



Molecular and biochemical responses of sorghum (*Sorghum bicolor* L) to varying intensities and durations of salt stress

Hossein Kazemi^{1,2}, Atefeh Sabouri¹ ✉, Ali Aalami³ & Amin Abedi³

¹ Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

² Crop and Horticultural Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources, Research and Education Center, AREEO, Ahwaz, Iran.

³ Department of Plant Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: a.sabouri@guilan.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Sorghum (*Sorghum bicolor* L) is one of the most important cereals globally, serving as both food for humans and forage for livestock. Salinity stress is also one of the most important abiotic stresses, reducing plant growth and yield. Accordingly, this study was conducted to investigate the biochemical changes in two sorghum genotypes, one tolerant and one sensitive, under varying intensities and durations of salt stress, and to analyze the expression patterns of selected bZIP family genes and their correlation with plant defense mechanisms.

Materials and methods: This experiment was conducted as a factorial split-plot design within a randomized complete block design with three replications in 2021, as a pot experiment at the Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan. The salt stress treatments included four levels: control (water), 75, 125, and 175 mM NaCl, which were applied at the 4-5 leaf stage. Leaf samples were collected at 24, 48, 72, and 96 hours after the imposition of stress. Then, traits such as membrane stability, soluble proteins, catalase activity, and superoxide dismutase activity were evaluated. Real-time PCR was also used to conduct gene expression analyses in both tolerant and sensitive genotypes.

Results: The results showed that as the intensity of salinity stress increased, the activities of catalase and superoxide dismutase, as well as electrolyte leakage, increased. Catalase and superoxide dismutase activities increased by 2.7 and 4.9 times, respectively, and Electrolyte leakage increased by 75%. Soluble protein content decreased significantly under salt stress, by 55% compared to non-stressed conditions. Additionally, the gene expression analysis of *SORBI_3002G225100*, *SORBI_3003G332200*, *SORBI_3003G368300*, *SORBI_3010G081800*, and *SORBI_3004G293500* revealed significant differences in gene expression patterns between sampling times after treatment in both sensitive and tolerant genotypes. The relative expression levels of these genes increased during the salt stress treatment.

Conclusion: The findings indicate that sorghum, as a salt-tolerant plant, employs mechanisms such as enhanced expression of stress-related genes and increased activity of antioxidant enzymes to improve its tolerance to salt stress. Moreover, the tolerant cultivar "Fumen" performed better under salt stress than the sensitive cultivar, with higher antioxidant enzyme activities and greater expression of salt-tolerance-related genes. Therefore, the use of salt-tolerant genotypes can be a valuable strategy for improving environmental stress tolerance in plants.

Keywords: Abiotic stress, Antioxidants, Gene expression, Sorghum.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 25 Dec 2024, Revised: 04 Mar 2025, Accepted: 09 Apr 2025, Published online: 28 Jun 2025

Cite this article: Kazemi, H., Sabouri, A., Aalami, A. & Abedi, A. (2025). Molecular and biochemical responses of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) to varying intensities and durations of salt stress. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(2), 180-201. DOI: [10.22126/cbb.2025.12697.1117](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12697.1117)



© The Author(s).

[10.22126/cbb.2025.12697.1117](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12697.1117)

Publisher: Razi University



پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) تحت تاثیر شدت و زمان‌های مختلف اعمال تنش شوری

حسین کاظمی^{۱*}، عاطفه صبوری^۱، علی اعلمی^۲ و امین عابدی^۳

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

^۲ بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

^۳ گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: a.sabouri@guilan.ac.ir

چکیده

مقدمه: ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) از مهم‌ترین غلات در سراسر جهان است که به‌عنوان غذای انسان و علوفه دام استفاده می‌شود. تنش شوری نیز از مهمترین تنش‌های غیر زیستی می‌باشد که موجب کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود. بر این اساس این تحقیق به‌منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی در دو رقم متحمل و حساس ذرت خوشه‌ای تحت تاثیر شدت و مدت زمان اعمال تنش شوری و تجزیه و تحلیل الگوی بیان ژن‌های منتخب خانواده bZIP و ارتباط آن‌ها با سازوکارهای دفاعی گیاه در ذرت خوشه‌ای اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به صورت طرح فاکتوریل اسپلت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰ به‌صورت آزمایش گلخانه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان اجرا شد. تنش شوری شامل چهار سطح شاهد (آب)، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که در پایان مرحله ۵-۴ برگی اعمال شد. نمونه‌های برگ در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش جمع‌آوری شدند. سپس صفتهایی مانند پایداری غشای سلولی، پروتئین‌های محلول، فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ارزیابی شدند. میزان بیان ژن‌ها نیز از طریق روش Real-Time PCR در ارقام متحمل و حساس بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و نشی یونی روند افزایشی داشتند. در این شرایط فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب ۲/۷ و ۴/۹ برابر و نشی یونی ۷۵ درصد افزایش یافت. محتوای پروتئین‌های محلول نیز (۵۵ درصد) تحت شرایط تنش شوری به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین نتایج بررسی میزان بیان ژن‌های *SORBI_3002G225100*، *SORBI_3003G332200*، *SORBI_3003G368300*، *SORBI_3010G081800* و *SORBI_3004G293500* نشان داد که بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری پس از اعمال تیمار تنش شوری در ارقام حساس و متحمل تفاوت معنی‌داری وجود داشت و میزان بیان نسبی ژن‌های مورد بررسی در ارقام متحمل و حساس در طول تنش شوری روند افزایشی داشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان دریافت که ذرت خوشه‌ای به‌عنوان یک گیاه متحمل به شوری از سازوکارهایی همچون افزایش بیان ژن‌های مرتبط با تنش و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای افزایش تحمل به تنش شوری استفاده می‌کند. این تحقیق همچنین نشان داد که رقم متحمل فومن به‌ویژه در شرایط تنش شوری عملکرد بهتری نسبت به رقم حساس از خود نشان داد. به‌طوری که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و بیان ژن‌های مرتبط با تحمل شوری در این رقم بیش‌تر بود. در نتیجه، استفاده از ارقام متحمل به شوری می‌تواند به‌عنوان یک راهکاری مفید در بهبود تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان معرفی شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، بیان ژن، تنش غیرزیستی، سورگوم.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۵ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۱۲/۱۴ **پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۱/۲۰، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۰۴/۰۷

استناد: کاظمی، ح.، صبوری، ع.، اعلمی، ع. و عابدی، ا. (۱۴۰۴). پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) تحت تاثیر شدت و

زمان‌های مختلف اعمال تنش شوری. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۴(۲)، ۱۸۰-۲۰۱. DOI: [10.22126/cbb.2025.12697.1117](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12697.1117)



مقدمه

تنش شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی می‌باشد که بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی در سطح جهان را به خود اختصاص می‌دهد (Mishra et al., 2023). این تنش با کاهش رطوبت خاک و ایجاد سمیت به دلیل سطوح بالای سدیم مانع رشد گیاه می‌شود (Munns & Tester, 2008). همچنین وسعت اراضی شور به دلیل تغییرات آب و هوایی، شیوه‌های کشاورزی و فعالیت انسانی روز به روز در حال افزایش می‌باشد (Seleiman, 2022). ترکیبی از عوامل مختلف تنش غیرزیستی، از جمله شوری، خشکی، و تنش فلزات سنگین، می‌تواند اثرات منفی بر رشد، نمو و تولید مثل گیاهان دارند (Venancio et al., 2023). بر اساس برآوردهای به‌عمل آمده، سامانه‌های کشاورزی تا سال ۲۰۵۰، برای افزایش تولید محصولات، باید بهره‌وری را به میزان ۷۰ تا ۱۱۰ درصد افزایش دهند تا نیازهای جمعیت رو به رشد جهانی را برآورده سازند (Abudulai et al., 2022). در این راستا از دیدگاه ژنتیک و به‌نژادی، شناسایی سازوکارهای مولکولی و فیزیولوژیک جهت افزایش توان ژنتیکی و افزایش بهره‌وری محصولات تحت شرایط تنش بسیار مهم است.

ذرت خوشه‌ای (*Sorghum bicolor* L.) گیاهی C₄ و یکی از پنج محصول مهم در سراسر جهان است که به‌عنوان غذای انسان و علوفه دام در بیش از ۹۸ کشور در سراسر جهان استفاده می‌شود (Iqbal, 2015; Khoddami et al., 2023). ذرت خوشه‌ای نسبت به

سایر غلات به دلیل نیاز آبی و غذایی کم‌تر مقرون به صرفه‌تر است. این محصول عمدتاً در مناطق خشک و نیمه خشک با درجه حرارت بالا و بارندگی کم کشت می‌شود. علاوه بر این، ذرت خوشه‌ای را می‌توان در مناطقی با شوری نسبتاً بالا استفاده کرد (Khoddami et al., 2023; Liaquat et al., 2024). با این حال، مشاهده شده است که پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف ذرت خوشه‌ای به شوری متفاوت است (Mansour et al., 2021; Rajabi Dehnavi et al., 2024). بنابراین به‌دلیل ویژگی‌های ذکر شده، ذرت خوشه‌ای به‌عنوان گیاه مدل برای مطالعات ژنتیکی، مورفولوژیک و فیزیولوژیک تحمل به تنش در گونه‌های غلات محسوب می‌شود (Kapanigowda et al., 2012; Tari et al., 2013).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در سامانه‌های حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند و اولین راه دفاعی در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند. در گیاهان عالی سامانه حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن از چندین آنزیم آنتی‌اکسیدان تشکیل شده است که شامل گلوکاتایون پراکسیداز (GPX)، پراکسیداز (POX) کاتالاز (CAT)، سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) می‌باشد، که می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال را که در شرایط تنش تولید می‌شوند از بین ببرند (Caverzan et al., 2016; Mohammadkhani and Heidari, 2007).

ذرت خوشه‌ای می‌تواند در به‌نژادی و بهبود تحمل به تنش در این گیاه بسیار مهم باشد. بنابراین این تحقیق به منظور بررسی تغییرات بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم متحمل و حساس ذرت خوشه‌ای تحت سطوح مختلف شوری و تجزیه و تحلیل الگوی بیان ژن‌های منتخب خانواده bZIP و ارتباط آن‌ها با سازوکارهای دفاعی گیاه در ذرت خوشه‌ای اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، تیمارها و نوع آزمایش

مواد گیاهی مورد استفاده در پژوهش حاضر شامل دو رقم فومن (متحمل به شوری) و سپیده (حساس به شوری) (Shakeri et al., 2017) ذرت خوشه‌ای بود که از مؤسسه تحقیقات اصلاح و نهال و بذر تهیه شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۴۰۰ در گلخانه با تهویه طبیعی و آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان به‌صورت گلدانی (با ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر و قطر ۳۰ سانتی‌متر) انجام شد. با توجه به تعداد زیاد ترکیبات تیماری، به‌منظور کنترل خطای آزمایشی و افزایش دقت مقایسه تیمارها، از طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد تا امکان اندازه‌گیری یکنواخت صفات فیزیولوژیکی در هر بلوک فراهم گردد. ترکیب تیماری رقم در تنش شوری به‌عنوان فاکتور اصلی و مراحل نمونه‌برداری به‌عنوان سطوح فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. تنش شوری شامل چهار سطح شاهد (آب)، ۷۵، ۱۲۵ و ۱۷۵ میلی‌مولار

فاکتورهای رونویسی (TF^1) خانواده bZIP یکی از بزرگترین خانواده‌های TF را تشکیل می‌دهند که به‌عنوان تنظیم‌کننده ژن‌ها در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، بلوغ، بذر، رشد گل و دفاع از عوامل بیماری‌زا شناخته شده‌اند (Baillo et al., 2019). محققین نشان دادند که TF‌های bZIP نقش مهمی در مسیر سیگنالینگ ABA دارند. برای نمونه، افزایش بیان سریع ژن‌های *LEA* و *Rab16* ناشی از ABA در گیاه برنج موجب افزایش قابل توجه بیان ژن *OsbZIP42* شد. بیان بیش از حد *OsbZIP42* نیز به‌دلیل تغییرات در سیگنال‌دهی ABA تحمل گیاهان تراریخته را به تنش خشکی افزایش داد (Joo et al., 2019). یون و همکاران (Yoon et al., 2017) نشان دادند که بیان ژن *OsbZIP66* توسط خشکی، شوری و ABA در برنج افزایش یافت و موجب تحمل بیش‌تر به شرایط تنش گردید. در مطالعه دیگری، بیان بیش از حد ژن *EcbZIP17* از ارزن انگشتی در گیاهان تنباکوی تراریخته باعث افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی و بهبود رشد و عملکرد گیاه شد (Ramakrishna et al., 2018).

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در درک مسیرهای بیوشیمیایی و مولکولی پاسخ گیاهان به تنش شوری، مطالعات محدودی بر روی ترکیب همزمان در این سطح (بیوشیمیایی و مولکولی) در ذرت خوشه‌ای صورت گرفته است. از سوی دیگر، ارتباط بین تغییرات بیوشیمیایی و تنظیم بیان ژن‌های مهم در ایجاد تحمل به شوری در

¹ Transcription Factors

$$EL = \frac{EC_0}{EC_1} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، EL: نشت یونی، EC_0 و EC_1 : هدایت

الکتریکی قبل و بعد از قرار دادن در حمام آب گرم

جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان ابتدا عصاره آنزیمی تهیه گردید، به این منظور یک گرم بافت تازه برگ در یک هاون چینی محتوای سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با $pH=7.2$ که شامل اتیلن دی آمین تتراستیک اسید (EDTA) ۱ میلی‌مولار، فنیل متان سولفونیل فلوراید (PMSF) ۱ میلی‌مولار و پلی وینیل پیرولیدون (PVP) ۱ درصد بود، سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار در ۱۴۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفت. از محلول رویی برای سنجش فعالیت فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 (کاهش مقدار H_2O_2) در ۲۴۰ نانومتر و با روش Dhindsa و همکاران (Dhindsa et al., 1981) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با $pH=7$ و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و عصاره آنزیمی بود. شاهد برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر شامل مخلوط واکنش اما فاقد عصاره آنزیمی بود. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیم (NBT) در ۵۶۰ نانومتر انجام گرفت (Giannopolitis and Ries, 1977). مخلوط واکنش نمونه‌ها شامل بافر

کلرید سدیم بود که برای اعمال تنش شوری ابتدا با استفاده از آب مقطر محلول‌های مختلف بر اساس سطح‌های مختلف تنش تهیه شد و سپس بر اساس مرحله فنولوژیک رشد گیاه در مرحله ۴-۵ برگی آبیاری با آب شور انجام شد و در نهایت نمونه‌های برگ در ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از اعمال تیمارهای تنش به سرعت از گیاهان شاهد و تحت تنش جمع‌آوری شد و پس از منجمد شدن در نیتروژن مایع، تا زمان اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (Kafi et al., 2011; Swami et al., 2011). میزان بیان ژن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و تحت تنش شوری از طریق روش Real-Time PCR در ارقام متحمل و حساس بررسی شد.

برای محاسبه پایداری غشای سلولی از سنجش میزان نشت یونی به روش هو و همکاران (Hu et al., 2010) استفاده شد. به این منظور ابتدا در شیشه‌های درب‌دار آب مقطر ریخته و سپس از برگ‌ها دیسک‌هایی تهیه کرده و برگ‌ها به‌طور کامل در آب غوطه‌ور شدند. در سه شیشه آب مقطر ریخته و به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از این مدت هدایت الکتریکی (EC) توسط دستگاه EC متر اندازه‌گیری شد و در مرحله بعد دو ساعت در حمام آب گرم (۹۵ درجه سلسیوس) قرار داده و پس از سرد شدن EC آنها بار دیگر اندازه‌گیری و نشت یونی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

استخراج RNA، آغازگرهای مورد استفاده و تجزیه

و تحلیل بیان ژن

ده جفت آغازگر اختصاصی برای مطالعه الگوهای بیان ژن‌های هاب و خانواده bZIP در ذرت خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزارهای Primer3 و Oligo طراحی شدند (Rychlik, 2007; Kiarash *et al.*, 2018). توالی آغازگرها در جدول ۱ ارائه شده است. علاوه بر این، یک جفت آغازگر اختصاصی برای ژن سرین/ترئونین-پروتئین فسفاتاز (PP2A) به‌عنوان ژن خانه‌دار در نظر گرفته شد (Sudhakar Reddy *et al.* 2016; Sanjari *et al.* 2019). استخراج RNA از نمونه‌ها با استفاده از محلول RNXplus و حذف آلودگی DNA به وسیله آنزیم DNase I مطابق شیوه‌نامه شرکت سیناکلون انجام گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت (RT5201) CinnaGen First Strand cDNA Synthesis Kit انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی (qRT-PCR) با استفاده از کیت Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix شرکت Thermo fisher انجام شد. تفاوت نسبی نمونه‌ی هدف در برابر نمونه تیمار نشده با معادله $2^{-\Delta\Delta Ct}$ محاسبه شد. ΔCt عبارت است از Ct ژن هدف که از Ct ژن مرجع کسر شده است.

فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷، NBT ۰/۰۷۵ میکرومولار، Na-EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۷۵ میکرومولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. برای سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر شاهد (برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر)، نیاز به نمونه کنترل نیز بود. واکنش در عصاره‌های تهیه شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با روشن کردن لامپ فلورسنت (۴۰W) آغاز شد و پس از ۸ دقیقه با خاموش کردن لامپ، واکنش متوقف گردید. لوله شاهد شامل موارد ذکر شده در فوق بود با این تفاوت که در آن، عصاره آنزیمی اضافه نگردید و در روشنائی نیز قرار نگرفت. در لوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکر شده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد ولی در نور قرار گرفت. بنابراین به دلیل عدم وجود آنزیم در کنترل، احیای NBT در حضور نور (احیاء نوری) به طور ۱۰۰ درصد انجام و تمام نیتروبلوتترازولیوم موجود در مخلوط واکنش در حضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان دهنده ۱۰۰ درصد احیای نوری NBT است و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد. جهت اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول از روش (Bradford, 1976) استفاده شد. به این منظور به لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده و سریعاً ورتکس گردید. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد و پروتئین‌های محلول با استفاده

جدول ۱- فهرست آغازگرهای مورد استفاده برای واکنش qRT-PCR در نمونه‌های ذرت خوشه‌ای

Table 1- List of primers used for qRT-PCR analysis in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) samples

شماره دسترسی Accession number	نماد ژن Gene symbol	آغازگر رفت Forward primer	آغازگر برگشت Reverse primer	طول قطعه Product length	دمای اتصال (°C) Annealing Temperature (°C)
SORBI_3004G293500	OsTPP1	ATGGTTTTAGAGGTTTCGCCC	GCTTCAGTAGTGTCCTTGGG	202	57
SORBI_3002G225100	OsZIP72	TTTGAAGGGATGATTCGGGG	GCCTGTTTCCTCTCCAGTTC	194	58
SORBI_3003G332200	HBF2	GTGGCAGACAAGTTGATGGA	GAGTTGGTACTTGGGTTCG	210	57
SORBI_3003G368300	BZIP12	GCAGCGACAGAAACGAATGA	ACAGGTGTCACTCGTTCCAA	189	57
SORBI_3010G081800	BZIP46	TGCCGTATCCCTTCGACAC	AGTTTGGCCACCTCAGCTTC	166	58
Housekeeping gene	PP2A	AACCCGCAAAACCCAGACTA	TACAGGTCGGGCTCATGGAAC	138	61

تجزیه‌های آماری

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم افزار SAS 9.1, USA تجزیه واریانس شدند و میانگین‌ها توسط آزمون LSD (حداقل اختلاف معنی‌دار) در سطح احتمال پنج درصد مقایسه گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک نشان داد که رقم‌های مورد بررسی، سطوح مختلف تنش شوری و زمان‌های مختلف اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۲). همچنین نتایج بررسی میزان بیان ژن‌ها نشان داد که بین زمان‌های مختلف پس از تیمار در ارقام حساس و متحمل تحت شرایط تنش شوری تفاوت معنی‌داری وجود داشت و میزان بیان نسبی ژن‌های مورد بررسی در ارقام در طول تنش شوری روند افزایشی داشت (شکل ۲).

فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و مقدار نشت یونی به‌ترتیب ۲۷۱، ۴۹۳ و ۷۵ درصد افزایش و محتوای پروتئین‌های محلول ۵۵ درصد در شرایط تنش نسبت به حالت بدون تنش کاهش یافت (جدول ۳). محققین با مطالعه تأثیر تنش خشکی و شوری بر عملکرد، ویژگی‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ذرت خوشه‌ای علوفه‌ای اظهار داشتند که تنش‌های خشکی و شوری موجب کاهش معنی‌دار تولید ماده خشک، غلظت کلروفیل‌های a، b و کاروتنوئیدها شد. همچنین بیان کردند که در ذرت خوشه‌ای در شرایط تنش شوری، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت (Emadi et al., 2022). نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) که سایر اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر محتوای پروتئین‌های محلول برگ‌ها در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشتند. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها محتوای پروتئین‌های محلول برگ ذرت

شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما با افزایش شدت تنش میزان پروتئین‌های محلول روند کاهشی داشت و تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف نمونه-برداری وجود داشت؛ به‌طوری که در شرایط تنش با گذشت زمان میزان پروتئین کاهش یافت و بالاترین میزان پروتئین در زمان نمونه‌برداری ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به‌دست آمد (شکل ۱).

آنزیم کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن است که افزایش فعالیت این آنزیم باعث مقاومت گیاه به شرایط تنش شده و در نهایت موجب افزایش عملکرد می‌گردد (HongBo *et al.*, 2006). نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) که سایر اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشتند. نتایج مقایسات میانگین برای ترکیبات تیماری نیز بیانگر این مطلب بود که با افزایش شدت تنش، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش یافت، به‌طوری که در شرایط تنش شوری بیش‌ترین فعالیت برای رقم متحمل فومن در زمان نمونه‌برداری ۹۶ ساعت پس از تنش و کم‌ترین فعالیت برای رقم حساس سپیده به‌دست آمد (شکل ۱). همچنین بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری پس از اعمال تنش در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز روند افزایشی داشت و تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری وجود داشت، به‌طوری که در سطوح مختلف تنش شوری با گذشت زمان

خوشه‌ای تحت سطوح مختلف تنش شوری در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در ارقام حساس و متحمل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، به‌طوری که بیش‌ترین محتوای پروتئین‌های محلول در حالت عدم تنش در رقم متحمل فومن و کم‌ترین محتوای پروتئین‌های محلول نیز در رقم حساس سپیده در شرایط تنش شوری ۱۷۵ میلی‌مولار به‌دست آمد (شکل ۱ الف). کاهش محتوای پروتئین تحت شرایط تنش شوری در نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و تغییر اسیدآمینه، فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط است (Taleh Ahmad and Haddad, 2010). همچنین گزارش‌هایی نیز مبنی بر افزایش محتوای پروتئین‌های محلول وجود دارد که با نتایج بدست آمده مطابقت ندارد. به‌عنوان مثال، پیری و همکاران (۱۳۹۵) نیز با بررسی عملکرد کمی و کیفی ذرت خوشه‌ای علوفه‌ای در سطوح مختلف شوری و آب آبیاری در سامانه آبیاری قطره‌ای زیرسطحی نشان دادند که با افزایش شدت تنش شوری و کاهش آب آبیاری درصد پروتئین گیاه، عملکرد و کارایی علوفه تر و خشک کاهش و مقدار کربوهیدرات و پرولین افزایش یافت. بسیاری از محققین نیز نشان دادند که تحت شرایط تنش‌های خشکی و شوری محتوای پروتئین گیاه افزایش می‌یابد که با نتایج مطالعه ما مطابقت نداشت (Doganlar *et al.*, 2010; De Santis *et al.*, 2021; Yaghoubi Khanghahi *et al.*, 2022). همچنین بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری پس از اعمال تنش در

میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت (شکل ۱ب). افزایش سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش‌های غیرزیستی به علت کاهش اثرات پراکسیداسیون در مقاومت گیاه به تنش نقش عمده‌ای ایفا می‌کند که در بسیاری از مطالعات گزارش شده است (Omid, 2010; Saed-Moucheshi, 2009; Wang et al., 2014; et al.) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. به نظر می‌رسد رقم متحمل فومن با داشتن فعالیت آنزیمی (کاتالاز) بیش‌تر در شرایط تنش شوری توانایی بیش‌تری برای مقابله با تنش از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که نقش مؤثری در افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری دارد و با کاهش آسیب اکسیداتیو، از کاهش رشد و عملکرد گیاه جلوگیری می‌کند. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تحت سطوح مختلف تنش شوری در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در ارقام حساس و متحمل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در زمان نمونه‌برداری ۴۸ ساعت پس از تنش در تیمار ۱۷۵ میلی‌مولار در رقم متحمل فومن و بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار ۱۲۵ میلی‌مولار تنش شوری در رقم حساس سپیده مشاهده شد (شکل ۱). این تفاوت بین ارقام نشان‌دهنده‌ی کارایی بیش‌تر سامانه آنتی‌اکسیدانی در رقم متحمل می‌باشد که ممکن است در القای تحمل بیش‌تر به شوری نقش داشته باشد. قابل ذکر

است بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری پس از اعمال تنش در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که بیانگر پایداری وضعیت اکسیداتیو در غیاب تنش می‌باشد. اما با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز روند افزایشی داشت و تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری وجود داشت به‌طوری‌که در شرایط تنش ملایم و متوسط با گذشت زمان میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت. بالاترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در زمان نمونه‌برداری ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به‌دست آمد اما در شرایط تنش شدید با گذشت زمان میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۱). محققین نیز با مطالعه پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش شوری در ذرت خوشه‌ای نشان دادند که با افزایش شدت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوبات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت که با نتایج مطالعه ما مطابقت داشت (Yilmaz et al., 2020).

غشاهای بیولوژیکی اولین هدف بسیاری از تنش‌های غیرزنده می‌باشند و نگهداری آماس و پایداری غشاها یکی از اجزاء اصلی تحمل به تنش در گیاهان می‌باشد (Farooq et al., 2009). نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۲) که سایر اثرات ساده و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر میزان فعالیت آنزیم نشت یونی در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشتند، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان نشت یونی در زمان نمونه‌برداری ۹۶ ساعت پس از تنش در تیمار ۱۷۵ میلی‌مولار در رقم

تحت شرایط تنش شوری تفاوت معنی‌داری وجود داشت (شکل ۲). بیان نسبی ژن *SORBI_3002G225100* تحت شرایط تنش شوری (۱۷۵ میلی مولار) نسبت به شاهد در مرحله ۵-۴ برگی در ارقام حساس و متحمل روند افزایشی را در طول تنش شوری داشت به طوری که بیش‌ترین بیان این ژن برای هر دو رقم حساس و متحمل در ۹۶ ساعت پس از تیمار مشاهده شد. همچنین کم‌ترین بیان نسبی ژن در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار برای رقم حساس سپیده به‌دست آمد. علاوه بر این، میزان بیان ژن ذکر شده، مشابه با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در رقم متحمل نسبت به رقم حساس تحت شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، رقم متحمل نشت یونی کم‌تری نسبت به رقم حساس نشان داد که این امر می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در تحمل بالاتر آن به تنش شوری باشد. همولوگ این ژن در برنج *OsZIP72* است که محققین نشان دادند که ژن *OsZIP72* می‌تواند به‌عنوان یک تعدیل‌کننده رونویسی با توانایی القای بیان ژن *OsHKT1* در پاسخ به تنش‌های محیطی از طریق مسیرهای تنظیمی وابسته به ABA عمل کند و منجر به تحمل گیاهان به تنش شوری شود (Baoxiang et al., 2021). مطالعات مختلف همچنین نشان دادند که افزایش بیان *OsZIP72* به طور قابل توجهی تحمل گیاهان را به تنش‌های غیرزیستی از جمله شوری را افزایش می‌دهند (Amir Hossain et al., 2010; Lu et al., 2009; Mathan et al., 2021).

حساس سپیده مشاهده شد. همچنین بررسی روند تغییرات بیانگر این مطلب بود که بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری پس از اعمال تنش در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما با افزایش شدت تنش میزان نشت یونی روند افزایشی داشت و تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف نمونه‌برداری وجود داشت به‌طوری که در سطوح مختلف تنش شوری با گذشت زمان میزان نشت یونی افزایش یافت و بالاترین میزان این صفت در زمان نمونه برداری ۹۶ ساعت پس از اعمال تنش به دست آمد (شکل ۱). این یافته‌ها نشان می‌دهد که پایداری غشاهای سلولی در طول زمان و تحت شدت‌های مختلف تنش شوری کاهش یافته و به‌ویژه در مراحل پایانی تنش شوری، بیش‌ترین آسیب به ساختار غشایی وارد شده است. از جمله مهم‌ترین دلایل افزایش نشت یونی در ارقام متحمل و حساس تحت شرایط تنش شوری می‌توان به اختلال عملکرد غشاء سلولی، کاهش معنی دار ضخامت دیواره برگ و سطح کل سلول‌های مزوفیل اشاره نمود (Petrov et al., 2012). نتایج تحقیقات پیشین نیز نشان داده‌اند که تنش شوری موجب افزایش نشت یونی می‌گردد، که با نتایج مطالعه ما مطابقت دارد (Umar et al., 2022; Hassan et al., 2024). به‌نظر می‌رسد رقم متحمل فومن با داشتن میزان نشت یونی کم‌تر در شرایط تنش شوری، توانایی بیش‌تری برای مقابله با تنش دارند.

نتایج مقایسه میانگین بیان نسبی ژن‌ها نشان داد که بین زمان‌های مختلف پس از تیمار در ارقام حساس و متحمل

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری تحت تنش شوری در ذرت

خوشه‌ای

Table 2. Analysis of variance for measured traits at different sampling times under salinity stress in sorghum (*Sorghum bicolor* L.)

میانگین مربعات Mean squares					منابع تغییرات
نشت یونی غشاء Electrolyte leakage	سوپراکسید دیسموتاز SOD	کاتالاز CAT	پروتئین‌های محلول Soluble proteins	درجه آزادی d.f	Source of variations
267.61**	0.68**	1.62**	0.16 ^{ns}	2	بلوک Block
4315.08**	98.94**	88.12**	743.90**	3	شوری (A) Salinity (A)
1304.93**	35.91**	16.74**	147.98**	1	رقم (B) Cultivar (B)
4.23 ^{ns}	7.93**	2.28**	6.87**	3	A×B
21.28	0.22	0.41	0.18	14	خطای 1 Error 1
131.6**	1.68**	4.57**	25.16**	3	زمان نمونه‌برداری (C) Sampling time (C)
18.31 ^{ns}	4.15**	0.50 ^{ns}	3.71**	9	A×C
0.16 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.25 ^{ns}	0.72*	3	B×C
1.38 ^{ns}	0.71**	0.11 ^{ns}	0.73**	9	A×B×C
11.46	0.23	0.31	0.28	48	خطای 2 Error 2
7.81	15.4	15.2	14.02		ضریب تغییرات (%) Coefficient of variations (%)

جدول ۳- میانگین و درصد تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در متوسط شرایط تنش شوری نسبت به بدون تنش

در ذرت خوشه‌ای

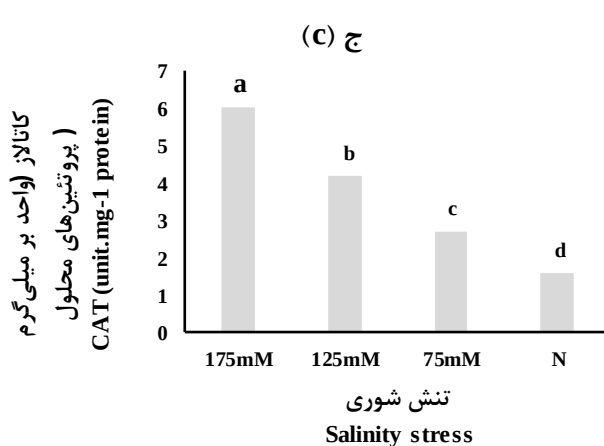
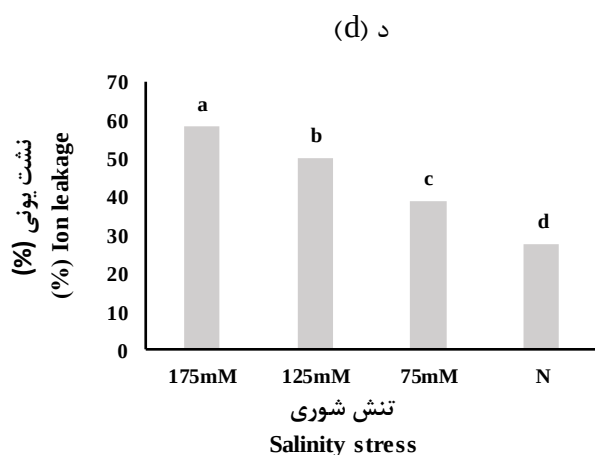
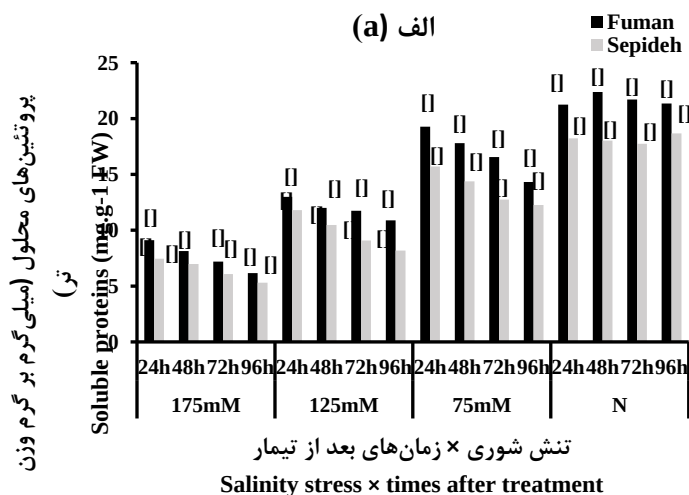
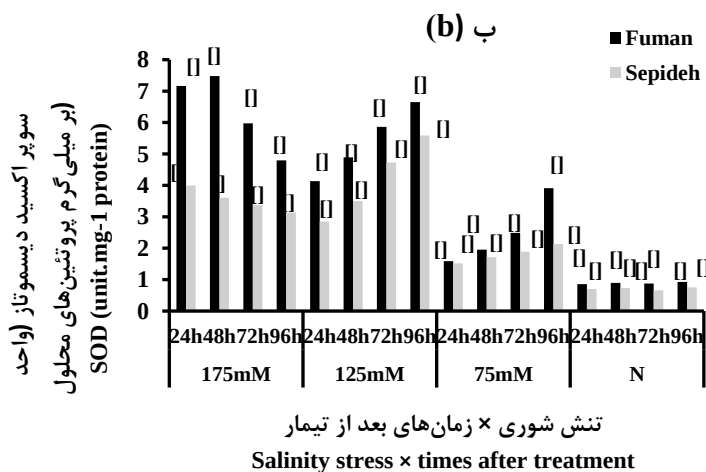
Table 3- Mean values and percent changes of measured traits under average salinity stress conditions compared to non-stress in sorghum.

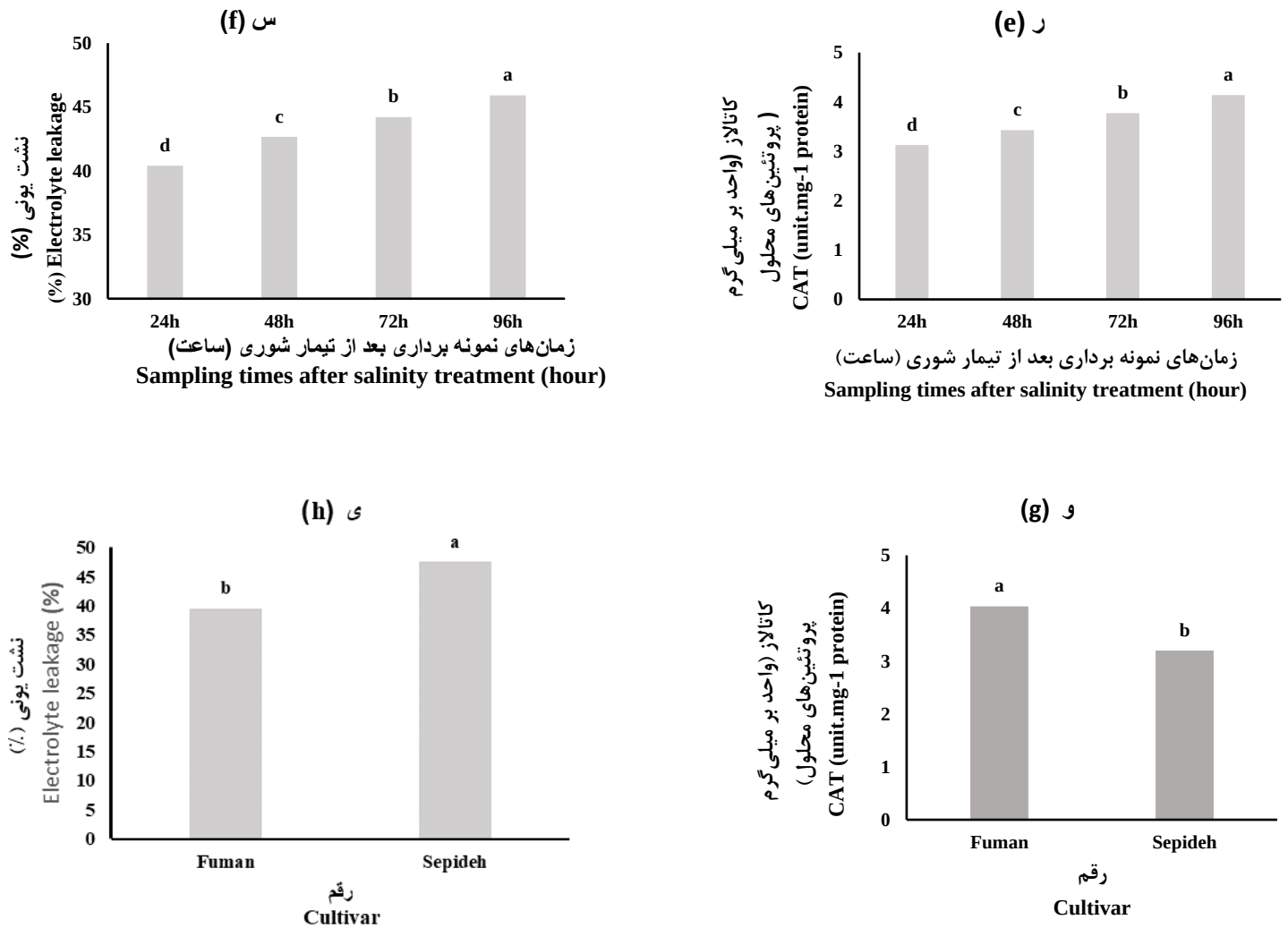
درصد تغییرات صفت (%)	میانگین	شرایط	صفت‌ها
Percent change relative to non-stress (%)	Average	Conditions	Traits
-55.77	19.92	بدون تنش Non-stress	محتوای پروتئین‌های محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Soluble proteins content (mg·g ⁻¹ FW)
	11.11	متوسط سطوح تنش شوری* Average of salinity stress levels	
+271.41	1.58	بدون تنش Non-stress	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول) Catalase activity (U·mg ⁻¹ Soluble Protein)
	4.29	متوسط سطوح تنش شوری Average of salinity stress levels	

+493.92	0.81	بدون تنش Non-stress	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین های محلول) Superoxide dismutase activity (U·mg ⁻¹ Soluble proteins)
	3.95	متوسط سطوح تنش شوری Average of salinity stress levels	
+75.79	27.61	بدون تنش Non-stress	نشت یونی (درصد) Electrolyte leakage (%)
	48.52	متوسط سطوح تنش شوری Average of salinity stress levels	

* برای هر صفت از اعداد بدست آمده در سطوح مختلف تنش میانگین گرفته شد.

* Mean values for each trait were calculated from data collected across all salinity stress treatments





شکل ۱- مقایسه میانگین ترکیبات تیماری تنش شوری در زمان (الف) برای محتوای پروتئین‌های محلول، (ب) برای فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در دو رقم ذرت خوشه‌ای، مقایسه میانگین سطح‌های تنش شوری (ج) برای کاتالاز و (د) برای میزان نشت یونی. مقایسه میانگین زمان‌های نمونه‌برداری بعد از تیمار شوری (ر) برای کاتالاز (س) برای نشت یونی. مقایسه میانگین دو رقم ذرت خوشه‌ای (و) برای کاتالاز و (ی) برای نشت یونی. ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

Figure 1- Comparison of the mean effects of salinity stress treatments over time for (a) soluble protein content and (b) superoxide dismutase (SOD) activity in two sorghum genotypes; comparison of salinity stress levels for (c) catalase (CAT) activity and (d) Electrolyte leakage; comparison of sampling times after stress treatment for (e) catalase and (f) Electrolyte leakage; and comparison of the two sorghum genotypes for (g) catalase and (h) Electrolyte leakage. Columns with at least one common letter are not significantly different at the 5% probability level according to the LSD test.

بیان نسبی ژن *SORBI_3003G332200* در ارقام حساس و متحمل در طول تنش شوری روند افزایشی داشت. بیش‌ترین بیان نسبی این ژن در زمان ۹۶ ساعت برای رقم متحمل فومن و کم‌ترین بیان نسبی ژن در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار برای رقم حساس سپیده به‌دست آمد (شکل ۲). بیان نسبی ارقام حساس و متحمل تحت شرایط تنش شوری در زمان ۹۶ نسبت به زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار افزایش معنی داری داشت. همچنین نتایج بررسی بیان این ژن نشان داد که رقم متحمل نسبت به رقم حساس پاسخ سریع‌تری نسبت به شرایط تنش داشتند، به‌طوری که میزان بیان این ژن در ۹۶ ساعت پس از تیمار در رقم حساس با میزان بیان ژن در ۷۲ ساعت پس از تیمار در رقم متحمل تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). ژن *SORBI_3003G332200* که عامل رونویسی *HBF2* را کد می‌کند، یکی از TF‌های مهم خانواده bZIP است که نقش مهمی در کمپلکس سیگنال‌دهی ABA تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی دارند و میزان بیان آن در مریستم نوک ساقه تحت شرایط تنش به طور قابل توجهی افزایش یافت (Sircar et al., 2022).

به‌همین ترتیب، نتایج تجزیه بیان ژن نشان داد که بیان نسبی ژن *SORBI_3003G368300* در زمان‌های مختلف پس از تیمار تنش شوری در ارقام متحمل و حساس تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج مقایسات میانگین نیز نشان داد که میزان بیان این ژن در ارقام متحمل و حساس به طور معنی‌داری در پاسخ به تنش

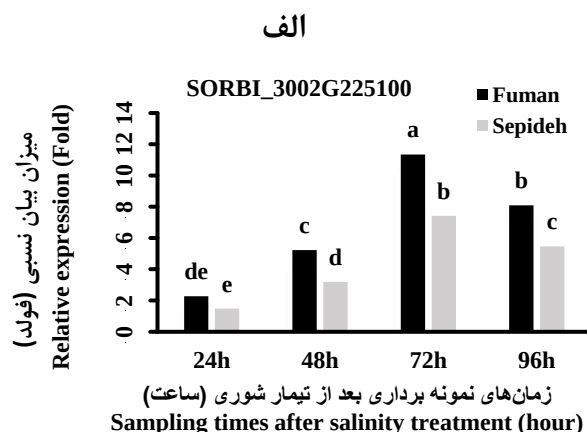
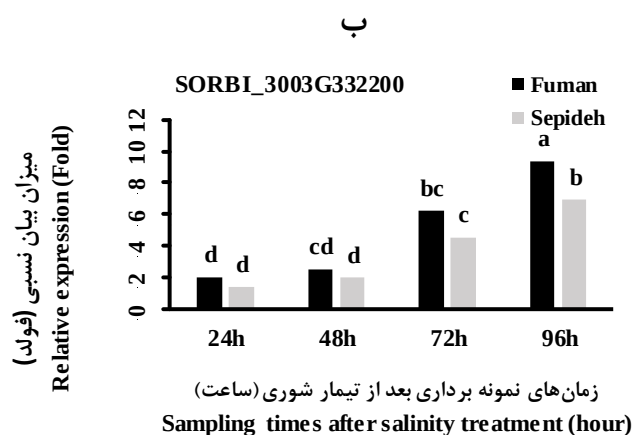
شوری افزایش یافت، به‌طوری که بیش‌ترین بیان ژن در زمان ۷۲ ساعت پس از تیمار برای رقم متحمل فومن به دست آمد (شکل ۲). همچنین بین زمان ۴۸ ساعت پس از تیمار در رقم حساس و ۲۴ ساعت پس از تیمار در رقم متحمل تفاوت معنی‌داری وجود نداشت که بیانگر پاسخ سریع‌تر ارقام متحمل برای مقابله با شرایط تنش بود. در این میان، ژن *SORBI_3003G368300* که عامل رونویسی bZIP12 را کد می‌کند، با تنظیم تعداد زیادی از ژن‌های دخیل در سیگنال‌دهی ABA و مسیرهای متابولیک، نقش کلیدی در برقراری ارتباط میان این دو سازوکار و تسهیل پاسخ گیاه به تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌نماید (Zhang et al., 2017). گزارش شده است که اهداف اصلی ژن *OsZIP12* اغلب ژن‌های *OsZIP23*، *OsZIP46* و *OsGAD1* (مرتبط با بسته شدن روزنه‌ها در طول تنش) (Mekonnen et al., 2016)، تجمع پلی-آمین و پرولین (Yong et al., 2017) و ژن‌های مختلف *PP2C* (*OsPP2C09*، *OsPP2C30* و *OsPP2C49*) است (Zhang et al., 2017). همچنین گزارش‌های مختلف نشان دادند که میزان بیان ژن *bZIP12* تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی و شوری به-طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Joo et al., 2014; Kappachery et al., 2021; Pa et al., 2022). شایان ذکر است که در پژوهش حاضر نیز میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، همسو با افزایش بیان نسبی ژن *SORBI_3003G368300* در رقم متحمل نسبت به رقم حساس، تحت شرایط شوری بیش‌تر بود و این امر نقش

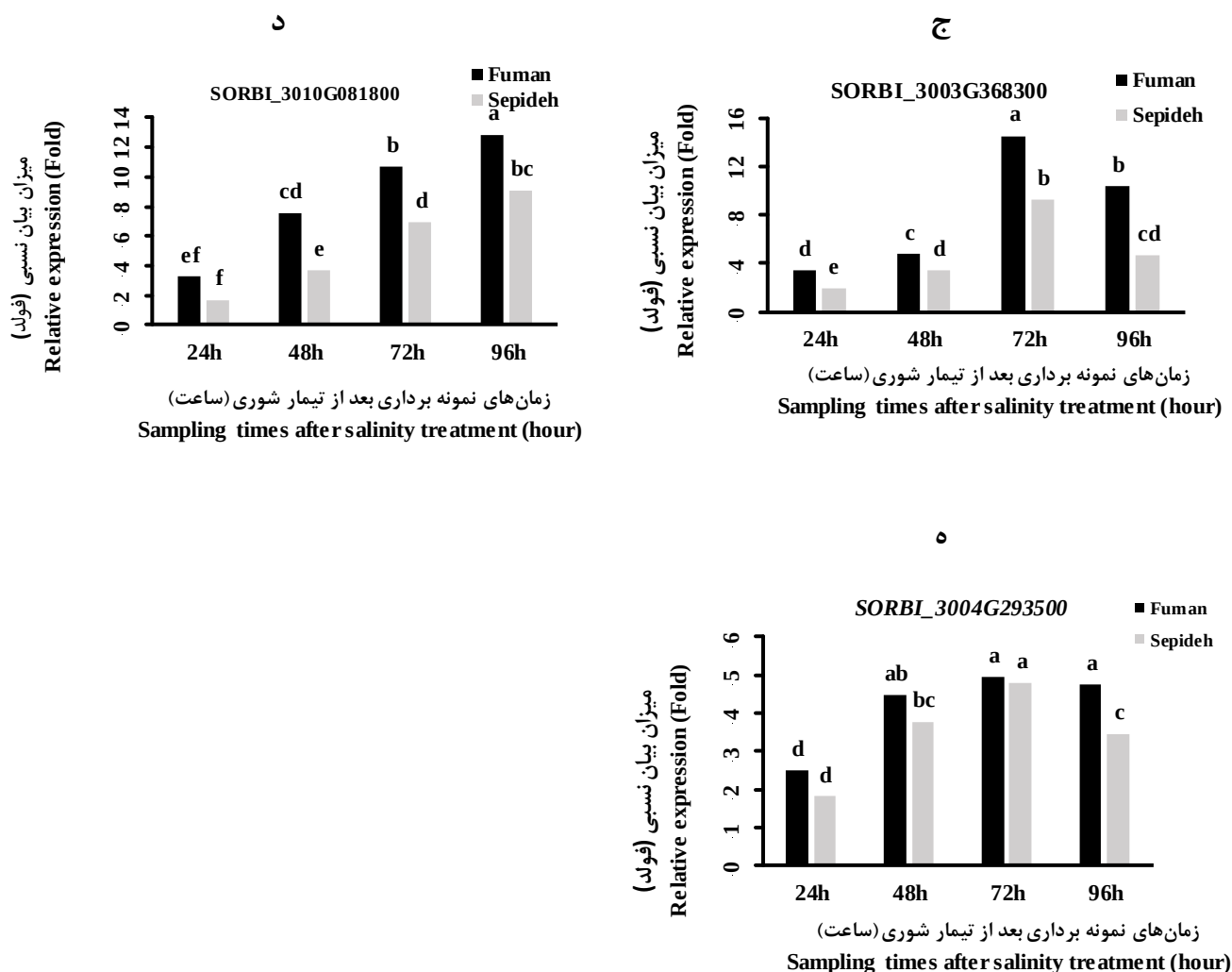
تحت تنش‌های مختلف غیرزیستی از جمله خشکی، شوری به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Chen et al., 2019; Cohen et al., 2019; Yao et al., 2018).

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بیان نسبی ژن *SORBI_3004G293500* نشان داد که بین زمان‌های پس از تیمار در ارقام حساس و متحمل تحت شرایط تنش شوری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین میزان بیان این ژن در زمان ۷۲ ساعت برای رقم متحمل فومن و کم‌ترین میزان بیان ژن در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار در رقم حساس سپیده به‌دست آمد (شکل ۲). ژن همولوگ *SORBI_3004G293500* در برنج (*OsTTP1*) به‌طور معنی‌داری رشد، عملکرد و تحمل به تنش‌های شوری، سرما، خشکی و اسمزی را با فعال کردن و برنامه‌ریزی مجدد ژن‌های پاسخ به تنش بهبود می‌بخشد (Ge et al., 2008; Kao, 2015; Wang et al., 2021).

مهمی در تحمل بالاتر رقم متحمل به تنش ایفا کرد.

بیان نسبی ژن *SORBI_3010G081800* نیز در ارقام متحمل و حساس در پاسخ به تنش شوری به‌طور قابل توجهی افزایش یافت و بیش‌ترین بیان این ژن در ۷۲ ساعت پس از تیمار مشاهده شد. علاوه‌بر این میزان بیان ژن ذکر شده در رقم متحمل نسبت به رقم حساس تحت شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲). ژن *SORBI_3010G081800* عامل رونویسی *bZIP46* را کد می‌کند. مطالعات پیشین نشان دادند که عوامل رونویسی خانواده *bZIP* (به‌طور عمده *bZIP12*، *bZIP23* و *bZIP46*)، نقش اساسی در تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی ABA دارند و از این طریق در ایجاد تحمل گیاهان به شرایط تنش مشارکت می‌کنند (Assmann et al., 2003; Christmann et al., 2007; Hose et al., 2000; Parent et al., 2009). محققین مختلف نیز اظهار داشتند که میزان بیان عامل رونویسی *bZIP46*





شکل ۲- بررسی بیان نسبی ژن‌های خانواده bZIP در دو رقم ذرت خوشه‌ای در زمان‌های مختلف پس از اعمال تیمار تنش شوری (۱۲۵ mM). سطح رونوشت هر ژن در هر رقم تحت شرایط نرمال (شاهد) به عنوان کالیبراتور هر مرحله نمونه‌برداری (۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تیمار) استفاده شد ژن *PP2A* ذرت خوشه‌ای به عنوان کنترل داخلی برای نرمال‌سازی انتخاب شد. ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

Figure 2 - Relative expression analysis of bZIP gene family members in two sorghum cultivars at different times after salt stress treatment (125 mM). The transcript level of each gene in each cultivar under normal conditions (control) was used as the calibrator for each sampling time point (24, 48, 72, and 96 hours after treatment), and the y-axis represents fold change. The sorghum *PP2A* gene was selected as the internal control for normalization. Columns denoted by the same letter do not differ significantly at the 5% probability level based on the LSD test.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان‌دهنده تأثیرات قابل‌توجه تنش شوری بر صفات‌های محتوای پروتئین‌های محلول، نشت یونی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و میزان بیان ژن‌ها در ارقام حساس و متحمل ذرت خوشه‌ای است. میزان بیان ژن‌های مرتبط با تنش شوری در رقم متحمل در مقایسه با رقم حساس بالاتر بود، که نشان‌دهنده نقش این ژن‌ها در بهبود تحمل به تنش است. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در رقم متحمل نسبت به رقم حساس تحت شرایط تنش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

علاوه بر این، رقم متحمل نشت یونی کم‌تری نسبت به رقم حساس نشان داد که این امر می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در تحمل بالاتر آن به تنش شوری باشد. در نتیجه، استفاده از ارقام متحمل به شوری مانند فومن می‌تواند به‌عنوان یک راهبرد مفید در بهبود تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان معرفی شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه گیلان برای حمایت‌های مادی و معنوی برای اجرای پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Abudulai, M., Nboyine, J.A., Quandahor, P., Seidu, A., Traore, F., & Abudulai, M. 2022. Agricultural intensification causes decline in insect biodiversity. *Global Decline of Insects*, 1, 43-64. DOI: 10.5772/intechopen.101360
- Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M., & Shahbazi, H. 2011. Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3), 236-246.
- Amir Hossain, M., Lee, Y., Cho, J.I., Ahn, C.H., Lee, S.K., Jeon, J.S., Kang, H., Lee, C.H., An, G., & Park, P.B. 2010. The bZIP transcription factor *OsABF1* is an ABA responsive element binding factor that enhances abiotic stress signaling in rice. *Plant molecular biology*, 72(4), 557-566. <https://doi.org/10.1007/s11103-009-9592-9>
- Assmann, S.M. 2003. OPEN STOMATA1 opens the door to ABA signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Trends in Plant Science*, 8(4), 151-153. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00052-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00052-9)
- Avila, R.G., Magalhães, P.C., da Silva, E.M., de Souza, K.R.D., Campos, C.N., de Alvarenga, A.A., & de Souza, T.C. 2021. Application of silicon to irrigated and water deficit sorghum plants increases yield via the regulation of primary, antioxidant, and osmoregulatory metabolism. *Agricultural Water Management*, 255, 107004. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2021.107004>
- Baillo, E.H., Kimotho, R.N., Zhang, Z., & Xu, P. 2019. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement. *Genes*, 10(10), 771. <https://doi.org/10.3390/genes10100771>
- Baoxiang, W., Yan, L., Yifeng, W., Jingfang, L., Zhiguang, S., Ming, C., Yungao, X., Bo, X., Bo, Y., Jian, L., & Jinbo, L. 2021. *OsbZIP72* is involved in transcriptional gene-regulation pathway of abscisic acid signal transduction by activating rice high-affinity potassium

- transporter *OsHKT1*. Rice Science, 28(3), 257-267. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2021.04.005>
- Blum, A. 2010. Drought resistance and its improvement. Plant breeding for water-limited environments, 53-152. New York, NY: Springer New York
- Bradford, M.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. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Caverzan, A., Casassola, A., & Brammer, A.P. 2016. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes. Abiotic and biotic stress in plants—recent advances and future perspectives involved in plant tolerance to stress. Intech, Croatia, 463-480.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., & Pereira, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. Functional plant biology, 30(3), 239-264. <https://doi.org/10.1071/FP02076>
- Chen, Y., Chen, Y., Shi, Z., Jin, Y., Sun, H., Xie, F., & Zhang, L. 2019. Biosynthesis and signal transduction of ABA, JA, and BRs in response to drought stress of Kentucky bluegrass. International Journal of Molecular Sciences, 20(6), 1289. <https://doi.org/10.3390/ijms20061289>
- Christmann, A., Weiler, E.W., Steudle, E., & Grill, E. 2007. A hydraulic signal in root-to-shoot signalling of water shortage. The Plant Journal, 52(1), 167-174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03234.x>
- Cohen, S.P., & Leach, J.E. 2019. Abiotic and biotic stresses induce a core transcriptome response in rice. Scientific reports, 9(1), 6273. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42731-8>
- De Santis, M.A., Soccio, M., Laus, M.N., & Flagella, Z. 2021. Influence of drought and salt stress on durum wheat grain quality and composition. Plants, 10(12), 2599. <https://doi.org/10.3390/plants10122599>
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P., & 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>
- Doganlar, Z.B., Demir, K., Basak, H., & Gul, I. 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. African Journal of Agricultural Research, 5(15), 2056-2065. DOI:10.5897/AJAR10.258
- Emadi, A., Alizadeh, O., Amiri, B., Pirasteh Anousheh, H., & Zare, M. 2022. Effect of drought and salinity stress on yield, biochemical characteristics and antioxidant enzyme activity of forage sorghum. Water Research in Agriculture, 36(2), 217-232 (In Persian). doi: 10.22092/jwra.2022.358226.919
- Farooq, A., Bukhari, S.A., Akram, N.A., Ashraf, M., Wijaya, L., Alyemeni, M.N., & Ahmad, P. 2020. Exogenously applied ascorbic acid-mediated changes in osmoprotection and oxidative defense system enhanced water stress tolerance in different cultivars of safflower (*Carthamus tinctorious* L.). Plants, 9(1), 104. <https://doi.org/10.3390/plants9010104>
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N.S.M.A., Fujita, D.B.S.M.A., & Basra, S.M. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In Sustainable agriculture, 153-188. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_12
- Ge, L.F., Chao, D.Y., Shi, M., Zhu, M.Z., Gao, J.P., & Lin, H.X. 2008. Overexpression of the trehalose-6-phosphate phosphatase gene *OsTPP1* confers stress tolerance in rice and

- results in the activation of stress responsive genes. *Planta*, 228(1), 191-201. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0729-x>
- Giannopolitis, C.N., & Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology*, 59(2), 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>
- HongBo, S., ZongSuo, L., & MingAn, S. 2006. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 47(2), 132-139. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2005.11.028>
- Hose, E., Steudle, E., & Hartung, W. 2000. Absciscic acid and hydraulic conductivity of maize roots: a study using cell-and root-pressure probes. *Planta*, 211(6), 874-882. <https://doi.org/10.1007/s004250000412>
- Hu, L., Wang, Z., Du, H., & Huang, B. 2010. Differential accumulation of dehydrins in response to water stress for hybrid and common bermudagrass genotypes differing in drought tolerance. *Journal of plant physiology*, 167(2), 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.07.008>
- Iqbal, M.A. 2015. Agronomic management strategies elevate forage sorghum yield: A Review. *Journal of Advanced Zoology*, 3, 1-6. DOI: 10.32604/phyton.2022.017365
- Jangra, M., Devi, S., Satpal, Kumar, N., Goyal, V., & Mehrotra, S. 2022. Amelioration effect of salicylic acid under salt stress in *Sorghum bicolor* L. *Applied biochemistry and biotechnology*, 194(10), 4400-4423. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03915-7>
- Joo, J., Lee, Y.H., & Song, S.I. 2014. Overexpression of the rice basic leucine zipper transcription factor *OsbZIP12* confers drought tolerance to rice and makes seedlings hypersensitive to ABA. *Plant Biotechnology Reports*, 8(6), 431-441. <https://doi.org/10.1007/s11816-014-0335-2>
- Joo, J., Lee, Y.H., & Song, S.I. 2019. *OsbZIP42* is a positive regulator of ABA signaling and confers drought tolerance to rice. *Planta*, 249(5), 1521-1533. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03104-7>
- Kafi, M., Nabati, J., Masoumi, A.L.I., & Mehrgerdi, M.Z. 2011. Effect of salinity and silicon application on oxidative damage of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.]. *Pakistan Journal of Botany*, 43(5), 2457-2462.
- Kao, C.H. 2015. Mechanisms of salt tolerance in rice plants: Compatible solutes and aquaporins. *Crop, Environment & Bioinformatics*, 12, 73-82.
- Kapanigowda, M.H., Payne, W.A., Rooney, L.W., & Mullet, J.E. 2012. Transpiration ratio in sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] for increased water-use efficiency and drought tolerance. *Journal of Arid Land Studies*, 21(2), 175-178.
- Kappachery, S., Sasi, S., Alyammahi, O., Alyassi, A., Venkatesh, J., & Gururani, M.A. 2021. Overexpression of cytoplasmic *Solanum tuberosum* Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene improves PSII efficiency and alleviates salinity stress in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Interactions*, 16(1), 398-410. <https://doi.org/10.1080/17429145.2021.1962420>
- Khoddami, A., Messina, V., Vadabali Venkata, K., Farahnaky, A., Blanchard, C.L., and Roberts, T.H. 2023. Sorghum in foods: Functionality and potential in innovative products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(9), 1170-1186. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1960793>
- Kiarash, J.G., Wilde, H.D., Amirmahani, F., Moemeni, M.M., Zaboli, M., Nazari, M., Moosavi, S.S., & Jamalvandi, M. 2018. Selection and validation of reference genes for normalization of qRT-PCR gene expression in wheat (*Triticum durum* L.) under drought

- and salt stresses. *Journal of Genetics*, 97(5), 1433-1444. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-1042-5>
- Liaquat, W., Altaf, M.T., Barutçular, C., Mohamed, H.I., Ahmad, H., Jan, M.F., & Khan, E.H. 2024. Sorghum: a star crop to combat abiotic stresses, food insecurity, and hunger under a changing climate: a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 24(1), 74-101. <https://doi.org/10.1007/s42729-023-01607-7>
- Lu, G., Gao, C., Zheng, X., & Han, B. 2009. Identification of *OsZIP72* as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice. *Planta*, 229(3), 605-615. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0857-3>
- Mansour, M.M.F., Emam, M.M., Salama, K.H.A., & Morsy, A.A. 2021. Sorghum under saline conditions: responses, tolerance mechanisms, and management strategies. *Planta*, 254, 1-38. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03671-8>
- Mathan, J., Singh, A., & Ranjan, A. 2021. Sucrose transport in response to drought and salt stress involves ABA-mediated induction of *OsSWEET13* and *OsSWEET15* in rice. *Physiologia Plantarum*, 171(4), 620-637. <https://doi.org/10.1111/ppl.13210>
- Mekonnen, D.W., Flügg, U.I., & Ludewig, F. 2016. Gamma-aminobutyric acid depletion affects stomata closure and drought tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, 245, 25-34. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.01.005>
- Mishra, A.K., Das, R., George Kerry, R., Biswal, B., Sinha, T., Sharma, S., Arora, P., & Kumar, M. 2023. Promising management strategies to improve crop sustainability and to amend soil salinity. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 962581. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.962581>
- Mohammadkhani, N., & Heidari, R. 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(21), 3835-3840.
- Munns, R., & Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59(1), 651-681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- Omid, H. 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. *American Journal of Plant Physiology*, 5(6), 338-349.
- Ozcur, O., Ozdemir, F., Bor, M., & Turkan, I. 2009. Physiochemical and antioxidant responses of the perennial xerophyte *Capparis ovata* Desf. to drought. *Environmental and experimental botany*, 66(3), 487-492. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.003>
- Pa, V., Vijayaraghavareddy, P., Uttarkar, A., Dawane, A., V, A., KC, B., Niranjana, V., MS, S., CV, A., Makarla, U., & Vemanna, R.S. 2022. Novel small molecules targeting bZIP23 TF improve stomatal conductance and photosynthesis under mild drought stress by regulating ABA. *The FEBS Journal*, 289(19), 6058-6077. <https://doi.org/10.1080/17429145.2021.1962420>
- Parent, B., Hachez, C., Redondo, E., Simonneau, T., Chaumont, F., & Tardieu, F. 2009. Drought and abscisic acid effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate: a trans-scale approach. *Plant physiology*, 149(4), 2000-2012. <https://doi.org/10.1104/pp.108.130682>
- Petrov, P.I., Kocheva, K.V., Petrova, A.S., Georgiev, G.I. 2012. Ion leakage and leaf anatomy of barley plants subjected to dehydration. *Genetics*, 2, 1-2.
- Piri, H., Ansari, H., & Parsa, M. 2016. Study of quantitative and qualitative performance of forage sorghum at different levels of salinity and irrigation water in subsurface drip

- irrigation system. *Water Research in Agriculture*, 30(4), 467-482. (In Persian) doi: 10.22092/jwra.2017.109010
- Rajabi Dehnavi, A., Zahedi, M., & Piernik, A. 2024. Understanding salinity stress responses in sorghum: exploring genotype variability and salt tolerance mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1296286. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1296286>
- Ramakrishna, C., Singh, S., Raghavendrarao, S., Padaria, J.C., Mohanty, S., Sharma, T.R., & Solanke, A.U. 2018. The membrane tethered transcription factor EcbZIP17 from finger millet promotes plant growth and enhances tolerance to abiotic stresses. *Scientific Reports*, 8(1), 2148. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19766-4>
- Rychlik, W. 2007. OLIGO 7 primer analysis software. *PCR primer design*, 35-59. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-528-2_2
- Saed-Moucheshi, A., Pakniyat, H., Pirasteh-Anosheh, H., & Azooz, M.M. 2014. Role of ROS as signaling molecules in plants. In *Oxidative damage to plants*, 585-620. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00020-4>
- Sanjari, S., Shirzadian-Khorramabad, R., Shobbar, Z.S., & Shahbazi, M. 2019. Systematic analysis of NAC transcription factors' gene family and identification of post-flowering drought stress responsive members in sorghum. *Plant cell reports*, 38(3), 361-376. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02371-8>
- Seleiman, M.F., Aslam, M.T., Alhammad, B.A., Hassan, M.U., Maqbool, R., Chattha, M.U., Khan, I., Gitari, H.I., Uslu, O.S., Roy, R., & Battaglia, M.L. 2022. Salinity stress in wheat: effects, mechanisms and management strategies. *Phyton*, 91(4). <https://doi.org/10.32604/PHYTON.2022.017365>
- Shakeri, E., Emam, Y., Tabatabaei, S.A., & Sepaskhah, A.R. 2017. Evaluation of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.) lines/cultivars under salinity stress using tolerance indices. *International Journal of Plant Production*, 11(1).
- Sircar, S., Musaddi, M., & Parekh, N. 2022. NetREx: network-based rice expression analysis server for abiotic stress conditions. *Database*, 2022, p.baac060. <https://doi.org/10.1093/database/baac060>
- Sudhakar Reddy, P., Srinivas Reddy, D., Sivasakthi, K., Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., & Sharma, K.K. 2016. Evaluation of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)] reference genes in various tissues and under abiotic stress conditions for quantitative real-time PCR data normalization. *Frontiers in plant science*, 7, 529. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00529>
- Swami, A.K., Alam, S.I., Sengupta, N., & Sarin, R. 2011. Differential proteomic analysis of salt stress response in *Sorghum bicolor* leaves. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 321-328. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.12.017>
- Taleh Ahmad, Sara., & Haddad, R. 2010. The effect of silicon on the activity of antioxidant enzymes and the content of osmotic regulators in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. *Journal of Agronomy, Seedlings and Seeds*, 26(2), 207-225 (In Persian).
- Tari, I., Laskay, G., Takács, Z., & Poór, P. 2013. Response of sorghum to abiotic stresses: A review. *Journal of agronomy and crop science*, 199(4), 264-274. <https://doi.org/10.1111/jac.12017>
- Umair Hassan, M., Chattha, M.U., Khan, I., Khan, T.A., Nawaz, M., Tang, H., Noor, M.A., Asseri, T.A., Hashem, M., & Guoqin, H. 2024. Zinc seed priming alleviates salinity stress and enhances sorghum growth by regulating antioxidant activities, nutrient homeostasis, and osmolyte synthesis. *Agronomy*, 14(8), 1815. <https://doi.org/10.3390/agronomy14081815>

- Venâncio, C., Wijewardene, L., Ribeiro, R., & Lopes, I. 2023. Combined effects of two abiotic stressors (salinity and temperature) on a laboratory-simulated population of *Daphnia longispina*. *Hydrobiologia*, 850(14), 3197-3208. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05249-9>
- Wang, G., Li, X., Ye, N., Huang, M., Feng, L., Li, H., & Zhang, J. 2021. *OsTPP1* regulates seed germination through the crosstalk with abscisic acid in rice. *New Phytologist*, 230(5), 1925-1939. <https://doi.org/10.1111/nph.17300>
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., & Kwak, S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant physiology and Biochemistry*, 47(7), 570-577. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.02.009>
- Yaghoubi Khanghahi, M., AbdElgawad, H., Verbruggen, E., Korany, S.M., Alsherif, E.A., Beemster, G.T., & Crecchio, C. 2022. Biofertilisation with a consortium of growth-promoting bacterial strains improves the nutritional status of wheat grain under control, drought, and salinity stress conditions. *Physiologia Plantarum*, 174(6), 13800. <https://doi.org/10.1111/ppl.13800>
- Yao, L., Cheng, X., Gu, Z., Huang, W., Li, S., Wang, L., Wang, Y.F., Xu, P., Ma, H., & Ge, X. 2018. The AWPM-19 family protein OsPM1 mediates abscisic acid influx and drought response in rice. *The Plant Cell*, 30(6), 1258-1276. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00770>
- Yilmaz, S., Temizgül, R., Yürürdurmaz, C., & Kaplan, M. 2020. Oxidant and antioxidant enzyme response of redbine sweet sorghum under NaCl salinity stress. *Bioagro*, 32(1), 31-38.
- Yong, B., Xie, H., Li, Z., Li, Y.P., Zhang, Y., Nie, G., Zhang, X.Q., Ma, X., Huang, L.K., Yan, Y.H., & Peng, Y. 2017. Exogenous application of GABA improves PEG-induced drought tolerance positively associated with GABA-shunt, polyamines, and proline metabolism in white clover. *Frontiers in physiology*, 8, 1107. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01107>
- Yoon, S., Lee, D.K., Yu, I.J., Kim, Y.S., Choi, Y.D., & Kim, J.K. 2017. Overexpression of the *OsZIP66* transcription factor enhances drought tolerance of rice plants. *Plant Biotechnology Reports*, 11(1), 53-62. <https://doi.org/10.1007/s11816-017-0430-2>
- Zhang, C., Li, C., Liu, J., Lv, Y., Yu, C., Li, H., Zhao, T., & Liu, B. 2017. The *OsABF1* transcription factor improves drought tolerance by activating the transcription of *COR413-TM1* in rice. *Journal of experimental botany*, 68(16), 4695-4707. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx260>
- Zhang, L., Zhang, L., Xia, C., Gao, L., Hao, C., Zhao, G., Jia, J., Kong, X. 2017. A novel wheat C-bZIP gene, *TabZIP14-B*, participates in salt and freezing tolerance in transgenic plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, 710. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00710>
- Zhang, L., Zhang, L., Xia, C., Zhao, G., Liu, J., Jia, J., & Kong, X. 2015. A novel wheat bZIP transcription factor, *TabZIP60*, confers multiple abiotic stress tolerances in transgenic *Arabidopsis*. *Physiologia plantarum*, 153(4), 538-554. <https://doi.org/10.1111/ppl.12261>