

بررسی اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیک دانهال‌های برگزیده مرکبات و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل

مرضیه اتحادپور^۱، محمدرضا فتاحی مقدم^{۲*}، ذبیح اله زمانی^۲، بهروز گل‌عین^۳ و محمدرضا نقوی^۴
۱ و ۲. دانشجوی سابق دکتری و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، رامسر، ایران
۴. استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۱۹)

چکیده

جهت ارزیابی فیزیولوژیک پاسخ به تنش شوری، برخی از دانهال‌های مرکبات مهم موجود در کلکسیون مؤسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب (۲۸ ژنوتیپ) شامل ژنوتیپ‌های تجاری متحمل و حساس (کلنوپاترا ماندارین و ترویر سیترنج) در سه سطح، ۰، ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار شوری به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه بررسی شدند. هشت ماه پس از جوانه‌زنی دانهال‌ها، تیمارهای شوری به مدت ۱۲ هفته اعمال شد. در این پژوهش صفات فیزیولوژیک از جمله مقدار کلروفیل‌های a و b، تجمع پرولین، پراکسید شدن لیپیدها، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز، میزان پروتئین کل و عملکرد کوانتومی فتوسیستم II مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج حاصل از مطالعه صفات فیزیولوژی نشان داد که تنش شوری باعث کاهش در کلروفیل‌های a و b، میزان پروتئین کل، عملکرد کوانتومی فتوسیستم دو، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد. در این مطالعه محتوای پرولین، غلظت مالون‌دی‌آلدهید و همچنین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش شوری افزایش یافتند. ژنوتیپ‌های G8، G44 (نارنج)، G19، G25 و G42 (اترج) در صفات متعدد، از جمله محتوای کلروفیل، میزان پراکسید شدن لیپیدها، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌ها در وضعیت بهتری قرار داشتند و به عنوان ژنوتیپ‌های برتر معرفی می‌شوند. ژنوتیپ G8 در بعضی از صفات، حتی از رقم کلنوپاترا نیز بهتر بود. می‌توان این ژنوتیپ‌ها را به عنوان متحمل یا نیمه‌متحمل به شوری برای پژوهش‌های بعدی و یا برای مقاصد کاربردی مورد توجه قرار داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ژنوتیپ متحمل، کلنوپاترا ماندارین، کلروفیل، مالون‌دی‌آلدهید.

Effect of salinity stress on some physiological traits of selected citrus seedlings and identification of tolerant genotypes

Marzieh Etehadpour¹, Reza Fatahi Moghadam^{2*}, Zabihollah Zamani², Behrouz Golein³ and MohammadReza Naghavi⁴

1, 2. Former Ph.D. Student and Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Associate Professor, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Ramsar, Iran

4. Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Mar. 5, 2018 - Accepted: Jul. 10, 2018)

ABSTRACT

In order to identify salinity tolerant genotypes, seedlings of tolerant and susceptible genotypes named 'Cleopatra' mandarin and 'Troyer' citrange, and some screened citrus genotypes to salinity (sum of 28 genotypes) from Citrus Research Institutes of Ramsar and Darab were assessed. Three levels of sodium chloride including 0, 40 and 90 mM were applied on eight months seedlings for 12 weeks under greenhouse conditions in a factorial experiment based on completely randomized design with three replications. Physiological traits including chlorophylls a and b, proline, lipid peroxidation, enzyme activity of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase, total protein and quantum yield of photosystem II were studied. The results of physiological traits showed that salinity reduced the chlorophyll a and b, total protein, quantum yield of photosystem II, ascorbate peroxidase activity and catalase activity in studied genotypes. In this study, proline content, malondialdehyde concentration and superoxide dismutase activity increased under salt stress. Genotypes G8, G44 (sour orange), G19, G25 and G42 (bergamot) in several traits including chlorophyll content, lipid peroxidation, proline content and enzymes activity were better than others. G8 genotype was better than salinity tolerant cultivar, 'Cleopatra', in some traits. Consequently, mentioned genotypes could be considered as tolerant or semi-tolerant genotypes for further research or practical purposes.

Keywords: Antioxidant enzymes, chlorophyll, 'Cleopatra' mandarin, malondialdehyde, tolerant genotypes.

* Corresponding author E-mail: fattahi@ut.ac.ir

مقدمه

تنش‌های محیطی مانند شوری به‌شدت رشد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند و تهدید روزافزونی برای محصولات کشاورزی به‌حساب می‌آیند (Goldack *et al.*, 2014). پرورش مرکبات به‌طور تجاری در بیش از ۵۰ کشور جهان انجام می‌شود و بیشترین تولید جهانی را بین میوه‌ها دارد. در بعضی مناطق مانند استرالیا، شوری یک مسئله مهم در تولید مرکبات به‌شمار می‌آید. همچنین در دیگر مناطق مانند فلوریدای آمریکا، پاکستان و اسپانیا، پرورش مرکبات با افزایش شوری ناشی از کیفیت پایین آب آبیاری تهدید می‌شود. در ایران نیز در مناطق مرکزی و جنوبی شرایط محیطی و وجود نمک‌ها در آب آبیاری منجر به تجمع نمک در خاک می‌شود. به‌استثنای مناطق مرطوب، شوری یک مشکل اساسی در تولید مرکبات است. تنش شوری بسته به شدت و مدت زمان استرس موجب تغییر در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیکی و در نهایت کاهش محصول می‌شود (Gupta & Huang, 2014). گزارش‌هایی در مورد کاهش رشد مرکبات در اثر تنش شوری وجود دارد (Syvertsen & Garcia-Sanchez, 2009; Munns, 2002; Perez-Tornero *et al.*, 2014). همچنین تنش شوری باعث آسیب‌های متعددی از قبیل نکرز بافت، افت عملکرد، ریزش برگ و در نهایت مرگ گیاه در مرکبات می‌شود (Romero-Aranda *et al.*, 1998). تنش شوری باعث ایجاد تنش اسمزی می‌شود. تنش اسمزی در مرحله اولیه تنش باعث تغییرات مختلف فیزیولوژیکی، مانند آسیب غشا، عدم تعادل مواد غذایی، اختلال در توانایی سم‌زدایی گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS)، تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌شود (Munns & Tester, 2008). محتوای پروتئین نیز تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد. برخی گزارش‌ها، کاهش یا افزایش در محتوای پروتئین در گیاهان بیمار شده با غلظت‌های مختلف نمک را نشان می‌دهند (Beltagi *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2007; Kapoor & Srivastava, 2010).

اخیراً پذیرفته شده است که اساس فیزیولوژی تحمل به شوری در مرکبات، اغلب مربوط به توانایی ممانعت از ورود کلر و انتقال آن از ریشه به شاخه است

که مربوط به کارایی پایه است. کلوپاترا ماندارین و رانگپورلایم به‌عنوان پایه‌های ممانعت‌کننده از ورود کلر هستند و از این رو مقاوم هستند. کاریزوسیترنج و رافلمون پایه‌های وارد کننده کلر هستند و توانایی کمی در ممانعت از ورود کلر دارند، بنابراین به شوری حساس هستند (Brumos *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2012).

گیاهان در مقابل تنش شوری مکانیسم‌های بیوشیمیایی و مولکولی فراوانی دارند. این مکانیسم‌ها شامل تجمع انتخابی یا ممانعت جذب یون‌ها، کنترل جذب یون به‌وسیله ریشه‌ها و انتقال آنها به برگ‌ها، حجره‌بندی یون‌ها در سطوح سلولی و کل گیاه، سنتز مواد سازگار، سنتز پروتئین‌های تنظیم‌کننده و پلی‌آمین‌ها، تغییر در ساختار غشا، تحریک آنزیم‌های اکسیداتیو و تحریک هورمون‌های گیاهی می‌باشند (Shalata *et al.*, 2001; Parida & Das, 2005).

از آنجایی که گونه‌های تجاری مرکبات به‌صورت پیوندی تکثیر می‌یابند، میزان تحمل پیوندک به شوری، بستگی زیادی به نوع پایه آنها دارد (Levy & Syversten, 2004). یکی از راه‌های توسعه تحمل به شوری در مرکبات پیوند ارقام تجاری و حساس به شوری روی پایه‌های مقاوم به شوری می‌باشد. بین پایه‌های مختلف مرکبات، تفاوت‌های آشکاری از نظر میزان تحمل به شوری دیده می‌شود (Storey & Walker, 1999; Garcia-Sanchez *et al.*, 2003). به همین دلیل، اصلاح و شناسایی پایه‌ها و یا ترکیبات پایه و پیوندک‌ها، به‌منظور پرورش و حفاظت مرکبات در محیط‌های در حال شور شدن بسیار ضروری است. از این رو، هدف این بررسی، شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به شوری، از میان ژنوتیپ‌های ناشناخته ایستگاه تحقیقاتی کتر، در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور در شهرستان رامسر، برخی از ژنوتیپ‌های ایستگاه تحقیقاتی داراب (فارس) و برخی از ژنوتیپ‌های تجاری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی در این تحقیق شامل برخی از دانه‌های مرکبات موجود در کلکسیون مؤسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب که حاصل از گرده‌افشانی آزاد و جهش هستند و بعضی دانه‌های ژنوتیپ‌های تجاری

رطوبت مجاز، اصطلاحاً ضریب مدیریت آبیاری گفته می‌شود، $PWP =$ نقطه پژمردگی خاک.

پس از هر دور تیمار شوری، EC محلول خارج شده از چند گلدان به‌طور تصادفی اندازه‌گیری می‌شد و در صورت افزایش آن، آبیاری با آب بدون نمک انجام می‌گردید تا تغییرات EC و pH ناشی از تجمع یون‌ها در بستر کشت در اثر انجام عمل آبسویی به حداقل ممکن برسد.

سه هفته بعد از اعمال تنش، تعداد ۲۸ ژنوتیپ با توجه به میزان کلر، میزان نکروزه‌شدن و ریزش برگ‌ها و میزان عملکرد کلروفیل فلورسانس غربال شدند. دوازده هفته پس از اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری جهت مطالعه صفات فیزیولوژیک شامل میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، میزان پروکلروپیل، پروتئین‌های کل، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا انجام شد. نمونه‌های برگ و ریشه بلافاصله در فویل آلومینیومی پیچیده و در ازت‌مایع فریز و تا زمان اندازه‌گیری صفات مورد نظر در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری کلروفیل‌های a و b به روش Arnon (1949) انجام شد. همچنین مقدار پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین و بر اساس روش Bates et al. (1973) اندازه‌گیری گردید. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین شد. به‌منظور اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید از روش Heath & Packer (1968) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌ها نیز به روش اسپکتروفتومتری در دمای آزمایشگاه (25 ± 2) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبولوتترازولیوم کلراید (NBT) به روش Dhindsa et al. (1981) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano & Asada (1987) اندازه‌گیری گردید. به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Beers & Sizer (1952) استفاده شد. همچنین محتوای پروتئین کل با روش برادفورد و استفاده از آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976).

متحمل به تنش شوری بوده‌اند (جدول ۱). هشت ماه پس از جوانه‌زنی بذرها، دانه‌های مرکبات موجود در کلکسیون مؤسسه تحقیقات مرکبات رامسر و داراب و بعضی ژنوتیپ‌های تجاری متحمل به تنش شوری، در معرض تنش شوری قرار گرفتند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با فاکتور شوری در ۳ سطح ۰، ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم و فاکتور نوع ژنوتیپ در ۴۲ سطح و در سه تکرار در شرایط گلخانه دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی - پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران با شرایط دمایی 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد اجرا شد. مدت آزمایش از اوایل بهمن ۹۲ تا اواخر آذر ۹۳ به طول انجامید و مدت زمان روشنایی و تاریکی مطابق با شرایط طبیعی کرج بود. از مجموع ۴۵ ژنوتیپ، تعداد ۴۲ ژنوتیپ تحت تیمار شوری قرار گرفتند. جهت جلوگیری از کاهش کلسیم، طی تنش شوری، میزان ۴ و ۹ میلی‌مولار کلرید کلسیم به محلول‌های ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم اضافه شد.

آبیاری با استفاده از آب دارای غلظت‌های مختلف نمک کلرید سدیم (۰، ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار) با توجه به شرایط جوی و نیاز گیاه صورت گرفت. در هر دور آبیاری، محلول‌های نمک، به‌صورت تازه و با غلظت‌های فوق‌استفاده از کلرید سدیم (مرک آلمان) تهیه شد و pH محلول‌ها روی ۵/۷-۵/۸ تنظیم شد. برای تنظیم هدایت الکتریکی هر یک از محلول‌ها، از دستگاه EC متر استفاده شد. جهت جلوگیری از ایجاد شوک اسمزی، تیمارهای تنش با آب دارای ۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم آغاز و به‌تدریج افزایش یافت. میزان محلول هر دور آبیاری، با توجه به بافت خاک شنی-لومی و اندازه‌گیری ظرفیت زراعی، با فرمول زیر به‌دست آمد. برای جلوگیری از تجمع نمک در خاک و ثابت نگه‌داشتن EC این میزان محلول در ۳۰ درصد میزان آبسویی ضرب گردید و میزان محلول جهت آبیاری هر گلدان به‌دست آمد.

$$d = (FC - PWP) \times 0.5 \times A$$

که در آن: $d =$ عمق خاک گلدان، $A =$ سطح گلدان، $FC =$ ظرفیت زراعی خاک، $MAD = 0.5$ (کمبود

جدول ۱. ژنوتیپ‌های مورد بررسی و منطقه جمع‌آوری آنها در این مطالعه

Table 1. Evaluated genotypes and their location in this study

Code	Genotype	Location	Genotype	Code	Location
2	G1	Ramsar	50	G25	Ramsar
3	G2	Ramsar	51	G26	Ramsar
5	G3	Ramsar	52	G27	Ramsar
6	G4	Ramsar	53	G28	Ramsar
9	G5	Ramsar	54	G29	Ramsar
10	G6	Ramsar	56	G30	Ramsar
15	G7	Ramsar	57	G31	Ramsar
16	G8	Ramsar	58	G32	Ramsar
18	G9	Ramsar	Mexican lime	G33	Darab
22	G10	Ramsar	Cleopatra	G34	Ramsar
24	G11	Ramsar	Rough lemon	G35	Darab
25	G12	Ramsar	Volkameriana	G36	Darab
28	G13	Ramsar	<i>C. aurantifolia</i> hybrid	G37	Darab
29	G14	Ramsar	<i>C. aurantifolia</i> hybrid	G38	Darab
30	G15	Ramsar	Rangpur lime	G39	Darab
35	G16	Ramsar	Poncirus	G40	Ramsar
38	G17	Ramsar	60	G41	Darab
40	G18	Ramsar	bergamot	G42	Ramsar
41	G19	Ramsar	Swingle Citromello	G43	Ramsar
42	G20	Ramsar	sour orange	G44	Ramsar
43	G21	Ramsar	Troyer Citrange	G45	Ramsar
45	G22	Ramsar	Bakraei	G46	Ramsar
48	G23	Ramsar	Eureka lemon × Unknown	G47	Ramsar
49	G24	Ramsar			

شوری، تعداد ۲۸ ژنوتیپ از ۴۲ ژنوتیپ غربال شدند؛ سپس در هفته دوازدهم خصوصیات فیزیولوژی زیر، در ژنوتیپ‌های غربال شده بررسی شدند.

اثر شوری بر کلروفیل‌های a، b و کل

جدول ۲ اثر معنی‌دار شوری را بر محتوای کلروفیل‌ها نشان می‌دهد. با افزایش سطوح کلریدسیدیم مقدار کلروفیل‌های a و b کاهش یافت. شوری اثر معنی‌داری در میزان کلروفیل کل نشان نداد اما بین ژنوتیپ‌ها اثر معنی‌داری در سطح یک درصد در این صفت مشاهده شد. در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار، ژنوتیپ‌های اترج (G42) و G8 بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های a و b را به ترتیب نشان دادند. ژنوتیپ G15 کم‌ترین محتوای کلروفیل a را در هر دو سطح شوری نشان داد. ژنوتیپ G8 بیش‌ترین میزان کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل را در تیمار شوری ۹۰ میلی‌مولار به خود اختصاص داد. در مجموع در تمام سطوح، ژنوتیپ‌های G8، G30، G19، G18، G39 (رانگپورلایم)، G20، G42 (اترج) و G26 میانگین کلروفیل a بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند و ژنوتیپ‌های G8، G42 (اترج)، G39 (رانگپورلایم)، G18، G32، G26 و G30 کلروفیل b بالاتری داشتند (جدول‌های ۲ و ۳).

کلروفیل فلورسانس، در برگ‌های جوان توسعه‌یافته سازگار شده به تاریکی، توسط گیره به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فلورسانس تعیین شد. حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv / Fm) به صورت زیر محاسبه شد:

$$Fv / Fm = (Fm - Fo) / Fm$$

که در آن: Fm = حداکثر فلورسانس برگ‌های سازگار شده به تاریکی، Fo = حداقل فلورسانس برگ‌های سازگار شده به تاریکی.

آنالیز داده‌ها

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های فوق توسط نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۱ و Minitab نسخه ۱۶ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

بر اساس صفاتی از جمله میزان کلر موجود در برگ، میزان نکروزه‌شدن و ریزش برگ‌ها و میزان عملکرد کلروفیل فلورسانس، سه هفته بعد از اعمال تنش

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین‌های صفات فیزیولوژیکی در ژنوتیپ‌های مرکبات تحت تأثیر تیمار شوری
Continued table 3. Means comparison of physiological traits in studied citrus genotypes under salinity treatment

Genotype	Salinity	Chlorophyll a (mg.g FW)	Chlorophyll b (mg.g FW)	Chlorophyll a and b (mg.g FW)	L-Protein accumulation (μmol.gFW)	MDA content (nmol.g FW)	SOD activity (U.mg protein)	ASP activity (U.mg protein)	CAT activity (U.mg protein)	Total protein (mg.g FW)	Fv/Fm ratio
G36	0	0.561 ^{b-u}	0.367 ^{b-n}	0.928 ^{a-l}	40.24 ^{a-w}	129.82 ^{bc}	32.83 ^{l-u}	0.2273 ^{d-l}	0.1073 ^{b-d}	3.016 ^{b-l}	0.783 ^{a-c}
	40	0.410 ^{f-w}	0.313 ^{e-n}	0.727 ^{e-l}	91.67 ^{a-h}	192.34 ^a	44.51 ^{g-u}	0.1252 ^{ef}	0.2223 ^{b-d}	1.536 ^{t-l}	0.5935 ^{a-g}
	90	0.289 ^{s-w}	0.530 ^{a-j}	0.651 ^{e-l}	102.37 ^{a-d}	58.87 ^{d-m}	-	0 ^f	0.3971 ^{b-d}	1.840 ^{t-l}	0.538 ^{a-g}
G39	0	0.707 ^{a-l}	0.628 ^{a-c}	1.225 ^{a-l}	29.89 ^{s-w}	65.95 ^{d-m}	27.6 ^{o-u}	0 ^f	0.2707 ^{b-d}	3.726 ^{a-l}	0.764 ^{a-d}
	40	0.621 ^{a-o}	0.538 ^{a-i}	1.160 ^{a-h}	41.87 ^{o-w}	52.02 ^{f-m}	81.03 ^{a-j}	0 ^f	0.4967 ^{b-d}	1.281 ^{q-t}	0.817 ^a
	90	0.517 ^{b-v}	0.5003 ^{a-k}	1.017 ^{a-l}	100.78 ^{a-e}	94.35 ^{e-j}	49.92 ^{d-u}	0.1081 ^{ef}	0.0717 ^{cd}	2.123 ^{b-t}	0.552 ^{a-g}
G41	0	0.292 ^{f-w}	0.275 ^{g-n}	0.568 ^{b-l}	31.56 ^{q-w}	37.1 ^{k-m}	97.85 ^{a-c}	0 ^f	0.673 ^{b-d}	1.103 ^{t-l}	0.791 ^{ab}
	40	0.392 ^{g-w}	0.404 ^{a-n}	0.797 ^{e-l}	32.88 ^{r-w}	59.68 ^{d-m}	30.05 ^{n-u}	0.5164 ^{c-f}	0.3123 ^{b-d}	0.886 ^{q-t}	0.7495 ^{a-e}
	90	0.491 ^{c-w}	0.498 ^{a-k}	0.990 ^{a-l}	62.11 ^{h-s}	51.61 ^{f-m}	64.22 ^{a-t}	0.9647 ^{a-f}	0.1662 ^{b-d}	1.746 ^{t-l}	0.805 ^{ab}
G42	0	0.324 ^{o-w}	0.639 ^{ab}	0.754 ^{c-l}	20.52 ^{v-w}	52.52 ^{f-m}	43.58 ^{g-u}	0 ^f	0.6738 ^{b-d}	1.347 ^{b-t}	0.7695 ^{a-d}
	40	0.768 ^{a-d}	0.555 ^{a-h}	1.323 ^{a-c}	38.56 ^{o-w}	61.81 ^{d-m}	39.91 ^{h-u}	1.3035 ^{a-f}	2666.0 ^{b-d}	2.905 ^{b-o}	0.781 ^{a-d}
	90	0.483 ^{d-w}	0.501 ^{a-k}	0.984 ^{a-l}	34.4 ^{q-w}	183.87 ^a	47 ^u	1.9278 ^{ab}	0.662 ^{b-d}	1.937 ^{t-l}	0.7215 ^{a-e}
G43	0	0.652 ^{e-l}	0.283 ^{g-n}	0.935 ^{a-l}	30.92 ^{s-w}	40.73 ^{i-m}	58.6 ^{a-u}	0 ^f	0.488 ^{b-d}	1.818 ^{q-t}	0.8165 ^a
	40	0.670 ^{a-j}	0.535 ^{a-i}	1.205 ^{a-g}	46.34 ^{l-v}	73.19 ^{c-m}	18.54 ^u	0 ^f	0.113 ^{b-d}	4.628 ^a	0.813 ^a
	90	0.350 ^{o-w}	0.326 ^{e-n}	0.676 ^{e-l}	103.78 ^{a-d}	72.89 ^{c-m}	36.58 ^{j-u}	0.1923 ^{d-f}	0.3661 ^{b-d}	2.926 ^{b-n}	0.508 ^{a-g}
G44	0	0.537 ^{b-u}	0.418 ^{a-n}	0.955 ^{a-l}	31.01 ^{s-w}	46.27 ^{g-m}	37.64 ^{i-u}	0.7581 ^{a-t}	0.2 ^{b-d}	2.998 ^{b-m}	0.808 ^{ab}
	40	0.383 ^{h-w}	0.357 ^{b-n}	0.740 ^{e-l}	40.23 ^{o-w}	59.14 ^{d-m}	64.58 ^{a-t}	0.0916 ^{ef}	0.4409 ^{b-d}	1.626 ^{t-l}	0.806 ^{ab}
	90	0.321 ^{o-w}	0.240 ^{j-n}	0.561 ^{b-l}	47.37 ^{l-v}	53.02 ^{f-m}	49.46 ^{c-u}	0.0553 ^{ef}	0.1007 ^{b-d}	1.970 ^{t-l}	0.8075 ^{ab}
G45	0	0.707 ^{a-l}	0.517 ^{a-j}	1.225 ^{a-l}	29.89 ^{s-w}	74.37 ^{c-m}	19.73 ^{t-u}	0.1092 ^{ef}	0.253 ^{b-d}	4.01 ^{a-c}	0.808 ^{ab}
	40	0.298 ^{g-w}	0.248 ^{g-n}	0.547 ^{e-l}	99.25 ^{a-f}	71.37 ^{c-m}	30.8 ^{m-u}	0.1097 ^{ef}	0.5303 ^{b-d}	2.208 ^{t-l}	0.71 ^{a-e}
	90	0.353 ^{k-w}	0.309 ^{f-n}	0.662 ^{d-l}	65.77 ^{g-r}	115.32 ^{b-e}	70.79 ^{a-q}	0.1041 ^{ef}	0.8769 ^{b-d}	1.436 ^{t-l}	0.517 ^{a-g}
G46	0	0.570 ^{b-t}	0.269 ^{h-n}	0.840 ^{b-l}	38.65 ^{o-w}	100 ^{b-j}	25.62 ^{q-u}	0 ^f	0.6518 ^{b-d}	3.469 ^{a-l}	0.765 ^{a-d}
	40	0.618 ^{a-o}	0.516 ^{a-j}	1.135 ^{a-j}	95.15 ^{a-g}	41.94 ^{i-m}	78.72 ^{a-k}	0 ^f	0.8597 ^{b-d}	1.355 ^{o-t}	0.7785 ^{a-d}
	90	0.369 ^{l-w}	0.628 ^{a-c}	0.997 ^{a-l}	102.9 ^{a-d}	72.58 ^{c-m}	54.63 ^{b-u}	0 ^f	0.3705 ^{b-d}	1.952 ^{t-l}	0.781 ^{a-d}
G47	0	0.652 ^{e-l}	-	-	43.75 ^{n-v}	103.66 ^{b-h}	20.61 ^{t-u}	0 ^f	0.0999 ^{b-d}	3.429 ^{a-j}	0.803 ^{ab}
	40	0.328 ^{h-w}	0.305 ^{f-n}	0.633 ^{f-l}	93.56 ^{a-h}	56.05 ^{e-m}	57.77 ^{a-u}	0 ^f	2.9558 ^a	1.255 ^{t-t}	0.6315 ^{a-g}
	90	0.452 ^{e-w}	0.397 ^{a-n}	0.849 ^{b-l}	105.52 ^{ab}	91.94 ^{e-j}	41.11 ^{g-u}	0 ^f	0.7963 ^{b-d}	2.409 ^{s-s}	0.442 ^{d-g}

در هر صفت اعداد با حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری به روش دانکن در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each trait, the numbers with at least one similar letter are not significant at 1% level with Duncan test

-: lost data

دیگر باشد. کلریسدیم باعث کاهش عناصر منیزیم (Mg) و نیتروژن (N) می‌شود (Alva & Syvertsen, 1991). این عناصر از اجزای اصلی ساختمان کلروفیل‌ها هستند و کمبود آنها می‌تواند بر مقدار کلروفیل‌ها اثرگذار باشد.

اثر شوری بر پرولین

نتایج نشان داد که تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار غلظت پرولین در سطح احتمال ۱ درصد در ژنوتیپ‌های مورد بررسی شد (جدول ۲). این افزایش در ژنوتیپ G45 (سیترنج) در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار بیشتر از بقیه ژنوتیپ‌ها بود و در ژنوتیپ G19 کم‌ترین افزایش پرولین در این سطح مشاهده شد. همچنین در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار ژنوتیپ G5 بیش‌ترین و ژنوتیپ G42 (اترج) کم‌ترین میزان پرولین را به خود اختصاص دادند. ژنوتیپ‌های G35 (رافلمون)، G47 (اورکالمون × نامشخص)، G25، G36 (ولکامریانا)، G22، G46 (بکرایبی)، G10 و G15 در

نتایج Melgar *et al.* (2008) در بررسی تبادل گازی برگ‌ها، روابط آبی، محتوای عناصر و رشد در دانهال‌های مرکبات و زیتون در شرایط شوری، غلظت بالای کلر و سدیم در برگ‌های مرکبات باعث کاهش در کلروفیل a گردید ولی سبب افزایش نسبت کلروفیل a/b شد، در حالی‌که کاهش معنی‌داری در میزان کلروفیل b مشاهده نشد. در بررسی Climent *et al.* (2008) در مورد روابط بین تحمل به شوری و کارایی ماشین فتوسنتزی در مرکبات، تغییری در مقدار کلروفیل مشاهده نکردند. نتایج تحقیق حاضر در مورد کاهش کلروفیل‌های a و b در تطابق با نتایج Nieves *et al.* (1991)، Hussain *et al.* (2012)، Garcia-Sanchez *et al.* (2006) و Aboutalebi *et al.* (2007) می‌باشد. شوری و به‌ویژه تجمع یون کلر در کلروپلاست‌ها با اثرگذاری بر ساختار این اندامک و تیلاکوئیدها و انتقال الکترون فتوسنتزی، از فعالیت فتوسیستم II جلوگیری می‌کند. اثر کلریسدیم بر کلروفیل‌ها می‌تواند به‌علت برهم‌زدن تعادل عناصر

میزان مالون‌دی‌آلدهید وجود دارد (جدول ۲). تنش شوری سبب افزایش معنی‌دار غلظت مالون‌دی‌آلدهید در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار شد اما تفاوت معنی‌داری بین سطح بدون تنش و سطح ۴۰ میلی‌مولار مشاهده نشد. افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدهید در ژنوتیپ G16 در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار بیشتر از بقیه ژنوتیپ‌ها بود. همچنین در این سطح شوری، کمترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید متعلق به ژنوتیپ G7 بود. در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار نیز بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در ژنوتیپ G36 (ولکامریانا) و کم‌ترین آن در ژنوتیپ G15 مشاهده شد. به‌طورکلی در تمام سطوح تنش شوری، ژنوتیپ‌های G41، G8، G34، G44، G22، G19 و G5 میزان پراکسید شدن لیپیدها نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها کمتر بود (جدول ۳). افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید مشاهده‌شده در این مطالعه با افزایش در پراکسید شدن لیپیدها در بیشتر مطالعات انجام‌شده در سطوح مختلف شوری با بسیاری از گیاهان (El-Baky *et al.*, 2003; El-Bassiouny *et al.*, 2005; Mandhania *et al.*, 2006; Wu & Zou, 2009) و همچنین با نتیجه تحقیق Gomez-Cadenas *et al.* (2003) که روی پایه کاریزو سیترنج انجام شده، همخوانی دارد. Arbona *et al.* (2003) گزارش کردند که افزایش تدریجی در سطح MDA در برگ‌های کاریزوسیترنج بعد از ۱۴ روز تیمار شوری مشاهده شد اما پراکسید شدن لیپیدها در طول زمان افزایش بیشتری نشان نداد؛ حتی مقداری کاهش نیز نشان داد که می‌توانست به دلیل حفاظت مؤثر آنتی‌اکسیدانی باشد. Gueta-Dahan *et al.* (1997) در ارزیابی پاسخ‌های مشابه و خاص به تنش شوری و اکسیداتیو و روابط آنها در تحمل به شوری مرکبات مشاهده کردند که شوری باعث افزایش معنی‌دار مالون‌دی‌آلدهید شد اما بین سلول‌های مقاوم و حساس تفاوتی دیده نشد.

اثر شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح شوری،

تمام سطوح شوری، میزان پرولین بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها دارا بودند و کلئوپاترا ماندارین (G34) از نظر این صفت در رده یازدهم بود (جدول ۳). ژنوتیپ‌های G42 (اترج)، G8 و G44 (نارنج) کمترین میزان پرولین را در تمام سطوح به خود اختصاص دادند.

افزایش میزان پرولین در این بررسی با نتایج Mirabasi (2011)، که روی مورفوتیپ‌های مرکبات انجام شده، مطابقت دارد. Anjum (2008) نیز در بررسی اثر غلظت‌های کلریدسديم در آب آبیاری بر رشد و متابولیسم پلی‌آمین‌ها در دو پایه مرکبات با سطوح متفاوت مقاومت به شوری گزارش کردند که محتوای پرولین آزاد در برگ‌های تروریر سیترنج و ریشه کلئوپاترا با افزایش شوری افزایش یافت.

افزایش پرولین در شرایط تنش، می‌تواند ناشی از سنتز پرولین، کاهش اکسید شدن پرولین به گلوتامات و یا کاهش مصرف آن در سنتز پروتئین‌ها و یا افزایش تجزیه پروتئین‌ها باشد (Nasirkhan *et al.*, 2007). طبق گزارش‌های قبلی (Storey & Walker, 1999) افزایش پرولین در مرکبات یک محصول فرعی تنش نیست و افزایش آن در تمام رقم‌ها و آزمایش‌های انجام‌شده، مشاهده نشده است. مقدار پرولین آزاد در اثر شوری در برگ‌های لیموی پیوندشده بر پایه نسبتاً متحمل به شوری نارنج افزایش یافت اما وقتی بر پایه حساس ماکروفیلا^۱ پیوند شد، چنین افزایشی مشاهده نشد (Nieves *et al.*, 1991). نمک‌های کلریدسديم (NaCl) و کلریدپتاسیم (KCl) باعث افزایش تجمع پرولین در پرتقال^۲ هاملین^۲ گردید؛ درحالی‌که تیمار با نیترات‌سديم (NaNO₃) اثری بر مقدار پرولین نداشت (Murkute *et al.*, 2005).

اثر شوری بر پراکسید شدن لیپیدهای غشا

اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، ترکیباتی مثل مالون‌دی‌آلدهید (MDA) تولید می‌کند که شاخصی از میزان صدمه اکسیداتیو به‌شمار می‌رود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، سطوح شوری و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد در

1. *Citrus macrophylla*
2. Hamlin

اثر شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های مورد بررسی شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در تمام سطوح صفر، ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های G47 (اورکالمون× نامشخص)، G32، G25، G32 و G46 (بکری) نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها بالاتر بود (جدول ۳).

تفاوت در تمایل به افزایش یا کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. در این راستا *Gueta-Dahan et al.* (1997) نشان دادند که تحمل به تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در *Citrus calli* به دلیل فعالیت بالای آنزیم SOD و افزایش GR¹ می‌باشد در حالی که آنزیم APX در معرض شوری کاهش یافت. در میوه‌های ماندارین سازش یافته به انبار سرد، مشاهده شد که کاهش صدمه اکسیداتیو ناشی از سرما در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، CAT و SOD بوده است در حالی که GR کاهش یافته بود (Sala & Lafuente, 1999). همچنین *Arbona et al.* (2003) در بررسی پاسخ‌های آنزیمی و غیرآنزیمی کاربوسیترنج به سطوح متفاوت شوری، گزارش کردند که فعالیت همه آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و کاتالاز افزایش یافت. نتایج این مطالعه، افزایش فعالیت SOD، اما کاهش فعالیت CAT و ASP (آسکوربات پراکسیداز) را در دانه‌های مرکبات در معرض تنش شوری نشان داد.

در سایر گیاهان نیز گزارش‌هایی در مورد افزایش فعالیت بعضی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش فعالیت بعضی دیگر وجود دارد. در گره‌های ریشه سویا فعالیت آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز تحت شرایط شوری کاهش یافت در حالی که سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون احیایی افزایش نشان دادند (*Parida & Das, 2005*). *Lechno et al.* (1997) گزارش کردند که در گیاه خیار، تیمار کلریدسدیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز و محتوای آنتی‌اکسیدان‌های

ژنوتیپ‌ها و اثر متقابل آنها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در زمینه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وجود دارد (جدول ۲). با توجه به مقایسه میانگین‌ها، در سطح شوری ۴۰ میلی‌مولار، بیش‌ترین فعالیت آنزیم در ژنوتیپ G25 و کم‌ترین فعالیت در ژنوتیپ G43 (سیتروملو) مشاهده شد. در سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار، بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم به ترتیب در ژنوتیپ‌های G35 (رافلمون) و G43 (سیتروملو) مشاهده شد. در مجموع ژنوتیپ‌های G7، G18، G35 (رافلمون)، G15، G29، G25 و G41 میزان فعالیت آنزیم بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند (جدول ۳).

سوپراکسید دیسموتاز به عنوان آنزیمی کلیدی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) معمولاً جهت افزایش دیسموتاسیون سوپراکسید به اکسیژن و H₂O₂ تحریک می‌شود که سپس از طریق مسیرهای دیگر حذف می‌شوند (*Zhang et al., 2012*). پاسخ ضعیف آنتی‌اکسیدانی کلئوپاترا به شوری، احتمالاً به این دلیل است که در شرایط شوری، این ژنوتیپ مکانیسم اجتناب از جذب کلر را انجام می‌دهد و به همین دلیل پایین‌ترین صدمه اکسیداتیو و غلظت مالون‌دی‌آلدئید را دارا بوده است؛ بنابراین این ژنوتیپ در برابر شوری نیازی به افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها ندارد. تحمل به شوری می‌تواند به دلیل مکانیسم‌های اجتناب یا دفاعی باشد. همه ژنوتیپ‌های مقاوم، مکانیسم یکسانی نشان نمی‌دهند، ممکن است مکانیسم تحمل یک ژنوتیپ اجتناب باشد (مانند کلئوپاترا) و یا دفاعی باشد و با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها باعث خنثی کردن صدمه اکسیداتیو شوند.

اثر شوری بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز (APX)

تیمار شوری باعث کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد در میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز شد (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در تمام سطوح شوری در ژنوتیپ‌های G42 (اترج)، G7، G5، G8، G16، G20، G41 در مقایسه با بقیه ژنوتیپ‌ها بالاتر بود (جدول ۳).

بیان بیشتر در ژن‌های ویژه‌ای می‌شود که محصولات آنها به سازگاری گیاه در شرایط نامساعد کمک می‌کند؛ بنابراین امکان افزایش در غلظت پروتئین کل نیز وجود دارد (Bonjoch & Tamayo, 2001; Azooz *et al.*, 2009; Kanlaya *et al.*, 2005).

علت کاهش مقدار پروتئین کل می‌تواند ناشی از اثر شوری (اثر ویژه یون‌ها و یا تنش اکسیداتیو) بر ساختار پروتئین‌ها و تخریب آنها و یا در اثر صدمه به مسیرهای سنتز و در نتیجه کاهش تولید پروتئین‌ها باشد. تأثیر اکسیژن‌های فعال بر DNA و RNA می‌تواند از دلایل کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط تنش باشد. کاهش در مقدار پروتئین در گیاهانی مثل گندم، برنج، کلزا، نخودفرنگی و گوجه‌فرنگی مشاهده شده است (Bartoli *et al.*, 2004; Flowers & Flowers, 2005; Dai *et al.*, 2009; Noreen & Ashraf, 2009; Doganlar *et al.*, 2010). عدم ادامه روند کاهشی در مقدار پروتئین کل از سطح ۴۰ به سطح شوری ۹۰ میلی‌مولار، شاید به‌علت القای پروتئین‌های جدید و بیان ژن‌های ویژه‌ای باشد که طی تنش تحریک شده‌اند.

اثر شوری بر فلورسانس کلروفیل

تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم دو (Fv/Fm) بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و سطوح مختلف شوری در سطح احتمال ۱ درصد شد (جدول ۲). همچنین در تمام سطوح شوری، ژنوتیپ‌های G44 (نارنج)، G46 (بکرایبی)، G5، G1، G41، G16، G8، G42 (اترج)، G19 و G20 میزان عملکرد کوآنتومی فتوسیستم دو بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند (جدول ۳).

کاهش مشاهده‌شده در حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم دو، در این مطالعه مطابق با یافته‌های Hussain *et al.* (2012) و Perez-Perez *et al.* (2007) بود که گزارش کردند تیمار کلریدسدیم باعث کاهش حداکثر عملکرد کوآنتومی فتوسیستم II در ژنوتیپ‌های حساس به شوری مرکبات شد. شاخص عملکرد کوآنتومی انتقال الکترون فتوسنتزی

آسکوربیک اسید را افزایش داد و گلوکاتیون را کاهش داد اما اثری بر فعالیت SOD نداشت. شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های APX، GPX، GR و SOD و کاهش فعالیت کاتالاز در برگ‌های مانگرو گردید (Parida *et al.*, 2004). Gosset *et al.* (1994) گزارش کردند که در پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) تنش NaCl فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گواپیکول پراکسیداز و گلوکاتیون ردوکتاز را افزایش داد، درحالی‌که فعالیت‌های آنزیم‌های کاتالاز و آسکورات پراکسیداز را کاهش داد. در برگ‌های برنج، تنش شوری محتوای H₂O₂ و فعالیت‌های SOD، APX و GPX را افزایش داد؛ در حالی‌که فعالیت آنزیم کاتالاز را کاهش داد، اما از طرف دیگر، تنش شوری اثر کمی بر سطوح فعالیت آنزیم گلوکاتیون ردوکتاز داشت (Lee *et al.*, 2001).

اثر شوری بر مقدار پروتئین

اثر ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری و همچنین اثر متقابل آنها بر مقدار پروتئین در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲) ولی بین سطوح شوری ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تنش شوری باعث کاهش مقدار پروتئین کل در ژنوتیپ‌های مورد آزمایش شد و بر اساس نتایج به‌دست آمده، بیش‌ترین مقدار پروتئین در ژنوتیپ G43 (سیتروملو) در هر دو سطح شوری ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار مشاهده شد و کم‌ترین مقدار در ژنوتیپ‌های G1 و G29 در سطوح شوری ۴۰ و ۹۰ میلی‌مولار به‌ترتیب به‌دست آمد. همچنین ژنوتیپ‌های G43 (سیتروملو)، G30، G45 (سیترنج)، G16، G10، G6، G46 (بکرایبی)، کلنوپاترا و G42 (اترج) در تمام سطوح شوری میزان پروتئین بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند (جدول ۳).

یکی از فرایندهای مهم درون‌سلولی، سنتز پروتئین‌ها است که شدیداً تحت تأثیر تغییر شرایط محیطی و تنش قرار گرفته و به‌همراه آن فتوسنتز، جابجایی متابولیت‌ها و جذب و انتقال یون‌ها نیز تأثیر می‌پذیرند. بسیاری از پروتئین طی تنش شوری، هیدرولیز می‌شوند و بر این اساس، کاهش در غلظت پروتئین کل، می‌تواند از نتایج تنش باشد. اما تنش سبب

G39 (رانگپورلایم)، G18، G32، G26 و G30 کلروفیل b بالاتری داشتند. ژنوتیپ‌های G35 (رافلمون)، G47 (اورکالمون × نامشخص)، G25، G36 (ولکامریانا)، G22، G46 (بکرایبی)، G10 و G15 در تمام سطوح شوری، به‌طور میانگین میزان پرولین بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها دارا بودند و کلنوپاترا ماندارین (G34) از نظر این صفت در رده یازدهم بود. کمترین میانگین میزان پراکسید شدن لیپیدها در شرایط تنش در ژنوتیپ‌های G41، کلنوپاترا (G34)، G8، G44 (نارنج)، G22، G19 و G5 مشاهده شد. از نظر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ژنوتیپ‌های G7، G18، G35 (رافلمون)، G15، G29، G25، G41 و G42 فعالیت آنزیم بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند. همچنین ژنوتیپ‌های G43 (سیتروملو)، G30، G45 (سیترنج)، G16، G10، G6، G46 (بکرایبی)، کلنوپاترا (G34) و G42 (اترج) در تمام سطوح شوری میزان پروتئین بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، ژنوتیپ‌های G8، G44 (نارنج)، G19، G25 و G42 (اترج) در چندین صفت، از جمله محتوای کلروفیل‌ها، میزان پراکسید شدن لیپیدها، محتوای پرولین و فعالیت آنزیم‌ها در وضعیت بهتری قرار داشتند و ژنوتیپ G8 در بعضی از صفات حتی از رقم مقاوم به شوری کلنوپاترا (G34) بهتر بود؛ بنابراین می‌توان این ژنوتیپ‌ها را به‌عنوان متحمل و یا نیمه‌متحمل به شوری برای پژوهش‌های بعدی و یا برای مقاصد کاربردی مورد توجه قرار داد.

سپاسگزاری

از دانشگاه تهران جهت فراهم‌آوردن امکانات پژوهشی و حمایت مالی این پژوهش و همچنین از پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری کشور در شهرستان رامسر و مؤسسه تحقیقات مرکبات داراب برای در اختیار گذاشتن مواد گیاهی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

امکان شناسایی هر نوع صدمه به فتوسیستم II و احتمال وجود بازدارندگی نوری را فراهم می‌کند. Climent *et al.* (2008) گزارش کردند که با توجه به پارامترهای فلورسانس کلروفیل، اثر مخرب شوری در فعالیت فتوسنتزی در سیترنج و سیتروملو حساس به شوری وجود داشت اما کلنوپاترا و فورنر کمتر تحت تأثیر قرار گرفتند، به‌علاوه تفاوت در پاسخ‌های فتوسنتزی بین دو پایه نسبتاً متحمل به شوری، استراتژی‌های متفاوتی جهت تحمل به شوری را پیشنهاد می‌کند. تحمل بالای شوری در فورنر می‌تواند به توانایی ادامه سیستم فتوسنتزی فعال در شرایط شوری بالا باشد درحالی‌که تحمل کلنوپاترا می‌تواند مرتبط با کاهش سریع نرخ فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، کارایی فتوسیستم II و فتوسنتز باشد.

نتیجه‌گیری کلی

تحمل به شوری صفتی کمی است و دارای مکانیسم‌های متعدد و پیچیده می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل‌های a و b، میزان پروتئین کل، عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد. در این مطالعه محتوای پرولین، غلظت مالون‌دی‌آلدهید و همچنین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش شوری افزایش یافتند. بر اساس نتایج به‌دست آمده، شوری اثر معنی‌داری در تمام صفات مورد مطالعه به‌استثنای محتوای کلروفیل کل داشت. اثر ژنوتیپ در تمام صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و تیمار شوری در تمام صفات مورد مطالعه به‌جز عملکرد کوانتوم فتوسیستم دو اختلاف معنی‌داری داشت. در تمام سطوح، ژنوتیپ‌های G8، G30، G19، G18، G39 (رانگپورلایم)، G20، G42 (اترج) و G26 میانگین کلروفیل a بالاتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها نشان دادند و ژنوتیپ‌های G8، G42 (اترج)،

REFERENCES

1. Aboutalebi, A., Tafazoli, E. & Kholdbarin, B. (2007). A study the effect of the rootstocks and salinity on the nitrate, proline and soluble protein levels in sweet lime leaf. *Agricultural Science and Technology*, 21(10), 3-10. (in Farsi)
2. Alva, A. K. & Syvertsen, J. P. (1991). Soil and citrus tree nutrition are affected by salinized irrigation water. In: *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 104, 135-138.

3. Anjum, M. A. (2008). Effect of NaCl concentrations in irrigation water on growth and polyamine metabolism in two citrus rootstocks with different levels of salinity tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 43-52.
4. Arbona, V., Flors, V., Jacas, J., Garcia-Agustín, P. & Gomez-Cadenas, A. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of Carrizo citrange, a salt-sensitive Citrus rootstock, to different levels of salinity. *Plant Cell Physiology*, 44 (4), 388-394.
5. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
6. Azooz, M. M., Ismaiel, A. M. & Abou Elhamed, M. F. (2009). Growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities as a selection criterion for the salt tolerance of maize cultivars grown under salinity stress. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 21-26.
7. Bartoli, C. G, Gomes, F., Martinez, D. E. & Guiamet, J. J. (2004). Mitochondria are the main target for oxidative damage in leaves of wheat (*Triticum aestivu* L.). *Journal of Experimental Botany*, 55(403), 1663-1669.
8. Bates, L-S., Waldron, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-208.
9. Beers, R. F. and Sizer, I. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen by catalase. *The Journal of Biochemistry*, 195, 133-140.
10. Beltagi, M. S., Ismail, M. A. & Mohamed, F. H. (2006). Induced salt tolerance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by gamma irradiation. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6, 1143-1148.
11. Bonjoch, N. P. & Tamayo, P. R. (2001). Protein content quantification by Bradford method. p: 283-295. In Reigosa Roger, M. J. (ed.) Handbook of plant ecophysiology techniques. *Kluwer Academic Publishing*, pp: 452.
12. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 248-254.
13. Brumos, J., Colmen ero-Flores, J. M., Conesa, A., Izquierdo - Sanchez, G., Iglesias, D. J., Lopez-Climent, Gomez-Cadenas, A. & Talon, M. (2009). Membrane transporters and carbon metabolism implicated in chloride homeostasis differentiate salt stress responses in tolerant and sensitive Citrus rootstocks. *Functional and Integrative Genomics*, 9, 293-309.
14. Chen, C., Tao, C., Peng, H. & Ding, Y. (2007). Genetic analysis of salt stress responses in asparagus bean (*Vigna unguiculata* L. ssp. *Sesquipedalis* verdc.). *Journal of Heredity*, 98 (7), 655-665.
15. Climent, M., Arbona, V., Perez-Clemente, R. M. & Gomez-Cadenas, A. (2008). Relationship between salt tolerance and photosynthetic machinery performance in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 62, 176-184.
16. Dai, Q. L., Chen, Ch., Feng, B., Liu, T. T., Tian, X., Gong, Y. Y., Sun, Y. K., Wang, J. & Du, Zh. (2009). Effect of NaCl treatment on the antioxidant enzymes of oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 8 (20), 5400-5405.
17. Dhindsa, R. A., 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*, 126, 93-101.
18. 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.
19. El-Baky, A., Hanaa, H., Mohamad, Amal, A. & Hussein, M. M. (2003). Influence of salinity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and electrophoretic patterns of protein and isoenzymes in leaves of some Onion cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences*, 2 (8), 633-638.
20. El-Bassiouny, H. M. S. & Bekheta, M. A. (2005). Effect of salt stress on relative water content, lipid peroxidation, polyamines, amino acids and ethylene of two wheat cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7 (3), 363-368.
21. Flowers, T. J. & Flowers, S. A. (2005). Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? *Agricultural Water Management*, 78, 15-24.
22. Garcia-Sanchez, F., Carvajal, M., Porras, I., Botina, P. & Martinez, V. (2003). Effects of salinity and rate of irrigation on yield, fruit quality and mineral composition of 'Fino 49' Lemon. *European Journal of Agronomy*, 19, 427-437.
23. Garcia-Sanchez, F., Perez-Perez, J. G., Botia, P. & Martinez, V. (2006). The response of young mandarin trees grown under saline conditions depends on the rootstock. *European Journal of Agronomy*, 24, 129-139.
24. Gollidack, D., Li, Ch., Mohan, H. & Probst, N. (2014). Tolerance to drought and salt stress in plants: Unraveling the signaling networks. *Frontiers in Plant Science*, 5, 151.

25. Gomez-Cadenas, A., Arbona, V., Jacas, J., Primo-Millo, E. & Talon, M. (2003). Abscisic acid reduces leaf abscission and increases salt tolerance in Citrus plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21, 234-240.
26. Gosset, D. R., Millhollon, E. P. & Lucas, M. C. (1994). Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivar of cotton. *Crop Science*, 34, 706-714.
27. Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, B. A. & Ben-Hayyim, G. (1997). Salt and oxidative stress: Similar and specific responses and their relation to salt tolerance in Citrus. *Planta*, 203, 460-469.
28. Gupta, B. & Huang, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: Physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*. Article ID 701596. 18 p.
29. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
30. Hussain, S., Luro, F., Costantino, G., Ollitrault, P. & Morillon, R. (2012). Physiological analysis of salt stress behavior of citrus species and genera: Low chloride accumulation as an indicator of salt tolerance. *South African Journal of Botany*, 81, 103-112.
31. Kanlaya, K. N., Sakda, D., Chaisiri, W., Sumontip, B., Manit, K. & Piyada, T. (2005). Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings. *ScienceAsia*, 31, 403-408.
32. Kapoor, K. & Srivastava, A. (2010). Assessment of salinity tolerance of *Vinga mungo* var. Pu-19 using *ex vitro* and *in vitro* methods. *Asian Journal of Biotechnology*, 2(2), 73-85.
33. Lechno, S., Zamski, E. & Telor, E. (1997). Salt stress-induced responses in cucumber plants. *Journal of Plant Physiology*, 150, 206-211.
34. Lee, D. H., Kim, Y. S. & Lee, C. B. (2001). The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Physiology*, 158, 737-745.
35. Levy, Y. & Syversten, J. (2004). Irrigation water quality and salinity effects in citrus trees. Pp: 37-75. In Janick, J. (ed.) *Horticultural Reviews*. vol 30. John Wiley & Sons Inc.
36. Mandhania, S., Madan, S. & Sawhney, V. (2006). Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedling. *Biologia Plantarum*, 50 (2), 227-231.
37. Melgar, J. C., Syvertsen, J. P., Martinez, V., & Garcia-sanchez, F. (2008). Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. *Biologia Plantarum*, 52 (2), 385-390.
38. Mirabasi, F. (2011). *Evaluation of salt tolerance of sodium chloride in some citrus morphotypes*. Master's Thesis of Horticulture. Faculty of Agriculture, University of Zanjan. (in Farsi)
39. Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-81.
40. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25, 239-250
41. Murkute, A. A., Sharma, S. & Singh, S. K. (2005). Citrus in terms of soil and water salinity: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 64, 393-402.
42. Nakano, Y. & Asada, K. (1987). Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: Its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant and Cell Physiology*, 28, 131-140.
43. Nasir Khan, M., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Masroor, M., Khan, A. & Naeem, M. (2007). Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, proline accumulation and yield in linseed genotypes. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3 (5), 685-695.
44. Nieves, M., Garcia, A. & Cerda, A. (1991). Effect of salinity and rootstock on lemon fruit quality. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 66, 27-30.
45. Noreen, Z. & Ashraf, M. (2009). Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology*, 166 (16), 1764-1774.
46. Parida, A. K. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
47. Parida, A. K., Das, A. B. & Mohanty, P. (2004). Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: Differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *Journal of Plant Physiology*, 161(5), 531-542.
48. Perez-Perez, J. G., Syvertsen, J. P., Botia, P. & Garcia-Sanchez, F. (2007). Leaf water relations and net gas exchange responses of salinized Carrizo citrange seedlings during drought stress and recovery. *Annals of Botany*, 100, 335-345.
49. Perez-Tornero, O., Tallon, C. I., Porras, I. & Navarro, J. M. (2009). Physiological and growth changes in micropropagated *Citrus macrophylla* explants due to salinity. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1923-1933.

50. Romero-Aranda, R., Moya, J. L., Tadeo, F. R., Legaz, F., Primo-Millo, E. & Talon, M. (1998). Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: Beneficial and detrimental effects of cations. *Plant, Cell and Environment*, 21, 1243-1253.
51. Sala, J. M. & Lafuente, M. T. (1999). Catalase in the heat-induced chilling tolerance of coldstored hybrid 'Fortune' mandarin fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2410-2414.
52. Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. & Tal, M. (2001). Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. *Physiologia Plantarum*, 112, 487-494.
53. Storey, R. & Walker, R. R. (1999). Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 39-81.
54. Syvertsen, J. M. & Garcia-Sanchez, F. (2014). Multiple abiotic stresses occurring with salinity stress in citrus. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 128-137.
55. Wu, Q. Sh. & Zou, Y. N. (2009). Adaptive responses of birch-leaved pear (*Pyrus betulaeifolia*) seedlings to salinity stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*, 37(1), 133-138.
56. Zhang, H., Han, B., Wang, T., Chen, S., Li, H., Zhang, Y. & Dai, S. (2012). Mechanisms of plant salt response: Insights proteomics. *Journal of Proteome Research*, 11, 49-67.