

اثر سطوح مختلف شوری روی شاخص‌های رشد، جذب عناصر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و برخی صفات فیزیولوژیک ریشه و برگ پایه هیبرید GN15

اکبر انگوتی^۱، جعفر حاجی‌لو^{۲*}، ادريس حاج علی^۱ و حسين فتحی^۳
۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳. محقق، مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۲۶)

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف شوری روی شاخص‌های رشد، میزان پرولین و کلروفیل، غلظت و کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم، فسفر و سدیم برگ و غلظت سدیم ریشه پایه‌های هیبرید GN15 و همچنین میزان فعالیت سه آنزیم آنتی‌اکسیدانت، آزمایشی بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با ۴ سطح شوری صفر، ۳۵، ۷۰ و ۱۰۵ میلی‌گرم بر لیتر کلرید سدیم و با ۵ تکرار در سال ۱۳۹۴ انجام شد. غلظت‌های مختلف کلرید سدیم به گلدان‌های محتوی این پایه افزوده و پس از ۱۰۰ روز تنش شوری، صفات مذکور اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح شوری، شاخص‌های رشد شامل طول و قطر گیاه، تعداد و سطح برگ، محتوای رطوبت نسبی و کلروفیل برگ کاهش می‌یابد که این کاهش در غلظت ۳۵ میلی‌مولار کمتر ولی در غلظت ۱۰۵ میلی‌مولار بسیار شدید بود. غلظت و کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر با افزایش غلظت کلرید سدیم کاهش و غلظت سدیم برگ و ریشه و کارایی جذب آن در برگ افزایش پیدا کرد. میزان پرولین ریشه و برگ نیز همزمان با افزایش غلظت نمک افزایش یافت؛ به طوری که مقدارش در غلظت ۷۰ میلی‌مولار به بیشینه خود (۳۹ و ۳۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) رسید. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش غلظت نمک تا ۷۰ میلی‌مولار روند افزایشی داشت به طوری که فعالیت SOD، POD و CAT در این تیمار برای ریشه به ترتیب ۱۵۰/۲، ۲۲/۶، ۱۳ و برای برگ ۱۸۳/۸، ۱۶/۸ و ۲۴ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین بود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پرولین، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، کلروفیل.

Effect of different levels of salinity on growth indices, mineral absorption, antioxidant enzymes activity and some physiological traits of roots and leaf in GN15 hybrid rootstocks

Akbar Angooti¹, Jafar Hajilou^{2*}, Edris Hajali¹ and Hossein Fathi³

1, 2. Former M. Sc. Student and Professor, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, East Azarbaijan, Iran

3. Research, East Azarbaijan Agricultural Research Center, Iran

(Received: Mar. 13, 2018 - Accepted: Jul. 17, 2018)

ABSTRACT

In order to investigate the effects of different levels of salinity on growth indices, proline and chlorophyll content, nitrogen concentration, potassium, phosphorus and sodium contents of leaf and sodium concentration of root of GN15 hybrid rootstocks, as well as the activity of three antioxidant enzymes, an experiment was conducted based on a completely randomized design with 4 salinity levels of 0, 35, 70 and 105 mg / L sodium chloride and 5 replicates in 1394. Different concentrations of sodium chloride were added to the pots containing these plants and after 100 days of salinity stress, these traits were measured. Results showed as increasing salinity levels, growth indices including plant length and diameter, leaf number and area, relative humidity content and leaf chlorophyll content decreased. This reduction was lower at concentration of 35 mm but was very severe at 105 mM. Concentration and efficiency uptake of nitrogen, potassium and phosphorus decreased with increasing sodium chloride concentrations, and increased the concentration of sodium in leaves and roots and its uptake efficiency in leaves. The amount of proline in the root and leaf increased simultaneously with increasing salt concentrations, so that its amount reached a maximum at concentration of 70 mM (39 and 30 mg / g fresh weight). The activity of antioxidant enzymes was also increased by increasing the salt concentration up to 70 mM, so that SOD, POD and CAT of roots in this treatment were 150.2, 22.6, 13 and for leaves were 183.8, 16.8 and 24 U/mg protein, respectively.

Keywords: Catalase, chlorophyll, peroxidase, proline, superoxide dismutase.

* Corresponding author E-mail: j_hajilou@tabrizu.ac.ir

مقدمه

تنش‌های غیرزنده، به‌طور ویژه خشکی و شوری، از تنش‌های اصلی و مهم هستند که سبب کاهش تولیدات زراعی در سراسر دنیا می‌شوند (Sadeghi, 2011). تجمع املاح نمک در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا یکی از مسائل مهم کشاورزی است که به‌طور گسترده‌ای بر تولید گیاهان زراعی و باغی تأثیر می‌گذارد. هرچند پاسخ گیاهان به شوری به نوع گیاه، مراحل نمو، شدت و مدت تنش بستگی دارد (Yazici *et al.*, 2007). تنش شوری باعث تولید گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) مانند سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن می‌شوند که فعالیت این گونه‌های واکنش‌گر باعث متابولیسم غیرنرمال از طریق خسارت اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Gill & Tuteja, 2010).

کلروپلاست و میتوکندری که دو محل عمده حضور چرخه‌های انتقال الکترون در سلول‌های گیاهی می‌باشند، همواره در معرض خطر تولید گونه‌های فعال اکسیژن قرار دارند. حضور گونه‌های فعال اکسیژن در محیط سلولی، سبب تخریب ماکرو ملکول‌های عمده سلولی نظیر DNA، RNA و آنزیم‌های حیاتی می‌شود که این خسارت را خسارت اکسیداتیو گویند (Ashraf & Harris, 2004). گیاهان برای مقابله با ROSها سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان را به‌کار می‌گیرند که دارای دو قسمت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی می‌باشند. در شرایط طبیعی بین میزان تولید ROS و فعالیت مکانیسم‌های از بین برنده ROS تعادل وجود دارد. اما در تنش‌های محیطی و زنده، این تعادل به‌هم می‌خورد و موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌گردد (Abdul Jaleel *et al.*, 2009).

سوپراکسید دیسموتاز، یک آنزیم میتوکندریایی است که همراه با آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز، نقشی اساسی را در پیشگیری از اکسایش و تخریب غشاء میتوکندری‌ها ایفا می‌کند (Galeshi *et al.*, 2009). پراکسیدازهای گیاهی در چرخه فعالیت معمول خود، کاتالیزکننده احیاء H_2O_2 هستند (Petrov &

Breusegem, 2012). این آنزیم مشابه کاتالاز، منجر به شکستن H_2O_2 می‌شود ولی برخلاف کاتالاز به یک اهداکننده هیدروژن نیاز دارد (Gasper *et al.*, 1985). Rahnemoon *et al.* (2013) بیان نمودند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، به موازات تجمع یون‌های سدیم و کلر در برگ، به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد. پرولین به‌عنوان محافظی است که قادر به محافظت از پروتئین بوده و می‌تواند فعالیت آنزیم‌های مختلف را در شرایط انواع تنش‌ها افزایش دهد. تجمع این ماده در تمام اندام‌های گیاه در طی تنش وجود دارد که به‌عنوان شاخصی برای گزینش ارقام متحمل به تنش به‌کار می‌رود (Szabados & Arnould, 2009). میزان مقاومت گونه‌ها و ارقام مختلف درختان در برابر تنش شوری متفاوت می‌باشد. اختلاف سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان علاوه بر گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهی، حتی بین اندام‌های یک گیاه نیز آشکار شده است (Ashraf & Ali, 2008). تاکنون اکثر تحقیقات انجام‌یافته در پایه‌های درختان میوه، بر روی برگ صورت گرفته است و در خصوص الگوی رفتاری ریشه، به‌ویژه در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، اطلاعات کمی وجود دارد. اگرچه برگ‌ها و ریشه‌ها از سیستم آنزیمی تقریباً مشابهی برخوردار هستند، اما ممکن است همکاری بین فعالیت آنزیم‌ها، جریان آنتی‌اکسیدان‌ها و بیان ژن در ریشه متفاوت از برگ‌ها باشد (Ren *et al.*, 1999).

پایه‌های مختلف درختان میوه در مقابل شوری عملکرد متفاوتی دارند، به‌عنوان مثال برخی از پایه‌های انگور به‌دلیل قابلیت جلوگیری از جذب و انتقال سدیم یا کلر به قسمت هوایی گیاه، به‌عنوان پایه‌های متحمل به شوری قلمداد می‌شوند (Shani & Ben-Gal, 2005). در آلو، پایه پیکسی^۱ به‌عنوان پایه نسبتاً متحمل به شوری و پایه‌های ماریانا^۲ و میروبالان- بی به‌عنوان پایه‌های حساس به شوری مطرح می‌باشند (Bolat *et al.*, 2006). همچنین ارقام و یا پایه‌های حساس و متحمل به شوری در سایر درختان میوه همچون گلابی و انبه توسط محققین مختلف گزارش شده است

1. Pixie

2. Mariana

و تغییرات فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پایه هیبرید GN15 و بررسی واکنش‌های این پایه به تنش‌شوری انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه بیولوژی گلدھی و فیزیولوژی رشد و نمو میوه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۴ انجام شد. قلمه‌های هیبرید GN15 از شاخه‌های سال جاری درختان مادری واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند برداشته شده و پس از ریشه‌دار نمودن آنها با هورمون پوترسین با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، به گلدان‌های پلاستیکی (تعداد ۴۰ عدد) حاوی پرلایت با دهانه ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر منتقل شدند. گلدان‌ها در اتاقک رشد با رطوبت نسبی ۶۰ درصد و درجه حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از رشد پایه‌ها، نهال‌هایی که از لحاظ اندازه دارای یکنواختی بیشتری بودند، برای آزمایش انتخاب شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار شامل کلریدسدیم با غلظت‌های صفر (آب معمولی با $EC=2.2$ ds/m)، ۳۵ ($EC=4.6$ ds/m)، ۷۰ ($EC=6.9$ ds/m) و ۱۰۵ میلی‌مولار ($EC=9.5$ ds/m) و ۵ تکرار انجام شد. گلدان‌ها به مدت ۱۰۰ روز و به صورت یک‌روز در میان با محلول هوگلند (شامل ترکیبات نیترات کلسیم، نیترات پتاسیم، منوفسفات آمونیوم، سولفات منیزیم، اسیدبوریک، کلرید منگنز، سولفات روی، سولفات مس و اسیدمولیبدیک) شامل غلظت‌های مختلف کلریدسدیم تحت تنش شوری قرار گرفتند (هر بار ۲۰۰cc)، به طوری که در هر نوبت آبیاری مقداری از محلول از ته گلدان‌ها خارج می‌گردید. همچنین هفته‌ای یک‌بار شست‌وشوی کامل محیط ریشه گیاهان با آب معمولی انجام گرفت تا تغییرات pH و EC ناشی از تجمع نمک‌ها در بستر کاشت در اثر انجام عمل آبخوبی به حداقل ممکن برسد. پس از ۱۰۰ روز اعمال تنش شوری، نمونه‌برداری از گیاهان به منظور ارزیابی صفات مختلف انجام پذیرفت.

تعداد برگ‌ها برای هر تیمار شمارش گردید. طول

(Duran-Zuazo *et al.*, 2003; Matsumoto *et al.*, 2006). Gholami & Rahemi (2009) در مورد پایه‌های Gf677 گزارش کردند که وقتی غلظت کلریدسدیم از ۶۰ میلی‌مولار بیشتر می‌شود، میزان پرولین برگ‌ها با شدت بیشتری افزایش می‌یابد. غلظت کلروفیل با افزایش غلظت نمک کاهش می‌یابد (Heydari sharif abad, 2001)، که (Dejampoor *et al.* (2012) نتایج مشابهی را در مورد برخی از پایه‌های بادام نظیر GF677 گزارش کردند. مطالعات نشان می‌دهد که مقاومت بالای گیاهان پیوندی به شوری، به طور نزدیکی در ارتباط با افزایش انتقال یون‌های پتاسیم، کلسیم یا منیزیم به برگ‌ها می‌باشد (Rengel & Marschner, 2005). پایه GF677 می‌تواند تا ۶۰ میلی‌مولار (۵/۵ دسی‌زیمنس بر متر) را تحمل کند (Rahemi *et al.*, 2008) همچنین این پایه در مقایسه با پایه بذری توئونو (هیبرید بین رقم خودگرده‌افشان توئونو و رقم ژنکو در شرایط گرده‌فشانی کنترل‌شده) تحمل بیشتری به نمک کلریدسدیم دارد و می‌تواند شوری تا ۵۰ میلی‌مولار (۵/۲ دسی‌زیمنس بر متر) را تحمل کند (Oraei *et al.*, 2008).

GN مخفف یک سری هیبریدهای حاصل از هلو نامرد برگ قرمز (متحمل به نماتد) و بادام قرفی است که مهمترین این سری از پایه‌ها می‌توان به GN15 (Garnem)، GN22 (Felinem) و GN9 اشاره نمود. این پایه‌ها علاوه بر داشتن کلیه خصوصیات GF677، به طور معمول به عنوان پایه مقاوم به نماتد برای هلو و بادام استفاده می‌شود. با توجه به اینکه درختان بادام و هلو از طریق پیوند تکثیر می‌شوند، مطالعه و تحقیق در مورد مقاومت به شوری پایه‌های پرکاربرد این درختان میوه نظیر، مهم و ضروری به نظر می‌رسد (Sadri & Imani, 2013). با تعیین دامنه تغییرات فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اسید آمینه در پایه مد نظر، ضمن کسب اطلاعات جدید، امکان دستیابی به روشی مطمئن و کارآمد برای گزینش نهایی پایه‌های متحمل به شوری فراهم می‌شود (Rahnemoon *et al.*, 2013). پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر تنش‌شوری روی شاخص‌های رشد، غلظت و کارایی جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سدیم در برگ

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز به وسیله کاهش در جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر از طریق اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. محلول واکنش حاوی ۳ میلی‌لیتر بافر تریس^۱ با $pH=7$ و ۲۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با افزودن ۲۶ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار به محلول واکنش انجام و تغییر در جذب به مدت ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تجزیه ۱ میکرولیتر سوپسترای پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (Kang & Saltveit, 2002).

اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز به‌روش تست گایاکول^۲ و تبدیل آن به تترآگایاکول به انجام رسید. تترآگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. بنابراین واکنش فتوشیمیایی می‌تواند به‌سرعت دنبال شود. استخراج آنزیم به‌وسیله بافر فسفات ۰/۱ مولار ($pH=7$) انجام شد. محلول واکنشی شامل ۳ میلی‌لیتر بافر تریس با $pH=7$ بود. یک یونیت فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تشکیل ۱ میکرولیتر تترآگایاکول در یک دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (Wang, 1995).

اندازه‌گیری فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به‌روش ممانعت واکنش وابسته به O_2^- توسط آنزیم اندازه‌گیری شد. در این روش سوپراکسید به‌روش فتولیز ریبوفلاوین تولید می‌گردد. سپس O_2^- ، NBT^۳ را به ترکیب ارغوانی دی‌فرمازان احیاء می‌کند. این روش بر اساس توانایی سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از احیای NBT می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی، مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیای

ساقه با متر نواری و قطر آن با کولیس اندازه‌گیری شد. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Model Li1300, USA LI, Cor) اندازه‌گیری شد. محتوای رطوبت نسبی برگ (RWC) با روش Smart & Bingham (1974) انجام شد. به این منظور از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته، نمونه‌برداری و پس از محاسبه وزن تر (FW)، برگ‌ها به مدت یک ساعت در آب مقطر به حالت غوطه‌ور قرار داده شدند و سپس وزن تورژسانس (TW) آنها اندازه‌گیری شد. محتوای رطوبت نسبی برگ از طریق رابطه زیر محاسبه شد:

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

برای اندازه‌گیری غلظت عناصر غذایی، ابتدا برگ‌ها پس از خشک‌شدن کامل در آون، به‌طور کامل پودر شدند و در ادامه ۰/۵ گرم از نمونه‌ها توزین و برای تعیین غلظت عناصر غذایی در بافت، مورد نظر استفاده قرار گرفتند. غلظت نیتروژن برگ‌ها با روش میکروکجدال طی ۳ مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون اندازه‌گیری شد (Waling *et al.*, 1989). اندازه‌گیری غلظت سدیم و پتاسیم برگ‌ها به‌روش نشر شعله‌ای و با دستگاه Flame Photometer 405G (Waling *et al.*, 1989) و اندازه‌گیری غلظت فسفر برگ و ساقه به‌روش رنگ‌سنجی (وانات-مولیبدات زرد) و با دستگاه Spectrophotometer 2100 انجام شد (Olsen & Sommers, 1982). کارایی جذب عناصر بر اساس غلظت عناصر تجمع‌یافته در اندام گیاهی مورد نظر به‌دست آمد. برای محاسبه غلظت عناصر تجمع‌یافته، غلظت عنصر مورد نظر در وزن خشک اندام گیاهی ضرب شد (White *et al.*, 2010).

به‌منظور استخراج آنزیم‌های مورد بررسی، از بافر فسفات ۰/۱ مولار با $pH=7$ حاوی ۰/۲ درصد پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP)، استفاده و قطعات گیاهی در هاون چینی خرد شد. برای هر گرم ماده گیاهی خرد شده، ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج استفاده گردید. محلول هموژن‌شده با سرعت PRP ۱۴۰۰۰، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ، عصاره رویی را جدا کرده و جهت سنجش آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفتند.

1. Triss
2. Guaiacol
3. Nitroblue tetrazolium

دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه چرخانده شد و سپس عصاره رویی به منظور قرائت مقدار جذب کلروفیل a و b به ترتیب در طول موج‌های ۶۵۴ و ۴۷۰ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت (Arnon, 1949).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

پس از جمع‌آوری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲) برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد که اثر تیمار شوری بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده است. فعالیت این آنزیم با افزایش سطوح شوری افزایش یافت، به گونه‌ای که بیشترین میزان فعالیتش در سطح شوری ۷۰ میلی‌مولار (۲۴ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین)، و کمترین این میزان در سطح شوری ۱۰۵ میلی‌مولار مشاهده شد (۷ واحد در هر میلی‌گرم پروتئین)، که این مقادیر اختلافات معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند (جدول ۲). مشخص شده که در گیاه کلزا رقم زرفام، فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد کم ($0.9 \text{ OD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}$) و سپس با افزایش کلرید سدیم تا ۵۰ میلی‌مولار فعالیت این آنزیم افزایش می‌یابد ($1.2 \text{ OD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}$) کاهش شدید در فعالیت این آنزیم رخ می‌دهد که مشابه این حالت در این تحقیق دیده شد که به نظر می‌رسد در غلظت‌های بالاتر شوری، اختلال در فرایندهای فیزیولوژیکی جدی‌تر شده و به تدریج توقف متابولیسم‌های سلولی را منجر می‌شود (Abili & Zare, 2014). Mashayekhi *et al.* (2015) طی مطالعه‌ای تأثیر سطوح مختلف شوری را روی پایه هیبرید GF677 بررسی و مشاهده نمودند که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح شوری ۸۰ ($61 \text{ abs/min} / \text{mg protein}$) و کمترین این میزان در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار ($11 \text{ abs/min} / \text{mg protein}$) می‌باشد.

NBT می‌شود. محلول واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر NBT ۱/۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ مولار حاوی سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار و ۲۶۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار (pH=۷/۸) بود. این محلول به مدت ۸-۵ دقیقه در شدت نور یکسان (40W) و دمای بهینه قرار گرفت. بعد از این مدت ۵۰ میکرولیتر ریبوفلاوین به محلول اضافه شد و در شدت نور یکسان و دمای مناسب به مدت ۱۲ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Zhang *et al.*, 2013).

اندازه‌گیری غلظت پرولین

غلظت پرولین در برگ‌ها به روش Bates *et al.* (1973) اندازه‌گیری گردید. در این روش ۰/۵ گرم نمونه وزن شده و با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ مخلوط و ساییده شد. مخلوط همگن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفیوژ، از عصاره حاصل ۱ میلی‌لیتر در لوله ریخته و ۱ میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین^۱ و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال^۲ به آن افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب‌گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک‌کردن نمونه‌ها، به هر لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شدند. در این حالت، ۲ فاز تشکیل گردید و پرولین وارد فاز تولوئن شد که یک فاز قرمز رنگ در قسمت بالای لوله‌ها تشکیل شد (شکل ۲). میزان جذب نمونه‌های استخراج‌شده (فاز رنگی) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل UV-2100 ثبت گردید.

اندازه‌گیری غلظت کلروفیل

به منظور اندازه‌گیری مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل، مقدار ۰/۲۵ گرم از ماده تر گیاهی پس از خرد کردن در ازت مایع و افزودن ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪، در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در

1. Ninhydrin
2. Glacial acetic acid

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پایه هیبرید GN15
Table 1. Variance analysis of different levels of sodium chloride (NaCl) on the activity of anti-oxidant enzymes of the GN15 hybrid rootstocks

S.O.V	df	Superoxide dismutase leaf (U/mg protein)	Superoxide dismutase root (U/mg protein)	Proxidase leaf (U/mg protein)	Proxidase root (U/mg protein)	Catalase leaf	Catalase root
Treatment	3	5269.13**	6701.93**	98.31**	281.8**	257.91**	82.58**
Error	16	20.47	31.65	5	4.52	9.62	5.42
C.V. (%)		3.34	5.81	20.2	14.81	21.02	17.88

** Significant at 1% probability level.

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کلرید سدیم (NaCl) میزان فعالیت آنزیمی ریشه و برگ پایه هیبرید GN15
Table 2. Comparison of the effect of different levels of sodium chloride (NaCl) on the enzymatic activity of the root and leaf GN15 hybrid rootstocks

Treatment	Superoxide dismutase leaf (U/mg protein)	Superoxide dismutase root (U/mg protein)	Proxidase leaf (U/mg protein)	Proxidase root (U/mg protein)	Catalase leaf (U/mg protein)	Catalase root (U/mg protein)
0	118.60bc	79.60b	11b	14.80b	12b	7.8b
35	124.80b	88.60b	10.40b	15.60b	16b	9.4ab
70	183.80a	150.20a	16.80a	22.60a	24a	13a
105	114.80c	68.40c	6c	4.40c	7c	3.2c

* در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند، در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

* In each column, averages with similar letters don't have significant difference at the 1% probability level of Duncan test.

میلی مولار کلرید سدیم، فعالیت این آنزیم به ترتیب در ریشه و برگ ۰/۰۰۸ و ۰/۰۴۵ واحد در هر میلی گرم پروتئین در دقیقه بود که مشابه این پدید در آزمایش حاضر نیز دیده شد (Esfandiyari *et al.*, 2010). در این پژوهش، در کل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز برگ‌ها بیشتر از ریشه بود. برای توجیه علت این پدیده می‌توان اظهار داشت که در برگ‌ها، کلروپلاست از مهمترین محل‌های تولید انواع اکسیژن فعال است. این ویژگی حضور مکانیسم‌های دفاعی متعدد را در برگ‌ها تأیید می‌کند (Galeshi *et al.*, 2009).

فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ و ریشه

بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ‌ها در سطح شوری ۷۰ میلی مولار (۱۶/۸ واحد در هر میلی گرم پروتئین) دیده شد که این میزان، در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها دارد. همچنین کمترین فعالیت آنزیمی در سطح شوری ۱۰۵ میلی مولار (۶ واحد در هر میلی گرم پروتئین) مشاهده شد (جدول ۲). نتیجه به دست آمده مبنی بر کاهش فعالیت پراکسیداز در این سطح از شوری می‌تواند با تشدید اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و توقف تدریجی متابولیسم در ارتباط باشد. به عنوان مثال، طبق گزارش Mashayekhi *et al.*

همچنین طی تحقیقی روی درخت بادام، تأثیر سطوح مختلف شوری روی فعالیت آنزیم کاتالاز انجام پذیرفت که طی آن بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به ترتیب در سطح شوری ۷۵ میلی مولار (بیشترین غلظت نمک) و تیمار شاهد گزارش شد که البته به نظر می‌رسد در صورت تیمار با غلظت‌های بالاتر نمک، مشابه این تحقیق و سایر و تحقیقات ذکر شده، فعالیت این آنزیم سیر نزولی را می‌کند (Rahneemoun *et al.*, 2013). در مرکبات نیز گزارش شده که فعالیت کاتالاز با افزایش تنش شوری تا ۳۰ میلی مولار افزایش ولی بعد از آن روند کاهشی در میزان فعالیت این آنزیم دیده می‌شود (Gasper *et al.*, 1985).

فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه در این تحقیق معنی‌دار بود (جدول ۱). فعالیت این آنزیم با افزایش سطح شوری تا ۷۰ میلی مولار روند افزایشی داشت (۱۳ واحد در هر میلی گرم پروتئین)، سپس افت شدیدی در سطح شوری ۱۰۵ میلی مولار مشاهده شد (۳/۲ واحد در هر میلی گرم پروتئین) (جدول ۲). Zhang *et al.* (2013) کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه‌های *Broussonetia papyrifera* را گزارش نمودند. در گیاه خلر تحت تنش شوری، مشخص شد که در مجموع، میزان فعالیت این آنزیم در برگ‌ها بیشتر از ریشه‌هاست به طوری که در شرایط شوری ۲۰۰

واحد در هر میلی گرم پروتئین) و کمترین این میزان در سطح شوری ۱۰۵ میلی مولار (۱۱۴ واحد در هر میلی گرم پروتئین) دیده شد که با نتایج Bagherzadeh *et al.* (2016) مبنی بر افزایش فعالیت SOD در پسته‌بادامی سفید و ریز زرد تا شوری متوسط (به ترتیب ۰/۰۲۶ و ۰/۰۲۷ واحد در هر میلی گرم پروتئین) و کاهش شدید فعالیت آن در شوری زیاد (به ترتیب ۰/۰۱۸ و ۰/۰۲۳ واحد در هر میلی گرم پروتئین) همخوانی دارد. در شاه‌توت فعالیت آنزیم SOD با افزایش سطح کلریسدیم روندی افزایشی دارد، به گونه‌ای که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در شوری ۱۵۰ میلی مولار (۱۲۰ واحد در هر میلی گرم پروتئین) دیده می‌شود (Harinasut *et al.*, 2003). در پژوهشی دیگر مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های SOD و POD در برگ‌های زیتون تحت تنش خشکی با گذشت زمان افزایش می‌یابد (Amini & Saadati, 2014).

میزان فعالیت آنزیم SOD تا سطح شوری ۷۰ میلی مولار افزایش (۱۵۰ واحد در هر میلی گرم پروتئین)، سپس روند کاهشی در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه مشاهده شد (جدول ۲). نتایج حاصل از تحقیق Zhang *et al.* (2013) در مورد تأثیر سطوح مختلف شوری روی فعالیت آنزیم SOD در اندام‌های ریشه، ساقه و برگ گیاه *Broussonetia papyrifera* نشان داد که در تمام سطوح شوری، فعالیت این آنزیم در برگ نسبت به ساقه و ریشه بیشترین بوده است. Kim *et al.* (2005) نشان دادند که فعالیت SOD تحت تنش کلریسدیم در ریشه و اندام هوایی جو افزایش یافت، اما این افزایش در ریشه معنی‌دارتر و پایدارتر بود. در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد. از این میان، آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با اینکه همگی از بین‌برنده پراکسید هیدروژن محسوب می‌شوند، ولی هر کدام حوزه فعالیت جداگانه‌ای در داخل سلول دارند (Smirnov, 1993). اختلاف سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان علاوه بر گونه‌های مختلف گیاهان، حتی بین اندام‌های یک گیاه نظیر ساقه، ریشه و برگ آشکار شده است (Ashraf & Harris, 2004).

(2015) همزمان با افزایش غلظت شوری در پایه هیبرید GF677، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ابتدا روند افزایشی را دارد، به طوری که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای ۴۰ و ۸۰ میلی مولار کلریسدیم رخ می‌دهد، سپس میزان فعالیت این آنزیم، رو به کاهش می‌گذارد. شاید یکی از مهم‌ترین دلایلی که این پایه نتوانست اثرات مخرب شوری را در سطح شوری ۱۰۵ میلی مولار تحمل کند فعالیت کمتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد. همچنین طی تحقیقی، غلظت‌های مختلف سدیم کلرید روی گیاه شاه‌توت اعمال و مشاهده شد که کمترین و بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در سطوح شوری صفر و ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید رخ می‌دهد (Harinasut *et al.*, 2003). Rahnemoon *et al.* (2013) بیان نمودند که در درخت بادام، فعالیت آنزیم پراکسیداز تا سطح شوری ۵۰ میلی مولار افزایش و در سطوح بالاتر روند کاهشی را دارا می‌باشد. همچنین Zarabi *et al.* (2011) گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در درخت زیتون به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در این راستا، Balal & Khan (2012) طی تحقیقی مقاومت ارقام مختلف مرکبات تحت تنش شوری را بررسی و به این نتیجه رسیدند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمامی ارقام با افزایش کلریسدیم به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد که همه این گزارش‌ها حاکی از وجود یک رابطه علت و معلولی بین شوری و فعالیت آنزیمی است.

میزان فعالیت پراکسیداز ریشه نیز با افزایش شوری افزایش یافت، به طوری که فعالیت آنزیمی ریشه بیشتر از برگ‌ها بود (جدول ۲). بیشتر بودن فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه نسبت به برگ را Merati *et al.* (2015) در گیاه پونه‌معطر تحت تنش شوری گزارش نموده‌اند؛ بنابراین افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تنش شوری در پایه GN15 و گزارش‌های مذکور در تنش‌های دیگر می‌تواند نقش حفاظتی این آنزیم را در مقابل تنش‌های مختلف پیشنهاد کند.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ و ریشه
مطابق جدول ۲، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز برگ در سطح شوری ۷۰ میلی مولار (۱۸۳

دومین مکانیسم پیچیده مقاومت به شوری بود. این محققان عنوان کردند که جذب کمتر Na^+ و یا افزایش جریان خروج یون‌ها و در نتیجه ظرفیت بالاتر برای جمع‌آوری رادیکال اکسیژن، می‌تواند توانایی بیشتر رقم مقاوم به نمک را در غلظت‌های بالاتر کلرید سدیم نسبت به رقم حساس توجیه کند. نتایج مطالعات سایر محققان روی گیاهان دیگر نیز نشان داد که میزان فعالیت آنزیم SOD در ارقام مقاوم به شوری نسبت به ارقام حساس بیشتر است و با افزایش شوری و افزایش سن گیاه، مقدار آنزیم افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد (Reddy & Srivastava, 2003). با توجه به مجموع نتایج به‌دست‌آمده به‌نظر می‌رسد علی‌رغم فعالیت قابل‌توجه مکانیزم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در این پایه در مواجهه با تنش شوری و کاهش بخشی از آثار منفی نمک از این طریق، هنوز نسبت به کارایی مطلوب این مکانیزم اطمینان کافی وجود ندارد. باید متذکر شد که سابقه تحقیق روی فعالیت آنتی‌اکسیداتیو آنزیمی در پایه‌های درختان میوه به‌ویژه هسته‌دارها در شرایط شور بسیار کمتر از حد تصور است و این موضوع ضمن سلب امکان تطبیق نتایج اخذشده با یافته‌های محققان دیگر، ضرورت احتیاط در تفسیر نتایج را ایجاب می‌کند؛ بر این مبنای صحیح‌تر این خواهد بود که در قضاوت کلی راجع به سطح تحمل شوری در یک پایه، پاسخ آنتی‌اکسیداتیو با در نظر گرفتن سایر پاسخ‌های محیطی آن، ژنوتیپ ارزیابی و تفسیر شود.

ارتفاع و قطر گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای آزمایش از نظر قطر و طول ساقه در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). کمترین قطر و ارتفاع گیاه در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم (به‌ترتیب ۲/۸۴ میلی‌متر و ۳۰/۴ سانتی‌متر) و بیشترین در تیمار شاهد (۶/۲۸ میلی‌متر و ۶۳/۷ سانتی‌متر) و ۳۵ میلی‌مولار کلرید سدیم (۵/۶۴ میلی‌متر و ۵۷/۵ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۴). هم‌راستا با نتایج آزمایش حاضر، Momenpour *et al.* (2015) گزارش کردند که

طبق مطالعات گذشته، از آنجاکه پایه‌های GN تا حدودی به‌عنوان گیاهی مقاوم به شوری شناخته شده است (Noitsakis *et al.*, 1997)، به‌نظر می‌رسد در شوری متوسط با توجه به حالت‌های رشدی و خصوصیات ژنتیکی خود در سازگاری به تنش، تا حدودی قادر به مهار حجم ROS تولید شده بود. زیرا خصوصیات فیزیولوژیک گیاه، از جمله بسته‌شدن روزنه‌ها، تغییر در الگوی تنظیم‌کننده‌های رشد و تجمع متابولیت‌ها نیز نمونه‌های بارزی از سازگاری با شرایط تنش می‌باشند. لیکن با افزایش شوری به ۷۰ میلی‌مولار، فعالیت آنزیم‌ها به‌طور چشمگیری افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که با افزایش هر چه بیشتر شوری، مقدار ROS‌های تولیدشده در گیاه افزایش می‌یابد و با افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت می‌نماید (Ashraf & Harris, 2004). تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولیدشده در گیاه باشد، این فرآیند ادامه دارد. لذا حجم SOD تولیدشده تا این سطح از شوری توان مهار عوامل اکسیداتیو را دارد. Jaleel (2009) گزارش کرد که فعالیت آنزیم SOD در اندام هوایی و ریشه با افزایش شوری در گیاه *Catharanthus roseus* کاهش یافت، درحالی‌که در شوری پایین، فعالیت آنزیم در ریشه به‌طور مشخصی افزایش نشان داد. این محقق عنوان نمود که کاهش فعالیت SOD برگ می‌تواند پیامد تعدیل ساخت و تجمع آنزیم‌های کم‌فعال و یا تغییر و تبدیل بیشتر SOD باشد.

Sreenivasulu *et al.* (2000) در آزمایشی که بر روی گیاه ارزن دم‌روپاهی انجام دادند، مشاهده کردند که رقم حساس به شوری نسبت به رقم مقاوم، سدیم بیشتری در خود جمع کرد، در نتیجه علائم خسارت ناشی از زیان اکسیداتیو نمایان گشت و منجر به کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز گردید. به احتمال زیاد، افت شدید در فعالیت SOD در این آزمایش می‌تواند مربوط به این مسأله باشد. همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش همزمان غلظت Na^+ درون سلولی شد که نشانگر

به تدریج ظاهر و با حالت پیش‌رونده در طول زمان موجب پژمردگی و ریزش برگ‌ها و در نهایت کاهش تعداد و سطح برگ‌ها می‌شود (Noitsakis *et al.*, 1997). Oraei *et al.* (2008) گزارش کردند که با افزایش سطوح شوری، سطح برگ در بادام فرانسویس پیوندی روی پایه‌های توئونو و GF677 کاهش یافت که این کاهش در پایه GF677 کمتر بود. کاهش سطح برگ می‌تواند به سه دلیل عمده یعنی کاهش در اندازه برگ‌ها، کاهش در تولید برگ‌های جدید و در نهایت ریزش برگ‌های پیر باشد. کاهش سرعت رشد برگ بعد از افزایش شوری عمدتاً به دلیل اثر اسمزی نمک در اطراف ریشه می‌باشد. افزایش ناگهانی شوری خاک باعث می‌شود که سلول‌های برگ به‌طور موقت آب خود را از دست بدهند. با گذشت زمان، سرعت تقسیم و طول‌شدن سلول‌ها کاهش یافته و در نتیجه این تغییرات منجر به کوچک‌شدن و کاهش سطح برگ خواهد شد (Munns, 2000). هم‌راستا با نتایج پژوهش‌های سایر محققین، در این آزمایش با افزایش تنش شوری اندازه برگ‌ها در مقایسه با شاهد کاهش یافت و به همین دلیل، با وجود اینکه اختلاف تعداد برگ‌های تیمار ۳۵ میلی‌مولار کلریدسدیم با شاهد تنها ۶/۲ برگ بود اما اختلاف سطح برگ به ۱۴۰ سانتی‌متر مربع رسید (جدول ۴). از طرفی کاهش اندازه برگ در نتیجه تنش شوری نوعی مکانسیم برای کاهش میزان تبخیر از بخش هوایی و در نتیجه حفظ آب بیشتر در بخش هوایی می‌باشد، زیرا در اثر تنش شوری و افزایش پتانسیل اسمزی در محیط رشد، معمولاً ریشه‌ها آب کمتری را جذب می‌کنند (Ferreira-Silva *et al.*, 2008).

با افزایش غلظت کلریدسدیم طول و قطر ساقه در پایه GF677 و رقم تونو (Tuono) و ژنوتیپ ۱۶-۱ کاهش یافت. از آنجاکه پدیده رشد حاصل فعالیت‌های حیاتی در شرایطی است که گیاه باید آب کافی در اختیار داشته باشد، در صورت عدم تأمین آب مورد نیاز به دلیل کاهش فشار تورژانس سلول‌های در حال رشد، کاهش ارتفاع رخ می‌دهد. تنش اسمزی در مرحله اول تنش شوری موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها شده و طول‌شدن آنها را با مشکل روبه‌رو می‌کند و حتی پس از ایجاد تعادل اسمزی و تأمین فشار اسمزی مجدد سلول‌ها، گسترش و طول‌شدن آنها به‌کندی صورت می‌گیرد (Munns & Tester, 2008)؛ بنابراین یکی از دلایل کاهش ارتفاع بوته در آزمایش حاضر (به‌ویژه در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار) می‌تواند اثرات منفی شدید تنش شوری روی کاهش فشار اسمزی سلول‌ها باشد.

تعداد و سطح برگ

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین تیمارهای آزمایش از نظر تعداد و سطح برگ در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴). کمترین تعداد و سطح برگ در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (به ترتیب ۱۱/۶ عدد و ۹۱/۲ سانتی‌متر مربع) و بیشترین در تیمار شاهد (به ترتیب ۲۹ عدد و ۴۱۸ سانتی‌متر مربع) و ۳۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (به ترتیب ۲۲/۸ عدد و ۲۷۸ سانتی‌متر مربع) مشاهده شد (جدول ۴). مقایسه تحمل به شوری رقم‌های تجاری و وحشی بادام نشان داد که با افزایش سطوح شوری، نشانه سوختگی در حاشیه برگ‌های بادام‌باغی

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کلریدسدیم (NaCl) بر میزان قطر و ارتفاع گیاه، تعداد و سطح برگ، محتوای رطوبت

نسبی برگ‌ها، کلروفیل و پرولین پایه هیبرید GN15

Table 3. Variance analysis of different levels of sodium chloride (NaCl) on the amount of plant diameter and height, number and leaf area, RWC, chlorophyll a, b and total chlorophyll and leaf and root proline of the GN15 hybrid rootstocks

S.O.V	df	Stem diameter	Plant height	Number (leaf)	LA	RWC	Chl a	Chl b	Total Chl	Leaf Proline	Root Proline
Treatment	3	11.3**	1073**	296**	11309**	425**	312.27**	209.56**	10151.68**	253.65**	335.66**
Error	16	0.0018	1.64	3.48	53.6	0.94	1.57	2.38	5.49	9.35	5.95
C.V. (%)		2.78	2.59	9.43	3.2	1.15	1.67	2.29	1.65	15.2	8.61

**Significant at 1% probability level.

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر میزان قطر و ارتفاع گیاه، تعداد و سطح برگ، محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها، کلروفیل و پرولین پایه هیبرید GN15

Table 4. Comparison of the effect of different levels of sodium chloride (NaCl) on the amount of plant diameter and height, number and leaf area and RWC of the GN15 hybrid rootstocks

Treatment	Stem diameter (mm)	Plant height (cm)	Number (leaf)	LA ¹ (cm ²)	RWC ² (%)
0	6.28a	63.7a	29a	418a	92.3a
35	5.64b	57.5b	22.8b	278b	88.5b
70	4.5c	45.7c	15.7c	127c	83.3c
105	2.84c	30.4d	11.6d	91.2d	71.2d

* در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه می‌باشند، در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

* In each column, averages with similar letters don't have significant difference at the 1% probability level of Duncan test.

۱. Leaf Area: سطح برگ؛ ۲. Relative Water Content: محتوای آب نسبی

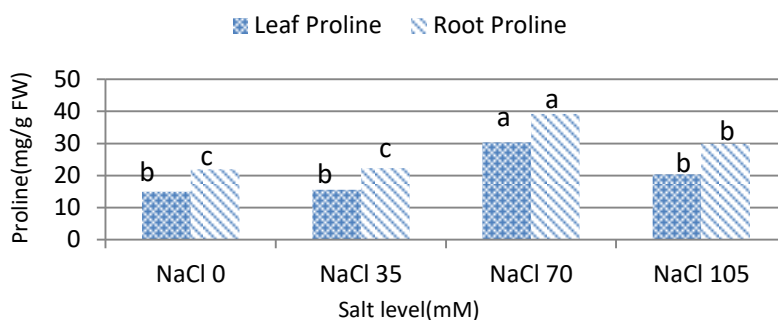
محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها (RWC)

کمترین محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم (۷۱/۲ درصد) و بیشترین آن در تیمار شاهد (۹۲/۳ درصد) مشاهده شد (جدول ۴). عده‌ای از محققین گزارش کردند که با افزایش سطوح شوری، محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها در بادام فرانسویس پیوندی روی پایه‌های تونو و GF677 کاهش یافت (Oraei *et al.*, 2008). کاهش در محتوای رطوبت نسبی برگ‌ها در اثر تنش شوری ناشی از محدودیت دسترسی به آب جهت فرآیندهای توسعه سلولی بوده و نشانگر کاهش تورژسانس سلول‌ها می‌باشد (Yamasaki & Dillenburg, 1999). در آزمایش حاضر، با وجود اختلاف بین تیمارها از لحاظ شاخص‌های رشد، بررسی نتایج نشان می‌دهد که در غلظت‌های صفر تا ۳۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، پایه GN15 تقریباً دارای یک رشد عادی می‌باشد و شوری نتوانست به شدت موجب کاهش شاخص‌های رشد شود. بررسی شاخص‌های رشد در غلظت‌های ۳۵ تا ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نشان می‌دهد که پایه GN15 در این محدوده شروع به کاهش رشد نموده و گیاه تقریباً دارای رشد حدواسط می‌باشد ولی در غلظت ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم شاخص‌های رشد در مقایسه با شاهد به شدت کاهش داشته و به نظر می‌رسد این غلظت برای رشد گیاه GN15 محدودکننده می‌باشد. به‌طور مشابه Zrig *et al.* (2011) گزارش کردند که با افزایش سطح تنش شوری (۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم) به‌طور کلی، شاخص‌های رشد در پایه‌های GN667 و GN15 کاهش یافت؛ اما این کاهش در مقایسه با بادام تلخ

بسیار کمتر بود و یکی از دلایل مهم این موضوع کارایی بالای این پایه‌ها در جذب آب و عناصر غذایی در شرایط تنش شوری می‌باشد.

پرولین ریشه و برگ

مطابق جدول ۳ تجزیه واریانس، میزان پرولین هم برای ریشه و هم برای برگ معنی‌دار است، به‌طوری که بیشترین این میزان برای هر دو صفت یاد شده در سطح شوری ۷۰ میلی‌مولار (به ترتیب ۳۹ و ۳۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) مشاهده می‌شود (شکل ۱). عده‌ای از محققین گزارش کردند که در پایه هیبرید GF677 تحت تنش شوری میزان پرولین برگ تا کلرید سدیم ۸۰ میلی‌مولار (۱۷ میکرومول در هر گرم) روند افزایشی و سپس در سطح شوری ۱۲۰ میلی‌مولار (۱۹ میکرومول در هر گرم) کاهش چشمگیری دارد که مشابه این رخداد در تحقیق حاضر دیده شد (Mashayekhi *et al.*, 2015). همچنین طی تحقیقی روی ارقام مختلف بادام مشخص شد که با افزایش سطوح شوری تا ۸۰ میلی‌مولار، در برگ‌ها میزان پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد؛ به‌طوری که بیشترین میزان آن در رقم شکوفه (۱۸۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) دیده شد (Rahnemoon *et al.*, 2015). (Ghahremanzadeh *et al.*, 2015). (2013) نیز چنین مورد مشابهی را در مورد بادام مبنی بر افزایش میزان پرولین تحت شوری ۷۵ میلی‌مولار تا ۱۱۷ میکرومول بر گرم ماده تر گزارش نموده‌اند. تجمع پرولین در پایه‌هایی که تحمل بیشتری به شوری دارند می‌تواند یک مکانیسم دفاعی برای مقابله و تحمل تنش باشد (Alizadeh *et al.*, 2010).



شکل ۱. اثر سطوح مختلف شوری بر روی مقادیر پرولین برگ و ریشه پایه هیبرید GN15

Figure 1. Effect of different levels of salinity on proline values of leaves and root of the GN15 hybrid rootstocks

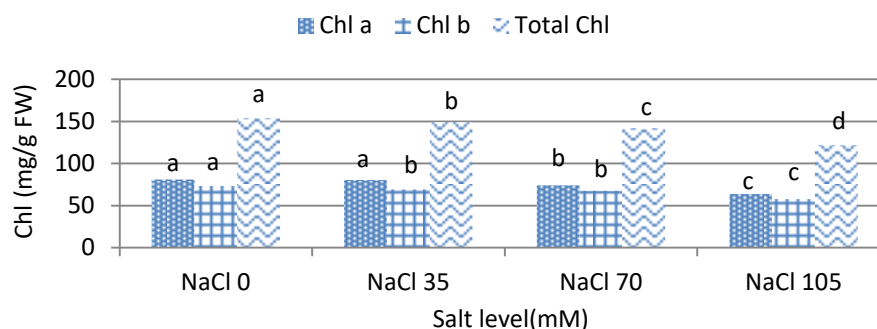
گفت که اغلب گلیکوفیت‌ها در مراحل مقدماتی مواجهه با تنش شوری، شروع به تغییر مسیر متابولیزم در سلول‌های ریشه کرده و از این طریق برخی متابولیت‌های سازگار از جمله پرولین را برای تنظیم پتانسیل اسمزی سلول‌های خود سنتز می‌کنند (Rahneemoun *et al.*, 2013). همچنین از نظر فیزیولوژیکی می‌توان چنین استدلال کرد که با افزایش محتوای پرولین دانه‌ها، دشواری جذب آب تا حدودی تعدیل و محتوای نسبی آب برگ‌ها با نقصان کمتری مواجه می‌شود و در نتیجه ظهور علائم سوختگی حاشیه برگ‌ها با شدت کم و تأخیر زیاد رخ می‌دهد. اخیراً نیز معلوم شده است که پرولین علاوه بر ایفای نقش مؤثر در فرآیند آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیم، به‌عنوان محرکی برای فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نیز عمل می‌کند (Harinasut *et al.*, 2003). برخلاف نظر بعضی از محققان که افزایش محتوای این اسید آمینه در شرایط تنش را فقط یک واکنش ساده محیطی از سوی گیاه تلقی می‌کنند و ارزش چندانی برای آن قائل نیستند، به‌نظر می‌رسد پرولین در بادام نقش مؤثری در کاهش آثار اسمزی و سمیت شوری ایفا می‌کند (Rahneemoun *et al.*, 2013).

کلروفیل a، b و کلروفیل کل

مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ‌ها با افزایش شوری کاهش یافت (شکل ۲). کمترین غلظت کلروفیل کل در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۱۲۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) و بیشترین این مقدار در تیمار شاهد (۱۵۴ میلی‌گرم در هر گرم وزن تر) مشاهده شد.

از آنجاکه پرولین در تنش‌های محیطی در سلول‌ها تجمع می‌یابد و با توجه به نقش حفاظتی آن و تنظیم اسمزی، یکی از دلایل بالاتر بودن تحمل پایه GN15 تا غلظت ۷۰ میلی‌مولار می‌تواند به‌علت تجمع بیشتر این اسید آمینه باشد که از صدمات ناشی از تنش اسمزی و یونی کلریدسدیم کاسته است (Sotiropoulos, 2007). طی تحقیقی، میزان پرولین در بادام پیوندشده روی پایه GF677 در ابتدا تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار افزایش، ولی در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار کاهش چشمگیری را دارا بوده است (Zrig *et al.*, 2015). در پسته نیز همزمان با افزایش سطوح شوری، روند افزایشی در میزان پرولین برگ‌ها گزارش شده است (Karimi *et al.*, 2009). تجمع پرولین به‌دلیل تنش، می‌تواند ناشی از تحریک سنتز آن یا جلوگیری از تجزیه آن و یا تجزیه پروتئین‌ها باشد. مشخص شده که تجمع پرولین به موازات افزایش فعالیت آنزیم‌های شرکت‌کننده در سنتز پرولین از طریق مسیر گلوتامیت شامل γ -گلوتامین کیناز، گلوتامیل فسفات ردوکتاز و Δ -پیرولین-۵-کربوکسیلات ردوکتاز می‌باشد (Harinasut *et al.*, 2003). همچنین تنش باعث می‌گردد فعالیت آنزیم تجزیه‌کننده پرولین (پرولین اکسیداز) در آفتابگردان (Manivannan *et al.*, 2007) و گوجه‌فرنگی (Fujita *et al.*, 2003) کاهش پیدا کند؛ از این‌رو، کاهش فعالیت آنزیم پرولین‌اکسیداز و افزایش فعالیت γ -گلوتامیل کیناز می‌تواند دلیل تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش باشد.

در آزمایش حاضر، میزان پرولین ریشه بیشتر از پرولین برگ بود. در توجیه علت این پدیده می‌توان



شکل ۲. اثر سطوح مختلف شوری بر روی مقادیر کلروفیل a ، b و کلروفیل کل پایه هیبرید GN15
Figure 2. Effect of different levels of salinity on chlorophyll a, b and total chlorophyll content of the GN15 hybrid rootstocks.

رشد و عملکرد گیاهان در اثر تنش شوری می‌باشد (Hehdari sharif abad, 2001).

در مجموع در این پژوهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسید آمینه پرولین نتوانست اثرات مخرب کلریدسدیم در غلظت‌های ۷۰ و ۱۰۵ میلی‌مولار را در این پایه تعدیل سازد و گیاه در اثر تجمع بالای یون‌های سدیم و کلر آسیب دید، به‌طوری‌که از ۵ گلدان موجود در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار، یک گلدان به‌طور کامل از بین رفت و در بقیه گیاهان برگ‌ها به‌شدت کلروزه شدند. با توجه به نتایج سایر محققین و نتایج حاصل از این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که این پایه، شوری تا ۷۰ میلی‌مولار را تحمل می‌نماید و در غلظت‌های بالاتر دچار تنش می‌شود و از آن می‌توان به‌عنوان یک پایه متحمل به شوری برای مناطقی با شوری متوسط استفاده نمود.

غلظت نیتروژن برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای آزمایش از لحاظ غلظت نیتروژن، فسفر، پتاسیم و سدیم برگ، سدیم ریشه در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۵). کمترین غلظت نیتروژن برگ در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۲۹/۳) میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و بیشترین در تیمار شاهد (۳۹/۷) میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و ۳۰ میلی‌مولار (۳۹/۳)

از لحاظ غلظت کلروفیل a بین شاهد و تیمار ۳۵ میلی‌مولار کلریدسدیم اختلافی وجود نداشت، درحالی‌که برای کلروفیل کل، بین هر یک از سطوح شوری اختلاف معنی‌داری وجود داشت. این نتایج با نتایج Dejamoor *et al.* (2012) مطابقت داشت. این محققین اثر تنش شوری کلریدسدیم را بر میزان کلروفیل‌های a ، b و کل در برخی از پایه‌های جنس بادام، بررسی و گزارش کردند که این مقادیر تحت شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد. کاهش در غلظت کلروفیل یک نشانه بارز از تنش اکسیداتیو است که از هم‌پاشیدگی غشا و کاهش کلروفیل از پیامدهای آن می‌باشد. در آزمایش حاضر، غلظت کلروفیل b بیشتر از کلروفیل a کاهش پیدا کرد و این امر موجب افزایش نسبت کلروفیل a به b گردید، این امر احتمالاً ناشی از خسارت‌های ساختاری مرکز واکنش فتوسیستم ۲ می‌باشد. از طرفی به‌نظر می‌رسد که اثر تنش شوری بر کاهش غلظت کلروفیل b بیشتر از a می‌باشد و نتایج مشابهی در آزمایش Zhang *et al.* (2013) گزارش شده است. Gholami & Rahemi (2009) گزارش کردند که با افزایش غلظت شوری، میزان کلروفیل برگ‌های پایه GF677 تحت تنش شوری به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. شوری با تخریب ساختار کلروپلاست‌ها، کاهش میزان کلروفیل و عدم پایداری ترکیب‌های رنگیزه- پروتئین باعث کاهش سطح فتوسنتزی گیاه شده که خود منتج به کاهش در تثبیت دی‌اکسیدکربن می‌شود که علت اصلی کاهش

نیترات ردوکتاز برگ و کاهش مصرف آب به دلیل کاهش جذب آب توسط گیاه باشد (Sotiropoulos *et al.*, 2006). در آزمایش حاضر غلظت نیتروژن برگ در تیمار ۳۵ میلی مولار کلرید سدیم با شاهد تفاوتی نداشت و نیز کاهش آن در تیمار ۷۰ میلی مولار خیلی زیاد نبود که این امر به احتمال زیاد به توانایی پایه GN15 در حفظ بیشتر یون سدیم در ریشه و انتقال کمتر آن به بخش هوایی می باشد که از اثرات سمی یون سدیم کاسته است.

میلی گرم در گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد و این دو تیمار با هم اختلاف معنی دار نداشتند (جدول ۶). بسیاری از تحقیقات آزمایشگاهی و گلخانه ای کاهش تجمع نیتروژن در گیاهان به دلیل تنش شوری را نشان داده است (Grattan & Grieve, 1999). شوری همراه با کاهش تولید ماده خشک، جذب نیتروژن را نیز کاهش می دهد، این کاهش می تواند ناشی از اثر آنتاگونیستی یون کلر در جذب نیترات، کاهش متابولیسم نیتروژن در اثر کاهش فعالیت آنزیم

جدول ۵. تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ، سدیم برگ و ریشه،

کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم، فسفر و سدیم برگ

Table 5. Variance analysis of different levels of sodium chloride (NaCl) on the concentration of N, P, and leaf K, leaf and root Na, efficiency of nitrogen, potassium, phosphorus and sodium uptake of leaves

S.O.V	df	N (leaf)	P (leaf)	K (leaf)	Na (leaf)	Na (root)	Efficiency of nitrogen uptake of leaves	Efficiency of potassium uptake of leaves	Efficiency of phosphorus uptake of leaves	Efficiency of sodium uptake of leaves
S.O.V	3	117**	8.5**	95.3**	117**	193**	98074**	122060**	9257**	17679**
Treatment	16	1.83	0.82	2.23	0.15	0.13	784	819	208	25.2
Error	%	3.71	7.32	3.24	4.75	3.63	4.98	4.03	7.56	4.18

** Significant difference at 1% probability level.

** اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ، سدیم برگ و ریشه،

کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم، فسفر و سدیم برگ

Table 6. Comparison of the effect of different levels of sodium chloride (NaCl) on the concentration of N, P, and leaf K, leaf and root Na, efficiency of nitrogen, potassium, phosphorus and sodium uptake of leaves

Treatment	N (leaf) (mg g ⁻¹ DW)	P (leaf) (mg g ⁻¹ DW)	K (leaf) (mg g ⁻¹ DW)	Na (leaf) (mg g ⁻¹ DW)	Na (root) (mg g ⁻¹ DW)	Efficiency of nitrogen uptake of leaves (mg g ⁻¹ DW)	Efficiency of potassium uptake of leaves (mg g ⁻¹ DW)	Efficiency of phosphorus uptake of leaves (mg g ⁻¹ DW)	Efficiency of sodium uptake of leaves (mg g ⁻¹ DW)
0	39.7a	13.5a	50.3a	2.76d	3.04d	687a	870a	234a	47.8c
35	39.3a	13.4a	48.1b	5.82c	6.82c	640a	783b	218a	94.5b
70	37b	11.2b	45.1c	11.3b	13.6b	557b	680c	169b	166a
105	29.3c	11.2b	40.1d	13.2a	16.68a	369c	506d	141c	170a

* در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف مشابه می باشند، در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن اختلاف معنی داری ندارند.

* In each column, averages with similar letters don't have significant difference at the 1% probability level of Duncan test.

فسفر برگ بیشتر شاخه و برگ ها، افزایش تعداد گل های ماده و میوه بندی می شود و در نهایت موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می گردد (Sainju *et al.*, 2003). بنابراین در آزمایش حاضر ممکن است کاهش کمتر شاخص های رشد و بیوماس در بخش هوایی، ناشی از جذب بالای فسفر توسط پایه GN15 در شوری ۳۵ و ۷۰ میلی مولار کلرید سدیم باشد. با این حال، اثر متقابل شوری و فسفر در گیاهان همانند نیتروژن پیچیده می باشد و به نوع گونه یا رقم، مرحله نمو گیاه، ترکیب و سطوح شوری و غلظت فسفر در محیط

فسفر برگ کمترین غلظت فسفر برگ در تیمار ۱۰۵ میلی مولار کلرید سدیم (۱۱/۲ میلی گرم در گرم وزن خشک برگ) و بیشترین در تیمار شاهد (۱۳/۵ میلی گرم در گرم وزن خشک برگ) و ۳۵ میلی مولار (۱۳/۴ میلی گرم در گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد و این دو تیمار با هم اختلاف معنی دار نداشتند (جدول ۶). فسفر نقش بسیار مثبتی در تحریک رشد ریشه گیاه دارد که می تواند روی جذب بهتر آب و عناصر غذایی تأثیرگذار باشد، همچنین فسفر موجب افزایش قدرت ساقه، رشد

ترجیحا در برگ‌های پایین و پیرتر تجمع می‌یابد. همچنین آسیب‌های اختصاصی ناشی از تجمع سدیم در بافت برگ، موجب نکروزه شدن برگ‌های پیر می‌شود که ابتدا از نوک و حاشیه‌ها شروع و در نهایت به سمت مرکز برگ توسعه می‌یابد که این حالات در برگ‌های گیاه مورد مطالعه در این آزمایش مشاهده شد. در آزمایش حاضر، با افزایش غلظت نمک، غلظت سدیم در بخش‌هوایی و ریشه افزایش یافت، اما این افزایش در ریشه بیشتر بود؛ بنابراین این احتمال وجود دارد که پایه GN15 با جذب بیشتر سدیم در ریشه و انتقال کمتر آن به بخش هوایی، از اثرات سمی یون سدیم در بخش هوایی می‌کاهد، به طوری که با وجود اختلاف آماری بین تیمارها، شاخص‌های رشد پایه GN15 (جدول ۴) در تیمار ۳۵ میلی‌مولار کلریدسدیم در مقایسه با شاهد و ۷۰ میلی‌مولار در مقایسه با ۳۵ میلی‌مولار اختلاف عددی زیادی نداشتند. این توضیح با نتایج پژوهش *Zrig et al.* (2015) مطابقت دارد، در آزمایش آنها غلظت یون سدیم در برگ پایه‌های GF677 و بادام تلخ بیشتر از پایه GN15 بود و به نظر می‌رسد پایه GN15 ظرفیت بالایی برای محدود کردن جذب سدیم توسط ریشه‌هایش دارد و این امر می‌تواند توجیه‌کننده غلظت کم یون سدیم در برگ‌ها باشد.

کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر برگ

بیشترین کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر برگ در تیمار شاهد (به ترتیب ۶۸۷، ۸۷۰ و ۲۳۴ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ) و کمترین میزان جذب در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار مشاهده شد (به ترتیب ۵۰۶، ۱۴۱ و ۱۷۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ) و همچنین بیشترین کارایی جذب سدیم برگ در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۱۷۰ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ) و کمترین در تیمار شاهد (۴۷/۸ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد (جدول ۶). ژنوتیپ‌های برتر معمولا به دلیل داشتن کارایی بالا در جذب عناصر غذایی به ویژه در شرایط نامطلوب محیطی مانند کمبود عناصر غذایی، کمتر دچار اثرات منفی ناشی از کمبود عناصر غذایی می‌شوند. این گیاهان معمولا عناصر غذایی را با کارایی

بستگی دارد؛ بنابراین با توجه به نوع گیاه و شرایط آزمایش، نتایج متفاوتی را می‌توان انتظار داشت (Grattan & Grieve, 1999).

پتاسیم برگ

کمترین غلظت پتاسیم برگ در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۴۰/۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و بیشترین در تیمار شاهد (۵۰/۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و ۳۵ میلی‌مولار (۴۸/۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد (جدول ۶). عده‌ای از محققین طی تحقیقی بیان کردند که بادام رقم شکوفه از طریق افزایش غلظت پتاسیم می‌تواند از اثرات منفی و مخرب سدیم مقابله کند (Momenpour et al., 2015). در آزمایش حاضر نیز غلظت پتاسیم در برگ‌ها در شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار بیشتر از غلظت سدیم بود و به نظر می‌رسد که شوری در این دو سطح نتوانسته موجب کاهش شدید در جذب عناصر غذایی شود.

سدیم برگ و ریشه

بیشترین غلظت سدیم برگ در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۱۳/۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و کمترین در تیمار شاهد (۲/۷ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) و ۳۵ میلی‌مولار (۵/۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک برگ) مشاهده شد. بیشترین غلظت سدیم ریشه در تیمار ۱۰۵ میلی‌مولار کلریدسدیم (۱۶/۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک ریشه) و کمترین در تیمار شاهد (۳/۰۴ میلی‌گرم در گرم وزن خشک ریشه) و ۳۵ میلی‌مولار (۶/۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک ریشه) مشاهده شد (جدول ۶). عده‌ای از محققین گزارش کردند که در شوری ۴/۸ گرم در لیتر تمام ژنوتیپ‌های پیوندی روی پایه GF677 و در شوری ۳/۶ گرم در لیتر تنها رقم شکوفه نسبت به پایه GF677 پیوند نشده، از طریق افزایش قدرت پایه توانستند به طور معنی‌داری از ورود یون سدیم به ریشه و انتقال آن به بخش هوایی جلوگیری کنند (Momenpour et al., 2015). به عقیده Munns (2002) سدیم به جای تجمع در برگ‌های بالایی و جوان‌تر،

نموده و موجب بهبود عملکرد و شاخص‌های رشد شوند (Rengel & Damon, 2008). در آزمایش حاضر هر چند با افزایش سطح شوری، غلظت و کارایی جذب سدیم افزایش و غلظت و کارایی جذب نیتروژن، پتاسیم و فسفر کاهش پیدا کرد اما بازهم میزان کارایی جذب این عناصر در مقایسه با سدیم بیشتر بود (به‌ویژه شوری ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار) که نشان از نقش مؤثر عناصر غذایی در بهبود شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک با افزایش شوری کلرید سدیم بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

پایه GN15 به دلیل داشتن غلظت و کارایی بالای جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم نسبت به سدیم و ذخیره بیشتر یون سدیم در ریشه نسبت به برگ در غلظت‌های ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، همچنین افزایش شدید در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توانست از اثرات شوری روی کاهش شاخص‌های رشد و نیز کلروفیل در این غلظت‌ها بکاهد و به‌نظر می‌رسد این پایه مقاوم به غلظت ۳۵ میلی‌مولار کلرید سدیم و تا حدودی متحمل به ۷۰ میلی‌مولار کلرید سدیم می‌باشد، که البته اظهار نظر قطعی در مورد مقاومت این پایه‌ها در شرایط شور و در طبیعت، امری غیر علمی است و پیشنهاد می‌شود برای رسیدن به نتایج دقیق‌تر، این آزمایش در طبیعت و برای چندین سال انجام پذیرد.

بالای از خاک جذب و به‌دلیل داشتن سیستم آوندی بهبودیافته، این عناصر را در اندام‌های بخش هوایی مانند برگ، دمبرگ، ساقه ذخیره می‌کنند و زمانی که گیاه در شرایط کمبود عناصر غذایی قرار می‌گیرد از این عناصر استفاده کرده و کمتر تحت تأثیر اثرات منفی فیزیولوژیکی ناشی از کمبود عناصر غذایی قرار می‌گیرند و رشد و عملکرد بهتری دارند (Rengel & Marschner, 2005). در آزمایش حاضر، با وجود افزایش کارایی جذب سدیم در برگ‌ها، مشاهده شد که قابلیت ریشه پایه GN15 برای حفظ سدیم در مقایسه با انتقال آن به بخش هوایی بیشتر می‌باشد. کارایی جذب نیتروژن و پتاسیم، هرچند با افزایش غلظت شوری کاهش پیدا کرد، اما نیتروژن و پتاسیم بیشتری در مقایسه با سدیم در برگ‌ها جذب شد، در ارتباط با فسفر نیز جز در تنش ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، کارایی جذب سدیم در برگ بیشتر بود؛ بنابراین همه این نتایج نشان می‌دهد که پایه GN15 توانسته با وجود افزایش شوری از یک سو نیتروژن، پتاسیم و فسفر را به‌خوبی در بخش هوایی ذخیره کند و از طرف دیگر با حفظ سدیم بیشتر در ریشه از اثرات سمی یون سدیم روی رشد گیاه بکاهد که توانایی پایه در مقاومت به تنش ۳۵ و ۷۰ میلی‌مولار بیشتر از ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. در واقع، حفظ غلظت بالایی از عناصر در بخش هوایی (کارایی جذب بالا) باعث می‌شود که گیاهان بیوماس بیشتری را تولید

REFERENCES

1. Abdul Jaleel, C., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., Chang-Xing, Z., Hong-Bo, S. & Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constrains. *Acta Physiologia Plantarum*, 31, 427-436.
2. Abili, J. & Zare, S. (2014). Evaluation of antioxidant enzymes activity in canola under salt stress. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 7, 767-771.
3. Alizadeh, M., Singh, S. K., Patel, V. B., Bhattacharya, R. C. & Yadav, B. P. (2010). In vitro responses of grape rootstocks to NaCl. *Biologia Plantarum*, 54, 381-385.
4. Amini, Z. & Saadati, S. (2014). Effects of water deficit on proline content and activity of antioxidant enzymes among three olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Journal of Plant Research*, 27(2), 156-167. (in Farsi)
5. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
6. Ashraf, M. & Ali, Q. (2008). Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 63, 266-273.
7. Ashraf, M. & Harris, P. J. C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3-16.

8. Bagherzadeh, A., Kavousi, H., Khezri, M. & Mirzaei, S. (2016). Study of protein expression pattern and some morphological and biochemical characteristics of Badami-Sefid and Badami-Zarand pistachio rootstocks under salt stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 8(3), 15-32. (in Farsi)
9. Balal, R. & Khan, M. (2012). Comparative studies on the physiobiochemical, enzymatic, and ionic modifications in salt-tolerant and salt-sensitive citrus rootstocks under NaCl stress. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 137(2), 86-95.
10. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
11. Bolat I., Kaya C., Almaca A. & Timucin, S. (2006). Calcium sulfate improve salinity tolerance in rootstock of plum. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 553-564.
12. Dejamoor, G., Aliasgarzadeh, N., Grigorian, V. & Majidi-Hervan, A. (2012). Evaluation of salinity tolerance in some interspecific hybrids of prunus. *Seedling and Seed Breeding*, 28(3), 339-351. (in Farsi)
13. Duran-Zuazo, V. H., Martinez-Raya, H. & Aguilar-Ruiz, J. (2003). Salt tolerance of mango rootstock (*Magnifera indica* L. cv.Osteen). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 1(1), 67-78.
14. Esfandyari, A., Abbasi, A., Enayati, V. & Mousavi, S. (2010). Different behavior of root and leaf in grass pea landraces in response to oxidative stress caused by salinity. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 2(4), 65-76. (in Farsi)
15. Ferreira-Silva, S. L., Silveira, J., Voigt, E., Soares, L. & Viegas, R. (2008). Changes in physiological indicators associated with salt tolerance in two contrasting cashew rootstocks. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(1), 51-59.
16. Fujita, T., Maggio, A., Rios, M. G., Stauffacher, C., Bressan, R. A. & Csonka, L. N. (2003). Identification of regions of the tomato-glutamyl kinase that are involved in allosteric regulation by proline. *Acta Horticulturae*, 278-288.
17. Galeshi, S., Torabi, B., Resam, G. H., RahemiKarizaki, A. & Barzegar, A. (2009). Stress management in plants. *Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources Press*, 30, 23-29.
18. Gaspar, T., Penel, C., Castillo, F. J. & Greppin, H. (1985). A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Physiology of Plants*, 64, 418-423.
19. Ghahremanzadeh, A., Piri, S. & Imani, A. (2015). Effects of salinity stress on some physiological properties of almond. *Journal of Novel Applied Sciences*, 12, 1246-1248.
20. Gholami, M. & Rahemi, M. (2009). Effect of NaCl salt stress on physiological and morphological characteristic of vegetative peach- almond hybrid (GF677) rootstock. *Plant Production Technology*, 9(1), 173-181. (in Farsi)
21. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerant in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
22. Grattan, S. R. & Grieve, C. M. (1999). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78, 127-157.
23. Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. & Charoensataporn, R. (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivars, *ScienceAsia*, 29, 109-113.
24. Heydari-Sharifabad, H. (2001). *Plant and salinity*. Forestry and Rangeland Research Institute, 76 pp. (in Farsi)
25. Jaleel, C. A. (2009). Soil salinity regimes alters antioxidant enzyme activities in two varieties of *Catharanthus roseus*. *Botany Research International*, 2(2), 64-68.
26. Kang, H.N. & Saltveit, V. (2002). Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. *Plant, Cell and Environment*, 25, 1233-1238.
27. Karimi, S., Rahemi, M., Maftoun, M., Eshghi, S. & Tavallali, V. (2009). Effects of long-term salinity on growth and performance of two pistachio rootstocks. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(3), 1630-1639.
28. Kim, S. Y., Lim, J. H., Park, M. R., Kim, Y. J., Park, T. I., Seo, Y. W., Choi, K.G. & Yun, S. J. (2005). Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 38(2), 218-224.
29. Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. M. A. & Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 59, 141-149.
30. Mashayekhi, M., Amiri, M. E. & Habibi, F. (2015). Study of biochemical reactions and enzymatic activity of Gf677 rootstocks (peach-almond rootstock) in salt stress. *Journal of Horticultural Science*, 29(2), 207-215.
31. Matsumoto, K., Tamura, F., Chun, J. & Tanabe, K. (2006). Native mediterranean *Pyrus* rootstock, *P. amygdaliformis* and *P. elaeagrifolia*, present higher tolerance to salinity stress compared with Asian natives. *Journal of Japan Society Horticulture Science*, 75(6), 450-457.

32. Merati, M., Niknam, V., Hasanpour, H. & Mir Masoumi, M. (2015). Comparative effects of salt stress on growth and antioxidative responses in different organs of pennyroyal (*Mentha pulegium L.*). *Journal of Plant Research*, 28(5), 1097-1107. (in Farsi)
33. Momenpour, A., Bakhshi, D., Imani, A. & Rezaie, H. (2015). Effect of salinity stress on nutrient concentrations in almond cultivars Shokoufa, Sahand and Genotype 13-40 on the GF677 Rootstock. *Journal of Horticultural Science*, 29(2), 255-268. (in Farsi)
34. Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
35. Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 25, 239-250.
36. Noitsakis, B., Dimassi, K. & Therios, I. (1997). Effect of NaCl induced salinity on growth. Chemical composition and water relation of two almond (*Prunus amygdalus L.*) cultivars and the hybrid GF677. (*Prunus amygdalus- Prunus persica*). *Acta Horticulturae*, 449, 641-648.
37. Olsen, S. R. & Sommers, L. E. (1982). Phosphorus. pp. 403-430, In: C.A. Black (ed.), *Methods of Soil Analysis*. The National Academy of Sciences, London.
38. Oraei, M., Tabatabaei, S. J., Fallahi, E. & Imani, A. (2008). The effects of salinity stress and rootstock on the growth, photosynthetic rate, nutrient and sodium concentrations of almond (*Prunus dulcis Mill*). *Journal of Horticultural Sciences*, 10, 131-140. (in Farsi)
39. Petrov, V. D. & Breusegem, F. V. (2012). Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. *Cell Biology*, 14, 1093-1206.
40. Rahemi, M., Nagafian, S. H. & Tavallaie, V. (2008). Growth and chemical composition of hybrid GF677 influenced by salinity levels of irrigation water. *Journal of Plant Sciences*, 7(3), 309-313.
41. Rahnomoon, H., Shekari, F., Dejampour, J. & Khorshidi, M. (2013). Effect of different salinity levels on some morphological and biochemical changes of almond (*Prunus dulcis. Mill*). *Journal of Agriculture*, 14(2), 179-192. (in Farsi)
42. Reddy, Y. V. & Srivastava, G. C. (2003). Superoxide dismutase and peroxidase activities in ripening mango (*Mangifera indica L.*) fruits. *Indian Journal of Plant Physiology*, 8, 115-119.
43. Rengel, Z. & Damon, P.M. (2008). Crops and genotypes differ in efficiency of potassium uptake and use. *Physiologia Plantarum*, 133, 624-636.
44. Rengel, Z. & Marschner, P. (2005). Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. *New Phytologist*, 168, 305-312.
45. Sadeghi, H. (2011). Differential response to salinity in two Iranian barley (*Hordeum vulgare L.*) cultivars. *Romanian Agricultural Research*, 28, 57-64.
46. Sadri, H. & Imani, A. (2013). Investigating the effects of various concentrations of indole butyric acid (IBA) hormone and culture medium on rooting of GF677 rootstock cuttings. *The first conference on the application of modern science and technology in agriculture and natural resources*, 16-26. (in Farsi)
47. Sainju, U. M., Dris, R. & Singh, B. (2003). Mineral nutrition of tomato. *Food, Agriculture & Environment*, 1(2), 176-183.
48. Shani, U. & Ben-Gal, A. (2005). Long-term response of grape vines to salinity: osmotic effects and ion toxicity. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2), 148-154.
49. Smart, R. E. & Bingham, G. E. (1974). Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, 53, 258-260.
50. Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125, 27-58.
51. Sotiropoulos, T. E. (2007). Effect of NaCl and CaCl₂ on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M4 cultured in vitro. *Biologia Plantarum*, 51, 177-180.
52. Sotiropoulos, T. E., Therios, I. N., Almaliotis, D., Papadakis, I. & Dimassi, K. N. (2006). Response of cherry rootstocks to boron and salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 29, 1691-1698.
53. Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. & Weschke, W. (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt sensitive seedlings of foxtailmillet (*Setaria italica*). *Journal of Plant Physiology*, 109, 435-442.
54. Szabados, L. & Arnould, S. (2009). Proline: a multifunctional amino. *Plant Science*, 15, 89-97.
55. Waling, I., Vark, W. V., Houba, G. & Vanderlee, J. J. (1989). *Soil and Plant Analysis*. Wageningen Agriculture University, Netherland.
56. Wang, C. (1995). Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. *Postharvest Biology and Technology*, 5, 67-76.
57. White, P. J., Hammond, J. P., King, G. J., Bowen, H. C., Hayden, R. M., Meacham, M. C., Spracklen, W. P. & Broadley, W. R. (2010). Genetic analysis of potassium use efficiency in *Brassica oleracea*. *Annals of Botany*, 105, 1199-1210.

58. Yamasaki, S. & Dillenburg, L.C. (1999). Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal*, 11, 69-75.
59. Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A. H. & Demiral, T. (2007). Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental Experimental Botany*, 61(1), 49-57.
60. Zarabi, M. M., Talayi, A., Soleymani, A. & Hadad, R. (2011). Physiological role and biochemical changes of six olive cultivars in drought stress. *Journal of Horticultural Science*, 24(2), 234-244.
61. Zhang, M., Fang, Y., Ji, Y., Jiang, Z. & Wang, L. (2013). Effects of salt stress on ion content, antioxidant enzymes and protein profile in different tissues of *Broussonetia papyrifera*. *South African Journal of Botany*, 85, 1-9.
62. Zhang, Z., Huber, D. & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 58-64.
63. Zrig, A., Ben Mohamed, H., Tounekti, T., Ahmed, S. & Khemira, H. (2015). Differential responses of antioxidant enzymes in salt-stressed almond tree grown under sun and shade conditions. *Plant Science and Research*, 2(1), 23-30.
64. Zrig, A., Tounekti, T., Vadel, A. M., BenMohamed, H., Valero, D., Serrano, M., Chtara, C. & Khemira, H. (2011). Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 1313-1320.