

## پاسخ ارقام هلو پیوندشده بر پایه GN-15 به کاربرد اسیدهای آلی در شرایط تنش بی کربنات کلسیم

احسان اکبرپور<sup>۱</sup>، علی ایمانی<sup>۲</sup>، عبدالمجید میرزاعلیان دستجردی<sup>۳\*</sup>، منصوره شمیلی<sup>۱</sup><sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس<sup>۲</sup> پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات باغبانی، کرج

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۱۰/۲۱

## چکیده

این پژوهش با هدف بررسی اثر اسید آلی بر تعدیل تنش بی کربنات کلسیم در سه رقم هلو روی پایه GN-15 انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کاملاً تصادفی طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۶ انجام شد. فاکتورها شامل ارقام هلو (رد هون، جی‌اچ هیل و برزگر)، بی کربنات کلسیم (صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و ترکیب اسیدهای آلی سیتریک، اگزالیک و مالیک (صفر و ۱۰ میلی مولار) بود. تحت تنش بی کربنات کلسیم، میزان پرولین، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و میزان کربوهیدرات افزایش یافت. بیشترین میزان کلروفیل (۱/۷ میلی گرم بر گرم) و نسبت Fv/Fm (۰/۷۹) در رقم برزگر و در شرایط عدم تنش مشاهده شد. تحت تنش شدید بی کربنات کلسیم (۱۵ میلی مولار) برگ‌های رقم برزگر میزان آب نسبی بالاتری (۵۵/۷۷ درصد) را در مقایسه با سایر ارقام پیوندی نشان داد. اسیدهای آلی سبب بهبود میزان کلروفیل برگ، تجمع پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، سوپراکسیداز دیسموتاز و گلوکاتایون ردوکتاز) شد. همچنین کاربرد ۱۰ میلی مولار اسیدهای آلی سبب افزایش معنی‌دار عناصر فسفر، آهن، روی و منگنز گردید و شدت کلروز ناشی از کمبود آهن را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در نهایت، برزگر به‌عنوان متحمل‌ترین رقم به کلروز ناشی از کمبود آهن معرفی شد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، کلروز، فلورسانس کلروفیل

(Shahsavandi et al., 2020).

## مقدمه

وجود مقادیر زیاد بی کربنات در آب و خاک از دلایل اصلی کلروز کمبود آهن در گیاهان رشدیافته در خاک‌های آهکی است (Valipour et al., 2020). در بادام تنش بی کربنات کلسیم به‌طور معنی‌داری سبب کاهش شاخص‌های رشدی و میزان کلروفیل شده است (ایمانی و همکاران، ۱۳۹۹). در نهال‌های هلو (De La Guardia and Alcantara, 2002) و انگور (Ksouri et al., 2007) تحت تیمار بی کربنات سدیم، کاهش

از بین عوامل اصلی تأثیرگذار بر کیفیت آب، درجه قلیائیت آن، به دلیل اثر شدید بر pH خاک، از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Albiac et al., 2006). درجه قلیائیت آب نشان‌دهنده غلظت مواد قلیایی محلول است که دارای ظرفیت خنثی‌کنندگی اسیدها هستند (Geddie and Hall, 2019). pH قلیایی منجر به تشکیل اشکال نامحلول آهن و روی می‌شود، که به‌موجب آن، این عناصر از حالت قابل جذب برای گیاه خارج می‌شوند

میزان کلروفیل برگ گزارش شده است. در درختان سیب، آب آبیاری حاوی بی‌کربنات با غلظت بالاتر از ۵ میلی‌مولار موجب بروز اختلالات تغذیه‌ای شد (شهابی و ملکوتی، ۱۳۸۲). افزایش مقدار غلظت بی‌کربنات در آب آبیاری موجب کاهش مقدار کلروفیل و میزان آهن برگ، رشد ساقه و تعداد برگ جدید در نهال‌های زیتون و هلو شده است (Manul and Esteban, 2002). همچنین در دو رقم کیوی بی‌کربنات سبب تخریب کلروپلاست و کاهش وزن خشک برگ و شاخه شد. ضمن اینکه علائم زردی ناشی از کلروز آهن، ۳۵ روز پس از اعمال تنش، در هر دو رقم مشهود بود (Wang et al., 2019).

از راه‌های تعدیل اثرات منفی قلیائیت آب بر گیاهان، می‌توان به افزودن اسید به آب، مدیریت آب با تغییر میزان آبیاری، استفاده از ارقام مقاوم و برخی روش‌های به‌زراعی یا به‌باغبانی جهت افزایش تهویه خاک اشاره کرد. افزودن اسیدهای آلی به آب آبیاری می‌تواند به‌عنوان راهکاری ایمن و پایدار برای کاهش اثرات منفی تنش بر رشد گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. مهمترین مزیت آن در مقایسه با کلات‌های EDTA و EDDHA سهولت تجزیه توسط میکروارگانیزم‌ها و عدم اثرات سوء است، لذا در بلندمدت آسیبی به محیط زیست و اکوسیستم وارد نمی‌کند. اسیدهای ارگانیک با شکستن باندهای کاتیون-اکسیژن ساختارهای معدنی و کاهش pH ریزوسفر، سبب آزاد شدن کاتیون‌های غذایی غیرقابل دسترس می‌گردند (Adeleke et al., 2012). نتایج پژوهش Tahjib و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که کاربرد اسید سیتریک به‌صورت محلول‌پاشی یا همراه با آب آبیاری، سبب کاهش اثرات منفی ناشی از تنش بی‌کربنات شده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بهبود بخشیده است Macias-Benitez و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند تیمار ریزوسفر با اسیدهای آلی سیتریک، اگزالیک و لاکتیک با افزایش حلالیت فسفر و جمعیت میکروارگانیزم‌های مفید خاک (این میکروارگانیزم‌ها از اسیدهای آلی به‌عنوان منبع کربن و منبع انرژی در متابولیسم خود استفاده می‌کنند) همراه بوده است.

برای مقابله با کلروز آهن ناشی از آهک، از پایه‌های مقاوم

به کلروز آهن نیز استفاده می‌شود (Tagliavini et al., 2001). پایه هیبرید TNG (هیبرید بین بادام رقم تیتان و هلوی نماگارد) نسبت به پایه‌های نماگارد و مونتکارا، تحمل بالایی نسبت به کلروز ناشی از کمبود آهن در شرایط قلیایی نشان داده است (Egilla et al., 1994). پایه GN-15 (گارنم) یکی از پایه‌های هیبرید رویشی بادام Garfi و هلو Nemared است که به‌صورت تجاری تکثیر می‌گردد و تحمل نسبتاً بالایی به آهک در خاک دارد. این پایه در اروپا در سطح وسیعی استفاده می‌گردد (رستمی و همکاران، ۱۳۹۴؛ مرادی و همکاران، ۱۳۹۸) در این مطالعه با هدف بررسی تحمل ترکیبات پایه پیوندی مختلف به حضور بی‌کربنات کلسیم در آب آبیاری و نقش اسیدهای آلی در تعدیل خسارات ناشی از تنش بی‌کربنات کلسیم، پاسخ‌های رشدی و فیزیولوژیکی سه رقم هلوی جی‌اچ‌هیل، رد هون و برزگر پیوندشده بر پایه GN-15 به کاربرد اسیدهای آلی تحت تنش بی‌کربنات کلسیم مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

آزمایش طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۶ به‌صورت فاکتوریل (سه رقم، سه سطح بی‌کربنات کلسیم و دو سطح اسید آلی) بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در محل مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر واقع در محمد شهر کرج به اجرا درآمد. فاکتورهای مورد مطالعه در این آزمایش شامل ارقام هلو (جی‌اچ‌هیل، رد هون و برزگر)، بی‌کربنات کلسیم (صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار) و کاربرد دو سطح (صفر و ۱۰ میلی‌مولار) ترکیب اسیدهای آلی اگزالیک (ساخت شرکت سیگما آلدریچ با وزن مولکولی ۹۰/۰۳ و خلوص ۹۹ درصد)، سیتریک (ساخت شرکت سیگما آلدریچ با وزن مولکولی ۱۹۲/۱۲ و خلوص ۹۹/۵) و مالیک (ساخت شرکت سیگما آلدریچ با وزن مولکولی ۱۳۴/۰۹ و خلوص ۹۹ درصد) بود.

پایه‌های رویشی GN-15 تکثیرشده از طریق ریزازدیادی از شرکت تولید نهال کشت بافتی (ایتا صدرا) تهیه و در فروردین ۱۳۹۶ به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۴۰ و ارتفاع ۴۰

برای بار سوم وزن شدند (DW). سپس مقدار نسبی آب برگ از (۱) محاسبه گردید.

رابطه (۱)

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

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

رابطه (۲)

$$II = Lt / Lo \times 100$$

اندازه‌گیری کلروفیل به روش Arnon (۱۹۶۷) انجام شد. نیم گرم برگ تازه در نیتروژن مایع خرد کرده، سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ افزوده و سانتریفیوژ (۶۰۰۰ دور در دقیقه، ۱۰ دقیقه) شد. مقدار جذب روشن‌ر در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (مدل DR2000 ساخت شرکت Hach آمریکا) خوانده شد. در نهایت با استفاده از روابط ۳ تا ۵ میزان کلروفیل کل (Total Chlorophyll) برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر نمونه بدست آمد:

رابطه ۳

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

رابطه ۴

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

رابطه ۵

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}$$

که در آنها V: حجم روشن‌ر؛  $A_{645}$  و  $A_{663}$ : جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و W: وزن تر نمونه برحسب گرم است.

اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه

سانتی‌متر حاوی مخلوطی از کود دامی پوسیده، ماسه نرم و خاک باغ به نسبت وزنی (۱:۱:۱) ضد عفونی شده با قارچ‌کش بنومیل، منتقل شدند. تیمار تنش بی‌کربنات کلسیم همراه با آب آبیاری در اردیبهشت ۱۳۹۷ اعمال گردید. تیمار اسیدهای آلی نیز به صورت همزمان و با اضافه نمودن ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول به حجم رسانده شده اسید آلی به گلدان‌ها اعمال گردید. تیمارهای بی‌کربنات کلسیم و اسید آلی در تمامی واحدهای آزمایشی به صورت همزمان و همراه با آبیاری انجام گردید بدین صورت که در تیمار شاهد تنها آب خالی و در تیمارهای بی‌کربنات کلسیم آبیاری به وسیله محلول حاوی غلظت معین بی‌کربنات کلسیم و در تیمارهای اسید آلی ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول به حجم رسانده شده از ترکیب اسیدهای آلی ذکر شده شش ساعت پس از آبیاری اولیه به گلدان‌ها اضافه می‌گردید. میزان آب مصرفی برای تمامی واحدهای آزمایشی یکسان و به میزان ۵ لیتر در هر بار آبیاری بود. pH آب مورد استفاده برای آبیاری با دستگاه EC-pH متر دیجیتالی ساخت شرکت Hanna اندازه‌گیری گردید. در حالت شاهد آب آبیاری pH برابر با ۷/۵ و EC ۰/۵ ds/m را نشان داد. پس از اضافه نمودن بی‌کربنات کلسیم به آبیاری در تیمار ۷/۵ میلی‌مولار pH محلول به عدد ۷/۸ و EC محلول به ۰/۵۱ ds/m رسید. در تیمار ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات کلسیم pH محلول به عدد ۸ و EC محلول به عدد ۰/۵۲ رسید. اضافه نمودن اسیدهای آلی تأثیری بر درجه شوری آب نداشته اما در تیمار شاهد pH را تا ۷/۳، در تیمار بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار تا ۷/۵ و در تیمار ۱۵ میلی‌مولار تا ۷/۹ کاهش داد. دو ماه پس از اعمال تیمارهای تنش و اسیدهای آلی، برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در برگ‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ براساس روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰) انجام شد. نمونه‌ها از بالاترین برگ توسعه یافته جدا گردیده و توزین شدند (FW). سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر غوطه‌ور گردیدند و بعد از اینکه آب آنها گرفته شد، وزن آنها مجدداً ثبت گردید (SW). نمونه‌ها بعد از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در آون و خشک شدن،

برحسب میلی گرم در گرم بافت گیاهی بدست آمد.  
رابطه ۶

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

که X مقدار پرولین (میکروگرم در گرم)، A مقدار پرولین بدست آمده از نمودار استاندارد (میکروگرم بر میلی لیتر)، B مقدار تولوئن استفاده شده (میلی لیتر)، C عدد ملکولی پرولین و D مقدار نمونه گیاهی توزین شده (گرم) است.

جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ابتدا برگ تازه با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) طبق روش Aebi (۱۹۸۴) و براساس میزان ناپدید شدن آب اکسیژنه ( $H_2O_2$ ) با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجش و با استفاده از رابطه ۷ و برحسب میلی گرم در گرم برگ محاسبه شد.  
رابطه ۷

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

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

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به روش اسپکتروفتومتری و براساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد (Beyer and Fridovich, 1987). فعالیت آنزیم (برحسب میلی گرم در گرم برگ) از رابطه ۸ محاسبه شد.

رابطه ۸

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

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

جهت سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز (GR) به روش Smith و همکاران (۱۹۸۸)، تغییرات جذب نور نمونه ها

فلوریمتر (مدل Opti-Sciences: OS30p ساخت کشور ایالات متحده آمریکا) و براساس روش Genty و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد. بدین منظور برگ ها با استفاده از گیره های مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس سنسور دستگاه به گیره متصل، نور در طول موج ۶۹۵ نانومتر به برگ تابیده و عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی ( $F_v/F_m$ ) ثبت گردید.

میزان کربوهیدرات از روش Chauhan و Chandel (۱۹۹۱) سنجش شد. ابتدا ۱۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به ۰/۰۱ گرم نمونه های پودر شده اضافه و سانتیفریوژ (۵ دقیقه، ۲۵۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس فاز رویی با متانول ۸۰ درصد مخلوط و پس از ۳ دقیقه شیک شدن، سانتیفریوژ مجدد (۵ دقیقه، ۲۵۰۰ دور در دقیقه) انجام شد. به هر نمونه ۲ میلی لیتر سولفات روی ۲ درصد و ۲ میلی لیتر هیدروکسید باریوم ۲ درصد اضافه شد. سپس به ۲ میلی لیتر از عصاره صاف شده، یک میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک خالص افزوده و بعد از نیم ساعت میزان جذب در طول موج ۴۸۵ نانومتر خوانده شد. برای ترسیم منحنی استاندارد از محلول گلوکز (صفر، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ پی پی ام) استفاده شد.

جهت اندازه گیری پرولین برگ به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳)، ۰/۲ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالسیلیک سه درصد در هاون ساییده و عصاره سانتیفریوژ (۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۴ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه) شد. سپس به ۲ میلی لیتر از عصاره، ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۱۰۰ درجه سلسیوس) قرار گرفت و بعد از سرد شدن، به هر نمونه ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شد. در نهایت جذب عصاره در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده و محتوی پرولین (برحسب میکرومول در گرم وزن تر) با توجه به منحنی استاندارد پرولین خالص (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکرومولار) محاسبه شد. پودر پرولین مورد استفاده برای تهیه استاندارد، از نوع L-Proline ساخت شرکت مرک آلمان با فرمول شیمیایی  $C_5H_9NO_2$  بود.

در نهایت مقدار پرولین محلول براساس رابطه ۶ و

تا زمان بی‌رنگ شدن نمونه‌ها تکرار گردید. پس از خنک‌شدن، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. عصاره حاصل، جهت اندازه‌گیری ماکرو و میکرو المان‌ها مورد استفاده قرار گرفت. (احیایی و بهبهانی زاده، ۱۳۷۲). میزان فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر براساس روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد و عناصر کم‌مصرف آهن، روی و منگنز با دستگاه جذب اتمی و پس از کالیبره‌کردن با استانداردهای مربوطه اندازه‌گیری شد. برای تهیه استانداردها، محلول‌های استاندارد استوک آهن، منگنز، روی و فسفر حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از این عناصر با محلول از پیش مخلوط شده آب دیونیزه و اسید نیتریک غلیظ آزمایشگاهی رقیق شدند تا استانداردهای مربوطه با غلظت‌های مختلف در (w/v) ۰.۲٪  $\text{HNO}_3$  تهیه شود. محلول خالی کالیبراسیون مورد استفاده محلول (w/v) ۰.۲٪  $\text{HNO}_3$  بود. برای آهن و روی استانداردهای کاری ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، برای منگنز استاندارد تهیه شده با غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای فسفر، استانداردهای ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی نرمال‌بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش Shapiro-Wilk صورت گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (Ver. 9.2) واکاوی شد و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، مقایسه میانگین‌ها داده‌ها (سطح احتمال پنج درصد) انجام شد.

### نتایج و بحث

از نظر محتوای نسبی آب برگ، در تیمارهای شاهد بدون بی‌کربنات کلسیم و بدون اسید آلی در ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما میزان این صفت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش بی‌کربنات کلسیم کاهش داشت، به‌طوری‌که بالاترین سطح بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی‌مولار) به‌ترتیب سبب کاهش معنی‌دار ۲۹/۱۲، ۳۳/۶۵ و ۲۱/۵۶ درصدی در محتوای نسبی آب برگ ارقام رد هون، جی‌اچ‌هیل و برزگر گردید (شکل ۱). همچنین کاربرد اسیدهای آلی باعث افزایش معنی‌دار

در طول موج ۳۴۰ نانومتر که بیانگر اکسیداسیون NADPH است، هر ۱۰ ثانیه و به‌مدت ۱۲۰ ثانیه انجام شد. میزان فعالیت آنزیم (برحسب میلی‌گرم در گرم برگ) از رابطه ۹ محاسبه گردید.

رابطه ۹

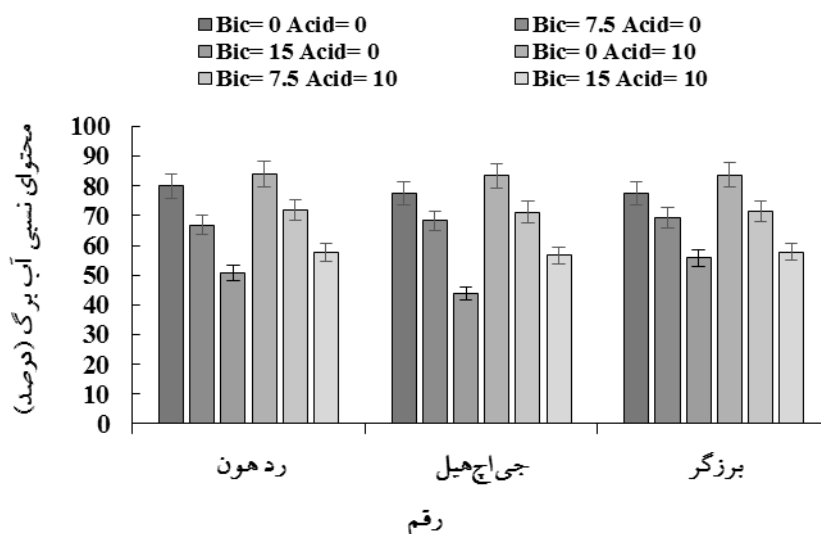
$$\text{GR activity} = \frac{A_{340}(t_2) - A_{340}(t_1)}{t_2 - t_1} \times \frac{V_t}{E \times V_s}$$

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

### شاخص شدت کلروز برگ: شدت کلروز برگ‌ها به-

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

اندازه‌گیری محتوای عناصر برگ به‌روش هضم تر (اسید سولفوریک - اسید سالیسیلیک و آب اکسیژنه) انجام گرفت. در این روش ابتدا ۰/۳ گرم از بافت گیاهی خشک‌شده با ۲/۳ میلی‌لیتر مخلوط اسیدها به‌مدت ۱۲ ساعت به‌حال خود رها گردید و سپس در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس حرارت داده شدند. بعد از خنک‌شدن ۵ قطره آب اکسیژنه اضافه گردید و دوباره به‌مدت ۵ الی ۱۰ دقیقه تا دمای ۲۸۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد تا بخار سفید رنگ حاصل شود. پس از خنک‌شدن دوباره ۵ قطره آب اکسیژنه اضافه شد و این چرخه

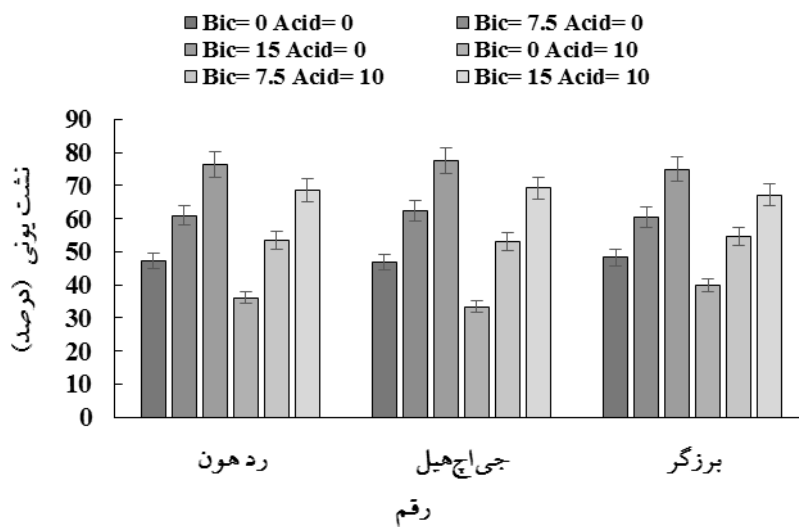


شکل ۱- تأثیر بی‌کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی‌مولار) بر محتوای نسبی آب در برگ سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

در خصوص صفت نشت یونی، با وجود اینکه در تیمار شاهد بین سه رقم مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار میزان نشت یونی در تمامی ارقام گردید که بیشترین میزان آن (۷۷/۵۹ درصد) در رقم جی‌اچ‌هیل مشاهده شد (شکل ۲). تحت شرایط تنش شدید بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی‌مولار)، رقم برزگر کمترین مقدار نشت یونی (۷۴/۹۸ درصد) را در مقایسه با سایر ارقام نشان داد. در مقابل کاربرد ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی سبب کاهش میزان نشت یونی در تمام ارقام گردید. در این میان رقم برزگر کمترین میزان نشت یونی را تحت تیمارهای ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار (به ترتیب ۳۹/۷۸ و ۶۷/۱۳ درصد) دارا بود (شکل ۲).

تنش، به دلیل تخریب دیواره سلولی و کاهش فشار تورژسانس، نشت یونی را افزایش می‌دهد. تحت تأثیر تنش بی‌کربنات سدیم و با افزایش شدت تنش میزان نشت یونی برگ‌های اسفناج افزایش یافت. این افزایش در رقم حساس بیشتر از رقم مقاوم بود (بیارش و همکاران، ۱۳۹۹). کاربرد اسیدهای آلی به همراه آب آبیاری می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش بی‌کربنات را تا حد قابل توجهی کاهش دهد (Tusei,

محتوای نسبی آب برگ در کلیه ارقام پیوندی هلو گردید. کاهش در محتوای نسبی آب برگ در تیمارهای تنش بی‌کربنات کلسیم، نشان‌دهنده فشار تورژسانس کمتر و وجود محدودیت در دسترسی آب برای فرآیند توسعه سلول برگ است. در واقع کاهش در محتوای آب برگ تحت تنش قلیائیت می‌تواند به طور غیرمستقیم نتیجه اثرات مخرب pH بالا بر ساختار ریشه و کاهش جذب آب توسط گیاه باشد (Katerji et al., 1997; Balaguer et al., 2002). کاهش کمتر آب نسبی برگ در رقم برزگر می‌تواند به علت تنظیم اسمزی کافی گیاه و حاکی از تحمل بالای آن به تنش وارده باشد. El-Tohamy و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند کاربرد خارجی اسید سیتریک در لویای معمولی تحت تنش خشکی سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ گردید. در شرایط تنش، کاربرد اسیدهای آلی به همراه آب آبیاری می‌تواند pH ریزوسفر را کاهش داده و همچنین با افزایش تولید ترکیبات ضدتنش نظیر پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مثل کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از تخریب سلول‌های ریشه جلوگیری کرده و با حفاظت از مکانسیم‌های تولید آنزیم‌ها در برابر تجزیه توسط رادیکال‌های آزاد، جذب آب و مواد غذایی از ریشه‌ها را بهبود بخشد.



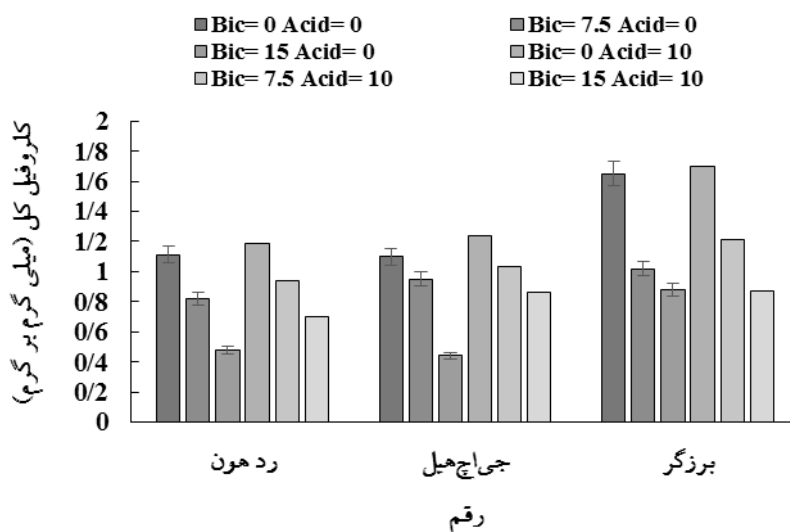
شکل ۲- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) بر نشن یونی سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

بی‌کربنات کلسیم، نسبت  $Fv/Fm$  در تمامی ارقام کاهش معنی‌داری داشت. در مورد این صفت نیز تحت تنش شدید بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی مولار) رقم برزگر که با اسید آلی تیمار شده بودند بیشترین نسبت  $Fv/Fm$  ثبت گردید. اگر چه تحت شرایط بدون تنش استعمال ترکیب اسیدهای آلی باعث تغییر معنی‌داری در میزان کلروفیل برگ نگردید ولی نسبت  $Fv/Fm$  در مقایسه با عدم کاربرد اسیدهای آلی بیشتر افزایش یافت. با این وجود در هر سه رقم، کاربرد اسیدهای آلی با افزایش میزان کلروفیل و بالا نگه داشتن  $Fv/Fm$  به طور معنی‌داری تأثیرات منفی بی‌کربنات کلسیم را تعدیل نمود.

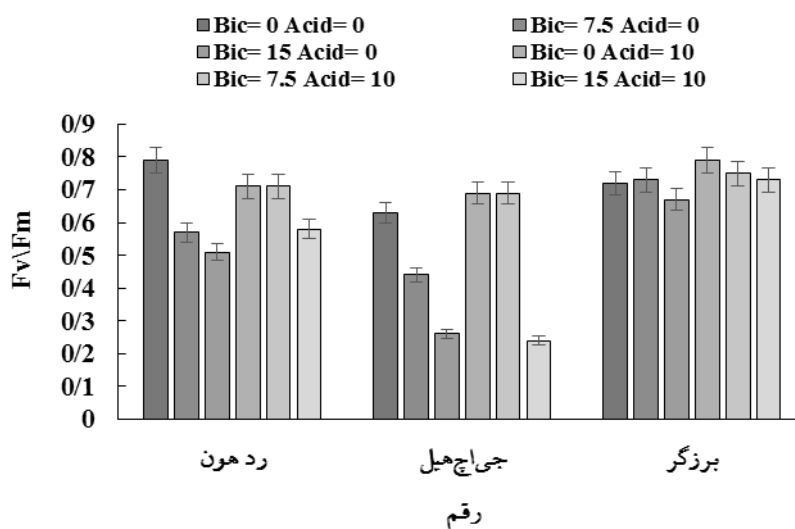
کاهش محتوای کلروفیل با افت نرخ رشد و کاهش تحمل گیاهان به تنش همراه بوده است (Pestana et al., 2001). کاهش میزان کلروفیل تحت تیمار بی‌کربنات کلسیم می‌تواند به علت تجزیه کلروفیل بر اثر آنزیم کلروفیلاز (Deng et al., 2010)، رسوب عنصر منیزیم و اختلال در تعادل یون سدیم (Wang et al., 2019) و کمبود (De La Guardia and Alcantara, 2002) باشد. تنش بی‌کربنات سدیم در پایه‌های هلو (De La Guardia and Alcantara, 2002) و انگور (Ksouri et al., 2007) نیز موجب کاهش میزان کلروفیل برگ

(2019). این تأثیر تعدیل‌دهنده اسید ممکن است با اثرات محافظتی آن بر زوال غشاء در اثر پراکسیداسیون، مهار رادیکال‌های آزاد، حفظ ثبات غشا، افزایش فعالیت ریشه و فعال شدن پاسخ آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد (Tusei, 2019). صفات کلروفیل کل و عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی، به طور معنی‌دار تحت تأثیر نوع رقم قرار گرفت (شکل ۳ و ۴). بیشترین میزان کلروفیل کل در رقم برزگر در حضور اسید آلی مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با سایر ارقام داشت اما با تیمار شاهد آن تفاوت معنی‌داری نشان نداد (شکل ۳). افزایش میزان بی‌کربنات کلسیم به طور معنی‌داری باعث کاهش مقدار کلروفیل کل در برگ همه ارقام گردید، به طوری که در ارقام جی‌اچ‌هیل، رد هون و برزگر به ترتیب ۶۰، ۵۶ و ۴۶ درصد کاهش نسبت به شاهد مشاهده شد. تحت تنش شدید (بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار)، در گیاهان رقم برزگر که با ۱۰ میلی مولار اسید آلی تیمار شده بودند، بیشترین میزان کلروفیل کل (۰/۸۷ میلی گرم بر گرم) مشاهده شد.

در صفت عملکرد کوانتومی فتوشیمیایی در تیمار شاهد، بیشترین مقدار  $Fv/Fm$  در رقم رد هون ثبت گردید که اختلاف معنی‌داری با رقم برزگر نداشت. با افزایش شدت تنش



شکل ۳- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) بر محتوای کلروفیل کل سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ۴- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) نسبت  $F_v/F_m$  سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

تأخیر انداختن رشد گیاه بر اثر تنش قلیباییت در برخی پژوهش‌ها گزارش شده است (Yang et al., 2009; Cardarelli et al., 2010). در پژوهشی کاهش نسبت  $F_v/F_m$  تحت شرایط تنش شور و قلیا، به اثر مخرب pH بالا بر دستگاه فتوسنتزی و پذیرنده‌های الکترون، کاهش کارایی فلورسانس، تضعیف

شده است و مقدار کاهش کلروفیل در گیاهان به ژنوتیپ گیاه و مقدار بی کربنات بستگی دارد (Ksouri et al., 2007). نسبت  $F_v/F_m$  نشان‌دهنده حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II است و شاخص حساسی برای سنجش عملکرد فتوسنتزی گیاه به‌شمار می‌آید (Khan et al., 2010). کاهش نرخ فتوسنتز و به

فعالیت فتوسیستم II و کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی نسبت داده شده است (Liu and Shi, 2010).

اسیدهای آلی به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی خود و افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توانند با جلوگیری از تجزیه آنزیم‌های دخیل در فتوستنز و بهبود جذب عناصری که در فتوستنز نقش اساسی دارند سبب بهبود کارایی فتوستنز در گیاه و بالا نگاه داشتن نسبت  $Fv/Fm$  در شرایط تنش گردند. تأثیر اسیدهای آلی بر افزایش میزان کلروفیل کل می‌تواند به اثر مستقیم سیترات بر فعال کردن آنزیم Fe-reductase غشای پلاسمایی و کلات کردن آهن نسبت داده شود (Brown, 1961). Hu و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که کاهش محتوای کلروفیل، نسبت  $Fv/Fm$ ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز و همچنین فعالیت ریشه در گیاهان تیمار شده با اسید سیتریک تحت شرایط تنش گرمایی بهبود یافت.

تفاوت معنی‌داری بین ارقام مختلف از نظر محتوای کربوهیدرات مشاهده نشد. تیمار با بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار، با افزایش معنی‌دار میزان کربوهیدرات‌ها در برگ همراه بود ولی افزایش بی‌کربنات کلسیم (۱۵ میلی‌مولار)، کاهش معنی‌داری را در این صفت باعث گردید. بیشترین میزان کربوهیدرات در بین ارقام مختلف در برگ‌های رقم برزگر (۳/۶۴ میکروگرم بر گرم وزن تر) تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار ثبت گردید. کاربرد اسیدهای آلی در گیاهان تیمار شده با بی‌کربنات کلسیم ۷/۵ میلی‌مولار در تمامی ارقام محتوای کربوهیدرات برگ‌ها را افزایش داد، اما در سطح بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار تفاوت معناداری در این صفت ایجاد نکرد (جدول ۱).

افزایش تجمع کربوهیدرات در برگ به‌عنوان مکانیسم مقاومتی از طرف گیاه و در پاسخ به شرایط تنش شناخته می‌شود. در این پژوهش مواجهه با تنش سبب افزایش میزان کربوهیدرات در برگ گردید، اما بعد از مواجهه با تنش شدید (بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار)، تولید کربوهیدرات‌ها در گیاه دچار مشکل گردیده و تجمع آن در برگ رو به کاهش

گذاشت. به‌نظر می‌رسد در شرایط تنش شدید به‌دلیل اختلال در جذب مواد غذایی و مختل شدن مکانیسم‌های تولید کربوهیدرات، گیاه توانایی تولید و ذخیره کربوهیدرات را از دست داده و در نتیجه تجمع آن در برگ‌ها کاهش یافته است. مطالعات محدودی در خصوص تأثیر اسیدهای آلی بر تجمع کربوهیدرات در برگ گیاهان تحت تنش انجام شده است. از آنجایی که کربوهیدرات‌ها در نتیجه فعالیت فتوستنزی گیاهان در برگ‌ها تولید و ذخیره می‌شوند، هر گونه تنشی که سبب محدود کردن فعالیت فتوستنزی گیاه گردد می‌تواند به‌طور مستقیم تولید و ذخیره‌سازی آنها در برگ را کند نماید. El-Beltag و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی روی پنبه بیان نمودند که تحت تنش شوری استفاده از سیترات پتاسیم موجب بهبود محتوای قندهای کل در برگ‌های پنبه گردید.

در تیمار شاهد محتوای پرولین در برگ‌های رقم ردهون بالاتر از سایر ارقام بوده است (۱۱/۹۷ میکرومول بر گرم وزن تر) در حالیکه کمترین میزان آن در رقم برزگر (۹/۹۴ میکرومول بر گرم وزن تر) ثبت شد. بعد از مواجهه با تنش بی‌کربنات کلسیم، محتوای پرولین برگ در تمامی ارقام به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این شرایط، برگ‌های رقم برزگر بیشترین میزان پرولین (۱۸/۸) را دارا بود (جدول ۱). کاربرد مقدار ۱۰ میلی‌مولار اسید آلی سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین در تمام ترکیبات پیوندی نسبت به شاهد گردید.

گیاهان با روش‌های گوناگون در برابر تنش‌های محیطی مقاومت می‌کنند و تجمع پرولین به‌منزله پاسخ عمومی گیاهان تحت شرایط تنش شور و قلیا است که در حفظ پتانسیل آب درون سلول به‌منظور حفظ فشار تورژسانس و جذب آب برای رشد گیاه کمک می‌کنند (Gonzalez-Vallejo et al., 2000; Parker and Walker, 1986). افزایش محتوای پرولین در برگ‌های شاه‌توت تحت تأثیر تنش قلیائیت نیز گزارش شده است (Ahmad and Sharma, 2010).

استفاده از اسیدهای آلی با توجه به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی که ایجاد می‌کنند می‌تواند در شرایط تنش تولید متابولیت‌های گیاهی را در سطح بالاتری حفظ کرده و از توقف

جدول ۱- تأثیر بی‌کربنات کلسیم (صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار) و اسید آلی (صفر و ۱۰ میلی‌مولار) بر میزان کربوهیدرات و پرولین برگ در ارقام هلو

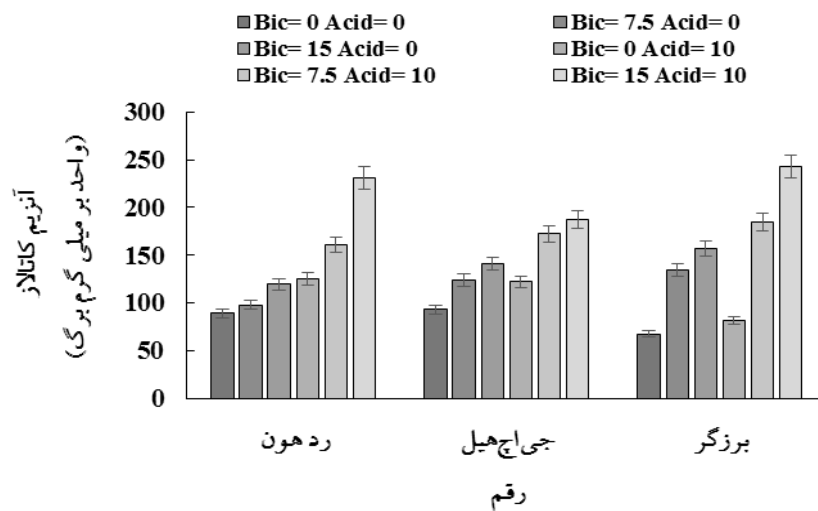
رقم	بی‌کربنات کلسیم	اسید آلی	پرولین	
			کربوهیدرات (میکروگرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)
رد هون	۰	۰	۱/۹۵ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۱۱/۹۷ ± ۰/۱۹ <sup>d</sup>
	۰	۱۰	۲/۰۶ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۱۴/۴۷ ± ۰/۱۹ <sup>bc</sup>
	۷/۵	۰	۲/۰۵ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۶/۹۷ ± ۰/۱۹ <sup>ij</sup>
	۷/۵	۱۰	۲/۷۵ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱۵/۹۶ ± ۰/۱۹ <sup>bc</sup>
	۱۵	۰	۰/۸۵ ± ۰/۰۶ <sup>ef</sup>	۱۰/۶۴ ± ۰/۳۸ <sup>d-f</sup>
	۱۵	۱۰	۰/۹۹ ± ۰/۰۶ <sup>ef</sup>	۱۶/۱۴ ± ۰/۱۹ <sup>b</sup>
جی‌اچ‌هیل	۰	۰	۱/۸۶ ± ۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۱۰/۶۴ ± ۰/۱۹ <sup>d-f</sup>
	۰	۱۰	۱/۹۲ ± ۰/۰۱ <sup>c</sup>	۸/۶۴ ± ۰/۱۹ <sup>g-i</sup>
	۷/۵	۰	۱/۷۹ ± ۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۹/۴۷ ± ۰/۶۹ <sup>f-h</sup>
	۷/۵	۱۰	۲/۸ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۱۵/۱۴ ± ۰/۵۱ <sup>bc</sup>
	۱۵	۰	۰/۳۷ ± ۰/۰۱ <sup>f</sup>	۵/۹۷ ± ۰/۱۹ <sup>j</sup>
	۱۵	۱۰	۰/۵۱ ± ۰/۰۱ <sup>f</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۹ <sup>g-i</sup>
برزگر	۰	۰	۲/۱۷ ± ۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۹/۹۴ ± ۰/۵۴ <sup>e-g</sup>
	۰	۱۰	۲/۲۶ ± ۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۹/۹۷ ± ۰/۱۹ <sup>e-g</sup>
	۷/۵	۰	۲/۰۴ ± ۰/۲۹ <sup>c</sup>	۸/۱۴ ± ۰/۱۹ <sup>hi</sup>
	۷/۵	۱۰	۳/۶۴ ± ۰/۳۱ <sup>a</sup>	۱۱/۶۳ ± ۰/۱۹ <sup>de</sup>
	۱۵	۰	۰/۹۶ ± ۰/۰۳ <sup>ef</sup>	۱۴/۳ ± ۰/۳۸ <sup>c</sup>
	۱۵	۱۰	۱/۲۸ ± ۰/۱۶ <sup>de</sup>	۱۸/۸ ± ۰/۵۱ <sup>a</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

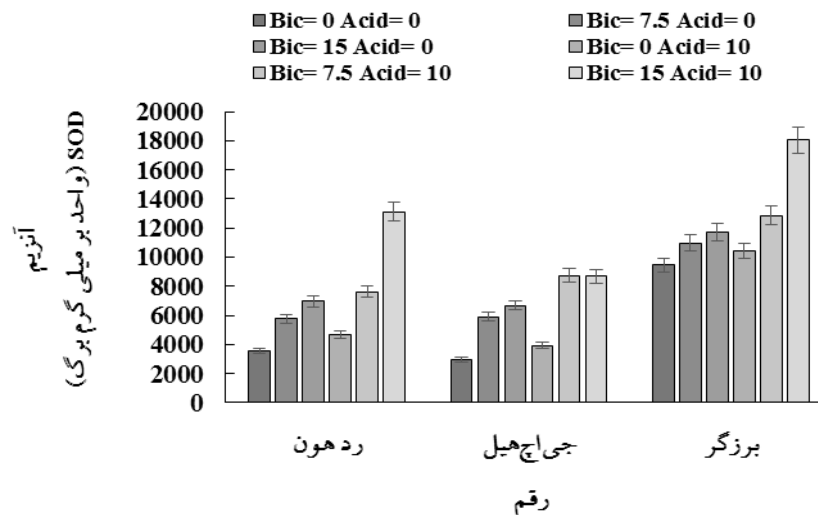
و گایاکول پراکسیداز در هر سه رقم گردید (شکل ۵، ۶ و ۷). بیشترین میزان فعالیت کاتالاز (۲۴۲/۷۹) واحد در میلی‌گرم برگ) در گیاهان رقم برزگر مواجه شده با بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار و اسید آلی ۱۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۵). همچنین بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱۸۰۶۵/۸) واحد بر میلی‌گرم برگ) به رقم برزگر تحت تنش بی‌کربنات کلسیم ۱۵ میلی‌مولار و در حضور اسید آلی تعلق داشت (شکل ۶).

همان‌طور که شکل ۷ نشان می‌دهد، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در رقم رد هون حداکثر (۱/۳۹) واحد در میلی‌گرم برگ) و در رقم برزگر تحت تیمار بدون بی‌کربنات کلسیم و

مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر تنش جلوگیری نماید. در این رابطه Abdellatif و Ibrahim (۲۰۱۸) در پژوهشی روی گیاه چای ترش گزارش کردند که تحت شرایط تنش شوری، گیاهانی که با اسید سیتریک تیمار شده بودند محتوای پرولین برگ بیشتری نسبت به نمونه‌های شاهد داشتند. در تیمار شاهد بین ارقام مختلف از نظر محتوای آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز تفاوت معناداری وجود نداشت، اما در نمونه‌های شاهد رقم برزگر مقادیر بیشتری از فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ثبت گردید (شکل ۵، ۶ و ۷). کاربرد مقادیر ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار بی‌کربنات کلسیم سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز



شکل ۵- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) بر فعالیت کاتالاز سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



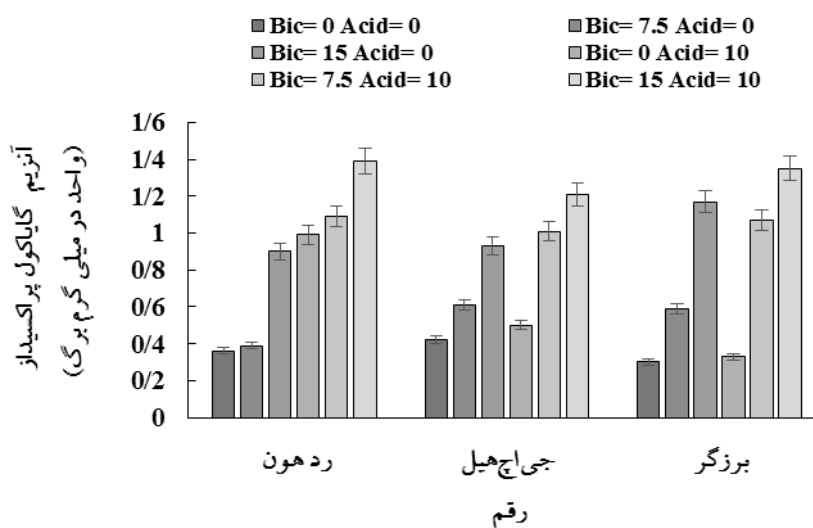
شکل ۶- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

آنتی‌اکسیدان به‌طور معنی داری افزایش می‌یابد.

کاربرد خارجی اسیدهای آلی به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی شان به حفظ کارایی فتوسنتز، تولید آنزیم‌ها و سایر متابولیت‌های گیاه تحت شرایط تنش کمک می‌کنند. گزارش شده که استفاده از اسید سیتریک در شرایط تنش خشکی توانسته فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز را

بدون اسید آلی حداقل (۰/۳ واحد بر میلی گرم برگ) بود.

در شرایط تنش‌های غیرزنده مکانیسم‌های دفاعی گیاهان فعال شده و با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اثرات و صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد را کنترل می‌کنند (Tahjib et al., 2021). Gebaly و همکاران (۲۰۱۳) در پژوهشی روی گیاه پنبه گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های



شکل ۷- تأثیر بی کربنات کلسیم (Bic: صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی مولار) و اسید آلی (Acid: صفر و ۱۰ میلی مولار) بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز سه رقم هلو. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ۸- تأثیر بی کربنات کلسیم و اسید آلی بر شدت کلروز برگ رقم رد هون. از راست به چپ: شاهد، بی کربنات کلسیم ۷/۵ میلی مولار و اسید آلی، بی کربنات کلسیم ۷/۵ میلی مولار، بی کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار و اسید آلی، بی کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار.

در بین ارقام مختلف بیشترین درصد کلروز (۷۰ درصد) متعلق به رقم جی اچ هیل در شرایط تنش بی کربنات ۱۵ میلی مولار بود. تحت شرایط تنش بی کربنات کلسیم کاربرد اسید آلی توانست از شدت کلروز برگ‌ها در تمامی ارقام بکاهد (شکل ۸، ۹ و ۱۰) به‌طوری‌که این کاهش کلروز در تیمار بی کربنات

در سطح بالاتری حفظ نماید (Gebaly *et al.*, 2013). در شاخص درصد کلروز برگ‌ها، با وجود اینکه ارقام مختلف در شرایط بدون تنش از نظر شدت کلروز شرایط مشابهی داشتند اما تحت شرایط تنش بی کربنات، با افزایش شدت تنش در تمامی ارقام کلروز افزایش نشان داد (شکل‌های ۸، ۹ و ۱۰)



شکل ۹- تأثیر بی کربنات کلسیم و اسید آلی بر شدت کلروز برگ رقم جی اچ هیل. از راست به چپ: بی کربنات کلسیم ۷/۵ میلی مولار، شاهد، بی کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار و اسید آلی، بی کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار.



شکل ۱۰- تأثیر بی کربنات کلسیم و اسید آلی بر شدت کلروز برگ رقم برزگر. از راست به چپ: شاهد، بی کربنات کلسیم ۷/۵ میلی مولار و اسید آلی، بی کربنات کلسیم ۱۵ میلی مولار و اسید آلی، بی کربنات کلسیم ۷/۵ میلی مولار.

افزایش قلیائیت آپوپلاست برگ منجر به غیرفعال شدن آهن برگ می گردد (Mengel *et al.*, 1994). پیامد آن کاهش سنتز کلروفیل، زردی برگ های جوان، توقف رشد (Hensen *et al.*, 2003; Roosta, 2011) و کلروز است (کلباسی، ۱۳۷۴). افزایش قلیائیت باعث زردی برگ ارقام آفتابگردان (Alcantara *et al.*, 1988) و انگور (Ksouri *et al.*, 2007) شده است. در مقایسه میزان تحمل به کلروز گلایی پیوند شده بر سه

کلسیم ۱۵ میلی مولار نسبت به تیمار بدون اسید آلی برای رقم رد هون ۲۵/۶ درصد، رقم جی اچ هیل ۳۹/۴ درصد و برای رقم برزگر ۷/۴ درصد بود (جدول ۲). تحقیقات نشان داده است که با افزایش pH خاک، غلظت یون بی کربنات افزایش یافته و در نتیجه حلالیت آهن کاهش می یابد و آهن به صورت غیرفعال درآمده و رسوب می نماید (کلباسی، ۱۳۷۴). همچنین، بی کربنات از طریق

جدول ۲- تأثیر بی‌کربنات کلسیم (صفر، ۷/۵ و ۱۵ میلی‌مولار) و اسید آلی (صفر و ۱۰ میلی‌مولار) بر شدت کلروز برگ و محتوای فسفر، آهن، منگنز و روی در برگ ارقام هلو.

رقم	شدت				آهن (پی‌پی‌ام)	منگنز (پی‌پی‌ام)	روی (پی‌پی‌ام)
	بی‌کربنات کلسیم	اسید آلی	کلروز برگ (درصد)	فسفر (درصد)			
رد هون	۰	۰	۵/۲	۰/۳۰۸۳ ± ۰/۰۰۴ <sup>a-c</sup>	۷۲/۰۶ ± ۰/۴۲ <sup>bc</sup>	۳۶/۷۶ ± ۱/۷ <sup>f-h</sup>	۴۰/۳۶ ± ۰/۵۲ <sup>d</sup>
	۰	۱۰	۳/۴	۰/۳۲۲ ± ۰/۰۰۳ <sup>ab</sup>	۹۸/۱۶ ± ۰/۴۲ <sup>a</sup>	۴۷/۰۶ ± ۱/۷ <sup>ef</sup>	۴۷/۳۶ ± ۰/۵۲ <sup>c</sup>
	۷/۵	۰	۲۵/۴	۰/۱۵۳۷ ± ۰/۰۰۴ <sup>e-h</sup>	۴۸/۵۳ ± ۰/۴۲ <sup>f-h</sup>	۳۳/۹۶ ± ۰/۶۷ <sup>gh</sup>	۲۶/۷۳ ± ۰/۵۲ <sup>i</sup>
	۷/۵	۱۰	۱۱	۰/۳۱۵ ± ۰/۰۰۶ <sup>a-c</sup>	۶۲/۷۵ ± ۲/۹۷ <sup>c-e</sup>	۴۴/۶۱ ± ۲/۰۵ <sup>e-g</sup>	۳۵/۹۱ ± ۰/۵۲ <sup>f</sup>
	۱۵	۰	۴۳/۲	۰/۰۹۴۳ ± ۰/۰۰۳ <sup>f-h</sup>	۳۹/۳۴ ± ۰/۴۲ <sup>h-j</sup>	۲۵/۳۵ ± ۰/۵۶ <sup>hi</sup>	۲۲/۱۸ ± ۰/۵۲ <sup>k</sup>
	۱۵	۱۰	۱۷/۶	۰/۱۶۲۴ ± ۰/۰۰۳ <sup>e-g</sup>	۴۳/۳۸ ± ۰/۴۲ <sup>g-j</sup>	۳۹/۱۲ ± ۱/۷ <sup>fg</sup>	۳۳/۶۴ ± ۰/۵۲ <sup>f</sup>
جی‌اچ‌هیل	۰	۰	۱۲/۴	۰/۱۹۵۸ ± ۰/۰۰۴ <sup>c-f</sup>	۵۳/۳۱ ± ۰/۴۲ <sup>e-g</sup>	۵۱/۳۷ ± ۴/۸۸ <sup>de</sup>	۳۷/۹۱ ± ۰/۵۲ <sup>e</sup>
	۰	۱۰	۹/۴	۰/۲۴۹۶ ± ۰/۰۰۶ <sup>a-e</sup>	۶۴/۹۱ ± ۳/۰۶ <sup>b-d</sup>	۶۰/۵۹ ± ۱/۷ <sup>d</sup>	۴۶/۶۴ ± ۰/۵۲ <sup>c</sup>
	۷/۵	۰	۴۴/۸	۰/۰۷۹۲ ± ۰/۰۰۲ <sup>gh</sup>	۳۶/۰۳ ± ۰/۴۲ <sup>ij</sup>	۱۷/۶۵ ± ۱/۷ <sup>i</sup>	۱۹/۹۱ ± ۰/۵۲ <sup>l</sup>
	۷/۵	۱۰	۲۷/۸	۰/۱۴۵۸ ± ۰/۰۰۴ <sup>e-h</sup>	۴۶/۶۹ ± ۰/۴۲ <sup>f-i</sup>	۳۶/۰۸ ± ۰/۸۹ <sup>f-h</sup>	۳۳/۱۸ ± ۰/۵۲ <sup>f</sup>
	۱۵	۰	۷۰	۰/۰۳۳۹ ± ۰/۰۰۲ <sup>h</sup>	۲۱/۰۵ ± ۳/۳۶ <sup>k</sup>	۵/۸۸ ± ۰/۵۴ <sup>j</sup>	۱۳/۷۹ ± ۳/۸ <sup>m</sup>
	۱۵	۱۰	۳۰/۶	۰/۱۰۲۰ ± ۰/۰۰۳ <sup>f-h</sup>	۳۳/۵۲ ± ۳/۰۶ <sup>j</sup>	۲۱/۰۸ ± ۲/۰۵ <sup>i</sup>	۲۱/۸۵ ± ۰/۴ <sup>k</sup>
برزگر	۰	۰	۰	۰/۳۲۴۵ ± ۰/۰۰۶ <sup>ab</sup>	۹۹/۸۵ ± ۳/۱۲ <sup>a</sup>	۱۰۵/۸۸ ± ۱/۷ <sup>b</sup>	۵۱/۷۳ ± ۶/۳ <sup>b</sup>
	۰	۱۰	۵	۰/۳۵۲۳ ± ۰/۰۰۵ <sup>a</sup>	۱۰۳/۸۱ ± ۳/۶۹ <sup>a</sup>	۱۲۰/۵۹ ± ۱/۷ <sup>a</sup>	۵۸/۱۸ ± ۰/۵۲ <sup>a</sup>
	۷/۵	۰	۱۸/۴	۰/۱۸۳ ± ۰/۰۰۵ <sup>d-g</sup>	۶۵/۸۱ ± ۰/۴۲ <sup>b-d</sup>	۷۴/۳۳ ± ۵/۴۲ <sup>c</sup>	۲۹/۶۴ ± ۰/۵۲ <sup>h</sup>
	۷/۵	۱۰	۱۰/۲	۰/۲۹۸۴ ± ۰/۰۰۵ <sup>a-d</sup>	۷۵/۶۱ ± ۳/۷۱ <sup>b</sup>	۱۰۰/۷۱ ± ۰/۵۴ <sup>b</sup>	۴۰/۷۳ ± ۰/۵۲ <sup>d</sup>
	۱۵	۰	۲۱/۴	۰/۱۷۶۳ ± ۰/۰۰۷ <sup>e-g</sup>	۳۴/۵۶ ± ۰/۴۲ <sup>j</sup>	۳۶/۵۷ ± ۱/۷۵ <sup>f-h</sup>	۲۴/۷۳ ± ۰/۵۲ <sup>j</sup>
	۱۵	۱۰	۱۴	۰/۲۲۲۱ ± ۰/۰۰۵ <sup>b-e</sup>	۵۵/۸۸ ± ۰/۴۲ <sup>d-f</sup>	۵۴/۳۱ ± ۰/۸۷ <sup>de</sup>	۳۱/۶۴ ± ۰/۵۲ <sup>g</sup>

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

شده است (Tahjib et al., 2021). کاربرد خارجی اسیدهای آلی با تشکیل کمپلکس‌های آلی نظیر سیترات آهن و سیترات روی می‌توانند عناصری که در خاک به‌فرم غیرقابل جذب حضور دارند را برای گیاه قابل جذب نموده و با کاهش pH آپوپلاست می‌تواند حرکت این عنصر را در داخل بافت گیاه تسهیل نمایند (Tahjib et al., 2021). در تیمار شاهد بین ارقام مختلف تفاوت معناداری از نظر محتوای عناصر وجود داشت. بیشترین مقادیر فسفر (۳۲۴۵/۱ پی‌پی‌ام) و آهن (۹۹/۸۵ پی‌پی‌ام)، منگنز (۱۰۵/۸۸ پی‌پی‌ام) و روی (۵۱/۷۳ پی‌پی‌ام) در برگ رقم برزگر ثبت گردید.

پایه رویشی "به"، درختان گلابی روی پایه Q.A و PQBA29 محصول بیشتری تولید کرده و نسبت به پایه Q.C کمتر دچار کلروز شدند (Carrera and Ortiz, 1984). گیاهانی که در خاک‌های قلیایی رشد می‌کنند، اسیدهای آلی نظیر مالات و سیترات از ریشه‌های خود ترشح می‌کنند و این به آنها امکان می‌دهد تا با کاهش pH ریزوسفر، مواد مغذی ضروری مانند فسفر و آهن را جذب کنند (Lopez-Bucio et al., 2000). اثرات مثبت اسیدهای آلی تنها ناشی از تعدیل pH خاک نیست، بلکه پاسخ‌های فیزیولوژیکی زیادی توسط گیاهان به اسیدهای آلی که به‌صورت برون‌زا اعمال می‌شود گزارش

همکاران، ۱۳۹۱). همچنین اسیدهای آلی می‌توانند در خاک به صورت عامل کمپلکس کننده عمل کرده و جذب عناصری نظیر فسفر و همچنین ریزمغذی‌های آهن، منگنز و روی را بهبود بخشند (Tusei, 2019). گیاهان گندم تیمار شده با اسید سیتریک توانستند مقادیر بیشتری از عناصر درشت مغذی را جذب کنند (Tusei, 2019). آبیاری گیاهان با آب اسیدی شده، غلظت یون‌های کربنات و بی‌کربنات را کاهش داده و در نتیجه ریشه قادر خواهد بود آب و عناصر غذایی را بهتر جذب کند (Mengel, 1994; Adeleke et al., 2017).

### نتیجه گیری

افزایش قلیائیت آب می‌تواند اثرات زیان‌آوری بر رشد، تغذیه و تولید گیاهان داشته باشد. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش سه رقم هلوی پیوندی بر پایه GN15 پاسخ متفاوتی به تنش ناشی از بی‌کربنات کلسیم داشتند. رقم برزگر مقاوم‌ترین رقم به کلروز ناشی از بی‌کربنات کلسیم بود و نسبت به دو رقم جی‌اچ‌هیل و ردهون به ترتیب ۴۸/۶ و ۲۱/۸ درصد علائم کلروز ناشی از کمبود آهن کمتری نشان داد. در مقابل، رقم جی‌اچ‌هیل حساس‌ترین رقم به تنش بی‌کربنات کلسیم بود. همچنین کاربرد اسیدهای آلی از طریق بهبود محتوای آب نسبی برگ، محتوای کلروفیل برگ و کارایی فتوسنتز، تجمع پرولین و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب بهبود ویژگی‌های رشدی ارقام هلو تحت شرایط تنش بی‌کربنات کلسیم شد.

بر اساس نتایج، میزان عناصر تحت تأثیر تیمارهای بی‌کربنات کلسیم و اسید آلی قرار گرفت به طوری که با افزایش شدت تنش میزان عناصر در برگ دچار کاهش شد (جدول ۲).

pH قلیایی منجر به تشکیل اشکال غیرمحلول مواد غذایی، به خصوص آهن، روی و مس می‌شود، که به موجب آن از حالت قابل جذب برای گیاه خارج می‌شوند (Alcantara et al., 1988; Bertoni et al., 1992; Shi and Yin, 1993; Adeleke et al., 2017). بی‌کربنات در جذب عناصر پرمصرف، به ویژه فسفر، پتاسیم و منیزیم در گیاه تداخل ایجاد می‌کند (Pissaloux et al., 1995). در خاک‌های قلیایی، فسفر به مقدار زیادی به واسطه تشکیل مجموعه‌های فلزی (از قبیل Mg-P، Ca-P) از دسترس گیاه خارج می‌شود (Mengel, 1994). شرایط pH زیاد و سطوح بالای بی‌کربنات خاک، نه تنها سبب ایجاد غلظت سمی یون  $\text{HCO}_3^-$  در گیاه، بلکه موجب وقوع واکنش شیمیایی بین بی‌کربنات‌ها و عناصر دوظرفیتی می‌شود (Hensen et al., 2003; Roosta, 2011; Alonso Valdez and Yin, 1993) و هندوانه (Colla et al., 2010) گزارش شده است. کاهش شدید میزان روی جذب شده تحت شرایط قلیائیت بالا در لوبیا سبز ناشی از غیرفعال شدن این عنصر گزارش شده است (Barton and Abadia, 2006).

اسیدی کردن آب موجب خنثی شدن قلیائیت خاک و افزایش حلالیت آهن، منگنز، روی، مس و آلومینیوم شده و در نتیجه موجب افزایش جذب آهن می‌شود (شریفی اصل و

### منابع

- احیایی، ع. و بهبهانی‌زاده، م. (۱۳۷۲) شرح روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. نشریه فنی شماره ۸۹۳، انتشارات مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران.
- ایمانی، ع.، پرویزی، خ.، بیرامی جم، ح. و هادوی، ا. (۱۳۹۹) بررسی اثرات غلظت بی‌کربنات کلسیم بر واکنش فیزیولوژیکی و صفات رشدی ارقام بادام پیوند شده بر روی پایه رویشی GN15. علوم باغبانی ۲۴۶-۲۳۱.
- بیارش، م.، رقامی، م.، روستا، ح. و کریمی، ح. (۱۳۹۹) ارزیابی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و فتوسنتزی دو رقم اسفناج (هیبرید و ایرانی) تحت تنش آب قلیایی. دو فصلنامه علمی- پژوهشی علوم سبزی‌ها ۴: ۲۵-۳۹.

رستمی، ر.، ارشادی، ا. و ساری خانی، ح. (۱۳۹۴) ارزیابی تحمل پایه‌های هلو، بادام تلخ، GF677 و GN15 به کلروز ناشی از بی‌کربنات و کمبود آهن. به‌زراعی کشاورزی ۱۷: ۳۴۱-۳۵۵.

شریفی اصل، ر.، شجاعیان، ع.، صیدی، م. و گیتی، ع. (۱۳۹۱) بررسی اثرات سطوح مختلف اسیدپته آب آبیاری بر کمیت و کیفیت دو رقم شمعدانی. نشریه علوم باغبانی ۲۶: ۲۲۹-۲۳۳.

شهابی، ا. و ملکوتی، م. ج. (۱۳۸۲) نقش بی‌کربنات در بروز ناهنجاری‌های تغذیه‌ای در درختان میوه. چاپ اول. انتشارات سنا، تهران، ایران.

کلباسی، م. (۱۳۷۴) کلروز آهن یا زردی برگ درختان میوه. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

مرادی، ح.، اثنی عشری، م. و ارشادی، ا. (۱۳۹۸) ارزیابی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی پایه‌های پیوندشده و غیرپیوندی بادام به تنش خشکی. علوم باغبانی ایران ۵: ۳۱۱-۳۲۳.

Abdellatif, Y. and Ibrahim, M. (2018) Non-enzymatic anti-oxidants potential in enhancing *Hibiscus sabdariffa* L. tolerance to oxidative stress. International Journal of Botany 14: 43-58.

Adeleke, R., Cloete, T. E. and Khasa, D. P. (2012) Culturable microorganisms associated with Sishen iron ore and their potential roles in biobeneficiation. World Journal of Microbiology and Biotechnology 28: 1057-1070.

Adeleke, R., Nwangburuka, C. and Oboirien, B. (2017) Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. South African Journal of Botany 108: 393-406.

Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods Enzymol 105: 121-126.

Ahmad P. and Sharma, S. (2010) Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO<sub>3</sub> stress. International Journal of Plant production 4: 1735-1743.

Albiac, J., Hanemann, M., Calatrava, J., Uche, J. and Tapia, J. (2006) The rise and fall of the Ebro water transfer. Natitonal Resources Journal 46: 727-757.

Alcantara, E., Romera, F. J. and De La Guardia, M. D. (1988) Genotypic differences in bicarbonate-induced iron chlorosis in sunflower. Journal of Plant Nutrition 11: 65-67.

Alonso Valdez Aguilar, L. (2004) Effect of alkalinity irrigation water on selected greenhouse crops. Thesis 293.

Arnon, A. N. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.

Balaguer, L., Pugnaire, F. I., Martinez-Ferri, E., Armas, C., Valladares, F. and Manrique, E. (2002) Ecophysiological significance of chlorophyll loss and reduced photochemical efficiency under extreme acidity in *Stipa tanacissima* L. Plant and Soil 240: 343-352.

Barton, L. L. and Abadia, J. (2006) Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Springer.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bertoni, G. M., Pissaloux, A., Morad, P. and Sayag, D. R. (1992) Bicarbonate-pH relationship with iron chlorosis in white lupine. Journal of Plant Nutrition 15: 1509-1518.

Beyer, W. F. and Fridovich, I. (1987) Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in condition. Analytical Biochemistry 161: 559-566.

Brown, J. C. (1961) Iron chlorosis in plants. Advances in Agronomy 13: 329-369

Cardarelli, M., Roupael, Y., Rea, E. and Colla, G. (2010) Mitigation of alkaline stress by arbuscular mycorrhiza in zucchini plants grown under mineral and organic fertilization. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 173: 778-787.

Carrera, M. and Ortiz, E. (1984) Performance of three quince rootstock for pears. Acta Horticulturae 161: 231-234.

Chandel, J. S. and Chauhan, J. S. (1991) Accumulation of proline, ABA and carbohydrate contents in Starking Delicious apple on clonal rootstocks and their correlation with drought resistance. Progress in Horticulture 23: 5-11.

Colla, G., Roupael, Y., Cardarelli, M., Salerno, A. and Rea, E. (2010) The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon. Environmental and Experimental Botany 68: 283-291.

De la Guardia, M. D. and Alcantara, E. (2002) Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. Journal of Plant Nutrition 25: 1021-1032.

Deng, C. N., Zhang, G. X., Pan, X. L. and Zhao, K. Y. (2010) Chlorophyll fluorescence and gas exchange responses of maize seedlings to saline-alkaline stress. Bulgarian Journal of Agricultural Science 16: 49-58.

Egilla, J. N., Byrne, D. H. and Reed, D. W. (1994) Iron stress response of three peach rootstock cultivars: Ferric iron reduction capacity. Journal of Plant Nutrition 17: 2079-2103.

El-Beltag, H. S., Sherif Helmy, A., Alia Awad Mahmoud, N. and Reman Raafat, A. (2017) Effect of salicylic acid and potassium citrate on cotton plant under salt stress. Fresenius Environmental Bulletin 26: 1091-1100.

- El-Tohamy, W., El-Abagy, H., Badr, M. and Gruda, N. (2013) Drought tolerance and water status of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by citric acid application. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 86.
- Gebaly, S. Ahmed, F. and Namich, A. (2013) Effect of spraying some organic amino acids and potassium citrate on alleviation of drought stress in cotton plants. *Journal of Plant Production* 4: 1369-1381.
- Geddie, A. W. and Hall, S. G. (2019) The effect of salinity and alkalinity on growth and the accumulation of copper and zinc in the *Chlorophyta ulva fasciata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172: 203-209.
- Genty, B., Briantais, J. M. and Baker, N. R. (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta* 990: 87-92.
- Gonzalez-Vallejo, E., Morales, F., Cistue, L., Abadia, A. and Abadia, J. (2000) Iron deficiency decreases the Fe (III) - Chelate reducing activity of leaf protoplasts. *Plant Physiology* 122: 337-344.
- Hensen, N. C., Schmitt, M. A., Anderson, J. E. and Strok, J. S. (2003) Iron deficiency of soybean in the upper mid west and associated soil properties. *Agronomy Journal* 95: 1595-1601.
- Hu, L., Zhang, Z., Xiang, Z. and Yang, Z. (2016) Exogenous application of citric acid ameliorates the adverse effect of heat stress in tall fescue (*Lolium arundinaceum*). *Frontiers in Plant Science* 7: 179.
- Katerji, N., Van Hoom, J. W., Hamdy, A., Masrtorilli, M. and Mou Karzel, E. (1997) Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agriculture Water Management* 34: 57-69.
- Khan, M. N., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Naem, M. and Khan, M. M. A. (2010) Calcium chloride and gibberellic acid protect linseed (*Linum usitatissimum* L.) from NaCl stress by inducing antioxidative defence system and osmoprotectant accumulation. *Acta Physiologiae Plantarum* 32: 121-129.
- Ksouri, R., Debez, A., Mahmoudi, H., Ouerghi, Z., Gharsalli, M. and Lachaal, M. (2007) Genotypic variability within Tunisian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) facing bicarbonate-induced iron deficiency. *Plant Physiology and biochemistry* 45: 315-322.
- Liu, J. and Shi, D. C. (2010) Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica* 48: 127-134.
- Lopez-Bucio, J., de la Vega, O. M., Guevara-Garcia, A. and Herrera-Estrella, L. (2000) Enhanced phosphorus uptake in transgenic tobacco plants that overproduce citrate. *National Biotechnology* 18: 450-453.
- Macias-Benitez, S., Garcia-Martinez, A., Caballero Jimenez, P., Gonzalez, J., Tejada Moral, M. and Parrado Rubio, J. (2020) Rhizospheric organic acids as biostimulants: Monitoring feedbacks on soil microorganisms and biochemical properties. *Frontiers in Plant Science* 11: 663.
- Manul, D. G. and Esteban, A. (2002) Bicarbonate and low iron level increase rot to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. *Plant Nutrition* 25: 1021-1032.
- Mengel, K. (1994) Iron availability in plant tissues, iron chlorosis on calcareous soils. *Plant and Soil* 165: 275-283.
- Parker, M. B. and Walker, M. E. (1986) Soil pH and manganese effects on manganese nutrition of peanut. *Agronomy Journal* 78: 614-620.
- Penas, E. J., Wiese, R. A., Elmore, R. W., Hergert, G. W. and Moomaw, R. S. (1990) Soybean chlorosis studies on high pH bottomland soils. University of Nebraska Institution of Agriculture. *National Resources Bulletin* 312. University of Nebraska, Lincoln, NE.
- Pestana, M., David, M. and Varennes, A. (2001) Responses of "Newhall" orange trees to iron deficiency in hydroponics, effects on leaf chlorophyll, photosynthetic efficiency, and root ferric chelate reductase activity. *Journal of Plant Nutrition* 24: 1609-1620.
- Pissaloux, A., Morarad, P. and Bertoni, G. (1995) Alkalinity-bicarbonate calcium effects on iron chlorosis in white lupine in soilless culture. In: *Development in Plant and Soil Science Iron Nutrition in Soils and Plants* (ed. Abadia, J.) Pp.127-133. Seventh International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf Water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Roosta, H. R. (2011) Interaction between water alkalinity and nutrient solution pH on the vegetative growth, chlorophyll fluorescence and leaf magnesium, iron, manganese and zinc conditions in lettuce. *Journal of Plant Nutrition* 34: 717-731.
- Shahsavandi, F., Eshghi, S., Gharaghani, A., Ghasemi-Fasaei, R. and Jafarinia, M. (2020) Effects of bicarbonate induced iron chlorosis on photosynthesis apparatus in grapevine. *Scientia Horticulturae* 270: 109427.
- Shi, D. C. and Yin, L. J. (1993) Different between salt (NaCl) and alkaline (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb) Scribn. Merr. plants. *Acta Botanica Sinica* 35: 144-149.
- Smith, K., Vierheller, T. and Carol, A. (1988) Properties and functions of glutathione reductase in plants. *Physiologia Plantarum* 77: 449-456.
- Tagliavini, M., Baldi, E. Lucchi, P. Antonelli, M. Sorrenti, G. Baruzzi, G. and Faedi, W. (2001) Dynamics of nutrients uptake by strawberry plants (*Fragaria × ananassa* Dutch.) grown in soil and soilless culture. *European Journal of Agronomy* 23: 15-25.

- Tahjib-Ul-Arif, M., Zahan, M. I., Karim, M. M., Imran, S., Hunter, C. T., Islam, M. S., Mia, M. A., Hannan, M. A., Rhaman, M. S., Hossain, M. A., Brestic, M., Skalicky, M. and Murata, Y. (2021) Citric acid-mediated abiotic stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 7235.
- Tusei, C. (2019) The effects of citric acid on ph and nutrient uptake in wheatgrass (*Triticum aestivum*). *IdeaFest: Interdisciplinary Journal of Creative Works and Research from Humboldt State University* 3: 7.
- Valipour, M., Baninasab, B., Khoshgoftarmanesh, A. H. and Gholami, M. (2020) Oxidative stress and antioxidant responses to direct and bicarbonate-induced iron deficiency in two quince rootstocks. *Scientia Horticulturae* 261: 108933.
- Wang, N., Yao, C., Li, M., Li, C., Liu, Z. and Ma, F. (2019) Anatomical and physiological responses of two kiwifruit cultivars to bicarbonate. *Scientia Horticulturae* 243: 528-536.
- Yang, C. W., Xu, H. H., Wang, L. L., Liu, J., Shi, D. C. and Wang, D. L. (2009) Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica* 47: 79-86.
- Zhao, Y., Aspinall, D. and Paleg, L. G. (1992) Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycinebetaine against the effects of freezing. *Journal of Plant Physiology* 140: 541-543.

## The response of peach cultivars grafted on GN-15 rootstocks to the application of organic acids under bicarbonate stress

Ehsan Akbarpour<sup>1</sup>, Ali Imani<sup>2</sup>, Abdolmajid Mirzaalian Dastjerdi<sup>1\*</sup>, Mansoore Shamili<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

<sup>2</sup> Temperate Fruits Research Institute, Horticultural Research Institute, Karaj, Iran

(Received: 24/11/2021, Accepted: 11/01/2022)

### Abstract

The aim of this study was to investigate effects of organic acid for alleviation of bicarbonate stress of three peach cultivars grafted on GN-15. The experiment was performed as a factorial based on a randomized complete block design during 2017-2019. Factors included peach cultivars (Red Haven, Jh. Hale and Barzegar), calcium bicarbonate (0, 7.5 and 15 mM), as well as combination of oxalic, malic and citric organic acids (0 and 10 mM). Under bicarbonate stress, proline content, activity of catalase, superoxide dismutase, guaiacol peroxidase enzymes and carbohydrate content increased. The highest amount of chlorophyll (1.65 mg / g) and Fv/Fm (0.79) was observed in Barzegar cultivar under non-stress conditions. Under severe bicarbonate stress (15 mmol), the leaves of Barzegar cultivar maintained higher relative water content (55.77%) compared to other the cultivars. Organic acids improved leaf chlorophyll content, proline accumulation, at the same time, increased the activity of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and glutathione reductase). Also, application of 10 mM organic acids significantly increased phosphorus, iron, zinc and manganese content of leaf, whereas it reduced chlorosis severity due to iron deficiency. Finally, Barzegar was introduced as the highest tolerant cultivars to the iron-deficiency which induced chlorosis.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Proline, Chlorosis, Chlorophyll fluorescence

Corresponding author, Email: majiddastjerdy@gmail.com