Archive of SID

گزینش گامتوفیتی تحمل شوری در برخی ارقام مرکبات

اعظم برعندان[۱]، بهروز گلعین[۲*] و شهرام صداقت‌حور[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲۵)

چکیده

مرکبات جزء گیاهان حساس به شوری هستند، ولی میزان حساسیت یا تحمل ارقام مختلف در این گروه به شوری متفاوت است. برای گزینش گامتوفیتی تحمل شوری در برخی ژنوتیپ‌های مرکبات، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دانه گرده نارنگی کلئوپاترا (*Citrus reshni*) و پونسیروس (*Poncirus trifoliata*) به‌ترتیب به‌عنوان شاهد متحمل و حساس به شوری به‌همراه ۱۳ ژنوتیپ مرکبات در پنج سطح کلرید سدیم (صفر، ۰/۸، ۱/۶، ۲/۴ و ۳/۱ دسی‌زیمنس بر متر) و سه تکرار، در محیط کشت حاوی ۱۵٪ ساکارز، ۰/۷٪ آگار و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدبوریک، به اجرا در آمد. هم‌چنین به‌منظور درک واکنش‌های بیوشیمیایی دانه گرده به تنش شوری، دانه گرده ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در محیط کشت مایع و در سه سطح شوری صفر، ۰/۸ و ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفتند و میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX) مورد بررسی قرار گرفت. سطوح مختلف شوری بر جوانه‌زنی دانه گرده اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان داد، ولی در رشد لوله گرده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. دانه گرده کلئوپاترا شاخص رشد بهتری نسبت به پونسیروس نشان داد که بیانگر متحمل بودن این رقم است. میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های SOD و APX در سطح ۱٪ تحت‌تأثیر ژنوتیپ، سطح شوری و اثر متقابل آنها قرار گرفت. با توجه به سرعت و دقت این نوع آزمایش می‌توان این‌گونه عنوان داشت که ارزیابی واکنش دانه گرده مرکبات، امکان غربالگری اولیه ژنوتیپ‌های ناشناخته حساس و متحمل شوری را فراهم می‌آورد.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی دانه گرده، ژنوتیپ، شوری، مرکبات

۱ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد واحد رشت

۲. دانشیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی، پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، رامسر

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bgoleincitrus@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مرکبات از محصولات مهم باغبانی به‌شمار می‌روند که از دیرباز به‌عنوان بخشی از رژیم غذایی، دارای ارزش فراوانی بوده است (۱۲). شوری خاک و منابع آبی از مشکلات عمده توسعه کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک برای گیاهان حساس به شوری می‌باشد. محدودیت بارندگی، کاهش شستشوی خاک، آب حاوی املاح زیاد، زهکشی نامناسب خاک، هوازدگی سنگ‌ها، بالا آمدن سفره‌های آب زیرزمینی و استفاده بیش از حد کودها، همگی سبب شوری خاک می‌شوند (۲۷).

مرکبات جزء گیاهان حساس به شوری هستند اما میزان تحمل پایه‌های مختلف مرکبات به شوری، تفاوت‌های واضحی با یکدیگر نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال شوری در راف‌لمون (*Citrus jambhiri*) و پونسیروس در مقایسه با پایه‌های نارنج (*C. aurantium*) و نارنگی کلئوپاترا، باعث کاهش بیشتری در رشد می‌شود؛ در این گیاهان رشد تاج درخت بیشتر از سیستم ریشه تحت‌تأثیر شوری قرار می‌گیرد (۴ و ۳۵).

به‌منظور توسعه سطح زیرکشت مرکبات و افزایش تولید اقتصادی این محصول باید به‌دنبال روش‌هایی برای مقابله با شرایط نامساعد محیطی و کیفیت پائین آب و خاک باشیم. از مهم‌ترین روش‌هایی که می‌تواند در این زمینه مؤثر باشد، پژوهش هایی است که در جهت شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل و کاربرد آن در برنامه‌های به‌نژادی صورت می‌گیرد. با این وجود اکثر برنامه‌های به‌نژادی معمولاً نیاز به صرف زمان و هزینه های انسانی و مالی زیادی دارند که این موضوع در مورد گیاهان چندساله و چوبی نظیر مرکبات در مقایسه با گیاهان علفی و یک‌ساله از اهمیت بیشتری برخوردار است.

گامتوفیت نر به‌عنوان یک سیستم مناسب جهت تجزیه فرایندهای بیولوژی مهم در گیاهان عالی از قبیل نحوه تعیین سرنوشت سلول، رشد و طویل شدن سلول و پاسخ به تنش های مختلف زیستی و غیر زیستی می‌باشد (۵). اساس تئوری انتخاب گامتوفیتی بیان می‌دارد که انتخاب در میان گامتوفیت‌های هاپلوئید و هتروژن می‌تواند به‌طور مثبت با تغییرات بعدی در نتایج اسپوروفیت همبستگی داشته باشد. دانه گرده نه تنها به‌عنوان یک ناقل ژنتیکی عمل می‌کند، بلکه به‌عنوان یک موجود مستقل قابلیت بیان اطلاعات ژنتیکی خود را نیز دارد (۲۴). اندازه جمعیت بزرگ و نمایش مستقل صفات مغلوب به‌علت وجود حالت هاپلوئیدی از ویژگی‌های مهم دانه گرده می‌باشد که می تواند اهمیت گامتوفیت نر را در مطالعات به‌نژادی گیاهان روشن سازد. اگر هریک از مراحل رشدی گیاه ویژگی‌های ژنتیکی مخصوص و مستقل خود را نشان دهند، پس انتخاب برای یک صفت ویژه در دانه گرده می‌تواند منجر به تغییر بروز صفت در نتاج اسپوروفیتی بعدی گردد. هم‌چنین در صورت بیان مشترک بعضی ژن ها در هر دو مرحله، ژن های مذکور و صفات متأثر از آنها می توانند از اهداف گزینش در برنامه‌های به‌نژادی باشند (۱۸). پاسخ نسل گامتوفیت گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌تواند نمایانگر عکس‌العمل گیاه کامل به تنش‌های مربوطه باشد (۳۰). همانند سایر تنش های غیر زیستی مثل شدت نور، کمبود آب، دما، آلودگی و غیره، تنش شوری می‌تواند تأثیراتی روی دانه‌گرده داشته باشد (۱۷ و ۳۳). کاهش قابلیت زیستی دانه گرده تحت شرایط شوری به‌طور چشم‌گیری در گیاهان ذرت، نخود و ماش گزارش شده است (۹، ۱۰ و ۳۲).

تعیین درجه تحمل به شوری به‌دلیل آنکه وابسته به عوامل متعددی مانند شرایط محیطی، درجه حاصلخیزی خاک، الگوی پراکنش نمک در پروفیل خاک، روش آبیاری و عوامل گیاهی (رقم، پایه) می‌باشد، کار دشواری است (۲۲). استفاده از پایه‌های متحمل به شوری از جمله کلئوپاترامانداریں و رانگ‌پورلایم (*C. limonia*) یکی از کارآمدترین روش‌های کاهش خسارت شوری است (۱۲ و ۱۵). بر همین اساس لازم است در بین ژنوتیپ‌های طبیعی به‌دنبال پایه‌هایی متحمل‌تر باشیم تا از خسارت تنش شوری هرچه بیشتر کاسته شود. در این پژوهش، درجه تحمل شوری در برخی از ژنوتیپ‌های مرکبات که قبلاً تحت شرایط مزرعه مشخص شده بود (۱۳)،

www.SID.ir

Archive of SID

با استفاده از تعیین درجه جوانه‌زنی و رشد دانه گرده در محیط شور آزمایشگاهی مورد بررسی قرار می‌گیرد تا بتوان ژنوتیپ‌های برتر را بدون از بین رفتن گیاه کامل و در مدت زمان کم شناسایی و معرفی نموه و به‌عنوان کاندید برای معرفی به‌عنوان پایه‌های متحمل به شوری مورد استفاده قرار داد.

مواد و روش‌ها

برای اجرای این پژوهش دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در محیط کشت جامد حاوی ۱۵٪ ساکارز، ۰/۷٪ آگار و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدبوریک، با دانه گرده نارنگی کلئوپاترا و پونسیروس به‌ترتیب به‌عنوان شاهد متحمل و حساس شوری (۱۲ و ۳۵) به‌همراه ۱۳ ژنوتیپ دیگر مرکبات (جدول ۱) و پنج سطح کلرید سدیم (صفر، ۰/۸۷، ۱/۶، ۲/۴ و ۳/۱ دسی‌زیمنس بر متر) در سه تکرار به اجرا درآمد. دانه‌های گرده نمونه‌های مورد مطالعه از باغ کلکسیون پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری (رامسر) در سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری شدند. در این آزمایش، دانه‌های گرده به‌طور یکنواخت روی محیط کشت در پتری‌دیش کشت شدند و به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس شاخص‌های درصد جوانه‌زنی دانه گرده و طول لوله گرده اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی دانه گرده با شمارش ۳۰۰ عدد از دانه گرده در هر نمونه و تیمار به‌طور تصادفی از میدان‌های دید مختلف توسط میکروسکوپ نوری با عدسی چشمی 10X و عدسی شیئی 40X (بزرگ‌نمایی ۴۰۰) انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری طول لوله گرده هر نمونه در هر تیمار، حداقل ۲۰ دانه گرده در هر میدان دید با استفاده از عدسی چشمی مدرج اندازه‌گیری شد.

آزمایش دوم (آزمایش تکمیلی) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در محیط کشت مایع حاوی ۱۵٪ ساکارز و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدبوریک با دو فاکتور شامل نمونه‌های مذکور (جدول ۱) و سه سطح کلرید سدیم (صفر، ۰/۸ و ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر) در سه تکرار به اجرا درآمد. جهت اجرای این آزمایش، ۵۰ میلی‌گرم دانه گرده هر نمونه با آب مقطر استریل مرطوب و سپس در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت قرار گرفت. پس از قرارگیری نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دانه‌های گرده با استفاده از کاغذ صافی جمع‌آوری و توسط ازت مایع پودر شدند و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. شاخص‌های مورد سنجش در این آزمایش، پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز بود.

برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین از روش برادفورد (۸) استفاده شد. به ۵۰ میلی‌گرم دانه گرده سائیده شده، یک میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۷ شامل EDTA ۰/۵ میلی‌مولار و PVP ۲٪ اضافه و ورتکس شد. عصاره‌ها در چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و محلول رویی جدا گردید، به ۵۰ میکرولیتر محلول رویی استخراج شده ۲۵۰ میکرولیتر از معرف برادفورد که شامل پودر کوماسی برلیانت بلو G۲۵۰، اتانل ۹۶٪ و اسید فسفریک (w/w) ۸۵٪ می‌باشد، اضافه شد. سپس محتویات لوله‌ها به‌خوبی مخلوط شده و پس از قرار گرفتن به‌مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (NanoDrop ND-1000) قرائت شد. غلظت تام پروتئینی براساس مقایسه با منحنی استاندارد تهیه شده با سرم آلبومین گاوی ((BSA (mg/ml) به‌عنوان استاندارد محاسبه گردید.

برای استخراج SOD از دانه‌گرده سائیده شده، از بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۷ شامل EDTA ۰/۵ میلی‌مولار در چهار درجه سانتی‌گراد، استفاده شد. فعالیت SOD طبق روش جیانوپلیتیس و ریس (۱۱) و از طریق اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر محلول واکنش شامل EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، NBT ۷۵ میکرومولار و ریبوفلاوین ۰/۲۱ میلی‌مولار و پنج میکرولیتر محلول رویی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. ژنوتیپ‌های استفاده شده در آزمایش و برخی صفات مورفولوژی آنها

کد گیاه	نام علمی گیاه	نام عمومی	زمان رسیدن میوه	رنگ میوه	شکل میوه	تعداد بذر	تعداد جنین در بذر	رنگ گل	شکل پهنک برگ	شکل تاج	تحمل به شوری
Cleopatra	*Citrus reshni*	کلئوپاترا	میان‌رس	نارنجی	پخت	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	کروی	متحمل
Poncirus	*Poncirus trifoliata*	پونسیرس	زودرس	زرد	کروی	۲۵ – ۲۰	چند جنین	سفید	تخم‌مرغی	کروی	حساس
Chinotto	*Citrus myrtifolia*	نارنج‌خوشه‌ای	زودرس	نارنجی	پخت تا گرد	۱۵ – ۵	چند جنین	سفید	نیزه‌ای	کروی	نامشخص
Varigated sour	*Citrus aurantium*	نارنج ابلق	میان‌رس	سبز ابلق	کروی	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	تخم‌مرغی	کروی	نامشخص
Kumquat	*Fortunella margarita*	کامکوات	میان‌رس	نارنجی‌روشن	تخم‌مرغی	۴ – ۳	تک جنین	سفید	نیزه‌ای	کروی	نامشخص
G6	*Citrus* sp	نامشخص	میان‌رس	سبز – زرد	پخت	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	تخم‌مرغی	پهن	حساس*
G7	*Citrus* sp	نامشخص	میان‌رس	نارنجی‌روشن	پخت	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	نیزه‌ای	کروی	حساس*
G8	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	سبز – زرد	کروی	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	پهن	حساس*
G9	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	زرد	کروی	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	نیزه‌ای	بیضی	متحمل*
G10	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	نارنجی	کروی	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	نیزه‌ای	کروی	متحمل*
G11	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	زرد	بیضی	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	بیضی	حساس*
G12	*Citrus* sp	نامشخص	میان‌رس	نارنجی‌روشن	پخت	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	بیضی	متحمل*
G13	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	زرد	بیضی	۵۰ – ۲۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	پهن	متحمل*
G14	*Citrus* sp	نامشخص	دیررس	زرد	پخت	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	پهن	حساس*
G15	*Citrus* sp	نامشخص	میان‌رس	زرد	گلابی شکل	۱۹ – ۱۰	چند جنین	سفید	بیضی و کشیده	بیضی	متحمل*

* ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به شوری در شرایط مزرعه براساس گزارش گلمین و همکاران (۱۳)

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج شده می‌باشد، پس از تکان دادن محلول واکنش به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور فلورسانس، قرائت جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد.

به‌منظور تعیین فعالیت APX از روش ناکانو و آسادا (۲۶) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد. برای تهیه محلول آنزیمی از دانه گرده، از بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار شامل EDTA یک میلی‌مولار و PVPP ۲٪، استفاده شد. یک میلی‌لیتر محلول واکنش برای تعیین فعالیت APX، متشکل از پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی‌مولار، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و آسکوربیک اسید (ASA) ۰/۵ میلی‌مولار با pH = ۷ می‌باشد. فعالیت APX به‌دنبال اکسیداسیون آسکوربات به دی هیدروآسکوربات با ضریب خاموشی ($۲/۸ \ mM^{-1}/cm^{-1}$) به‌مدت ۲ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد.

پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیهٔ آماری توسط نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چنددامنه‌ای دانکن، با سطح احتمال ۱٪ انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج

شاخص‌های رشد دانه گرده

اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، سطوح شوری و اثر متقابل آنها بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده در سطح ۱٪ به‌دست آمد ولی اثر ژنوتیپ و سطوح شوری و اثر متقابل آنها بر طول لوله گرده معنی‌دار نشد (جدول ۲). افزایش سطح شوری سبب کاهش جوانه‌زنی دانه گرده در همه نمونه‌ها شد (جدول ۳). با توجه به اینکه رقم کلئوپاترا از ارقام متحمل شوری محسوب می‌شود، درصد جوانه‌زنی دانه گرده این رقم در بیشترین غلظت شوری ۱/۶۶ برابر نسبت به پونسیروس افزایش داشت. کامکوات و نارنج خوشه‌ای هم به‌ترتیب با ۱/۹ و ۱/۸۸ برابر افزایش نسبت به کلئوپاترا، بیشترین جوانه‌زنی را در سطح شوری ۳/۱ دسی‌زیمنس بر متر داشتند. در سطوح شوری ۰/۸۷، ۱/۶ و ۲/۴ دسی‌زیمنس بر متر کامکوات و پونسیروس به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی نسبت به کلئوپاترا نشان دادند (جدول ۳).

میزان پروتئین

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴)، میزان پروتئین کل در سطح ۱٪ تحت تأثیر ژنوتیپ، سطوح شوری و اثر متقابل آنها قرار گرفت. با افزایش سطح شوری مقدار پروتئین کل در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه کاهش یافت (جدول ۵). در سطوح مختلف شوری میزان پروتئین کل در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در سطح شوری ۰/۸ دسی‌زیمنس بر متر در ژنوتیپ‌های کامکوات و G6 افزایش در میزان پروتئین کل در مقایسه با کلئوپاترا ماندارین دیده شد. نارنج ابلق و G7 نسبت به تیمار شاهد (کلئوپاترا ماندارین)، کمترین میزان پروتئین کل را در این سطح شوری نشان دادند. سایر ژنوتیپ‌ها در این سطح شوری کاهش در میزان پروتئین کل نشان دادند. ژنوتیپ‌های کامکوات، G8 و G13 نسبت به کلئوپاترا ماندارین در سطح شوری ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر افزایش در میزان پروتئین کل داشتند. در بقیه ژنوتیپ‌ها کاهش در میزان پروتئین کل وجود داشت و پونسیروس، نارنج ابلق، G6 و G11 کمترین میزان پروتئین کل را در این سطح شوری نشان دادند (جدول ۵).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

نتایج پژوهش تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ میان سطوح شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها در خصوص میزان فعالیت آنزیم SOD نشان داد (جدول ۴). سطوح مختلف شوری باعث تغییر در فعالیت این آنزیم شد (جدول ۵). در سطح شوری ۰/۸ دسی‌زیمنس بر متر، ژنوتیپ‌های کلئوپاترا، کامکوات و G15 دارای افزایش در فعالیت آنزیم SOD بودند. در سایر ژنوتیپ‌ها در این سطح شوری کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده شد. در سطح شوری ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر کلئوپاترا ماندارین، کامکوات، G12 و G15 فعالیت آنزیم SOD بیشتری نسبت به سایر تیمارها داشتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار شوری بر شاخص‌های رشد دانه گرده

	میانگین مربعات (MS)		
منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه‌زنی دانه گرده	طول لوله گرده
ژنوتیپ	۱۴	۲۳/۴۵ **	۰/۸۶ ns
شوری	۴	۳۳۰/۲۴ **	۱/۱۳ ns
ژنوتیپ × شوری	۵۶	۱/۸۲ **	۰/۸۵ ns
خطا	۱۵۰	۰/۲۷	۰/۸۵
ضریب تغییرات (٪)	---	۸/۷۵	۵/۶۹

** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و غیر معنی‌دار

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج نشان داد که میان ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری و اثر متقابل آنها تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ در زمینه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز وجود دارد (جدول ۴) و سطوح مختلف شوری سبب تغییر در فعالیت این آنزیم در همه ژنوتیپ‌ها شد (جدول ۵). در سطح شوری ۰/۸ دسی‌زیمنس بر متر، ژنوتیپ‌های کلئوپاترا ماندارین، کامکوات، G8 و G15 دارای بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم APX بودند ولی سایر ژنوتیپ‌ها در این سطح شوری دارای کمترین فعالیت آنزیم بودند و بیشترین کاهش هم در نارنج خوشه‌ای مشاهده شد. در سطح شوری ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر، در ژنوتیپ‌های کامکوات، G6، G9 و G15 افزایش در فعالیت آنزیم نسبت به کلئوپاترا دیده شد ولی در سایر ژنوتیپ‌های مورد آزمایش، کاهش در فعالیت این آنزیم مشاهده شد که بیشترین کاهش در پونسیروس بود (جدول ۵).

بحث

شاخص‌های رشد دانه گرده

نتایج نشان می‌دهد که از نظر تحمل شوری در مرحله گامتوفیتی گیاه، تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد که مؤید این مطلب است که دانه گرده مرکبات مانند سایر بافت‌های گیاهی می‌تواند اطلاعات ژنتیکی و مکانیسم های مولکولی مربوط به جوانه زنی و رشد لوله گرده خود را داشته باشد. در این پژوهش درصد جوانه‌زنی دانه گرده تحت‌تأثیر رقم و شوری و اثر متقابل آنها در سطح ۱٪ قرار گرفت، ولی رشد لوله گرده تحت تأثیر هیچ‌یک از این فاکتورها قرار نگرفت. در مطالعاتی که بر روی قلمه و دانه گرده ارقام مختلف زیتون نسبت به تنش شوری انجام شد، درصد جوانه‌زنی و رشد لوله گرده در ارقام مختلف در طی تنش شوری کاهش داشته و با توجه به نوع رقم، نتایج متفاوتی حاصل آمد. هم‌چنین درصد جوانه‌زنی دانه گرده در مقایسه با طول لوله گرده به‌عنوان یک ویژگی برای پاسخ به تنش شوری در گیاه زیتون شناخته شد (۳۴). در پژوهشی که بر روی جوانه‌زنی بذر و دانه گرده پنج گونه مختلف پسته تحت شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفته بود، مشخص شد که افزایش غلظت نمک در محیط جوانه‌زنی بذر، باعث تأخیر و کاهش در جوانه‌زنی و در محیط کشت دانه‌گرده باعث کوتاه شدن لوله گرده و کاهش در ظرفیت جوانه‌زنی دانه‌های گرده می‌شود (۲۳)، که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. ارتباط بین پاسخ گامتوفیتی و اسپوروفیتی گیاهان به تنش های محیطی، قبلاً نیز گزارش شده است (۳۰ و ۳۶). اگرچه اثرات منفی تنش شوری بر جنبه های مختلف رشدونمو گیاهان را به دو عامل مهم فشار اسمزی بالا در محیط کشت و سمیت یون‌ها نسبت داده‌اند، ولی شاید سمیت یون‌ها بیشتر از فشار اسمزی بالا در کاهش جوانه‌زنی دانه گرده مؤثر باشد (۲۰). مارتینز- پال و همکاران (۲۳) این امر را به اثر سمیت یون سدیم (Na^+) نسبت داده‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. مقایسه میانگین شاخص جوانه‌زنی دانه‌گرده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

شاخص شوری ($dS\ m^{-1}$)	کلئوپاترا	پونسیروس	نارنج خوشه‌ای	نارنج ابلق	کامکوات	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12	G13	G14	G15
۰	۷/۴۶ c	۹/۴۶ b	۱۰/۳۰ abc	۷/۸۳ c	۹/۸۳ b	۱۱/۹۰ a	۹/۷۶ b	۱۰/۲۰ abc	۸/۱۰ bc	۱۱/۳۰ ab	۱۲/۲۳ a	۹/۲۰ b	۸/۸۶ bc	۷/۶۶ c	۸/۶۰ bc
۰/۸۷	۶/۴۰ cd	۵/۴۶ d	۸/۹۳ bc	۶/۱۰ cd	۹/۷۵ b	۹/۱۳ b	۸/۵۰ bc	۸/۳۶ bc	۶/۴۰ cd	۹/۶۳ b	۸/۲۰ bc	۷/۷۶ c	۶/۱۰ cd	۵/۶۶ d	۷/۶۰ c
۱/۶	۵/۳۳ d	۴/۱۶ de	۷/۶۰ c	۴/۶۳ de	۸/۰۳ bc	۶/۳۶ cd	۶/۳۶ cd	۶/۱۶ cd	۵/۸۳ d	۸/۵۰ bc	۷/۰۶ c	۶/۰۶ cd	۴/۲۰ de	۳/۴۶ e	۶/۴۳ cd
۲/۴	۴/۲۰ de	۲/۱۰ ef	۶/۳۰ cd	۳/۰۶ e	۷/۰۰ c	۴/۸۶ de	۴/۵۶ de	۴/۱۰ de	۴/۰۶ de	۵/۶۰ d	۳/۴۶ e	۵/۶۰ d	۲/۵۶ ef	۲/۳۶ ef	۵/۵۶ d
۳/۱	۲/۲۶ ef	۱/۳۶ f	۴/۲۶ de	۱/۷۳ f	۴/۳۶ de	۲/۵۶ ef	۲/۶۰ ef	۱/۹۰ f	۲/۵۰ ef	۳/۷۶ e	۱/۵۰ f	۱/۷ e	۱/۴۰ f	۱/۳۳ f	۳/۰۰ e

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس اثر تیمار شوری بر صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه

	میانگین مربعات (MS)			
منابع تغییرات	درجه آزادی	پروتئین کل	فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز
ژنوتیپ	۱۴	۰/۰۲ **	۱۵۹۰۸۳۹ **	۱۲/۰۴ **
شوری	۲	۰/۲۸ **	۴۲۸۲۵ **	۸/۵۶ **
ژنوتیپ × شوری	۲۸	۰/۰۳ **	۸۸۵۲۵ **	۱۱/۷۰ **
خطا	۹۰	۰/۰۴	۷۶۸۶	۰/۲۰
ضریب تغییرات (٪)	---	۱۲/۳۴	۶/۸۷	۸/۷۵

** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و غیر معنی‌دار

پروتئین

اولین واکنش هر گیاه در مقابله با تنش، کاهش فعالیت‌های متابولیکی طبیعی است که نتیجهٔ آن کاهش رشد است. یکی از فرایندهای مهم درون سلولی، سنتز پروتئین است که شدیداً تحت‌تأثیر تغییر شرایط محیطی و تنش قرار گرفته و به‌همراه آن فتوسنتز، جابجایی متابولیت‌ها و جذب و انتقال یون‌ها نیز تأثیر می‌پذیرند. بسیاری از پروتئین‌ها طی تنش هیدرولیز می‌شوند و بر این اساس، کاهش در غلظت پروتئین کل می تواند از نتایج تنش باشد. دلیل کاهش مقدار پروتئین کل می‌تواند ناشی از اثر شوری (اثر ویژه یون‌ها و یا تنش اکسیداتیو) بر ساختار پروتئین‌ها و تخریب آنها و یا در اثر صدمه به مسیرهای سنتز و کاهش تولید پروتئین باشد. تأثیر اکسیژن‌های فعال بر DNA و RNA می‌تواند از دلایل کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط تنش باشد، اما تنش سبب بیان بیشتر ژن‌های ویژه‌ای می‌شود که محصولات آنها به سازگاری گیاه در شرایط نامساعد کمک می کنند. بنابراین امکان افزایش در غلظت پروتئین کل نیز وجود دارد (۳، ۷ و ۲۱). با افزایش سطح شوری به ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر روند کاهشی در مقدار پروتئین کل در ژنوتیپ‌های پونسیروس، نارنج ابلق، G6 و G11 دیده شد، ولی در ارقام کلئوپاتراماندرین، کامکوات و G13 افزایش در مقدار پروتئین کل وجود داشت که شاید به‌دلیل القای پروتئین‌های جدید و بیان ژن‌های ویژه‌ای باشد که طی تنش تحریک شده‌اند.

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ میان سطوح شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها در خصوص فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز دیده شد. سوپر اکسید دیسموتاز اولین سد دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد و نقش اساسی و بارزی در مقابله با گونه های فعال اکسیژن دارد (۳۷). این آنزیم در میتوکندری تولید شده و همراه با گلوتاتیون پراکسیداز، باعث جلوگیری از اکسیدایش و تخریب غشاء میتوکندری می شود. در پژوهشی همبستگی بالایی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به‌دلیل تنش های محیطی ایجاد می شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده به‌دست آمد (۱). در پژوهش‌های انجام شده بر روی نهال مرکبات (۱۴) و انگور (۲۹) تحت تنش اکسیداتیو ناشی از شرایط نامساعد محیطی، افزایش آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز گزارش گردید که بیانگر نقش این آنزیم در سیستم حفاظتی گیاهان می باشد. در مطالعات صورت گرفته بر کاریزو سیترنج، تنش شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم SOD شد (۲). فعالیت SOD در ریشه‌ها و شاخه های درختان مرکبات در اثر تنش شوری افزایش قابل توجهی می‌یابد. فعالیت ویژه این آنزیم تنها یک تا سه روز پس از اعمال تنش شوری در ریشه‌ها افزایش قابل ملاحظه و معنی‌داری پیدا می‌کند (۲). تولید H_2O_2 توسط آنزیم‌های مولد پراکسید سبب آسیب غشاء می گردد، علاوه بر این ممکن است

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵. مقایسه میانگین شاخص‌های بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

شاخص	شوری (dS m^{-1})	کلئوپاترا	پونسیروس	نارنج خوشه‌ای	کامکوات	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12	G13	G14	G15
پرولین (mg/ml)	۰	۰/۴۵ a	۰/۴۹ a	۰/۲۲ c	۰/۱۹ d	۰/۴۲ a	۰/۳۹ ab	۰/۱۶ d	۰/۴۰ ab	۰/۳۷ b	۰/۲۲ c	۰/۴۱ a	۰/۴۶ a	۰/۲۹ c	۰/۴۵ a
	۰/۸۷	۰/۲۹ c	۰/۲۰ cd	۰/۲۰ cd	۰/۱۰ de	۰/۳۲ b	۰/۳۲ b	۰/۱۳ d	۰/۲۸ c	۰/۲۱ c	۰/۱۹ d	۰/۲۳ c	۰/۱۸ d	۰/۲۴ c	۰/۲۰ cd	۰/۲۷ c
	۱/۶	۰/۲۰ cd	۰/۰۸ e	۰/۱۱ d	۰/۰۸ e	۰/۲۰ cd	۰/۰۸ d	۰/۱۳ d	۰/۱۹ d	۰/۱۱ d	۰/۱۳ d	۰/۰۹ e	۰/۱۴ d	۰/۲۰ cd	۰/۱۲ d	۰/۱۶ d
SOD (u/ml)	۰	۱۵۷۰/۹ ab	۲۹۹/۷ e	۱۳۶۶/۳ b	۲۵۷/۴ e	۱۸۰۸/۵ a	۱۴۶۵/۳ b	۱۱۹۴/۷ c	۱۲۸۷/۱ b	۱۳۵۳/۱ b	۱۵۳۱/۳ ab	۱۶۲۳/۵ a	۱۳۴۶/۵ b	۱۶۷۶/۵ a	۱۴۴۵/۵ b
	۰/۸۷	۱۴۸۴/۱ b	۲۳۱ e	۱۰۷۲/۹ c	۱۷۶/۴ ef	۱۴۹۸/۳ b	۸۴۴/۸ d	۱۰۰۶/۳ c	۱۰۸۶/۱ c	۱۲۵۹/۷ bc	۱۰۹۱/۵ c	۱۰۲۴/۷ c	۱۱۳۳/۳ c	۱۱۶۳/۲ c	۱۴۰۸/۳ b
	۱/۶	۱۴۸۸/۵ b	۶۷۹/۸ de	۱۱۴۲/۸ c	۲۲۱/۴ e	۱۵۱۸/۱ ab	۱۰۷۳/۸ c	۱۱۱۳/۵ c	۱۰۹۰/۷ c	۱۲۶۶/۷ bc	۱۱۱۶/۹ c	۱۵۰۵/۱ ab	۱۲۸۴/۱ bc	۱۲۴۴/۵ bc	۱۴۴۰/۹ b
APX (u/ml)	۰	۷/۴۴ b	۴/۶۹ c	۵/۶۵ c	۶/۶۱ b	۶/۸۰ b	۵/۲۶ c	۶/۳۶ b	۷/۶۳ b	۴/۳۱ c	۹/۱۶ a	۴/۳۰ c	۵/۰۱ c	۴/۳۶ c	۱۰/۳۱ a
	۰/۸۷	۵/۴۵ c	۴/۱۱ cd	۳/۳۳ d	۴/۲۸ c	۵/۰۷ c	۴/۳۷ c	۵/۱۸ c	۴/۰۳ cd	۳/۹۵ d	۳/۴۴ d	۴/۰۵ c	۴/۴۸ c	۴/۳۹ c	۶/۹۹ b
	۱/۶	۷/۵۳ b	۴/۰۶ cd	۵/۸۶ c	۴/۵۷ c	۷/۶۹ b	۷/۵۹ b	۶/۶۴ b	۷/۹۸ b	۴/۳۳ c	۵/۱۵ c	۵/۷۱ c	۶/۳۹ b	۵/۷۵ c	۷/۷۷ b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند. SOD: سوپر اکسید دیسموتاز و APX: آسکوربات پراکسیداز می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

رادیکال‌های سوپراکسید با H_2O_2 واکنش داده و تشکیل رادیکال هیدروکسیل بدهد که منجر به صدمات بیشتری به غشاء می‌شود. افزایش فعالیت جاروگرهای H_2O_2 همانند سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز می‌توانند با از بین بردن H_2O_2 از تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل بکاهند (۱۹ و ۲۸). خصوصیت مقاومت در برابر شوری فقط براساس افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، با در نظر گرفتن متابولیسم پیچیده تنش اکسیداتیو، روش ساده‌ای به‌نظر می‌رسد که معمولاً در گیاهان عالی اتفاق می افتد (۲۵).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج نشان داد که میان ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری و اثر متقابل آنها تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ در زمینه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز وجود دارد و غلظت های مختلف شوری سبب تغییر در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در همه ژنوتیپ‌ها شد. تولید ROS در شرایط شوری افزایش قابل توجهی می‌یابد و خسارت حاصل از این افزایش که به غشاء ها وارد می شود می تواند عامل عمده‌ای برای ایجاد سمیت سلولی حاصله از شوری در مرکبات باشد (۲). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده، دارای سیستم دفاعی با کارائی بالا هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند. آسکوربات پراکسیداز (APX) یکی از پراکسیدهای اصلی در سمیت‌زدائی از H_2O_2 می‌باشد و به‌لحاظ تمایل زیاد که نسبت به H_2O_2 دارد، پراکسید هیدروژنی را که مورد مصرف کاتالاز قرار نمی گیرد خنثی می کند. فعالیت این آنزیم اولین بار در کلروپلاست و در چرخه گلوتاتیون آسکوربات شناخته شد (۱۶ و ۳۱). در مطالعه انجام شده روی مرکبات مشخص شد که شوری سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم APX در مرکبات می‌شود و به‌نظر می‌رسد که آسکوربات‌پراکسیداز آنزیمی کلیدی برای تعیین تحمل شوری در مرکبات باشد (۳۵). در سطح شوری ۱/۶ دسی‌زیمنس بر متر در اکثر ژنوتیپ‌ها افزایش در فعالیت آنزیم APX مشاهده شد. بیشترین افزایش در ژنوتیپ G9 و کمترین فعالیت آنزیم در پونسیروس بود. نتایج حاصل نشان می دهد که افزایش آنزیم APX در ارقام متحمل مانند کلئوپاترا بیشتر از ارقام حساس مثل پونسیروس بوده است که این می‌تواند بیانگر وجود سیستم آنزیمی مؤثرتر در متابولیسم رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد میزان تحمل شوری در ژنوتیپ های مختلف مرکبات متفاوت بوده و نسل گامتوفیت گیاه نیز در برابر تنش شوری عکس‌العمل نشان می‌دهد. این بیانگر این مطلب است که دانه گرده در گیاه مرکبات مانند سایر بافت‌های گیاهی می تواند اطلاعات ژنتیکی و مکانیسم‌های مولکولی مربوط به جوانه‌زنی و رشد لوله گرده خود را داشته باشد. وجود تفاوت معنی‌دار در درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در واکنش به شوری نشان داد که نسل گامتوفیت گیاه می تواند در ارزیابی گونه‌ها نسبت به تنش شوری مورد استفاده قرار بگیرد.

در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده این موضوع حائز اهمیت است که پاسخ نسل گامتوفیت گیاه به تنش‌های غیر زیستی (شوری در این پژوهش)، می‌تواند واکنش نسل اسپوروفیت را در برابر این تنش ها مشخص کند و ارزیابی واکنش دانه گرده مرکبات، امکان غربالگری اولیه در برنامه‌های به‌نژادی و ژنوتیپ‌های ناشناخته مرکبات حساس و متحمل شوری را فراهم می‌آورد.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه و پروژه تحقیقاتی پایان یافته با شماره فروست ۴۰۱۴۰ مورخ ۹۰/۱۲/۶ پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری (رامسر) است که از حمایت مالی آن مجموعه قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

1. Alscher, R., J. Donahue and C. Cramer. 1997. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Physiologia Plantarum* 100: 224-233.
2. Arbona V., V. Flors, J. Jacas, P. Garcia-Agustin and A. Gomez– Cadenas. 2003. Enzymatic and non - enzymatic antioxidant responses of Carrizo citrange, a salt-sensitive citrus rootstock, to different levels of salinity. *Plant Cell Physiology* 44: 388-394.
3. Azooz, M. M. 2004. Proteins, sugars and ion leakage as a selection criterion for the salt tolerance of three sorghum cultivars at seedling state grown under NaCl and nicotinamide. *International Journal of Agriculture and Biology* 6(1): 27-35.
4. Banuls, J. and E. Primo–Millo. 1992. Effect of chloride and sodium on gas exchange parameters and water of citrus plants. *Physiologia Plantarum* 86:15-23.
5. Belostotsky, D. A. and B. B. Meagher 1996. A pollen, ovule, and early embryo specific poly (A) binding protein from Arabidopsis complements essential functions in yeast. *Plant Cell* 8: 1261-1275.
6. Ben-Hayyim, G. and G. A. Moore. 2007. Recent advances in breeding citrus for drought and saline stress tolerance. pp: 627-642. *In*: M. A. Jenks, P. M. Hasegawa and S. M. Jain (Eds.), Advances in Molecular Breeding toward Drought and Salt Tolerant Crops. Springer, New York.
7. Bonjoch, N. P. and. P. R. Tamayo. 2001. Protein content quantification by Bradford method. pp. 283-295. *In*: M. J. Reigosa Roger (Ed.), Handbook of Plant Ecophysiology Techniques. Kluwer Academic Publishing. Netherlands.
8. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Annual Review of Biochemistry* 72: 248-254.
9. Dhingra, H. R. and P. K. Sharma. 1992. Reproductive performance of Pea (*Pisum sativum* L.) under saline conditions. *Indian Journal of Plant Physiology* 35: 204-207.
10. Dhingra, H. R. and T. M. Varghese. 1997. Flowering and sexual reproduction under salt stress. pp. 221-245. *In*: P. K. Jaiwal, R. P. Singh and A. Gulati. (Eds.), Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants. Oxford and IBH Publishing Company. PVT. LTD., New Delhi.
11. Giannoplitis, C. N. and S. K. Ries. 1977. Superoxide dismutase: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology* 59: 309-314.
12. Golein, B. and B. Adouli. 2011. Citrus 1. Novin Poya Press, Tehran. (In Farsi).
13. Golein, B., F. Mirabbasi, V. Rabiei and R. Fifaei. 2013. Effect of salinity on chloride, sodium, potassium, chlorophyll and soluble sugars contents in citrus genotypes. *Journal of Crop Production and Processing* 3(7): 173-183. (In Farsi).
14. Golein, B., M. Mohammadian Afshar and Z. Mobrami. 2013. Investigation of Superoxide Dismutase (SOD), enzyme activity, β-carotene, total phenol and antioxidant capacity in fruit peel of five citrus cultivars under low temperature. *Journal of Crop Production and Processing* 3(8): 177-189. (In Farsi).
15. Gomez C. A., V. Arbona, J. Jacas, E. Primo-Millo and M. Talon. 2003. Abscisic acid reduces leaf abscission and increases salt tolerance in citrus plants. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 234-240.
16. Hafsi, C. M. Romero-Puertas, D. K. Gupta, L. A. del Río, L. M. Sandalio and C. Abdelly. 2010. Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 69: 129-136.
17. Herpen, M. M. A., W. H. Van, J. A. M. Reijnen, P. F. M. Schranwen De Groot and G. J. Wullems. 1988. Heat shock proteins in germinating pollen of *Nicotiana tobacum* before and after heat shock. pp. 277-282. *In*: M. Cresti, P. Gori and E. Pacini (Eds.), Sexual Reproduction in Higher Plants. Springer-Verlag. Berlin – Heidelberg.
18. Hormaza, J. I. and M. Herrero. 1996. Male gametophytic selection as a plant breeding tool. *Scientia Horticulturae* 65: 321-333.
19. Inze, D. and M. V. Montagu. 2000. Oxidative Stress in Plants. TJ International Ltd, Pad Stow, Gornawall, Great Britain.
20. Jones, R. A. 1986. High salt tolerance potential in *Lycopersicon* species during germination. *Euphytica* 35: 575-582.
21. Kanlaya, K. N., D. Sakda, W. Chaisiri, B. Sumontip, K. Manit and T. Piyada. 2005. Protein profiles in response to salt stress in leaf sheets of rice seedlings. *Science Asia* 31: 403- 408.
22. Kozlowski T. T. 2007. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph* 1: 1-29.
23. Martinez-Palle, E., M. Herrero, R. Aragues and U. Suelosy Riegos, U. 1995. Salt response of seeds and pollen of five pistachio species. *Acta Horticulturae* 419: 49-54.
24. Mascarenhas, J. P. 1990. Gene activity during pollen development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41: 317-338.
25. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery, B. Van and F. Reusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants Trends. *Trends in Plant Science* 9: 490- 498.

www.SID.ir

Archive of SID

26. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
27. Neto A. D. A., J. T. Prisco, J. Eneas-Filho, C. E. B. A. Abreu and E. Gomes-Filho. 2005. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 56:87-94.
28. Noreen, Z. and M. Ashraf. 2009. Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology* 166 (16): 1764-1774.
29. Ozden, M., U. Demirel and A. Kahraman. 2009. Effects of proline on antioxidant system in leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) exposed to oxidative stress by H_2O_2 *Scientia Horticulturae* 119: 163-168.
30. Ravikumar, R. L., B. S. Patil and P. M. Salimath 2003. Drought tolerance in sorghum by pollen selection using osmotic stress. *Euphytica* 133: 371-376.
31. Seckin, B., I. Turkan, A. H. Sekmen and C. Ozfidan. 2010 The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (Sea barley grass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany* 69: 76–85.
32. Sharma, P. K. 1992. Study on reproductive behavior of mungbean (*Vigna radiata* L.) *Wilczek*) under saline conditions. MSc. Thesis, HAU, Hisar.
33. Sidhu, S. S. 1983. Effect of simulated acid rain on pollen germination and pollen tube growth of white spruce (*Picea glauca*). *Canadian Journal of Botany* 61: 3095-3099.
34. Soleimani, A., A. R. Talaie, M. R. Naghavi and Z. Zamani. 2010. Male gametophytic and sporophytic screening of olive cultivars for salt stress tolerance. *Journal of Agricultural Science and Technology* 12: 173-180.
35. Storey, R. and R. R. Walker. 1999. Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae* 78: 39-81.
36. Tyagi, R. K. and N. S. Rangaswamy. 1993. Screening of pollen grains vis-à-vis whole plants of oilseed Brassicas for tolerance to salt. *Theoretical and Applied Genetics* 78: 343-346.
37. Yan, P., J. W. Li and L. Y. Zeng. 2006 Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Journal of Plant Growth Regulation* 49: 157-165.

www.SID.ir