاسخ دهند که از جمله این مکانیسم‌ها تنظیم اسمزی است. تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش مبادلات گازها می‌شود. خشکی سبب اختلال در متابولیسم گیاه، مهار آنزیم‌های کاتالیزکننده واکنش‌ها و ساختار سلولی می‌گردد (Jaleel *et al.*, 2007). همچنین تنش خشکی منجر به اختلال در پتانسیل آب، کاهش تورژسانس، اختلال در یکپارچگی غشا و دناتوره شدن پروتئین‌ها و کاهش رشد سلولها می‌شود (Ingram and Bartels, 1996).

مقاومت به تنش خشکی تقریبا در همه گیاهان دیده می‌شود اما میزان آن از گونه‌ای به گونه دیگر حتی درون یک گونه متفاوت است. تنش خشکی یک فاکتور محدودکننده بسیار مهم در مرحله اولیه رشد و تثبیت گیاه است که بر طویل شدن و توسعه رشد موثر است (Anjum, 2014). آزمایش‌های مختلف بیانگر این است که در شرایط تنش، میزان تجمع ماده خشک در بافت ساقه‌چه گیاهچه‌های متحمل افزایش می‌یابد و ارقامی که بتوانند در شرایط تنش رطوبتی، طول ساقه‌چه خود را بیشتر افزایش می‌دهند یا افت طول ساقه‌چه در آنها با افزایش تنش خشکی کمتر باشد گیاهچه‌های مقاوم در برابر خشکی به شمار می‌آیند. طول ریشه‌چه معمولا در شرایط تنش افزایش می‌یابد. یکی از عوامل نوسان‌های طول ریشه‌چه می‌تواند به تفاوت در تجمع ماده خشک در بافتهای ذخیره‌ای ریشه‌چه ارقام مقاوم در شرایط تنش باشد (El-sharkawi *et al.*,1989). بررسی‌هایی در مورد سورگوم نشان داد که افزایش طول ریشه‌چه در تمام گونه‌ها و ژنوتیپ‌ها صادق نیست و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این آزمایش‌ها از نظر طول ریشه‌چه واکنش‌های متفاوتی از خود نشان دادند (Tekal *et al.*,2000). اثر زیان آور متداول تنش خشکی روی گیاهان کاهش تولید بیوماس خشک و تر است (Farooq *et al.*, 2009). تنش آبی ناشی از خشکی باعث اختلال در فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی اصلی مانند کاهش فتوسنتز (Lawlor and Cornic, 2002) و تغییر بیان ژن‌ها (Neill and Burnett, 1999) می‌شود. فلاونوئید هم از ترکیبات پلی‌فنولیتیک و از مهمترین متابولیت‌های ثانویه گیاه هستند. با ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه بیان ژنهای آنتی‌اکسیدان (Vinyard *et al.*, 2005) و مسیر فنیل‌پروپانوئید به ویژه مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها افزایش می‌یابد (Mackerness *et al.*, 2001; Green and Fluhr, 1995). قندها به عنوان تنظیم‌کننده بیان ژن هستند و به عنوان مولکول پیام‌رسان ایفای نقش می‌کنند (Smeeknes.2000). به علاوه قندها از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل خود و زنجیره‌های قطبی پروتئین‌ها موجب پایداری پروتئین‌ها می‌گردد (Ingram and Bartels, 1996). همچنین انباشتگی قندها در سلولهای گیاهی سبب کاهش پتانسیل اسمزی سلول گردیده و از این رو سبب ادامه و حفظ جذب آب و فشار تورگور می‌شود (Serraj and Sinclair, 2002). تجمع پرولین یک مکانیسم مقاومتی گیاه به فاکتورهای تنشی مختلف مانند خشکی است (Naidu *et.al.*, 1992). بر اساس مشاهدات Trottel-Aziz و همکاران (۲۰۰۰) پرولین در حفظ متابولیسم و سنتز پروتئین و در تعادل اسمزی داخل سلولی و محافظت آنزیم‌های سلولی و ساختار آنها نقش دارد. همچنین پرولین جاروب‌کردن رادیکالهای آزاد اکسیژن را به عهده میگیرد (Anjum *et.al.*, 2014). گیاهان همچنین می‌توانند سایر سازش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی را در پاسخ به تنش آب نشان دهند که از آن جمله می‌توان به تغییرات برخی آنزیمها مانند پراکسیدازها اشاره نمود. اولین آنزیم پاکسازی کننده، سوپراکسیددیسموتاز است که تبدیل رادیکال سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن که یک مولکول با خاصیت غیر رادیکالیست را به عهده دارد (Comba, Benavides and Tamaro, 1998).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

پراکسیدهیدروژن در غلظت‌های بالا سمی بوده ولی در غلظت‌های پایین به عنوان یک پیغامبر، در بیان ژنهای مقاومت و تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش دارد (Anjum *et al.*, 2014). آنزیم پراکسیداز نقش مهمی را در جاروب‌کردن پراکسیدهیدروژن دارد که به کمک اسیدآسکوربیک به عنوان یک دهنده الکترون برای احیای پراکسیدهیدروژن به آب صورت می‌گیرد. کاتالاز نیز یک آنزیم شناخته شده در موجودات زنده بوده که مهمترین نقش آن تجزیه پراکسیدهیدروژن به آب و اکسیژن است (Cakmak and Horst, 1991).

روش کشت بافت در سطح کم وسعت (نسبت به کشتهای مزرعه) و با استفاده از محیط غذایی مشخص و عاری از هر گونه آلودگی محیط کنترل شده‌ای را برای مطالعات فیزیولوژیکی فراهم می‌کند. جهت ایجاد شرایط تنش خشکی در شرایط کشت بافت از ترکیبات شیمیایی خنثی مانند مانیتول و پلی‌اتیلن گلیکول استفاده می‌شود. در کشت درون شیشه با تغییر غلظت آنها در محیط کشت می‌توان به طور کنترل شده، شرایط تنش خشکی را اعمال کرده و عملکرد گیاه را بررسی نمود. بر همین اساس پژوهش‌های فراوانی انجام شده و تغییرات پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرارگرفته‌است. (خاکشورمقدم، ۱۳۹۰؛ مهری و همکاران، ۱۳۹۳). با توجه به مقاوم بودن گیاه سورگوم به تنش‌های محیطی هدف از انجام این پژوهش بررسی مقایسه‌ای پاسخ‌های فیزیولوژیکی و دفاعی ارقام مختلف سورگوم به تنش خشکی و درک بهتر مکانیسم‌های مؤثر در تحمل به خشکی در شرایط کنترل شده کشت درون شیشه‌ای و معرفی رقم متحمل به خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

بذرهای ٤ رقم از گیاه *Sorghum bicolor* ، با نام‌های سورگوم سفید، قرمز، سورگوم جارویی و سودانگراس، از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. پس از تهیه محیط MS (Murashing and Skoog, 1962)، مانیتول D-Manitol ساخته کارخانه Merck به میزان ۲، ٤، ٦ و ۸ درصد وزنی به محیط کشت پایه MS اضافه شد. پس از حل شدن آن، محلولهای حاصل به حجم مورد نظر رسانده شد و پس از تنظیم pH (حدود ۵/۸)، افزودن آگار و ذوب نمودن آگار به مقدار مساوی ۳۰ میلی‌لیتر در شیشه‌های کشت ریخته شد. از این محیط کشت‌ها برای بررسی اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر ارقام گیاه سورگوم استفاده گردید. ضدعفونی محیط کشت با اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر انجام شد. جهت ضد عفونی بذرها، در ابتدا پوشش خارجی بذرهای سورگوم جدا شد و سپس بذرها به مدت ۱ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد ضدعفونی شدند. پس از آن بذرها ۵ مرتبه با آب مقطر استریل در زیر دستگاه لامینار شستشو داده شدند و در زیر لامینار در شرایط استریل، تعداد ۱۰ بذر در هر شیشه حاوی محیط کشت قرار داده شد و پس از بستن درب محیط کشت، به اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در فتو پریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند.۳ هفته پس از رشد، گیاهان جهت اندازه‌گیری پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارزیابی شدند. در روز هفتم بعد از کشت بذرها در محیط کشتهای شاهد و تیمار، تعداد بذرهای جوانه‌زده در ۳ تکرار شمارش و بر حسب درصد گزارش گردید. اندازه‌گیری طول اندام هوایی و ریشه ارقام سورگوم به کمک خط‌کش میلی‌متری انجام گرفت و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش شد. وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه بر حسب گرم و با ترازوی دیجیتالی با حساسیت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل و کارتنوئید اندام هوایی بر اساس روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. ۲/. گرم اندام هوایی وزن شد و پس از ساییدن در ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد و صاف کردن ماده بدست آمده و رساندن حجم محلول حاصل به ۱۵ میلی‌لیتر توسط استن، جذب آن در طول موجهای ٦٦٣/٢، ٦٤٦/٨ و ٤٧٠ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر(مدل U-6305 ژاپن) خوانده‌شد. از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های اندام هوایی استفاده شد. عصاره بدست آمده پس از ساییدن ۰/۱ گرم ازاندام هوایی با مقداری متانول اسیدی پس از ۲٤ ساعت در دستگاه سانتریفوژ قرار گرفت و جذب آن در طول موج ۵۵۰ خوانده شد. در این پژوهش اندازه‌گیری فلاونوئیدها با استفاده از روش Krizek و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت. ۰/۱ گرم از اندام هوایی با ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۱درصد اسیدی هموژنایز شد و پس از سانتریفوژ کردن و قرار دادن محلول رویی آن به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۸۵ درجه سانتیگراد جذب هر نمونه در طول موجهای ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد. میزان قندهای احیاءکننده در اندام‌های هوایی و ریشه‌ها با استفاده از روشSomogyi – Nelson (۱۹۵۲) اندازه‌گیری شد. ۰/۱ گرم بافت نرم اندام هوایی و۰/۰۳ گرم بافت نرم ریشه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ساییده شد و سپس در حمام آب گرم حرارت داده شد و عصاره‌گیری شد و سپس مقدار ۲ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده با ۲ میلی‌لیتر سولفات مس در لوله‌ای ریخته شد و در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه قرار داده شد در انتهای کار رنگ قرمز آجری مشاهده گردید. پس از سرد شدن محلول، ۲ میلی‌لیتر فسفومولیبدیک اسید اضافه شد که رنگ آبی مشاهده گردید و پس از تکان دادن لوله‌ها و یکنواخت شدن رنگ آنها شدت جذب محلولها در طول موج ٦۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد، سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت قندهای احیاکننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید. مقدار پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. طبق این روش ۰/۰۲ گرم از بافت تازه اندام هوایی و ریشه توزین گردید و هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد ساییده شد. بعد از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها و اضافه کردن معرف نین‌هیدرین و اسیداستیک خالص به محلول رویی، قرار دادن در بن‌ماری به مدت ۱ ساعت، افزودن تولوئن و جداسازی محلول بالایی، شدت جذب محلولها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷٦) استفاده گردید. در این تحقیق برای استخراج پروتئین از بافر فسفات سدیمی با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار استفاده گردید. بافرهای مختلفی برای استخراج پروتئین پیشنهاد شده است اما با توجه به حداقل تداخل میان معرف رنگی برادفورد و مواد موجود در بافر فسفات سدیمی با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار و pH برابر ٦/۸ به عنوان مناسب‌ترین بافر انتخاب گردید (Bollag and Edelstein, 1991) . پس از آماده‌سازی بافر استخراج، ۰/۲ گرم از بافت اندام هوایی و ۰/۳ گرم بافت نرم ریشه با ازت مایع ساییده شده و با ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات مخلوط گردید و محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۰۰۰۰ و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار سانتریفوژ شد. پس از این مرحله محلول بالایی به آرامی به کمک سمپلر به داخل اپندرف منتقل گردید. این محلول حاوی پروتئین بوده و برای ارزیابی میزان پروتئین از آن استفاده گردید. پس از تهیه معرف برادفورد، برای تعیین مقدار پروتئین در عصاره‌های موجود، یک سری لوله آزمایش تهیه و به هر لوله ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۲۵۰میکرولیتر محلول ۱ مولار NaOH و ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد اضافه گردید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها به هر لوله اضافه شد و حجم نهایی هر لوله ٦ میلی‌لیتر گردید. محتویات درون هر لوله توسط ورتکس به خوبی مخلوط و پس از ۲ دقیقه جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. برای به دست آوردن اعداد منحنی استاندارد از محلول استاندارد آلبومین گاوی استفاده گردید. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Aebi (۱۹۸٤) استفاده شد. بررسی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با بررسی کاهش مقدار پراکسید هیدروژن در طول موج ۲٤۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار، pH =7 و آب‌اکسیژنه (H_2O) ۱۵میلی‌مولار بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره‌ی آنزیمی در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر آغاز گردید. تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد. میزان فعالیت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل ۳/۹٤ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه و بر حسب Unit (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه) به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، روش Gianopolitis and Ries (۱۹۷۷) به کار گرفته شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیا نوری نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در طول موج ٥٦۰ نانومتر انجام گرفت و فعالیت آنزیم بر حسب Unit بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روشNakano و Asada (۱۹۸۱) انجام گرفت. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۷ ، ۰/۵ میلی‌مول آسکوربات، ۱ میلی‌مول H_2O_2، ۰/۱ میلی‌مول اتیلن دی‌آمونیوم ترا (EDTA) و عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر برای مدت ۱ دقیقه محاسبه گردید. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل ۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد و بر حسب Unit بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

محاسبات آماری: تمام آزمایش‌ها طبق طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل انجام شد و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. مقایسه میانگین بر اساس آزمون Duncan انجام گردید و سطح معنی‌دار بودن تیمارها در سطح ($p\leq 0.05$) محاسبه گردید.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس برهمکنش ارقام سورگوم و درصد مانیتول بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه سورگوم در جدول ۱ آورده شده است. اثر تنش خشکی بر روی ارقام گیاه سورگوم در کشت درون شیشه و با ایجاد فشار اسمزی توسط مانیتول نشان داد که درصد جوانه‌زنی روز هفتم با افزایش درصد مانیتول کاهش یافت (شکل ۱). درصد جوانه‌زنی روز هفتم در رقم قرمز نسبت به بقیه ارقام کاهش معنی‌داری را با افزایش تنش خشکی، نشان داد؛ در حالی‌که درصد جوانه‌زنی رقم سفید و سودانگراس با افزایش تنش خشکی، تغییرات معنی‌داری نشان نداد. از آنجا که بررسی درصد جوانه‌زنی یک معیار مناسب برای تعیین گونه‌های حساس و مقاوم است، می توان بیان کرد که در بین ارقام سورگوم مورد مطالعه، رقم قرمز نسبت به تنش خشکی حساس‌تر می‌باشد.

کاهش درصد جوانه‌زنی تحت شرایط تنش خشکی با پلی‌اتیلن‌گلیگول در چهار ژنوتیپ عدس گزارش شده‌است (Muscolo *et al.*, 2014). در پژوهش دیگری روی سه رقم سورگوم (کیمیا، پیام و سپیده) در شرایط کشت درون شیشه و ایجاد شرایط خشکی با تغییر در غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول، کاهش درصد جوانه‌زنی را با افزایش تنش خشکی نشان داد (Mohammadi and Mojaddam, 2014).

تنش خشکی طویل شدن سلول را بیشتر از تقسیم سلولی کاهش می‌دهد و از طریق تاثیر بر روی فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند فتوسنتز، تنفس، انتقال و جذب یونها، کربوهیدراتها، متابولیسم مواد و هورمون‌ها، رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Jaleel *et al*, 2008 ؛Farooq *et al.*, 2008). در این پژوهش طول اندام هواییدر ارقام مختلف سورگوم با تنش خشکی کاهش یافته است. طول اندام هوایی در بین ارقام در غلظت ۸ درصد مانیتول و غلظت ٦ درصد مانیتول تفاوت معنی‌دار نشان نمی‌دهند. وزن تر و خشک اندام هوایی نیز با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد یافته است. در غلظت ٤ درصد مانیتول، وزن اندام هوایی سودانگراس نسبت به بقیه ارقام کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد. درغلظت ۲ درصد مانیتول، وزن تر اندام هوایی رقم قرمز نسبت به بقیه ارقام کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد. در بررسی وزن خشک اندام هوایی در تمامی ارقام به جز رقم سفید در تیمار ۲ درصد مانیتول، با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد مشاهده می‌شود. در غلظت ٤ درصد مانیتول، وزن خشک رقم سودانگراس نسبت به بقیه ارقام این تیمار کاهش معنی‌دار یافته است. در غلظت ٦ و ۸ درصد مانیتول تفاوت معنی‌دار بین ارقام مختلف مشاهده نشد (شکل ۲ (a، b و c)).

در این تحقیق طول، وزن تر و خشک ریشه نیز با افزایش تنش خشکی کاهش یافته است. طول ریشه در رقم جارویی در غلظت ۲ درصد مانیتول نسبت به بقیه ارقام این تیمار، وزن ریشه رقم سفید در غلظت ۲ درصد مانیتول نسبت به بقیه ارقام

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

جدول ۱- تجزیه واریانس برهمکنش ارقام سورگوم و درصد مانیتول بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی گیاه سورگوم.

		میانگین مربعات							
منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	آنتوسیانین	فلاونوئید ۲۷۰	فلاونوئید ۳۰۰	فلاونوئید ۳۳۰
رقم	۳	۲/۱۳۵*	۰/٤۱۲*	٤/۳۰۸*	۰/۱۸٤*	۰/۰۰۳*	۰/۰۰۲*	۰/۲۲٦*	۰/۰۹*
مانیتول	٤	۲۱/۸۷٤*	۲/۵۰٤*	۳۹/۱۳۵*	۱/٦۰۷*	۰/۰۰۳*	۰/۰۰۲*	۰/۱۲*	۰/۰۲۱*
رقم* مانیتول	۱۲	۰/۹۵٦*	۰/۱۳۵*	۱/٤۹۸*	۰/۱۰۷*	۰/۰۰۰۱۷۳۲ns	۰/۰۰۱*	۰/۰۳۹*	۰/۰۱٤*
خطا	٤۰	۰/۱٦٤	۰/۰٦۲	۰/۳۵۳	۰/۰۱٤	۰/۰۰۰۱۷۳۲	۰/۰۰۰۰۵۹۲	۰/۰۰٤	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (درصد)		۵۸/۱۱	۵۳/۷۹	۵۵/٦۸	۵۹/۰٦	۳۹/۳۹	۱۹/۷۹	٤٤/۰۲۹	۳٤/۰۲۵

*** معنی داری در سطح ۰/۰۵ و ns عدم وجود تفاوت معنی‌دار**

ادامه جدول ۱-

		میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	قند احیاء بخش هوایی	قند احیا ریشه	پرولین بخش هوایی	پرولین ریشه	پروتئین بخش هوایی	پروتئین ریشه
رقم	۳	۱۲/۸۱*	۳۷/٦۸۳*	۲٤/۱۵۳*	۲۰۹/۷۸۲*	۰/۰۰۰۷٦۰*	۰/۰۰۰٤۸۷۱۳*
مانیتول	٤	۲۱/۰۰۱*	٦٦/٤۸۰*	٤۵/۱۵٤*	٦۳/۷۹۲*	۰/۰۰۰۷٦۰*	۰/۰۰۰٤۸۷۱۳*
رقم* مانیتول	۱۲	۱/۵۹٦*	۷/۳۸۷*	۲٤/۱۹۳*	۱۲/۷۳٤ns	۰/۰۰۰۷٦۰*	۰/۰۰۰٤۸۷۱۳ns
خطا	٤۰	۰/۵٤۹	۱/۹۱۹	۱/۹۹۱	۷/۷٤	۰/۰۰۰۷٦۰	۰/۰۰۰٤۸۷۱۳٦
ضریب تغییرات (درصد)		۲۳/٦۸	۲۳/۲۸	٤۸/۵۱	۲۷/۳۳	۰/۲٦۷٦	۰/۲۰٤۵

*** معنی داری در سطح ۰/۰۵ و ns عدم وجود تفاوت معنی‌دار**

ادامه جدول ۱-

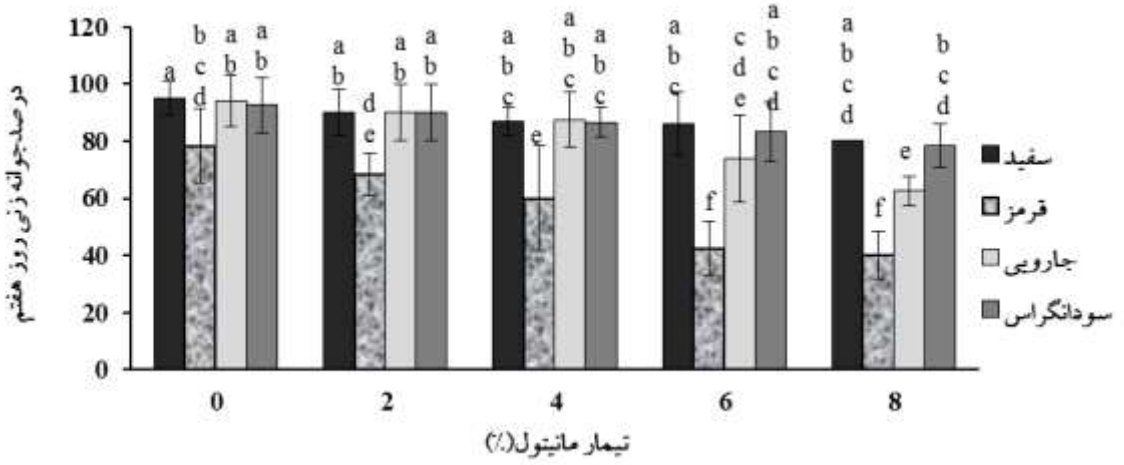
		میانگین مربعات					
منبع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز بخش هوایی	کاتالاز ریشه	آسکوربات پراکسیداز ساقه	آسکوربات پراکسیداز ریشه	سوپراکسید دیسموتاز ساقه	سوپراکسید دیسموتاز ریشه
رقم	۳	۷۰۳٦/٦۰۸*	۷۱٦۵/٤٦۵*	۰/۰۵۲*	۰/۹۰۷*	۳۷۵٦/٤۵۸*	۱۳٤۹٤/٦۱٤*
مانیتول	٤	٤۸۷۷/۸۹۹*	٦٤۹٦/۹۱۳*	۳/۱۰۷*	۳/۲۵۸*	۱۱۹۳۳/۲۷*	۸٤۲۹۸/٤۰۲*
رقم* مانیتول	۱۲	۵٤۸۸/۵۵۵*	۱۰٤۲/٦٤۸*	۰/۰۸*	۰/۱۲۳*	۹۳۲/۵۸۲*	٦۰۹۲/۳۷۱*
خطا	٤۰	۵٤/۱٦۲	۳۷/۱۹۳	۰/۰۱	۰/۰۱۷	۵۲/۷۵۹	٤۰۵/٦٤
ضریب تغییرات (درصد)		٦۵/۸۹	۵۸/۹۳	٤٤/٤۳	۵۷/۹۵	۸۵/۱٤	۸۵/٦۸

*** معنی داری در سطح ۰/۰۵ و nsعدم وجود تفاوت معنی‌دار**

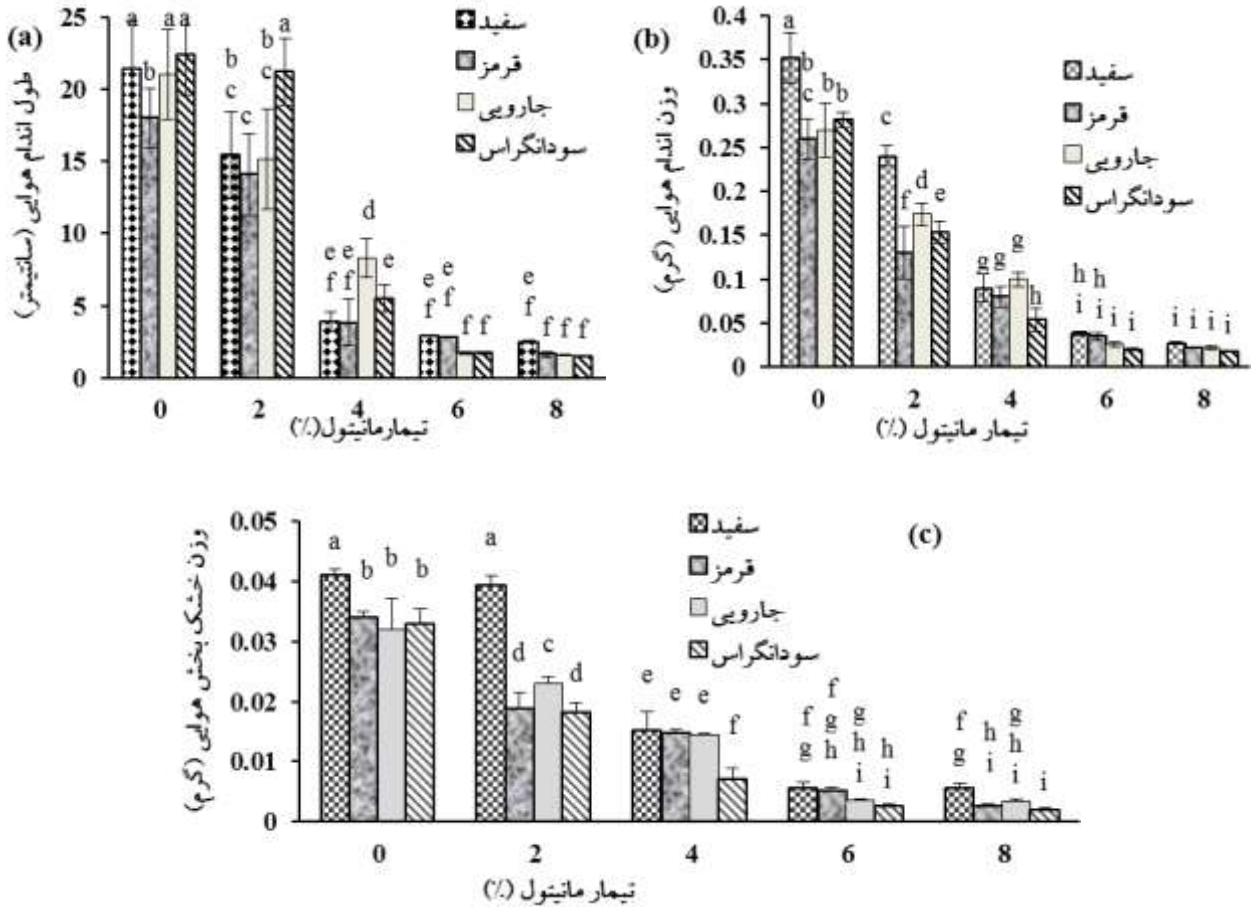
این تیمار و وزن خشک ریشه رقم جارویی در غلظت ٤ درصد نسبت به بقیه ارقام این تیمار افزایش معنی‌دار نشان می‌دهد. بررسی مقایسه‌ای ارقام سورگوم در تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری در طول، وزن تر و خشک ریشه نشان نمی‌دهد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]



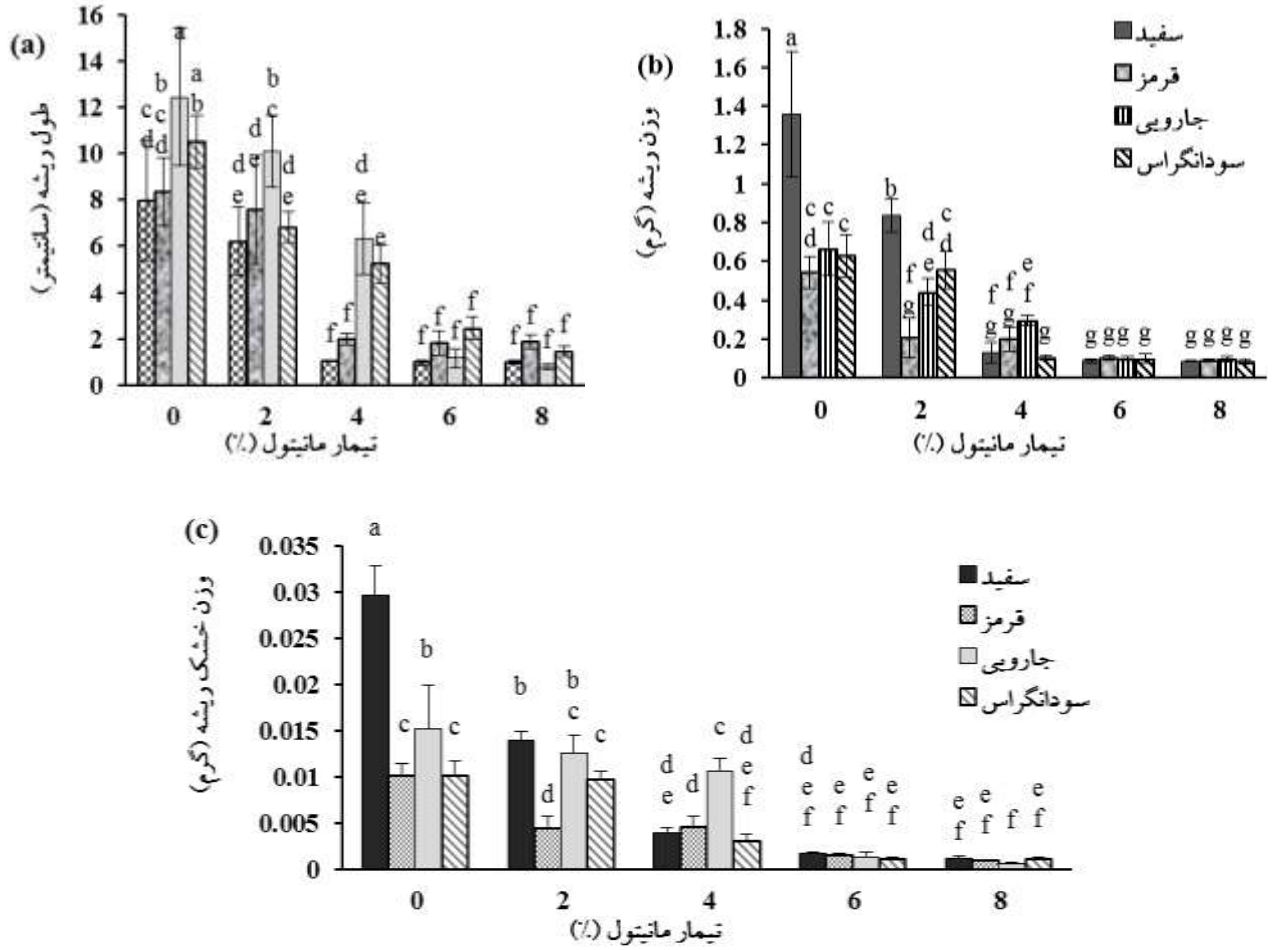
شکل ۱- بررسی تاثیر غلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر درصد جوانه‌زنی ارقام سورگوم در روز هفتم بعد از کشت. مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).



شکل ۲ – تاثیر غلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر ویژگی‌های اندام هوایی ارقام سورگوم: طول اندام هوایی (a)، وزن تر اندام هوایی (b) و وزن خشک اندام هوایی (c). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

(شکل ۳ (a، b و c)). Tekal (۲۰۰۰) در مورد سورگوم گزارش کرد که افزایش طول ریشه تحت تنش در تمام گونه‌ها و ژنوتیپها صادق نیست و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این آزمایش‌ها از نظر طول ریشه‌چه واکنش‌های متفاوتی از خود

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

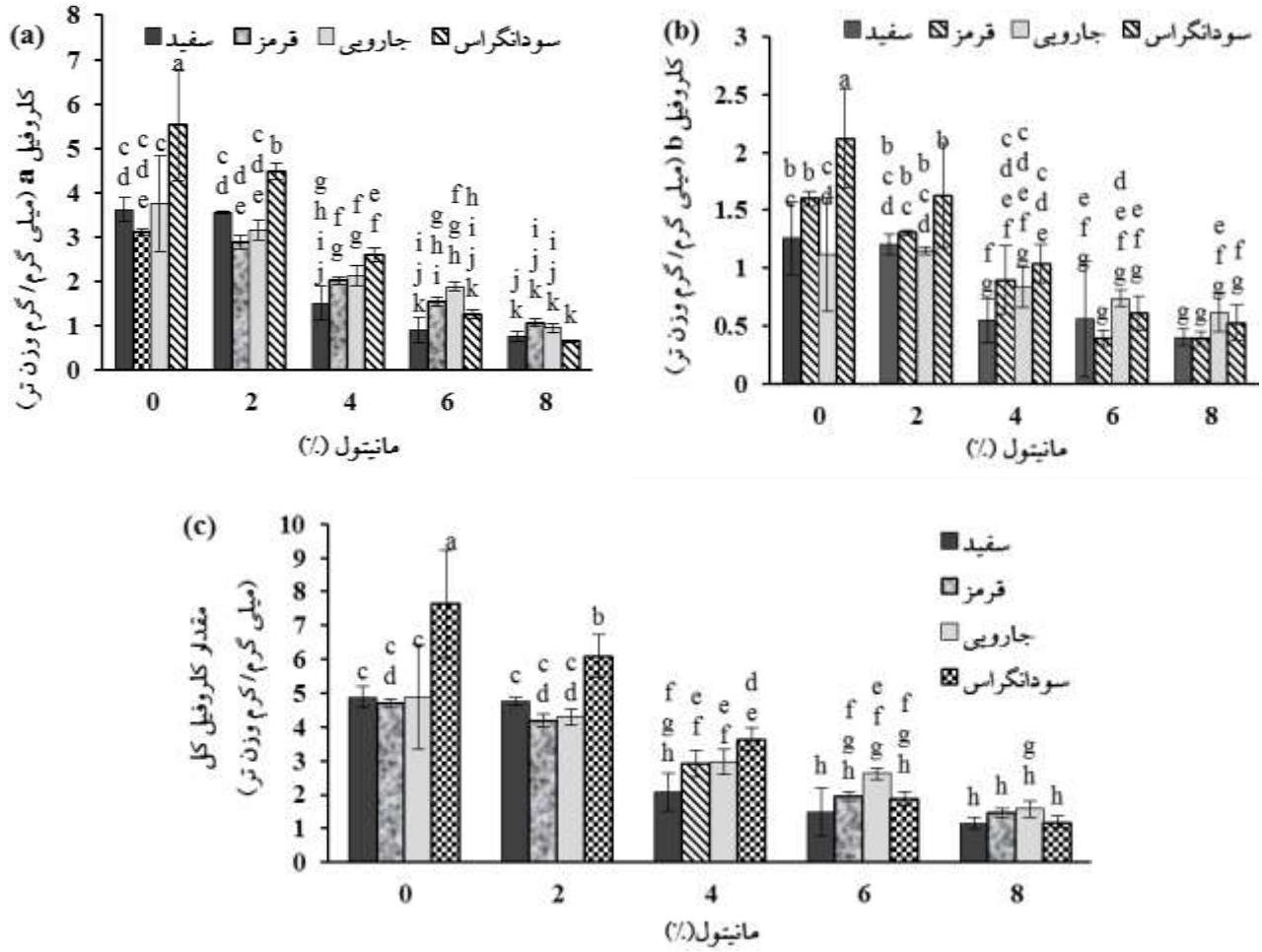


شکل۳- تاثیر غلظت‌های مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر ویژگیهای ریشه ارقام سورگوم : طول ریشه (a)، وزن تر ریشه (b) و وزن خشک ریشه (c). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

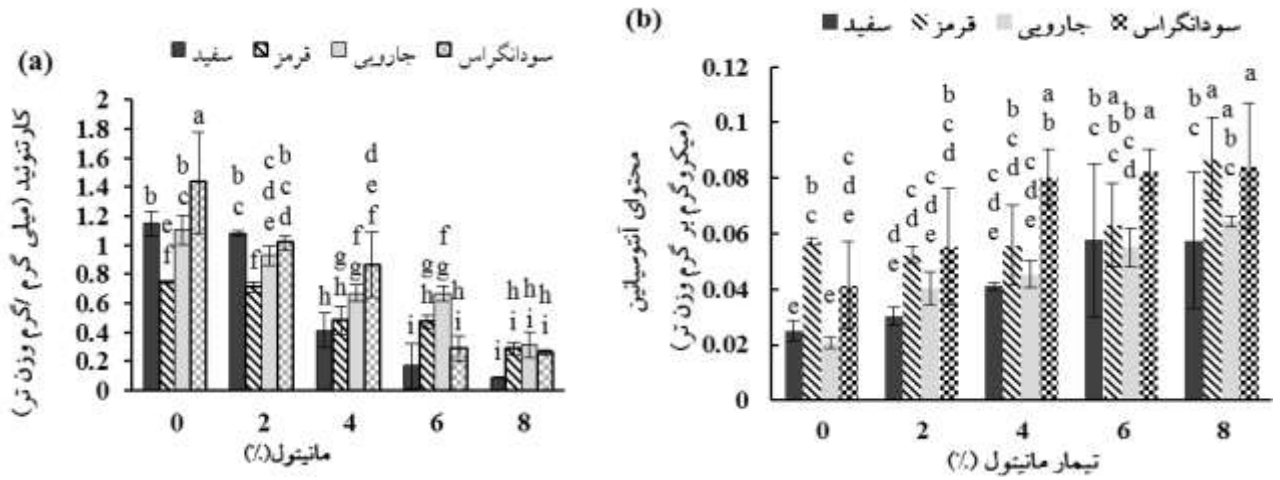
نشان داده‌اند. در پژوهش دیگری روی سه رقم سورگوم (کیمیا، پیام و سپیده) در شرایط کشت درون شیشه و ایجاد شرایط خشکی با تغییر در غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول، کاهش طول ریشه و اندام هوایی مشاهده شد (Mohammadi and Mojaddam, 2014). افزایش طول ریشه توسط سودایی‌زاده و همکاران (۱۳۹۵) در گیاه مرزه و عسکری و همکاران (۱۳۹٤) در گیاه رازیانه گزارش شده استاز دلایل کاهش وزن تر و خشک در گیاهان کاهش فتوسنتز می‌باشد (Reddy *et al.*, 2004). تفاوت در وزن خشک ریشه‌چه می‌تواند به دلیل تفاوت در محتوی مواد غذایی در بذور می‌باشد به گونه‌ای که بذرهای بزرگتر مقدار بیشتری از مواد غذایی را در اختیار ریشه‌چه قرار می‌دهند (Eissenstat *et al.*,1999؛Goicachea*et al.*, 1997).

در این پژوهش روند نزولی در میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید طی تنش خشکی در ارقام مختلف سورگوم دیده می‌شود (شکل ٤ (a وb)). از دلایل کاهش کلروفیل و کارتنوئید طی تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تجزیه و در نتیجه کاهش رنگدانه‌ها می‌شود. تنش خشکی باعث اختلال در سیستم‌های آنزیمی جاروب‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگیزه‌ها می‌شود (Anjum *et al.*,2014). در مطالعات دیگر کاهش مقدار رنگیزه فتوسنتزی تحت تنش خشکی گزارش شده که عمدتا به دلیل تخریب ساختمان کلروپلاست و دستگاه فتوسنتزی و فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، تخریب پیش‌ماده سنتز کلروفیل و یا ممانعت از بیوسنتز کلروفیل‌های جدید می‌باشد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]



شکل ٤ – تاثیرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر میزان کلروفیل ارقام هوایی ارقام سورگوم: کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b) و کلروفیل کل (c). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).



شکل ٥ – تاثیرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر میزان کارتنوئید (a) و محتوی آنتوسیانین(b) ارقام سورگوم. مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

(Egret and Teuini, 2002). در این تحقیق در تمام ارقام سورگوم کاهش مقدار کارتنوئید با افزایش تنش خشکی مشاهده شده است(شکل ٥ (a)). کاهش کارتنوئید با افزایش تنش خشکی در گیاه زوفا توسط (قربانعلی و همکاران

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

(۱۳۹۳)، در گیاه شوید توسط ستایش‌مهر(۱۳۹۱) و در گیاه کتان توسط قربانلی و همکاران(۱۳۹۰) نیز گزارش شده است. در پژوهش دیگری بر روی سورگوم کاهش کارتنوئید همراه با کاهش پتانسیل آب گیاه گزارش شده‌است (Sharma and hall, 1991).

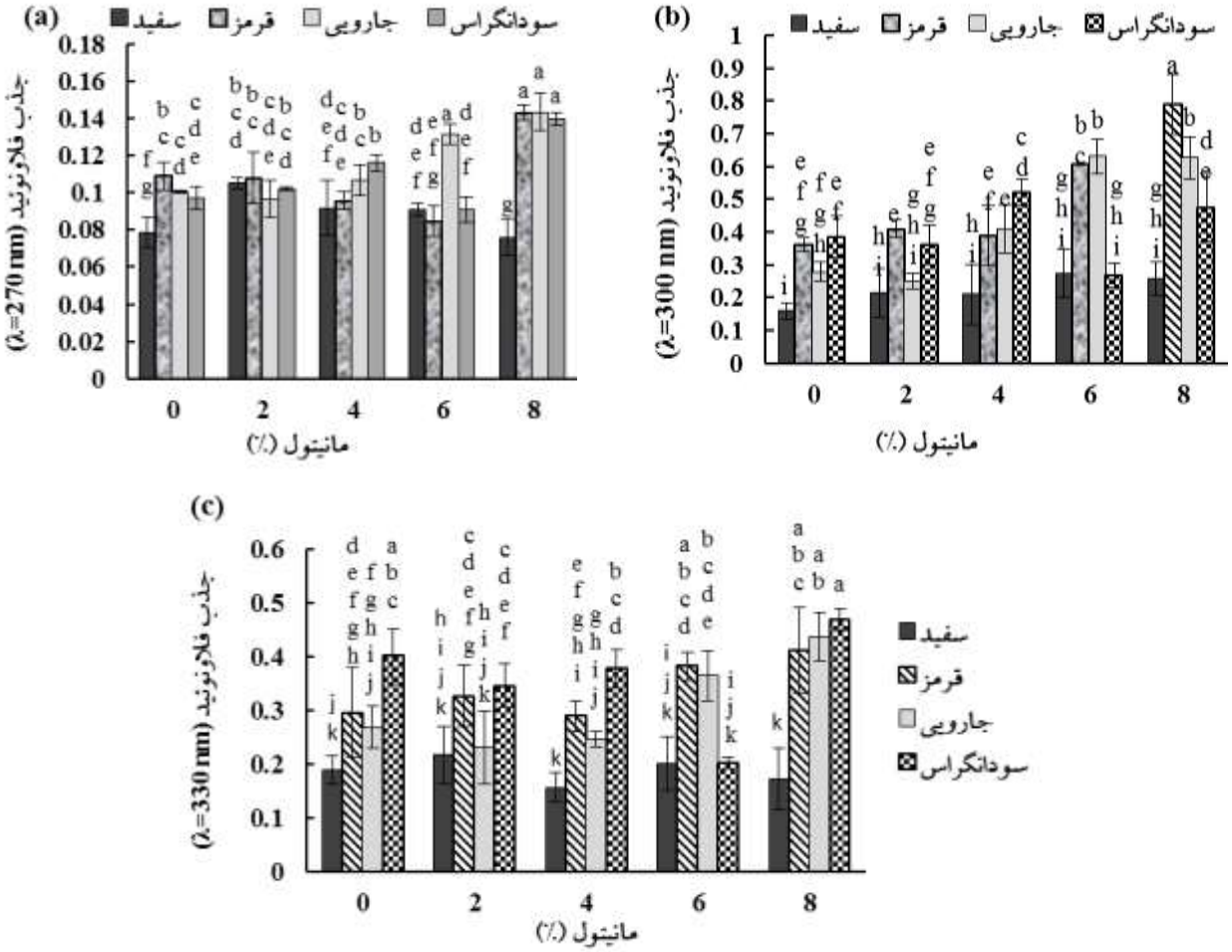
در تحقیق حاضر بررسی میزان آنتوسیانین در ارقام سورگوم با افزایش تنش خشکی به وسیله مانیتول در کشت درون شیشه افزایش نشان داد (شکل ٥ (b)). محتوی آنتوسیانین در رقم سفید و جارویی در غلظت ٦ درصد مانیتول، در رقم قرمز در ٨ درصد و در رقم سودانگراس در غلظت ٤ درصد مانیتول افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد یافت. در سودانگراس در غلظتهای ٨ و ٦ درصد مانیتول نسبت به ٢ درصد و شاهد افزایش معنی‌دار مشاهده شد. محتوی آنتوسیانین در رقم سفید در بین غلظتهای ٤، ٦ و ٨ درصد مانیتول تفاوت معنی دار نشان نداد. همچنین در رقم قرمز و جارویی نیز بین غلظت‌های ٦، ٤، ٢ و شاهد تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. این ارقام در سطوح پایین تر مانیتول تفاوت معنی داری با شاهد نشان ندادند. در مقایسه ارقام در یک تیمار مشاهده شد که محتوی آنتوسیانین در ٢ درصد مانیتول در بین ارقام تفاوت معنی‌داری ندارد. سودانگراس در ٤ درصد و ٦ درصد مانیتول نسبت به سفید و جارویی و در غلظت ٨ درصد سودانگراس و قرمز نسبت به سفید افزایش معنی‌دار نشان دادند.

از نقش‌های آنتوسیانین‌ها می‌توان به تعدیل کمی و کیفی نور جذب شده، حفاظت از اثرات مخرب UV، حفاظت گیاه از جانوران علف‌خوار، حفاظت از مهار نوری و جارو کننده رادیکالهای فعال اکسیژن تحت شرایط تنش محیطی اشاره کرد (Kevin, 2004). آنتوسیانین در پاسخ به تنش خشکی افزایش می‌یابد (Kovinich *et al.*,2015). افزایش آنتوسیانین با ایجاد تنش خشکی در جوانه سیب توسط Bolat و همکاران (٢٠١٤) و در گیاه کتان توسط قربانلی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش شده است. نتایج حاصل از بررسی فلاونوئیدها در گیاه سورگوم در تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش سطح تنش خشکی جذب فلاونوئید در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ افزایش داشته است (شکل ٦ (a، b و c)). نتایج نشان می‌دهد که فلاونوئیدها نقش حفاظتی کلیدی در برابر رادیکالهای فعال اکسیژن دارد زیرا قادرند تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن را مهار کنند و آنها را جاروب نمایند (Anjum *et al.*, 2014). به نظر می‌رسد که گیاهان در شرایط تنش به علت افزایش رادیکالهای آزاد، ترکیبات فنلی را افزایش داده تا بتوانند واکنش‌های دفاعی مناسبی را در پیش گیرند. افزایش میزان فلاونوئیدها طی تنش خشکی درگیاه Cherry tomato توسط Alhassani و همکاران (٢٠١٥)، در گیاه کتان توسط قربانلی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش شده است. در برگهای *Ligustrum vulgare*تجمع پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها و هیدروکسی سینامات در برابر نور و تنش خشکی مشاهده شده است (Tattini *et al.*, 2004).

در این پژوهش با افزایش سطح خشکی، مقدار قندهای احیا در ارقام مختلف سورگوم در اندام هوایی و ریشه افزایش یافته است. (شکل ٧ (a و b)).افزایش قندهای احیا تحت شرایط تنش خشکی توسط Bajji و همکاران (٢٠٠١) و Karimi و همکاران (٢٠٠٥) گزارش شده است. Moradshahi و همکاران (٢٠٠٤) اینگونه بیان کردند که تمایل به افزایش تجمع قندها در پتانسیل پایین در *Brassica rapus*احتمالا از تحرک ذخایر پلی‌ساکارید ناشی می‌شود.در تحقیق حاضر، با افزایش تنش خشکی، افزایش میزان پرولین در اندام هوایی و ریشه ارقام مختلف سورگوم مشاهده می‌شود (شکل ٧ (c و d)). همچنین افزایش معنی‌داری در میزان پرولین در رقم جارویی سورگوم در تنش خشکی ٦ و ٨ درصد مانیتول در اندام هوایی نسبت به بقیه ارقام ایجاد شده است. میزان پرولین در ریشه رقم جارویی با غلظت ٦ درصد و ٨ درصد مانیتول افزایش معنی‌داری نشان داده است در حالت هایپراسموتیک تجمع پرولین آزاد به وسیله شوری و خشکی القا می‌شود (Anjum *et al.*, 2014). پرولین به عنوان یک از بین برنده رادیکالهای هیدروکسیل عمل می‌کند و به این ترتیب ماکرومولکولهای اساسی سلول مثل پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA را از خطرات رادیکال آزاد حفظ می‌نماید (Matisyk *et al.*, 2002). تجمع پرولین تحت شرایط تنش محیطی، انرژی لازم برای رشد را حفظ می‌کند. گزارشهای متعددی از تجمع پرولین طی تنش خشکی وجود دارد. برای مثال در گیاه مرزه سودایی‌زاده و همکاران (۱۳۹۵)، در انگور

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

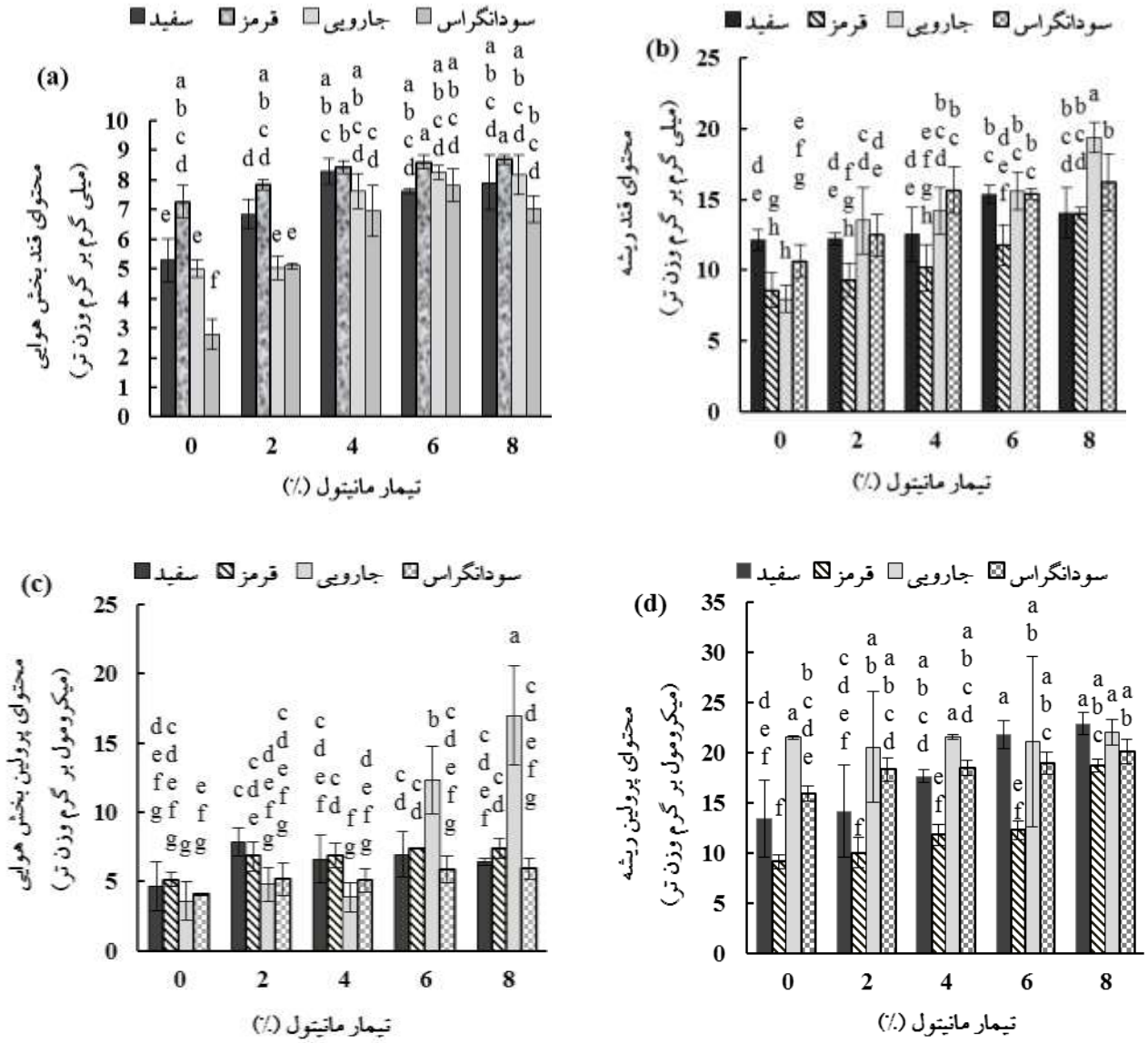


شکل ٦ – اثرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر میزان جذب فلاونوئیدها در ارقام سورگوم: طول موج ۲۷۰ نانومتر(a)،۳۰۰ نانومتر (b) و ۳۳۰ نانومتر (c). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد($P\leq 0.05$).

مهری و همکاران (۱۳۹۳) و در عدس (Muscolo *et al.*, 2014) مشاهده شده است. افزایش تجمع پرولین ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و پرولین دهیدروژناز همراه با افزایش فعالیت آنزیم آلفا گلوتامیل کیناز باشد (Parida and Das, 2005). پژوهشی در شرایط کشت مزرعه بر روی ۹ رقم سورگوم انجام گرفت و نتایج نشان داد که گونه‌های مقاوم میزان پرولین و قند بیشتری داشتند (کاظم‌زاده‌حقیقی، ۱۳۸۷).

تنش اسمزی تغییرات کمی و کیفی را در میزان پروتئین‌های محلول سلولها القا می‌کند (Wimmer *et al.*,2003). پروتئین‌های زیادی در گیاهان شناخته شده‌اند که در تنش خشکی بیان می‌شوند و حتی بسیاری از پروتئین‌هایی که جزء متابولیسم‌های اصلی گیاهان هستند، در شرایط تنش خشکی، افزایش بیان نشان می‌دهند. افزایش تجمع پروتئین تحت تنش اسمزی گاه به منظور تولید ماده ذخیره نیتروژن صورت می‌گیرد تا در فرایندهای متابولیکی در تنش اسمزی مورد مصرف گیاه قرار گیرد (Pareek *et al.*, 1997). از جمله پروتئین‌هایی که در تنش اسمزی در گیاهان میزان آنها افزایش پیدا می‌کند، پروتئین‌های مرتبط با پاتوژن (Patogen related protein)، پروتئین شوک حرارتی یا HSP ها، LEA ها، دهیدرین‌ها، پروتئین انتقال دهنده لیپید (LTP)، پروتئین‌های دخیل در اصلاح و حفاظت از آسیب مانند پروتئینازها، پروتئین‌های مربوط به سیستم دفاعی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین‌های دخیل در سنتز محافظت کننده‌های اسمزی و پروتئین‌های دخیل در فرآیندهای

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]



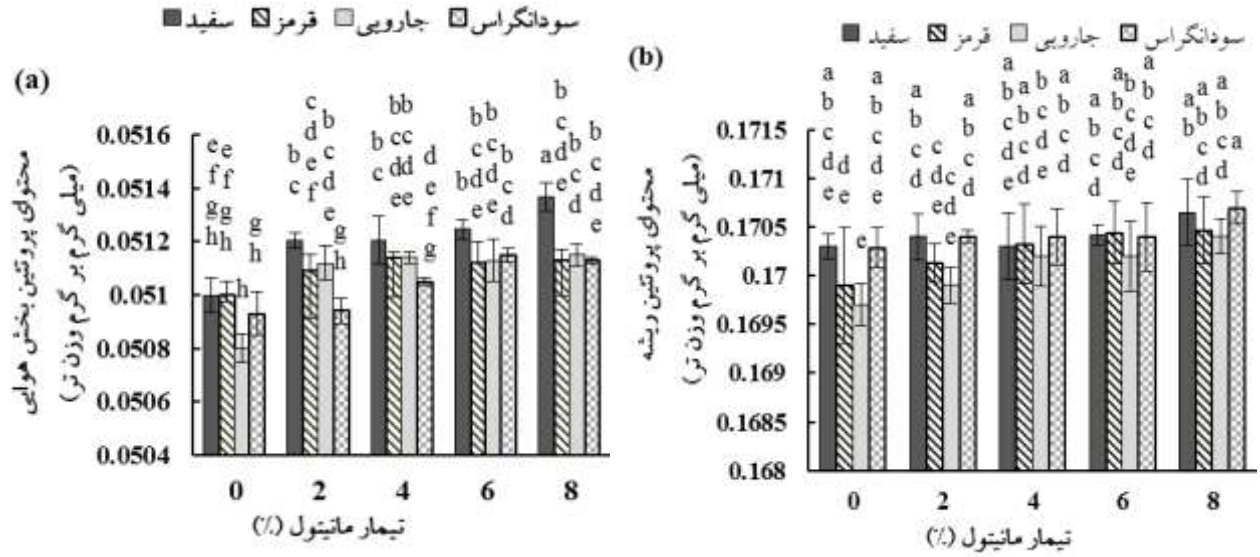
شکل ۷ – تاثیرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر محتوی قند و پرولین ارقام سورگوم: محتوی قند اندام هوایی (a)، محتوی قند ریشه (b)، محتوی پرولین اندام هوایی (c) و محتوی پرولین ریشه (d). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

متابولیکی سلولی می‌باشند (Shavallikhan *et al.* 2007).

در این پژوهش در اندام هوایی ارقام سورگوم با افزایش تنش خشکی تغییراتی در میزان پروتئین کل دیده می‌شود که در اندام هوایی رقم سفید، تنش خشکی ۸ درصد (مانیتول) افزایش معنی‌داری را نسبت به سطوح خشکی پایین‌تر نشان می‌دهد. در سودانگراس، غلظت ٦ درصد مانیتول باعث افزایش معنی‌دار میزان پروتئین اندام هوایی نسبت به شاهد شده است. پروتئین اندام هوایی رقم جارویی در غلظت ۲ درصد مانیتول و بالاتر نسبت به شاهد افزایش معنی‌دارنشان داد ولی محتوی پروتئین اندام هوایی در رقم قرمز در غلظت ۲ درصد مانیتول و غلظتهای بالاتر افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد نشان نداد. محتوای پروتئین ریشه تمام ارقام سورگوم تغییرات معنی دار نسبت به شاهد نشان نداد. به‌جز اینکه در غلظت ۸ درصد مانیتول رقم جارویی نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشته است (شکل ۸ (a و b)).

افزایش پروتئین توسط Britto و همکاران (۲۰۱۱) بر روی گیاه پنج انگشت Vitax نشان داده شده است. افزایش میزان پروتئین تحت تنش خشکی در گندم نیز گزارش شده است

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]



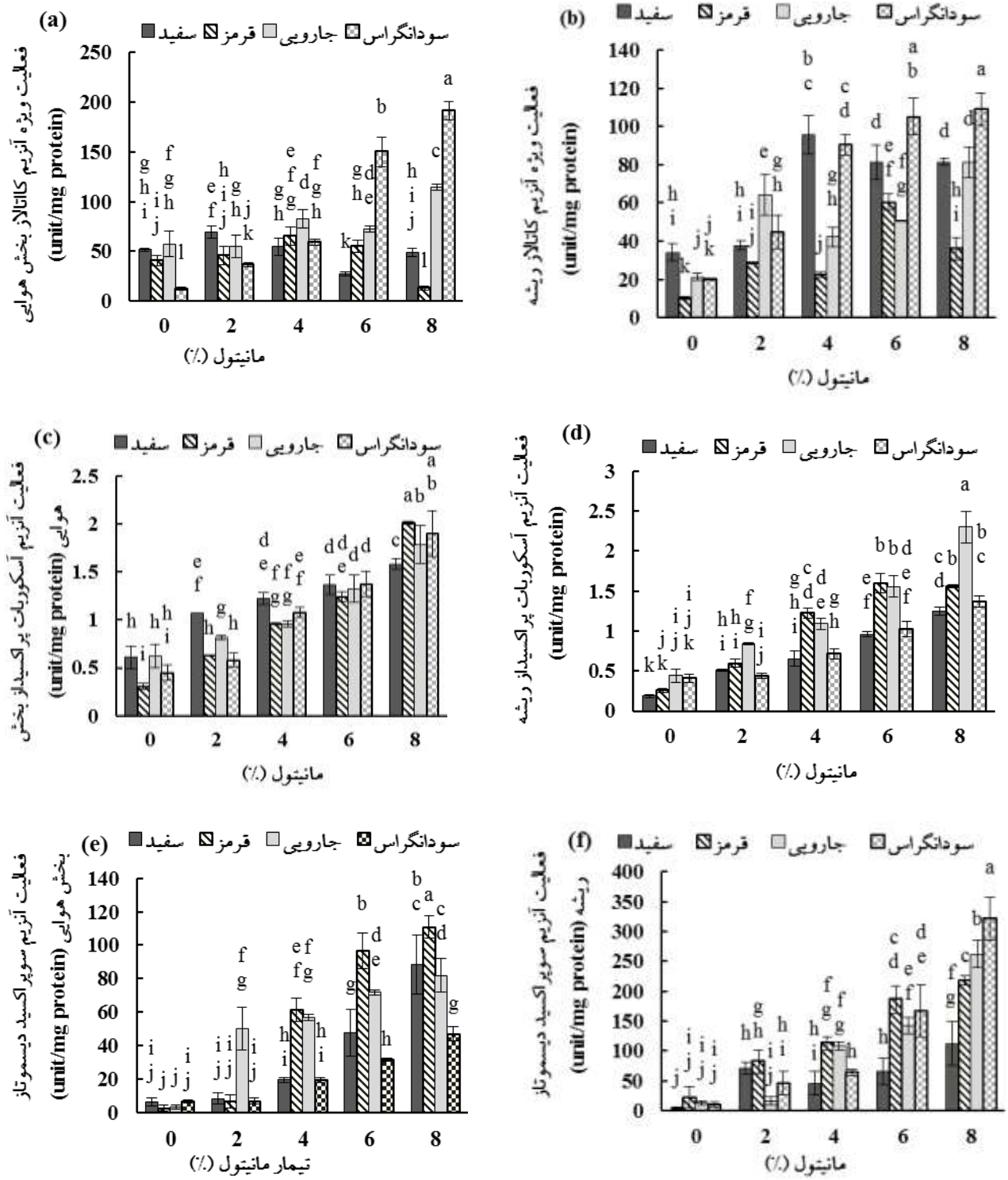
شکل ۸ – تاثیرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر محتوی پروتئین ارقام سورگوم: اندام هوایی (a) و ریشه (b). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

(Eivazi *et al.*, 2006). شاید دلیل کاهش محتوی پروتئین در بعضی از ارقام سورگوم در این پژوهش درغلظت‌های مختلف مانیتول به خاطر کاهش فتوسنتز و یا تخریب پروتئین باشد. از دلایلی که می‌توان برای کاهش پروتئین‌ها در بعضی از غلظتهای مانیتول در برخی ارقام سورگوم ذکر کرد این است که القای ژنهای کد کننده پروتئاز طی تنش خشکی افزایش می‌یابد. اثبات شده تنش خشکی بیان تعداد زیادی از ژنها را القا می‌کند که بعضی از آنها ژنهایی هستند که پروتئاز را کد می‌کنند که نقش مهمی در تجزیه پروتئین‌های غیر ضروری و آسیب دیده تحت شرایط تنش‌زا دارند (Bray, 2002). کاهش پروتئین در آزمایش بر روی گیاه شوید توسط ستایش مهر (۱۳۹۱) و در گندم توسط سی‌وسه مرده و همکاران (۱۳۹۱) گزارش شده است.

Anjum (۲۰۱٤) در تحقیقاتش بیان کرده که گیاهان در هنگام تنش خشکی علاوه بر کمک گرفتن از آنتی‌اکسیدانهای غیر آنزیمی، با افزایش آنزیمهای کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز گونه‌های فعال اکسیژن را تصفیه می‌کنند. در این تحقیق با افزایش شدت تنش خشکی افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز ارقام سورگوم هم در اندام هوایی و هم در ریشه مشاهده گردید. در بالاترین سطح خشکی یعنی ۸ درصد مانیتول حداکثر افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۹ (a، b، c، d، e و f)). اقزایش فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالا از دلایل مقاومت ارقام مختلف این گیاه در برابر تنش خشکی می‌باشد. پژوهش دیگری توسط Singh و Sharma (۲۰۱۳) بر روی دو گونه از سورگوم به نامهای GK-101و GK-909در شرایط کشت درون شیشه با مقادیر مختلف مانیتول جهت ایجاد شرایط تنش خشکی صورت گرفت و افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گزارش شد.

در مطالعاتی گزارش شده که رقم مقاوم به خشکی گندم فعالیت بالاتری از آسکوربات پراکسیداز را در مقایسه با رقم‌های حساس به خشکی گندم تحت شرایط شدید تنش خشکی نشان می‌دهد (Khanna-Chopra and selote, 2007). بر اساس گزارش Ratnayaka و همکاران (۲۰۰۳) تنش خشکی باعث می‌گردد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاه کتان ٤۰ درصد و در گیاه آنودا ۲٦ درصد افزایش یابد. در مطالعه ای که زکایی‌خسروشاهی و همکارانش (۱۳۹۱) بر روی چند گونه از بادام انجام دادند نشان دادند که در بعضی از گونه‌های بادام در بالاترین سطح خشکی، بیشترین افزایش در فعالیت سه آنزیم نام برده شده در برگ مشاهده شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]



شکل ۹ – اثرغلظتهای مختلف مانیتول (تنش خشکی) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ارقام سورگوم: کاتالاز اندام هوایی (a)، کاتالاز ریشه (b)، آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی (c)، آسکوربات پراکسیداز ریشه (d)، سوپراکسیددیسموتاز اندام هوایی (e) سوپراکسیددیسموتاز ریشه (f). مقادیر میانگین سه تکرار بوده و حروف نامشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی:

در اثر افزایش تنش خشکی، در ٤ رقم سورگوم (سفید، قرمز، جارویی و سودانگراس) درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی کاهش یافت. میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

کارتنوئید کاهش ولی جذب فلاونوئید و میزان آنتوسیانین در اندام هوایی گیاهان تحت تنش افزایش نشان داد. افزایش تنش خشکی موجب افزایش محتوی قند، پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در اندام هوایی و ریشه گردید. بر اساس درصد جوانه‌زنی رقم قرمز حساس و رقم سودانگراس متحمل نشان داده شد. در مجموع می‌توان گفت ارقام مختلف سورگوم مورد مطالعه با تغییراتی در فاکتورهای رشد، میزان رنگدانه‌ها، قندهای محلول، پروتئین، پرولین و آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی و غیرآنزیمی سازوکارهای متفاوتی را در جهت تحمل به تنش خشکی به کار گرفته‌اند، اما به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالا از دلایل اصلی مقاومت ارقام مختلف این گیاه در برابر تنش خشکی باشد.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان مقاله از قطب تنش دانشگاه اصفهان و دانشگاه پیام نور تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع:

خاکشور مقدم، ز. لاهوتی، م. و گنجعلی، ع. (۱۳۹۰) بررسی اثرات تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر جوانه‌زنی و خصوصیات مورفولوژیکی گیاه شوید (*Anethum graveolens l.*)، نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۲: ۱۹۳-۱۸۵.

زکایی‌خسروشاهی، م.ر. اثنی‌عشر،م. ارشادی، ا. (۱۳۹۲) پاسخ فیزیولوژیک ۵ گونه بادام به تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول، فناوری تولیدات گیاهی ۵: ۸۸-۷۳.

ستایش مهر، ز. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی بر میزان رشد، میزان پرولین و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه *Anethum graveolens L.*، اولین همایش ملی دانشجویی بیوتکنولوژی دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

سودایی‌زاده ، ح.، شمسایی، م.، تجمیلیان، م.، میرمحمدی میبدی، س.ع. و حکیم‌زاده، م.ع. (۱۳۹۵) بررسی اثر تنش خشکی بر برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مرزه، مجله فرایند و کارکرد گیاهی ۱۵: ۵-۱.

سی‌وسه مرده، ع.، خالوندی، م.، بهرام نژاد، ب. و روحی، ا. (۱۳۹۱) اثر تنش خشکی بر تبادلات گازی، پروتئین‌های محلول برگ و میزان کلروفیل در اکوتیپهای گندم سرداری، مجله علوم گیاهی زراعی ٤٣: ٥٨٨-٥٧٣.

عسکری، ه.، احسان‌زاده، پ. و زینلی، ح. (۱۳۹٤) پاسخ فیزیولوژیکی و رشدی دوازده ژنوتیپ رازیانه (*Foeniculum vulgare* mill.) به پتانسیل آب در مرحله جوانه‌زنی، فرایند و کارکرد گیاهی ٤: ١٦-١.

قربانعلی، ر.، دادخواه، ع. ر. و خوشنود یزدی، ا. (۱۳۹۳) ارزیابی تاثیر کمبود آب بر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی زوفا، نشریه دانش زراعت ۵: ۱۲-۱.

قربانلی، م.، بخشی خانیکی، غ.ر. و ذاکری، ا. (۱۳۹۰) بررسی اثر تنش خشکی بر ترکیبات آنتی‌اکسیدان در گیاه دارویی کتان (*Linum usitatissimum L.*)، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۷: ٦٥٨-٦٤٧.

کاظم‌زاده حقیقی، ع. (۱۳۸۷) ارزیابی مقاومت به شوری بر اساس انباشت پرولین و قندهای محلول در ۹ رقم سورگوم علوفه‌ای، فصلنامه زیست شناسی تکوینی ۱: ۲۳-۱۵.

مهری، ح.ر.، قبادی، س.، بانی نسب، بهرام.، احسان زاده، پ. و غلامی، م. (۱۳۹۳) بررسی برخی پاسخ های فیزیولوژیک چهار رقم انگور ایرانی به تنش خشکی در شرایط درون شیشه، مجله فرایند و کارکرد گیاهی ۳: ۱۲۵-۱۱۵.

Aebi, H., (1974) Catalase, In: Methods of Enzymatic Analysis (ed. Bergmeyer, H. U.) Pp. 673-677. Academic Press, New York.

Agati, G., Mattini, P., Goti, A. and Tattini, M. (2007) Chloroplast- located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytologist 174: 77–89.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

Al-Hassan, M., Martinez Fuertes, M., Sanchez, F. J. R., Vicente, O. and Boscaiu, M. (2015) Effects of salt and water stress on plant growth and on accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in Cherry Tomato. Notulate Botanicae Horti Agrobebetanici Cluj- Napoca 43: 1-11.

Anjum, N. A., Arena, c. and Singhgill, S. (2014) Reactive Oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during enviromental stress in plant. Frontiers in Enviromental Science 2: 1-13

Asada, K., (1994) Production and action of active oxygen in photosynthetic tissues. In: Causes of Photooxidative Stress in Plants and Amelioration of Defence System (eds. C.H., Foyer, Mullineaux, P. M.) Pp. 77-109. CRC Press, Boca Raton.

Bajji, M., Luttus, S. and Kinet, J. M. (2001) Water deficit effects of solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in these durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid condition. Plant Sciences 160: 669-681.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free prolin for water-stress studies. Plant and Soil 39:205-207.

Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A. and Tonkaz, T. (2014) The effect of water stress on some morphological physiological, and biochemical characteristics and bud successon apple and quince rootstocks. The Scientific World Journal.2014:1-9.

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 72:248-254.

Bray, E. A. (2002) Classification of genes differentially expressed during water-dificit stress in Arabiddopsis thaliana: an analysis using microarray and different expression data. Annual of Botany 89: 803-811.

Cakmak, I. and Horst, W (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase. Physiologia Plantarum. 83: 463-468.

Comba, M. E., Benavides, M. P., Tomaro, M. L (1998) Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. Australi Journal Plant Physiology 25: 665-671.

Egret, M. and Teuini, M. (2002) Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Expperimental Botany 48:43-49.

Eivazi, A., Abdollahi, S., Salekdeh, H., Majidi, I., Mohamadi, A. and Pirayeshfar, B. (2006) Effect of drought and salinity stress on quality related traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. Iranian Journal of Crop Science 7:252-267.

El-Sharkawi, H. M., K. A. Farghali, and S. A. Sayed (1989) Interactive Effects of Water Stress, Temperature and Nutrients in Seed Germination of Tree Desert Plants. Journal of Arid Environments 17: 307-317.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Cheema, Z. A., Cheema, M. A. and Khaliq, A. (2008) Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). Jornul of Agronomy and Crop Scince 194: 325–333.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009) Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Agronomy for Sustainable Development 29: 185–212.

Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. (1977) Superoxide dismutase.Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Hanson, A. D. and Hitz, W. D. (1982) Metabolic response of mesophytes to plant water deficit. Annual Review of plant physiology and plant Molecular Biology 33: 163-203

Ingram, J. and Bartels, D. (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 44: 377- 403.

Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007) Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in Catharanthus roseus is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. Colloids and Surfaces B: Biointerface 60: 201–206.

Jaleel, C. A., Sankar, B., Murali, P. V., Gomathinayagam, M., Lakshmanan, G. M. A. and Panneerselvam, R. (2008b) Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in Catharanthus roseus; impacts on ajmalicine accumulation. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 62: 105–111.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G. M. A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2008a) Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of Catharanthus roseus under soil water deficits. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 61: 298–303.

Karimi, G., Ghorbanli, M., Heidani, H., Kharari N. and Assareh, M. H. (2005) The effect of NaCl on growth, water relation, osmolytes and ion content in Kochia prostrate. Journal of Plant Biology 49: 301-304.

Kevin S. G. (2004) Natur's swiss army knife: The diverse protective roles of anthocyanin in leaves. Journal of Biomedicine and Biothechnology 5: 314- 320

Khalid, K. A., Teixeira Da Silva, J. A. and Cai, W. (2010) Water deficit and polyethylene glycol 6000 affects morphological and biochemical characters of *Pelargonium odoratissimum* (L.). HortScience 125: 159-166

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

Khanna-Chopra, R. and Selote, D. S. (2007) Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in droughtresistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany 60: 276-283

Khoshsokhan, F., Babalar, M., Chaghazardi, H. R. and Fatahi moghadam, M. R. (2011) Effect of salinity and drought stress on Germination indices of two thymus species. Cercetari Agronomice in Moldova 149: 27-35.

Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. (2008) QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (Helianthus annuus L.) under well-watered and water-stressed conditions. Plant Sciences 175: 565–573.

Koch, K. E. (1996) Carbohydrate modulated gene expression in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47: 509- 540.

Kovinich, n., Kayanja, G., Chanoca, A., Otegui, M. S. and Grotewold, E. (2015) Abiotic stress induce different localizations of anthocyanine in Arabidopsis. Plant Signaling and Behavior 10: e1027850

Krizek, D.T., Britz, S.J. and Mirecki, R.M. (1998).Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiationon growth of CV.New Red Fire Lettuce.Physiology Plantarum. 103: 1-7.

Lawlor, D. W., and Cornic, G. (2002) Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. Plant Cell Environment 25: 275-294.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chorophylls and carotenoids: pigments photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R. and Loureiro, M. E. (2002) Photochemical responses and oxidative stress in two clones of Coffea canephora under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany 47: 239-247.

Lin, K., Chao, P., Yang, C., Cheng, W., Lo, H. and Chang, T. (2006) The effects of flooding and drought stress on the antioxidant constituents in sweet potato leaves. Botanical Studies 47: 417-426.

Mackerness, S. A. H., John, C. F., Jordan, B. and Thomas, B. (2001) Early signalling components in ultraviolet-B responses: distinct role for different reactive oxygen species and nitric oxide. FEBS Lett 489: 237–242.

Masoumi, H., Masoumi, M., Darvish, F., Daneshian,J., Nourmohammadi, G. and Habibi, D. (2010) Ghange in several antioxidant enzymes activityand seed yield by water deficit stress in Soybeeb (*Glycin max l.*) cultivars. Notulate Botanicae Horti Agrobebetanici Cluj- Napoca 38: 86-94.

Massacci, A., Nabiev, S. M., Pietrosanti, L., Nematov, S. K., Chernikova, T. N., Thor, K. and Leipner, J. (2008) Response of the photosynthetic apparatus of cotton (Gossypium hirsutum) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. Plant Physiology and Biochemistry 46: 189-195.

Matysik, J., Alia, B. and Mohanty, M. (2002) Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Sciences 82: 525-532.

Mckersie, B. D., Bowley, S. R., Harjanto, E. and Leprince, O. (1996) Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. Plant Physiology 111: 1177-1181.

Mohammadi, N. and Mojaddam, M. (2014) The effect of water deficit stress on germination component of grain Sorghum cultivars. Iranian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences 4: 284-291.

Moradshahi, A. B., Eskandari, S. and Choldebani, B. (2004) Some physiological response of canola (*Brassica rapus* L.) to water deficit stress 161 under laboratory condition. Iranian Journal of Scince and Technology 28: 43-50.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.

Muscolo, A., Sidari, M., Anastasia, U., Santonoceto, C. and Maggio, A. (2014) Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes .Journal of Plant Intractions 9: 354-363

Nakano Y , Asada K (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Neill, S. J., and Burnett, E. C. (1999) Regulation of gene expression during water deficit stress. Plant Growth Regultion 29: 23-33.

Pareek, A., Singla, S. A. and Grover, A. (1997) Salt responsive proteins/genes in crop plants. In: Strategies for improving salt tolerance in 164 plant (eds. Jawal, P. K., Singh, R. P. and Gulati, A.) Pp. 395-391. Oxford and IBH publication, New Delhi.

Parida, A. K. and Das, A. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmwntal Safety 60: 324-349.

Ratnayaka H. H. Molin W. T. and Sterling T. M. (2003) Physiological and antioxidant responses of cotton and spurred anoda under interference and mild drought. Journal of Experimental Botany 54: 293-305.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Droughtinduced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Plant Physiology 161: 1189–1202.

Santos, M. A., Camara, T., Rodringuez, P., Clapros, I. and Tome, J. M. (1996) Influence of exogenous proline on embryogenic and organic maize callus subjected to salt stress. Plant Cell Tissue and Organ Culture 47: 59-65.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]

Serraj, R. and Sinclair, T. R. (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought condition. Plant Cell Environment 25: 333-341.

Sharma, P.K., and Hall, D.O. (1991) Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. Journal Plant Physiolgy 138: 614-619

Singh, G. and Sharma, n. (2013) Antioxidative response of varius cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor l.)* to drought stress. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 9: 139-153.

Smeeknes, S. (2000) Suger-induced signal transduction in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 54: 49-81.

Soliman, W. S. and El-Shaieny, A. A. H. (2014) Effect of saline water on germination and early growth stage of five Apiaceae species. African Journal of Agricultural Research 7: 713-719

Solomon, R. M., Douglas, T. J., Obata-Sasamoto, H. and Thorpe, T. A. (1986) Mannitol metabolism in cultured plant cells. Physiologia Plantarum 67: 365-369

Somogyi-Nelson, M. (1952) Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistery 195:19-29.

Specht, J. E., Chase, K., Macrander, M., Graef, G. L., Chung, J., Markwell, J. P., Germann, M., Orf, J. H. and Lark, K. G. (2001) Soybean response to water.A QTL analysis of drought tolerance. Crop Science 41: 493-509.

Taiz, L. and Zeiger.E. (1998) Plant Physiology.Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderrland, Massachusetts.

Takel, A. (2000) Seedling emergence and growth of sorghum genotypes under variable soil moisture deficit. Agronomy Journal 48: 95-102

Tattini, M., Galardi, C., Pinelli, P., Massai, R., Remorini, D. and Aghati, G. (2004) Different accumulation of flavenoids and hydrixycinnamates in leaves of *Igystrum vulgare* under excess light and drought stress. New Physiologist 163: 547-561.

Trotel-Aziz, P., Niogret, M. F. and Larher, F. 2000. Prolin level is partly under the control of abcisic asid in canola leaf discs during recovery from hyperosmotic stress. Physiologia Plantarum. 110: 376-383.

Vinyard, P. G., Moody, C. J. and Jacob, C. (2005) Oxidative activation of antioxidant defence. Trends in Biochemical Science 8: 453-461.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extera vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplast. Plant Physiology 68: 88-93.

Wimmer, M. A., Muhling, K. H., Lavchli, A., Brown, P. H. and Goldbach, H. E. (2003) The interaction salinity and bron taxicity affects the subcellular disttibution of ions and proteins in wheat leaves. Plant Cell and Environment 26: 231-236.

Yamada, T., Takatsu, Y., anabe, M., Kasumi, T. and Marubashi, W. (2003) Suppressive effect of trehalose on opoptotic cell death leading to petal senescence in ethylenein sensitive flowers of gladiolus. Plant Science 164: 213-221.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.30.8]