

## تأثیر شوری بر محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رنگیزه‌های فتوسنتزی، پروتئین و پرولین در ارقام انجیر (*Ficus carica*.L)

اله داد سلیم پور<sup>۱</sup>، منصوره شمیلی<sup>۱</sup>، علی دادخدائی<sup>۲</sup>، حمید زارع<sup>۳</sup> و مهدی حدادی نژاد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، <sup>۲</sup> گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، <sup>۳</sup> ایستگاه تحقیقات انجیر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، استهبان، فارس، <sup>۴</sup> گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و

منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۸/۱۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲)

### چکیده

انجیر محصولی نیمه گرمسیر با مصرف میوه تازه خوری و خشک می‌باشد. از آنجا که شوری تهدیدی جدی برای راندمان فتوسنتز، تولید و کیفیت محصول انجیر محسوب می‌شود، لذا طی سال‌های ۱۳۹۵ تا ۱۳۹۷، هفت رقم انجیر (سیاه، شاه انجیر، اتابکی، کشکی، متی و بر انجیر) در شرایط گلدانی تحت تیمار آب شور (۰/۵، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) قرار گرفتند. سپس محتوای پروتئین، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، گوایکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز به منظور معرفی متحمل‌ترین رقم به شوری، مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد شوری باعث افزایش معنی دار در محتوای پروتئین کل، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اما کاهش در میزان رنگیزه‌های کلروفیل (a، b و کل) و کاروتنوئیدها شد. بنا به نتایج این تحقیق ارقام سیاه و سبز متحمل‌ترین ارقام و شاه انجیر حساس‌ترین رقم به شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر بود. ارقام اتابکی، کشکی، متی و بر انجیر در حد وسط تحمل تا حساسیت قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: آسکوربیک پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گوایکول پراکسیداز

### مقدمه

تولید کل این محصول را به خود اختصاص داده‌اند. ایران چهارمین تولیدکننده انجیر تازه و سومین تولیدکننده انجیر خشک در دنیا است (FAO, 2016). ارقام انجیر "سیز"، "سیاه"، "شاه انجیر"، "اتابکی"، "کشکی" و "متی" از مهمترین ارقام انجیر ایران با مصرف خشک و تازه‌خوری هستند که جهت عرضه به بازار داخلی یا صادرات تولید می‌شوند. رقم "بر انجیر" نیز از مهمترین ارقام گرده افشان انجیر می‌باشد که جهت گرده افشانی پایه‌های مذکور کشت و

انجیر (*Ficus carica*.L) از تیره Moraceae، مهمترین گونه جنس *Ficus* می‌باشد که منشا آن جنوب غرب آسیا و شرق مدیترانه است. انجیر با مصرف خشک و تازه خوری (Duenas et al., 2008)، ۳۱۹۴۹۴ هکتار سطح زیر کشت و سالانه بیش از یک میلیون تن، تولید جهانی دارد (FAO, 2016). ترکیه، مصر، الجزایر، مراکش و ایران، پنج کشور اصلی پرورش انجیر در دنیا هستند که ۶۴ درصد از

آزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش اما از میزان پروتئین کل کاست. تجمع پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به طور معنی داری در شاه انجیر کمتر از انجیر سبز بود (Abdolinejad and shekafandeh, 2014b). نقش اصلی رنگیزه‌های فتوستتزی در گیاهان فتوستتزر و تولید و ذخیره انرژی می‌باشد. تغییرات معنی دار در غلظت این رنگیزه‌ها اثر مستقیم بر سایر فرآیندهای و متابولیسم گیاهی دارد (Grotewold, 2006). شوری، کاهش در میزان کلروفیل را با افزایش تخریب و کاهش سنتز آن (و یا هر دوی آنها) و همچنین کاهش استحکام غشاء تیلاکوئید باعث می‌گردد (santos, 2004). همچنین تنش شوری می‌تواند فعالیت کلروفیل‌ها را افزایش داده و یا جذب برخی یونها، نظیر منیزیم و آهن، که در بیوستتزر کلروفیل دخالت دارند را تحت تأثیر قرار دهد (Munns, 2002). از دیگر فرآیندهای مهمی که تحت تأثیر تنش شوری قرار می‌گیرد، سنتز پروتئین‌ها است (Murcute *et al.*, 2010). تنش، با بیان ژن‌های ویژه ای که گیاه را به سازگاری در شرایط نامساعد کمک می‌کند، اغلب با افزایش محتوای پروتئین کل همراه است (Murcute *et al.*, 2010). در شرایط تنش شوری میزان پرولین افزایش (Houimli *et al.*, 2010) و میزان کلروفیل کاهش می‌یابد، زیرا گلوتامات که پیش ماده مشترک سنتز کلروفیل و پرولین می‌باشد بیشتر صرف تولید پرولین می‌شود (Molazem *et al.*, 2010). پرولین نیز با حفظ فشار اسمزی، محافظت از آنزیم‌های سیتوپلاسمی و حذف رادیکال‌های آزاد، مانع از آسیب به غشاء سلولی می‌شود (Kavi kishor *et al.*, 2015; Sivritepe *et al.*, 2008).

استان فارس اصلی‌ترین مرکز تولید انجیر در ایران می‌باشد. اما افزایش شوری آب‌های مورد استفاده، پیامد تغییرات اقلیمی و کاهش شدید بارش سالیانه، خسارت قابل توجهی به تولید و کیفیت انجیر در این منطقه وارد ساخته است و ضرورت معرفی ارقام متحمل به شوری را در این گونه پررنگ‌تر کرده است (زارعی و همکاران، ۱۳۹۵). میزان تحمل به فشار اسمزی ناشی از شوری نه تنها در بین گونه‌ها، که در ارقام مختلف گیاهی متنوع است (Al-Karaki, 2000)، مطالعه ارقام مختلف

کار می‌شود (Abdoli Nejad and Shekafandeh, 2014a). گیاه انجیر تحمل متوسطی به شوری دارد (Golombek and Lüdders, 1990) و کاهش تبادلات گازی، کاهش نرخ فتوستتزر، اُفت خصوصیات رویشی، کم شدن عملکرد و کاهش کیفیت محصول، از جمله آثار تنش اکسیداتیو در انجیر هستند (Essam *et al.*, 2013). غلامی و همکاران (۲۰۱۲)، ارقام "دیم" و "سبز" را به عنوان ارقام متحمل به تنش خشکی در این گیاه معرفی کردند. همچنین بر اساس یافته‌های رستمی و راحمی (۲۰۱۳) تحمل ارقام گرده افشان انجیر به تنش خشکی به ترتیب "خرمائی"، "شاه انجیر"، "پوز دُنبلانی" و "دانه سفید" بود.

از جمله تغییرات بیوشیمیایی مهمی که در گیاهان تحت شرایط تنش شوری رخ می‌دهد تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Wang *et al.*, 2013). گونه‌های فعال اکسیژن سبب پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب غشاء و واسرشت شدن پروتئین‌ها می‌شوند (Mittler, 2002). گیاهان برای کم کردن اثرات زیان بار گونه‌های فعال اکسیژن سازوکارهای خاصی را بکار می‌برند که از آن جمله می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (نظیر سوپراکسیددسموتاز، پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و کاتالاز)، به عنوان اعضای کلیدی سیستم حفاظتی گیاه اشاره کرد (Wang *et al.*, 2013). ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در اغلب گونه‌های گیاهی فعالیت بالاتری در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی نسبت به گونه‌های حساس دارند (Sorkheh *et al.*, 2012). شوری سبب افزایش فعالیت سوپراکسید دسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز در انجیر گردیده است. ضمن اینکه فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در رقم شاه انجیر بیشتر از سایر ارقام بود. همچنین با افزایش شدت تنش شوری روند کاهشی در فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد (Zarei *et al.*, 2016). بنا به گزارش عبدلی نژاد و شکافنده (۲۰۱۶b) شوری در شرایط درون شیشه ای اثر تخریبی کمتری بر کلروفیل رقم شاه انجیر دارد. در رقم سبز و شاه انجیر افزایش غلظت نمک در محیط کشت میزان پرولین و فعالیت

ماسه شسته (یک قلمه در هر کیسه) جهت ریشه زایی قرار داده شدند و فقط دو سانتی‌متر از طول قلمه از ماسه بیرون ماند. قلمه‌ها در سایبان با رطوبت نسبی ۵۰ درصد، دمای روز (۲±۲۸) درجه سانتی‌گراد) و دمای شب (۲±۱۸) درجه سانتی‌گراد) و شرایط نوری نیم سایه (۵۰ درصد سایه) قرار گرفته و روزی دو بار آبیاری شدند. سپس نهال‌های ریشه دار شده به سایبان دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل شدند.

در اواسط خردادماه ۱۳۹۶ پس اینکه قلمه‌ها ریشه کافی تولید کردند، به گلدان اصلی منتقل شدند. گلدانها به ابعاد ۳۳×۳۶ سانتی‌متر مربع (به حجم ۲۵ لیتر) بودند که کف هر کدام از آنها جهت زهکشی بهتر نیم کیلوگرم سنگ ریزه ریخته شد و سپس به هر گلدان ۲۰ کیلوگرم بستر کشت اضافه شد (**جدول ۱**). بستر کاشت شامل خاکبرگ، خاک مزرعه، و ماسه بادی (به نسبت ۱:۱:۱) بود که با بخار آب ضدعفونی شده بود. ظرفیت نگهداری آب بستر کشت با استفاده از دستگاه صفحه فشاری (pressure plate extractor) مدل (ADC) ساخت شرکت SANTA BARBARA کشور آمریکا تعیین گردید. قلمه‌های ریشه دار شده پس از انتقال به گلدان‌ها، در سایبان با میانگین دمای روزانه (۳۰±۱) و شبانه (۵±۱۸/۰) درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۵۰ درصد نگهداری شدند و از توری (۵۰ درصد سایه) جهت کاهش شدت نور استفاده شد.

**اعمال تیمار شوری:** این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در پنج تکرار (هر تکرار یک نهال) طراحی شد. فاکتورها شامل ارقام انجیر (در هفت سطح) و شوری کلرید سدیم (در شش سطح) بود. نمک مورد استفاده جهت اعمال تنش شوری کلرید سدیم (Merck, Darmstadt, Germany) بود که برای تیمار در آب مقطر حل شد. تیمارهای شوری شامل سطوح شوری کم (۰/۵ و دو)، شوری متوسط (چهار و شش) و شوری شدید (هشت و ۱۰) دسی‌زیمنس برمتر (dSm<sup>-1</sup>) بود (Zarei et al., 2016, Abdollinejad and Shekafandeh, 2014a). برای محاسبه میزان نمک مورد نیاز برای ۲۰ کیلوگرم خاک هر گلدان (بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم خاک)، پس از محاسبه درصد

درختان میوه تحت تنش شوری، تفاوت در ویژگی‌های فیزیولوژیکی نظیر تخریب کلروفیل، شدت آسیب به سیستم های فتوسنتزی، سنتز ترکیبات محلول سازگار و تغییر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ را به عنوان معیارهایی برای غربالگری ارقام متحمل از ارقام حساس به شوری معرفی کرده است (Alswalmeh et al., 2015, Bolat et al., 2006, Ferguson, 2002). لذا مطالعه رفتار فیزیولوژیک و توان آنتی‌اکسیدانی ارقام مختلف در گونه‌های گیاهی می‌تواند راه گشای انتخاب ارقام متحمل در برنامه‌های توسعه باغات جدید باشد. در تحقیق حاضر هفت رقم تجاری انجیر (شش رقم خوراکی و یک رقم گرده افشان) تحت تیمار شش سطح شوری آب قرار گرفته و محتوای پروتئین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین آنها به عنوان شاخص‌های غربالگری تحمل (یا حساسیت) به شوری مورد مقایسه قرار گرفت. هدف اصلی تحقیق مقایسه رفتار فیزیولوژیک ارقام مذکور، تعیین شدت تحمل به سطوح مختلف تنش شوری و معرفی ارقام حساس و متحمل بود.

#### مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۵ در بخش اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز (۳۶° ۲۹' شمالی و ۳۲° ۵۲' شرقی) به صورت گلدانی به اجرا در آمد.

**مواد گیاهی:** مواد گیاهی مورد استفاده در این مطالعه شامل شش رقم انجیر خوراکی ("سبز"، "سیاه"، "شاه انجیر"، "آتابکی"، "کشکی"، "متی" و یک رقم گرده افشان "بر انجیر" واقع در ایستگاه تحقیقات انجیر استهبان (۳۶° ۲۹' شمالی و ۳۲° ۵۲' شرقی) بود. قلمه‌های چوب سخت، به طول ۲۰ سانتی‌متر و قطر یک سانتی‌متر، در ۲۵ اسفند ۱۳۹۵ از شاخه‌های یکساله از پایه‌های مادری ۲۰ ساله تهیه شد. قلمه‌ها پس از تیمار با قارچکش بنومیل (دو در هزار) و اسید ایندول بوتریک (۳۰۰۰ قسمت در میلیون)، در انتهای بالایی جهت جلوگیری از پوسیدگی، چسب پیوند زده شدند. سپس در کیسه های پلاستیکی مشکی به ابعاد ۱۸×۲۵ سانتی‌متر مربع حاوی

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مخلوط خاک مورد استفاده

روی	آهن	منگنز	مس	رس	سیلت	شن	پتاسیم	فسفر	نیتروژن	کربن	شوری	PH	C.E.C (Me/100)
(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(%)	(ppm)	(ppm)	(%)	آلی (%)	ds <sup>m</sup> -1		
۱۰۵۶	۲/۸۵	۳/۸۶	۰/۲۶	۱۶	۲۶	۵۸	۱۲۶	۳/۲	۰/۱۷	۱/۱۷	۱/۴۵	۷/۷	۱۰/۸۴

هموژنیزه شود. در نهایت عصاره به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه) و از روشناور جهت سنجش بعدی محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم ها استفاده شد (Bradford, 1976).

**اندازه‌گیری میزان پروتئین کل:** بدین منظور ۲۰ میکرو لیتر از عصاره گیاهی، ۸۰ میکرو لیتر بافر فسفات پتاسیم (PH=7/15) و پنج میلی لیتر معرف کوماکسی بلو را به مدت دو دقیقه به هم زده و پس از اینکه به مدت پنج دقیقه در شرایط آزمایشگاه (دمای ۲۴ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند، میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل Biowave II) قرائت گردید. از بافر استخراج به عنوان شاهد استفاده شد. غلظت پروتئین در نمونه با توجه به جذب نمونه و با استفاده از منحنی استاندارد (سرم آلبومین گاوی) به دست آمد. مقدار پروتئین بر حسب میلی گرم در گرم وزن تازه برگ گزارش شد (Bradford, 1976).

**اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید-دیسموتاز (SOD):** اندازه‌گیری بر اساس توانایی آنزیم سوپراکسید-دیسموتاز (SOD) در متوقف کردن احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوترازولیوم (NBT) توسط رادیکالهای سوپر اکسید در حضور ریوفلاوین در نور صورت می‌گیرد. بر اساس این روش ۵۰ میکرو لیتر از عصاره گیاه با یک میلی لیتر محلول واکنش (شامل ۵۰ میلی-مول بافر فسفات پتاسیم با PH=7/8، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی مولار ال-متیونین، ۰/۱ میلی مولار EDTA و ۲ میکرومولار ریوفلاوین) مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نوری قرار گرفت. سپس میزان جذب نوری در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت و میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ گزارش شد (Beauchamp and Fridovich, 1971).

اشباع خاک، میزان کلرید سدیم لازم برای رسیدن به هدایت الکتریکی مورد نظر (بر حسب میلی اکوی والان)، محاسبه و در نهایت بر حسب میلی گرم در لیتر آب آبیاری اعمال شد (Richards, 1954). به منظور جلوگیری از شوک ناگهانی به نهال ها، سطوح شوری در هر تیمار ابتدا از یک چهارم غلظت نهایی برای هر تیمار اعمال شد و در طول سه هفته بصورت تدریجی به غلظت نهایی رسانده شد. آبیاری نهال ها بر اساس نیاز آبی و ظرفیت آب بستر کشت صورت گرفت. جهت هر بار آبیاری پس از وزن کردن گلدان ها و محاسبه میزان ظرفیت مزرعه، نهال ها با تیمارهای آبی مورد نظر آبیاری شدند (Yarami and Sepaskhah, 2015). تیمار نمکی نه هفته به طول انجامید (۱۳۹۶/۰۵/۰۱ لغایت ۱۳۹۶/۰۷/۴) و پس از آن کلیه گلدان ها با آب مقطر آبیاری شد. در طی دوره آزمایش برای هر سطح شوری یک گلدان به عنوان گلدان تخریبی (حاوی خاک، بدون کاشت گیاه، که با محلول نمکی به سطح شوری مورد نظر رسانده می‌شود و جهت کنترل شوری در طی دوره تیمار نمکی استفاده می‌شود) در نظر گرفته شد. از زمان شروع آزمایش هر هفته مقدار هدایت الکتریکی گلدانهای تخریبی اندازه‌گیری شد تا از عدم تغییر سطوح مختلف شوری اطمینان حاصل شود.

**تهیه عصاره گیاه جهت سنجش پروتئین و آنزیم های آنتی‌اکسیدان:** پس از پایان آزمایش برگ سوم از بالای هر نهال جدا شد و پس از شستشو با استفاده از دستمال کاغذی خشک و سپس ۰/۲ گرم نمونه برگ در هاون چینی به کمک ازت مایع کاملاً پودر شد. سپس دو میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۳۸/۵ میلی لیتر محلول فسفات مونوبازیک، ۶۸/۵ میلی لیتر محلول فسفات دی‌بازیک، ۰/۰۷۴ گرم EDTA، ۱ گرم PVP) با PH=7/15 به آن اضافه شد و خوب بهم زده شد تا کاملاً

گردید. از بافر فسفات پتاسیم به عنوان شاهد استفاده شد. سپس در فواصل زمانی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر میزان جذب قرائت و و میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ گزارش شد (Nakano and Asada, 1981).

**اندازه گیری محتوای پرولین:** بدین منظور ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ را با ازت مایع پودر کرده و سپس ۱۰ میلی لیتر محلول آبی اسید سولفوسالسیلیک سه درصد روی آن ریخته، کاملاً هموژنیزه کرده و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه (۲۴ درجه سانتی گراد) نگهداری، سپس از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ عبور داده شد. در مرحله بعد دو میلی لیتر از این محلول را با دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین (۱/۲۵ گرم ناین هیدرین، ۳۰ میلی لیتر اسید استیک و ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) مخلوط نموده و دو میلی لیتر اسید استیک به هر نمونه اضافه شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام بن ماری (مدل Gemmy Industrial Crop) در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و بی درنگ پس از خارج کردن از حمام به مدت ۱۵ دقیقه در ظرف حاوی یخ قرار داده شد. بعد از این مرحله به هر نمونه چهار میلی لیتر تولونن اضافه گردید و نمونه‌ها با همزن مغناطیسی به مدت ۲۰ ثانیه به هم زده شده تا کاملاً یکنواخت شود. سپس نمونه‌ها به مدت دو ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شد که در این مرحله در تیوب‌های حاوی عصاره‌ها، دو فاز متمایز تشکیل شد. از فاز رویی برای تعیین غلظت پرولین با توجه به منحنی استاندارد پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد پرولین از غلظت‌های ۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار ال- پرولین استفاده شد و از تولونن به عنوان شاهد در سطح صفر استفاده شد. در نهایت مقدار پرولین بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ محاسبه و گزارش شد (Bates et al., 1973).

**اندازه گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها:** بدین منظور ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ در هاون چینی با کمک ازت مایع پودر گردید و سپس هفت میلی لیتر دی متیل سولفوکسید

#### اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز: (CAT)

اندازه‌گیری بر اساس سرعت تخریب  $H_2O_2$  توسط آنزیم کاتالاز انجام گرفت. در این روش، ابتدا یک میلی لیتر بافر استات پتاسیم (PH=6/7)، ۱۷/۶ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ۰/۰۳ مولار و ۱۷/۶ میکرو لیتر عصاره گیاهی را با هم ترکیب، سپس جذب نوری آن در طول موج ۲۶۰ نانومتر به مدت چهار دقیقه و به فواصل ۱۵ ثانیه قرائت گردید. از بافر استات پتاسیم به عنوان شاهد استفاده شد. یک واحد فعالیت آنزیمی معادل مقدار آنزیمی که در مدت زمان یک دقیقه یک میکرومول سوبسترا ( $H_2O_2$ ) را به محصول تبدیل می کند در نظر گرفته و میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ گزارش شد (Chance and Maehly, 1995).

#### اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گوایکول-پراکسیداز

(POD): اندازه گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط آنزیم گوایکول پراکسیداز انجام می گیرد. در این روش ابتدا یک میلی لیتر محلول واکنش (۶۰ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با PH=7 به همراه ۹۶/۷۲ میکرولیتر گوایکول ۱۳ میلی مولار) را در کووت ریخته پس از آن ۳۳ میکرو لیتر عصاره گیاه به آن افزوده و بی درنگ محلول به هم زده شد و سپس ۲/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن پنج میلی مولار (۳۳/۹۷ میکرولیتر در ۶۰ میلی لیتر آب مقطر) به آن اضافه کرده، سپس مقدار جذب نوری در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه و به فواصل ۱۰ ثانیه قرائت گردید. از بافر فسفات پتاسیم به عنوان شاهد استفاده شد. فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول گوایکول اکسید شده در مدت یک دقیقه به ازای یک گرم وزن تازه برگ محاسبه شد (Chance and Maehly, 1995).

#### اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربیک-پراکسیداز

(APX): بدین منظور ۵۰ میکرو لیتر عصاره گیاه را با یک میلی لیتر از محلول واکنش (۶۰ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با PH=7، ۰/۰۰۲۳ گرم EDTA ۰/۱ میلی مولار و ۰/۰۰۵۳ گرم آسکوربات ۰/۵ میلی مولار) مخلوط و ۲/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۰/۱۵ میلی مولار) به آن اضافه

متابولیسم پروتئین می‌شود. برخی از پژوهشگران بر این باورند که تنش شوری شدید، باعث افزایش میزان پروتئین برگ می‌گردد (Abbaspour *et al.*, 2012). تنش شوری کلرید سدیم در شرایط درون شیشه ای باعث افزایش محتوای پروتئین کل در پایه های انگور (Alizadeh *et al.*, 2010) و انجیر (Abdolinejad and shekafandeh, 2014 b) گردید.

#### تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز:

شوری تأثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در همه ارقام مورد بررسی داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ارقام سیاه و سبز در سطح حداکثر شوری (۱۰ دسی زیمنس) (به ترتیب ۱/۹۲ و ۱/۹۰ میکرومول در دقیقه در گرم تازه برگ) و کمترین میزان آن در رقم شاه انجیر (۱/۶۵ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۲). گیاهان برای کم کردن اثرات زیان بار گونه های فعال اکسیژن و جلوگیری از اثرات سمی آنها سازوکارهای خاصی را بکار می‌برند که از آن جمله می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسیددیسموتاز اشاره کرد (Wang *et al.*, 2013). به گزارش عبدلی نژاد و شکافنده (۲۰۱۴b) در شرایط درون شیشه ای در دو رقم شاه انجیر و سبز، افزایش سطح شوری از ۰/۶ به نه دسی‌زیمنس بر متر، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز روند افزایشی داشت و بیشترین فعالیت آنزیم در شوری نه دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. نتایج مشابهی در انجیر توسط زارعی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش شده است.

#### تأثیر تنش شوری بر میزان کاتالاز:

تنش شوری از ۰/۵ دسی‌زیمنس بر متر به تدریج بر فعالیت کاتالاز افزوده شد به طوری که در سطح هشت دسی‌زیمنس بر متر به حداکثر مقدار خود رسید. در بین ارقام مختلف بیشترین میزان کاتالاز در سطح ۸ دسی‌زیمنس بر متر در رقم متی (۰/۱۳ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) و کمترین آن در رقم سیاه (۰/۰۶ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد و سپس در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر روندی کاهشی در فعالیت آنزیم مشاهده شد (شکل ۳). نتایج مشابهی

به هر نمونه افزوده و نمونه ها در انکوباتور در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۳۰ قرار گرفتند. در مرحله بعد حجم تیوب های حاوی نمونه با دی متیل سولفوکسید به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس یک میلی لیتر از این محلول را در کووت ریخته و میزان جذب در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و بعد از محاسبه رنگیزه ها، مقادیر آنها بر حسب میلی گرم در گرم وزن تازه برگ گزارش شد (Hiscox and Israelstam, 1979).

#### طرح آزمایشی و آنالیز داده‌ها:

آزمون کولموگراف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) تأیید شد. آنالیز واریانس چندمتغیره با در نظر گرفتن رقم و شوری به عنوان متغیرهای مستقل انجام شد. تست لون (Levene's test) هموزنی واریانس را تأیید کرد. آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) برای مقایسه میانگین ( $P < 0.01$ ) انجام شد. برش دهی اثر متقابل برای سطوح مختلف شوری و ارقام مختلف انجام شد. آنالیزهای آماری با برنامه MSTATC و SAS 9.1.3 انجام شد. همچنین ترسیم تصاویر گرافیکی با کمک برنامه EXCEL انجام شد.

#### نتایج و بحث

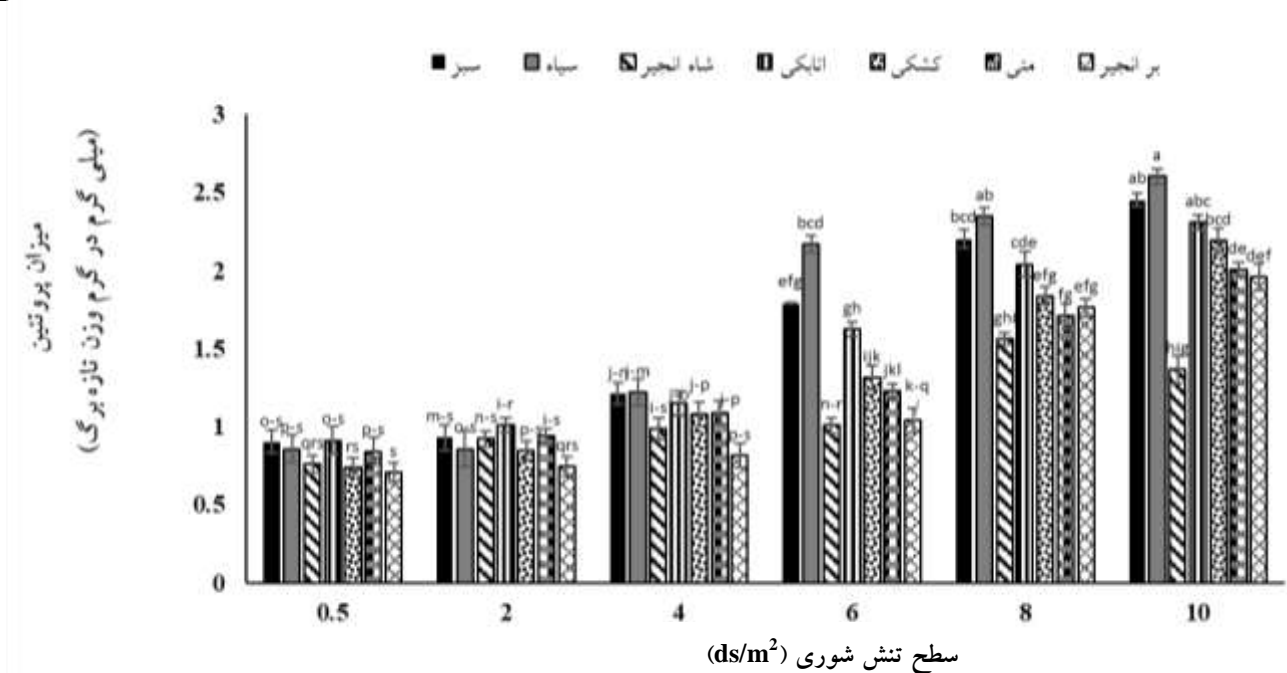
با توجه به نرمال بودن داده ها و هموزنی واریانس (جدول ۲)، نیاز به انجام تبدیل داده در خصوص داده ها نبود. نتیجه آنالیز واریانس حاکی از تأثیر معنی دار رقم و سطوح شوری بر صفات مورد بررسی بود ( $P < 0.01$ ).

#### تأثیر شوری بر میزان پروتئین کل:

با افزایش سطح شوری در تمام ارقام میزان پروتئین کل افزایش معنی داری داشت. بیشترین میزان تجمع پروتئین کل در سطح حداکثر شوری (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) در رقم سیاه (۲/۶۰ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) و کمترین آن در رقم شاه انجیر (۱/۳۶ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد در صورتی که در سطح شاهد، در همه ارقام میزان تجمع پروتئین کل کمتر از یک میلی گرم در گرم وزن تازه برگ بود (شکل ۱). شوری منجر به افزایش فعالیت و سنتز بسیاری از آنزیم های عمل کننده در

جدول ۲- نتایج تست لون در خصوص هموزنی واریانس

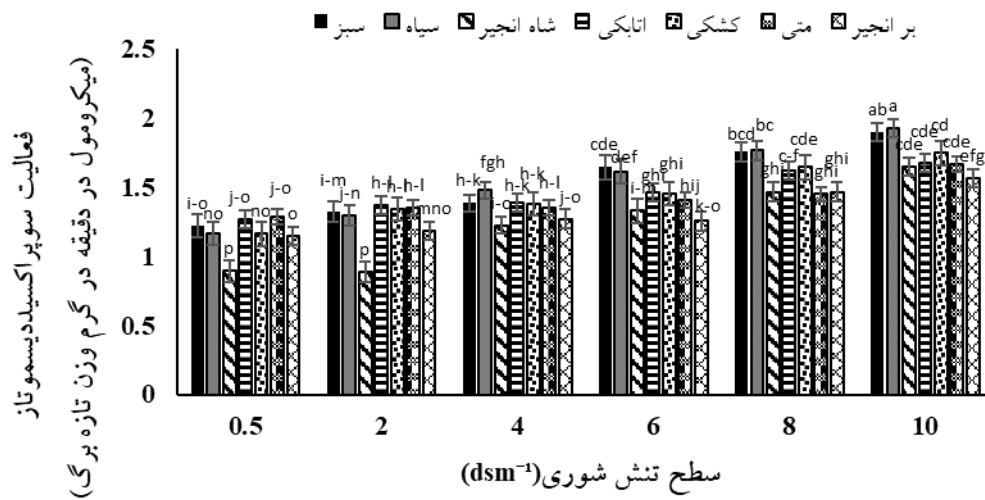
متغیر	Levene's Test (sig)	متغیر	Levene's Test (sig)
پروتئین کل	۰/۲۰	پرولین	۰/۰۵۹
سوپراکسید-دیسموتاز	۰/۰۶۲	کلروفیل آ	۰/۳۱
کاتالاز	۰/۱۵	کلروفیل ب	۰/۹۲
گوایکول-پراکسیداز	۰/۷۲	کلروفیل کل	۰/۰۸
آسکوربیک-پراکسیداز	۰/۳۱		



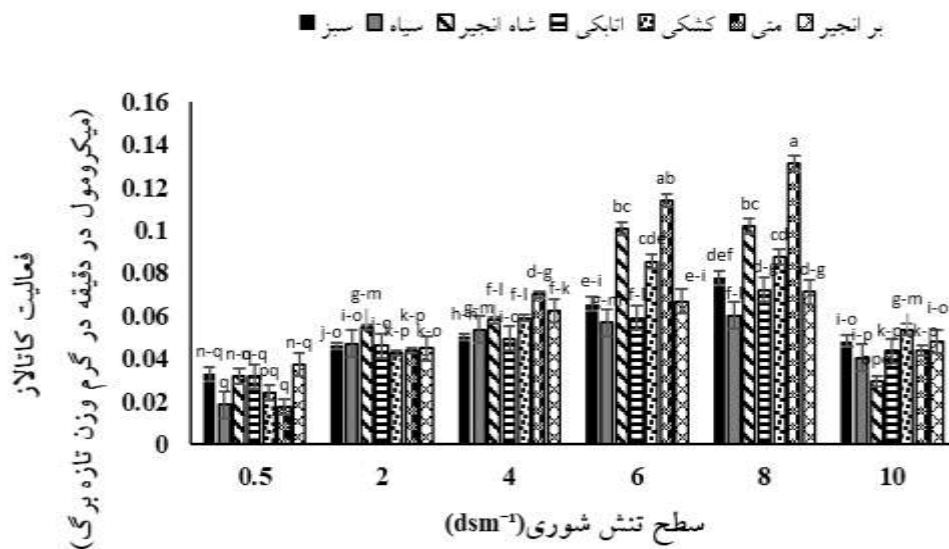
شکل ۱- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان پروتئین کل در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.

تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز: با افزایش سطح شوری به تدریج میزان فعالیت گوایکول پراکسیداز افزایش یافت و در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس برمتر به حداکثر مقدار خود رسید. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ارقام سیاه (در سطح ۸ دسی‌زیمنس برمتر) و سبز (۱۰ دسی‌زیمنس برمتر) (به ترتیب ۰/۱۹ و ۰/۱۵ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) و کمترین فعالیت آن در سطح حداکثر شوری (۱۰ دسی‌زیمنس برمتر) در ارقام اتابکی و متی (به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۲ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۴). فعالیت گوایکول پراکسیداز با مقاومت به تنش شوری همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد (Jithesh *et al.*, 2006). بنا به گزارش‌ها شوری موجب

در خصوص روند تغییرات این آنزیم در شرایط تنش شوری توسط امیری (۱۳۹۷) گزارش شده است. عبدلی نژاد و شکافنده (۲۰۱۴) نیز نشان دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم انجیر سبز و شاه انجیر با افزایش شوری تا ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر افزایش و در سطح شوری ۱۵ دسی‌زیمنس برمتر کاهش یافت (Abdolinejad and Shekafandeh, 2014b). به نظر می‌رسد عدم تعادل بین تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن دلیل اصلی این روند باشد. چون در شرایط تنش شدید، میزان تولید رادیکال‌های آزاد به شدت افزایش یافته و با غلبه بر کارکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی، باعث صدمه به پروتئین‌ها، غشا سلول و RNA می‌گردد (Foyer *et al.*, 1991).



شکل ۲- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.



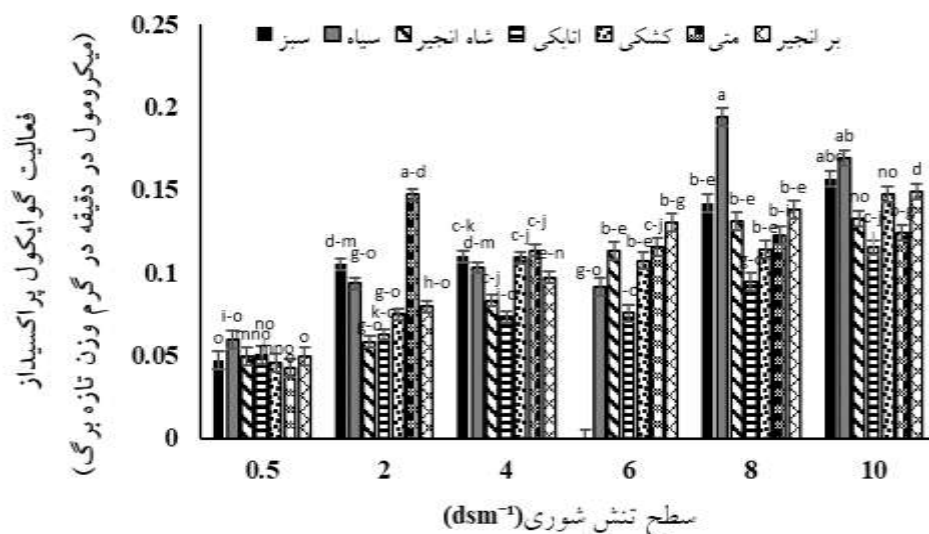
شکل ۳- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان فعالیت کاتالاز در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.

روندی نزولی داشت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در ارقام سبز و سیاه (به ترتیب ۰/۳۲ و ۰/۳۲ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) و کمترین میزان آن در رقم شاه انجیر به میزان (۰/۲۴ میکرومول در دقیقه در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۵). آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در تنظیم میزان پراکسیداز هیدروژن بیرون سلولی در گیاهان عالی دارد (Van Breusegem *et al.*, 2001, Shigeoka *et al.*, 2002).

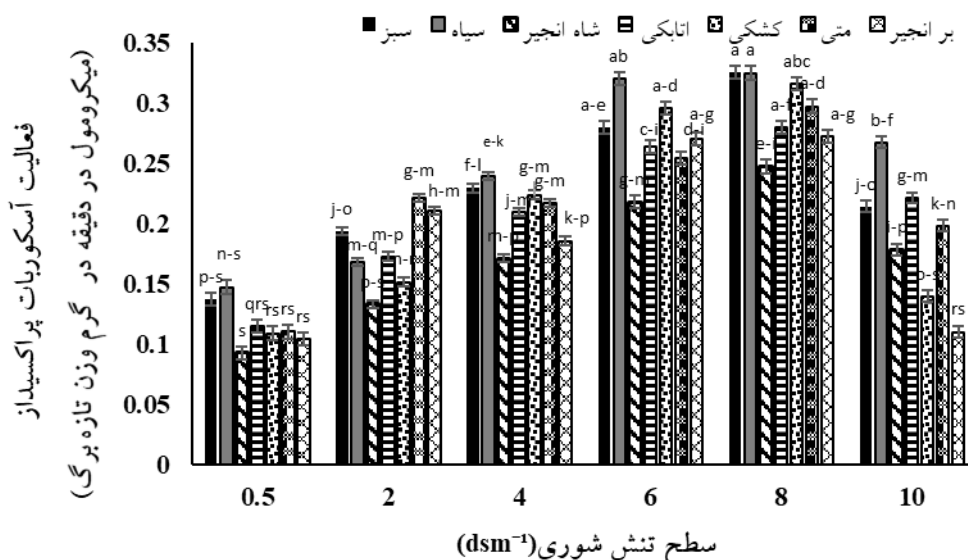
افزایش فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز در زیتون (Ben Ahmed *et al.*, 2010) و مرکبات (Balal *et al.*, 2012) گردیده است.

تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: با افزایش سطح شوری بر میزان آسکوربات پراکسیداز در همه ارقام افزوده و در شوری هشت دسی‌زیمنس بر متر به حداکثر مقدار خود رسید و سپس با افزایش سطح شوری فعالیت آنزیم





شکل ۴- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.

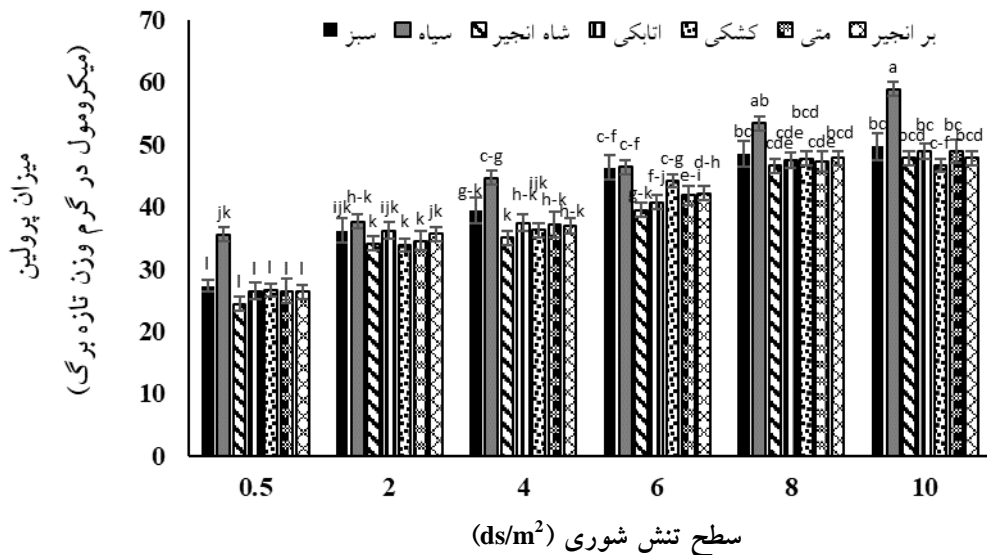


شکل ۵- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.

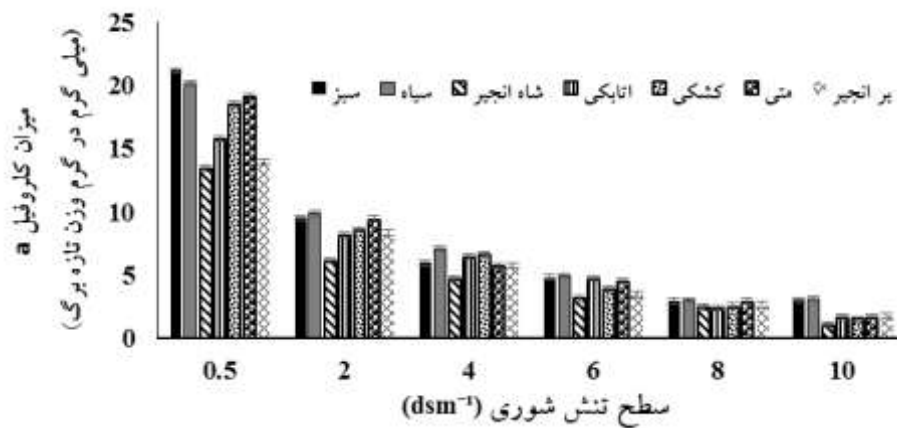
در حداکثر سطح شوری (۱۰ دسی‌زیمنس بر متر) به حداکثر مقدار خود رسید. در بین ارقام مختلف بیشترین میزان تجمع پرولین در ارقام سیاه و سبز (به ترتیب ۵۸/۹۱ و ۴۹/۷۶ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) و کمترین میزان افزایش آن (۴۷/۸۲ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) در رقم شاه انجیر مشاهده شد. بین محتوای پرولین برگ در ارقام متی (۴۹/۰۰۷ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ)، کشکی (۴۶/۵۸۳ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ)، برانجیر (۴۷/۸۷ میلی گرم در گرم وزن

فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری در گیاهان افزایش پیدا می‌کند و میزان آن ارتباط مستقیمی با مقاومت به شوری دارد (Jithesh *et al.*, 2006). بنا به نتایج محققان تحت تنش شوری فعالیت آنزیم مذکور در انجیر به شدت افزایش یافته است (Zarei *et al.*, Abdolinejad and Shekafandeh, 2014b). (2016)

تأثیر تنش شوری بر میزان پرولین برگ: با افزایش سطح شوری در همه ارقام میزان پرولین افزایش یافت به طوری که



شکل ۶- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان پرولین برگ در ارقام مختلف انجیر. مقادیر، میانگین پنج تکرار و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار با آزمون LSD در سطح یک درصد است.

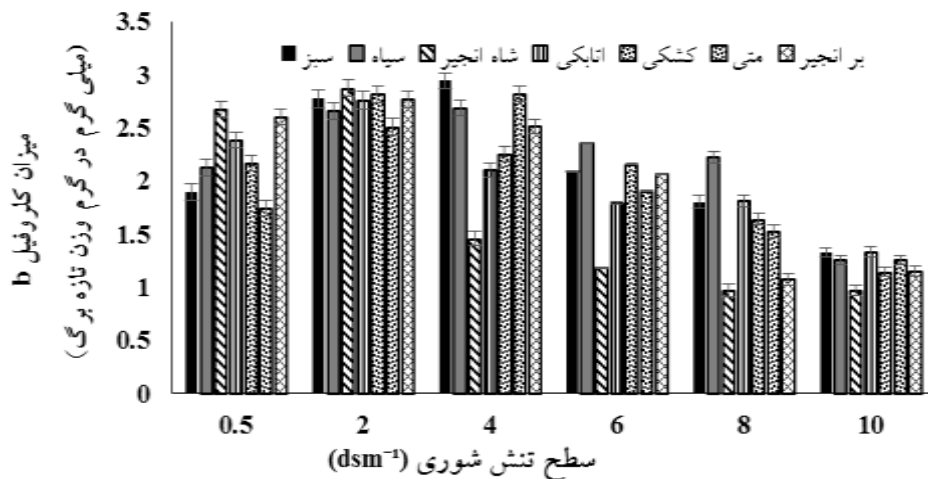


شکل ۷- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان کلروفیل a در ارقام مختلف انجیر.

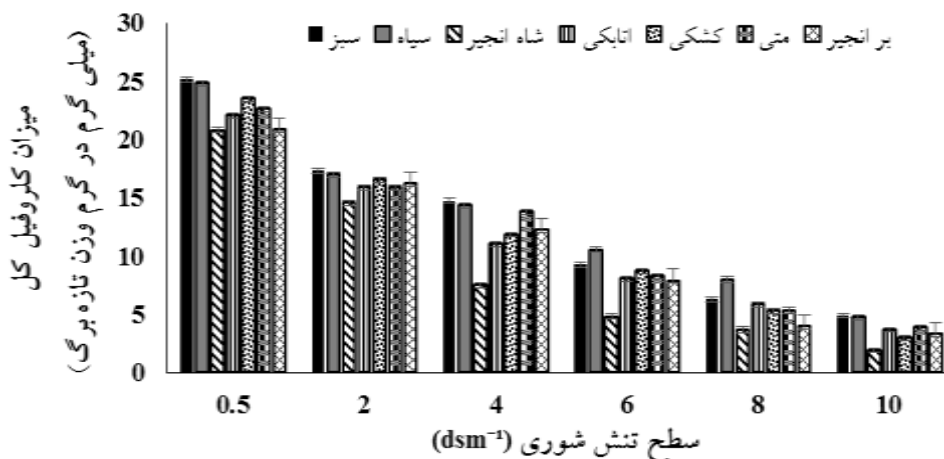
بیشتر از ارقام حساس بوده است.

**تأثیر شوری بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید:** با افزایش سطح شوری میزان کلروفیل a در همه ارقام به طور معنی داری کاهش پیدا کرد و در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به کمترین مقدار خود رسید. بیشترین و کمترین کاهش در محتوای کلروفیل a در سطح حداکثر شوری (۱۰ دسی‌زیمنس) در ارقام شاه انجیر و سیاه (به ترتیب ۱/۰۶ و ۳/۰۷ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۷). همچنین بیشترین کمترین کاهش در میزان کلروفیل b در سطح حداکثر شوری به دو رقم شاه انجیر (۰/۹۶ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ)

تازه برگ) و اتابکی (۴۹/۰۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه برگ) اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۶). در شرایط تنش شوری میزان پرولین افزایش می‌یابد (Houimli *et al.*, 2010). در بسیاری از گونه های گیاهی از جمله توت (Yu *et al.*, 2013)، مرکبات (Khoshbakht *et al.*, 2014)، انبه (Srivastav *et al.*, 2010)، توت فرنگی (Garria *et al.*, 2015) و انار (Khayyat *et al.*, 2014) افزایش پرولین تحت تنش شوری گزارش شده است. همسو با نتایج این تحقیق، میزان تجمع پرولین در ارقام متحمل به شوری انجیر (Abdolinejad and Shekafandeh, 2014; Zarei *et al.*, 2016) به طور معنی داری



شکل ۸- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان کلروفیل b در ارقام مختلف انجیر.

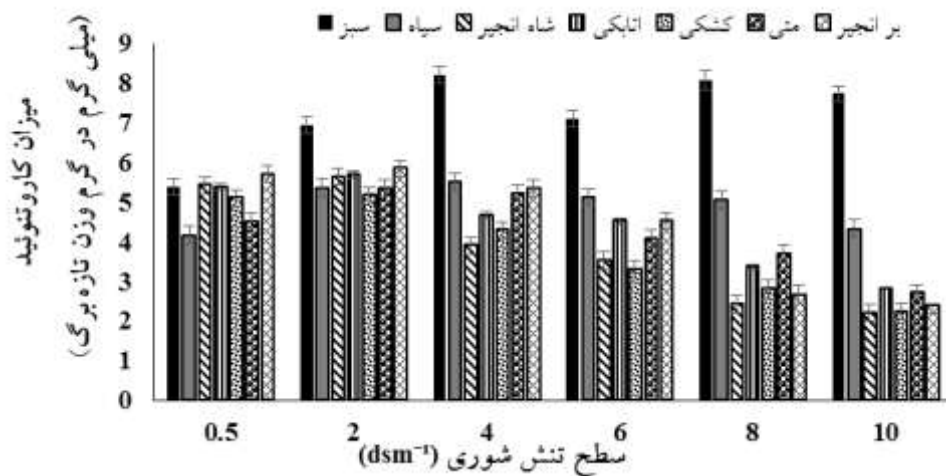


شکل ۹- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان کلروفیل کل در ارقام مختلف انجیر.

۲/۷۰ و ۲/۲۰ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۱۰).

کاهش در رنگیزه‌های فتوستتزی تحت تأثیر شوری در تمشک قرمز (Necleous and Vasilakakis, 2007)، زیتون (پوری و همکاران، ۱۳۹۶) و انار (Khayyat et al., 2014) توسط سایر محققان گزارش شده است. نمک‌ها با تجمع در کلروپلاست، اثرات سمیت خود را بر فتوستتزی و سیستم فتوستتزی اعمال می‌کنند (Munns and tester, 2008). کاهش در میزان کلروفیل ممکن است به دلیل افزایش تخریب کلروفیل، کاهش سنتز آن و کاهش استحکام غشاء تیلاکوئید باشد (Santos, 2004). شوری به علت پراکسیداسیون چربی‌ها، از طریق تجمع پراکسید هیدروژن و سایر ترکیبات فعال اکسیژن، باعث آسیب

و سیاه (۱/۲۵ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) تعلق داشت (شکل ۸). میزان کلروفیل کل با افزایش سطح شوری در همه ارقام کاهش یافت و کمترین میزان آن به رقم شاه انجیر (۱/۸۹ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) تعلق داشت. کمترین کاهش در میزان کلروفیل کل در دو رقم سبز (۴/۸۷ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) و سیاه (۴/۷۲ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) مشاهده شد (شکل ۹). میزان کاروتنوئیدها تا شوری دو دسی‌زیمنس بر متر افزایش، ولی با افزایش بیشتر نمک، به تدریج از محتوای آن کاسته شد. کمترین کاهش در میزان کاروتنوئیدها در سطح حداکثر شوری (۱۰ دسی‌زیمنس) در ارقام سبز و سیاه (به ترتیب ۷/۷۳ و ۴/۳۲ میلی گرم در گرم وزن تازه برگ) و بیشترین کاهش آن در دو رقم متی و شاه انجیر (به ترتیب



شکل ۱۰- اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان کاروتنوئید در ارقام مختلف انجیر

رقم سبز مشهود بود. مقدار رنگیزه های کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها با افزایش تنش شوری در همه ارقام کاهش پیدا کرد البته این کاهش در ارقام مقاوم (رقم سیاه) کمتر از ارقام حساس (رقم شاه انجیر) بود. در مطالعات قبلی مقایسه دو رقم سبز و شاه انجیر در شرایط درون شیشه ای حاکی از تحمل رقم سبز به شوری و حساسیت رقم شاه انجیر بود. در این مطالعه، رقم سیاه، یکی از مهمترین ارقام تازه خوری انجیر در ایران، رفتار فیزیولوژیک برتر و نمود آنتی اکسیدانی بیشتری، حتی نسبت به رقم سبز داشت. این رقم در تحقیقات قبلی در خصوص تحمل به خشکی نیز برتری خود را نشان داده بود و در این تحقیق از سایر ارقام تحمل بیشتری نسبت به شوری از خود نشان داد. لذا با توجه به خشکسالی های پیش رو که در پی آن شوری نیز اجتناب ناپذیر است و تحمل قابل توجه رقم سیاه به خشکی، که در مطالعات قبلی اثبات شده بود، به نظر میرسد توسعه رقم سیاه انجیر در مناطق با آب و خاک شور با راندمان بیشتری نسبت به سایر ارقام انجیر همراه باشد. در رتبه بعدی تحمل، رقم سبز قرار داشت، که مهمترین رقم خشک کردنی انجیر ایران می باشد و بیشترین سطح زیر کشت در ایران را به خود اختصاص داده است. رقم شاه انجیر که به عنوان یکی از مهمترین ارقام تازه خوری در استان فارس کشت و کار می شود، حساس ترین رقم به تنش شوری بود. سایر ارقام در حد واسط تحمل تا حساسیت قرار گرفتند.

به غشاء سلول می گردد (Mandhania *et al.*, 2006). از سیستم های دفاعی غیر آنزیمی گیاه به این تنش اکسیداتیو، می توان به کاهش رنگیزه های فتوسنتزی و افزایش پرولین اشاره کرد (Van Breusegem *et al.*, 2001; Shigeoka *et al.*, 2002). البته با وجودی که کاهش در محتوای کلروفیل تحت تنش شوری پدیده ای معمول است اما شدت این کاهش، بستگی به تحمل گیاه به شوری دارد (Ashraf and Harris, 2013). در این تحقیق نیز با افزایش میزان نمک از میزان رنگیزه های گیاهی کاسته شد و بیشترین افت در رقم شاه انجیر و کمترین آن در ارقام سیاه و سبز ملاحظه گردید.

### نتیجه گیری کلی

اگر چه نتایج مطالعات متعدد بر گونه های مختلف گیاهی، موید تغییر در شدت فعالیت آنزیم های دخیل در مهار گونه های فعال اکسیژن، تحت تنش شوری بوده است، اما به نظر می رسد این مساله به شدت وابسته به گونه و رقم می باشد. نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که با افزایش شدت شوری، بر محتوای پروتئین کل و سنتز آنزیم های آنتی اکسیدانی در همه ارقام افزوده شد و این افزایش در ارقام مقاوم به شوری (ارقام سیاه و سبز) بیشتر از ارقام حساس (رقم شاه انجیر) بود. افزایش پرولین، یکی از معیارهای تحمل به شوری در گیاهان، در ارقام متحمل به شوری نظیر رقم سیاه و

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از بخشی از رساله دانشجوی دکترای رشته علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان می‌باشد. از معاونت پژوهشی دانشگاه هرمزگان، گروه علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان، گروه ژنتیک و اصلاح نبات دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استهبان به دلیل فراهم آوردن امکانات و تجهیزات اجرای تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

## منابع

- امیری، ج. (۱۳۹۷). تأثیر محلول پاشی برگ‌های اسید سالیسیلیک بر برخی صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی انگور رقم تامپسون سیدلیس در شرایط تنش شوری. فرآیند و کاربرد گیاهی ۷: ۷۳-۹۱.
- پوری، ن.، سیفی، ا. و علیزاده، م. (۱۳۹۶). ارزیابی اثر تنش شوری و پرولین بر برخی از صفات ریخت‌شناسی و فیزیکی و فیتوشیمیایی برگ در سه رقم زیتون (*Olea europea L.*). فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی، ۲: ۶۹-۸۵.
- زارعی، م.، عزیزی، م.، راحمی، م. و تهرانی فر، ع. (۱۳۹۵). ارزیابی تحمل به شوری سه رقم انجیر بر اساس ویژگی‌های رشدی، فیزیولوژیکی و توزیع یون‌ها در گیاه. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. جلد ۱۷. ۲: ۲۴۷-۲۶۰.
- Abbaspour, H., Afshari, H. and Abdel-wahhab, M. A. (2012) Influence of salt stress on growth, pigments, soluble sugars and ion accumulation in three pistachio cultivars. *Journal of Medicinal plant research* 6: 2468-2473.
- Abdoli Nejad R. and Shekafandeh A. (2014a) Salt stress-induced changes in leaf antioxidant activity, proline and protein content in 'Shah Anjir' and 'Anjir Sabz' fig seedlings. *International Journal of Horticultural Science and Technology* 1: 121-129.
- AbdoliNejad, R. and Shekafandeh, A. (2014b) Responses of Two Figs (*Ficus carica L.*) Cultivars under Salt Stress via In Vitro Condition. *Agriculture Science Developments* 3:194-199
- Alizadeh, M., Singh, S.K. and Patel, V. B. (2010) Comparative performance of in vitro multiplication in four grape (*Vitis spp.*) rootstock genotypes. *International Journal of Plant Production* 4: 41-50.
- Al-Karaki, G.N. (2000) Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza* 10: 51-54.
- Alswalmeh, H. A., Al-obeed, R. S., and Khalil Omar, A. El-D. (2015) Effect of water salinity on seedlings growth of Brown Turkey and Royal fig cultivars. *The Journal of Agriculture and Natural Resources*, 2:510-516.
- Ashraf, M., and Harris, P. J.C. (2013) Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Phosynthetica* 51: 163-190.
- Balal, R. M., Ashraf, M. Y. Khan, M. M. Jaskani, M. J. and Ashfaq, M. (2012) Influence of salt stress on growth and biochemical parameters of *citrus* rootstocks. *Pakistan Journal of Botany* 43: 2135-2141.
- Bates, L.S., Waldern, R. P. and Teave I. D. (1973) Rapid determination of free proline or water stress standies. *Plant and Soil* 39: 205-107.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276-287.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., Boukhriss, M. and Ben Abdullah, F. (2010) exogenous proline effects on photosynthetic performance and antioxidant defense system of young olive tree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58:4216-4222.
- Bolat, I., Kaya, C., Almaca, A. and Timucin, S. (2006) Calcium Sulfate Improves Salinity Tolerance in Rootstocks of Plum. *Journal of Plant Nutrition* 29:553-564.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein dyebinding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1995) Assay of catalase and peroxidase. In: *Methods in Enzymology* (Eds. Culowic, S. P. and Kaplan, N. O.). Pp. 764-765. Academic Press. Inc. New York.
- Duenas, M., Perez-Alonso, J.J., SantosBuelga, C. and Escribano-Bailon, T. (2008) Anthocyanin composition in fig (*Ficus carica L.*). *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 107-115.
- Essam, M., Mohamad M. and Zakaria, I. (2013) Effect of different concentration of carbon source, salinity and gelling agent on *in vitro* growth fig (*Ficus carica L.*). *African Journal of Biotechnology*, 12:936-940.
- FAO. 2016. FAO. Available online at: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/>. Accessed 25 April 2016.
- Foyer, CH., Lelandais, M., Galap, C. and Kunert, K-J. (1991) Effects of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions. *Plant Physiology* 97: 863-872.

- Ferguson, L., J. A. Poos, S. R. Grattan, C. M. Grieve, D. Wang, C. Wilson, Donovan, T. J and Chao, C. T. (2020) pistachio rootstocks influence scion growth and ion relations under salinity and boron stress. *J. Amer. Soc. Horticultural Science* 127:194-199.
- Garria, M., Munos, C. A., Caligari, P. D., and Retamales, J. B. (2015) Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and Chilean strawberry (*F. chiloensis*). *Scientia Horticulturae* 195: 37-47.
- Gholami, M., Rahemi, M., and Rastegar, S. (2012) methods for detecting drought tolerant cultivars fig (*Ficus carica*). *Scientia Horticulturae* 143:7-14.
- Golombek, S.D. and Lüdders, P. (1990) Gas exchange of *Ficus carica* in response to salinity. In: *Plant Nutrition- Physiology and Applications*. (Ed. Beusichem, M. L.,). Pp: 487-493. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands.
- Grotewold, E. (2006) The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annual Review of Plant Biology* 57: 761–780.
- Hiscox, J. D., and Israelstam, G. F. (1979) A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Pollution* 131:453-459.
- Houimli, S. I. M., Denden, M., and Mohandes, B. D. (2010) Effect of 24-epibrassinolide on growth, chlorophyll, electrolyte leakage and proline by pepper plants under NaCl-stress. *Eur Asian journal of Biosciences*.4:96-104.
- Kavi kishor, B. P., Hima kumara, P., Sunida, M. S. L., and Sreenvasulu, N. (2015) Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny. *frontiers in plant science*.6:455
- Khayyat, M., Tehranifar, A., Davarynejad, G. H., and Sayyari-Zahan M. H. (2014) Vegetative growth, compatible solute accumulation, ion partitioning and chlorophyll fluorescence of Malase-e-Saveh and Shishe-kab pomegranate in response to salinity stress. *Photosynthetica* 5: 301-312.
- Khoshbakht, D., Ghorbani, A., Baninasab .B, Naseri, L. A. and Mirzaei, M. (2014) Effects of supplementary potassium nitrate on growth and gas-exchange characteristics of salt-stressed citrus seedling. *Photosynthetica*, 52:589-596.
- Lingqiang, M. Guan., Scandalios, John.G. (2002) Catalase gene expression in response to auxin-mediated developmental signals. *physiologia plantarum*. volume 114: 288-295.
- Jithesh, M. N., Prashanth, S. R., Sivaprakash, K. R. and Parida, A. K. (2006) Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. *Journal of Genetics* (85): 237–254.
- Mandhania, S., Madan, S. and Sawhny, V. (2006) Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 227-231.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends plant science*. 79(9):405-10.
- Molazem, D., Qurbanov, E., and Dunyamaliyev, A. S. (2010) Role of Proline, Na and Chlorophyll Content in Salt Tolerance of Corn (*Zea mays* L.). *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Science* 9:319-324.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant. Cell Environ.* 25, 239–250.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651–681.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology journal* 22: 867–880.
- Murcute, A., Sahu, M., Mali, P., Rangari, V. (2010) Development and evaluation of formulations of microbial biotransformed extract of tobacco leaves for hair growth potential. *Pharmacognosy Reserch* 2: 300-303.
- Necleous, D. and Vasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. 'Autumn Bliss'). *Scientia Horticulturae*, 112: 282-289
- Rengasamy, P. (2002) Transient salinity and subsoil constraints to dryland farming in Australian sodic soil: an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 42: 351-361.
- Richards, L. A (1954) Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. U.S. Department of Agriculture. *Agric. Handbook*, No. 60. P3.
- Rostami, A. A., and Rahemi, M. (2013) screening drought tolerance in caprifig varieties in accordance to responses of antioxidant enzymes. *World Applied Sciences Journal* 21:1213-1219.
- Santos, C.V. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae* 103: 93-99.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Soby S. (2002) Fig fact sheet. *Fruit & nut. Research and information center*. Available from: <http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/index.html> [Accessed 8 November 2007].
- Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. (2008) Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro, *Biology of. Plant* 52: 573-576
- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V. Khodambashi, M., and Sofo, A. (2012) Salt stress induction of some key antioxidant enzymes and metabolites in eight Iranian wild almond species. *Acta physiologiae plantarum*, 34:203-213.
- Srivastav, M., Kishor, A., Dahuja, A., Sharma, R. R. (2010) Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulture* 125: 785–788.

- Tiwari, K. J., Munshi, D. A., Kumar, R., Pandey, N. R., Arora, A., Bhat, S. J., and Sureja, K. A. (2010) Effect of salt stress on cucumber: Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ratio, osmolyte concentration, phenols and chlorophyll content. *Acta Physiologiae Plantarum* 32:103-114.
- Van Breusegem, F., Vranova, E., Dat, J. F and Inze, D. (2001) the role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science Journal* 161: 405-414.
- Verbruggen, N., and Hermans, C. (2008) Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35:753-9.
- Wang, Y., Gary, J.L. and Cheangcai, C. (2013) Cross-talk of nitric oxide and reactive oxygen species in plant programmed cell death. *Plant Science Journal* 4: Article314.
- Yarami, N and Sepaskhah, A. (2015) physiological growth and gas exchange response of saffron (*Crocus sativus* L.) to irrigation water salinity, manure application and planting method. *Agricultural water Management*, 154:43-51.
- Yu, c., Huang, S., Hu, X., Deng, W., Xiong, C., Li, Y., and Peng, B. ( 2013) Changes in photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzymes of mulberry (*Morus ssp.*) in response to salinity and high-temperature stress. *Biologia* 68:404-413.
- Zarei, M., Azizi, M., Rahemi, M. and tehranifar, A. (2016) Evaluation of NaCl Salinity Tolerance of Four Fig Genotypes Based on Vegetative Growth and Ion Content in Leaves, Shoots, and Roots. *Horticultural Science* 51:1427-1434.
- Zarei, M., Azizi, M., Rahemi, M. and Tehranifar, A. (2016) Evaluation of NaCl Salinity Tolerance of Four Fig Genotypes Based on Vegetative Growth and Ion Content in Leaves, Shoots, and Roots. *Horticultural Science* 51:1427-1434.
- Zrig, A., Ben Mohamed, H., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valero, D and Vadel A. M. (2017) Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany* 102:50-59.