

برنامه‌ریزی بیان ژن و کاربرد آن در مدل‌سازی فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز در شرایط شوری

نیر محمدخانی^{۱*}، مسلم ثروتی^۱، مریم رحمتی^۲

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۰۱

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۹/۲۵

۱-استادیار مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه

۲ و ۳-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: n.mohammadkhani@urmia.ac.ir

چکیده

فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز می‌تواند شاخص مناسبی برای جذب نیترات در حضور کلر و تحمل گیاه به شوری باشد. برنامه‌ریزی بیان ژن یک مدل ریاضی بین متغیرهای ورودی و خروجی بوده و توانایی انتخاب پارامترهای مؤثر در مدل را دارد. در این تحقیق محتوای یونی ریشه (کلر، سدیم، نیترات و پتاسیم) در دو ژنوتیپ انگور (قره‌شانی و قزل-اوزوم) به‌عنوان پارامترهای مؤثر بر فعالیت نیترات‌ریداکتاز وارد مدل برنامه‌ریزی بیان ژن شدند. نتایج نشان داد که جذب نیترات تحت شوری کاهش یافت، همچنین در غلظت‌های بالای نیترات کاهش در ژنوتیپ حساس به شوری بیشتر بود. به‌عبارت‌دیگر در انگور سیستم انتقال با تمایل پایین (LATS) نسبت به سیستم انتقال با تمایل بالا (HATS) به شوری حساس‌تر بود. فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز با افزایش غلظت نیترات در ریشه در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت. مقایسه نتایج حاصل از کاربرد سه مجموعه عملگر ریاضی نشان داد که بیشترین ضریب همبستگی و کمترین میانگین مربعات خطا در دوره آموزش برای حالتی است که از مجموعه عملگرهای مدل پیش‌فرض بهره برده شود، اما در مرحله آزمون عملگرهای اصلی همراه با جذر و توان نشان‌دهنده نتایج بهتری در مقایسه با سایر مجموعه عملگرها بود. همچنین مطابق با مدل پیشنهادی به‌ترتیب نیترات، کلراید، سدیم و پتاسیم به‌عنوان متغیرهای مؤثر انتخابی در کاهش فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز مشارکت می‌کنند.

واژه‌های کلیدی: انگور، برهمکنش نیترات-کلر، شوری، عملگرهای ریاضی، محتوای یونی ریشه

Gene Expression Programming and Its Application in Modeling Nitrate Reductase Enzyme Activity under Salinity Conditions

N. Mohammadkhani^{1*}, M. Servati¹, M. Rahmati²

Received: 2016-09-22

Accepted: 2017-12-16

¹-Assist. Prof., Shahid Bakeri High Education Center of Miandoab, Urmia University, Iran

^{2,3}- M.Sc. of Soil Science and Engineering Department, University of Tabriz, Iran

*Corresponding Author, Email: n.mohammadkhani@urmia.ac.ir

Abstract

Nitrate reductase enzyme activity can be a good indicator for nitrate uptake in the presence of chloride and plant tolerance to salinity. Gene expression programming is a mathematical model between input and output variables and has the ability of choosing the effective parameters in the model. In this study, ions contents of root (chloride, sodium, nitrate and potassium) in two grape genotypes (Gharashani and GhezelUzum) as the effective parameters in the nitrate reductase activity were used in genetic programming model. The results showed that the nitrate absorption was decreased under salinity, also at higher nitrate concentration this reduction was higher in the salt sensitive genotype. It means that in grape the low affinity transport system (LATS) was more sensitive to salinity compared to the high affinity transport system (HATS). In both genotypes, the nitrate reductase activity increased with increasing the nitrate concentration in root medium. Comparing the results obtained using three function set showed that the highest correlation and lowest root mean square error were achieved for training phase by using the default function set, while for the testing phase, the main operators along with the squared root and power gave the better performance accuracy. Also, according to the suggested model, nitrate, chloride, sodium and potassium as the selected effective variables contribute with a decreasing order in the nitrate reductase activity respectively.

Key words: Grape, Mathematical operators, Nitrate- chloride interaction, Nutrients, Salinity

مقدمه

نیترات می‌شود (مانس ۲۰۰۲). نیتروژن یک عنصر ضروری برای همه گیاهان بوده و نیترات منبع نیتروژن اصلی در دسترس در خاک‌های زراعی است (ژانگ و فورد ۲۰۰۰). مقادیر بالای کلرید سدیم در محیط ریشه سرعت جذب خالص نیترات و انتقال به اندام‌هوایی را در گیاهان آوندی کاهش می‌دهد (گراتان و گری او ۱۹۹۹). شوری جذب نیترات در برخی گیاهان را مهار می‌کند (سرزو و همکاران ۱۹۹۷).

سرعت جذب نیترات از یک رابطه دوفازی با غلظت نیترات بیرونی پیروی می‌کند که در کمترین حالت وجود دو سیستم جذب متفاوت را پیشنهاد می‌کند. یکی از این سیستم‌ها تمایل بالایی برای نیترات نشان می‌دهد

شوری خاک به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه- خشک در اثر آبیاری با آب‌هایی با کیفیت پایین، تبخیر و تعرق زیاد و تجمع املاح در سطح‌الارض در حال افزایش است (پساراکی ۱۹۹۴). وسعت اراضی شور در ایران نزدیک به ۱۰ درصد مساحت کشور را در بر می‌گیرد، با این حال ۴۴/۵ درصد خاک‌های ایران به نحوی متأثر از شوری هستند (بنایی و همکاران ۱۳۸۳). فائو نیز گزارش نمود که ۱۰ درصد خاک‌های ایران در گروه بزرگ سالونچاک‌ها قرار دارند (بی‌نام ۲۰۱۲). رشد و فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان عالی تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد، به‌طوری‌که شوری مانع جذب

انتخاب پارامترهای مؤثر) را با استفاده از برنامه‌نویسی رایانه‌ای ارائه می‌کند. الگوریتم‌های تکاملی که بر اساس نظریه داروین پایه‌ریزی شده‌اند توانایی مدل‌سازی فرآیندهای کاملاً غیرخطی را دارند که برنامه‌ریزی بیان ژن نیز عضوی از خانواده الگوریتم‌های تکاملی می‌باشد. مزیت این مدل نسبت به مدل‌های دیگر این است که ابتدا ساختار بلوک‌ها (متغیرهای ورودی، هدف و مجموع توابع) تعریف شده و سپس ساختار بهینه مدل و ضرایب طی فرآیند آموزش تعیین می‌شوند. همچنین این مدل به طور خودکار می‌تواند متغیرهای ورودی که در مدل بیشترین تأثیر را دارند، انتخاب کند (کوزا ۲۰۰۸). خاصیت غیرخطی و عدم قطعیت ذاتی فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز از دلایلی بوده است که باعث شده از مدل برنامه‌ریزی بیان ژن در این تحقیق استفاده شود. این مدل با موفقیت توسط باریکو (۱۳۹۵) در برآورد عملکرد گندم آبی با ویژگی‌های خاک و زمین‌نما، ثروتی و همکاران (۱۳۹۰) برآورد ظرفیت تبادل کاتیونی خاک به کار گرفته شده است. در مطالعه حاضر اثرات نیترات و شوری بر آسیمیلایون نیترات در ژنوتیپ‌های متحمل و حساس انگور با سنجش فعالیت نیترات ریداکتاز بررسی شد. همچنین فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز با استفاده از برنامه‌ریزی بیان ژن به کمک محتوای یونی موجود در ریشه گیاه تحت شوری مدل‌سازی و متغیرهای ورودی که در مدل بیشترین تأثیر را داشتند، انتخاب شدند.

مواد و روش‌ها

در مطالعات قبلی ۱۸ ژنوتیپ انگور بومی آذربایجان از نظر میزان تحمل به شوری غربال‌گری شدند. ژنوتیپ قره‌شانی که توانایی قابل‌ملاحظه‌ای در محدود کردن انتقال کلر و سدیم به اندام‌هوایی نشان داد، به‌عنوان ژنوتیپ متحمل و ژنوتیپ قزل‌اوزوم به‌عنوان ژنوتیپ حساس انتخاب شدند (محمدخانی و همکاران ۲۰۱۲، محمدخانی و همکاران ۲۰۱۴). قلمه‌های دو ژنوتیپ از مرکز تحقیقات کشاورزی تهیه و بعد از ضدعفونی با بنومیل ۱/۵٪، با ایندول بوتیریک اسید ۱۰۰

و در شرایط غلظت پایین نیترات بیرونی (HATS) عمل می‌کند و سیستم دیگر تمایل پایین نشان داده در شرایط غلظت بالای نیترات بیرونی (LATS) عمل می‌کند (گل‌س و صدیقی ۱۹۹۵).

سرگونا و همکاران (۲۰۱۱) و عباسپور و همکاران (۲۰۱۴) اثر شوری بر جذب نیترات را به‌ترتیب در ذرت و انگور بررسی کردند. در غلظت‌های بالای کلر به‌عنوان یک یون رقیب برای کاهش جذب نیترات عمل می‌کند و می‌تواند به‌طور غیرمستقیم فعالیت نیترات-ریداکتاز را که همبستگی مثبت با درون‌ریزش نیترات دارد، مهار کند (دبوبا و همکاران ۲۰۰۷).

سدیم نیز در جایگاه‌های انتقال با پتاسیم در ورود به سلول رقابت می‌کند و در نتیجه فرآیندهای متابولیکی وابسته به پتاسیم مهار می‌شود (مارش‌نر ۱۹۹۵). همچنین شوری شدیداً بر فرآیند آسیمیلایون نیترات اثر می‌گذارد، چون نیترات برای القای نیترات-ریداکتاز (EC 1.6.6.1) - آنزیم کلیدی فرآیند آسیمیلایون - مورد نیاز است. نیترات ریداکتاز اولین آنزیم در مسیر آسیمیلایون نیترات است و احیای نیترات به نیتريت را کاتالیز می‌کند (نیو و همکاران ۱۹۹۵). فعالیت نیترات ریداکتاز در برگ‌ها به شارش نیترات از ریشه‌ها وابسته است (کایسر و همکاران ۲۰۰۲). جذب و احیای نیترات در گیاهان در شرایط شوری اهمیت حیاتی دارد (رائو و گنانام ۱۹۹۰). فعالیت نیترات ریداکتاز در پاسخ به NaCl به سطح نیترات در محلول غذایی و نیز شدت تنش شوری بستگی دارد (ساگی و همکاران ۱۹۹۷).

انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از محصولات باغی مهم است و تنش‌های غیرزیستی مثل شوری باعث کاهش محصول آن می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که توازن یونی در بخش‌های مختلف انگور تحت تأثیر شوری تغییر می‌یابد (واکر و همکاران ۲۰۰۲). بنابراین مدل‌سازی فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در شرایط شوری در گیاه انگور با استفاده از محتوای یونی ریشه دارای اهمیت می‌باشد. برنامه‌ریزی بیان ژن تکنیکی است که راه حل مسئله (تخمین ویژگی‌های دیریافت و

سالیسیلیک اسید (کاتالدو و همکاران ۱۹۷۵) تعیین شد. سنجش فعالیت نیترات ریداکتاز در ریشه گیاه به روش جاورسکی (۱۹۷۱) با اندکی تغییری انجام شد. از محلول‌های حاوی ریشه گیاهان هر نیم ساعت یکبار و در مجموع ۱۳ بار و از ریشه گیاهان جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز یک بار نمونه‌برداری در پایان تیمارها انجام شد. تحلیل آماری و رسم نمودارها با نرم‌افزار GraphPad Prism 5 انجام شد. تفاوت جذب یون‌ها بین تیمارهای نیترات در سطح احتمال ۵٪ با آزمون t و تفاوت جذب یون‌ها با استفاده از شیب رگرسیون خطی تعیین شد. جهت تعیین سرعت جذب نیترات و پتاسیم و محاسبه V_{max} و K_m نیز داده‌ها با معادله سینتیک آنزیمی میکائلیس-منتن (نلسون و کوکس ۲۰۰۵) برازش داده شدند.

فرآیند برنامه‌ریزی ژنتیک به صورت مراحل زیر است: (۱) جمعیت اولیه از توابع مرکب نشان‌دهنده الگوهای پیش‌بینی، به صورت تصادفی در نظر گرفته می‌شود (ایجاد کروموزوم‌ها).

(۲) معرفی جمعیت اولیه (کروموزوم‌ها) به رایانه و ارزیابی هر یک از افراد (ژن) جمعیت مذکور با استفاده از توابع برازش (شناسایی مؤثرترین افراد در ماهیت پدیده).

(۳) انتخاب ژن‌های مؤثر به منظور تکثیر، جهش، جفت‌گیری و تولیدمثل افراد جدید با صفات اصلاح‌شده (فرزندان).

(۴) اعمال فرآیند توسعه‌ای تکراری بر روی فرزندان در هر تولید گام چهارم به تعداد معین و یا تا حصول بهترین پاسخ تکرار خواهد شد (کوزا ۲۰۰۸).

برای مدل‌سازی فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز با استفاده از برنامه‌ریزی بیان ژن، ۸۰ درصد داده‌های مربوط به غلظت یون‌های سدیم، کلر، پتاسیم، نیترات و فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در ریشه دو ژنوتیپ به-عنوان داده‌های آموزش و ۲۰ درصد به‌عنوان داده‌های آزمون انتخاب (رابطه ۱) و به‌طور جداگانه آنالیز شدند. برای هر ژنوتیپ ۸۰ سری داده انتخاب شده بود.

$$X_t = f(d_1, d_2, d_3, d_4) \quad [1]$$

در این رابطه X فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز، d_1

پی‌پی‌ام به مدت چند ثانیه تیمار شدند. سپس قلمه‌ها در پرلیت و در یک سیستم حرارتی (۲۲ تا ۲۸ درجه سلسیوس) با رطوبت کافی (۸۰ تا ۱۰۰ درصد) جهت ریشه‌زایی قرار داده شد و قلمه‌های ریشه و برگ‌دار به گلدان‌های حاوی محلول هوگلند هواده‌ی شده و تغییر یافته ویژه انگور حاوی پتاسیم نیترات ۰/۲۵ میلی‌مولار، کلسیم نیترات ۰/۲۵ میلی‌مولار، منیزیم سولفات ۰/۱ میلی‌مولار، KH_2PO_4 ۰/۰۵ میلی‌مولار، اسید بوریک ۱۱/۵ میکرومولار، منیزیم کلراید ۲/۶۸ میکرومولار، روی سولفات ۰/۲ میکرومولار، مس سولفات ۰/۰۷۶ میکرومولار، سدیم مولیبدات ۰/۰۵ میکرومولار و $Fe-EDTA$ ۱۱/۷۶ میکرومولار انتقال یافتند (عباسپور ۲۰۰۸). گیاهان دوماهه در محلول ۰/۲ میلی‌مولار کلسیم سولفات تحت هواده‌ی در شرایط تحت کنترل دمای $25-30^\circ C$ و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰٪ در تاریکی به مدت ۶ روز قرار گرفتند. بعد از این مدت، گیاهان ۳ روز در نور مداوم ($150 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) در محلول هوگلند فاقد نیترات قرار گرفتند (سرزو و همکاران ۱۹۹۷). تیمار شوری به-مدت چهار روز با افزودن سدیم کلراید در غلظت‌های ۰ (sa 0)، ۳۰ (sa 30)، ۶۰ (sa 60) و ۹۰ (sa 90) میلی‌مول به محلول‌های هوگلند فاقد نیترات اعمال شد. بعد از این مدت در روز پنجم گیاهان به مدت ۶ ساعت در گلدان‌های حاوی ۱ لیتر محلول هوگلند تحت هواده‌ی مداوم تحت تیمار همزمان نیترات و شوری قرار گرفتند. غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌مول نیترات پتاسیم استفاده‌شد. نمونه‌برداری از محلول‌های حاوی ریشه گیاهان انجام شد و این نمونه‌ها و نیز ریشه گیاهان که بعد از نمونه‌برداری در آن ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند، جهت آنالیز یون‌ها استفاده شدند. ۱۰۰ میلی‌گرم از ماده خشک پودر شده ریشه همه تیمارها توزین شد و بعد از افزودن ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه حاوی ۱ میلی‌مول بر لیتر HNO_3 در بن-ماری در حال جوش به مدت یک ساعت قرار گرفت. سپس نمونه‌ها در ۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. میزان کلر با استفاده از دستگاه کلراید آنالیزر و میزان سدیم و پتاسیم در عصاره‌ها با استفاده از فلیم‌فتمتر اندازه‌گیری شد. میزان نیترات نیز با روش

همراه با جذر و توان (رابطه ۳) و مجموعه سه، عملگرهای پیش‌فرض نرم‌افزار (رابطه ۴) می‌باشد.

[۲] $[+, -, /, \times]$ = مجموعه یک

[۳] $[+, -, /, \times, \sqrt{x}, x^2]$ = مجموعه دو

[۴] $[+, -, /, \times, \sin, \cos, \tan, \sqrt{x}, x^2]$ = مجموعه سه

پارامترهای لازم جهت مدل‌سازی در این تحقیق که جزء گام‌های اولیه برنامه‌ریزی بیان ژن می‌باشند، به صورت جدول ۱ انتخاب شده است.

غلظت سدیم، d_2 غلظت کلر، d_3 غلظت پتاسیم و d_4 غلظت نیترات و t شماره نمونه می‌باشد. در این تحقیق برای مدل‌سازی فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز بر اساس برنامه‌ریزی بیان ژن از نرم‌افزار GeneXpro 4.0 استفاده شد. بدین منظور، سه مجموعه از عملگرهای ریاضی به صورت زیر استفاده شده است که مجموعه یک، چهار عمل اصلی (رابطه ۲)، مجموعه دو، چهار عمل اصلی

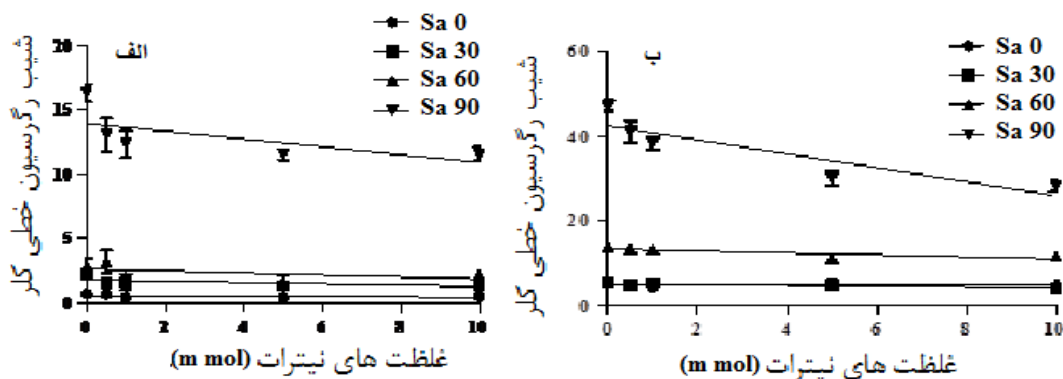
جدول ۱- مقادیر متغیرهای مدل‌سازی با برنامه‌ریزی بیان ژن.

تنظیمات عمومی	مقادیر	عوامل ژنتیک	مقادیر
تعداد کروموزوم‌ها	۳۰	سرعت جهش	۰/۰۴۴
اندازه سر	۸	سرعت وارونگی	۰/۱
تعداد ژن‌ها	۳	سرعت تلاقی با یک نقطه	۰/۳
تعداد تولید جمعیت	۱۰۰۰	سرعت تلاقی با دو نقطه	۰/۳
تابع ارتباط دهنده	جمع	سرعت تلاقی ژن	۰/۳
نوع خطا	SI ضریب پراکنندگی	سرعت جابجایی	۰/۱

نتایج

معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد کاهش یافت. میزان کاهش در جذب کلر با افزایش غلظت نیترات در ژنوتیپ متحمل بیشتر از ژنوتیپ حساس بود (شکل ۱).

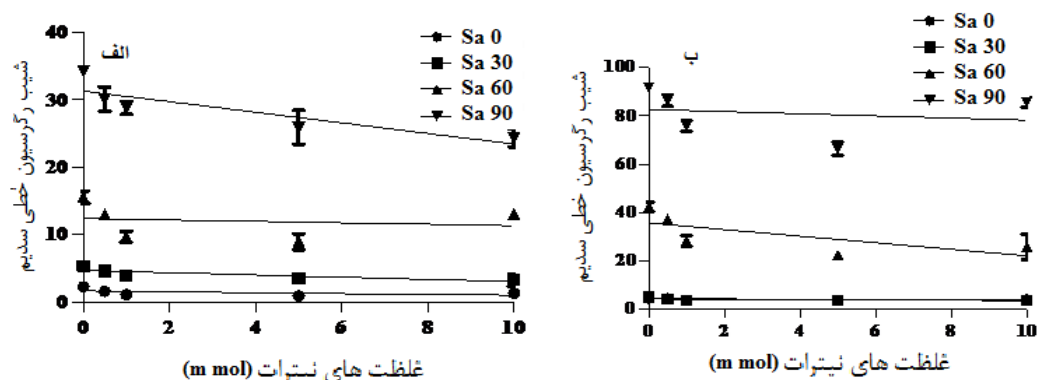
با افزایش غلظت نیترات میزان جذب کلر در ژنوتیپ متحمل (قره‌شانی) و حساس (قزل‌اوزوم) به‌طور



شکل ۱- شیب رگرسیون خطی جذب کلر در ریشه دو ژنوتیپ قره‌شانی (الف) و قزل‌اوزوم (ب) تحت تیمار شوری و نیترات.

طول زمان نمونه‌برداری میزان جذب سدیم افزایش یافت و این افزایش در شاهد بیشتر از تیمارهای نیترات بود (شکل ۲).

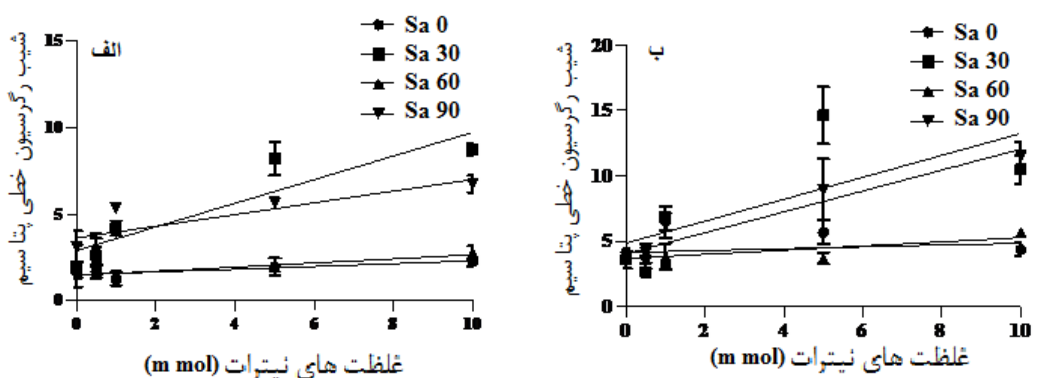
با افزایش غلظت پتاسیم (به دلیل استفاده از تیمار نیترات پتاسیم) میزان جذب سدیم در هر دو ژنوتیپ کاهش یافت و این کاهش در تیمار ۹۰ میلی‌مول شوری نسبت به شاهد بیشتر از سایر تیمارها بود. در-



شکل ۲- شیب رگرسيون خطی جذب سدیم در ریشه دو ژنوتیپ قره‌شانی (الف) و قزل‌اوزوم (ب) تحت تیمار شوری و نیترات.

زمان نمونه‌برداری نیز سرعت جذب پتاسیم به‌خصوص در غلظت‌های بالای نیترات افزایش یافت (شکل ۳).

با افزایش غلظت نیترات به‌دلیل استفاده از تیمار پتاسیم نیترات جذب پتاسیم نیز افزایش یافت. در طول

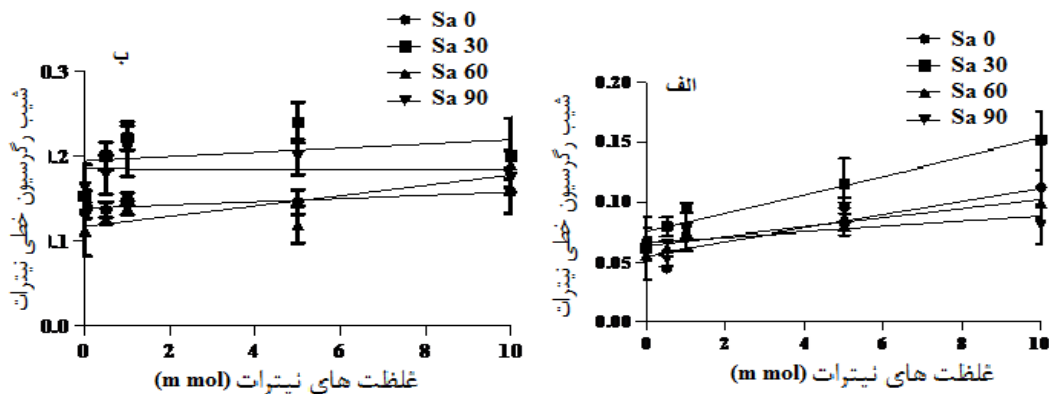


شکل ۳- شیب رگرسيون خطی جذب پتاسیم در ریشه دو ژنوتیپ قره‌شانی (الف) و قزل‌اوزوم (ب) تحت تیمار شوری و نیترات.

غلظت‌های بالای نیترات، بالاترین جذب در غلظت ۵ نیترات مشاهده شد.

در ژنوتیپ متحمل و حساس با افزایش غلظت نیترات میزان جذب نیترات افزایش یافت که این میزان در غلظت‌های بالای نیترات بیشتر بود (شکل ۴). شیب خطوط با افزایش غلظت نیترات به‌طور منظمی افزایش یافت. هم در تیمارهای شور و غیر شور تحت تیمار

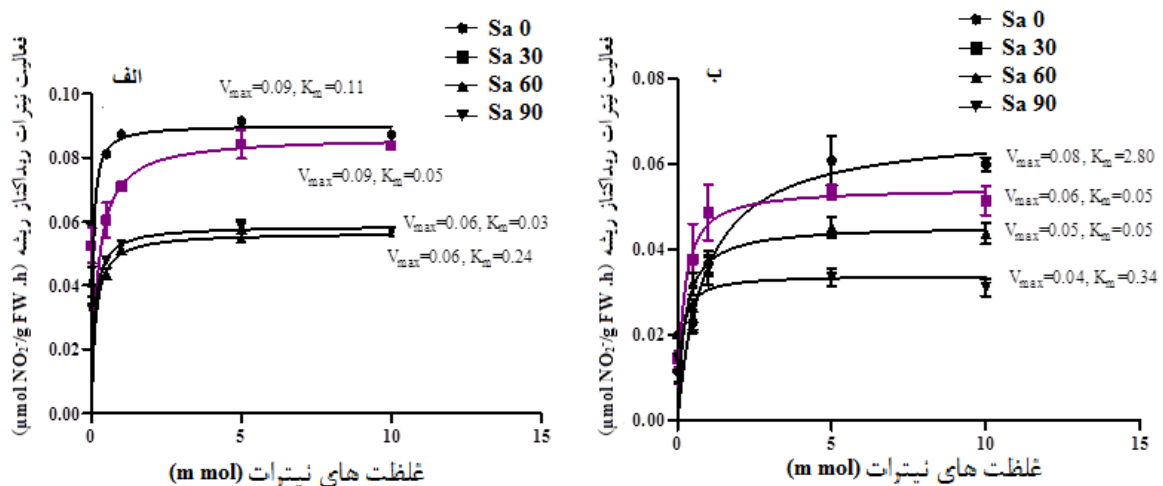
با افزایش غلظت نیترات فعالیت آنزیم نیترات-ریداکتاز در ریشه هر دو ژنوتیپ افزایش یافت.



شکل ۴- شیب رگرسیون خطی جذب نیترات در ریشه دو ژنوتیپ قره‌شانی (الف) و قزل‌اوزوم (ب) تحت تیمار شوری و نیترات.

بالای نیترات در ریشه ژنوتیپ متحمل بیشتر بود (شکل ۵).

جهت مقایسه فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز در ریشه، داده‌ها با معادله میکائلیس-منتن برازش داده شدند. فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز تحت شوری در ریشه هر دو ژنوتیپ به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش نشان داد، میزان کاهش در ژنوتیپ حساس بیشتر بود. در ریشه سرعت بیشینه (V_{max}) برای ژنوتیپ متحمل به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. فعالیت آنزیم در غلظت‌های



شکل ۵- فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز تحت تیمارهای شوری و نیترات در ریشه دو ژنوتیپ قره‌شانی (الف) و قزل‌اوزوم (ب).

دارد. همچنین روابط ارائه شده برای دو ژنوتیپ با یکدیگر از نظر کاربرد محتوای عناصر تفاوت دارند. نتایج معیارهای ارزیابی مدل‌های حاصل از عملگرهای ریاضی یک، دو و سه در جدول ۳ [مقادیر ضرایب تبیین

پس از انجام مدل‌سازی با مجموعه عملگرهای ۱، ۲ و ۳ روابط فعالیت آنزیم نیترات‌ریداکتاز از مدل برنامه‌ریزی بیان ژن (جدول ۲) به‌دست آمد. نتایج نشان داد که عملگر ۱ روابط ساده‌تری نسبت به سایر عملگرها

(r^2) و جذر میانگین مربعات خطا (RMSE)، نشان داده شده است.

جدول ۲- روابط حاصل از مدل‌سازی با برنامه‌ریزی بیان ژن با سه عملگر ریاضی برای دو ژنوتیپ مختلف انگور.

ژنوتیپ	عملگرهای ریاضی	روابط حاصل از برنامه‌ریزی بیان ژن
	۱	$X = \frac{(0.407d4 + (0.732d4 - 0.11d3))}{(0.632d4 - 0.09d1) + 0.317d2}$
قره‌شانی	۲	$X = 0.321d4 + \sqrt{(d1 + 0.321d3) + 0.232d2^{1.3}} + \frac{0.221d4}{0.142d1}$
	۳	$X = 0.403d4 + \sqrt{\frac{d2 - 0.728d1}{0.836d4 + \sin d1^2} 1.99d3^{1.7}}$
	۱	$X = \frac{(0.494d4 + (0.627d4 - 0.27d3))}{(0.599d4 - 0.12d1) + 0.411d2}$
قزل‌اوزوم	۲	$X = 0.403d4 + \sqrt{0.942d1 + 0.176d3) + 0.198d2^{1.4}} + \frac{0.372d4}{0.218d1}$
	۳	$X = 0.403d4 + \sqrt{\frac{0.907d2 - 0.674d1}{0.801d4 + \cos d1^{1.4}} 2.04d3^{1.6}}$

۱=عملگرهای اصلی، ۲=عملگرهای اصلی همراه با جذر و توان، ۳=پیش‌فرض‌ها

(1) d: غلظت سدیم ریشه، (2) d: غلظت کلر ریشه، (3) d: غلظت پتاسیم ریشه، (4) d: غلظت نیترات ریشه، X: فعالیت آنزیم نیترات

ریداکتاز

جدول ۳- معیارهای ارزیابی سه عملگر ریاضی مدل‌سازی شده در برنامه‌ریزی بیان ژن.

ژنوتیپ	عملگرهای ریاضی	مرحله	r^2	RMSE	SI
قره‌شانی	۱	آموزش	۰/۷۹	۱/۳۲	۱/۵۱
		آزمون	۰/۷۶	۱/۲۴	۱/۴۹
	۲	آموزش	۰/۸۹	۱/۲۶	۱/۴۷
		آزمون	۰/۸۶	۰/۹۷	۱/۲۵
	۳	آموزش	۰/۸۷	۱/۱۳	۱/۴۲
		آزمون	۰/۸۴	۱/۱۲	۱/۳۶
قزل‌اوزوم	۱	آموزش	۰/۹۱	۱/۲۱	۱/۴۵
		آزمون	۰/۷۹	۱/۱۸	۱/۴۱
	۲	آموزش	۰/۹۶	۱/۱۹	۱/۳۹
		آزمون	۰/۸۵	۰/۹۲	۱/۳۰
	۳	آموزش	۰/۹۵	۱/۰۸	۱/۳۷
		آزمون	۰/۸۴	۱/۰۱	۱/۳۲

۱=عملگرهای اصلی، ۲=عملگرهای اصلی همراه با جذر و توان، ۳=پیش‌فرض‌ها

با توجه به برهمکنش نیترات و کلر به ترتیب یون‌های نیترات، کلر، سدیم و پتاسیم بیشترین تأثیر را در فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز بر اساس مدل انتخابی به-خود اختصاص دادند.

دامنه تغییرات فعالیت نیترات ریداکتاز ۰/۰۳۳ تا ۰/۰۹۲ میکرومول نیتريت بر گرم ماده تر در ساعت برای قره‌شانی و ۰/۰۰۸ تا ۰/۰۶۵ میکرومول نیتريت بر گرم ماده تر در ساعت برای قزل‌اوزوم می‌باشد. جذر میانگین مربعات خطای محاسبه‌شده برای دو ژنوتیپ

نتایج جدول ۳ مؤید این مطلب است که در مقایسه نتایج سه مدل حاصل از سه مجموعه عملگر ریاضی، مدل پیش‌فرض‌ها برای هر دو ژنوتیپ ضریب همبستگی و میانگین مربعات خطا در مرحله آموزش به-ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار بود، ولی در مرحله آزمون برتری با مدل عملگرهای اصلی همراه با جذر و توان بود.

بنابراین با توجه اهمیت مرحله آزمون، به عنوان مدل فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز پیشنهاد گردید (جدول ۳).

جذب با گذشت زمان کاهش یافت. در غلظت‌های پایین نیترات سیستم انتقال با تمایل بالای نیترات به‌طور معنی‌داری در جذب آنیون مشارکت می‌کند (گل‌س ۲۰۰۹). سرگونا و همکاران (۲۰۱۱) نیز فعال بودن سیستم انتقال با تمایل بالای نیترات در ذرت را گزارش کردند. نتایج تحقیق حاضر یافته‌های قبلی را در این مورد تایید کرد.

شوری تغییراتی در ظرفیت جذب مواد غذایی ایجاد می‌کند. بوتلا و همکاران (۱۹۹۴) اثر کلرید سدیم را بر سینتیک جذب نیترات در گندم تحت شوری مطالعه کردند. آن‌ها نتیجه گرفتند که حضور کلر اثر منفی بر جذب نیترات دارد. عباسپور و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند جذب نیترات در انگور تحت شوری از معادله میکائیلیس-منتن تبعیت می‌کند. در مطالعه حاضر حضور کلر در محیط خارجی جذب نیترات را کاهش داده و جذب و انباشتگی کلر را در بافت‌های گیاهی افزایش می‌دهد. بنابراین در حضور NaCl جذب نیترات به‌وسیله عمل رقابتی کلر مهار می‌شود (گراتان و گری-او ۱۹۹۹).

جذب نیترات در ریشه‌ها به غلظت‌های داخلی کلر بیشتر وابسته است تا غلظت‌های خارجی آن، بنابراین یک توضیح احتمالی برای اثر مهارگری پیش‌تیمارهای شوری افزایش انباشتگی کلر در سلول‌های ریشه است. در مطالعه سرزو و همکاران (۱۹۹۷) نیز رابطه عکسی بین غلظت کلر در ریشه‌ها و سرعت جذب خالص نیترات وجود داشت. ژنوتیپ متحمل مورد مطالعه آن‌ها توانایی نسبی برای دفع یون‌های کلر و کاهش انباشتگی آن در ریشه نشان دادند. نتایج حاضر با یافته‌های سرزو و همکاران (۱۹۹۷) کاملاً همخوانی داشت، نتایج نشان داد که جذب کلر در ریشه گیاهان تحت شوری افزایش یافت و هم‌زمان جذب خالص نیترات کاهش پیدا کرد. انباشتگی نیترات در ریشه همبستگی منفی با غلظت کلر در سطح احتمال ۵٪ داشت، همچنین ژنوتیپ متحمل (قره‌شانی) نیز انباشتگی کلر کمتری نسبت به ژنوتیپ حساس (قرزل‌اوزوم) داشت و جذب نیترات در آن کمتر به‌وسیله شوری کاهش یافت.

نتایج ماسا و همکاران (۲۰۰۹) تفاوت آشکاری بین سرعت جذب سدیم و کلر نشان داد، سدیم کمتر از

تفاوت چندانی نداشته و نزدیک به صفر بوده که نشان‌دهنده صحت بالای مدل است. ضریب تبیین محاسبه‌شده برای ژنوتیپ حساس بالاتر از ژنوتیپ مقاوم بوده که احتمالاً به دلیل است که در ژنوتیپ حساس، محتوای یونی ریشه (نیترات، کلر، سدیم و پتاسیم) بیشتر تحت تاثیر شوری قرار گرفته و فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز همبستگی بیشتری با متغیرهای ورودی نشان می‌دهد.

بحث

جذب سدیم و کلر یا انباشتگی یون‌ها در بافت‌های گیاهی بسته به غلظت بیرونی آن‌ها افزایش می‌یابد. این نتیجه توسط ساواس و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه لوبیا تایید شده است. مکانیسم‌های جذب سدیم و کلر در گیاهان عالی به‌وسیله رودریگز و رایبو (۲۰۰۶) مرور شده است. نتایج مطالعه حاضر نیز با نظرات این محققین همخوانی داشت. با مقایسه سرعت جذب کلر در تیمار-های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مول شوری می‌توان دریافت که با افزایش غلظت شوری جذب کلر و انباشتگی آن در ریشه همه ژنوتیپ‌ها افزایش می‌یابد. در غلظت‌های مساوی شوری سرعت جذب کلر در ریشه ژنوتیپ متحمل (قره‌شانی) کمتر از ژنوتیپ حساس (قرزل‌اوزوم) بود. همچنین با افزایش غلظت نیترات در محیط ریشه سرعت جذب کلر کاهش یافت که میزان کاهش در ژنوتیپ متحمل بیشتر بود. گراتان و گری‌او (۱۹۹۹) و عباسپور (۲۰۰۸) نیز چنین نتیجه‌ای را گزارش کرده‌اند.

سرزو و همکاران (۱۹۹۷) جذب خالص نیترات را در ریشه گیاهان حساس و متحمل مرکبات در محدوده ۰/۱ تا ۱۰ میلی‌مول غلظت بیرونی نیترات مطالعه کردند. با گذشت زمان یک افزایش خطی در جذب نیترات مشاهده شد، بعد از مدتی با کمتر شدن نیترات در محیط ریشه سرعت جذب نیز کمتر شد. جذب نیترات تا غلظت ۱ میلی‌مول نیترات از معادله میکائیلیس-منتن تبعیت کرد، ولی در غلظت‌های بالاتر (۱ تا ۱۰ میلی‌مول) سرعت جذب نیترات به‌طور خطی افزایش یافت. نتایج مطالعه حاضر نیز این یافته‌ها را تایید کرد، یعنی در همه ژنوتیپ‌ها با گذشت زمان افزایش خطی در جذب نیترات مشاهده شد و سرعت

ماسا و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که هیچ تفاوت معنی‌داری بین جذب پتاسیم در سطوح مختلف شوری وجود نداشت و در ۲۴ ساعت اول جذب پتاسیم در پاسخ به NaCl تغییر نکرد، ولی حضور غلظت‌های مختلف پتاسیم در محیط بیرون باعث افزایش جذب این ماده غذایی شد و افزایش بیشتری نسبت به نیترا نشان داد. در مطالعه حاضر با مقایسه شیب رگرسیون خطی جذب پتاسیم می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت نیترا شیب رگرسیون جذب پتاسیم افزایش می‌یابد. میزان این افزایش در غلظت‌های بالای نیترا (۱ تا ۱۰ میلی‌مول) و نیز در ژنوتیپ متحمل (قره‌شانی) بیشتر بود.

احیای نیترا به نیتريت به وسیله نیترا ریداکتاز کاتالیز می‌شود و این مرحله محدودکننده سرعت در مسیر آسیمیلایسیون نیترا است. نتایج حاضر در ریشه انگور این الگوی القای نیترا ریداکتاز را تایید کرد و با جذب غلظت‌های بیرونی نیترا منطبق بود، یعنی فعالیت نیترا ریداکتاز به وسیله نیترا القا شد. با افزایش غلظت نیترا در محیط ریشه جذب نیترا و فعالیت آنزیم نیترا ریداکتاز در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت و به حد اکثر رسید. فعالیت نیترا ریداکتاز در ریشه با غلظت‌های نیترا در محلول غذایی و نیز سرعت جذب نیترا در هر دو ژنوتیپ همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد داشت. شوری فعالیت نیترا ریداکتاز را در ریشه گیاهان توتون تحت تیمار نیترا کاهش داد. کاهش فعالیت نیترا ریداکتاز با غلظت‌های نیترا در گیاهان تحت تیمار شوری و نیترا همبستگی داشت و این محدودیت جذب نیترا را پیشنهاد می‌کند (گوجون و همکاران ۱۹۹۸).

همچنین شوری فعالیت نیترا ریداکتاز را در ریشه‌ها و برگ‌های گندم دروم رشد یافته در محیط با غلظت بالای نیترا کاهش داد. در گیاهانی که در محیط با غلظت بالای نیترا متحمل تنش شوری شده بودند کمترین فعالیت آنزیم نیترا ریداکتاز در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. سطح پروتئین نیترا ریداکتاز هم در ریشه و هم در برگ‌ها کاهش پیدا کرد که نشان می‌دهد ممکن است شوری فرآیند تولید و یا تجزیه آنزیم نیترا ریداکتاز را تحت تاثیر قرار دهد (کاریلو و همکاران ۲۰۰۵). دلیل اصلی کاهش فعالیت

کلر تحت تاثیر غلظت بیرونی سدیم کلراید قرار گرفت. همچنین سونولد (۲۰۰۰) جذب سدیم ناچیزی برخلاف جذب بالای کلر بسته به غلظت بیرونی NaCl گزارش کرد. کابرا (۲۰۰۲) تفاوت زیادی بین پایه‌های گیاه رز در ظرفیت دفع یا انباشتگی کلر و سدیم بسته به ژنوتیپ مشاهده کرد.

ژنوتیپ‌های مورد مطالعه محتوای سدیم بیشتری نسبت به کلر نشان دادند، این تفاوت شاید به شرایط اکولوژیکی ژنوتیپ‌ها مربوط باشد که در منطقه اطراف دریاچه ارومیه رشد کرده و احتمالاً به انباشتگی بالای سدیم سازگاری پیدا کرده‌اند. در هر دو ژنوتیپ همبستگی منفی معنی‌دار و ضریب تبیین بالای ۰/۹۷ بین سدیم و کلر در طول زمان وجود داشت.

هومئوستازی پتاسیم نقش مهمی در تقابل با شوری دارد و داشتن منبع مناسبی از پتاسیم در رشد گیاه تحت شوری نقش دارد. کاریلو و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که محتوای پتاسیم برگ تحت تاثیر شوری قرار نمی‌گیرد. رودریگز و رابینو (۲۰۰۶) بیان کردند که جذب پتاسیم و سدیم می‌تواند با ناقلین کاتیونی غیرانتخابی صورت گیرد که باعث می‌شود سدیم تاثیر معنی‌داری بر جذب پتاسیم نداشته باشد.

در شرایط شوری جذب پتاسیم با افزایش غلظت سدیم کلراید محدود می‌شود (پریدا و داس ۲۰۰۵). لورنزو و همکاران (۲۰۰۰) یک کاهش تدریجی در جذب پتاسیم و نسبت K^+/Na^+ (غلظت بافت) تحت شوری بسته به غلظت سدیم بیرونی گزارش کردند. شابالا و کیون (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که اضافه کردن سدیم - سرعت جذب پتاسیم را مهار می‌کند، اما این مهار بین گونه‌های مختلف بسته به توانایی گیاهان در حفظ یک نسبت مناسب K^+/Na^+ سیتوزولی متفاوت است. به-وسیله همان محققین گزارش شد که نسبت بهینه K^+/Na^+ سیتوزولی می‌تواند با محدود کردن انباشتگی سدیم در بافت‌های گیاهی یا با جلوگیری از کاهش پتاسیم در سلول حفظ شود. نتایج حاضر با یافته‌های لورنزو و همکاران (۲۰۰۰) و نیز با نتایج شابالا و کیون (۲۰۰۷) همخوانی داشت، یعنی همبستگی منفی معنی‌داری بین سدیم و پتاسیم در طول زمان وجود داشت. همچنین ژنوتیپ متحمل نیز انباشتگی پتاسیم بیشتری نسبت به ژنوتیپ حساس داشت.

سراسری برنامه‌ریزی ژنتیک در یادگیری شبکه، از ترکیب این دو روش فراکاوشی در تخمین فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز استفاده گردد که احتمالاً باعث بهبود نتایج تخمین گردد.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع با افزایش غلظت نیترات در محیط ریشه تحت شوری، انباشتگی کلر و سدیم کاهش یافت، شیب رگرسیون خطی جذب کلر و سدیم در طول زمان و سرعت کاهش جذب با افزایش تیمارهای نیترات در ژنوتیپ متحمل (قره‌شانی) به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ حساس (قزل‌اوزوم) بود. جذب نیترات و پتاسیم تحت شوری کاهش یافت و میزان کاهش در ژنوتیپ حساس بیشتر بود. با اعمال تیمارهای نیترات پتاسیم تحت

شوری شیب رگرسیون خطی جذب نیترات و پتاسیم در طول زمان و سرعت افزایش جذب تحت تیمارهای نیترات در ژنوتیپ متحمل به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ حساس بود. فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز با افزایش غلظت نیترات در ریشه هر دو ژنوتیپ افزایش یافت. مدل‌سازی فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز نیز نقش بیشتر نیترات و تاثیر منفی شوری بر فعالیت آنزیم را نشان داد. مقایسه نتایج سه مجموعه عملگر ریاضی در مدل‌سازی با برنامه‌ریزی ژنتیک نشان داد که مدل پیش‌فرض‌ها در مرحله آموزش دارای بیشترین ضریب همبستگی و کمترین جذر میانگین مربعات خطا است ولی در مرحله آزمون برتری با عملگرهای اصلی همراه با جذر و توان می‌باشد، بنابراین به عنوان مدل کارا پیشنهاد می‌گردد. بر اساس مدل پیشنهادی نیز بیشترین تاثیر در مدل را به ترتیب یون‌های نیترات، کلر، سدیم و پتاسیم به‌خود اختصاص دادند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ترکیب عملگرهای توانی و عملگرهای ژنتیک منجر به جواب‌های مطلوب‌تری شد. لذا پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات آتی از مدل‌های فراکاوشی برای تخمین فرآیندهای دیرپای فیزیولوژیکی دیگر استفاده گردد.

نیترات ریداکتاز تحت شوری این است که کلر سبب کاهش جذب نیترات شده و القای ژن نیترات ریداکتاز کاهش می‌یابد.

اثر شوری بر فعالیت نیترات ریداکتاز نتیجه انباشتگی کلر است که جذب نیترات را مهار می‌کند و باعث کاهش در شارش نیترات از ریشه به برگ می‌شود. به‌علاوه کاهش فعالیت نیترات ریداکتاز در تیمار بلندمدت شوری به دلیل کاهش سرعت سنتز آنزیم یا افزایش تخریب آن و ایجاد یک تعادل جدید بین این دو فرآیند است. این نتایج با یافته‌های گوئیوا و همکاران (۱۹۹۴) همخوانی داشت. همبستگی منفی معنی‌داری بین انباشتگی کلر تحت شوری و کاهش فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز در هر دو ژنوتیپ وجود داشت.

نتایج مدل‌سازی با برنامه‌ریزی بیان ژن نیز نشان داد که فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز تحت تأثیر محتوای عناصر ریشه از جمله نیترات، کلر، سدیم و پتاسیم است که ضرایب بالای تبیین در مدل‌سازی فعالیت این آنزیم در هر دو ژنوتیپ انگور مؤید این مطلب است. سدیم و کلر حاصل از تیمارهای شوری نیز بر فعالیت این آنزیم تاثیر منفی داشته و غلظت نیترات باعث افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود. بر اساس میزان حضور در مدل نیز بیشترین تاثیر در آنزیم نیترات ریداکتاز مربوط به نیترات بوده و کلر، سدیم و پتاسیم در رده‌های بعدی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که برنامه‌ریزی ژنتیک توانایی بهینه‌سازی متغیرهای پیوسته مانند فعالیت آنزیم نیترات ریداکتاز را علاوه بر متغیرهای گسسته را دارد. همچنین با توجه به روابط ارائه شده در جدول ۳ که نشان‌دهنده روابط بسیار پیچیده و کمپلکس بین ورودی‌های مدل و فعالیت آنزیم ریداکتاز است، می‌توان بیان کرد که برنامه‌ریزی ژنتیک توانایی بهینه کردن این متغیرها را نیز دارد. شایان ذکر است که این روش با استفاده از تخمین براساس عملگرهای ریاضی توانسته در دو ژنوتیپ قره‌شانی و قزل‌اوزوم به ترتیب ۷۲ تا ۸۳ درصد تغییرات را پیش‌بینی نماید. لذا پیشنهاد می‌شود به دلیل عدم نیاز به فرم تبعی خاص شبکه‌های عصبی و جستجوی نقاط بهینه

منابع مورد استفاده

- Abbaspour N, 2008. A comparative study of Cl⁻ transport across the roots of two grapevine rootstocks, K 51-40 and Paulsen, Cl⁻ transport in plants differing in salt tolerance. PhD thesis, Discipline of Wine and Horticulture, School of Agriculture, Food and Wine, University of Adelaide, Adelaide, Australia.
- Abbaspour N, Kaiser B and Tyerman S, 2014. Root apoplastic transport and water relations cannot account for differences in Cl⁻ transport and Cl⁻/NO₃⁻ interactions of two grapevine rootstocks differing in salt tolerance. *Acta Physiol Plant* 36(3): 687-698.
- Anonymous, 2012. Destitution of Soil Major Group in World. 50 Bloating, FAO, Rome.
- Banaei MH, Momeni A, Baybordji M and Malakooti MJ, 2004. Iranian Soil. Sana Press, Tehran, Iran, (In Farsi).
- Barikloo A, 2016. Comparison of FAO and Gene expression programming in potential production prediction for irrigated wheat. M.Sc. Thesis, Soil Science and Engendering Department, University of Zanjan, (In Farsi).
- Botella MA, Cerdá A and Lips SH, 1994. Kinetics of NO₃⁻ and NH₄⁺ uptake by wheat seedlings. Effect of salinity and nitrogen source. *J. Plant Physiol* 144: 53-57.
- Cabrera RI, 2002. Rose yield, dry matter partitioning and nutrient status responses to rootstock selection. *Sci Hort* 95: 75-83.
- Carillo P, Mastrolonardo G, Nacca F and Fuggi A, 2005. Nitrate reductase in durum wheat seedlings as affected by nitrate nutrition and salinity. *Funct Plant Biol* 32: 209-219.
- Cataldo DA, Haroon M, Schrader LE and Youngs VL, 1975. Rapid colorimetric determination in plant tissues by nitration of salicylic acid. *Commun Soil Sci Plant Anal* 6: 71-80.
- Cerezo M, Garcia-Agustin P, Serna D and Primo-Millo E, 1997. Kinetics of nitrate uptake by Citrus seedlings and inhibitory effects of salinity. *Plant Sci* 126: 105-112.
- Debouba M, Maaroufi-Dghimi H, Suzuki A, Ghorbel MH and Gouia H, 2007. Changes in growth and activity of enzymes involved in nitrate reduction and ammonium assimilation in tomato seedlings in response to NaCl stress. *Ann Bot (Lond)* 99: 1143-1151.
- Glass ADM, 2009. Nitrate uptake by plant roots. *Bot* 87: 659-667.
- Glass ADM and Siddiqi MY, 1995. Nitrogen absorption by plant roots. Pp. 21-56. In: Srivastava, HS and Singh, RQ (Eds.), *Nitrogen Nutrition in Higher Plants*, Associated Publishing Co, New Dehli, 21-56.
- Gojon A, Dapoigny L, Lejay L, Tillard P and Rufty TW, 1998. Effects of genetic modification of nitrate reductase expression on ¹⁵NO₃⁻ uptake and reduction in Nicotiana plants. *Plant Cell Environ* 21: 43-53.
- Gouia H, Ghorbal MH and Touraine B, 1994. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃⁻ reduction rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton. *Plant Physiol* 105: -1409-1418.
- Grattan SR and Grieve CM, 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Sci Hort* 78: 127-157.
- Jaworski EG, 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 43: 1274-1279.
- Kaiser WM, Weiner H, Kandlbinder A, Tsai CB, Rocker P, Sonoda M and Planchet E, 2002. Modulation of nitrate reductase: some new insights, an unusual case and a potentially important side reaction. *J Exp Bot* 53: 875-882.
- Koza JR, 2008. www.genetic-programming.com, The home page of John R. Koza at Genetic Programming Lnc.
- Lorenzo H, Cid MC, Siverio JM and Ruano MC, 2000. Effects of sodium on mineral nutrition in rose plants. *Ann Appl Biol* 137: 65-72.
- Marschner H, 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd edn. London: Academic Press.
- Massa D, Mattson NS and Lieth HJ, 2009. Effects of saline root environment (NaCl) on nitrate and potassium uptake kinetics for rose plants: a Michaelis-Menten modelling approach. *Plant Soil* 318: 101-115.
- Mohammadkhani N, Heidari R, Abbaspour N and Rahmani F, 2012. Comparative study of salinity effects on ionic balance and compatible solutes in nine Iranian table grape (*Vitis vinifera* L.) genotypes. *J Int Sci Vigne Vin* 47(2): 99-114.

- Mohammadkhani N, Heidari R, Abbaspour N and Rahmani F, 2014. Evaluation of salinity effects on ionic balance and compatible solute contents in nine grapes (*Vitis L.*) genotypes. *J Plant Nutr* 37: 1817-1836.
- Munns R, 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ* 25: 239-250.
- Nelson DL and Cox MM, 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry*. Fourth edition. Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, Germany, P. 204.
- Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM and Pardo JM, 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol* 109: 735-742.
- Ourry A, Mesle S and Boucaud J, 1992. Effects of osmotic stress (NaCl and polyethylene glycol) on nitrate uptake, translocation, storage and reduction in ryegrass (*Lolium perenne L.*). *New Phytol* 120: 275-280.
- Parida AK and Das AB, 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf* 60: 324-349.
- Pessarakli M, 1994. *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Peuke AD and Jeschke WD, 1999. The characterization of inhibition of net nitrate uptake by salt in salt-tolerant barley (*Hordeum vulgare L. cv. California Mariout*). *J Exp Bot* 50: 1365-1372.
- Rao KR and Gnanam A, 1990. Inhibition of nitrate and nitrite reductase activities by salinity stress in *Sorghum vulgare*. *Phytochem* 29: 1047-1049.
- Rodriguez-Navarro A and Rubio F, 2006. High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. *J Exp Bot* 57: 1149-1160.
- Sagi M, Savidov NA, Lvov NP and Lips SH, 1997. Nitrate reductase and molybdenum cofactor in annual ryegrass as affected by salinity and nitrogen source. *Physiol Plant* 99: 546-553.
- Savvas D, Mantzos N, Barouchas PE, Tsirogiannis IL, Olympios C and Passam HC, 2007. Modelling salt accumulation by a bean crop grown in a closed hydroponic system in relation to water uptake. *Sci Hortic* 111: 311-318.
- Servati M, Jafarzadeh AA and Rahmati M, 2014. Application of Gene expression in cation exchange capacity prediction. Pp. 121-124. 13th Iranian Soil Science Congress, Chamran University of Ahwaz, Ahwaz, (In Farsi).
- Shabala S and Cuin TA, 2007. Potassium transporters and plant salt tolerance. *Physiol Plant* 606: 1-35.
- Sonneveld C, 2000. *Effect of Salinity on Substrate Grown Vegetables and Ornamentals in Greenhouse Horticulture*. Wageningen University Press, Netherland.
- Sorgona A, Lupini A, Mercati F, Dio L, Sunseri F and Abenavoli R, 2011. Nitrate uptake along the maize primary root: an integrated physiological and molecular approach. *Plant Cell Environ* 34: 1127-1140.
- Walker RR, Blackmore DH, Clingeffer PR and Correll RL, 2002. Rootstock effects on salt tolerance of irrigate field-grown grapevines (*Vitis vinifera L. Cv. Sultana*) 1. Yield and vigor inter-relationships. *Aust J Grape Wine Res* 8: 3-14.
- Zhang H and Forde BG, 2000. Regulation of Arabidopsis root development by nitrate availability. *J Exp Bot* 51: 51-59.