

## اثرهای اسیدهای آلی بر تعدیل تنش بی کربنات در ارقام هلو پیوند شده بر پایه GF677<sup>۱</sup>

### Effects of Organic Acids on Modulation of Bicarbonate Stress in Some Peach Cultivars grafted on GF677 Rootstock

احسان اکبرپور، عبدالمجید میرزاعلیان دستجردی<sup>\*</sup>، علی ایمانی، منصوره شمیلی<sup>۲</sup>

#### چکیده

کلروز آهن ناشی از تنش بی کربنات باعث کاهش عملکرد، تاخیر در میوه دهی، کاهش کیفیت میوه و اختلال در فرآیندهای رشد و فتوسنتز در گیاهان می شود. در این پژوهش اثر اسیدهای آلی بر تعدیل تنش بی کربنات در برخی ارقام هلو مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه در این آزمایش شامل سه رقم هلو پیوند شده روی پایه جی اف ۶۷۷، سه سطح بی کربنات کلسیم (صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و دو سطح اسیدهای آلی (صفر و ۱۰ میلی مولار) بود. در بین ارقام مورد مطالعه رقم جی اچ هیل حساس ترین رقم و برزگر مقاوم ترین رقم به کلروز ناشی از کمبود آهن بود. اسیدهای آلی به طور معنی داری سبب بهبود ویژگی های رشدی ارقام مختلف به ویژه در شرایط تنش بی کربنات کلسیم شدند. به طوری که اسیدهای آلی شدت کلروز ناشی از کمبود آهن را در ارقام مورد مطالعه تا ۲۰ درصد کاهش دادند. در بررسی صفات فیزیولوژیک و زیست شیمیایی مشخص گردید که اسیدهای آلی سبب بهبود محتوای نسبی آب برگ (تا ۱۶ درصد)، میزان کلروفیل (تا ۳۳ درصد)، تجمع پرولین (تا ۳۵/۹ درصد) و همچنین افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل کاتالاز (تا ۲۳/۴ درصد)، سوپراکسیداز دیسموتاز (تا ۲۶/۵ درصد) و گایاکول پراکسیداز (تا ۱۴/۴ درصد) شدند. اسیدهای آلی با بهبود روابط آبی، کلروفیل برگ و آنزیم های آنتی اکسیدانی سبب بهبود ویژگی های رشدی نهال های هلو در شرایط تنش بی کربنات شدند.

**واژه های کلیدی:** آنزیم های آنتی اکسیدانی، ویژگی های رشدی، صفات فیزیولوژیک، هلو.

#### مقدمه

کمیت و کیفیت آب فاکتورهای مهمی برای در دسترس بودن آب و مناسب بودن آن برای آبیاری هستند، در حالی که کیفیت آب کمتر مورد توجه قرار می گیرد. در بین عوامل اصلی تأثیرگذار بر کیفیت آب، درجه قلیائیت آب، به دلیل اثر شدید آن بر pH خاک از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (۵). قلیائیت آب آبیاری تأثیر زیان آوری بر رشد و تغذیه گیاهان دارد (۱۸). شرایط قلیایی منجر به تشکیل اشکال نامحلول مواد غذایی، به خصوص آهن (Fe)، روی (Zn) و مس (Cu) می شود، که به موجب آن از حالت قابل جذب برای گیاه خارج می شوند. پی آمد این امر به صورت زردی در برگ های جوان نمود خواهد کرد، که ناشی از کاهش یافتن سنتز کلروفیل به خاطر کمبود آهن و روی است (۱۸، ۳۷).

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۴

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۸

۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران، استاد پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، کرج، ایران و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.  
<sup>\*</sup> نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (mirzaalian@hormozgan.ac.ir).

وجود مقادیر زیاد بی‌کربنات در آب آبیاری و به‌دنبال آن در خاک و pH بالا از دلایل اصلی کلروز کمبود آهن در گیاهان رشد یافته در خاک‌های آهکی است (۴۱). در بررسی اثر غلظت‌های مختلف بی‌کربنات کلسیم بر واکنش‌های فیزیولوژیک و صفات رشدی ارقام مختلف بادام روی پایه GN15، گزارش شده است که تنش بی‌کربنات کلسیم به‌طور معنی‌داری سبب کاهش شاخص‌های رشدی و میزان کلروفیل در تمام ارقام مورد مطالعه بادام بوده است (۱۹). در نهال‌های هلو تحت تیمار بی‌کربنات سدیم، کاهش میزان کلروفیل برگ گزارش شده است (۱۳). در خاک آهکی، آب آبیاری حاوی بی‌کربنات با غلظت بالاتر از ۵ میلی‌مول در لیتر موجب بروز اختلالات تغذیه‌ای در سه رقم نهال سیب شده است (۳۶). افزایش مقدار غلظت بی‌کربنات در آب آبیاری موجب کاهش مقدار کلروفیل و میزان سطح آهن در برگ، رشد ساقه و تعداد برگ جدید و افزایش رشد ریشه در نهال‌های زیتون و هلو شده است (۲۴). مطالعات انجام گرفته روی پاسخ‌های فیزیولوژیک و آناتومی دو رقم کیوی تحت تنش بی‌کربنات نشان داد که ۳۵ روز پس از اعمال تنش علائم زردی ناشی از کلروز آهن در هر دو رقم مشهود بود. به‌علاوه بی‌کربنات سبب کاهش وزن خشک برگ‌ها و شاخه‌های جدید و تخریب کلروپلاست شد. البته پاسخ دو رقم مورد مطالعه کیوی به تنش بی‌کربنات یکسان نبود و هر دو رقم پاسخ‌ها و مکانیزم‌های متفاوتی در برابر تنش بی‌کربنات داشتند (۴۲).

کاربرد خاکی یا تغذیه برگی ترکیب‌های معدنی آهن مثل سولفات و سیترات آهن، کلات آهن، همچنین تزریق ترکیب‌های معدنی آهن به داخل تنه درختان از روش‌هایی است که به‌طور معمول برای رفع عارضه کلروز کمبود آهن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۹). استفاده از ترکیب‌های آلی تنظیم‌کننده رشد و مواد زیستی از قبیل اسید جاسمونیک و اسید هیومیک که بر بسیاری از فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاهان مؤثر است، یکی از روش‌های سریع در افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی محسوب می‌شود (۱۶). به‌علاوه کاربرد برخی اسیدهای آلی تحرک‌بخشی و افزایش حلالیت کاتیون‌های فلزی از جمله آهن، منگنز و آلومینیوم را به‌دنبال دارد (۳۲). اسیدهای ارگانیک در محیط خاک با کاهش pH ریزوسفر منجر به آزاد شدن عناصر غذایی غیرقابل دسترس خاک می‌گردند، همچنین کمپلکس‌هایی با کاتیون‌های معدنی تشکیل داده و با شکستن باندهای کاتیون-اکسیژن ساختارهای معدنی، سبب آزاد شدن کاتیون‌ها به خاک می‌گردند (۳). تولید اسیدهای ارگانیک در خاک یک واکنش طبیعی گونه‌های بیولوژیک به تنش‌های زنده و غیرزنده است و برای ایجاد تعادل در عملکرد موثر اکوسیستم خاک ضروری است (۱). برای پیشگیری یا غلبه بر کلروز آهن ناشی از آهک در باغ‌ها معمولاً از پایه مقاوم به کلروز آهن استفاده می‌شود (۱۳). پایه رویشی جی‌اف ۶۷۷ که دورگه طبیعی بین بادام و هلو می‌باشد، تجانس خوبی با هلو و بادام داشته و علاوه بر این که مقاوم به بیماری غربالی فوزیکوم و بیماری ویروسی آبله‌ای است، در خاک‌های فقیر و آهکی قابل کشت بوده و متحمل به کمبود آهن می‌باشد. این پایه به‌دلیل دارا بودن سیستم ریشه‌بندی قوی به‌عنوان یکی از پایه‌های مناسب برای هلو و بادام در دنیا شناخته شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (۶). از آنجاکه بیش از ۳۰ درصد خاک‌های جهان از نوع آهکی بوده و القای کمبود آهن ناشی از آن یکی از چالش‌های مهم در محصولات متعدد باغی چندساله می‌باشد، بنابراین گزینش ارقام و پایه‌های متحمل به کلروز برگی ناشی از کمبود آهن و نیز تاثیر کاربرد اسیدهای آلی در تعدیل تنش بی‌کربنات، نه تنها در توسعه باغ‌های جدید، بلکه در زمینه اصلاح ارقام و همچنان شناخت بهتر فیزیولوژی تحمل به کلروز کمبود آهن مفید خواهد بود. به‌همین جهت این پژوهش با هدف بررسی اثر مواد آلی (ترکیبی از اسیدهای آلی اگزالیک، سیتریک و مالیک) بر تعدیل تنش بی‌کربنات در ارقام هلو جی‌اچ‌هیل، ردهون و برزگر روی پایه جی‌اف ۶۷۷ انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش با هدف بررسی میزان مقاومت ارقام مختلف هلوی پیوند شده بر پایه جی‌اف ۶۷۷ به کلروز آهن ناشی از بی‌کربنات کلسیم و تاثیر کاربرد اسیدهای آلی در تعدیل تنش ناشی از بی‌کربنات طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۶ در فضای باز موسسه تحقیقات نهال و بذر واقع در محمد شهر کرج انجام گرفت و گیاهان در شرایط دما و نور طبیعی محیط قرار داشتند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی در ۱۸ تیمار (۳ رقم، ۳ سطح بی‌کربنات و ۲ سطح اسید آلی) و سه تکرار پیاده شد که هر گلدان برابر با یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و مجموع واحدهای آزمایشی برابر با ۵۴ گلدان بود. فاکتورهای مورد مطالعه

در این آزمایش شامل رقم هلو جی‌اچ‌هیل، ردهون و برزگر، سطوح بی‌کربنات کلسیم صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار و دو سطح ترکیبی از اسیدهای آلی اگزالیک، سیتریک و مالیک به نسبت یکسان و با غلظت صفر و ۱۰ میلی‌مولار بود. پایه‌های رویشی جی‌اف ۶۷۷ تکثیر شده از طریق ریزازدیادی در سال ۱۳۹۵ از شرکت تولید نهال کشت بافتی (ایتا صدرا) تهیه و در فروردین ۱۳۹۶ به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۴۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر حاوی مخلوطی از کود دامی پوسیده، ماسه نرم و خاک باغ به نسبت وزنی (۱:۱:۱) ضدعفونی شده با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ در هزار، منتقل شدند. در خرداد ماه همان سال نهال‌های کشت بافتی با ارقام مورد نظر که پیوندک‌های آنها از کلکسیون ارقام هلو و شلیل موسسه تحقیقات باغبانی واقع در کمال‌شهر کرج تهیه شده بود پیوند شد و تا پایان فصل رشد سال ۱۳۹۶ پیوندک‌ها رشد خود را کامل نمودند. تیمار تنش بی‌کربنات کلسیم همراه با آب آبیاری در اردیبهشت ۱۳۹۷ اعمال گردید. تیمار اسیدهای آلی نیز به‌صورت همزمان و با اضافه نمودن روزانه ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول به حجم رسانده شده اسید آلی، به گلدان‌ها اعمال گردید. دو ماه پس از اعمال تیمارهای تنش و اسیدهای آلی، برخی از خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی در برگ‌ها سنجش و مورد بررسی قرار گرفتند.

### شاخص‌های رشد

شامل ارتفاع نهال، قطر پیوندک و تعداد برگ در انتهای آزمایش و در پایان فصل رشد (انتهای شهریور ماه همان سال) اندازه‌گیری شد. قطر پیوندک با استفاده از کولیس دیجیتالی و در محل طوقه نهال (بالای محل پیوند) و ارتفاع نهال با استفاده از متر پارچه‌ای اندازه‌گیری شد.

### شاخص شدت کلروز برگ

شدت کلروز برگ‌ها به‌صورت دیداری و با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط Penas و همکاران (۱۹۹۰) انجام شد (۲۸). بر اساس این روش درجه‌بندی کلروز به‌صورت رتبه ۱ تا ۵ (۱: طبیعی، بدون کلروز؛ ۲: نزدیک به نرمال، سبز روشن، بدون کلروز برگ‌ها؛ ۳: کلروز خفیف تا متوسط، زردی بین رگبرگ‌ها در شاخه‌های جوان؛ ۴: بسیار کلروتیک با علایم مشخص زرد شدن در اکثر برگ‌ها؛ و ۵: کلروز شدید با برگ‌های بالایی به‌طور مشخص زرد و کلروزه و در حال ریزش و برگ‌های پایینی بسیار کلروتیک) ثبت شد. نمونه‌ها توسط دو نفر کارشناس بدون اطلاع از تیمار مربوطه رتبه‌بندی شدند. نمره‌دهی در پایان اعمال تیمار و بروز کامل علایم کلروز انجام گردید و سپس داده‌های به‌دست آمده یادداشت برداری و نتایج به‌دست آمده به‌صورت درصد گزارش گردید.

### محتوای نسبی آب برگ

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ براساس روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰) انجام شد (۳۴). نمونه‌ها از بالاترین برگ توسعه یافته جدا گردیده و توزین شدند (FW). سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور گردیدند. بعد از آنکه آب برگ‌ها گرفته شد، وزن آنها (SW) مجدداً ثبت گردید. نمونه‌ها بعد از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون و خشک شدن، برای بار سوم وزن شدند (DW). سپس مقدار نسبی آب برگ از رابطه (۱) محاسبه گردید.

$$RWC = (FW - DW) / (SW - DW) \times 100 \quad (1)$$

### میزان کلروفیل کل

اندازه‌گیری کلروفیل به‌روش Arnon (۱۹۶۷) انجام شد (۷). نیم گرم برگ تازه در نیتروژن مایع خرد کرده، سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ افزوده و سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه، به‌مدت ۱۰ دقیقه) شد. مقدار جذب روشن‌آور در طول موج‌های ۶۴۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل DR2000 ساخت شرکت Hach آمریکا) قرائت گردید. درنهایت با استفاده از روابط ۲ تا ۴ میزان کلروفیل کل برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه به‌دست آمد:

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{645}) \times V/100W \quad (2)$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{645} - 3.6 \times A_{663}) \times V/100W \quad (3)$$

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b} \quad (4)$$

که در آن ها V: حجم روشنآور؛ A663 و A645: جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و W: وزن تر نمونه برحسب گرم بود.

### عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ )

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلوریمتر (مدل Opti-Sciences: OS30p) و براساس روش Genty و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد (۱۷). بدین‌منظور برگ‌ها با استفاده از گیره‌های مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس سنسور دستگاه به گیره متصل، نور در طول موج ۶۹۵ نانومتر به برگ تابیده و عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ ) ثبت گردید.

### میزان نشت یونی

اندازه‌گیری میزان نشت یونی، با استفاده از روش Zhao و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد (۴۳). بدین‌منظور، از برگ‌های تازه ۲ دیسک به قطر یک سانتی‌متر تهیه و در تیوب‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر قرار داده شدند نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون شیکر (۲۴ درجه سلسیوس، ۷۲۸ دور در دقیقه) قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی اولیه ( $I_t$ ) آنها به وسیله دستگاه EC متر دیجیتالی (مدل Metrohm 644) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۱۲۰ درجه سلسیوس) قرار داده شدند و مجدداً به مدت دوساعت شیک شدند و میزان هدایت الکتریکی نهایی آنها ( $I_o$ ) اندازه‌گیری شد و در نهایت درصد نشت یونی ( $II$ ) از رابطه (۲) محاسبه شد.

$$II = I_t / I_o \times 100 \quad (۵)$$

### محتوای پرولین برگ

اندازه‌گیری پرولین برگ به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام گردید (۱۰). براساس این روش ابتدا ۰/۲ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد در هاون ساییده و عصاره حاصل سانتریفیوژ شد (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه). سپس به دو میلی‌لیتر از عصاره، دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سلسیوس) قرار گرفتند و بعد از سرد شدن، به هر نمونه چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. در نهایت جذب عصاره در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و محتوای پرولین (برحسب میکرومول در گرم وزن تر) با توجه به منحنی استاندارد پرولین خالص (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار) محاسبه شد. پودر پرولین مورد استفاده برای تهیه استاندارد، از نوع L-Proline ساخت شرکت مرک آلمان با فرمول شیمیایی  $C_5H_9NO_2$  بوده است. در نهایت مقدار پرولین محلول بر اساس رابطه ۶ و برحسب میلی‌گرم در گرم بافت گیاهی به دست آمد.

$$X = \frac{\left[ \frac{A \times B}{C} \right]}{\frac{D}{5}} \quad (۶)$$

که در آن X مقدار پرولین (میکروگرم در گرم)، A مقدار پرولین به دست آمده از نمودار استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر)، B مقدار تولوئن استفاده شده (میلی‌لیتر)، C عدد ملکولی پرولین و D مقدار نمونه (گرم) است.

### اندازه‌گیری محتوای کربوهیدرات برگ

میزان کربوهیدرات از روش تغییر یافته Chandel و Chauhan (۱۹۹۱) سنجش شد (۱۲). ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به ۰/۰۱ گرم نمونه‌های پودر شده اضافه و سانتریفیوژ (۵ دقیقه، ۲۵۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس فاز رویی با متانول ۸۰ درصد مخلوط و پس از ۳ دقیقه تکان دادن، به مدت ۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ شد. به هر نمونه ۲ میلی‌لیتر سولفات روی ۲ درصد و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید باریوم ۲ درصد اضافه شد، سپس به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده، یک میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک خالص افزوده و بعد از نیم ساعت میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. برای ترسیم منحنی استاندارد از محلول گلوکز (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ پی‌پی‌ام) استفاده شد.

## فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا برگ تازه با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) طبق روش Aeibi (۱۹۸۴) تعیین شد (۲). در این روش میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه ( $H_2O_2$ ) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجش و با استفاده از رابطه ۷ و برحسب میلی گرم در هر گرم پروتئین محاسبه شد (۲).

$$CAT \text{ activity} = \frac{|A_{240}(t_2) - A_{240}(t_1)|}{t_2 - t_1} \times \frac{V_t}{E \times V_s} \quad (7)$$

در رابطه فوق به ترتیب،  $t_1$  و  $t_2$  ابتدا و انتهای بازه زمانی مورد بررسی (برحسب دقیقه)،  $A_{240}(t_1)$  و  $A_{240}(t_2)$  مقادیر جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر (در زمان‌های  $t_1$  و  $t_2$ )،  $V_t$  حجم نهایی محلول واکنش،  $V_s$  حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده و  $E$  ضریب تجزیه  $H_2O_2$  (عدد ثابت ۳۹/۴) می‌باشد.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به روش Beyer و Fridovich انجام شد (۱۱). در این روش اسپکتروفتومتری براساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم (برحسب میلی گرم در هر گرم پروتئین) از رابطه ۸ محاسبه شد.

$$SOD \text{ activity} = \frac{A_{560}(\text{control}) - A_{560}(\text{Sample})}{A_{560}(\text{control})} \times 100 \quad (8)$$

در رابطه فوق،  $A_{560}(\text{control})$  و  $A_{560}(\text{sample})$  به ترتیب مقادیر جذب نور محلول شاهد و نمونه مورد بررسی در طول موج ۵۶۰ نانومتر هستند.

جهت سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) به روش Smith و همکاران (۱۹۸۸) انجام شد (۳۹). براساس این روش تغییرات جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر که بیانگر اکسیداسیون NADPH است، هر ۱۰ ثانیه و به مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد. میزان فعالیت آنزیم (برحسب میلی گرم در هر گرم پروتئین) از رابطه ۹ محاسبه گردید.

$$GR \text{ activity} = \frac{|A_{340}(t_2) - A_{340}(t_1)|}{t_2 - t_1} \times \frac{V_t}{E \times V_s} \quad (9)$$

که در این رابطه  $t_1$  و  $t_2$  ابتدا و انتهای بازه زمانی مورد بررسی (برحسب دقیقه)،  $A_{340}(t_1)$  و  $A_{340}(t_2)$  به ترتیب مقادیر جذب نور در طول موج ۳۴۰ نانومتر (در زمان‌های  $t_1$  و  $t_2$ )،  $V_t$  حجم نهایی محلول واکنش،  $V_s$  حجم عصاره آنزیمی مورد استفاده و  $E$  ضریب تجزیه NADPH (عدد ثابت ۶/۲) می‌باشد.

## واکاوی داده‌ها

پیش از واکاوی داده، در مواردی که داده‌ها نرمال نبودند، نرمال‌سازی با استفاده از نرم‌افزار SPSS صورت گرفت. داده‌های نرمال با استفاده از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.2) تجزیه و توسط همین نرم‌افزار و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، مقایسه میانگین‌ها داده‌ها در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

## نتایج

### صفات رشدی و شدت کلروز برگ

درخصوص شاخص شدت کلروز برگ‌ها براساس نتایج این پژوهش، با وجود اینکه ارقام مختلف در شرایط بدون تنش از نظر شدت کلروز شرایط مشابهی داشتند اما تحت شرایط تنش بی‌کربنات، با افزایش شدت تنش در تمامی ارقام شدت کلروز افزایش نشان داد (جدول ۱ و شکل ۱) اما شدت این افزایش در ارقام مختلف متفاوت بود به‌طوری که رقم جی‌اچ هیل تحت تاثیر تنش با شدت بیشتری تحت تاثیر قرار گرفت (شکل ۱). در بین ارقام مختلف بیشترین درصد کلروز (۸۰/۸۳ درصد) متعلق به رقم جی‌اچ‌هیل در شرایط تنش بی‌کربنات ۱۵ میلی‌مولار و عدم حضور اسید آلی بود درحالی که کمترین میزان کلروز در رقم برزگر در شرایط بدون تیمار بی‌کربنات و بدون حضور اسید آلی (صفر درصد) مشاهده شد (جدول ۱). کاربرد اسیدآلی در شرایط شاهد بدون

تیمار تأثیری بر شدت کلروز در هیچکدام از ارقام نداشت اما تحت شرایط تنش بی‌کربنات کلسیم کاربرد اسیدآلی توانست از شدت کلروز برگ‌ها در تمامی ارقام بکاهد (شکل ۱) به‌طوری که این کاهش کلروز در تیمار بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار نسبت به تیمار بدون اسید آلی برای رقم رد هون ۲۲/۷۵ درصد، رقم جی‌اچ‌هیل ۱۲/۵ درصد و برای رقم برزگر ۲۰/۱۶ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثر اسید آلی بر ویژگی‌های رشدی ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت سطوح مختلف تنش بی‌کربنات کلسیم.  
Table 1. Effect of organic acid on growth traits of different peach cultivars grafted on GF677 rootstock under different levels of calcium bicarbonate stress.

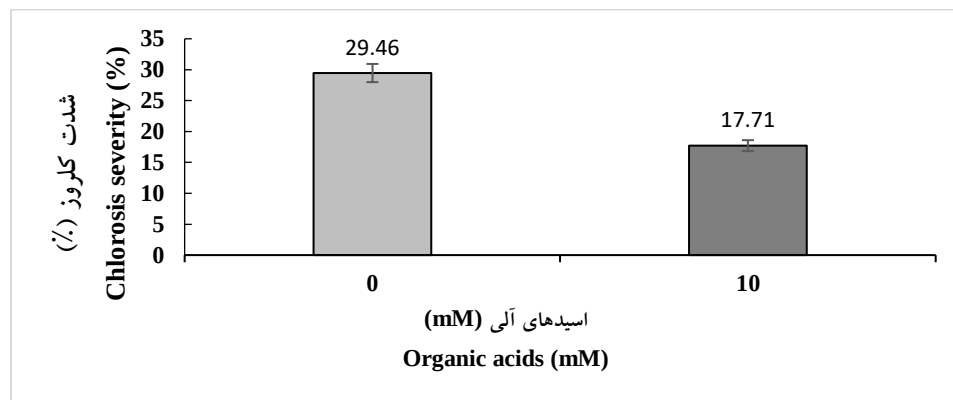
| رقم<br>(Cultivar) | بی‌کربنات<br>کلسیم<br>(mM)<br>Calcium<br>bicarbonate<br>(mM) | اسیدآلی<br>(mM)<br>Organic<br>acid<br>(mM) | ارتفاع گیاه<br>(cm)<br>Plant height<br>(cm) | تعداد برگ<br>Number<br>of<br>leaves | قطر پیوندک<br>(mm)<br>Scion diameter<br>(mm) | شاخص کلروز برگ<br>(درصد)<br>Leaf chlorosis<br>index (%) |
|-------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Red Haven         | .                                                            | .                                          | ۹۰/۸۳ b-d                                   | ۵۱ c-f                              | ۱۱/۷۹ a-d                                    | ۵/۱۶                                                    |
|                   | .                                                            | ۱۰                                         | ۹۷/۰ b-c                                    | ۵۲ c-f                              | ۱۱/۴۴ a-d                                    | .                                                       |
|                   | ۷/۵                                                          | .                                          | ۷۲/۶۶ d-g                                   | ۳۶ e-g                              | ۹/۲ d-e                                      | ۱۶                                                      |
|                   | ۷/۵                                                          | ۱۰                                         | ۹۳/۳۳ b-c                                   | ۵۱ c-f                              | ۱۰/۴۷ b-e                                    | ۱/۱۶                                                    |
|                   | ۱۵                                                           | .                                          | ۶۶/۰ f-g                                    | ۲۸ f-g                              | ۶/۴۸ f-g                                     | ۵۰/۶۶                                                   |
|                   | ۱۵                                                           | ۱۰                                         | ۷۱/۶۶ d-g                                   | ۲۵ f-g                              | ۹/۵۸ c-e                                     | ۲۷/۹۱                                                   |
|                   | .                                                            | .                                          | ۸۷/۱۶ c-e                                   | ۶۰/۳۳ a-e                           | ۱۰/۳۴ b-e                                    | ۱۳/۳۳                                                   |
|                   | .                                                            | ۱۰                                         | ۹۷/۵ b-c                                    | ۶۴/۸۳ a-e                           | ۱۱/۹۸ a-c                                    | ۱۰/۸۳                                                   |
| J.H. Hale         | ۷/۵                                                          | .                                          | ۷۰/۶۶ d-g                                   | ۴۱/۳۳ e-g                           | ۶/۵۵ f-g                                     | ۴۴/۹۱                                                   |
|                   | ۷/۵                                                          | ۱۰                                         | ۸۸/۳۳ c-e                                   | ۴۵/۳۳ d-g                           | ۸/۸ e-f                                      | ۲۷/۰۸                                                   |
|                   | ۱۵                                                           | .                                          | ۶۰ g                                        | ۱۶ g                                | ۶/۰۴ g                                       | ۸۰/۸۳                                                   |
|                   | ۱۵                                                           | ۱۰                                         | ۶۸/۶۶ e-g                                   | ۲۷ f-g                              | ۱۰/۷۸ b-e                                    | ۶۸/۳۳                                                   |
| Barzegar          | .                                                            | .                                          | ۱۲۴/۶۶ a                                    | ۸۱/۶ a-b                            | ۱۲/۸۱ a-b                                    | .                                                       |
|                   | .                                                            | ۱۰                                         | ۱۲۹ a                                       | ۸۷/۶۶ a                             | ۱۳/۷۶ a                                      | .                                                       |
|                   | ۷/۵                                                          | .                                          | ۱۰۸/۸۳ a-b                                  | ۷۲/۶۶ a-d                           | ۱۲/۶۶ a-b                                    | ۱۷/۲۵                                                   |
|                   | ۷/۵                                                          | ۱۰                                         | ۱۲۴/۳۳ a                                    | ۷۵ a-c                              | ۱۱/۷۸ a-d                                    | ۷/۱۶                                                    |
|                   | ۱۵                                                           | .                                          | ۸۳/۱۶ c-f                                   | ۵۱ c-f                              | ۹/۵۱ c-e                                     | ۳۶/۹۱                                                   |
|                   | ۱۵                                                           | ۱۰                                         | ۸۲/۶۶ c-f                                   | ۵۷/۶۶ b-e                           | ۱۰/۲۸ b-e                                    | ۱۶/۷۵                                                   |

در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشابه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

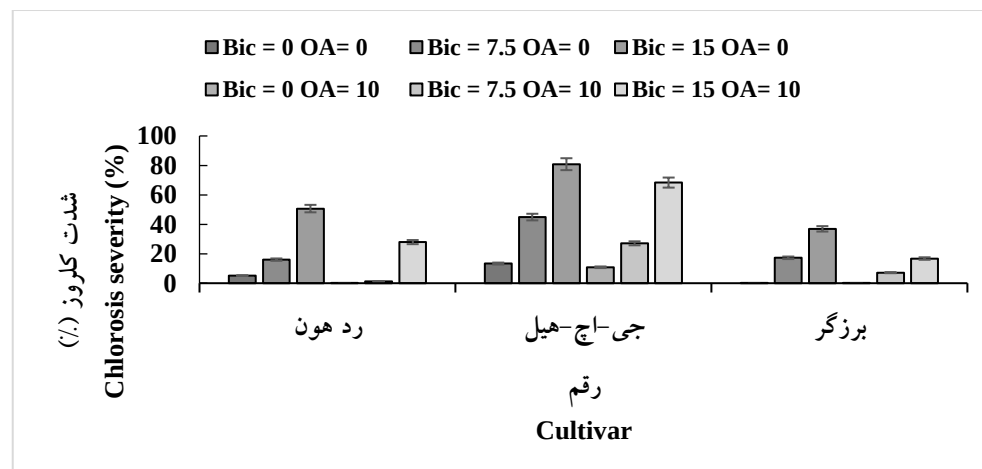
In each column means with the same letters are not significantly different using Duncan multiple range test (DMRT) at  $P \leq (0.05)$ .

بررسی تأثیر اسید آلی بر ویژگی‌های رشدی ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت تنش بی‌کربنات کلسیم نشان داد که صفات ارتفاع گیاه، تعداد برگ و قطر پیوندک در تمامی ارقام مورد مطالعه تحت تأثیر تنش بی‌کربنات و اسید آلی قرار گرفت و این تأثیرات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است. از نظر ارتفاع گیاه، حتی در تیمار شاهد نیز بین ارقام مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت و اعمال تنش بی‌کربنات در تمامی ارقام سبب کاهش معنی‌دار ارتفاع در گیاه گردید به‌طوری که بیشترین ارتفاع گیاه (۱۲۹ سانتی‌متر) در تیمار شاهد و کاربرد ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی در رقم برزگر به‌دست آمد. درحالی‌که در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تنش ۱۵ و ۷/۵ میلی‌مولار بی‌کربنات کلسیم و عدم کاربرد اسید آلی، ارتفاع گیاه به حداقل (۶۰ سانتی‌متر) رسید (جدول ۱).

اعمال تیمار اسید آلی در دو رقم ردهون و جی‌اچ‌هیل در تیمار بی‌کربنات ۷/۵ میلی‌مولار سبب شد که ارتفاع گیاه نسبت به تیمار بدون اسید در سطح بالاتری باقی بماند اما این اختلاف در مورد رقم برزگر معنی‌دار نبود. از نظر صفت تعداد برگ، در تیمار شاهد بدون اعمال تیمار نیز بین ارقام مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت و با اعمال تنش بی‌کربنات کلسیم، تمامی ارقام دچار کاهش برگ معنی‌داری نسبت به شاهد شدند. در بین ارقام و تیمارهای مورد مطالعه، بیشترین تعداد برگ در رقم برزگر بدون تیمار بی‌کربنات و در حضور ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی (میانگین ۸۷/۶۶ عدد) به‌دست آمد و کمترین تعداد برگ (میانگین ۱۶ عدد) در رقم جی‌اچ‌هیل و تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی مشاهده گردید. کاربرد اسید آلی در هیچ‌کدام از ارقام تفاوتی از نظر تعداد برگ ایجاد نکرد. از نظر شاخص قطر پیوندک، با وجود اینکه در تیمار شاهد بین ارقام مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، تمامی ارقام تحت تاثیر تیمار بی‌کربنات کلسیم دچار کاهش قطر پیوندک شدند (جدول ۱). رقم برزگر در تیمار شاهد بین ارقام مورد مطالعه بیشترین قطر پیوندک (۱۳/۷۶ میلی‌متر) را دارا بود. درمقابل، قطر پیوندک در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی، حداقل (۶/۰۴ میلی‌متر) بود (جدول ۱). کاربرد اسید آلی در ارقام ردهون و جی‌اچ‌هیل و در تیمار بی‌کربنات ۱۵ میلی‌مولار توانست قطر پیوندک را به‌طور معناداری در سطح بالاتری حفظ کند اما این اختلاف در رقم برزگر معنی‌دار نبود.



(a)



(b)

Fig. 1. Effect of organic acid (a) and interaction between cultivar\*bicarbonate (b) on chlorosis severity of peach leaves. شکل ۱- اثر اسید آلی (OA: ۰ و ۱۰ میلی‌مولار) و اثر متقابل بی‌کربنات کلسیم (BIC: ۰ و ۷/۵، ۱۵ میلی‌مولار) × رقم بر شاخص شدت کلروز برگ ارقام هلو.

### صفات فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر بی‌کربنات کلسیم و اسید آلی بر خصوصیات فیزیولوژیک ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت سطوح مختلف تنش بی‌کربنات کلسیم نشان داد که با وجود اینکه در تیمار شاهد بدون اعمال تنش ارقام مختلف از نظر کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری نداشتند اما تحت شرایط تنش بی‌کربنات کلسیم و با افزایش شدت تنش در تمامی ارقام به غیر از برزگر میزان کلروفیل کل دچار کاهش معنی‌داری شد. بیشترین میزان کلروفیل کل (۱/۶۹ میلی گرم بر گرم) در رقم برزگر و کمترین میزان آن (۰/۳ میلی گرم بر گرم) در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار ثبت گردید (جدول ۲). افزایش میزان بی‌کربنات کلسیم باعث کاهش مقدار کلروفیل کل در برگ همه ارقام گردید، به‌طوری‌که در ارقام رد هون، جی‌اچ‌هیل و برزگر به‌ترتیب ۶۰/۵، ۷۲/۴ و ۳۰/۷ درصد کاهش نسبت به شاهد مشاهده شد. کاربرد اسید آلی با وجود اینکه سبب افزایش در میزان کلروفیل کل نسبت به تیمار بدون اسید آلی گردید، اما این اختلاف در هیچ‌کدام از ارقام معنی‌دار نبود (جدول ۲). از نظر محتوای نسبی آب برگ در تیمارهای شاهد در ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری وجود ندارد اما میزان این صفت به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تنش بی‌کربنات کلسیم کاهش داشت، به‌طوری‌که بالاترین سطح بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی مولار) به‌ترتیب سبب کاهش معنی‌دار ۲۲/۸۳، ۳۷/۰۵ و ۲۹/۵۱ درصدی در محتوای نسبی آب برگ ارقام رد هون، جی‌اچ‌هیل و برزگر گردید. همچنین کاربرد اسیدهای آلی باعث افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب برگ در کلیه ارقام نسبت به شاهد گردید. در شاخص نشت یونی، با وجود اینکه در تیمار شاهد بین سه رقم مور مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما تیمار بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار سبب افزایش معنی‌دار میزان نشت یونی در تمامی ارقام گردید که بیشترین میزان آن (۸۱/۵۷ درصد) در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار مشاهده شد. تحت شرایط تنش شدید بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی مولار)، رقم برزگر کمترین مقدار نشت یونی (۶۲/۱۱ درصد) را در مقایسه با سایر ارقام نشان داد. در مقابل کاربرد ۱۰ میلی مولار اسید آلی سبب کاهش میزان نشت یونی در تمام ارقام گردید اما این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۲).

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف اسید آلی بر برخی خصوصیات زیست‌شیمیایی ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت سطوح مختلف تنش بی‌کربنات کلسیم به‌خوبی نشان داد که در تیمار شاهد محتوای پرولین در برگ‌های ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری وجود نداشته اما بعد از مواجهه با تنش بی‌کربنات کلسیم، محتوای پرولین برگ در تمامی ارقام به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تحت شرایط تنش، برگ‌های رقم برزگر بیشترین میزان پرولین (۱۷/۱۹ میکروگرم بر گرم) را دارا بود. کاربرد مقدار ۱۰ میلی مولار اسید آلی سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین در برخی ترکیب‌های پیوندی نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). همان‌طور که شکل ۲ در ارتباط با اثر رقم، کربنات کلسیم و اسید آلی بر عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ ) برگ نهال هلو نشان می‌دهند، تنش بی‌کربنات، نوع رقم و کاربرد اسید آلی، تاثیر معنی‌داری بر میزان عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی داشتند. به‌طوری‌که در شاهد (عدم تنش بی‌کربنات) میزان صفت مذکور حداکثر و در تنش ۱۵ میلی مولار بی‌کربنات حداقل بود. همچنین بیشترین میزان عملکرد کوانتومی به‌ترتیب در ارقام برزگر، ردهون و جی‌اچ‌هیل مشاهده گردید. کاربرد اسید آلی نیز نسبت به عدم کاربرد آن سبب افزایش معنی‌دار میزان  $F_v/F_m$  گردید.



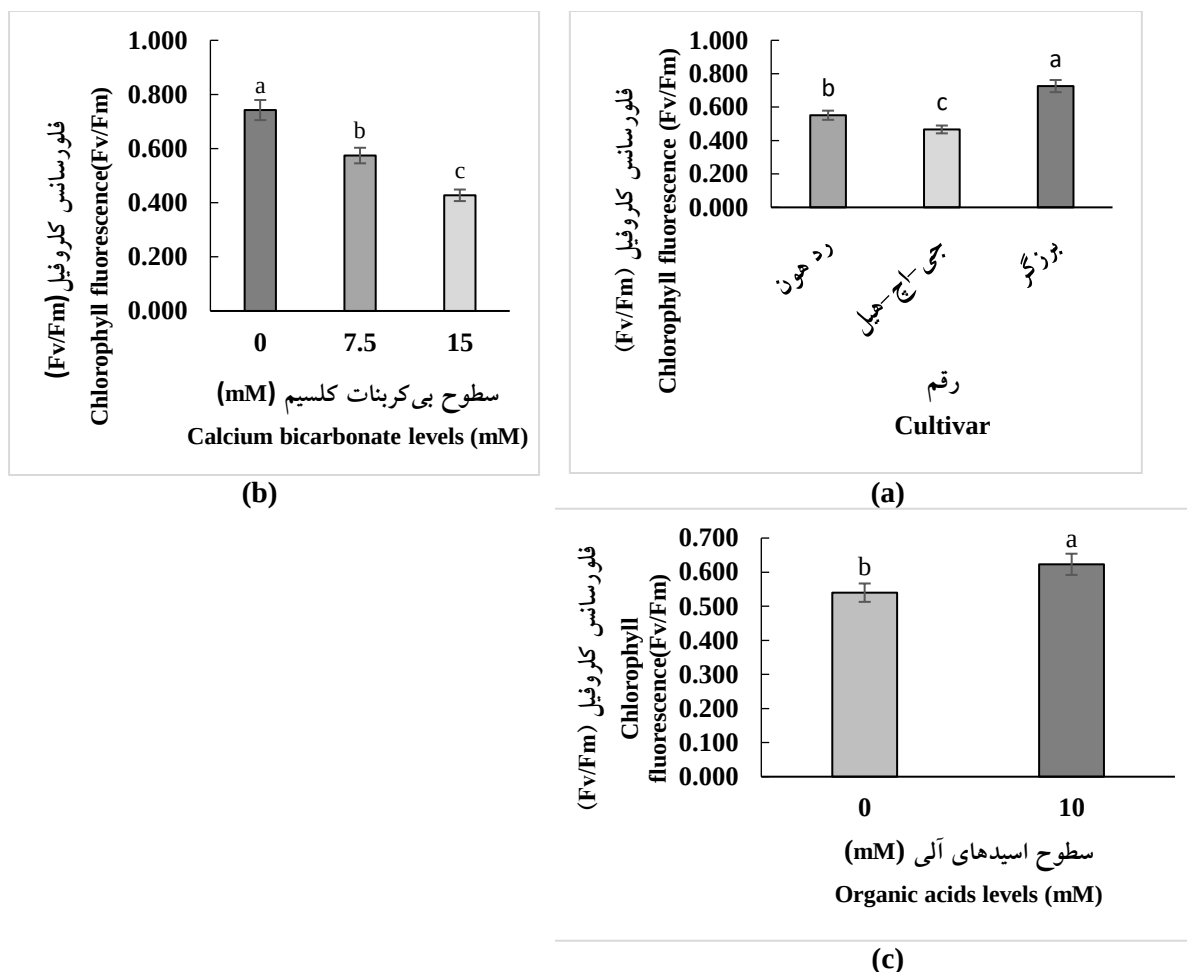
جدول ۲- اثر اسید آلی بر برخی صفات فیزیولوژیک ارقام هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت تنش بی‌کربنات کلسیم.

Table 2. Effect of organic acid on some physiological traits of different peach cultivars grafted on GF677 rootstock under different levels of calcium bicarbonate stress.

| رقم<br>(Cultivar) | بی‌کربنات کلسیم<br>(mM)<br>Calcium<br>bicarbonate<br>(mM) | اسید آلی (mM)<br>Organic acid<br>(mM) | کلروفیل کل (mg/g)<br>(FW)<br>Total<br>Chlorophyll<br>(mg/g FW) | محتوی آب<br>نسبی برگ<br>(%)<br>R.W.C<br>(%) | نشت یونی (%)<br>Ion Leakage<br>(%) |
|-------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------|
| Red<br>Haven      | .                                                         | .                                     | ۱/۳۷ a-c                                                       | ۷۷/۹۸ a-d                                   | ۴۳/۹۷ f-h                          |
|                   | .                                                         | ۱۰                                    | ۱/۵۵ ab                                                        | ۸۵/۹۲ a                                     | ۳۸/۵۱ g-i                          |
|                   | ۷/۵                                                       | .                                     | ۰/۸۵ c-f                                                       | ۶۷/۶۵ c-f                                   | ۵۷/۲۲ c-e                          |
|                   | ۱۵                                                        | ۱۰                                    | ۱/۲۷ a-d                                                       | ۷۲/۳۵ b-e                                   | ۵۰/۸۱ d-g                          |
|                   | .                                                         | .                                     | ۰/۵۴ e-f                                                       | ۵۵/۱۵ f-h                                   | ۷۱/۹۸ ab                           |
|                   | ۱۰                                                        | ۱۰                                    | ۰/۷ d-f                                                        | ۵۵/۸۷ f-g                                   | ۶۴/۳۶ b-c                          |
| J.H. Hale         | .                                                         | .                                     | ۱/۰۹ a-e                                                       | ۷۹/۸۱ a-c                                   | ۴۲/۶۶ f-i                          |
|                   | .                                                         | ۱۰                                    | ۱/۲۳ a-d                                                       | ۸۴/۴۱ a-b                                   | ۴۱/۱۲ f-i                          |
|                   | ۷/۵                                                       | .                                     | ۰/۷۸ c-f                                                       | ۵۷/۰۸ f-g                                   | ۶۱/۷۸ b-d                          |
|                   | ۱۵                                                        | ۱۰                                    | ۱/۰۳ b-e                                                       | ۶۶/۲۴ d-f                                   | ۵۳/۶ c-f                           |
|                   | .                                                         | .                                     | ۰/۳ f                                                          | ۴۲/۷۶ h                                     | ۸۱/۵۷ a                            |
|                   | ۱۰                                                        | ۱۰                                    | ۰/۶۸ d-f                                                       | ۵۸/۷۷ f-g                                   | ۷۰/۵۴ ab                           |
| Barzegar          | .                                                         | .                                     | ۱/۶۹ a                                                         | ۸۱/۹۰ a-b                                   | ۳۴/۲ hi                            |
|                   | .                                                         | ۱۰                                    | ۱/۶۷ a                                                         | ۸۲/۹۸ a-b                                   | ۳۰/۰۲ i                            |
|                   | ۷/۵                                                       | .                                     | ۱/۵ ab                                                         | ۶۷/۵۳ c-f                                   | ۴۷/۲۳ e-g                          |
|                   | ۱۵                                                        | ۱۰                                    | ۱/۶ ab                                                         | ۷۳/۱۲ b-e                                   | ۳۸/۷۵ g-i                          |
|                   | .                                                         | .                                     | ۱/۱۷ a-d                                                       | ۵۲/۳۹ g-h                                   | ۶۲/۱۱ b-d                          |
|                   | ۱۰                                                        | ۱۰                                    | ۱/۴ a-c                                                        | ۶۲/۵۲ e-g                                   | ۵۰/۲۳ d-g                          |

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each column means with the same letters are not significantly different using Duncan multiple range test (DMRT) at  $P \leq (0.05)$ .



شکل ۲- اثر رقم (a)، بی‌کربنات کلسیم (b) و اسید آلی (c) بر عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی برگ نهال هلو.

Fig. 2. Effect of cultivar (a), calcium bicarbonate (b) and organic acid (c) on photochemical quantum yield of peach leaf.

در بررسی میزان کربوهیدرات محلول در برگ ارقام مختلف مشخص گردید ارقام مختلف در شرایط شاهد بدون تیمار اختلافی از نظر محتوای کربوهیدرات برگ نداشتند اما تحت شرایط تنش محتوای کربوهیدرات برگ در تمامی ارقام ابتدا در سطح تنش بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار غلظت کربوهیدرات افزایش یافت اما در سطح تنش ۱۵ میلی‌مولار مجدداً محتوای کربوهیدرات برگ‌ها کاهش معناداری نسبت به شاهد نشان داد. بیشترین میزان کربوهیدرات در بین ارقام مختلف در برگ‌های رقم برزگر (۲/۷۷ میکروگرم بر گرم وزن تر) تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار ثبت گردید. کاربرد اسیدهای آلی در گیاهان تیمار شده با بی‌کربنات کلسیم در هیچ‌کدام از ارقام تفاوت معناداری از نظر محتوای کربوهیدرات برگ ایجاد نکرد (جدول ۳).

بررسی محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برگ ارقام مختلف نشان داد در تیمار شاهد بین ارقام مختلف از نظر محتوای آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز تفاوت معناداری وجود نداشت. کاربرد مقادیر ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات کلسیم سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز در هر سه رقم گردید. بیشترین میزان فعالیت کاتالاز (۱۷۲/۲۱ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در رقم برزگر مواجه شده با بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار و اسید آلی ۱۰ میلی‌مولار، مشاهده شد (جدول ۳). همچنین بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱۶۷۵۵/۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) به رقم برزگر تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار و در حضور اسید آلی تعلق داشت (شکل ۶).

میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در رقم بزرگر حداکثر (۱/۷۲۵ واحد در میلی گرم پروتئین) و در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تیمار بدون بی‌کربنات کلسیم و بدون اسید آلی حداقل (۰/۳۱۸ واحد بر میلی گرم پروتئین) بود. تحت شرایط تنش کاربرد اسید آلی توانست در خصوص آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز نسبت به شاهد بدون کاربرد اسید اختلاف معنی‌داری ایجاد نماید (جدول ۳).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف اسید آلی بر برخی خصوصیات زیست‌شیمیایی ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ تحت سطوح مختلف تنش بی‌کربنات کلسیم.

Table 3. Effect of different levels of organic acid on some biochemical traits of different peach cultivars grafted on GF677 rootstock under different levels of calcium bicarbonate stress.

| فعالیت آنزیم (واحد در میلی گرم پروتئین)<br>Enzyme activity (unit per mg of protein) |             |            | فلورسانس                                                                                        |                                                             | بی‌کربنات                                                                         |                                          | رقم<br>Cultivar                                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| GP                                                                                  | SOD         | CAT        | کربوهیدرات<br>محلول<br>( $\mu\text{g/g FW}$ )<br>Soluble<br>Carbohydr<br>( $\mu\text{g/g FW}$ ) | کلروفیل<br>(Fv/Fm)<br>Chlorophyll<br>Phloresence<br>(Fv/Fm) | پرولین برگ<br>( $\mu\text{g/g FW}$ )<br>Leaf<br>proline<br>( $\mu\text{g/g FW}$ ) | اسید آلی<br>(mM)<br>Organic acid<br>(mM) | کلسیم<br>(mM)<br>Calcium<br>bicarbonate<br>(mM) |
| ۰/۳۶۶ ij                                                                            | ۵۰۴۹/۲ h    | ۴۷/۵۶ jk   | ۱/۴۴ c-e                                                                                        | ۰/۷۳ a-c                                                    | ۱۰/۶۳ ef                                                                          | ۰                                        | ۰                                               |
| ۰/۳۴۹ j                                                                             | ۵۲۹۲/۰ gh   | ۵۱/۶۲ i-k  | ۱/۴۷ c-e                                                                                        | ۰/۷۲ bc                                                     | ۹/۸ ef                                                                            | ۱۰                                       | ۰                                               |
| ۰/۵۸۱ g-j                                                                           | ۸۴۱۵ e-h    | ۶۴/۹۵ g-j  | ۱/۹۹ a-d                                                                                        | ۰/۴۲ e-g                                                    | ۱۴/۶۳ c-e                                                                         | ۰                                        | ۷/۵                                             |
| ۰/۸۰۵ e-g                                                                           | ۱۰۸۸۵/۱ c-e | ۸۳/۰۷ d-g  | ۲/۶۵ ab                                                                                         | ۰/۶۳ cd                                                     | ۱۹/۴۷ a-c                                                                         | ۱۰                                       | ۱۵                                              |
| ۱/۱۲۶ cd                                                                            | ۹۸۳۱/۵ d-f  | ۱۰۱/۹۸۴ cd | ۰/۷۸ ef                                                                                         | ۰/۳ g                                                       | ۱۵/۵۷ c-e                                                                         | ۰                                        | ۱۵                                              |
| ۱/۲۴۳ bc                                                                            | ۱۱۵۵۲/۸ b-e | ۱۳۲/۸۲ b   | ۱/۲۵ d-f                                                                                        | ۰/۴۸ d-f                                                    | ۲۴/۳ a                                                                            | ۱۰                                       | ۱۵                                              |
| ۰/۳۱۸ j                                                                             | ۵۶۶۵/۵ gh   | ۴۱/۴ k     | ۱/۶۹ cd                                                                                         | ۰/۶ cd                                                      | ۸/۴۷ f                                                                            | ۰                                        | ۰                                               |
| ۰/۳۳۱ j                                                                             | ۵۶۵۴/۲ gh   | ۴۶/۴۶ jk   | ۱/۷۵ cd                                                                                         | ۰/۶۱ cd                                                     | ۷/۶۳ f                                                                            | ۱۰                                       | ۰                                               |
| ۰/۴۳۴ h-j                                                                           | ۷۰۴۲/۵ f-h  | ۷۶/۳۱ e-h  | ۱/۸۲ b-d                                                                                        | ۰/۴ e-g                                                     | ۱۰/۳ ef                                                                           | ۰                                        | ۷/۵                                             |
| ۰/۶۵۴ f-i                                                                           | ۹۷۰۹ d-f    | ۶۰/۹۱ g-k  | ۲/۰۵ a-d                                                                                        | ۰/۵۲ d-f                                                    | ۱۷/۹۶ bc                                                                          | ۱۰                                       | ۱۵                                              |
| ۰/۹۳۸ d-f                                                                           | ۱۳۶۱۷/۸ a-c | ۹۳/۷۸ c-f  | ۰/۴ f                                                                                           | ۰/۲۷ g                                                      | ۱۱/۴۷ d-f                                                                         | ۰                                        | ۱۵                                              |
| ۱/۰۲۸ c-e                                                                           | ۱۴۸۵۲/۶ ab  | ۱۰۷/۴۸ c   | ۰/۷ ef                                                                                          | ۰/۳۶ fg                                                     | ۱۷/۳ b-d                                                                          | ۱۰                                       | ۱۵                                              |
| ۰/۳۳۷ j                                                                             | ۵۶۹۳/۸ gh   | ۴۸/۲۳ jk   | ۱/۷۲ cd                                                                                         | ۰/۸۶ ab                                                     | ۷/۹۷ f                                                                            | ۰                                        | ۰                                               |
| ۰/۳۶۸ ij                                                                            | ۵۳۷۵/۸ gh   | ۵۸/۵۹ h-k  | ۱/۷۸ cd                                                                                         | ۰/۸۹ a                                                      | ۷/۳ f                                                                             | ۱۰                                       | ۰                                               |
| ۰/۵۷۵ g-j                                                                           | ۸۶۷۲/۵ e-g  | ۷۲/۸۱ f-i  | ۲/۱۵۲ a-c                                                                                       | ۰/۷ c                                                       | ۱۱/۴۶ d-f                                                                         | ۰                                        | ۷/۵                                             |
| ۰/۷۰۳ f-h                                                                           | ۱۰۵۱۸/۹ c-f | ۹۷/۸۲ c-e  | ۲/۷۷ a                                                                                          | ۰/۷۵ a-c                                                    | ۱۴/۴۶ c-e                                                                         | ۱۰                                       | ۱۵                                              |
| ۱/۴۷۶ ab                                                                            | ۱۲۳۱۰/۴ b-d | ۱۴۷/۴۴ b   | ۱/۲۴ d-f                                                                                        | ۰/۵۳ de                                                     | ۱۷/۱۹ b-d                                                                         | ۰                                        | ۱۵                                              |
| ۱/۷۲۵ a                                                                             | ۱۶۷۵۵/۹ a   | ۱۷۲/۲۱ a   | ۱/۷۲ cd                                                                                         | ۰/۶ cd                                                      | ۲۲/۶۳ ab                                                                          | ۱۰                                       | ۱۵                                              |

- در هر ستون میانگین‌های دارای حرف‌های مشابه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

In each column means with the same letters are not significantly different using Duncan multiple range test (DMRT) at  $P \leq (0.05)$ .

## بحث

قلیائی بودن آب مصرفی محصولات کشاورزی، تاثیر زیان‌آوری بر تغذیه و رشد رویشی گیاهان دارد (۱۸). شرایط قلیایی مانند سایر تنش‌ها شاخص‌های فتوسنتزی را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد و باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. قلیایی بودن خاک سبب شوری، تجمع املاح، جلوگیری از جذب آب کافی توسط ریشه، جلوگیری از جذب عناصر غذایی خصوصا عناصر کم‌مصرف و در نتیجه بروز علائم کمبود آنها، کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصولات می‌شود (۳۸). افزودن اسید به آب، مدیریت آب‌ها با تغییر میزان آبیاری و درجه قلیایی، استفاده از گونه‌های مقاوم و ارقام مناسب بعضی از روش‌های مدیریتی هستند که می‌توان برای کاهش اثرهای منفی ناشی از قلیائی بکار برد (۸). زمانی که عمل پیوند انجام می‌گیرد، سیستم آوندی گیاهان، اعم از آوند چوب و آبکش در تماس با هم قرار می‌گیرند، مولکول‌های قابل انتقال در فواصل طولانی بین پایه و پیوندک انتقال یافته و نقش پیام‌رسان‌های فیزیولوژیکی را ایفا می‌کنند. در پاسخ به تنش‌های محیطی، ترکیب‌هایی نظیر هورمون‌ها، پروتئین‌ها، پپتیدهای کوچک یا mRNA ها در پایه و پیوندک واکنش‌هایی مانند فعال شدن فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی برای مقابله با تنش اکسیداتیو را تحریک می‌کنند (۲۲). در بررسی تاثیر تنش‌های غیرزیستی بر ترکیب‌های مختلف پایه-پیوند در مرکبات عنوان شده تحمل گیاهان پیوندی به تنش تحت تاثیر فرآیندهای آناتومیک، فیزیولوژیکی، آگرونومیک و بیان ژن‌های دخیل در مقاومت به تنش‌های غیرزنده است و پاسخ گیاهان پیوند شده علاوه بر نوع پایه، به نوع پیوندک و همچنین تاثیرات متقابل پایه و پیوندک بستگی دارد (۹). هرچند پایه از طریق تاثیر بر بیان ژن‌ها در رقم پیوند شده، سبب القای مقاومت به خشکی می‌شود، اما متابولیسم متابولیت‌های ثانویه اصلی دخیل در تحمل به تنش خشکی عمدتا تحت کنترل رقم قرار می‌گیرد تا پایه (۲۳). برخی ترکیب‌های پایه و پیوندک بر ویژگی‌های رشدی گیاه، جذب و انتقال عناصر معدنی، تجمع قندها و حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II تاثیرگذار هستند. در واقع انتخاب ترکیب مناسب پایه و پیوندک می‌تواند سبب بهبود تحمل گیاه به تنش قلیائی ناشی از بی‌کربنات سدیم گردد (۲۶).

براساس نتایج حاصل از این پژوهش، صفات مورفولوژیک از جمله ارتفاع گیاه، تعداد برگ، تعداد شاخه و قطر پیوندک به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر نوع رقم و کاربرد اسید آلی قرار گرفتند. کاربرد اسید آلی سبب تعدیل اثر تنش بی‌کربنات کلسیم و در نتیجه بهبود صفات رشدی گیاه گردید. به‌طور کلی ارتفاع گیاه در رقم جی‌اچ‌هیل تحت تنش غلظت‌های مختلف بی‌کربنات کلسیم و عدم کاربرد اسید آلی، نسبت به ارتفاع گیاه در دو رقم دیگر (برزگر و ردهون) در شرایط تنش بی‌کربنات و کاربرد اسید آلی، به‌طور معنی‌داری کمتر بود. اغلب تأثیرات قلیایی بر رشد گیاه از طریق کاهش در قابلیت حل عناصر با افزایش pH که به‌علت یون بی‌کربنات است ایجاد می‌شود (۴). رشد کاهش یافته شاخساره، به‌میزان فتوسنتز کمتر در نتیجه زردی تحریک شده به‌وسیله بی‌کربنات در برگ‌ها مربوط می‌شود (۸). کاهش سریع مشاهده شده در رشد شاخساره حتی در غلظت‌های پایین بی‌کربنات ممکن است به یک سیگنال رسیده از ریشه مانند هورمون نیز وابسته باشد (۴). pH قلیایی با غلظت بالای بی‌کربنات می‌تواند از طریق خسارت به دیواره یاخته‌ای سبب تضعیف باندهای هیدروژنی در سلولز و در نتیجه سبب عدم توسعه یاخته و کاهش رشد گردد. همچنین pH بالای آپوپلاست می‌تواند موجب کاهش خاصیت ارتجاعی دیواره یاخته و در نتیجه محدود کننده توسعه و رشد یاخته گردد (۳۳). در پژوهش حاضر، تعداد برگ نیز به‌طور معنی‌داری تحت‌تاثیر رقم و تنش بی‌کربنات قرار گرفت به‌طوری‌که رقم برزگر بدون تنش بی‌کربنات و کاربرد ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی بیشترین تعداد برگ (میانگین ۸۷/۶۶ عدد) را در ارقام مورد مطالعه دارا بود و کمترین تعداد برگ (۱۶ عدد) نیز در رقم جی‌اچ‌هیل و تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی (جدول ۲) مشاهده گردید. کاهش ارتفاع ساقه، تعداد و سطح برگ و قطر ساقه سبب تحت‌تاثیر بی‌کربنات کلسیم گزارش شده است (۳۵). در پژوهش دیگری شاخص‌های رشد ۱۰ رقم بادام روی پایه GN15 تحت‌تاثیر تنش بی‌کربنات کلسیم قرار گرفت، به‌طوری‌که تنش بی‌کربنات موجب کاهش ۶۰ درصدی ارتفاع نهال رقم سهند شد (۱۹). بررسی نتایج ما نیز نشان داد که بی‌کربنات کلسیم سبب کاهش ارتفاع نهال‌های ارقام مختلف هلو شد. رقم برزگر بیشترین قطر پیوندک (۱۳/۷۶ میلی‌متر) را دارا بود اما به‌طور کلی تنش بی‌کربنات سبب کاهش قطر پیوندک و کاربرد اسید آلی سبب بهبود این تنش و بهبود قطر پیوندک‌ها گردید. تنش بی‌کربنات کلسیم سبب کاهش معنی‌دار میزان صفات ذکر شده نسبت به شاهد گردید. به‌عبارت دیگر، با اعمال تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات کلسیم، صفات مورفولوژیک نسبت به

شاهد (غلظت صفر) کاهش معنی‌داری را در طول دوره آزمایش نشان دادند و در پایان آزمایش، حداقل میزان صفات ذکر شده در گیاهان تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات مشاهده شد. بی‌کربنات با غیرفعال کردن و کاهش جذب آهن به‌طور مستقیم سبب کاهش فتوسنتز و تولید انرژی لازم برای رشد می‌شود و همچنین به‌طور غیرمستقیم موجب کاهش بیان ژن‌های دخیل در رشد، تقسیم یاخته‌ای و در نتیجه کاهش رشد گیاهی و شاخص‌های رشدی می‌شود (۴). همچنین بی‌کربنات از طریق افزایش pH شیره یاخته‌ای در درون آوند سبب رسوب و غیرفعال شدن برخی عناصر ضروری مانند روی می‌شود که در سنتز اکسین به‌عنوان یک هورمون کلیدی در تولید شدن یاخته نقش دارد (۴ و ۱۹). کلروز آهن ناشی از آهک در درختان میوه به‌ویژه مرکبات، هلو، گلابی و سیب منجر به کاهش محصول، دیررس شدن میوه و کاهش کیفیت آن می‌شود (۳۰). گیاهان مقاوم به کمبود آهن از طریق افزایش ترشح پروتون (استراتژی I) یا ترشح فیتوسیدروفورها (استراتژی II) با این مشکل مقابله می‌کنند (۶).

براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، کاربرد اسید آلی سبب تعدیل اثر تنش و در نتیجه بهبود صفات رشدی و مورفولوژیک شامل ارتفاع نهال، تعداد برگ و قطر پیوندک و شدت کلروزه شدن برگ در طی دوره آزمایش گردید. به‌عبارت دیگر با اعمال غلظت ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی، میزان افزایش صفات مورفولوژیک نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. از دلایل آن می‌توان به حضور یون‌های بی‌کربنات در محیط ریشه اشاره نمود که احتمالاً به‌دلیل افزایش اسیدیته آپوپلاست موجب به دام افتادن مقدار زیادی از آهن در آپوپلاست یاخته‌های ریشه می‌شود و انتقال آهن به سمت یاخته‌های آوندی ریشه را محدود می‌کند. در نتیجه گیاهان دچار کلروز برگ می‌شوند، گرچه اغلب آهن فراوانی در ریشه‌های خود دارند ولی طبق نظر Mengel (۲۵) کلروز در آنها ممکن است مربوط به عدم تحرک کافی آهن در ریشه و انتقال آن به اندام هوایی باشد. بنابراین براساس گزارش شریفی اصل و همکاران (۳۸) اسیدی کردن آب آبیاری و یا محیط کشت و خنثی کردن درجه قلیائی خاک، باعث افزایش حلالیت آهن، منگنز، روی، مس و آلومینیوم شده و در نتیجه موجب افزایش جذب آهن می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش به‌خوبی نشان داد که کاربرد ترکیب اسیدهای آلی سبب کاهش معنی‌دار میزان کلروز برگ گردید. کلروز برگ ناشی از کمبود آهن، به کاهش کلروفیل مربوط است که منجر به افت بازده فتوسنتز و زنجیره انتقال الکترون می‌شود. این عمل کربن سازی را به‌شدت کاهش می‌دهد. در نهایت این شرایط موجب کاهش رشد و از بین رفتن برگ‌ها می‌شود. همچنین نژادگان‌های کارآمد از نظر تحمل به کلروز کمبود آهن، سازوکارهای مختلفی از جمله احیای آنزیمی آهن فریک، اسیدی کردن آپوپلاست ریشه و آزادسازی ترکیب‌های کلات‌کننده آهن توسط ریشه با افزایش فعالیت آنزیم‌های فریک کلات ردوکتاز، ATPase و فسفونول پیروات کربوکسیلاز را به‌کار می‌گیرند. از سویی دیگر قلیائیت بالای ناشی از بی‌کربنات موجب کاهش انحلال و جابجایی آهن در محلول خاک شده و در نهایت منجر به کاهش مقدار کلروفیل برگ می‌شود (۲۰). بی‌کربنات به‌عنوان یون اصلی افزایش دهنده pH به‌طور زیان‌آوری باعث کاهش مصرف نیتروژن و رشد گیاه می‌شود (۴). در پژوهش حاضر، کمترین میزان کلروفیل در دو رقم ردهون و جی‌اچ‌هیل تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی (به‌ترتیب ۰/۵۴ و ۰/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده گردید. به‌عبارت دیگر دو رقم مذکور نسبت به رقم برزگر به تنش بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی برای تعدیل این تنش حساس‌تر بودند. کمبود آهن اغلب در ساختار و عملکرد کلروپلاست موثر است. بنابراین در صورت کمبود، کاهش غلظت آهن برگ با کاهش چشمگیر کلروفیل همراه است (۲۰). کاهش کلروفیل در شرایط کمبود آهن به‌دلیل تاثیر آهن در سنتز دلتا آمینو لوونیک اسید و پروتو کلروفیلد پیش ماده‌ی ضروری سنتز کلروفیل است (۲۱). بروز کلروز آهن نتیجه کمبود آهن دو ظرفیتی است که برای سنتز کلروفیل ضروری است و مقدار کلروفیل معیار قابل اعتمادی برای سنجش درجه کلروز و آهن فعال در گیاهان است (۲۴). محتوای نسبی آب برگ نیز تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی حداقل بود. در بین سه رقم مورد مطالعه، بیشترین میزان نشت یونی در رقم جی‌اچ‌هیل ۸۱/۵۷ درصد) تحت تنش ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات و عدم کاربرد اسید آلی) به‌دست آمد. گزارش شده است که تحت تاثیر تنش شوری گیاهان جو دچار کاهش محتوای نسبی آب برگ شده اند در حالی که تیمار آنها با سالیسیلیک اسید توانسته تحت تنش شوری محتوای نسبی آب برگ آنها را در سطح بالاتری حفظ نماید (۱۵).

گیاهان با روش های گوناگونی در برابر تنش های محیطی مقاومت می کنند و تجمع پرولین و قندهای محلول به منزله پاسخ عمومی گیاهان تحت تنش شوری و قلیایی است که در حفظ پتانسیل آب درون یاخته به منظور حفظ تورگر و جذب آب برای رشد به گیاه کمک می کنند (۴). از مهم ترین شاخص های تغذیه آهن در گیاهان، بررسی مقدار آهن فعال و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز است. در شرایط کمبود آهن، فعالیت آسکوربات پراکسیداز کاهش می یابد، زیرا آهن برای بیان ژن های تولیدکننده این آنزیم ضروری است. کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز حاوی عنصر آهن هستند و فعالیت آنها تحت تاثیر کمبود آهن قرار می گیرند. این آنزیم ها دارای پورفیرین هستند و عامل ویژه ای در متابولیسم گیاه به شمار می روند (۱۳). از آنجایی که آهن یکی از اجزای زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست می باشد، کمبود آهن می تواند سبب عدم تعادل در ردوکس یاخته ای گردد. آنزیم های آنتی اکسیدانی به عنوان خنثی کننده های گونه های اکسیژن فعال (ROS) عمل کرده و گیاه را در مقابل تنش ناشی از کمبود آهن محافظت می کند و باعث حفظ هموستازی ردوکس یاخته ای و بهبود دسترسی گیاه به آهن داخلی می گردد (۳۱). در مراحل اولیه تنش، سیستم های آنتی اکسیدانی، به خوبی می توانند سبب کاهش اثرهای منفی و پاسخ های فیزیولوژیکی کمبود آهن گیاه شوند، اما با شرایط تنش طولانی مدت کمبود آهن، نیاز بیشتری به مکانیسم های خنثی کننده رادیکال های آزاد نظیر آنزیم های آنتی اکسیدان بوده است. پیشنهاد شده است که افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی تحت شرایط تنش بی کربنات ها به دو مکانیسم مرتبط بوده است؛ اول سنتز مجدد آنزیم ها بیش از سایر پروتئین ها در عدم وجود آهن خارج یاخته ای و دوم در سطح رونویسی افزایش بیان ژن ها به منظور افزایش چند برابری فعالیت آنزیم ها بوده است (۲۷). در پژوهش حاضر سطح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز در شرایط تنش طولانی مدت بی کربنات کلسیم افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز در پاسخ به کمبود آهن در سیب (۳۹) و گلابی و به (۱۴) نیز گزارش شده است.

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تنش بی کربنات کلسیم میزان صفات زیست شیمیایی (میزان پرولین، پروتئین کل و فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و میزان کربوهیدرات) را تحت تاثیر قرار داد. به طوری که با اعمال تنش بی کربنات، میزان پرولین و آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و میزان کربوهیدرات نسبت به شاهد افزایش یافت. به عبارت دیگر، افزایش در صفات ذکر شده در شرایط تنش سبب افزایش مقاومت گیاه گردید. به طوری که در دو رقم برزگر و ردهون تحت تنش ۱۵ میلی مولار بی کربنات و کاربرد اسید آلی، میزان پرولین برگ به طور معنی داری افزایش یافت (به ترتیب ۵/۷۳ و ۴/۹۴ میکروگرم در گرم). همچنین تحت شرایط تنش بی کربنات میزان پرولین و سایر ترکیب های زیست شیمیایی افزایش یافت. کاربرد اسید آلی منجر به افزایش پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و در نهایت سبب تعدیل اثر تنش بی کربنات شده است. افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و صفات زیست شیمیایی در رقم برزگر از یک طرف و افزایش ویژگی های رشدی این رقم از طرف دیگر بیانگر این است که این رقم در شرایط تنش بی کربنات کلسیم بیشتر با کاربرد اسید آلی، مقاومت بیشتری داشته است. افزایش غلظت پرولین در برگ های توت فرنگی و شاه توت تحت تاثیر تنش قلیائی نشان دهنده تجمع مواد محلول سازگار مثل قندهای محلول و پرولین در شرایط تنش سبب محافظت غشاهای یاخته در برابر غلظت بالای یون های معدنی و انواع اکسیژن واکنشگر شده است (۴).

یکی از پارامترهای مهم در سنجش تنش ها، آزمون کلروفیل فلورسانس (نسبت  $F_v/F_m$ ) است. از نسبت  $F_v/F_m$  به عنوان بیشترین کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی اشاره می شود (۴۰). نتایج این پژوهش در ارتباط با اثر رقم، بی کربنات کلسیم و اسید آلی بر عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ ) برگ نهال هلو نشان داد که تنش بی کربنات، نوع رقم و کاربرد اسید آلی، تاثیر معنی داری بر میزان عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی داشتند. به طوری که کاربرد اسید آلی سبب افزایش معنی دار میزان  $F_v/F_m$  گردید. در شرایط عدم تنش بی کربنات، میزان عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی حداکثر (۰/۷۴۲) و در تنش ۱۵ میلی مولار بی کربنات حداقل (۰/۴۲۷) بود (شکل ۲). در بین ارقام مورد مطالعه، بیشترین میزان عملکرد کوانتومی به ترتیب در ارقام برزگر، ردهون و جی اچ هیل (به ترتیب ۰/۷۲، ۰/۴۶ و ۰/۵۵) مشاهده شد (شکل ۲). از دلایل این کاهش نسبت  $F_v/F_m$  در شرایط تنش

قلیائیت می‌تواند به تأثیر مخرب pH زیاد بر دستگاه فتوسنتزی، پذیرنده‌های الکترون و کاهش کارایی فلورسانس، تضعیف فعالیت فتوسیستم II و کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی نسبت داد (۴۰).

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی و با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش مشخص گردید که ارقام مختلف هلو روی پایه جی‌اف ۶۷۷ پاسخ متفاوتی به تنش ناشی از بی‌کربنات کلسیم داشتند. به‌طوری‌که رقم برزگر مقاوم‌ترین رقم به کلروز ناشی از بی‌کربنات کلسیم بود که در پایان آزمایش علاوه بر رشد رویشی بهتر در شرایط تنش بی‌کربنات، نسبت به دو رقم جی‌اچ‌هیل و ردهون علائم کلروز ناشی از کمبود آهن کمتری (شدت کلروز ۴۳/۹ درصد کمتر نسبت به جی‌اچ‌هیل) نشان دادند. درمقابل رقم جی‌اچ‌هیل حساس‌ترین رقم به تنش بی‌کربنات کلسیم بود. همچنین مشخص گردید که کاربرد ترکیب اسیدهای آلی به مقدار ۱۰ میلی‌مولار درمقایسه با شاهد از طریق بهبود محتوای آب نسبی برگ، محتوای کلروفیل برگ و کارایی فتوسنتز و همچنین تجمع آسمیلات‌هایی نظیر پرولین و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود ویژگی‌های رشدی ارقام هلو تحت شرایط تنش بی‌کربنات شد.

## References

## منابع

1. Adeleke, R., C. Nwangburuka and B. Oboirien. 2017. Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. S. Afr. J. Bot. 108: 393-406.
2. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Meth. Enzymol. 105: 121-126.
3. Ahmad, P., and S. Sharma. 2010. Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO<sub>3</sub> stress. Int. J. Plant Prod. 4: 1735-1743.
4. Albiac, J., M. Hanemann, J. Calatrava, J. Uche and J. Tapia. 2006. The rise and fall of the Ebro water transfer. Nat. Resour. J. 46(3): 727-757.
5. Alonso Valdez Aguilar, L., 2004. Effect of alkalinity irrigation water on selected greenhouse crops. Thesis, pp 293.
6. 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.
7. Arnon AN. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agro. J. 23; 112-121.
8. Assimakopoulou A, C.D. Holevas and K. Fasseas. 2011. Relative susceptibility of some Prunus rootstocks in hydroponics to iron deficiency. J. Plant Nutr. 34(7): 1014-1033.
9. Balfagón, D., F. Terán, T. de Oliveira, C. Santa Catarina and A. Gómez Cadenas. 2021. Citrus rootstocks modify scion antioxidant system under drought and heat stress combination. Plant Cell. Rep. 1-10.
10. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.
11. Beyer, W.F. and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Anal. Biochem. 161(2): 559-66.
12. Chandel, J.S. and J.S. Chauhan. 1991. Accumulation of proline, ABA and carbohydrate contents in Starking Delicious apple on clonal rootstocks and their correlation with drought resistance. Prog. Hort. 23(1-4): 5-11.
13. De la Guardia, M. D. and E. Alcantara. 2002. Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. J. Plant Nutr. 25: 1021-1032.
14. Donnini, S., M. Dell'Orto and G. Zocchi. 2011. Oxidative stress responses and root lignification induced by Fe deficiency conditions in pear and quince genotypes. Tree Physiol. 31, 102-113.
15. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. J. Plant Growth Regul. 45: 215-225.
16. Geddies, A.W. and S.G. Hall. 2019. The effect of salinity and alkalinity on growth and the accumulation of copper and zinc in the Chlorophyta *Ulva fasciata*. Ecotoxicol. Env. Saf. 172: 203-209.
17. Genty, B., J.-M. Briantais and N.R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. Biochem. Biophys. Acta. 990: 87-92.
18. Gyurov, G. and N. Artinova. 2015. Soil Science. Intexpert-94 Ltd Ood Publishing House, Plovdiv, Bulgaria. 258 p.
19. Imani, A., H. Beyrami-Jam and E. Hadavi. 2020. Evaluation of Calcium Bicarbonate Effects on Physiological Reaction and Growth Indices of Almond Cultivars Grafted on GN15 Rootstock. J. Hort. Sci. 34(2): 231-246 (In Persian).

20. Jimenez, S., J. Pinochet, A. Abadia, M. Moreno and Y. Gogorcena. 2008. Tolerance response to iron chlorosis of *Prunus* selections as rootstocks. *Sci. Hort.* 43(2): 304-309.
21. Kholdebarin, B. and T. Eslamzadeh. 2001. Mineral nutrition of higher plants. Shiraz University publications. Page 902 (In Persian).
22. López-Gómez, E., M.A. San Juan, P. Diaz-Vivancos, J. Mataix Beneyto, M.F. García-Legaz and J.A. Hernández. 2007. Effect of rootstocks grafting and boron on the antioxidant systems and salinity tolerance of loquat plants (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Environ. Exp. Bot.* 60: 151–158.
23. López-Hinojosa, M., N. de María, M.A. Guevara, M.D. Vélez, J.A. Cabezas, L.M. Díaz, J.A. Mancha, A. Pizarro, L.F. Manjarrez, C. Collada, C. Díaz-Sala and M.T. Cervera Goy. 2021. Rootstock effects on scion gene expression in maritime pine. *Sci. Rep.* 11: 11582.
24. Manuel, D.G. and A. Esteban. 2002. Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. *Plant Nutr.* 25: 1021-1032.
25. Mengel, K. 1994. Iron availability in plant tissues- iron chlorosis on calcareous soils, *Plant Soil.* 165: 275-283.
26. Mohsenian, Y., H.R. Roosta, H.R. Karimi, and M. Esmaeilzade. 2012. Investigation of the ameliorating effects of eggplant, datura, orange nightshade, local Iranian tobacco and field tomato as rootstocks on alkali stress in tomato plants. *Photosynthetica*, 50: 411–421.
27. Page, M.D., M.D. Allen, J. Kropat, E.I. Urzica, S.J. Karpowicz, S.I. Hsieh, J.A. Loo and S.S. Merchant. 2012. Fe sparing and Fe recycling contribute to increased superoxide dismutase capacity in iron-starved *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell.* 24: 2649–2665.
28. Penas, E.J., R.A. Wiese, R.W. Elmore, G.W. Hergert, and R.S. Moomaw. 1990. Soybean chlorosis studies on high pH bottomland soils. University of Nebraska Institution of Agriculture. National Resources Bulletin. 312. University of Nebraska, Lincoln, NE.
29. Pestana M., A. Varennes, J. Abadia and E. Faria. 2005. Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstock grown in nutrient solutions. *Sci. Hort.* 104: 25-36.
30. Pestana, M., P.J. Correia, A. Varennes, J. Abadía and E.A. Faria. 2001. Effectiveness of different foliar iron applications to control iron chlorosis in orange trees grown on a calcareous soil. *J. Plant Nutr.* 24(4-5): 613-622.
31. Ramírez, L., C.G. Bartoli, and L. Lamattina. 2013. Glutathione and ascorbic acid protect *Arabidopsis* plants against detrimental effects of iron deficiency. *J. Exp. Bot.* 64: 3169–3178.
32. Rasouli sedghiani, M., B. Darreh Ghaiedi, H. Khodaverdilou and N. Moradi. 2013. Effect of organic acids on absorption and fixation of iron in calcareous and acidic soils. *Soil manag. Sust. Prod. Publ.* 5(1): 215-228 (In Persian).
33. Rayle, D.L., and R.E. Cleland. 1992. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physio.* 99: 1271-1274.
34. Ritchie, S.W., H.T. Nguyen and A.S. Holaday. 1990. Leaf Water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci.* 30:105-111.
35. Sahin, O., A. Gunes, M.B. Taskina and A. Inal. 2017. Investigation of responses of some apple (*Mallus domestica* Borkh.) cultivars grafted on MM106 and M9 rootstocks to lime-induced chlorosis and oxidative stress. *Sci. Hort.* 219: 79–89.
36. Shahabi, E. and M. Malakouti. 2001. Effect of bicarbonate levels in irrigation water on leaf greenness and leaf nutritional elements of different apple seedings. *Soil Water Sci. Res.* J14: 154-165 (In Persian).
37. Shahsavandi, F., S. Eshghi, A. Gharaghani, R. Ghasemi-Fasaei and M. Jafarinia. 2020. Effects of bicarbonate induced iron chlorosis on photosynthesis apparatus in grapevine. *Sci. Hort.* 270: 109427.
38. Sharifi asl, R., E. Shojaeian, M. Seidi and E. Giti. 2012. Study of different irrigation water acidity levels on quantity and quality of two geranium cultivars. *Hort. Sci. Publ.* 26 (2): 223-229 (In Persian).
39. Smith, K., T. Vierheller and A. Carol. 1988. Properties and functions of glutathione reductase in plants. *Physiol. Plant.* 77: 449-456.
40. Soltani, A. 2004. Chlorophyll Fluorescence and Its Application. Internal Press. University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran (In Farsi).
41. Valipour, M., B. Baninasab, A.H. Khoshgoftarmansh and M. Gholami. 2020. Oxidative stress and antioxidant responses to direct and bicarbonate-induced iron deficiency in two quince rootstocks. *Sci. Hort.* 261: 108-123.
42. Wang, N., C. Yao, M. Li, C. Li, Z. Liu and F. Ma. 2019. Anatomical and physiological responses of two kiwifruit cultivars to bicarbonate. *Sci. Hort.* 243: 528-536.
43. Zhao, Y., D. Aspinall, and L. G. Paleg. 1992. Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. *J. Plant Physio.* 140: 541-543.



## Effects of Organic Acids on Modulation of Bicarbonate Stress in Some Peach Cultivars grafted on GF677 Rootstock

E. Akbarpour, A.M. Dastjerdi\*, A. Imani and M. Shamili<sup>1</sup>

Bicarbonate stress causes Fe chlorosis which, in turn, results in yield reduction, the delay in fruit bearing and reduced fruit quality, photosynthesis and growth processes in plants. In this study, the effects of organic acids on the alleviation of bicarbonate stress in some peach cultivars was investigated. The experiment was conducted as a factorial experiment based on a randomized complete block design with 18 treatments and three replications. Factors studied in this experiment included three peach cultivars grafted on GF 677 rootstock, three levels of calcium bicarbonate (0, 7.5 and 15 mM) and two levels of organic acid (0 and 10 mM). Among the studied cultivars, J.H. Hale cultivar was the most sensitive cultivar and Barzegar cultivar was the most resistant to chlorosis induced by iron deficiency. Organic acids significantly improved the growth characteristics of different cultivars, especially under calcium bicarbonate stress conditions. Organic acids reduced the intensity of chlorosis due to iron deficiency in the studied cultivars by up to 20%. In the study of physiological and biochemical traits, it was found that organic acids improve the relative water content of leaves (up to 16%), chlorophyll content (up to 33%), proline accumulation (up to 35.9%) and also increases the activity of antioxidant enzymes including catalase (up to 23.4%), superoxide dismutase (up to 26.5%) and guaiacol peroxidase (up to 14.4%). Organic acids improved the growth characteristics of peach seedlings under bicarbonate stress conditions by improving water relations, leaf chlorophyll and antioxidant enzymes.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Bicarbonate ion, Growth characteristics, Peach, Physiological traits.

---

1. Ph.D. Student and Associate Professor of Department of Horticultural Science, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran, Professor of Temperate Fruits Research Center, Horticultural Research Institute, AREEO, Karaj, Iran and Associate Professor of Department of Horticultural Science, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

\*Corresponding author E-mail: (mirzaalian@hormozgan.ac.ir).