

تجمع افتراقی عناصر غذایی، عوامل بیوشیمیایی و محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ نهال‌های بادام [*Prunus dulcis* D. Webb] در شرایط تنش شوری

ابوالفضل رنجیرفردوئی¹ و رضا دهقانی بیدگلی

دانشیار دانشگاه کاشان؛ aranjbar@kashanu.ac.ir

استادیار دانشگاه کاشان؛ dehghanir@kashanu.ac.ir

دریافت: 92/8/11 و پذیرش: 93/5/21

چکیده

شوری یکی از تنش‌های اصلی محیطی است که اثر بازدارنده بر متابولیسم و رشد گیاهان دارد. تنش شوری فیزیولوژی گیاه را در سطوح کلی و سلولی، از طریق ایجاد تنش ناشی از افزایش فشار اسمزی و بر هم زدن تعادل یونی، تحت تأثیر قرار می‌دهد. در ایران مناطق پرورش بادام به نواحی خشک و عمدتاً به کشت‌های آبی محدود می‌شوند. در این مناطق، خشکی‌های مزمن با گرمای زیاد و بارش کم همراه است که این وضعیت سبب اتلاف آب از گیاه (افزایش تنفس) و تجمع املاح در خاک می‌گردد. بدین منظور و جهت ارزیابی پاسخ فیزیو-بیوشیمیایی گیاه بادام (*Prunus dulcis*) Webb، به شوری این آزمایش اجرا گردید. نهال‌های یک ساله‌ی بادام، رقم مامایی، تحت تیمارهای مختلف شوری آب آبیاری (با هدایت الکتریکی 3، 5، 7 و 10 دسی زیمنس بر متر) قرار گرفت. در این آزمایش، رنگدانه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های *a* و *b*، مجموع $(a+b)$ ، نسبت (a/b) و شاخص پایداری آنها (CSI) مورد ارزیابی قرار گرفت. محتوای عناصر غذایی شامل یون‌های سدیم، پتاسیم، منیزیم و کلسیم و همچنین پارامترهای بیوشیمیایی شاخص از جمله قندهای محلول (کل)، پرولین، اسیدهای آمینه آزاد و محتوی پروتئین کل اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد علاوه بر وجود رابطه‌ی مستقیم و منفی بین افزایش میزان شوری و بیشتر پارامترهای مربوط به رنگدانه‌های فتوسنتزی، یک فرایند رقابتی بین یون‌های سدیم و کلر با یون‌های پتاسیم و کلسیم برقرار است. افزایش شوری آب آبیاری سبب تجمع معنی‌دار قندهای محلول، پرولین و اسیدهای آمینه آزاد و کاهش تراکم پروتئین گردید. در این آزمایش نهال‌های بادام (رقم مامایی) شوری آب آبیاری را تا 3 دسی‌زیمنس بر متر، بدون نشان دادن تغییرات اساسی در پارامترهای فیزیو-بیوشیمیایی، تحمل کردند.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل، محتوای یونی، پرولین، اسیدهای آمینه

¹ نویسنده مسئول، آدرس: کاشان، کیلومتر 6 بلوار قطب راوندی، دانشگاه کاشان، دانشکده‌ی منابع طبیعی و علوم زمین، گروه مهندسی

مقدمه

شوری یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی در بسیاری از بخش‌های جهان است. اثرات شوری روی گیاهان شامل سمیت یونی، تنش اسمزی، کمبود عناصر غذایی، اختلالات فیزیولوژیکی-بیولوژیکی و ترکیبی از این اثرات است (هس جاوا¹ و همکاران (2000)؛ رنجبر فردویی و همکاران (2002)؛ رنجبر فردویی و همکاران (2006). سمیت ناشی از تجمع یون‌ها اثرات مخرب متعدد مانند غیرطبیعی شدن آنزیم‌های سلولی رادر پی دارد (ماجی‌یو² و همکاران (2000)؛ مون‌نس³، (1993). بررسی‌های فراوان و متعدد جهت تعیین تحمل شوری روی گونه‌های گیاهی بر مبنای آزمایشاتی که در آنها کلرید پتاسیم غالبترین نمک است انجام شده است (مون‌نس و همکاران (1993)؛ گُی‌ر⁴ (2006)؛ رنجبر فردویی و همکاران (2001). در این بررسی‌ها محققین به این نتیجه رسیده‌اند تنش شوری بسیاری از جنبه‌های متابولیزم گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد که نتیجه‌ی آن کاهش رشد و تولید است. وجود بیش از حد نمک‌ها در محلول خاک اثر نامطلوب بر رشد گیاه از طریق تنش اسمزی و عدم جذب آب توسط ریشه و یا اثرات ویژه یون دارد (ياسار و اسرا⁵، 2012). بیشتر مطالعات اثر تنش شوری بر گیاهان روی ویژگی‌های رشد، محتوی کلروفیلی، نسبت‌های پتاسیم به سدیم و کلسیم به سدیم، تجمع پرولین و فراهمی سدیم متمرکز شده است. اکثر محققین اشتراک نظر دارند که تحت تنش شوری گونه‌ها و ژنوتیپ‌هایی که تجمع بالای پرولین، حفظ محتوی کلروفیل، نسبت بالای پتاسیم به سدیم و تمرکز کم یون‌های سدیم و کلر دارند مقاومتر هستند (مان⁶ و همکاران (2011).

اسناد تاریخی نشان می‌دهد که بادام اهلی (P. dulcis) از گونه‌های بومی (غیراهلی) نشأت گرفته و زیستگاه اولیه‌ی آن کوهستان‌ها و حواشی بیابان‌های آسیای مرکزی است که به اقلیم خشک با زمستان‌های ملایم، مرطوب و خشک و تابستان‌های گرم سازگار شده است (رنجبر فردویی و همکاران (2009). کشت بادام در آسیای مرکزی و بخش‌هایی از آسیای غربی، مانند ایران، ترکمنستان، ازبکستان، تاجکستان و افغانستان از دیرباز

رواج داشته است (فرانکو⁷ و همکاران، 2000). در ایران مناطق پرورش بادام به نواحی خشک و نیمه خشک و عمدتاً به کشت‌های آبی محدود می‌شود. در این نواحی، دوره و فعالیت رویشی گیاهان علاوه بر خشکی‌های مزمن با گرمای زیاد و بارش کم همراه است که این وضعیت سبب تسریع اتلاف آب از گیاه (افزایش تنفس گیاهی) و تجمع املاح در خاک می‌گردد (نجفیان و همکاران (2008)؛ نای‌تین‌گیل⁸ و همکاران (1991)؛ اُورقی⁹ و همکاران، 2000). با توجه به اهمیت اقتصادی بادام و همچنین محدودیت‌های محیطی (شوری و خشکی)، این گونه‌ی درختی از جنبه‌های گوناگون بیولوژیکی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و ژنتیکی مورد مطالعه قرار گرفته است که از جمله می‌توان به: مطالعه اثر شوری بر کارکرد پارامترهای فلورسنس کلروفیلی نهالهای بادام توسط رنجبر فردویی و همکاران (2006). اثر شوری بر رشد و تنظیم اسمزی بادام تلخ توسط شبلی¹⁰ و همکاران (2003) و پاسخ فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی بادام به تنش خشکی توسط سرخه و همکاران (2009) اشاره کرد. در مطالعه‌ی حاضر، تغییرات فراهمی عناصر غذایی، پارامترهای بیوشیمیایی و محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی در برگ بدنبال تیمار نهال‌های بادام شیرین (رقم مامانی) با آب دارای نمک کلرید سدیم مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نهال‌های یکساله بادام شیرین رقم مامانی (P. dulcis) به ارتفاع $70(\pm 10)$ سانتیمتر از یک نهالستان واقع در شهر سامان (استان چهارمحال و بختیاری) خریداری شد. نهال‌های تهیه شده با حداقل آسیب به سیستم ریشه‌ای در اواخر فروردین ماه به گلخانه‌ی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد انتقال و سپس در گلدان‌های پلاستیکی زهکش‌دار با سطح 4000 سانتیمتر مربع کشت گردیدند. به منظور کنترل دقیق عناصر غذایی و تیمارهای شوری، ماسه‌ی نرم به عنوان بستر کاشت استفاده گردید. نهال‌ها داخل گلخانه با میانگین کمینه و بیشینه دمای به ترتیب 18 و 28 درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی هوای حدوداً 55 درصد و نور طبیعی نگهداری و با آب همراه با محلول غذایی توسط سیستم چرخشی (شامل پمپ آب، مخزن آب،

1. Hasegawa

2. Maggio

3. Munns

4. Koyro

5. Yasar and Esra

6. Mane

7. Franco

8. Nightingale

9. Ouerghi

10. Shibli

کاتیون‌ها استفاده شد. یون های Na^+ ، K^+ و Ca^{2+} توسط دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری گردید. تجزیه کلر به روش تترامتری و با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر انجام گردید (جان‌سن و آریچ،⁹ 1951).

تعیین پارامترهای بیوشیمیایی

ارزیابی پرولین بر مبنای روش ارائه شده توسط بیتس¹⁰ و همکاران (1973) انجام شد. دو میلی از عصاره‌ی حاوی پرولین بعلاوه دو میلی لیتر اسید ناین هیدرین گلاسیال مخلوط و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد. سپس مخلوط حاصله برای خنک شدن در حمام یخ قرار گرفت. جذب در 250 نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گردید. تراکم پرولین بر مبنای منحنی استاندارد به بدست آمده از پرولین خالص محاسبه گردید.

محتوی اسیدهای آمینه آزاد بر مبنای روش توصیف شده توسط وارت‌آینان¹¹ و همکاران (1992) تعیین شد. یک میلی لیتر بافر استات (pH = 5/4) و یک میلی لیتر معرف کروموزنیک¹² به یک میلی لیتر عصاره‌ی تهیه شده (عصاره حاوی اسیدهای آمینه‌ی آزاد) اضافه گردید. مخلوط بدست آمده به مدت 15 دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد. پس از خنک سازی مخلوط توسط آب شهر، سه میلی لیتر الکل 60% به آن اضافه گردید. جذب در 750 نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گرفت.

تراکم پروتیین کل بر مبنای روش ارائه شده توسط برادفورد¹³ (1976) و با آلبومین سرم بواین¹⁴ بنوان استاندارد تعیین گردید. مقدار دو گرم از هر نمونه‌ی پودر شده با 5 میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=7/6) مخلوط و کاملاً به هم زده شد و سپس به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل گردید. مخلوط یکسان شده به مدت 20 دقیقه در 8000 دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع فوقانی نمونه‌ها جمع آوری و به لوله‌های جداگانه منتقل گردید. حجم نمونه‌ی داخل هر لوله با اضافه کردن بافر فسفات یکسان سازی و محلول بدست آمده در دمای 40 درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس در لوله‌های جداگانه، 30 میکرو لیتر از هر نمونه برداشته و 70 میکرو لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس محلول بدست آمده از هر نمونه با

گاتر¹ آبیاری شدند (رنجیر فردویی و همکاران (2002).

تیمارهای شوری آب آبیاری با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی بادام اهلی و شرایط پدولوژیکی مناطق کشت این گونه‌ی درختی در کشور انتخاب شدند. تیمارهای مورد نظر با اضافه کردن نمک کلرید سدیم به آب (آب شهر) و اضافه نمودن محلول هوگلند² با توان غذایی نیم (شیوانی³ و همکاران، 2010) در سطوح هدایت هدایت الکتریکی 3، 5، 7 و 10 (S3, S5, S7, S10) دسی-زیمنس بر متر⁴ آماده گردید. هدایت الکتریکی آب مورد استفاده برای تیمار شاهد (Ctrl) 0/8 دسی‌زیمنس بر متر اندازه‌گیری شد. هدایت الکتریکی محلول آبیاری روزانه 2 دسی‌زیمنس بر متر افزوده شد تا سطح‌نهایی هر تیمار به دست آمد. پس از تثبیت سطوح تیمارها، کلیه‌ی نهال‌ها به مدت 35 روز تحت تنش قرار گرفتند. هدایت الکتریکی آب در هر مخزن بطور روزانه کنترل گردید. جمعاً بیست نهال بادام، چهار نهال برای هر تیمار و هر نهال به منزله یک تکرار، برای این آزمایش در نظر گرفته شد و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید.

محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی

در پایان آزمایشات گلخانه‌ای، بافت‌های تازه از برگ‌های بالغ هر تکرار جمع‌آوری و بلافاصله به منظور جلوگیری از تخریب رنگدانه‌ها توسط نور در ورق آلومینیوم پیچیده شد. سپس سریعاً نمونه‌های 0/5 گرمی از بافت‌های جمع‌آوری شده توسط ازت مایع پودر گردید. رنگدانه‌های 0/25 گرم از هر نمونه توسط استون 80% استخراج و به مدت بیست و چهار ساعت در فریزر تحت دمای 5- درجه سانتیگراد نگهداری شد. رنگدانه‌ها طبق روش لیختن‌تالر⁵ (1987) و با استفاده از اسپکتروفتومتر (یووی گن⁶ 930) تعیین گردید. مقدار کلروفیل های a و b بر اساس معادلات ول‌برن⁷ (1994) محاسبه شد.

اندازه‌گیری عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری عناصر غذایی، یک گرم از پودر بافت خشک شده‌ی برگ توسط اسید سولفوریک و هیدروژن پراکسید طبق روش ولف⁸ (1982) هضم گردید. ماده‌ی حل شده پس از فیلتر شدن برای تعیین

1. Gutter

2. Hoagland

3. Shivani

4. dS.m^{-1}

5. Lichtenthaler

6. Uvikon 930

7. Wellburn

8. Wolf

9. Johnson and Ulrich

10. Bates

11. Vartanian

12. chromogenic

13. Bradford

14. Bovine

واکنش به افزایش شوری آب آبیاری روندی مشابه به تغییرات کلروفیل‌های a و b از خود نشان داد (جدول 2). نتایج اثر تیمارهای مختلف شوری بر محتوای عناصر غذایی برگ در جدول 4 ارائه شده است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که یک رابطه مستقیم و قوی بین افزایش شوری خاک و تراکم یون‌های Na^+ و Cl^- در بافت برگ برقرار است. بطوری که کمترین تراکم این دو یون مربوط به تیمار کنترل و بیشترین آن‌ها مربوط به تیمار S10 است. برعکس، افزایش شوری سبب کاهش تراکم کاتیونهای K^+ و Ca^{2+} گردید. بیشینه‌ی تراکم این دو یون (به ترتیب 8/16 و 5/74 میلی‌گرم بر گرم) مربوط به تیمار کنترل و کمینه‌ی تراکم آن‌ها در بالاترین سطح شوری اعمال شده مشاهده گردید. نسبت یون‌های کلسیم به سدیم ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) با افزایش شوری یک رابطه منفی نشان دادند، اثر معنی‌ار افزایش شوری بر این نسبت از S5 شروع و تا بالاترین سطح شوری اعمال شده در این آزمایش (S10) ادامه یافت. مقایسه میانگین تیمارهای شوری با تیمار شاهد نشان داد که نسبت ذکر شده ($\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$) در تیمار کنترل تقریباً 35 برابر مقدار آن در تیمار S10 است. با توجه به داده‌های ارائه شده در جدول 4 ملاحظه گردید که شاخص پایداری کاتیون‌های کلسیم و پتاسیم با افزایش شوری کاهش می‌یابد.

2/9 میلی‌لیتر از محلول کوماسی بریلیانت بلو¹ مخلوط و کاملاً به هم زده شد. در این وضعیت حجم محلول بدست آمده در هر لوله 3 میلی‌لیتر است. تمام نمونه‌ها به مدت 5 دقیقه در دمای 25 درجه سانتیگراد قرار گرفتند و سپس جذب در طول موج 600 نانومتر در مقابل معرف خالی گزارش گردید.

برای استخراج قندهای قابل حل، بافت خشک شده‌ی هر نمونه با 10 میلی لیتر الکل 80% مخلوط و به مدت 14 ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این مدت هر دو ساعت مخلوط نمونه و الکل به هم زده شد. سپس مخلوط حاصله به مدت 15 دقیقه با سرعت 600 دور بر دقیقه سانتریفوژ شد. مایع فوقانی هر نمونه جمع‌آوری و در لوله‌ی جداگانه بطور کامل تبخیر گردید. ماده‌ی بدست آمده پس از تبخیر در حجم معینی از آب مقطر حل و برای تعیین قندهای محلول آماده گردید (همه² و همکاران، 1992).

نتایج

نتایج اثر تیمارهای مختلف شوری بر محتوی و نسبت‌های رنگدانه‌های اصلی برگ در جدول 2 ارائه شده است. داده‌های ارائه شده نشان می‌دهد که یک رابطه‌ی مستقیم و منفی بین افزایش شدت شوری و محتوی رنگدانه‌های فتوسنتز کننده (کلروفیل‌های a ، b و مجموع آنها) برقرار است. بطوری‌که بیشینه‌ی هر پارامتر در سطح کنترل و کمینه‌ی آن در بالاترین سطح شوری اعمال شده مشاهده گردید. کاهش معنی‌دار محتوی کلروفیل a با رسیدن شوری به سطح S5 شروع و تا سطح S10 ادامه داشت. علی‌رغم روند کاهشی کلروفیل b این رنگدانه بین سطوح شاهد (Ctrl) و S3 فاقد تفاوت معنی بود. روند کاهشی مجموع کلروفیل‌های a و b با رسیدن شوری به سطح S5 شروع و تا بالاترین سطح شوری اعمال شده (S10) ادامه یافت.

تفاوت معنی‌دار (a/b) Chl. بین تیمارهای مختلف شوری مشاهده نشد. با مقایسه میانگین داده‌ها مشاهده گردید که یک رابطه‌ی منفی بین افزایش شوری و پایداری مجموع رنگدانه‌های اصلی (SCI) برقرار است. بطوری‌که بیشترین درصد پایداری (100%) در تیمار کنترل و کمینه‌ی آن (40%) در S10 مشاهده شد. کاهش معنی‌دار این شاخص با رسیدن شوری به سطح S5 شروع و تا سطح S10 ادامه داشت. همچنین این شاخص در

1. Coomassie Brilliant Blue

2. Homme

جدول 1- خلاصه‌ی نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم رنگدانه‌های فتوسنتزکننده در برگ نهال بادام شیرین (رقم مامائی)

CSI	Chl. (a/b)	Chl. (a+b)	Chl. b	Chl. a	پارامتر رنگدانه
30/40	0/25	39/80	38/03	25/20	F
31/92	0/01	91/53	13/55	34/77	MS
0/007**	0/908 ^{NS}	0/001**	0/005**	0/001**	P

NS، **، * : بترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال 0/01

جدول 2- اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم رنگدانه‌های فتوسنتزکننده در برگ نهال بادام شیرین (رقم مامائی)

CSI (%)	Chl. (a/b)	Chl. (a+b) (mg.g ⁻¹)	Chl. b (mg.g ⁻¹)	Chl. a (mg.g ⁻¹)	پارامتر رنگدانه تراکم
100 ^a	1/62 ^a	18/78 ^a	7/16 ^a	11/62 ^a	Ctrl
93 ^a	1/52 ^a	17/32 ^a	6/87 ^a	10/45 ^a	S3
73 ^b	1/61 ^a	13/76 ^b	5/26 ^b	8/50 ^b	S5
52 ^c	1/62 ^a	9/86 ^c	3/76 ^c	6/10 ^c	S7
40 ^d	1/50 ^a	7/50 ^d	3/00 ^d	4/50 ^d	S10

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد ($P < 0.01$) است. Chl : کلروفیل؛

CSI شاخص پایداری کلروفیل

جدول 3- خلاصه‌ی نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم عناصر غذایی در برگ نهال‌های بادام شیرین (رقم مامائی)

Ca ²⁺ /Na ⁺	Ca ²⁺	K ⁺	Cl ⁻	Na ⁺	عنصر غذایی
156/22	43/95	85/70	85/74	203/01	F
16/73	12/91	33/85	39/95	38/56	MS
0/003**	0/001**	0/001**	0/001**	0/001**	P

NS، **، * : بترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال 0/01

جدول 4- اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم تراکم عناصر غذایی در برگ نهال‌های بادام شیرین (رقم مامائی)

Ca ²⁺ /Na ⁺	Ca ²⁺ (mg.g ⁻¹)	K ⁺ (mg.g ⁻¹)	Cl ⁻ (mg.g ⁻¹)	Na ⁺ (mg.g ⁻¹)	عنصر غذایی تراکم
4/63 ^a	5/74 ^a	8/16 ^a	1/63 ^c	1/24 ^d	Ctrl
3/90 ^a	5/70 ^a	8/27 ^a	2/90 ^d	1/46 ^d	S3
1/16 ^b	4/30 ^b	6/13 ^b	5/75 ^c	3/71 ^c	S5
0/50 ^c	2/90 ^c	3/82 ^c	7/82 ^b	5/76 ^b	S7
0/19 ^d	1/61 ^d	1/51 ^d	9/00 ^a	8/63 ^a	S10

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد ($P < 0.01$) است.

شوری آب منجر به کاهش معنی‌دار تراکم پروتیین (Prt) در اکثر تیمارهای شوری شد. کاهش معنی‌دار محتوی این ماده آلی (پروتیین) با رسیدن شوری آب به S3 شروع و تا S10 ادامه یافت.

داده‌های ارائه شده در جدول 6 نشان داد که افزایش شوری خاک سبب تجمع معنی‌دار هر سه پارامتر، قند‌های قابل حل (TSS)، پرولین (PrI) و اسیدهای آمینه آزاد (FAA)، در برگ‌های بادام گردید. برعکس، افزایش

جدول 5- خلاصه‌ی نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم پارامتر بیوشیمیایی در برگ نهال‌های بادام شیرین (رقم مامائی)

Prt.	FAA	Prl	TSS	پارامتر بیوشیمیایی
				پارامتر تحلیل واریانس
9/86	32/96	30/42	21/37	F
14248/01	93/82	371/64	2077/98	MS
0/001***	0/001***	0/001***	0/001***	P

NS. ***: بترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال 0/001

جدول 6- اثر تیمارهای مختلف شوری بر پارامترهای بیوشیمیایی در برگ نهال بادام شیرین (رقم مامائی)

Prt. (mg.g ⁻¹)	FAA (mg.g ⁻¹)	Prl (μg.g ⁻¹)	TSS (mg.g ⁻¹)	پارامتر بیوشیمیایی تراکم تیمار شوری (dS.m ⁻¹)
7/38 ^a	7/15 ^d	28/60 ^e	42/00 ^e	Ctrl
7/25 ^a	8/33 ^d	41/10 ^d	52/35 ^d	S3
5/33 ^b	13/70 ^c	58/40 ^c	63/15 ^c	S5
4/00 ^c	15/21 ^b	74/15 ^b	85/70 ^b	S7
3/16 ^d	18/76 ^a	89/00 ^a	96/64 ^a	S10

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد ($P < 0.01$) است.

بحث و نتیجه‌گیری

شوری یک مسئله‌ی گسترده به‌ویژه در نواحی خشک و نیمه خشک است. تنش شوری فیزیولوژی گیاه را در سطوح کلی و سلولی، از طریق ایجاد تنش خشکی و بر هم زدن تعادل یونی، تحت تأثیر قرار می‌دهد (رنجبرفردویی و همکاران، 2006). مطالعه‌ی حاضر نشان داد که یک رابطه‌ی مستقیم و منفی بین افزایش شدت شوری و اکثر پارامترهای مرتبط با رنگدانه‌های اصلی برگ برقرار است (جدول 2). به‌طوری‌که هر دو کلروفیل *a* و *b* در بیشتر تیمارها روند کاهشی نشان دادند. فاکتور پایداری رنگدانه‌ها (CSI)¹ گویاترین شاخص در این رابطه است. اگرچه کلروفیل *a* در مقایسه با کلروفیل *b* از یک تراکم بالاتر، در ساختار دستگاه فتوسنتز کننده گیاه، برخوردار است اما این رنگدانه نسبت به کلروفیل *b* در مقابل تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش شوری و خشکی حساس‌تر است (میترا و بانرجی، 2010). کاهش تراکم کلروفیل‌های *a* و *b* تحت شرایط شوری را می‌توان به ممانعت بیوسنتزی کلروفیل ناشی از به هم خوردن تعادل غذایی در اثر تنش شوری و بدنبال آن کمبود عناصر غذایی (خان³،

2006) یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز⁴ (ماریا⁵ و همکاران، 2011) و یا تأثیر مشترک موارد ذکر شده نسبت داد (رهرداری و حسینی 2011). با ثابت باقی ماندن Chl (*a/b*) تحت شرایط افزایش شوری بنظر می‌رسد که مراکز جمع‌آوری کننده ی نور⁶ در غشاهای تیلاکوئید کمتر دچار آسیب ناشی از افزایش نمک در آب آبیاری شده است (میترا و بانرجی، 7، 2010). مشابه این نتایج در ارتباط با کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی و عدم تغییر Chl. (*a/b*) در اثر تنش شوری روی تعدادی از گونه‌های گیاهی نسبتاً متحمل و غیر متحمل به شوری گزارش شده است (آناستاسیا و ایلپاس⁸ 2013)؛ آگاستینا و همکاران (2000)؛ رنجبرفردویی و همکاران (2006)؛ نجفیان و همکاران (2008).

نتایج اثر تیمارهای مختلف شوری بر تراکم عناصر غذایی در جدول 4 نشان داده شده است. تراکم یون‌های Na⁺ و Cl⁻ با افزایش شوری افزایش یافت و برعکس، افزایش شوری سبب کاهش محتوای کاتیون‌های K⁺ و Ca²⁺ گردید. اثرات مخرب تنش شوری در گیاهان

⁴ Chlorophyllase

⁵ Maria

⁶ Light harvesting centers

⁷ Mitra and Banerjee

⁸ Anastasia and Ilias

¹ Chlorophyll Stability Index (CSI)

² Mitra and Banerjee

³ Khan

ساخت (سُرس)¹⁰ به محل مصرف / ذخیره (سینک)¹¹ و افزایش فندهای قابل حل می‌شود (واتان و مایزاس¹²، 2008).

یکی از مکانیزم‌های دفاعی که توسط گیاهان عالی تحت تنش‌های محیطی بکارگرفته می‌شود افزایش متابولیت‌های سازگار مانند پرولین است. در آزمایش حاضر افزایش شوری آب آبیاری سبب تجمع پرولین در برگ نهال‌های بادام گردید. افزایش پرولین در سیتوپلازم تحت این شرایط را احتمالاً می‌توان به تنظیم اسمزی سلول نسبت داد. علت دیگر افزایش تراکم پرولین تحت تنش شوری به فعال شدن مکانیزم‌های دیگر سلول مانند تشکیل باند هیدروژنی آب در اطراف پروتئین‌ها به منظور حفظ ساختار طبیعی آنها در مقابل رادیکال‌های آزاد نسبت داده می‌شود (سبوتی¹³ و همکاران (2009)؛ آلیا و ماتسیک¹⁴، 2001). نتایج به‌دست آمده در این مطالعه با یافته‌های شرین¹⁵ و همکاران (2007)؛ رنجبرفردویی و همکاران (2009)؛ واحد¹⁶ و همکاران (2006) و غلام و همکاران (2002) منطبق است. اسیدهای آمینه محلول‌های آلی هستند که به پایین آوردن پتانسیل اسمزی در بافت‌های گیاهی تحت تنش معروفند. در مطالعه‌ی حاضر مشاهده گردید که افزایش شوری آب آبیاری سبب تجمع اسیدهای آمینه‌ی آزاد در برگ نهال‌های بادام شده است.

این نتایج منطبق است با نتایج مشاهده شده توسط ختآب¹⁷ (2007) و رادی¹⁸ و همکاران (2011)، که افزایش اسیدهای آمینه را به تخریب پروتئین¹⁹ و کاهش محتوی آن نسبت داده‌اند. در خاتمه، با توجه به واکنش رنگدانه‌های فتوسنتز کننده، محتوی عناصر غذایی و پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده تحت تیمارهای شوری، در این آزمایش نهال‌های بادام (رقم مامائی) شوری آب آبیاری را تا 3 دسی‌زیمنس بر متر، بدون نشان دادن تغییرات اساسی در پارامترهای فیزیوشیمیایی، تحمل کردند. از آنجا که در این مطالعه اثر معنی‌دار شوری بر اکثر پارامترهای مورد مطالعه در سطح S5 آشکار گردید، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ی مجددی در سطوح شوری آب آبیاری بین 3 تا 5 دسی‌زیمنس بر متر صورت گیرد.

تحت تنش می‌تواند از به هم خوردن تعادل یونی در گیاه و یا سمیت آنها ناشی شود (بو¹ و همکاران، 2011). نتایج مطالعه جاری نشان داد که یک فرایند رقابتی بین یون‌های سدیم و کلر با کاتیون‌های پتاسیم و کلسیم برقرار است. پارامتر Ca^{2+}/Na^{+} به‌خوبی مبین این فرایند رقابتی است. کاهش تراکم کاتیون‌های پتاسیم و کلسیم در برگ تحت تیمارهای شوری را می‌توان به از بین رفتن تعادل یونی و افزایش کاتیون سدیم نسبت داد. یون سدیم در تراکم‌های بالا در خاک سبب کاهش دسترسی گیاه به یون‌های پتاسیم، کلسیم و منیزیم می‌گردد (اشرف² (2004)؛ چن³ و همکاران (2005)). شایان ذکر است که نسبت کاتیون‌های کلسیم به سدیم (Ca^{2+}/Na^{+}) یا پتاسیم به سدیم (K^{+}/Na^{+}) می‌تواند به عنوان یک معیار جهت نشان دادن میزان تحمل گیاه به شوری بکار رود. مطالعه‌ی جاری نشان داد که نسبت‌های مذکور با افزایش شوری روند کاهشی معنی دارند که می‌توان آن را به عدم تفکیک مؤثر یون‌ها در سیتوپلازم نسبت داد که نتیجه‌ی آن اختلال در متابولیسم سلول است (مان⁴ و همکاران، 2011). نتایج به‌دست آمده در این مطالعه با یافته‌های بن‌گی⁵ و همکاران همکاران (2011)، و ماریا و همکاران (2011) منطبق است.

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی حاضر، واضح است که تنش شوری سبب افزایش فندهای قابل حل (TSS) در برگ نهال‌های بادام گردید (جدول 2). افزایش محتوی فندهای قابل حل تحت تیمار شوری برای بسیاری از گونه‌ها گزارش شده است (رنجبرفردویی و ون‌دام⁶ (2005)؛ احمد و جان⁷ (2005)). افزایش تراکم این ماده‌ی آلی بیشتر در گونه‌هایی یافت می‌شود که تحمل آنها به شوری کم است. تجمع فندهای قابل حل در اثر افزایش شوری را می‌توان به کاهش رشد گیاه نسبت داد. زیرا در چنین شرایطی بهره‌برداری از فندهای محلول توسط بافت‌های فعال کم می‌شود (دُبی و سینت⁸ (1999)). همچنین برخی از محققین تجمع فندهای قابل حل در گیاه تحت تنش شوری را به کاهش فعالیت آنزیم اسید اینورتاز⁹ نسبت داده‌اند. زیرا کاهش فعالیت این آنزیم احتمالاً سبب کاهش جابجا شدگی متابولیت‌ها از محل

10. source

11. sink

12. Wattana and Maysas

13. Sutee

14. Alia and Matsysik

15. Shereen

16. Waheed

17. Khattab

18. Rady

19. proteolysis

1. Bo

2. Ashraf

3. Chen

4. Mane

5. Bengü

6. Van Damme

7. Ahmad and Jhon

8. Dubey and Singh

9. Acid invertase

فهرست منابع:

1. Agastian P., Kingsley S. J., Vivekanandan M., (2000). Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes, *Photosynthetica* 38: 287–290.
2. Ahmad P., Jhon R., (2005). Effect of salt stress on growth and biochemical parameters of *Pisum sativum* L. *Arch. Agron Soil Sci.* 51: 665-672.
3. Alia P. M., Matysik J., (2001). Effect of proline on the production of singlet oxygen, *Amino Acids* 21: 195-200.
4. Ashraf M., (2004). Some Important Physiological Selection Criteria for Salt Tolerance in Plants, *Flora*, 199 (5), 361–376.
5. Anastasia E. Giannakoula, Ilias I.F., (2013). The effects of water stress and salinity on growth and physiology of Tomato, *Arch. Biol. Sci. Belgrade*, 65(2): 611-620.
6. Balibera M.E., Amico J.D., Bolarin M.C., Perez-Alfocea F., (2000). Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity, *Physiol Plant*, 110: 503
7. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D., (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.*, 39: 205-207.
8. Bengü T., Lale Y., Avni G., (2011). Salinity induced differences in growth and nutrient accumulation in five barley cultivars, *Turkish Journal of Field Crops*, 16(1): 84-92
9. Bo G., Junbao Y., Xuehong W., Yuqin F., Xingyan K., Qianxin L., Guangxuan H., Zhaohua L., (2011). Physiological Responses of Halophyte Suaeda salsa to Water Table and Salt Stresses in Coastal Wetland of Yellow River Delta, *Clean – Soil, Air, Water*, 39 (12), 1029–1035
10. Bradford, M.M., (1976). A rapid and sensitive method for quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding, *Anal Biochem.*, 72: 248-54.
11. Chen, Z., I. Newman, M. Zhou, N. Mendham, G. Zhang, S. Shabala, (2005). Screening plants for salt tolerance by measuring K⁺ flux: a case study for barley. *Plant Cell Environ.* 28: 1230–1246.
12. Donahue R.L., Miller R.W., Shickluna J.C., (1983). *Soils: An Introduction to Soils and Plant Growth*. Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall.
13. Dubey R.S., Singh A.K., (1999). Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants, *Biologia Plat*, 42: 233.
14. Franco J.A., Abrisquetta J.M., Hernansaez A., Moreno F., (2000). Water balance in a young almond orchard under drip irrigation with water of low quality. *Agr. Water Manage.* 43: 75-98
15. Ghoulam C.H., Foursy A., Fares K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ. Exp. Bot.*, 47: 39-50.
16. Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K., Bohnert H.J., (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 51: 463-499.
17. Homme P.M., B. Gonzalez, J. Billard, (1992). Carbohydrate content, frutane and sucrose enzyme activities in roots, stubble and leaves of rye grass (*Lolium perenne* L.) as affected by sources/link modification after cutting, *J. Plant Physiol.*, 140: 282-291.
18. Iyengar, E. R. R., Reddy, M. P., (1996). Photosynthesis in high salttolerant plants. In: M. Pesserkali,(ed.) *Hand Book of Photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, pp. 56–65.
19. Johnson C.M., Ulrich A., (1959). *California Agriculture, II. Analytical methods for use in plant analysis*. California, Agriculture Experiment Station Bulletin. 766: 26-27.

20. Khan N.A., (2006). NaCl inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat, *Biol. Plantarum*, 47, 437-440.
21. Khattab H., (2007) Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions. *Austr. J. of Basic and Applied Sci.*, 1(3): 323-334.
22. Koyro H.W., (2006). Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus*, *Environ. Exp. Bot.* 56: 136-146.
23. Lichtenthaler H.K., Chlorophylls and carotenoids – pigments of photosynthetic biomembranes. – In: Colowick, S.P., Kaplan, N.O. (ed.): *Methods in Enzymology*. Vol.148. Pp.350-382. Academic Press, San Diego – New York – Berkeley – Boston – London – Sydney – Tokyo – Toronto 1987.
24. Maggio A., Reddy M.P., Joly R.J., (2000). Leaf gas exchange and solute accumulation in the halophyte *Salvadora persica* grown at moderate salinity, *Environ. Exp. Bot.* 44: 31-38.
25. Mane A.V., T.V. Deshpande, V.B. Wagh, A.B. Karadge, Smant S.J., (2011). A critical review on physiological changes associated with reference to salinity, *Int. J. Environ. Sci.*, 6: 119-1216.
26. Maria A.C.G., Marina S.S., Maura C., Cristiane F.T. (2011) Effect of salt stress on nutrient concentration, photosynthetic pigments, proline and foliar morphology of *Salvinia auriculata* Aubl. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 23(2): 164-176.
27. Mitra A., K. Banerjee (2010) Pigments of *Heritiera fomes* seedlings under different salinity conditions: perspective sea level rise. *Mesopot. J. Mar. Sci.*, 25 (1): 1 – 10
28. Munns R., R.A. James, A. Lauchli, (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals, *J. Exp. Bot.* 57: 1025-1043.
29. Munns R., (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses, *Plant Cell and Environment* 16: 15-24.
30. Najaphian S., Rahemi M., Tavallali V., (2008). Effects of salinity on tolerance of two bitter almond rootstocks, *American- Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 3(2): 264-268.
31. Nightingale, H.I., Hoffman, G.J., Rolston, D.E., Biggar, J.W., (1991). Trickle irrigation rates and soil-salinity distribution in an almond (*Prunus-Amygdalus*) orchard. *Agr. Water Manage.* 19: 271-283.
32. Ouerghi Z., Cornie G., Roudani M., Ayadi A., Brulfert J., (2000). Effect of NaCl on the photosynthesis of two wheat species (*Triticum durum* and *Triticum aestivum*) differing in their sensitivity to salt stress. *Journal of Plant Physiology* 15: 519-527.
33. Rady M.M., Sadak M. S., El-Bassiouny H.M.S., Abd El-Monem A.A., (2011). Alleviation the adverse effects of salinity stress in sunflower cultivars using nicotinamide and α -tocopherol *Austr. J. of Basic and Applied Sci.*, 5(10): 342-355.
34. Ranjbarfordoei A., Samson R., Lemeur R., P. Van Damme, (2001) Some ecophysiological characteristics of two pistachio species (*Pistacia mutica* and *P. khinjuk*) in response to salinity. *Cahiers Option Mediterranean*, Vol.59:179-187
35. Ranjbarfordoei A., Samson R., Lemeur R., Van Damme P., (2002). Effects of osmotic stress induced by a combination of NaCl and polyethylene glycol on leaf water status, photosynthetic gas exchange, and water use efficiency of *Pistacia khinjuk* and *P. mutica*, *Photosynthetica* 40: 1654-169
36. Ranjbarfordoei A., R. Samson, P. Van Damme, (2006). Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] in response to salinity stress induced by NaCl. *Photosynthetica* 44 (4): 513-522

37. Ranjbarfordoei A., P. Van Damme, (2005) Using chlorophyll fluorescence to detect of Photosynthetic activity in sweet almond (*Prunus dulcis* Mille.) in response to salinity stress. IV International Symposium on Pistachio and Almond, 22-25 May 2005.Iran
38. Ranjbarfordoei A., Samson R., and P. Van Damme, (2009) Elevated Ultraviolet –B Radiation influences Photosynthetic Pigment and Soluble carbohydrates of sweet almond (*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb), Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry (EJEAFICHE). ISSN: 1579-4377: 1077-1084
39. Shereen A., R.U. Ansari, S. Yamin, S. Raza, S. Mumtaz, M.A. Khan, S.M. Mujtaba, (2007). Physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) to saline stress, *Pak. J. Bot.*, 39: 2527-2534.
40. Shibli, R.A., Shatnawi, M.A., Swaidat, I.Q., (2003). Growth, osmotic adjustment, and nutrient acquisition of bitter almond under induced sodium chloride salinity in vitro. *Commun. Soil Sci. Plant.* 34: 1969-1979.
41. Shivani M., Shashi M., Sunita S. (2010). Differential response salt tolerant and sensitive genotypes of wheat in terms of ascorbates, carotenoids proline and plant water relations, *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 4: 792-797.
42. Sorkheh K, Shiran B, Rouhi V, Asadi E, Jahanbazi H, Moradi H, Gradziel TM., (2009) Phenotypic diversity within native Iranian almond (*Prunus* spp.) species and their breeding potential. *Genet Resour Crop Evol* 56: 947-961.
43. Sutee C., Suriyan Cha-Um, Kanokporn S., (2009). Differential accumulations of proline and flavonoids in Indica rice varieties against salinity, *Pak. J. Bot.*, 41(5): 2497-2506.
44. Vartainan, N., P. Hervochon, L. Marcolte, F. Larher, (1992). Proline accumulation during drought rhizogenesis in *Brassica napus* var. *Oleifera*, *Plant Physiol.*, 140: 623-628.
45. Waheed A., I.A. Hafiz, G. Qadir, G. Murtaza, T. Mahmood, M. Ashraf, (2006). Effect of salinity on germination, growth, yield, ionic balance and solute composition of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp). *Pak. J. Bot.*, 38: 1103-1117.
46. Wattana P., Maysas T., (2008). Effects of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice cultivars, *Indian Journal of Experimental Biology*, 46: 736-742.
47. Wellburn, A.R., (1994). The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, *J. Plant Physiol.* 144: 307-313
48. Wolf B., (1982). A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosing crop nutrient status, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 13: 1035-1059.
49. Yasar A., Esra S., (2012). The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline and nutrient accumulation, and K/Na ratio in walnut. *Pak. J. Bot.*, 44(5): 1513-1520.
50. Yemm E.W., Cocking E.C., (1955). The determination of amino acids with ninhydrin, *Analyst.*, 80: 209-213.