

روند جذب عنصرهای معدنی توسط شاخساره‌های GF677 در پاسخ به غلظت‌های

مختلف کلرید سدیم در شرایط درون شیشه‌ای^۱

The Trend of Mineral Uptake by GF677 Shoots in Response to Different Concentrations of Sodium Chloride under *In Vitro* Conditions

مهری مشایخی، محمد اسماعیل امیری* و فریبرز حبیبی^۲

چکیده

در این پژوهش، روند جذب عنصرهای معدنی شاخساره‌های پایه GF677 (*Prunus persica* × *P. amygdalus*) در پاسخ به تنش شوری در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد. ریز نمونه شاخساره‌های پایه GF677 در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) دارای یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین (BA) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین‌استیک‌اسید (NAA) با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم [صفر (شاهد)، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار] در چهار تکرار به مدت شش هفته کشت شدند. عنصرها در شاخساره پایه GF677 هر دو هفته یکبار اندازه‌گیری شدند. پایه GF677 توانست در غلظت‌های ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار به جذب نیتروژن و پتاسیم تا هفته ششم ادامه دهد. در تیمار شاهد و ۴۰ میلی‌مولار، جذب فسفر تا هفته ششم ادامه پیدا کرد. در غلظت ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار جذب منیزیم کاهش یافت. جذب آهن و روی در تمام غلظت‌های شوری کاهش یافت. جذب یون سدیم و کلر با افزایش سطح شوری در طی دوره شش هفته‌ای کشت، افزایش یافت. در کل می‌توان گفت با توجه به اثر هم‌گاهی کلرید سدیم، شاخساره‌های پایه GF677 توانستند به جذب نیتروژن، پتاسیم و کلسیم تا هفته ششم کشت ادامه دهد (به جز غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار)، ولی توانایی جذب منیزیم، آهن و روی را با گذشت زمان نداشتند. واژه‌های کلیدی: پایه GF677، تنش شوری، عنصرهای پرمصرف، نیتروژن.

مقدمه

تنش شوری یکی از مهم‌ترین دشواری‌های جهانی میوه‌کاری می‌باشد که اثر مهمی در کاهش رشد و عملکرد درختان میوه دارد. بنابراین ارزیابی پایه‌های درختان میوه در شرایط تنش و مقدار توانایی رشد آن‌ها در این شرایط اهمیت بسیار زیادی برای شناسایی پایه‌های متحمل دارد (۱۷). شوری باعث تغییرهای ویژه‌ای در سطح یاخته، بافت و اندام گیاه می‌شود که این تغییرها ماهیت ریخت‌شناسی، تشریح و فیزیولوژیکی دارند و با مختل کردن فرایندهای فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی رشد گیاه را کاهش می‌دهند (۲۱). نبود تعادل تغذیه‌ای می‌تواند از اثرهای شوری باشد که بر دسترسی عنصرها، جذب، انتقال و توزیع عنصرها درون گیاه اثر می‌گذارد (۱۳). همچنین شوری باعث افزایش فشار اسمزی (کاهش پتانسیل اسمزی) می‌شود. در واقع با کاهش پتانسیل اسمزی، انرژی آزاد آب کاهش می‌یابد و گیاه برای به دست آوردن مقدار مشخصی آب باید انرژی بیشتری مصرف کند (۷). کاهش در ویژگی‌های رشد با افزایش سطح‌های شوری بیشتر به نوع پایه بستگی دارد (۱۱).

۱- تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۲۲

۲- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (m-amiri@znu.ac.ir)

شوری سبب تجمع و ذخیره سطح‌های سمی عنصرهای سدیم و کلر در یاخته‌های برگ و در نتیجه منجر به سوختگی و ریزش برگ‌ها می‌شود (۴). در غلظت‌های غیرسمی، سدیم در مسیر فتوسنتزی C₄ در تبدیل پیروات به فسفوانول پیروات در گیاه نقش دارد (۱۴). اما غلظت زیاد یون سدیم برای سوخت‌وساز یاخته‌ای سمی است. غلظت بالای یون سدیم سبب برهم خوردن تعادل اسمزی و ساختار غشا، کاهش رشد و مانع از تقسیم یاخته‌ای می‌شود (۱۸).

استفاده از کشت درون شیشه‌ای برای انتخاب گونه‌های گیاهی متحمل به شوری و خشکی و دیگر تنش‌ها بسیار رایج است، زیرا امکان کنترل بیشتری در مقایسه با شرایط بیرون وجود دارد (۳۰). در شرایط کشت بافت تأثیر نمک‌ها به راحتی قابل تشخیص است، اما در محیط خاک، افزایش غلظت یون مورد نظر ممکن است با تغییر مقدار شوری در خاک و بررسی برهمکنش آن با عامل‌های دیگر مانند دمای محیط، شدت نور، تعرق و مقدار عنصرهای مختلف خاک دشوار باشد، بنابراین شناسایی عامل‌های نامطلوب در تفسیر نتیجه‌های حاصل به آسانی امکان‌پذیر نخواهد بود (۲). بنابراین فن کشت بافت می‌تواند بر این محدودیت‌ها غلبه کند و اجازه به رشد همگروهی گیاه در شرایط تغذیه‌ای و محیطی کنترل شده دهد و انجام آزمایش‌ها را در شرایط یکسان در تمام طول سال امکان‌پذیر سازد (۲۱). پژوهش‌های زیادی برای بررسی اثر تنش شوری درون شیشه‌ای بر رشد و جذب عنصرهای معدنی پایه‌های درختان میوه از قبیل پایه‌های سیب (۲۸)، بادام تلخ (۲۹)، پایه‌های مرکبات (۲، ۱۲، ۳۰، ۲۱)، پایه گیلان ۵ (Gisela 5) (۱۰) و هوهوبا (*Simmondsia chinensis* L.) (۲۶) انجام شده است.

پایه GF677 دورگه طبیعی بین بادام (*Prunus amygdalus* Batsch) و هلو (*P. persica* L.) است که به خشکی، خاک‌های آهکی و کمبود آهن متحمل می‌باشد (۵). تحمل پایه GF677 نسبت به سطح‌های مختلف شوری حاصل از کلرید سدیم در شرایط گلخانه بررسی و گزارش شده است که این پایه نسبت به شوری متحمل است، به‌طوری‌که شوری تا ۶۰ میلی‌مولار را تحمل می‌کند (۲۴). در پژوهش دیگری، مشایخی و همکاران (۳)، اثر تنش شوری روی پایه GF677 را شرایط درون شیشه‌ای بررسی و گزارش کردند، این پایه قابلیت تحمل شوری تا ۸۰ میلی‌مولار را دارد. این اختلاف کم در تحمل به تنش شوری، مربوط به ترکیب متفاوت محیط کشت و شرایط اعمال تیمار در شرایط درون شیشه‌ای و محیط بیرون (گلخانه یا مزرعه) می‌باشد (۲). برخلاف این تفاوت، گیاه در شرایط درون شیشه‌ای و محیط بیرون به روش مشابهی تنش را تحمل می‌کند و بافتی که بتواند در شرایط تنش درون شیشه‌ای زنده بماند، پتانسیل پایداری در شرایط بیرون نیز دارد (۱۹). بنابراین با توجه به گزارش‌های موجود، از این پایه می‌توان به‌عنوان یک پایه متحمل به شوری برای مناطقی با شوری متوسط استفاده نمود (۳). سازوکارهای تحمل این پایه در شرایط تنش شوری درون شیشه‌ای، سیستم آنتی‌اکسیدانی، تنظیم اسمزی توسط پرولین و قندهای محلول و همچنین افزایش پروتئین‌سازی گزارش شده است (۳).

تنش شوری در جذب عنصرهای معدنی تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش عملکرد و کیفیت میوه در هسته‌داران می‌شود (۱۰). با توجه به این موضوع، ارزیابی پایه‌های درختان هسته‌دار (به‌ویژه پایه‌های دورگه) برای توانایی آن‌ها در جذب عنصرها در شرایط تنش شوری، اهمیت بسیار زیادی دارد. تاکنون در بیشتر پژوهش‌های انجام شده در زمینه ارزیابی تحمل پایه‌های درختان میوه به تنش شوری، بر اندازه‌گیری و جذب یون‌های سدیم و کلر در برگ‌ها تمرکز شده و همچنین اندازه‌گیری عنصرهای معدنی در پایان دوره آزمایش انجام شده است. در صورتی که برای ارزیابی بهتر ظرفیت جذب عنصرها در شرایط تنش، باید مقدار جذب عنصرها و روند آن‌ها طی زمان اندازه‌گیری و مقایسه شوند، تا سازوکار دقیق اثر کلرید سدیم و اثر هم‌کاهی آن بر مقدار جذب عنصرها شناخته شود. تاکنون گزارشی در مورد روند جذب عنصرهای معدنی پایه GF677 در شرایط تنش شوری درون شیشه‌ای یافت نشده است. بنابراین هدف از اجرای این پژوهش بررسی روند جذب عنصرهای معدنی در پایه GF677 در شرایط تنش شوری درون شیشه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با چهار تکرار در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان، در سال ۱۳۹۱ انجام شد. فاکتورها شامل تیمار شوری و زمان نمونه برداری بود. برای تهیه ریزنمونه، از جوانه‌های یکساله پایه GF677، از ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند استفاده شد. نمونه‌های گیاهی پس از انتقال به آزمایشگاه با مایع ظرفشویی و آب مقطر شستشو و سپس به تکه‌هایی در اندازه‌های کوچک به طوری که در هر قطعه یک جوانه وجود داشته باشد، تقسیم شدند. سپس با آب مقطر شسته، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ غوطه‌ور و بعد در هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه گندزدایی شدند. ریزنمونه‌ها پس از تیمار، سه بار با آب مقطر شستشو و به محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپیرین (BAP) منتقل شدند (۲۳). پس از رشد جوانه‌ها، آن‌ها در محیط پایه MS جهت پرآوری زیرکشت شدند. ترکیب‌های محیط پرآوری شامل عنصرهای پرمصرف، عنصرهای کم‌مصرف، ویتامین‌ها، آهن، ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز، ۷ گرم در لیتر آگار، یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین (BA) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین‌استیک‌اسید (NAA) بود (۲۳). با استفاده از سود (NaOH) یک نرمال و HCl یک نرمال pH محیط کشت روی ۵/۷ تا ۵/۸ تنظیم شد. آگار با هم‌زدن و گرمادهی پیوسته روی اجاقک به طور کامل حل شد. سپس محیط در ظرف‌های کشت تقسیم و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع (psi) به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شدند.

به منظور بررسی اثر تنش شوری، ریزنمونه‌های پرآوری شده، در همان محیط کشت پرآوری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم [صفر (شاهد)، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار] در چهار تکرار (ظرف کشت)، هر تکرار شامل سه ریزنمونه یکنواخت (به اندازه دو سانتی‌متر) زیر کشت و به مدت شش هفته نگهداری شدند (۳). تمامی کشت‌های انجام شده (شامل مرحله استقرار، مرحله پرآوری و تیمار شوری) در اتاقک رشد، در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس با ۱۶ ساعت روشنایی و شدت نور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس انجام شد.

هر دو هفته غلظت عنصرهای نیتروژن (N)، فسفر (P)، پتاسیم (K)، منیزیم (Mg)، آهن (Fe)، روی (Zn)، سدیم (Na) و کلر (Cl) در شاخساره‌های GF677 به روش هضم تر اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری عنصرهای معدنی، شاخساره‌ها از ظرف‌های کشت خارج و با آب مقطر شسته شدند (به منظور حذف محیط کشت از انتهای شاخساره‌ها). سپس، شاخساره‌ها در پاکت کاغذی گذاشته شدند و در آون با دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و پس از این مدت از آون خارج شدند. شاخساره‌های خشک شده هر تیمار با کمک آسیاب آزمایشگاهی به طور کامل پودر، از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده و ۰/۳ گرم آن‌ها وزن شد. سپس به روش هضم‌تر با سولفوریک اسید، سالیسیلیک‌اسید و آب اکسیژنه عصاره‌گیری انجام شد (۱). بعد از عصاره‌گیری، نیتروژن کل (N) با روش کج‌لال، فسفر (P) با روش کالریمتری، پتاسیم (K) و سدیم (Na) با فلیم فتومتر (Jenway PFP7, England)، کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، آهن (Fe) و روی (Zn) بادیستگاه جذب اتمی (Varian-Specter AA 20, Australia) اندازه‌گیری شدند (۱). کلر (Cl) با روش تیتراسیون با نیترات نقره ($AgNO_3$) ۰/۰۱ نرمال در مجاورت معرف کرومات پتاسیم ۵٪ اندازه‌گیری شد (۱).

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ واکاوی شدند. میانگین‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد مقایسه و نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل رسم شدند.

نتایج

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، بین سطح‌های مختلف کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری در شش هفته کشت وجود داشت. غلظت نیتروژن در بافت پایه GF677 با افزایش سطح شوری کاهش یافت. در هفته دوم

بیشترین جذب نیتروژن در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار ۱۲۰ میلی مولار کلرید سدیم بود. در هفته چهارم در غلظت ۴۰ میلی مولار جذب نیتروژن به طور معنی داری کاهش پیدا کرد و در غلظت ۸۰ میلی مولار جذب نیتروژن تفاوت معنی داری با هفته دوم نداشت. در هفته ششم کشت، پایه GF677 افزون بر تیمار شاهد در غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی مولار نیز توانست جذب نیتروژن را ادامه دهد. در حالی که این توانایی جذب، در غلظت ۱۲۰ میلی مولار وجود نداشت. در هفته ششم، تفاوت معنی داری بین مقدار جذب نیتروژن در غلظت های مختلف کلرید سدیم مشاهده شد. بیشترین و کمترین غلظت نیتروژن در هفته ششم به ترتیب در تیمار شاهد با ۴/۹۱٪ و غلظت ۱۲۰ میلی مولار با ۳/۰۴٪ مشاهده شد (شکل ۱).

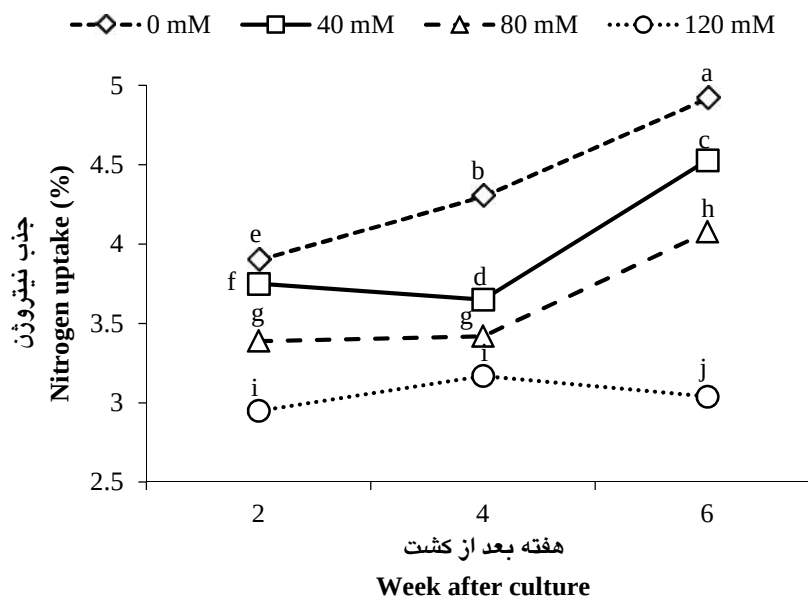


Fig. 1. Influence of sodium chloride levels on nitrogen (N) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۱- اثر سطح های مختلف کلرید سدیم بر جذب نیتروژن در شاخساره های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

روند جذب فسفر در پایه GF677 نیز از غلظت های مختلف شوری اثر گرفت. در تیمار شاهد و ۴۰ میلی مولار نمک، جذب فسفر تا هفته ششم ادامه پیدا کرد، ولی در غلظت ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار، جذب فسفر تا هفته ششم کاهش پیدا کرد. در هفته دوم کمترین مقدار جذب فسفر با ۰/۳۷٪ در غلظت ۱۲۰ میلی مولار و بیشترین مقدار در تیمار شاهد با ۰/۵۳٪ به دست آمد (شکل ۲). با گذشت زمان، جذب فسفر افزایش پیدا کرد به طوری که در هفته ششم در تیمار شاهد بیشترین مقدار جذب مشاهده شد. در غلظت ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار، جذب فسفر نسبت به هفته چهارم کشت کاهش پیدا کرد و پایه GF677 نتوانست در غلظت های بالای شوری به جذب فسفر ادامه دهد و روند کاهشی داشت (شکل ۲).

غلظت های مختلف کلرید سدیم در مقدار جذب پتاسیم پایه GF677 اثر داشتند. جذب پتاسیم با گذشت زمان تا هفته ششم افزایش یافت و بین سطح های مختلف شوری طی زمان تفاوت معنی داری مشاهده شد (شکل ۳). غلظت پتاسیم در بافت پایه GF677 با افزایش سطح شوری کاهش یافت. در هفته دوم، کمترین مقدار پتاسیم با ۰/۳۹٪ در تیمار ۸۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد. در تیمار شاهد، جذب پتاسیم تا هفته ششم ادامه پیدا کرد و بیشترین مقدار جذب پتاسیم ۱/۱٪ به دست آمد. در غلظت های ۴۰ و ۸۰ میلی مولار، پایه GF677 به جذب پتاسیم

ادامه داد. در حالی که این توانایی جذب در غلظت ۱۲۰ میلی مولار وجود نداشت و جذب پتاسیم تا هفته ششم کاهش یافت (شکل ۳).

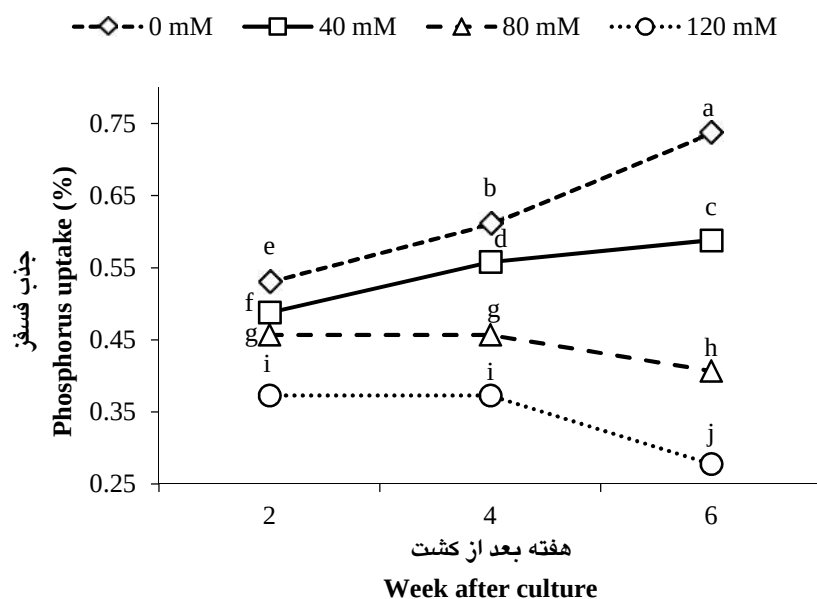


Fig. 2. Influence of sodium chloride levels on phosphorus (P) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۲- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب فسفر در شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

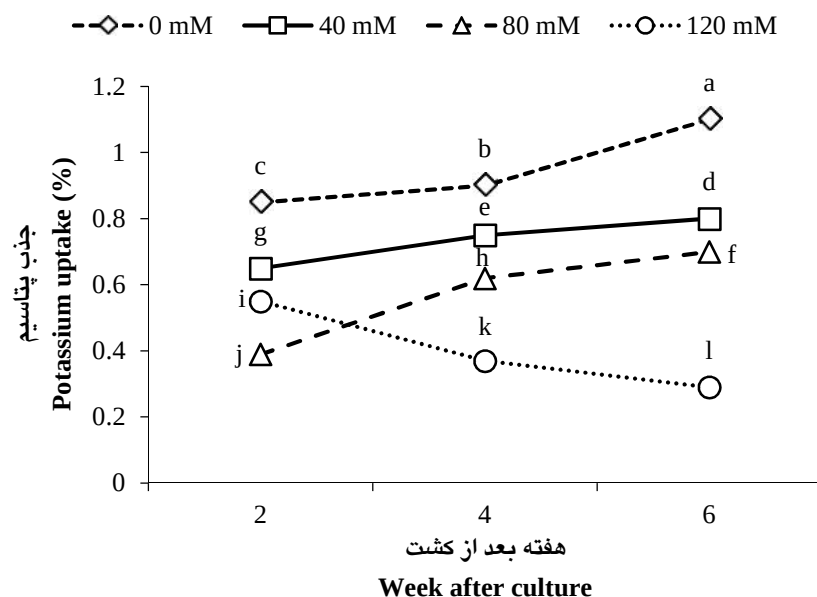


Fig. 3. Influence of sodium chloride levels on potassium (K) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۳- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب پتاسیم در شاخساره‌های GF677 طی شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

در شکل ۴ مشاهده می‌شود که جذب کلسیم از سطح‌های مختلف شوری اثر گرفت. در تیمار شاهد، با گذشت زمان، جذب کلسیم افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین مقدار جذب کلسیم در تیمار شاهد با ۱/۳۱٪ در هفته ششم به‌دست آمد. در هفته دوم بین سطح‌های شوری تفاوت معنی‌داری وجود داشت و در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کمترین مقدار جذب کلسیم مشاهده شد. در غلظت ۸۰ میلی‌مولار، پایه GF677 نتوانست به جذب کلسیم ادامه دهد. جذب کلسیم در هفته دوم نسبت به تیمار شاهد در همه سطح‌های شوری کاهش یافت و در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار جذب کلسیم در هفته ششم کاهش یافت (شکل ۴).

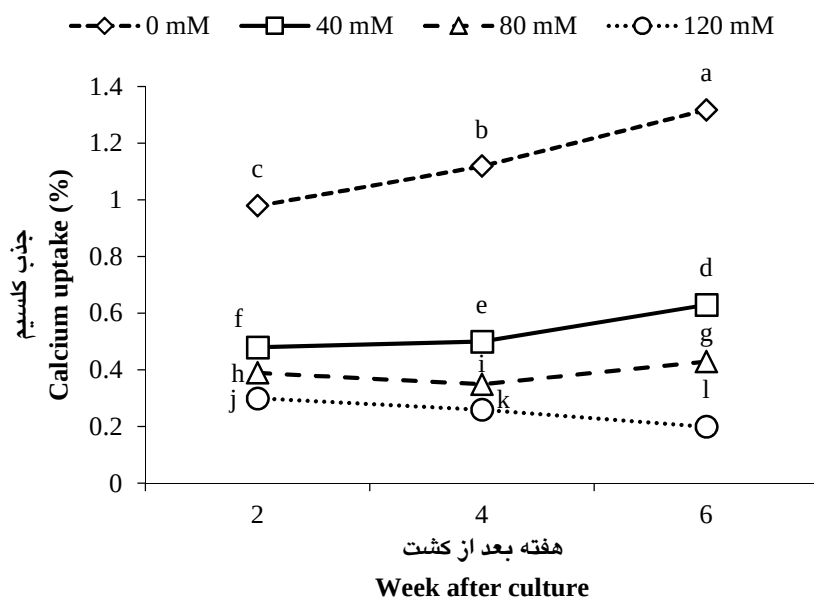


Fig. 4. Influence of sodium chloride levels on calcium (Ca) uptake in GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۴- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب کلسیم در شاخساره‌های GF677 طی شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

در تیمار شاهد، جذب منیزیم توسط پایه GF677 به طور معنی‌داری با گذشت زمان افزایش یافت، به‌طوری‌که در هفته ششم بیشترین مقدار (۷۴۰ پی‌پی‌ام) به‌دست آمد (شکل ۵). در هفته دوم، بین سطح‌های مختلف شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۵). در تیمار ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار، با گذشت زمان، جذب منیزیم کاهش یافت، به‌طوری‌که در همه غلظت‌های شوری کمترین مقدار جذب منیزیم در هفته ششم کشت به‌دست آمد. بین سطح‌های مختلف شوری کمترین مقدار منیزیم در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار به‌دست آمد، که بین هفته چهارم و هفته ششم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵).

در پایه GF677، جذب آهن زیر تأثیر تیمار شوری قرار گرفت (شکل ۶). در تیمار شاهد، در تیمار شاهد جذب آهن به‌طور معنی‌داری بالاتر از دیگر تیمارها بود، ولی بین هفته دوم و چهارم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و بیشترین مقدار جذب در هفته ششم با ۳۷۶/۶۶ پی‌پی‌ام به‌دست آمد. پایه GF677، در تیمار ۴۰ میلی‌مولار نیز توانست به‌طور معنی‌داری به جذب آهن تا هفته ششم ادامه دهد. پایه GF677 در غلظت ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار تا هفته چهارم توانست به جذب آهن ادامه دهد، ولی تا هفته ششم جذب آهن در هر دو سطح شوری (۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) کاهش یافت، به‌طوری‌که کمترین مقدار جذب آهن در هفته ششم در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار با ۲۷۰/۳۳ پی‌پی‌ام به‌دست آمد (شکل ۶).

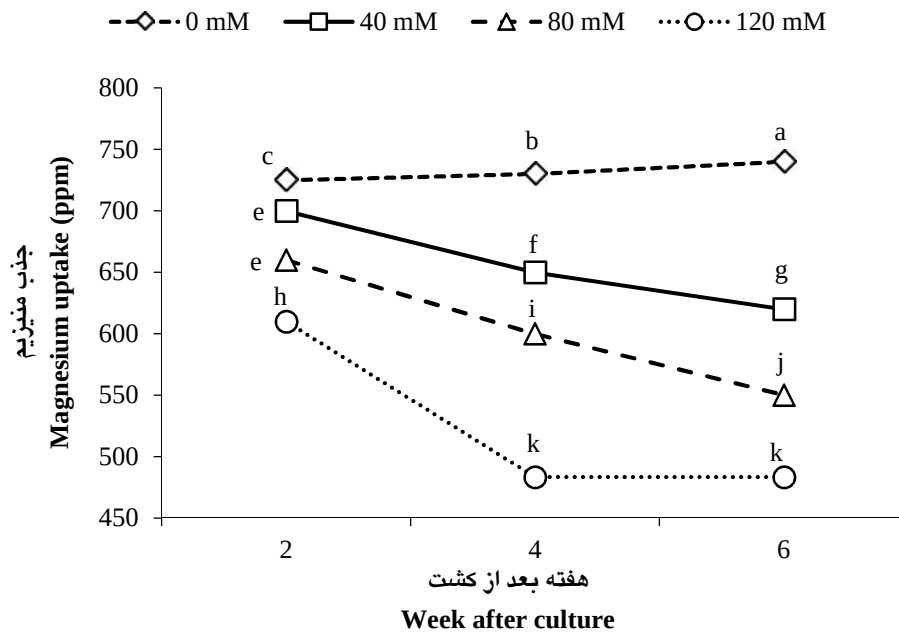


Fig. 5. Influence of sodium chloride levels on magnesium (Mg) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۵- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب منیزیم در شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

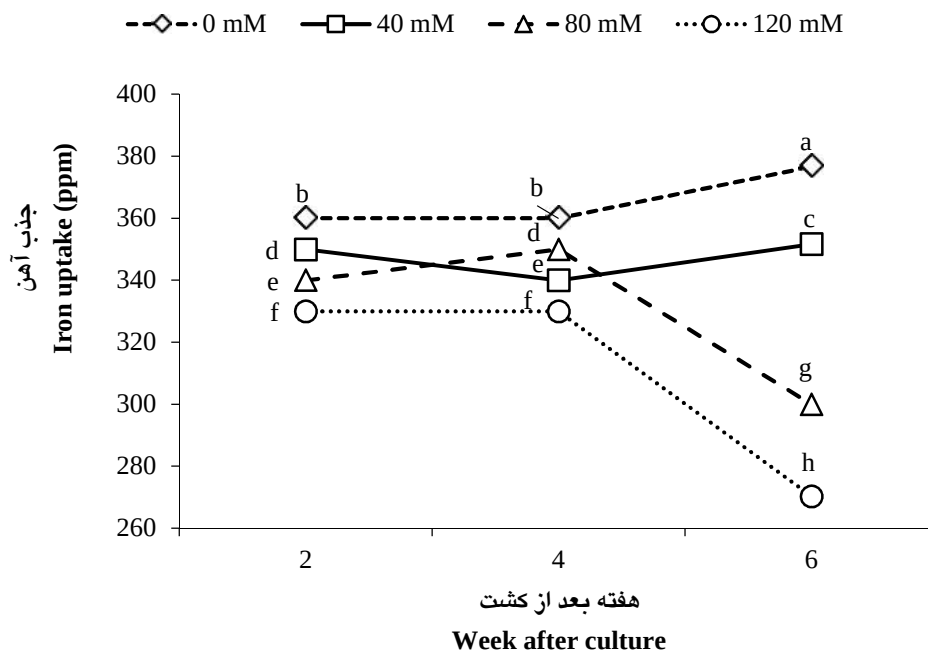


Fig. 6. Influence of sodium chloride levels on iron (Fe) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۶- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب آهن در شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

در هفته دوم، جذب روی با افزایش سطح شوری افزایش پیدا کرد، به طوری که در غلظت ۱۲۰ میلی مولار، بیشترین جذب روی با ۲۲۰ پی پی ام و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد با ۸۰ پی پی ام به دست آمد (شکل ۷). با گذشت زمان، روند جذب روی در تمامی تیمارهای شوری کاهش یافت. در تیمار شاهد، با گذشت زمان جذب روی افزایش یافت. در هفته ششم، بیشترین مقدار جذب روی با ۱۱۱ پی پی ام در تیمار ۴۰ میلی مولار بود. در هفته چهارم و ششم، جذب روی در تیمارهای شوری کاهش یافت و در تیمار ۱۲۰ میلی مولار، جذب روی با ۶۵ پی پی ام در هفته ششم به کمترین مقدار رسید (شکل ۷).

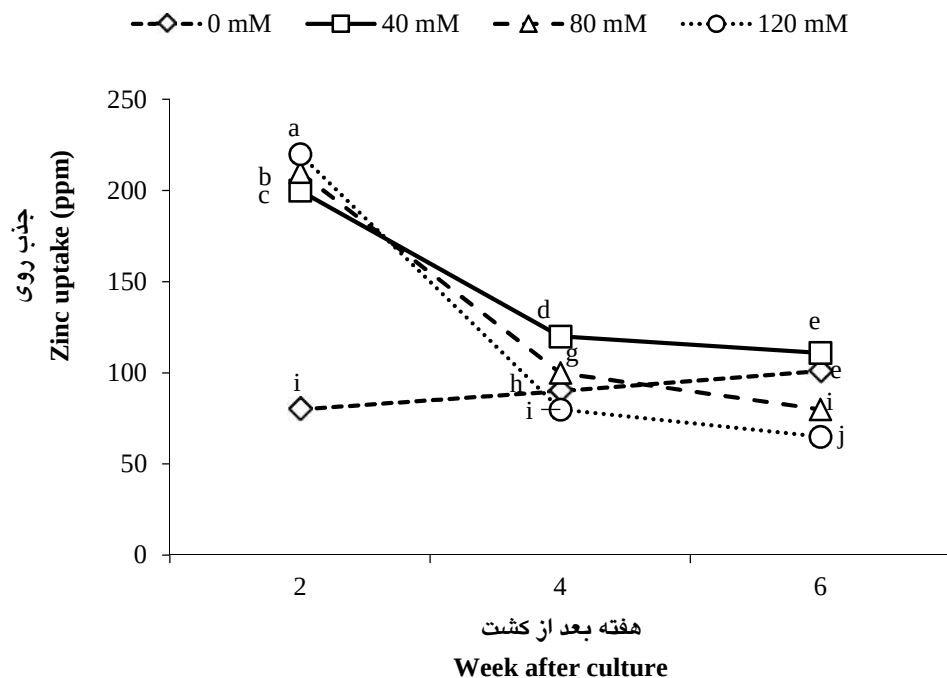


Fig. 7. Influence of sodium chloride levels on zinc (Zn) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۷- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب روی در شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

غلظت یون سدیم بافت با افزایش سطح شوری در طی دوره شش هفته‌ای کشت افزایش یافت (شکل ۸). در تیمار شاهد، به دلیل نبود کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری بین مقدار جذب بین هفته‌های مختلف مشاهده نشد. در هفته دوم، بالاترین مقدار جذب سدیم در تیمار ۱۲۰ میلی مولار بود و روند جذب سدیم در این غلظت تا هفته ششم ادامه پیدا کرد، به طوری که بیشترین مقدار سدیم در هفته ششم با ۸۱٪ به دست آمد. در تیمار ۴۰ و ۸۰ میلی مولار، جذب سدیم تا هفته ششم کشت ادامه یافت (شکل ۸).

همان طوری که شکل ۹ نشان می‌دهد، غلظت یون کلر بافت با افزایش سطح شوری در طی دوره شش هفته‌ای کشت، در پایه GF677 افزایش یافت. بیشترین مقدار جذب کلر در هفته دوم، در تیمار ۱۲۰ میلی مولار با ۱/۰۸٪ و بیشینه جذب در این غلظت در هفته چهارم بود و تفاوت معنی‌داری بین هفته چهارم و ششم مشاهده نشد (شکل ۹). در تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری بین هفته‌های دوم، چهارم و ششم مشاهده نشد. در غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی مولار، جذب کلر تا هفته ششم افزایش یافت (شکل ۹).

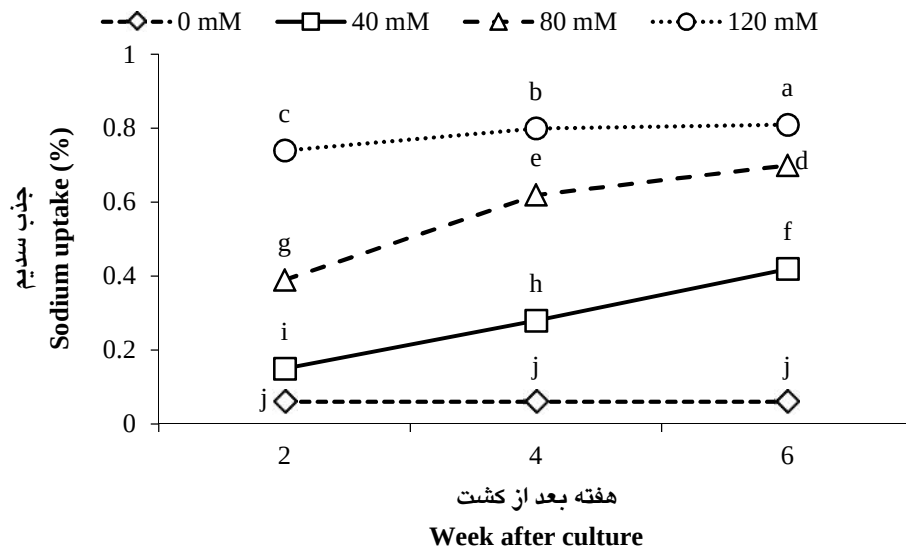


Fig. 8. Influence of sodium chloride levels on sodium (Na) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۸- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب سدیم شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

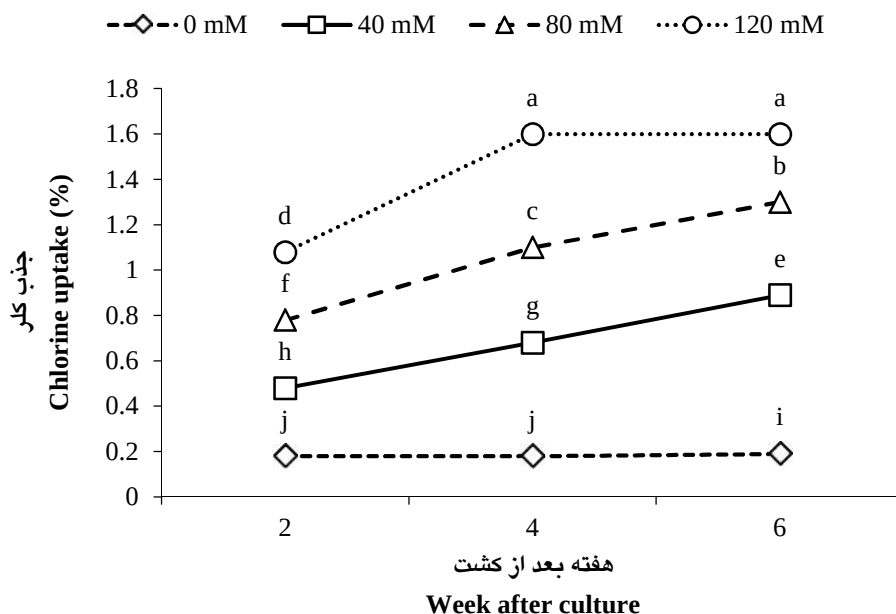


Fig 9. Influence of sodium chloride levels on chlorine (Cl) uptake of GF677 shoots during six weeks culture. Means in each line with similar letters are not significantly different at 1% level of probability using Duncan's multiple range test.

شکل ۹- اثر سطح‌های مختلف کلرید سدیم بر جذب کلر شاخساره‌های GF677 در شش هفته کشت. در هر خط میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول همبستگی (جدول ۱) نشان می‌دهد بین جذب عنصرهای معدنی با یون سدیم و کلر همبستگی معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. بین عنصر سدیم و کلر با عنصر روی همبستگی معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۱- ضریب همبستگی بین عنصرهای معدنی طی شش هفته کشت.

Table 1. Correlation coefficient between minerals during six weeks culture.

	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	منیزیم	کلسیم	آهن	روی	سدیم	کلر
	Nitrogen	Phosphorus	Potassium	Magnesium	Calcium	Iron	Zinc	Sodium	Chlorine
نیتروژن	1								
Nitrogen									
فسفر	0.873**	1							
Phosphorus									
پتاسیم	0.882**	0.905**	1						
Potassium									
منیزیم	0.603**	0.811**	0.762**	1					
Magnesium									
کلسیم	0.832**	0.878**	0.892**	0.796**	1				
Calcium									
آهن	0.582**	0.844**	0.718**	0.822**	0.71**	1			
Iron									
روی	-0.289*	-0.068*	-0.201*	0.277	-0.249	0.185	1		
Zinc									
سدیم	-0.676**	-0.840**	-0.761**	-0.943**	-0.836**	-0.771**	-0.066	1	
Sodium									
کلر	-0.645**	-0.833**	-0.794**	-0.987**	-0.853**	-0.806**	-0.151	0.975**	1
Chlorine									

** : Correlation in 1% level of probability * : Correlation in 5% level of probability.

***: همبستگی در سطح احتمال ۱٪؛ **: همبستگی در سطح احتمال ۵٪.

بحث

غلظت نیتروژن در بافت پایه GF677 با افزایش سطح‌های شوری کاهش یافت. کاهش جذب نیتروژن به احتمال به دلیل جذب یون کلر و تجمع آن در بافت می‌باشد (۱۳). جذب عنصر نیتروژن با یون سدیم و کلر همبستگی منفی و معنی‌داری داشت (جدول ۱). کاهش آن به دلیل جذب یون کلر و تجمع آن در بافت می‌باشد، به این دلیل که یون کلر با نیتروژن رابطه هم‌کاهی دارد (۲). این کاهش جذب نیتروژن در تنش شوری درون شیشه‌ای پایه سیب (۳۱) و مرکبات (۲) نیز گزارش شده است. اثرهای کلرید سدیم و کلرید مشابه است، اما جلوگیری از جذب نیتروژن توسط یون کلر بیشتر زیر تأثیر شوری قرار می‌گیرد. برهمکنش بین نیتروژن و کلر با مقدار تحمل به تنش شوری رقم‌ها همبستگی دارد. رقم‌های مقاوم یا متحمل مقدار نیتروژن بالایی نسبت به رقم‌های حساس دارند (۸). به دنبال تنش درون شیشه‌ای کلرید سدیم در دو پایه مرکبات (نارنج و پونسیروس)، غلظت نیتروژن در بافت هر دو پایه در همه تیمارها با افزایش سطح‌های شوری کاهش یافت (۲). در کل، شوری باعث کاهش غلظت نیتروژن در گیاه شد (شکل ۱). در این پژوهش، شاخصاره پایه GF677 در هفته ششم کشت، افزون بر تیمار شاهد در غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار نیز توانست جذب نیتروژن را ادامه دهد. در حالی‌که این توانایی جذب در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار وجود نداشت، که می‌تواند به دلیل آسیب یون‌های سدیم و کلر به بافت آوندی گیاه باشد (۲).

در این پژوهش، روند جذب فسفر در پایه GF677 نیز زیر تأثیر غلظت‌های مختلف شوری قرار گرفت. طبق جدول همبستگی (جدول ۱)، جذب عنصر فسفر با یون سدیم و کلر همبستگی منفی داشت (جدول ۱). برهمکنش بین شوری و فسفر با رابطه بین شوری و نیتروژن به طور دقیق مثل هم هستند و شوری باعث کاهش جذب فسفر می‌شود (شکل ۲). این برهمکنش به گونه گیاهی، مرحله نمو گیاه، ترکیب و سطح شوری بستگی دارد (۱۳). در تیمار شاهد و ۴۰ میلی‌مولار، جذب فسفر تا هفته ششم ادامه پیدا کرد، ولی پایه GF677 نتوانست در غلظت‌های

بالای شوری به جذب فسفر ادامه دهد (شکل ۲). این نتیجه در تنش شوری درون شیشه‌ای پایه نارنج (۳۰) و پونیروس (۲) نیز به دست آمده است.

غلظت پتاسیم در بافت گیاه GF677 به طور معنی داری در همه غلظت‌های شوری در مقایسه با تیمار شاهد کاهش یافت. این نتیجه‌ها با یافته‌های شیب و همکاران (۳۰)، سوتیروپولوس (۳۱) و قالب و همکاران (۱۲) که گزارش کردند افزایش سطح شوری غلظت پتاسیم را در مقایسه با شاهد کاهش می‌دهد، مطابقت دارد. از مهم‌ترین اثرهای یون سدیم تداخل در جذب پتاسیم است که در گیاه نقش‌های کلیدی بر عهده دارد. علت کاهش یون پتاسیم را می‌توان به اثر رقابتی پتاسیم و سدیم نسبت داد (۲۵). مقدارهای بالای یون سدیم به هدایت آبی و نفوذپذیری بافت آسیب وارد می‌کند و جایگزین پتاسیم در مکان‌های تبادلی می‌شود (۳۰). شوری بالا، با بر هم زدن تعادل الکتریکی غشا و قطبیت آن می‌تواند منجر به فعال شدن واکنش‌هایی شود که سبب جریان پتاسیم به خارج از یاخته می‌شوند (۳۴). قابلیت انتخابی غشای یاخته‌ای به پتاسیم در مقابل سدیم در تحمل به تنش شوری، نقش مهمی دارد. در بسیاری از گونه‌ها، نسبت پتاسیم به سدیم در مقایسه با غلظت سدیم اهمیت بیشتری دارد. غلظت بالاتر پتاسیم می‌تواند سبب بهبود تنظیم اسمزی با مصرف انرژی کمتری نسبت به تجمع محلول‌های سازگار شود. یون سدیم با یون پتاسیم برای ورود به یاخته رقابت می‌کند، چرا که انتقال آن‌ها توسط پروتئین‌های مشابهی صورت می‌گیرد (۶). مسیرهای ورودی پتاسیم و سدیم به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول قابلیت انتخابی بالایی برای پتاسیم نسبت به سدیم دارند و در گروه دوم، انتخاب پتاسیم به سدیم کمتر است. بسیاری از سیستم‌های انتقال پتاسیم، توانایی انتقال سدیم را هم دارند (۱۵).

کمبود کلسیم می‌تواند به انتخاب‌پذیری غشای یاخته‌ای آسیب برساند و اجازه تجمع سدیم در بافت گیاه را دهد (۱۶). شوری باعث افزایش انرژی مصرفی در گیاه می‌شود که برای تنظیم اسمزی و رقابت بین یون‌های انتقالی مصرف می‌شود. این ممکن است منجر به کاهش یون‌های مهم سوخت‌وسازی از قبیل کلسیم شود (۳۱). این نتیجه در تنش شوری درون شیشه‌ای هوهوبا (۲۷) و پایه گیلان ۵ (Gisela5) (۱۰) نیز به دست آمده است. در شرایط شوری، به علت میل ترکیبی کم کلسیم، جذب آن کاهش می‌یابد، زیرا کلسیم به شدت با منیزیم با مکان اتصال در غشای پلاسمایی رقابت می‌کند (۱۳). این نتیجه در تنش شوری درون شیشه‌ای پایه گیلان ۵ (Gisela5) (۱۰) و مرکبات (۲) نیز به دست آمده است. دلیل کاهش جذب آهن در شرایط تیمار شوری کلرید سدیم به خاطر رابطه هم‌کاهی آهن با سدیم است (۳۰). این نتیجه‌ها در تنش شوری درون شیشه‌ای پایه‌های سیب (۲۸، ۳۱)، پایه گلابی (۲۳)، پایه گیلان ۵ (Gisela5) (۱۰) و پایه‌های مرکبات (۲، ۳۰) نیز به دست آمده است.

غلظت سدیم و کلر و غلظت نمک محیط کشت به تقریب همبستگی مثبتی دارند و با افزایش غلظت نمک در محیط کشت، مقدار جذب و غلظت یون‌های نمک در بافت‌ها نیز افزایش می‌یابد (۱۰). تحمل به شوری به توانایی در کنترل جذب و انتقال یون‌های نمک از محیط به بافت مربوط است (۲۶). مقاومت به شوری در برخی از گونه‌های گیاهی یک همبستگی منفی با مقدار سدیم در برگ‌های گیاه دارد (۳۰). یون سدیم برای سوخت‌وساز یاخته‌ای سمی است و بر فعالیت برخی آنزیم‌ها اثر می‌گذارد. غلظت بالای یون سدیم سبب بر هم خوردن تعادل اسمزی و ساختار غشا، کاهش رشد و جلوگیری از تقسیم یاخته‌ای می‌شود (۱۸). مقدار بالای سدیم در محلول غذایی شور می‌تواند باعث آسیب به هدایت هیدرولیکی یا نفوذپذیری بافت به آب و جابجایی پتاسیم در مکان‌های تبادلی شود، بنابراین با توجه به این مورد بقای گیاه کاهش می‌یابد (۳۰). گیاهان برای حفظ بافت‌ها و یاخته‌های خود باید از ورود بیش از حد یون‌ها به بافت‌های فعال و در حال رشد و بافت‌های فتوسنتز کننده جلوگیری کنند. آسیب به یاخته‌های مریستمی می‌تواند شدت بیشتری نسبت به دیگر یاخته‌ها داشته باشد. به دلیل کوچک و کمتر بودن واکوئل‌ها در این یاخته‌ها، امکان تجمع یون‌ها در واکوئل و کاهش سمیت یون‌ها برای فعالیت یاخته‌ای وجود ندارد و یا در کمینه است (۶). ورود سدیم سبب برهم خوردن پتانسیل غشا می‌شود و ورود یون کلر را به صورت غیر فعال از یک

کانال آنیونی آسان می‌کند (۱۸). کلر اضافی سبب ریزش برگ‌ها، کمبود عنصر روی و کم‌سبزیگی آهن و کاهش غلظت کلروفیل برگ می‌شود (۲۰). این نتیجه‌ها در تنش شوری درون شیشه‌ای پایه سیب (۳۱)، کیوی (۳۲)، هوهوبا (۲۶)، پایه گیلایس Gisela5 (۱۰) و مرکبات (۲) نیز به‌دست آمده است.

نتیجه‌گیری

در کل می‌توان نتیجه گرفت غلظت‌های کلرید سدیم بر جذب عنصرهای معدنی اثر گذاشتند و با توجه به اثر هم‌کاهی آن، شاخساره‌های پایه GF677 توانستند به جذب نیتروژن، پتاسیم و کلسیم تا هفته ششم کشت ادامه دهند (به‌جز غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار)، ولی جذب منیزیم، آهن و روی به‌شدت کاهش یافت و پایه GF677 توانایی جذب این عنصرها را با گذشت زمان نداشت.

References

منابع

۱. امامی، ع. ۱۳۷۵. روش‌های تجزیه گیاه. جلد اول. انتشارات سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی. وزارت کشاورزی. ۱۲۸ ص.
۲. حبیبی، ف. و م. ا. امیری، ۱۳۹۳. اثر تنش شوری بر رشد و جذب عنصرهای معدنی توسط دو پایه مرکبات در شرایط درون شیشه‌ای. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۸۴-۷۳: ۱۵.
۳. مشایخی، م.، م. ا. امیری و ف. حبیبی. ۱۳۹۴. بررسی واکنش‌های بیوشیمیایی و فعالیت آنزیمی پایه GF677 (هیبرید هلو و بادام) به تنش شوری درون شیشه‌ای. مجله علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۹: ۲۰۷-۲۱۵.
4. Alizadeh, M., S.K.Singh, V.B. Patel, R.C. Bhattacharya and B.P. Yadav. 2010. *In vitro* responses of grape rootstocks to NaCl. Biol. Plant. 54: 381-385.
5. Antonopoulou, C., K. Dimassi, I. Therios, C. Chatzissavvidis and V. Tsirakoglou. 2005. Inhibitory effects of riboflavin on *in vitro* rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF677. Sci. Hort. 106: 268-272.
6. Apse, M.P. and E. Blumwald. 2007. Na⁺ transport in plants. FEBS Letters. 581: 2247-2254.
7. Arbona, V., A.J. Marco, D.J. Iglesias, M.F. Lopez-Climent, M. Talon and A. Gomes-Cadenas. 2005. Carbohydrate depletion in roots and leaves of salt- stressed potted *Citrus clementina* L. Plant Growth Regul. 46: 153-160.
8. Bar, Y., A. Apelbaum, U. Kafkafi and R. Goren. 1997. Relationship between chloride and nitrate and its effect on growth and mineral composition of avocado and citrus plants. J. Plant Nutr. 20: 715-731.
9. Chelli-Chaabounia, A., A. Ben Mosbah, M. Maalej, K. Gargouric, R. Gargouri-Bouزيد and N. Drira. 2010. *In vitro* salinity tolerance of two pistachio rootstocks: *Pistacia vera* L. and *P. atlantica* Desf. Environ. Exp. Bot. 69: 302-312.
10. Erturk, U., N. Sivritepe, C. Yerlikaya, M. Bor, F. Ozdemir and I. Turkan. 2007. Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. Biol. Plant. 51: 597-600.
11. Garcia, S.F., V. Martinez, J. Jifon, J.P. Syvertsen and J.W. Grosser. 2002. Salinity reduces growth, gas exchange, chlorophyll and nutrient concentrations in diploid sour orange and related allotetraploid somatic hybrids. J. Hort. Sci. Biotechnol. 77: 379-386.
12. Ghaleb, W.Sh., J.S. Sawwan, M.W. Akash and A.M. Al-Abdallat. 2010. *In Vitro* response of two citrus rootstocks to salt stress. Int. J. Fruit Sci. 10: 40-53.
13. Grattan, S.R. and C.M. Grieve. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Sci. Hort. 78: 127-157.
14. Grundon, N.J., A.D. Robson, M.J. Lambert and K. Snowball. 2000. Nutrient deficiency and toxicity symptoms. pp: 37-43. In: Reuter, D.J. and J.B. Robinson (Eds.). Plant Analysis: An Interpretation Manual. Collingwood, vie. CSIRO publishing. 450p.

15. Hasegawa P.M., R.A. Bressan, J.K. Zhu and H.J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Biol.* 51: 463-499.
16. Hu Y. and U. Schmidhalter. 2001. Effects of salinity and macronutrient levels on micronutrients in wheat. *J. Plant Nutr.* 24: 273-281.
17. Kozlowski, T.T. 2002. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. *Bot. Rev.* 68:270-334.
18. Mahajan, S.H. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444:139-158.
19. Maruyama, H., R. Koyama, T. Oi, M. Yagi, M. Takeda and M. Kanechi. 2008. *In vitro* evaluation of osmotic stress tolerance using a novel root recovery assay. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 1: 101-106.
20. Melgar, J.C., J.P. Syvertsen, V. Martinez and F. Garcia-Sanchez. 2008. Leaf gas exchange, water relations, nutrient content and growth in citrus and olive seedlings under salinity. *Biol. Plant.* 52:385-390.
21. Montoliu, A., M.F. Lopez-Climent, V. Arbona, R.M. Perez-Clemente and A. Gomez-Cadenas. 2009. A novel *in vitro* tissue culture approach to study salt stress responses in citrus. *Plant Growth Regul.* 59: 179-187.
22. Munns, R. and R. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 59: 651-681.
23. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
24. Najafian, S.H., M. Rahemi, and V. Tavallali. 2008. Growth and chemical composition of hybrid GF677 (*Prunus amygdalus*×*Prunus persica*) influence by salinity levels of irrigation water. *Asian J. Plant Sci.* 7: 309-313.
25. Romheld, V. and E.A. Kirkby. 2010. Research on potassium in agriculture: needs and prospects. *Plant Soil* 335: 155-180.
26. Roussos, P.A., D. Gasparatos, E. Tsantili and C.A. Pontikis. 2007. Mineral nutrition of jojoba explants *in vitro* under sodium chloride salinity. *Sci. Hort.* 114: 59-66.
27. Roussos, P.A., E. Tsanitili and C.A. Pontikis. 2005. Responses of jojoba explant to different salinity levels during the proliferation stage *in vitro*. *Indust. Crops Prod.* 23:65-72.
28. Shibli, R., M. Mohammad, A. Abu-Ein and M. Shatnawi. 2000. Growth and micronutrient acquisition of some apple varieties in response to gradual *in vitro* induced salinity. *J. Plant Nutr.* 23: 1209-1215.
29. Shibli, R.A., M.A. Shatnawi and I.Q. Swaidat. 2003. Growth, osmotic adjustment and nutrient acquisition of bitter almond under induced sodium chloride salinity *in vitro*. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 34: 1969-1979.
30. Shiyab, M.S., R.A. Shibli and M.M. Mohammad. 2003. Influence of sodium chloride salt stress on growth and nutrient acquisition of sour orange *in vitro*. *J. Plant Nutr.* 26: 985-996.
31. 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*. *Biol. Plant.* 51: 177-180.
32. Sotiropoulos, T.E. and K. Dimassi. 2004. Response to increasing rates of boron and NaCl on shoot proliferation and chemical composition of *in vitro* kiwifruit shoot tip cultures. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 79: 285-289.
33. Sotiropoulos, T.E., S. Fotopoulos, K.N. Dimassi, V. Tsirakoglou and I.N. Therios. 2006. Response of the pear rootstock to boron and salinity *in vitro*. *Biol. Plant.* 50: 779-781.

34. Wu, Q.Sh. and Y.N. Zou. 2009. Adaptive responses of Birch-leaved pear (*Pyrus betulaefolia*) seedlings to salinity stress. Not. Bot. Horti. Agrobot. Cluj. Napoca. 37:133-138.

The Trend of Mineral Uptake by GF677 Shoots in Response to Different Concentrations of Sodium Chloride under *In Vitro* Conditions

M. Mashayekhi, M.E. Amiri* and F. Habibi¹

In this study, the trend of mineral uptake by GF677 (*Prunus persica* × *Prunus amygdalus*) shoots in response to salinity stress was studied under *in vitro* conditions. Shoots of GF677 rootstock were subcultured into the Murashige and Skoog (MS) medium containing 1 mg/l BA (6-Benzyladenine) and 0.1 mg/l NAA (naphthalene acetic acid) at different concentrations [Zero (control), 40, 80 and 120 mM] of sodium chloride (NaCl) with four replicates for six weeks. Mineral uptake was measured in the GF677 shoots every two weeks. GF677 rootstock continued N and K uptake at concentrations of 40 and 80 mM until six weeks. Phosphorous uptake continued in the control and 40 mM treatments until six weeks. Magnesium uptake decreased in the concentrations of 40, 80 and 120 mM. Iron and Zn uptake decreased in the all salinity concentration. Sodium and Cl uptake increased by increasing salinity levels during the six weeks culture. In general, due to the antagonistic effects of sodium chloride, GF677 shoots could continue to uptake nitrogen, potassium and calcium until the sixth week of culture (except for 120 mM) but did not have the ability to uptake magnesium, iron, and zinc.

Keywords: GF677 rootstock, Macro elements, Nitrogen, Salinity stress.

1. Former M.Sc. Student, Professor and M.Sc. of Horticulture Science, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

* Corresponding author, Email: (m-amiri@znu.ac.ir).