



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴

صفحه‌های ۳۵۵-۳۴۱

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

راضیه رستمی^۱، احمد ارشادی^{۲*}، و حسن ساری‌خانی^۳

۱. کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲ و ۳. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۷/۰۲

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۳۱

چکیده

به منظور بررسی تحمل چهار پایه از درختان هسته‌دار به کلروز کمبود آهن، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار، در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. پایه‌های مورد بررسی شامل هیبریدهای هلو و بادام GF677 و GN15، بادام تلخ و هلو و تیمارهای غذایی مورد استفاده شامل: محلول غذایی هوگلند فاقد آهن (اسیدیته ۶)؛ محلول غذایی هوگلند حاوی آهن با غلظت ۹۰ میکرومولار به‌عنوان تیمار شاهد (اسیدیته ۶)؛ و محلول غذایی هوگلند حاوی آهن با غلظت ۹۰ میکرومولار و بی‌کربنات پتاسیم با غلظت ۱۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۸) بود. در پایان آزمایش، آهن کل و فعال برگ و ریشه، غلظت کلروفیل، پراکسید هیدروژن و همچنین فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز اندازه‌گیری شد. حساس‌ترین پایه به کمبود آهن و اسیدیته زیاد، هلو؛ و متحمل‌ترین پایه بادام تلخ بود. بین هیبریدهای هلو و بادام، GF677 تحمل بهتری به شرایط فقر آهن و حضور بی‌کربنات در مقایسه با GN15 نشان داد. محلول غذایی حاوی بی‌کربنات مانع جذب و انتقال آهن توسط ریشه‌های هلو شد، درحالی‌که سایر پایه‌ها مقادیر به‌نسبت زیادی آهن را در این شرایط جذب کردند و به اندام هوایی انتقال دادند. در این شرایط، در پایه‌های GF677 و GN15 مقادیر به‌نسبت زیادی آهن در برگ‌ها به‌شکل غیرفعال بود، ولی در پایه بادام تلخ افزون بر جذب و انتقال زیاد آهن، مقدار زیادی از این عنصر فعال و توسط برگ قابل استفاده بود.

کلیدواژه‌ها: آسکوربات پراکسیداز، آهن فعال، بادام، پایه، کاتالاز.

۱. مقدمه

جلوگیری از کمبود آهن در درختان میوه، به‌کارگیری ژنوتیپ‌های متحمل به کلروز کمبود آهن به‌عنوان پایه است [۳۲، ۲۳، ۱۸، ۱۳]. با این هدف، تحمل به کمبود آهن در پایه‌های درختان میوه نظیر هلو [۲۳]، گلابی [۱۵]، زیتون [۳]، مرکبات [۹] و انگور [۲۸] بررسی شده است. ژنوتیپ‌های کارآمد از نظر تحمل به کلروز کمبود آهن، سازوکارهای مختلفی را برای افزایش جذب آهن از محیط ریشه به‌کار می‌گیرند. این سازوکارها شامل احیای آنزیمی آهن فریک^۳، اسیدی کردن آپوپلاست ریشه و آزادسازی ترکیبات کلات‌کننده آهن توسط ریشه، با افزایش فعالیت آنزیم‌های فریک کلات ردوکتاز، ای‌تی‌پی‌آز^۳ و فسفوانول پیرووات کربوکسیلاز هستند [۲۴].

برخی از گیاهان با وجود استفاده از سازوکارهای جذب آهن توسط ریشه، حساسیت زیادی به کمبود آهن نشان می‌دهند که این به‌دلیل غیرفعال شدن آهن در آپوپلاست ریشه و عدم انتقال آن به اندام هوایی است [۶]. علاوه بر آن، در برخی از گیاهان با وجود زیاد بودن غلظت آهن کل در اندام هوایی و برگ‌ها، علائم کلروز ناشی از کمبود آهن مشاهده می‌شود و همبستگی بین کلروفیل و آهن کل وجود ندارد [۲۵].

زیاد بودن غلظت آهن کل در آپوپلاست برگ و ریشه گیاهان در شرایط کمبود آهن، اهمیت بررسی آهن فعال را به‌عنوان یک شیوه غربالگری تحمل به کلروز، بیشتر نشان می‌دهد. در واقع علاوه بر جذب آهن، سایر عوامل نظیر قابلیت استفاده از آهن توسط گیاهان نیز حائز اهمیت است [۱۰].

از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی وضعیت تغذیه آهن در گیاهان، بررسی مقدار آهن فعال و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز است [۱۲]. پژوهشگران مختلف،

آهن از عناصر ضروری برای تمام گیاهان است و به‌عنوان یک کوفاکتور مهم برای بسیاری از آنزیم‌های دخیل در فرایندهای سلولی از جمله تنفس، فتوسنتز و تمایز سلولی عمل می‌کند [۴۲]. همچنین این عنصر عامل مهمی در زدودن رادیکال‌های اکسیژن فعال است، زیرا برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان حاوی آهن به‌صورت هم (کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) یا غیر هم (سوپراکسید دیسموتاز) هستند [۳۲]. با وجود فراوانی آهن در خاک، جذب آن توسط گیاهان به‌دلیل برخی از ویژگی‌های خاک از جمله وجود یون‌های بی‌کربنات^۱، مقادیر زیاد فسفر، وجود عناصر سنگین نظیر منگنز، مس، روی، تغییرات دما، مقدار کم مواد آلی در خاک و تهویه ضعیف دچار اختلال می‌شود [۲۶]. در این میان، غلظت زیاد بی‌کربنات، عامل بسیار مهمی است. اصلی‌ترین علت کلروز کمبود آهن در نواحی مدیترانه و ایران که در سطوح بالایی در خاک‌های آهکی رخ می‌دهد، وجود یون‌های بی‌کربنات است. یون‌های بی‌کربنات از طریق اثر بر جذب و انتقال آهن در گیاهان، موجب کمبود این عنصر می‌شوند که البته دلایل فیزیولوژیک این اثر کاملاً شناسایی نشده است [۲۹]. در این شرایط، درختان میوه علائم کلروز کمبود آهن را که اغلب، زرد شدن بین رگبرگ‌ها در برگ‌های جوان است، بروز می‌دهند [۳۷]. کلروز برگ‌ها ناشی از کمبود آهن به کاهش کلروفیل و در نتیجه کاهش بازده فتوسنتز و زنجیره انتقال الکترون منجر می‌شود و کربن‌سازی را به‌شدت کاهش می‌دهد. این شرایط موجب کاهش رشد، از بین رفتن برگ‌ها، کوتاه شدن عمر باروری [۵]، کاهش عملکرد و کیفیت میوه، تأخیر در رسیدن میوه و افزایش هزینه‌های مدیریتی باغ می‌شود [۲۳].

یک روش مقرون‌به‌صرفه، کارآمد و پرکاربرد برای

2. Fe³⁺
3. H+ATPase

1. HCO₃⁻

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

انجام گرفت. چهار پایه مورد استفاده در آزمایش شامل دانه‌های یکساله هلو (رقم 'آلبرتا')، بادام تلخ و نهال‌های ریشه‌دار شده دو هیبرید هلو و بادام GF677 و GN15 بود. پایه‌های هیبرید GF677 و GN15 از جمله پایه‌های پررشد با مقاومت نسبی به آهک خاک هستند که در اروپا در سطح وسیع استفاده می‌شوند. پایه هلو کم‌رشدتر از این هیبریدها بوده و پایه اول درختان بادام در آمریکاست. پایه بادام با وجود رشد کندتر در مقایسه با پایه‌های مذکور، اما سازگاری خوبی با شرایط آب‌وهوایی برخی کشورهای خاورمیانه از جمله ایران دارد.

این گیاهان که دارای رشد یکنواخت بودند، در اوایل فروردین در گلدان‌های ۷ لیتری حاوی کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ کشت شده و برای گیرایی بهتر و کاهش تلفات، به مدت یک هفته در گلخانه نگهداری و سپس به فضای آزاد منتقل شدند. در طول هشت هفته اول، گیاهان با محلول غذایی هوگلند (جدول ۱) با نصف غلظت (برای همه عناصر به جز عنصر آهن) تغذیه شدند (جدول ۱) [۲۳].

سنجش فعالیت آنزیم‌های حاوی آهن مانند سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز را شاخص مهم بیوشیمیایی بررسی کمبود آهن پیشنهاد کرده‌اند [۳۵، ۴]. گزینش ارقام و پایه‌های متحمل به کلروز برگ‌های ناشی از کمبود آهن نه تنها در توسعه باغ‌های جدید، بلکه در زمینه اصلاح ارقام و همچنین شناخت بهتر فیزیولوژی تحمل به کلروز کمبود آهن مفید خواهد بود. هدف پژوهش حاضر، بررسی تحمل چهار پایه از درختان میوه هسته‌دار به شرایط کمبود آهن و حضور یون‌های بی‌کربنات در محیط ریشه و بررسی غلظت آهن کل و فعال در ریشه و برگ‌ها به منظور تعیین سازوکارهای تحمل احتمالی پایه‌ها به این شرایط بود.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد گیاهی و تیمارهای غذایی

این پژوهش به منظور بررسی تحمل به کلروز کمبود آهن در چهار پایه هسته‌دار، در قالب یک آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، در سال ۱۳۹۱

جدول ۱. ترکیب شیمیایی محلول غذایی مورد استفاده

عناصر ماکرو		عناصر میکرو		ماده شیمیایی	غلظت (mM)
ماده شیمیایی	غلظت (mM)	ماده شیمیایی	غلظت (μM)		
KNO ₃	۲/۵	H ₃ BO ₃	۴۶/۲	KHCO ₃ *	۱۰
Ca(NO ₃) ₂	۲/۵	MnCl ₂	۹/۲		
KH ₂ PO ₄	۱	ZnSO ₄	۲/۴		
MgSO ₄	۱	CuSO ₄	۰/۳۸		
-	-	Na ₂ MoO ₄	۰/۱۲		
-	-	Fe(III)EDTA	۹۰		

*: بی‌کربنات پتاسیم به منظور افزایش اسیدیته محلول غذایی استفاده شد.

به‌زرای کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴

۳۴۳

یا ریشه) اضافه شد و به مدت ۱۶ ساعت در همین حالت قرار گرفت. بعد از طی این مرحله، محلول صاف شد [۴۱]. در نهایت غلظت آهن کل و فعال با دستگاه جذب اتمی (مدل ۲۲۰ واریان، استرالیا) سنجیده شد.

۳.۲. سنجش فعالیت آنزیمی

برای تهیه عصاره آنزیمی از آخرین برگ‌های کاملاً توسعه یافته که دمایشان به سرعت با استفاده از نیتروژن مایع کاهش یافته بود و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شده بودند، استفاده شد. مقداری از بافت برگ با نیتروژن مایع درون هاون چینی کاملاً خرد شده و ۰/۱ گرم از بافت پودر شده جدا شد. بافر استخراج برای سنجش فعالیت کاتالاز شامل فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، اسیدیت ۷ و EDTA با غلظت ۲ میلی‌مولار بود. برای استخراج آسکوربات پراکسیداز از بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، EDTA با غلظت ۱ میلی‌مولار، PVP^۲ ۱ درصد وزن به حجم، تریتون ۰/۱ نسبت حجم به حجم و آسکوربات ۱ میلی‌مولار استفاده شد. ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج به هر یک از نمونه‌های برگ اضافه شد و عصاره تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و محلول شناور برداشته شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز، ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج، ۴/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی ترکیب شده و بلافاصله تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه و با فواصل ده ثانیه‌ای توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰، استرالیا^۳) اندازه‌گیری شد [۸]. شدت فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب جذب آب اکسیژنه در طول موج

تغذیه یک روز در میان انجام گرفت و در هر نوبت، ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول غذایی برای هر گلدان استفاده شد. پس از هشت هفته تغذیه با محلول غذایی یکسان، تیمارهای غذایی در سه سطح شامل: هوگلند فاقد آهن با اسیدیت ۶؛ هوگلند حاوی ۹۰ میکرومولار آهن با اسیدیت ۶ (شاهد)؛ و هوگلند حاوی ۹۰ میکرومولار آهن با ۱۰ میلی‌مولار بی‌کربنات پتاسیم و اسیدیت ۸ (بی‌کربنات پتاسیم با غلظت ۱۰ میلی‌مولار برای افزایش اسیدیت تیمار مورد نظر تا ۸ استفاده شد)، به مدت پنج هفته و هر بار ۴۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان استفاده شد. حجم محلول غذایی طوری تنظیم شد که مقداری از آن از انتهای گلدان‌ها خارج شود. برای جلوگیری از تجمع نمک، گلدان‌ها به صورت هفتگی با آب به اندازه‌ای که از انتهای گلدان‌ها خارج شود، شست‌و شو داده شدند.

۲.۲. اندازه‌گیری آهن کل و فعال

پس از پنج هفته تیمار غذایی، نمونه‌های برگ (آخرین برگ‌های کاملاً توسعه یافته) و ریشه نهال‌ها برای اندازه‌گیری آهن کل و فعال تهیه شد. برای این منظور، نمونه‌های گیاهی (برگ و ریشه) در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس آسیاب شدند. برای اندازه‌گیری آهن کل، به ۱ گرم پودر گیاه، ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتربیک غلیظ (۶۵ درصد) افزوده شد. نمونه‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفتند. بعد از سرد شدن نمونه‌ها تا دمای آزمایشگاه، ۲/۶ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۲۰ درصد به آنها افزوده شد و پس از صاف کردن، با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شدند [۲].

برای اندازه‌گیری آهن فعال یا دو ظرفیتی^۱، ۱۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک یک نرمال به ۱ گرم نمونه گیاهی (برگ

2. Polyvinylpyrrolidone

3. Cary 100, Australia

1. Fe²⁺

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

اندازه‌گیری شد. در نهایت غلظت پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد [۴۳].

۲.۵. غلظت کلروفیل

۰/۲۵ گرم از برگ تازه در یک هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر ساییده شد و به‌صورت تودهٔ یکنواختی در آمد (عمل ساییدن و له کردن بافت برگ‌گی در محیط خنک و کم‌نور انجام گرفت). مخلوط حاصل با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از مخلوط به‌دست‌آمده با ۴/۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی برداشته شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد. در پایان، غلظت کلروفیل کل با استفاده از رابطهٔ ۲ محاسبه شد [۲۰]:

(۲)

$$\text{غلظت کلروفیل کل} = (A_{646} \times 20/2) + (A_{663} \times 8/0.2)$$

(میلی‌گرم در لیتر)

تجزیهٔ آماری داده‌ها با استفاده از برنامهٔ آماری SAS (نسخهٔ ۹/۱)، با کمک رویهٔ GLM و مقایسهٔ میانگین‌ها با کمک آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

۳. نتایج و بحث

۳.۱. آهن کل و فعال در برگ و ریشه

اثر تیمار غذایی، پایه و برهمکنش آنها بر غلظت آهن کل برگ و ریشه در سطح ۱ درصد معنادار شد (جدول ۲). بیشترین آهن کل برگ در هر چهار پایه مربوط به تیمار غذایی حاوی آهن بود و به‌دنبال آن تیمارهای غذایی حاوی بی‌کربنات و فاقد آهن قرار داشتند. در شرایط تیمار غذایی شاهد حداکثر غلظت آهن کل، در برگ‌های هلو و

۲۴۰ نانومتر ($\epsilon = 0.036 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و رابطهٔ ۱، برحسب واحد در گرم برگ تازه محاسبه شد:

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

در این رابطه، A معادل جذب اندازه‌گیری‌شده، ϵ ضریب جذب، c غلظت پراکسید هیدروژن و b عرض کوئت (۱ سانتی‌متر) است. هر یک واحد از فعالیت کاتالاز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب تجزیهٔ ۱ میکرومول پراکسید هیدروژن در هر دقیقه می‌شود.

برای اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز، ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج، ۴/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ گیاهی ترکیب شده و بلافاصله تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت دو دقیقه با فواصل ده ثانیه‌ای با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [۳۳]. شدت فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر ($\epsilon = 2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) و رابطهٔ ۱، برحسب واحد در گرم وزن تازه برگ محاسبه شد. هر یک واحد فعالیت آسکوربات پراکسیداز، مقداری از آنزیم در نظر گرفته شد که موجب اکسید شدن ۱ میکرومول آسکوربات در هر دقیقه می‌شود.

۲.۴. اندازه‌گیری غلظت پراکسید هیدروژن

برای تعیین غلظت پراکسید هیدروژن از برگ‌های نگهداری‌شده در فریزر ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد استفاده شد. ۰/۵ گرم از بافت برگ در یخ با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (وزنی به حجمی) ساییده شد. عصارهٔ حاصل در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (اسیدیتهٔ ۷) و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر

راضیه رستمی و همکاران

پایه‌های GF677 (۱۱ درصد)، GN15 (۱۰ درصد) و بادام تلخ (۱۰ درصد) در مقایسه با گیاهان شاهد نشد. در محلول غذایی فاقد آهن هیچ‌یک از پایه‌ها از نظر غلظت آهن کل برگ اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند (جدول ۳).

پایه GN15 مشاهده شد و پایه‌های GF677 و بادام تلخ مقادیر کمتری از آهن در برگ‌های خود داشتند. پایه هلو بیشترین کاهش (۴۲ درصد) در غلظت آهن کل برگ را در تیمار غذایی حاوی بی‌کربنات داشت، درحالی که حضور یون‌های بی‌کربنات سبب کاهش معنادار آهن کل در برگ

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر تیمار غذایی و پایه بر مقدار آهن کل و فعال برگ و ریشه

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
آهن فعال ریشه	آهن فعال برگ	آهن کل ریشه	آهن کل برگ		
۱/۳۵	۲/۷۶	۷۶/۵۸	۸۰/۳۰	۳	بلوک
۲۴۱۶۴/۳۳**	۴۰۱۷/۶۶**	۱۸۹۳۰۴/۰۸**	۶۴۴۰۳/۰۶**	۲	تیمار غذایی
۵۲۲۳/۴۶**	۲۰۱/۷۴**	۱۱۰۴۲/۹۱**	۲۷۳۳/۹۹**	۳	پایه
۲۶۵۷/۶**	۳۸/۲۱**	۳۵۷۶/۸۳**	۳۰۱۷/۷۶**	۶	تیمار غذایی × پایه
۲۶/۹۶	۷/۱۹	۱۶۴/۳۱	۱۸۹/۹	۳۳	اشتباه آزمایشی
۳/۳۰	۴/۴۴	۳/۵۰	۹/۷۹	-	ضریب تغییرات (%)

** اختلاف معنادار در سطح ۱ درصد.

جدول ۳. مقدار آهن کل و فعال برگ و ریشه (میلی‌گرم در کیلوگرم گرم وزن خشک) در چهار پایه هلو، بادام، GF677 و GN15 در تیمارهای غذایی فاقد آهن، حاوی آهن و حاوی آهن به‌همراه بی‌کربنات پتاسیم

پایه	تیمار	آهن کل برگ (mg/kg)	آهن کل ریشه (mg/kg)	آهن فعال برگ (mg/kg)	آهن فعال ریشه (mg/kg)
	فاقد آهن	۶۴/۱۵ ^e	۲۹۹/۷۵ ^f	۵۲/۲۰ ^{def}	۱۷۱/۵ ^d
بادام	حاوی آهن	۱۶۴/۵ ^{cd}	۴۸۶/۷۵ ^b	۷۶/۲۲ ^b	۱۹۱ ^c
	آهن + بی‌کربنات	۱۴۷/۵ ^d	۴۵۹ ^c	۵۶/۲۲ ^c	۱۵۳/۵ ^e
	فاقد آهن	۶۸/۳۲ ^e	۲۵۷/۲۵ ^g	۴۴/۸ ^g	۱۳۲/۲۵ ^f
هلو	حاوی آهن	۲۵۸/۲۵ ^a	۵۵۵/۵ ^a	۷۷/۰۵ ^b	۲۳۸/۷۵ ^a
	آهن + بی‌کربنات	۱۴۹ ^d	۳۹۲/۵۰ ^e	۴۳/۴۷ ^g	۹۵/۲۵ ^h
	فاقد آهن	۸۱/۸۲ ^e	۲۸۶/۲۵ ^f	۵۷/۵ ^c	۱۲۹/۵ ^f
GF677	حاوی آهن	۱۶۵/۷۵ ^{cd}	۴۶۲/۲۵ ^c	۸۲/۱۷ ^a	۱۵۱ ^e
	آهن + بی‌کربنات	۱۴۶/۷۵ ^d	۴۰۵/۲۵ ^c	۵۵/۲ ^{cde}	۱۰۳/۲۵ ^g
	فاقد آهن	۷۱/۰۷ ^e	۲۳۶/۷۵ ^h	۴۸/۷۲ ^f	۱۶۶ ^d
GN15	حاوی آهن	۱۹۴/۷۵ ^b	۴۳۱/۵ ^d	۷۹/۱۵ ^{ab}	۲۱۴/۵ ^b
	آهن + بی‌کربنات	۱۷۶/۵۱ ^{bc}	۳۸۵/۲۵ ^e	۵۱/۵۷ ^{ef}	۱۳۶/۲۵ ^f

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معناداری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند.

به‌زرعی کشاورزی

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

بی‌کربنات (۱۹/۶ درصد) نسبت به محلول غذایی شاهد نشان داد. بیشترین کاهش آهن فعال ریشه در محلول غذایی حاوی بی‌کربنات مربوط به پایه هلو با ۶۰ درصد کاهش بود. در تیمار شاهد غلظت آهن فعال ریشه در پایه GN15 به مراتب بیشتر از پایه GF677 بود، ولی در شرایط تغذیه با بی‌کربنات پایه GN15 واکنش منفی به نسبت بیشتری در مقایسه با GF677 نشان داد (جدول ۳).

در هر چهار پایه بررسی شده، وجود یون‌های بی‌کربنات موجب کاهش بیشتر غلظت آهن فعال ریشه در مقایسه با تیمار غذایی فاقد آهن شد، در حالی که مقدار آهن کل ریشه در نهال‌های تیمار شده با محلول حاوی بی‌کربنات بیشتر از نهال‌های پرورش یافته در محیط فاقد آهن بود.

حضور یون‌های بی‌کربنات در محیط ریشه، احتمالاً به دلیل افزایش اسیدیته آپوپلاست، موجب به دام افتادن مقدار زیادی از آهن در آپوپلاست سلول‌های ریشه می‌شود و انتقال آهن به سمت سلول‌های آوندی ریشه را محدود می‌کند. گیاهان دچار کلروز برگ، اغلب آهن فراوانی در ریشه‌های خود دارند و کلروز در آنها ممکن است مربوط به عدم تحرک کافی آهن در ریشه و انتقال آن به اندام هوایی باشد. هنوز مشخص نیست چه نسبتی از آهن جذب شده در ریشه بدون حرکت باقی می‌ماند و چه مقدار از آن به اندام‌های هوایی انتقال می‌یابد [۳۰].

در مقایسه چهار پایه بررسی شده در این آزمایش، پایه بادام تلخ کمترین کاهش آهن کل و فعال ریشه را در هر دو تیمار غذایی فاقد آهن و بی‌کربنات نسبت به تیمار غذایی شاهد داشت. در شرایط حضور یون‌های بی‌کربنات، بیشترین کاهش آهن کل برگ در پایه هلو مشاهده شد و در این شرایط، آهن کمتری به اندام هوایی نهال‌های هلو منتقل شد.

در شرایط کمبود آهن، پایه حساس GF305 در مقایسه با سه هیبرید هلو و بادام متحمل‌تر (GF677، PR 204/84

گیاهان تغذیه شده با تیمار غذایی شاهد، بیشترین غلظت آهن کل ریشه را داشتند و بعد از آن تیمارهای غذایی حاوی بی‌کربنات و فاقد آهن قرار گرفتند. بیشترین کاهش آهن کل ریشه در تیمار غذایی بی‌کربنات مربوط به پایه هلو (۳۰ درصد) و کمترین کاهش مربوط به بادام تلخ (۶ درصد) بود. هیبریدهای هلو و بادام حد واسط این دو پایه بودند. در هر چهار پایه بررسی شده، حداقل غلظت آهن کل ریشه در تیمار غذایی فاقد آهن مشاهده شد که البته در همین شرایط نیز پایه‌های بادام تلخ و GF677 وضعیت بهتری نسبت به هلو و GN15 داشتند (جدول ۳).

اثر تیمار غذایی، پایه و برهمکنش آنها بر غلظت آهن فعال برگ و ریشه در سطح ۱ درصد معنادار شد (جدول ۲). تیمارهای غذایی فاقد آهن و حاوی یون‌های بی‌کربنات، موجب کاهش آهن فعال برگ نسبت به تیمار غذایی شاهد شدند. در تیمار غذایی حاوی بی‌کربنات کمترین مقدار آهن فعال در برگ پایه هلو و بیشترین مقدار در برگ پایه بادام تلخ و GF677 مشاهده شد. در شرایط حضور یون‌های بی‌کربنات، پایه GN15 در مقایسه با پایه هلو غلظت بیشتری از آهن فعال در برگ خود داشت. به جز پایه بادام تلخ، بین آهن فعال برگ دیگر پایه‌ها در محلول غذایی حاوی بی‌کربنات و فاقد آهن اختلاف معناداری وجود نداشت و این پایه در حضور بی‌کربنات هم سطح بالاتری از آهن فعال را نسبت به تیمار فاقد آهن داشت. در تیمار غذایی فاقد آهن، بیشترین غلظت آهن فعال در برگ پایه GF677 و کمترین آن در پایه هلو مشاهده شد و پایه‌های بادام تلخ و GN15 حد واسط این پایه‌ها بودند (جدول ۳).

بیشترین مقدار آهن فعال ریشه مربوط به تیمار غذایی شاهد و کمترین غلظت آن مربوط به تیمار غذایی حاوی بی‌کربنات بود. پایه بادام تلخ کاهش کمتری در آهن فعال ریشه در هر دو شرایط فاقد آهن (۱۰ درصد) و حضور

به طور کلی، در تیمار حاوی بی کربنات نسبت به تیمار غذایی شاهد، غلظت آهن کل برگ ۲۰ درصد کاهش یافت، در صورتی که آهن فعال برگ ۷۸ درصد کاهش پیدا کرد. در ریشه‌ها نیز در شرایط حضور بی کربنات، مقدار آهن کل ۱۷ درصد کاهش یافت، ولی آهن فعال ۳۸ درصد کاهش را نسبت به تیمار غذایی شاهد نشان داد. این موضوع نشان می‌دهد که آهن کل شاخص مناسبی برای ارزیابی وضعیت آهن در گیاهان نیست و سنجش آهن فعال شاخص مطمئن‌تری است.

در خاک‌های آهنکی به علت مقدار ناکافی آهن در سیمپلاست، رشد برگ کاهش می‌یابد، در حالی که آهن هنوز از ریشه‌ها و از طریق آوندها به آپوپلاست سلول‌های برگ منتقل می‌شود [۲۱]. اغلب بین آهن کل در برگ‌ها و شدت کلروز همبستگی وجود ندارد، از این رو بررسی آهن کل برگ به عنوان یک روش، دارای محدودیت جدی برای ارزیابی کلروز کمبود آهن ناشی از آهن است [۳۷]. تأثیر بسیار ضعیف آهن کل در تشخیص کلروز کمبود آهن در مرکبات [۳۱] و هلو [۲۷] نیز نشان داده شده است. پژوهش حاضر نشان داد که سنجش آهن فعال ارتباط خیلی بهتری با کلروز کمبود آهن دارد.

بررسی نسبت آهن فعال به آهن کل برگ در نهال‌های پرورش یافته با محلول غذایی حاوی آهن و بی کربنات نشان داد که بیشترین نسبت مربوط به پایه‌های بادام تلخ (۳۸ درصد) و GF677 (۳۷ درصد) بود و در پایه GN15 (۲۹ درصد) و هلو (۲۹ درصد) نسبت کمتری از آهن در برگ‌ها به صورت فعال وجود داشت (جدول ۳). از شاخص‌های مهم در پایه‌های متحمل به کلروز ناشی از کمبود آهن، داشتن سهم و نسبت بیشتر آهن فعال به آهن کل است که در فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهان اهمیت دارد [۱۴].

و KID2)، فعالیت فریک کلات ردوکتاز و درصد بیشتری آهن در ریشه‌های خود داشت، ولی غلظت آهن در قسمت‌های هوایی این پایه کمتر بود. انتقال کمتر آهن به اندام‌های هوایی ممکن است به دلیل غیرفعال شدن آهن در ریشه GF305 باشد؛ در نتیجه برخلاف فعالیت زیاد فریک کلات ردوکتاز و ورود آهن کافی به ریشه‌ها، این پایه حساسیت زیادی به کلروز کمبود آهن دارد [۶].

در پایه‌های بادام، GF677 و GN15 غلظت آهن کل برگ در نهال‌های شاهد و پرورش یافته در محلول حاوی بی کربنات فاقد اختلاف معنادار بود. بنابراین در تیمار بی کربنات و اسیدیته زیاد، آهن به خوبی از ریشه به اندام هوایی این پایه‌ها انتقال یافت. از طرف دیگر، مقدار آهن فعال در دو پایه هیبرید هلو و بادام در تیمار بی کربنات کاهش یافت و احتمالاً مقدار زیادی از آهن در آپوپلاست برگ‌های این دو پایه به شکل غیرفعال تبدیل شد. آهن در آپوپلاست بافت برگ از مسیر غشای پلاسمایی به سیتوپلاسم منتقل می‌شود و این امر مستلزم آن است که آهن در آپوپلاست برگ به شکل فرو احیا شود و به طور فعال از غشای پلاسمایی به سیمپلاست انتقال یابد [۴۰]. در شرایط اسیدیته زیاد، آهن ممکن است به صورت هیدروکسید آهن یا فسفات آهن اکسید شود و در فضای دیواره سلولی برگ رسوب کند [۲۶].

افزایش اسیدیته آپوپلاست توسط یون‌های بی کربنات ممکن است دسترسی آهن را در بافت برگ کاهش دهد. وجود یون‌های بی کربنات سبب محدود شدن انتقال آهن از رگبرگ‌ها و آپوپلاست برگ به سیتوپلاسم سلول‌های برگ می‌شود [۳۰]. پایه بادام تلخ علاوه بر انتقال کافی آهن به اندام هوایی دارای بیشترین غلظت آهن فعال برگ در حضور یون‌های بی کربنات بود.

1. Fe²⁺

به زراعی کشاورزی

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

۲.۳. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات

پراکسیداز

تأثیر تیمار غذایی، پایه و برهمکنش آنها بر فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در سطح ۱ درصد معنادار شد (جدول ۴). فعالیت کاتالاز در محلول فاقد آهن و محلول با اسیدیتته زیاد کاهش یافت و به‌طور کلی، فعالیت کاتالاز در تیمار غذایی شاهد بیش از دوبرابر دیگر تیمارهای غذایی بود. کمترین کاهش فعالیت کاتالاز در تیمار حاوی بی‌کربنات در پایه بادام تلخ (۳۷ درصد) و GF677 (۴۷ درصد) مشاهده شد. اگرچه فعالیت کاتالاز در هلو در تیمار غذایی شاهد زیاد بود، این پایه در شرایط حضور بی‌کربنات، ۴/۵ برابر کاهش فعالیت آنزیم را نشان داد. پایه GN15 از نظر کاهش فعالیت کاتالاز در حضور بی‌کربنات، حد واسط پایه‌های ذکر شده قرار گرفت. فعالیت کاتالاز در برگ پایه‌های GF677 و GN15 در محیط فاقد آهن به‌طور معناداری بیشتر از بادام تلخ و هلو بود (جدول ۵).

بیشترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز نیز در تیمار غذایی شاهد مشاهده شد. بیشترین و کمترین فعالیت آسکوربات پراکسیداز در تیمار مربوط به هلو و بادام تلخ بود، ولی در همین حال در محلول غذایی حاوی

بی‌کربنات، بیشترین کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد مربوط به پایه هلو (۶۰ درصد) و کمترین کاهش مربوط به بادام (۳۳ درصد) بود. میزان کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در هیبریدهای هلو و بادام در شرایط اسیدیتته زیاد، حد واسط دو پایه بود. پایه‌های GN15 و هلو در تیمار فاقد آهن، بیشترین کاهش فعالیت آنزیمی (به‌ترتیب ۷۷ و ۶۷ درصد نسبت به تیمار شاهد) را نشان دادند، درحالی که این کاهش برای بادام (۴۱ درصد) و GF677 (۵۶/۵ درصد) به‌نسبت کمتر بود (جدول ۵).

فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در پایه‌های متحمل بادام تلخ و GF677 در شرایط حضور بی‌کربنات، بیشتر از GN15 و هلو بود. برخلاف غلظت آهن کل برگ که در شرایط حضور یون‌های بی‌کربنات در پایه‌های بادام، GF677 و GN15 اختلاف معناداری با شاهد نداشتند، ولی با مقایسه فعالیت آنزیمی در این سه پایه، بیشترین کاهش فعالیت مربوط به پایه GN15 بود و فعالیت کاتالاز در حدود ۵۰ درصد و فعالیت آسکوربات پراکسیداز ۴۸ درصد کاهش نشان داد.

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر تیمار غذایی و پایه بر فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، غلظت پراکسید هیدروژن و کلروفیل

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییرات
کلروفیل	پراکسید هیدروژن	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز		
۰/۰۱	۰/۱۰	۰/۰۰۷	۲۸/۱۳	۳	بلوک
۱۳**	۱/۶۲**	۱۳/۱۴**	۱۸۲۲۵/۱۱**	۲	تیمار غذایی
۳/۷۴**	۰/۵۷**	۳/۵۶**	۳۳۶۹/۹۹**	۳	پایه
۲/۳۲**	۰/۱۶*	۱/۴**	۱۰۵۰/۹۳**	۶	تیمار غذایی × پایه
۰/۰۱	۰/۰۶	۰/۰۳	۳۷/۸۴	۳۳	اشتباه آزمایشی
۷/۳۴	۱۳/۸۹	۱۰/۸۸	۹/۹۴	-	ضریب تغییرات (%)

***، **: بیانگر اختلاف معنادار در سطح ۱ و ۵ درصد.

به‌زرعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۴

۳۴۹

راضیه رستمی و همکاران

جدول ۵. فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز (واحد در گرم وزن تازه)، پراکسید هیدروژن (میکرومول در گرم وزن تازه) و غلظت کلروفیل (میلی گرم در گرم وزن تازه) در چهار پایه هلو، بادام، GF677 و GN15 در تیمارهای غذایی فاقد آهن، حاوی آهن و حاوی آهن به همراه بی کربنات پتاسیم

پایه	تیمار	کاتالاز (U/g)	آسکوربات پراکسیداز (U/g)	پراکسید هیدروژن (μmol/g)	کلروفیل (mg/g)
بادام	فاقد آهن	۳۸/۴۸ ^g	۰/۶۷ ^h	۱/۷۴ ^{cde}	۰/۷۴ ^h
	حاوی آهن	۷۴/۷۶ ^d	۱/۱۵ ^{fg}	۱/۴۱ ^e	۱/۰۲ ^f
	آهن + بی کربنات	۴۶/۵۴ ^{fg}	۰/۷۷ ^h	۱/۵۱ ^{de}	۰/۷۹ ^{gh}
هلو	فاقد آهن	۴۱/۱۵ ^{fg}	۱/۲۹ ^{ef}	۲/۱۸ ^{abc}	۰/۷۷ ^h
	حاوی آهن	۱۱۹/۵۶ ^b	۳/۹۵ ^a	۱/۳۴ ^e	۴/۰۴ ^a
	آهن + بی کربنات	۲۶/۳۹ ^h	۱/۵۵ ^{de}	۲/۴ ^{ab}	۰/۹ ^{fgh}
GF677	فاقد آهن	۶۱/۷۷ ^e	۰/۹۲ ^{gh}	۱/۶۹ ^{de}	۲/۲۵ ^d
	حاوی آهن	۱۴۱/۵ ^a	۲/۱۲ ^c	۱/۲۹ ^e	۲/۹۳ ^b
	آهن + بی کربنات	۷۴/۱۲ ^d	۱/۲۷ ^f	۱/۹۴ ^{bcd}	۱/۱۹ ^e
GN15	فاقد آهن	۶۲/۴۵ ^e	۰/۷۶ ^h	۲/۱۶ ^{abc}	۱/۰۵ ^{ef}
	حاوی آهن	۹۸/۳۱ ^c	۳/۳۸ ^b	۱/۵۳ ^{de}	۲/۵۳ ^c
	آهن + بی کربنات	۴۹/۸۵ ^f	۱/۷۷ ^d	۲/۵۴ ^a	۰/۹۵ ^{fg}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه، اختلاف معناداری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند.

سیتروملو^۱ مشاهده شد که در برگ‌های دچار فقر آهن، فعالیت کاتالاز کاهش می‌یابد و بین شدت کلروز و شدت فعالیت کاتالاز همبستگی وجود دارد؛ از این رو فعالیت این آنزیم، شاخصی قابل اتکا در بررسی کلروز کمبود آهن به‌شمار می‌آید [۱۲]. فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان ذرت دچار کمبود آهن کاهش می‌یابد و کاهش این آنزیم‌ها مانع تأثیر اساسی آنها در زدودن گونه‌های اکسیژن فعال در شرایط کمبود آهن می‌شود [۳۶].

۳.۳. پراکسید هیدروژن

تأثیر تیمار غذایی و پایه در سطح ۱ درصد و برهمکنش آنها در سطح ۵ درصد بر غلظت پراکسید هیدروژن

در حضور بی کربنات پایه‌های بادام تلخ و GF677 که کمترین کاهش را در آهن فعال برگ داشتند، فعالیت آنزیمی خود را نیز بهتر حفظ کردند، در صورتی که پایه هلو با بیشترین کاهش مقدار آهن فعال، بیشترین کاهش فعالیت آنزیمی را نیز در محلول غذایی حاوی بی کربنات نشان داد.

در شرایط کمبود آهن، فعالیت آسکوربات پراکسیداز کاهش می‌یابد، زیرا آهن برای بیان ژن‌های تولیدکننده این آنزیم ضروری است [۱۷]. کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز حاوی آهن هستند و فعالیت آنها تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد. این آنزیم‌ها دارای آهن پورفیرین هستند و عامل ویژه‌ای در متابولیسم گیاه به‌شمار می‌روند [۷].

در پژوهشی درباره دو پایه پرتقال شامل نارنج و

1. Citrumelo

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به‌علت دسترسی ناکافی به آهن باشد [۱۶].

کاهش فعالیت کاتالاز و پراکسیداز در مرکبات در شرایط کمبود آهن، تولید پراکسید هیدروژن و سایر گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داد و به تنش‌های اکسیداتیو منجر شد [۱۹]. در پژوهشی، با بررسی غلظت پراکسید هیدروژن در دو پایه GF677 و کادامن در تیمارهای فاقد آهن و بی‌کربنات، افزایش غلظت پراکسید هیدروژن و کاهش فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به‌ویژه در پایه حساس‌تر کادامن و در تیمار حاوی بی‌کربنات مشاهده شد [۳۰]. در پژوهش حاضر، بیشترین غلظت پراکسید هیدروژن در تیمارهای بی‌کربنات و فاقد آهن مشاهده شد که در این تیمارها فعالیت آنزیمی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) کمتری دیده شد. پایه‌های GN15 و هلو با کاهش بیشتر فعالیت آنزیمی، بیشترین افزایش پراکسید هیدروژن را در تیمارهای مذکور داشتند که ممکن است آنها را در مقابل تنش‌های اکسایشی ناشی از کمبود آهن حساس‌تر کند.

۴.۳. غلظت کلروفیل

تأثیر تیمار غذایی، پایه و برهمکنش آنها بر غلظت کلروفیل کل در سطح ۱ درصد معنادار شد (جدول ۴). کمبود آهن و حضور یون‌های بی‌کربنات در محلول غذایی موجب کاهش کلروفیل شد. بیشترین غلظت کلروفیل در همه پایه‌ها مربوط به تیمار غذایی شاهد بود. بیشترین غلظت کلروفیل در تیمار غذایی شاهد در برگ‌های هلو و به‌دنبال آن پایه‌های هیبرید هلو و بادام GF677 و GN15 مشاهده شد و برگ‌های بادام دارای کمترین غلظت کلروفیل بودند. پایه هلو بیشترین کاهش کلروفیل برگ را در تیمارهای غذایی فاقد آهن (۸۰ درصد) و حاوی بی‌کربنات (۷۷ درصد)، نسبت به تیمار شاهد داشت. کمترین کاهش

معنادار شد (جدول ۴). به‌طور کلی، در مقایسه با محلول غذایی شاهد، تیمارهای غذایی فاقد آهن و حاوی آهن با اسیدیته زیاد، موجب افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در برگ‌ها شدند. البته افزایش غلظت پراکسید هیدروژن برگ‌ها در تیمار غذایی حاوی آهن و بی‌کربنات در پایه‌های بادام و GF677 و در تیمار غذایی فاقد آهن در بادام نسبت به گیاهان پرورش‌یافته در محلول غذایی شاهد معنادار نبود. در محلول غذایی شاهد بین پایه‌های مختلف از نظر غلظت پراکسید هیدروژن در برگ‌ها اختلاف معناداری وجود نداشت. بیشترین غلظت پراکسید هیدروژن در تیمارهای غذایی فاقد آهن یا حاوی بی‌کربنات در پایه‌های هلو و GN15 و کمترین غلظت در پایه‌های بادام و GF677 مشاهده شد (جدول ۵).

گزارش‌های مختلفی مبنی بر افزایش غلظت پراکسید هیدروژن در شرایط کمبود آهن وجود دارد [۳۵، ۳۶]. مقایسه پایه به BA29 و گلایبی رقم 'کانفرنس' نشان داد که تیمارهای غذایی فاقد آهن و حاوی آهن و بی‌کربنات موجب افزایش سطح پراکسید هیدروژن در پایه حساس BA29 شد، در صورتی که در رقم متحمل 'کانفرنس' افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تنها در تیمار فاقد آهن مشاهده شد [۱۶]. با حذف آهن از محیط رشد، مولکول اکسیژن می‌تواند یکی از پذیرنده‌های الکترون باشد و به O_2^- و در نهایت به پراکسید هیدروژن تبدیل شده و موجب آسیب‌های جبران‌ناپذیر بیوشیمیایی در بافت‌های مختلف گیاه شود [۴۴].

کمبود آهن موجب آسیب‌های بیوشیمیایی شدیدی شده و ضمن افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال، سبب خسارات برگشت‌ناپذیر به مولکول‌های زنده و نیز موجب آسیب‌دیدگی زنجیره انتقال الکترون در کلروپلاست می‌شود. افزایش سطح پراکسید هیدروژن ممکن است نتیجه ناکافی بودن فعالیت آنزیم‌های حاوی آهن از جمله

مشاهده نشد؛ در صورتی که بیشترین غلظت آهن فعال در برگ‌های سبز و کمترین مقدار آن در برگ‌های دارای کلروز مشاهده شد و رابطه‌ای منفی بین مقدار آهن فعال و درجه کلروز وجود داشت. بنابراین غلظت آهن فعال در مقایسه با غلظت آهن کل شاخص مناسبی برای سنجش درجه کلروز معرفی شد [۱۱].

۴. نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین تحمل به شرایط کمبود آهن و حضور بی‌کربنات مربوط به بادام تلخ و در پی آن پایه GF677 بود و هلو بیشترین حساسیت را به این شرایط داشت. تحمل هیبرید هلو و بادام GN15 حد واسط پایه‌های ذکر شده بود. در محیط حاوی آهن و بی‌کربنات، پایه هلو بیشترین کاهش جذب آهن توسط ریشه و انتقال آهن به برگ‌ها را داشت که نشان می‌دهد این پایه در خاک‌های آهکی حتی با تغذیه خاکی کودهای حاوی آهن نمی‌تواند رشد و کارکرد مناسبی داشته باشد. سنجش کلروفیل، آهن فعال و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که به نحوی نشان‌دهنده آهن درون سیتوپلاسم سلول‌اند، شاخص‌های مناسبی برای ارزیابی تحمل به کمبود آهن در مقایسه با سنجش آهن کل معرفی شدند.

منابع

۱. خلدبرین ب و اسلام زاده ط (۱۳۸۰) تغذیه معدنی گیاهان عالی. انتشارات دانشگاه شیراز. ۹۰۲ ص.
2. Abdel-Shafy H, Hegemann W and Teiner A (1994) Accumulation of metals by vascular plants. *Environmental Management and Health*. 5(2): 21-24.
3. Alcantara E, Cordeiro AM and Barranco D (2003) Selection of olive varieties for tolerance to iron chlorosis. *Plant Physiology*. 160: 1467-1472.

کلروفیل در تیمار حاوی آهن به همراه بی‌کربنات مربوط به پایه بادام تلخ (۲۲ درصد) بود. در محلول غذایی فاقد آهن دو پایه GF677 (۲۳ درصد) و بادام تلخ (۲۷ درصد)، کمترین کاهش کلروفیل را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند. پایه GN15 در مقایسه با GF677 کاهش بیشتری از نظر کلروفیل برگ در هر دو تیمار غذایی فاقد آهن و حاوی بی‌کربنات نشان داد، ولی تحمل آن به کاهش کلروفیل در این شرایط بیش از هلو بود (جدول ۵).

کمبود آهن موجب کاهش کلروفیل و بروز کلروز در درختان هلو پرورش یافته در خاک‌های آهکی شد [۳۴]. همچنین در محیط کشت هیدروپونیک، حذف آهن موجب کاهش کلروفیل در دو ژنوتیپ مختلف کیوی شد [۳۹]. کمبود آهن اغلب در ساختار و عملکرد کلروپلاست مؤثر است. بنابراین در صورت کمبود، کاهش غلظت آهن برگ با کاهش چشمگیر کلروفیل همراه است [۳۸]. کاهش کلروفیل در شرایط کمبود آهن به دلیل تأثیر آهن در سنتز دلتا آمینولولوبینیک اسید و پروتوکلروفیلد پیش ماده‌ی ضروری سنتز کلروفیل است [۱]. بروز کلروز آهن نتیجه کمبود آهن دوظرفیتی است که برای سنتز کلروفیل ضروری است [۲۸] و مقدار کلروفیل معیار قابل اعتمادی برای سنجش درجه کلروز و آهن فعال در گیاهان است [۲۷].

در تیمار بی‌کربنات، با اینکه اختلاف معناداری در غلظت آهن کل پایه‌های بادام تلخ، GF677 و GN15 با شاهد وجود نداشت، غلظت کلروفیل کاهش یافت. زیاد بودن غلظت آهن کل در برگ‌های دچار کلروز ناشی از کمبود آهن را پارادوکس کلروز آهن می‌نامند که در پی غیرفعال شدن آهن به علت اسیدیته زیاد آپوپلاست در گیاه اتفاق می‌افتد [۲۲].

در بررسی نه رقم هلو، مشاهده شد که مقدار آهن کل در برگ‌های دارای علائم کلروز بیشتر از برگ‌های سبز بود و رابطه معناداری بین شدت کلروز و غلظت آهن کل برگ

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

4. Almansa MS, Hernandea JA, Jimenez A, Botella MA and Sevilla F (2002) Effect of salt stress on the superoxide dismutase activity in leaves of *Citrus limonum* in different rootstock-scion combination. *Biologia Plantarum*. 45(4): 545-549.
5. Alvarez-Fernandez A, Melgar CJ, Abadia J and Abadia A (2011) Effects of moderate and severe iron deficiency chlorosis on fruit yield, appearance and composition in pear (*Pyrus communis* L.) and peach (*Prunus persica* L.) Batsch). *Environmental and Experimental Botany*. 71: 280-286.
6. Assimakopoulou A, Holevas CD and Fasseas K (2011) Relative susceptibility of some *Prunus* rootstocks in hydroponics to iron deficiency. *Plant Nutrition*. 34(7): 1014-1033.
7. Bannister JV, Bannister WH and Rotills G (1987) Aspects of the structure, function and application of superoxide dismutase. *Biochemical*. 22: 110-180.
8. Bergmeyer N (1970) *Method der enzymatic analyse*. Akademie Verlag, Berlin. Pp. 636-647.
9. Castle WS, Nunnallee J and Manthey JA (2009) Screening *Citrus* rootstocks and related selections in soil and solution culture for tolerance to low iron stress. *HortScience*. 44: 638-645.
10. Cellini A, Corpas FJ, Barros JB and Masia A (2011) Nitric oxide content is associated with tolerance to bicarbonate-induced chlorosis in micropropagated *Prunus* explants. *Plant Physiology*. 168: 1543-1549.
11. Celik H and Katkat AV (2007) Some Physical soil properties and potassium as an intensified factor on iron chlorosis. *Soil Science*. 2(4): 294-300.
12. Chouliars V, Therios I, Molassiotis A and Diamantidis G (2004) Iron chlorosis in grafted sweet orange (*Citrus sinensis* L.) plants physiological and biochemical responses. *Biologia Plantarum*. 48(1): 141-144.
13. Covarrubias J and Rombola A (2013) Physiological and biochemical responses of the iron chlorosis tolerant grapevine rootstock 140 Ruggeri to iron deficiency and bicarbonate. *Plant and Soil*. 370: 305-315.
14. Dasgan H, Ozturk L, Abak K and Cakmak I (2003) Iron deficiency symptoms in grapevine as affected by the iron oxide and carbonate contents of model substrates. *Plant and Soil*. 322: 293-302.
15. Donnini S, Castagna A, Ranieri A and Zocchi G (2009) Differential responses in pear and quince genotypes induced by Fe deficiency and bicarbonate. *Plant Physiology*. 166: 1181-1193.
16. Donnini S, Dellorto M and Zocchi G (2011) Oxidative stress responses and root lignification induced by Fe deficiency conditions in pear and quince genotypes. *Tree Physiology*. 31: 102-113.
17. Fourcroy P, Vansuyt G, Kushnir S, Inze D and Briat JF (2004) Iron-regulated expression of a cytosolic ascorbate peroxidase encoded by the APX1 gene in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiology*. 134(2): 605-613.
18. Gogorcena Y, Abadia J and Abadia A (2004) A new technique for screening iron-efficient genotypes in peach rootstocks: elicitation of root ferric chelate reductase by manipulation of external iron concentrations. *Plant Nutrition*. 27: 1701-1715.
19. Graziano M and Lamattina L (2005) Nitric oxide and iron in plants: an emerging and converging story. *Trends in Plant Science*. 10: 4-8.

20. Gross J (1991) Pigments in vegetables. Van Nostrand Reinhold, New York. P. 351.
21. Gruber B and Kosegarten H (2002) Depressed growth of non chlorotic vine grown in calcareous soil is an iron deficiency symptom prior to leaf chlorosis. *Plant Nutrition and Soil Science*. 164(2): 155-163.
22. Huang H, Hua CX, Tana Q, Huc X, Suna X and Bia L (2012) Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Scientia Horticulturae*. 146: 137-142.
23. Jimenez S, Pinochet J, Abadia A, Moreno M and Gogorcena Y (2008) Tolerance response to iron chlorosis of *Prunus* selections as rootstocks. *Scientia Horticulturae*. 43(2): 304-309.
24. Jimenez S, Pinochet J, Gogorcena Y, Betran JA and Moreno MA (2007) Influence of different vigour cherry rootstocks on leaves and shoots mineral composition. *Scientia Horticulturae*. 112: 73-79.
25. Jimenez S, Morales F, Abadia A, Abadia J, Moreno MA and Gogorcena Y (2009) Elemental 2-D mapping and changes in leaf iron and chlorophyll in response to iron re-supply in iron-deficient GF 677 peach-almond hybrid. *Plant and Soil*. 315: 93-106.
26. Kerkeb L and Connolly EL (2006) Iron transport and metabolism in plants Genetic Engineering. In: Setlow JK, Springer Publisher: 119-140.
27. Koseoglu AT and Acikgoz V (1995) Determination of iron chlorosis with extractable iron analysis in peach leaves. *Plant Nutrition*. 18(1): 153-161.
28. Ksouri R, Gharsalli M and Lachaalb M (2005) Physiological responses of Tunisian grapevine varieties to bicarbonate-induced iron deficiency. *Plant Physiology*. 162: 335-341.
29. Martinez-Cuenca MR, Legaz F, Forner-Giner MA, Primo-Millo E and Iglesias DJ (2013) Bicarbonate blocks iron translocation from cotyledons inducing iron stress responses in *Citrus* roots. *Plant Physiology*. 170: 899-905.
30. Mengel K (1994) Iron availability in plant tissues iron chlorosis on calcareous soils. *Plant and Soil*. 165: 275-283.
31. Mohammad MJ, Najim H and Khresat S (1998) Nitric acid and o-phenanthroline-extractable iron for diagnosis of iron chlorosis in *Citrus lemon* trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 29: 1035-1043.
32. Molassiotis A, Tanou G, Diamantidis G, Patakas A and Therios I (2006) Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. *Plant Physiology*. 163: 176-185.
33. Nakano Y and Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867-880.
34. Nedunchezian N, Morales F, Abadia A and Abadia J (1997) Decline in photosynthetic electron transport activity and change in thylakoid protein pattern in field grown iron deficient peach (*Prunus persica* L.). *Plant Science*. 129: 29-38.
35. Nenova VR and Stoyanov IG (2000) Effect of some growth regulators on young iron deficient maize Plants. *Biologia Plantarum*. 43(1): 35-39.

ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن

36. Noctor G and Foyer CH (1998) Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Plant Physiology*. 49: 249-279.
37. Pestana M, Varennes AD and Faria A (2003) Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review food. *Agriculture and Environment*. 1(1): 46-51.
38. Ranieri A, Castagna A, Bladan B and Soldatini GF (2001) Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *Experimental Botany*. 52(354): 25-35.
39. Rombola AD, Moog PR, Marangoni B, Abadia J, Tagliavini, M and Lopez-Millan AF (2002) Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*. 22: 869-875.
40. Schmidt W (1999) Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants: a review. *New Phytologist*. 141: 1-26.
41. Takkar PN and Kaur P (1984) HCL metod for Fe^{2+} estimation to resolve iron chlorosis in plants. *Plant Nutrition*. 7: 81-90.
42. Tewaria RK, Hadacekb F, Sassmannc S and Lange I (2013) Iron deprivation-induced reactive oxygen species generation leads to non-autolytic PCD in *Brassica napus* leaves. *Environmental and Experimental Botany*. 91: 74-83.
43. Velikova V, Yordanov I and Edreva A (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59-66.
44. Zaharieva T, Yamashita K and Matsumoto B (1999) Iron deficiency induced changes in ascorbate content and enzyme activities related to ascorbate metabolism in cucumber roots. *Plant and Cell Physiology*. 40: 273-280.

