

ارزیابی اثر تنش شوری و پرولین بر برخی از صفات ریخت‌شناختی، فیزیکی و فیتوشیمیایی برگ در سه رقم زیتون (*Olea europaea* L.)

نغمه پوری^۱، اسماعیل سیفی^{۲*}، مهدی علیزاده^۲

^۱ دانش‌آموخته کارشناس ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۲ دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۰۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۷

چکیده

زیتون (*Olea europaea* L.) از گیاهان نیمه‌مقاوم در برابر شوری است که میزان مقاومت آن به رقم بستگی دارد؛ از این رو می‌توان از این گونه گیاهی به‌عنوان یک مدل برای مطالعه پاسخ محصولات چوبی به تنش شوری استفاده نمود. در این تحقیق نهال‌های شش ماهه سه رقم زیتون، شامل آربکین^۲، آربوسانا^۳ و کرونایکی^۴، به مدت شش ماه تحت تنش شوری سدیم کلرید با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار قرار گرفتند و سه مرتبه با پرولین به غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول‌پاشی شدند. در انتهای دوره تنش، تعداد برگ‌ها در هر گیاه شمارش و ضخامت، طول و عرض برگ، وزن تر و خشک برگ اندازه‌گیری گردید. محتوای کاروتنوئید برگ با استفاده از دی‌متیل سولفواکسید، فنل کل برگ با معرف فولین سیو کالتو، و مقدار قند بر اساس روش مک‌کریدی تعیین شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری تعداد برگ کاهش یافت که رقم آربوسانا بیشترین کاهش را داشت. رقم کرونایکی در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش معنی‌داری از نظر طول و عرض برگ نشان داد و کاربرد پرولین نتوانست از این کاهش جلوگیری نماید. کمترین وزن تر و خشک برگ در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. ضخامت برگ در پاسخ به شوری افزایش و مقدار کاروتنوئید کاهش یافت. از بین ارقام مورد مطالعه آربوسانا کمترین محتوای فنل کل را داشت. در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، بیشترین مقدار قند مربوط به آربوسانا و کمترین مقدار مربوط به کرونایکی بود. گیاهان تیمار شده با پرولین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین مقدار کربوهیدرات را داشتند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش شوری، زیتون، سدیم کلرید، محلول‌پاشی

*نویسنده مسئول: esmaeilseifi@yahoo.com

2. Arbequina
3. Arbosana
4. Koroneiki

بیماری‌های قلبی و عروقی و بیماری‌های حاد چشمی نقش ایفا می‌کنند (Jalali et al., 2015).

این گونه به علت تحمل بالا در برابر تنش خشکی همراه با توانایی رشد در خاک‌های آهکی، که اغلب درختان میوه نمی‌توانند در آن مستقر شوند، از دیرزمان در اراضی حاشیه‌ای کشت شده است (Cimatoa et al., 2010). کاشت زیتون در ایران و جهان سابقه‌ی طولانی دارد و در این رابطه در هر منطقه‌ای از عرض‌های جغرافیایی ۲۵-۴۰ درجه‌ی شمالی و جنوبی که نیاز اقلیمی آن تامین شود، این گیاه کشت می‌شود (Darvishian, 1997). بخش عمده‌ی مساحت ایران از نظر اقلیمی جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود (Naeini et al., 2003). در این مناطق پس از کمبود آب، شوری خاک مهمترین مساله‌ای است که کشاورزی را محدود می‌سازد و سبب کاهش شدید تولید انواع محصولات کشاورزی می‌شود (Alaee and Tafazzoli, 2009). آبیاری با آب‌های نامناسب و شور مهمترین عامل افزایش نمک و شور شدن خاک و در نتیجه، ایجاد تنش شوری است (DolatAbadian et al., 2009). گرچه سطح شوری در اغلب آب‌های آبیاری زیر سطح آستانه‌ی محصولات حساس‌تر می‌باشد، تجمع نمک در خاک‌های آبیاری شده با منابع آب آبیاری و آب‌های زیرزمینی می‌تواند سطح شوری را تا حدی افزایش دهد که رشد و عملکرد را حتی در محصولات مقاوم‌تر کاهش دهد (Heuer, 2003).

تقاضای آب برای آبیاری در باغ‌های زیتون به علت افزایش عملکرد و مزایا در حال افزایش است که به استفاده از منابع آبی با کیفیت پایین منجر می‌شود (Ghrab et al., 2013). تحمل شوری در زیتون همچون بسیاری از گونه‌های دیگر وابسته به رقم است (Gucci et al., 1997). زیتون با تحمل شوری

زیتون (*Olea europaea* L.) گیاهی است بومی مناطق مدیترانه‌ای که در بسیاری از کشورهای حاشیه‌ی دریای مدیترانه یکی از محصولات عمده باغبانی می‌باشد (Darvishian, 1997). میوه و برگ‌های درخت زیتون دارای تاریخچه‌ای غنی در مصارف تغذیه‌ای، دارویی و تشریفاتی می‌باشد. چای برگ زیتون یکی از شایع‌ترین چای‌های علفی تجاری است که در میان مردم مدیترانه‌ای درمان برخی بیماری‌ها استفاده می‌شود. برگ درخت زیتون که به عنوان یک داروی گیاهی تجاری مصرف می‌شود، به‌علت اثرات مفید آن روی متابولیسم به خوبی شناخته شده است. اخیراً اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد قندخون، ضد فشار خون، و ضد میکروبی برگ‌های زیتون در مطالعات گوناگون گزارش شده است. این خواص به ترکیب‌های فنلی برگ زیتون نسبت داده می‌شود (Sedef and Karakaya, 2009). ترکیب‌های فنلی بخشی از رژیم غذایی انسان را تشکیل داده و مهمترین فایده‌ی آن فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Dai and Mumper, 2010). ترکیب‌های فنلی طیف وسیعی از خواص فیزیولوژیکی مثل اثرات ضد حساسیت، ضد التهاب، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، ضد لخته، و گشادکننده‌ی عروق قلب را عرضه می‌نماید (Balasundram et al., 2006). جوشانده برگ و پوست زیتون سبب کاهش تب گردیده که همواره با مرهم روغن زیتون و صمغ کاج باعث درمان رماتیسم می‌گردد. همچنین جوشانده برگ تازه یا خشک زیتون در درمان اختلالات کلیه و فشار خون بسیار موثر است (Mohammadi and Vakili, 2007). زیتون دارای دو گروه رنگدانه کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها می‌باشد. کاروتنوئیدها به عنوان عامل آنتی‌اکسیدان، پیشگیری‌کننده از

پرویلین به غلظت آن بستگی دارد، همانطور که توسط اشرف و فولاد (Ashraf and Foolad, 2007) اشاره شد، چرا که مقدار بیش از حد پرویلین آزاد اثرات منفی یا جانبی بر رشد سلول یا اعمال پروتئین دارد. بنابراین پرویلین درون سلولی باید در سطح مناسبی باشد تا تحمل تنش را ایجاد کند (Dawood et al., 2014). تاثیر پرویلین به کار برده شده به صورت اسپری برگ به نوع گونه، مرحله نمو گیاه، زمان کاربرد و به غلظت آن بستگی دارد (Ashraf and Foolad, 2007). از آنجایی که تقریباً ۹۰ درصد از مساحت ایران دارای اقلیم خشک و نیمه خشک است و اکثر مناطق زراعی کشور مستعد شوری هستند (Kafi et al., 2009)، و مسئله شوری خاک کشت و کار اغلب محصولات باغی را با مشکل مواجه می کند، انجام تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است. لذا هدف از این تحقیق، بررسی اثر تنش شوری و کاربرد پرویلین بر صفات ریخت‌شناختی، فیزیکی و فیتوشیمیایی برگ در زیتون ارقام آربکین، آربوسانا و کروناکی (۳۸آ) بود.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان آزمایش: این پژوهش در دو بخش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۳۹۴ به اجرا درآمد. نهال‌های شش ماهه که از طریق قلمه تولید شده بودند از نهالستان آقای مهندس "شاه‌مرادی"، واقع در حومه‌ی شهرستان گرگان، تهیه شده و پس از تعویض گلدان‌ها، به مدت یک هفته با آب معمولی آبیاری شدند تا به شرایط جدید سازگاری پیدا کنند. سپس همزمان با آغاز آبیاری با آب شور، محلول‌پاشی با پرویلین طی سه مرحله به فواصل ۱۰ روز انجام شد. آبیاری با آب شور تا انتهای آزمایش‌ها ادامه یافت.

خاک در محدوده ۸-۱۳ دسی‌زیمنس بر متر گیاهی با تحمل متوسط نسبت به شوری است (Abtahi, 1992). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که زیتون نسبت به سایر درختان میوه که معمولاً حساس به شوری هستند، مقاوم‌تر می‌باشد، اما نسبت به جو، کتان، چغندر قند و سایر محصولات مقاوم، تحمل کمتری دارد (Gucci and Tattini, 1997). با توجه به نیمه‌مقاوم بودن زیتون به شوری، برای افزایش سطح زیر کشت آن باید با استفاده از روش‌های مختلف میزان مقاومت زیتون را به شوری بالا برد (AliNiaeiFard et al., 2008). یکی از روش‌های مناسب برای به حداقل رساندن اثرات مخرب شوری آب و خاک استفاده از ارقامی است که بتوانند در شرایط شور رشد کرده و عملکرد کافی داشته باشند (Gholami and Rahemi, 2009). مکانیسم‌های متفاوتی بین گونه‌های مختلف یک گیاه برای تحمل به شوری ذکر گردیده است که شامل توزیع یکنواخت یون‌های نمکی داخل واکوئول‌های سلول، تجمع یون‌های متعادل‌کننده‌ی اسمز در داخل سیتوپلاسم، قابلیت کاهش جذب کلر یا سدیم توسط ریشه‌ها و عدم انتقال کلر یا سدیم به قسمت‌های هوایی می‌باشد (Flowers, 1999).

گیاهان دارای استراتژی‌های مختلف برای مقابله با اثرات مخرب تنش شوری اتخاذ می‌کنند که تنظیم اسمزی از مهمترین آن است (Shahbaz et al., 2013). در گیاهان عالی که تحت تنش خشکی یا شوری قرار گرفته‌اند پرویلین به‌عنوان اسیدآمین تنظیم‌کننده اسمزی به‌طور گسترده‌ای تجمع می‌یابد (Farzaneh et al., 2013). نقش اصلی پرویلین احتمالاً حفظ سلول‌های گیاهی در برابر تنش شوری، از طریق حفظ تعادل اسمزی، پایداری ساختارهای درون سلولی مثل غشاها و پروتئین‌ها، و حذف گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد (Heuer, 2003; Ashraf and Foolad, 2007). اثر

جدول ۱: خصوصیات آب آبیاری با درجات شوری مختلف و خاک مورد استفاده قبل و بعد از اعمال تنش شوری

زمان	غلظت نمک در تیمارهای مختلف	هدایت الکتریکی آب (میلی‌موس بر سانتی‌متر)	بافت خاک	pH خاک	هدایت الکتریکی خاک (میلی‌موس بر سانتی‌متر)
قبل از تنش شوری	-	-	لوم شنی	۷/۹۰	۵/۳۹
بعد از تنش شوری	۰ میلی‌مولار	۰/۵۹۷	لوم شنی	۸/۱۶	۴/۳۵
بعد از تنش شوری	۵۰ میلی‌مولار	۷/۳۷۷	لوم شنی	۸/۱۰	۱۶/۲۵
بعد از تنش شوری	۱۰۰ میلی‌مولار	۱۴/۳۱	لوم شنی	۸/۰۸	۳۱/۴۸
بعد از تنش شوری	۲۰۰ میلی‌مولار	۲۱/۲۵۲	لوم شنی	۷/۷۲	۴۲/۴۴

گلدان‌ها هفته‌ای یک بار به میزان ۱۲۰ میلی‌لیتر (حجمی از آب که برای آبیاری کامل محتوای خاک هر گلدان لازم بود و در شروع آزمایش تعیین گردید) آبیاری شدند. هدایت الکتریکی آب مورد استفاده و همچنین خصوصیات خاک گلدان‌ها در جدول ۱ آمده است. در انتهای آزمایش و پس از اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی، برگ‌ها مورد ارزیابی آزمایش‌های شیمیایی قرار گرفتند.

اندازه‌گیری صفات ریخت‌شناختی و فیزیکی: در انتهای دوره تنش، تعداد برگ‌های موجود در هر گیاه شمارش گردید. طول و عرض برگ بزرگ‌تر در گره چهارم (از بالا) با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. همچنین ضخامت برگ بزرگ‌تر در گره چهارم با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری گردید. در انتها یک گیاه از هر تکرار انتخاب و تعداد ۸ برگ از هر گیاه برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک جدا شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آون ۷۵ درجه قرار گرفتند تا وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شود (Gucci et al., 1997).

اندازه‌گیری صفات فیتوشیمیایی: براساس روش بارنز و همکاران (Barnes et al., 1992)، به‌منظور اندازه‌گیری کاروتنوئید، ۰/۵ گرم بافت برگ تازه خرد شده برای استخراج رنگیزه استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول حاصل با DMSO به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت میزان رنگیزه‌ی مورد نظر از

مشخصات و نحوه اجرای طرح: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر روی قلمه‌های ریشه‌دار شده سه رقم زیتون در محیط کشت لوم شنی (مخلوطی از خاک معمولی، خاک‌برگ و ماسه به نسبت ۲:۱:۱) به اجرا در آمد که هر تکرار حاوی سه گلدان بود. فاکتورهای مربوطه عبارت بودند از: رقم در سه سطح شامل آربکین^۱، آربوسانا^۲ و کرونایکی^۳، پرولین در سه سطح شامل غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و شوری در چهار سطح شامل غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک سدیم کلرید. پس از انتخاب، گیاهان ابتدا به گلدان‌های بزرگ‌تر منتقل شدند و به‌مدت یک هفته با آب شهری آبیاری شدند تا به شرایط جدید سازگاری پیدا کنند. سپس به منظور ایجاد تنش، آبیاری با آب شور با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک سدیم کلرید آغاز گردید و همزمان با آغاز آبیاری، محلول‌پاشی با پرولین با غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر انجام شد تا تاثیر آن بر روی مقاومت گیاهان در برابر تنش اعمال شده مورد بررسی قرار گیرد. محلول‌پاشی دو نوبت دیگر نیز به فواصل ۱۰ روز صورت گرفت. آبیاری با آب حاوی غلظت‌های مختلف سدیم کلرید به مدت پنج ماه از اردیبهشت تا اوایل مهر ماه انجام شد، بدین ترتیب که

1. Arbequina
2. Arbosana
3. Koroneiki-A38

طریق رابطه‌ی زیر بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تازه محاسبه گردید:

(رابطه ۱)

= کاروتنوئید کل

$$\text{میزان رقیق سازی} \times \text{حجم} \times (1.49 \times 0. D_{510}) - (7.6 \times 0. D_{480})$$

وزن نمونه $\times 1000$

برای اندازه‌گیری فنل کل، ابتدا نمونه‌های برگ به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و مقدار ۰/۲ گرم برگ خشک پودر شده در مجاورت دو میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. ۲۰ میکرولیتر از عصاره حاصل برای اندازه‌گیری محتوای فنل به وسیله معرف فولین سیوکالچو مورد استفاده قرار گرفت (Slinkard and Singleton, 1997). به منظور اندازه‌گیری قند بر اساس روش مک‌کرییدی (McCready et al., 1950)، ۰/۱ گرم نمونه برگ پودر شده استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط نرم‌افزار GenStat Ver. 9.2 آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام شد. داده‌ها قبل از تجزیه آماری در صورت نیاز به زاویه یا جذر تبدیل شدند. رسم نمودارها از طریق نرم‌افزار اکسل صورت گرفت.

نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر متقابل سه‌گانه‌ی رقم، شوری و پرولین بر ضخامت برگ در سطح احتمال ۰/۱ درصد و بر نسبت طول به عرض برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. در سایر صفات ریخت‌شناختی که اثر متقابل این سه فاکتور تاثیر معنی‌داری نداشت، اثرات متقابل دوگانه‌ی رقم و شوری، رقم و پرولین، و شوری و پرولین مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت غیرمعنی‌دار بودن

آن‌ها، به اثرات مستقل پرداخته شد. نتایج نشان داد که اثرات متقابل دوگانه رقم و شوری، رقم و پرولین، و شوری و پرولین بر تعداد برگ‌ها، به‌ترتیب در سطح احتمال ۵، ۱، و ۰/۱ درصد، اثرات دوگانه رقم و شوری، و شوری و پرولین بر طول برگ به‌ترتیب در سطح احتمال ۰/۱ و ۱ درصد، و همچنین اثر متقابل رقم و شوری بر عرض برگ در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار بودند. اثر مستقل پرولین بر عرض برگ از نظر آماری معنی‌دار نبود. اثرات متقابل دوگانه‌ی رقم و شوری، و شوری و پرولین بر وزن خشک برگ به‌ترتیب در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل دوگانه‌ی شوری و پرولین و نیز اثر مستقل رقم بر وزن‌تر برگ در سطح ۰/۱ درصد تاثیر معنی‌داری را نشان داد. اثر متقابل دوگانه‌ی رقم و شوری بر محتوای کاروتنوئید و نیز بر محتوای فنل کل در سطح احتمال ۵ درصد و بر محتوای قند محلول کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر مستقل پرولین بر کاروتنوئید و قند محلول کل در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود، اما بر محتوای فنل کل تاثیر معنی‌داری نشان نداد.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر متقابل سه‌گانه رقم، شوری و پرولین بر ضخامت برگ بسیار معنی‌دار بود ($P < 0.001$). بیشترین ضخامت برگ در تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰ - پرولین ۱۰۰ (۰/۳۲ میلی‌متر) مشاهده شد (جدول ۳). کمترین ضخامت برگ نیز مربوط به تیمار آربوسانا - شوری، ۲۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۰/۰۹ میلی‌متر) بود که البته با برخی از تیمارهای دیگر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. براساس این نتایج، با افزایش شوری ضخامت برگ افزایش یافت به جز در رقم آربوسانا که بالاترین ضخامت برگ مربوط به شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بود.

جدول ۲: تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناختی و فیزیکی‌شیمیایی نهال‌های زیتون تحت تاثیر سه فاکتور رقم، شوری و پرولین

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		تعداد برگ	ضخامت برگ	طول برگ	عرض برگ
نسبت طول به عرض برگ					
رقم	۲	۳۲۴۴/۴۸ ^{***}	۰/۰۹۶۲۷۷ ^{***}	۰/۲۸۴۰ ^{ns}	۰/۳۸۱۱۲ ^{***}
شوری	۳	۱۲۳۹۱/۰۲ ^{***}	۰/۱۱۴۱۲۴ ^{***}	۰/۰۵۴۹ ^{ns}	۰/۱۵۲۰۶ [*]
پرولین	۲	۵۰/۷۸ ^{ns}	۰/۰۰۱۷۴۹ ^{ns}	۴/۱۷۵۳ ^{***}	۰/۰۲۰۷۲ ^{ns}
رقم × شوری	۶	۱۲۵/۶۳ [*]	۰/۰۲۰۲۵۱ ^{***}	۳/۴۲۶۱ ^{***}	۰/۱۸۱۵۰ ^{***}
رقم × پرولین	۴	۱۸۲/۸۴ ^{**}	۰/۰۰۸۰۹۳ ^{***}	۰/۶۳۲۹ ^{ns}	۰/۰۴۴۸۵ ^{ns}
شوری × پرولین	۶	۱۸۷/۸۷ ^{***}	۰/۰۰۵۳۷۲ ^{***}	۱/۳۶۱۱ ^{**}	۰/۰۴۰۷۶ ^{ns}
رقم × شوری × پرولین	۱۲	۶۴/۹۴ ^{ns}	۰/۰۰۴۲۷۷ ^{***}	۰/۴۵۶۸ ^{ns}	۰/۰۵۵۶۰ ^{ns}
خطا	۷۲	۴۷/۱۶	۰/۰۰۱۱۹۵	۰/۴۳۰۸	۰/۰۴۳۲۵
ضرب تغییرات (%)		۲۲/۲	۲۰/۳	۱۵/۲	۱۶/۸
وزن خشک برگ					
وزن تر برگ					
کاروتنوئید					
فنل کل					
قند محلول کل					
رقم	۲	۰/۰۱۹۳۴۲ [*]	۰/۱۶۵۱۴ ^{***}	۰/۰۰۳۴۱۸۷ ^{**}	۵۲۴۴/۴ ^{***}
شوری	۳	۰/۰۱۰۸۵۳ ^{ns}	۰/۰۳۴۸۱ ^{ns}	۰/۰۰۶۱۳۷۹ ^{***}	۱۵۵۴/۸ [*]
پرولین	۲	۰/۰۰۶۰۹۴ ^{ns}	۰/۰۰۸۳۱۵ [*]	۰/۰۰۲۶۲۹۷ [*]	۲۰۸/۶ ^{ns}
رقم × شوری	۶	۰/۰۱۲۶۳۳ [*]	۰/۰۰۴۱۹۱ ^{ns}	۰/۰۰۱۸۵۴۶ [*]	۱۰۸۰/۲ [*]
رقم × پرولین	۴	۰/۰۰۶۷۱۰ ^{ns}	۰/۰۰۳۴۲۶ ^{ns}	۰/۰۰۱۳۵۵۳ ^{ns}	۲۱۳/۴ ^{ns}
شوری × پرولین	۶	۰/۰۱۴۳۴۶ ^{**}	۰/۰۰۹۹۹۸ ^{***}	۰/۰۰۱۲۹۷۰ ^{ns}	۴۲۰/۳ ^{ns}
رقم × شوری × پرولین	۱۲	۰/۰۰۱۲۶۶ ^{ns}	۰/۰۱۱۳۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۶۱۲۰ ^{ns}	۵۷۹/۴ ^{ns}
خطا	۷۲	۰/۰۰۴۲۵۳	۰/۰۱۸۵۶	۰/۰۰۰۶۰۰۳	۴۳۱/۴
ضرب تغییرات (درصد)		۱۹/۱	۱۷/۸	۳/۸	۴/۵

در هر ستون *، **، *** به ترتیب به مفهوم معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ و ns به معنی عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

بیشترین طول برگ در تیمار آربوسانا - شوری ۲۰۰ (۴/۸۱ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۴). کمترین طول برگ نیز مربوط به تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰ (۳/۹۰ سانتی‌متر) بود. در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار رقم آربوسانا بیشترین طول برگ را داشت و بین دو رقم دیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، اثر متقابل شوری و پرولین بر طول برگ بسیار معنی‌دار بود ($P=0/005$). بالاترین طول برگ در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار و پرولین ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (۴/۷۲ سانتی‌متر) و کمترین مقدار نیز در تیمارهای شوری ۲۰۰ - پرولین

بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه، اثر متقابل رقم، شوری و پرولین بر نسبت طول به عرض برگ معنی‌دار بود ($P=0/014$). بیشترین نسبت طول به عرض برگ مربوط به تیمار آربوسانا، شوری ۲۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۴/۲۸ سانتی‌متر)، و کمترین مربوط به تیمار آربکیین - شوری ۲۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۲/۷۱ سانتی‌متر) بود (جدول ۳). به طور کلی، رقم آربوسانا بالاترین نسبت طول به عرض برگ را داشت و کمترین مربوط به رقم آربکیین بود. نتایج این مطالعه نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر طول برگ بسیار معنی‌دار بود ($P<0/001$).

متقابل رقم و شوری بر تعداد برگ معنی‌دار بود ($P=0/016$). ارقام کرونایکی و آربکین به ترتیب با ۴۹/۰۱ و ۴۸/۴۱ برگ در سطح شوری شاهد بالاترین تعداد برگ را داشتند و کمترین مربوط به رقم آربوسانا در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار (۱۱/۶۲) بود (جدول ۴). در تمام غلظت‌های شوری مورد استفاده، رقم آربکین بیشترین (به جز در سطح شوری ۰ و ۵۰ میلی مولار که با رقم کرونایکی اختلاف معنی‌داری نداشت) و رقم آربوسانا کمترین تعداد برگ را داشت. همچنین نتایج نشان داد که اثر متقابل رقم و پرولین بر تعداد برگ بسیار معنی‌دار بود ($P=0/005$). بیشترین تعداد برگ در تیمار آربکین - پرولین ۲۰۰ (۳۸/۴۰) و کمترین تعداد نیز در تیمار آربوسانا - پرولین ۲۰۰ (۲۳/۰۹) مشاهده شد (شکل ۲). در مجموع رقم آربکین بیشترین و رقم آربوسانا کمترین تعداد برگ را داشت. محلول‌پاشی با پرولین به‌طور مستقل اختلاف معنی‌داری بر تعداد برگ ایجاد نکرد.

۲۰۰ (۳/۷۶ سانتی‌متر)، شوری ۱۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۴/۱۷ سانتی‌متر) و شوری ۵۰ - پرولین ۲۰۰ (۴/۱۱ سانتی‌متر) مشاهده شد (جدول ۵). در تمام سطوح شوری اعمال شده در این تحقیق، کاربرد پرولین ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کمترین طول برگ گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر عرض برگ بسیار معنی‌دار بود ($P<0/001$). تیمارهای آربکین - شوری ۱۰۰ و آربکین - شوری ۲۰۰ با ۱/۳۵ سانتی‌متر، بیشترین عرض برگ را داشتند (جدول ۴). کمترین عرض برگ نیز در تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰ (۱/۰۵ سانتی‌متر) مشاهده شد. در شرایط شوری بالا رقم آربکین بیشترین و رقم آربوسانا کمترین عرض برگ را داشت. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، اثر مستقل پرولین بر عرض برگ معنی‌دار نبود ($P=0/620$ ، شکل ۱). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر

جدول ۳: مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه رقم، شوری و پرولین بر ضخامت و نسبت طول به عرض برگ زیتون

شوری (میلی‌مول بر لیتر)	پرولین (میلی‌گرم بر لیتر)	ضخامت برگ (میلی‌متر)		نسبت طول به عرض برگ	
		آربکین $P<0/001$	آربوسانا $P<0/001$	آربکین $P=0/014$	آربوسانا $P=0/014$
۰	۰	۰/۱۰۳ ^{jk}	۰/۱۴۰ ^{fj}	۳/۴۲ ^{fl}	۳/۸۸ ^{a-c}
۰	۱۰۰	۰/۱۲۰ ^{h-k}	۰/۱۲۴ ^{g-k}	۳/۲۳ ^{j-m}	۳/۷۳ ^{c-g}
۰	۲۰۰	۰/۱۲۹ ^{f-k}	۰/۱۱۳ ^{i-k}	۳/۲۰ ^{j-m}	۳/۴۳ ^{fl}
۵۰	۰	۰/۱۵۱ ^{fi}	۰/۱۰۳ ^{jk}	۳/۶۵ ^{c-i}	۳/۵۴ ^{e-j}
۵۰	۱۰۰	۰/۱۳۲ ^{f-k}	۰/۱۳۳ ^{f-k}	۳/۶۷ ^{c-i}	۳/۵۱ ^{e-k}
۵۰	۲۰۰	۰/۱۹۶ ^{c-e}	۰/۱۴۷ ^{fi}	۳/۴۷ ^{e-l}	۳/۵۴ ^{e-j}
۱۰۰	۰	۰/۲۱۹ ^{bc}	۰/۱۶۴ ^{d-g}	۳/۵۶ ^{d-j}	۳/۳۸ ^{g-l}
۱۰۰	۱۰۰	۰/۱۹۶ ^{c-e}	۰/۱۶۷ ^{d-f}	۳/۳۰ ^{h-m}	۳/۴۹ ^{e-l}
۱۰۰	۲۰۰	۰/۲۳۰ ^{bc}	۰/۱۶۳ ^{d-g}	۳/۱۳ ^{k-m}	۳/۰۹ ^{l-n}
۲۰۰	۰	۰/۲۳۴ ^{bc}	۰/۱۵۷ ^{e-h}	۲/۹۷ ^{mn}	۳/۸۰ ^{b-f}
۲۰۰	۱۰۰	۰/۲۱۷ ^{bc}	۰/۱۴۰ ^{fj}	۳/۴۴ ^{fl}	۴/۲۵ ^a
۲۰۰	۲۰۰	۰/۲۲۹ ^{bc}	۰/۰۹۱ ^k	۲/۷۱ ⁿ	۳/۱۰ ^{k-n}

حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار (بسته به مورد در سطح احتمال ۵ درصد) را نشان می‌دهند.

جدول ۴: اثر متقابل رقم و شوری بر برخی از صفات ریخت‌شناختی و فیزیکی نهال‌های زیتون

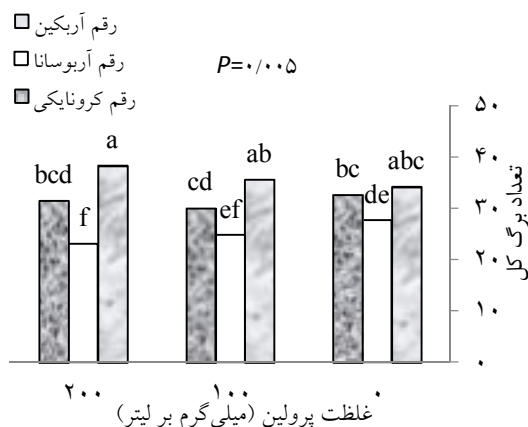
رقم	شوری (میلی مول بر لیتر)	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	وزن خشک برگ (گرم)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تازه)	فنل کل (میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم نمونه خشک)	قند محلول کل (میلی گرم بر گرم وزن خشک)
	$P=0.016$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.001$	$P=0.013$	$P=0.016$	$P=0.031$	$P=0.004$
آربکین	۰	۴۸/۴۱ ^a	۴/۱۶ ^{bc}	۱/۲۸ ^{ab}	۰/۳۳۵ ^{c-e}	۰/۶۷۶ ^a	۴۶۱/۱۰ ^a	۴۶۳/۲۰ ^{ab}
آربکین	۵۰	۴۱/۷۰ ^b	۴/۳۹ ^{ab}	۱/۲۴ ^{abc}	۰/۳۷۳ ^{a-c}	۰/۶۷۴ ^a	۴۷۰/۴۰ ^a	۵۰۱/۴۰ ^{ab}
آربکین	۱۰۰	۲۹/۸۶ ^d	۴/۴۱ ^{ab}	۱/۳۵ ^a	۰/۳۲۲ ^{c-e}	۰/۶۴۲ ^{b-d}	۴۶۹/۱۰ ^a	۳۹۷/۹۰ ^b
آربکین	۲۰۰	۲۴/۵۳ ^e	۴/۱۱ ^{bc}	۱/۳۵ ^a	۰/۳۰۳ ^{de}	۰/۶۶۴ ^{ab}	۴۶۹/۴۰ ^a	۳۸۵/۸۰ ^b
آربوسانا	۰	۴۰/۰۰ ^b	۴/۱۷ ^{bc}	۱/۲۳ ^{abc}	۰/۳۰۷ ^{de}	۰/۶۶۵ ^{ab}	۴۲۷/۴۰ ^b	۴۱۶/۴۰ ^{ab}
آربوسانا	۵۰	۲۹/۵۶ ^d	۴/۰۷ ^{bc}	۱/۱۲ ^{cd}	۰/۳۲۴ ^{c-e}	۰/۶۵۴ ^{a-c}	۴۴۰/۰۰ ^b	۵۲۸/۶۰ ^a
آربوسانا	۱۰۰	۱۹/۶۳ ^f	۴/۴۲ ^{ab}	۱/۲۴ ^{abc}	۰/۳۱۵ ^{de}	۰/۶۳۵ ^{c-e}	۴۶۶/۶۰ ^a	۴۴۱/۵۰ ^{ab}
آربوسانا	۲۰۰	۱۱/۶۲ ^h	۴/۸۱ ^a	۱/۱۷ ^{bcd}	۰/۳۵۴ ^{b-e}	۰/۶۳۰ ^{de}	۴۶۷/۱۰ ^a	۵۳۲/۳۰ ^a
کرونایکی	۰	۴۹/۰۱ ^a	۴/۶۶ ^a	۱/۲۸ ^{ab}	۰/۳۶۳ ^{a-d}	۰/۶۶۲ ^{ab}	۴۷۲/۹۰ ^a	۴۶۲/۱۰ ^{ab}
کرونایکی	۵۰	۳۴/۵۹ ^c	۴/۵۱ ^{ab}	۱/۲۹ ^{ab}	۰/۳۹۷ ^{ab}	۰/۶۶۳ ^{ab}	۴۷۵/۴۰ ^a	۳۷۸/۸۰ ^b
کرونایکی	۱۰۰	۲۶/۸۱ ^{de}	۴/۱۲ ^{bc}	۱/۲۵ ^{abc}	۰/۴۱۶ ^a	۰/۶۵۶ ^{a-c}	۴۷۲/۹۰ ^a	۴۶۷/۸۰ ^{ab}
کرونایکی	۲۰۰	۱۵/۴۵ ^g	۳/۹۰ ^c	۱/۰۵ ^d	۰/۲۹۷ ^c	۰/۶۱۶ ^e	۴۷۲/۹۰ ^a	۳۷۷/۲۰ ^b

حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار (بسته به مورد در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد) را نشان می‌دهند.

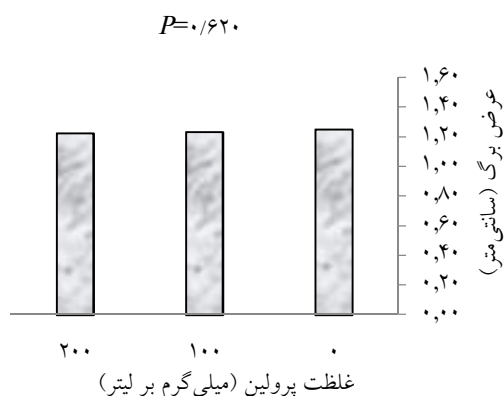
جدول ۵: اثر متقابل شوری و پرولین بر برخی از صفات ریخت‌شناختی و فیزیکی نهال‌های زیتون

شوری (میلی مول بر لیتر)	پرولین (میلی گرم بر لیتر)	تعداد برگ	طول برگ	وزن خشک برگ (گرم)	وزن تر برگ (گرم)
		$P<0.001$	$P=0.005$	$P=0.006$	$P<0.001$
۰	۰	۴۳/۵۳ ^a	۴/۳۰ ^{ab}	۰/۳۱۹ ^{a-c}	۰/۷۵۴ ^a
۱۰۰	۱۰۰	۴۷/۴۱ ^a	۴/۴۰ ^{ab}	۰/۳۱۸ ^{bc}	۰/۷۶۵ ^a
۲۰۰	۲۰۰	۴۶/۴۸ ^a	۴/۳۰ ^{ab}	۰/۳۶۹ ^{ab}	۰/۸۵۹ ^a
۵۰	۰	۳۵/۸۹ ^b	۴/۵۲ ^{ab}	۰/۳۵۱ ^{ab}	۰/۷۶۹ ^a
۵۰	۱۰۰	۳۶/۳۰ ^b	۴/۳۴ ^{ab}	۰/۴۰۰ ^a	۰/۸۵۸ ^a
۵۰	۲۰۰	۳۳/۶۷ ^b	۴/۱۱ ^{bc}	۰/۳۴۳ ^{ab}	۰/۷۳۸ ^a
۱۰۰	۰	۲۶/۶۳ ^c	۴/۵۰ ^{ab}	۰/۳۳۷ ^{ab}	۰/۷۵۸ ^a
۱۰۰	۱۰۰	۲۴/۳۴ ^{cd}	۴/۲۸ ^{ab}	۰/۳۴۸ ^{ab}	۰/۷۶۰ ^a
۱۰۰	۲۰۰	۲۵/۳۳ ^c	۴/۱۷ ^{bc}	۰/۳۶۷ ^{ab}	۰/۷۸۴ ^a
۲۰۰	۰	۲۰/۲۳ ^{de}	۴/۳۵ ^{ab}	۰/۳۴۱ ^{ab}	۰/۷۳۴ ^a
۲۰۰	۱۰۰	۱۲/۷۸ ^f	۴/۷۲ ^a	۰/۳۶۳ ^{ab}	۰/۸۹۲ ^a
۲۰۰	۲۰۰	۱۸/۵۹ ^{ef}	۳/۷۶ ^c	۰/۲۵۱ ^c	۰/۵۱۸ ^b

حروف متفاوت اختلاف معنی‌دار (بسته به مورد در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد) را نشان می‌دهند.



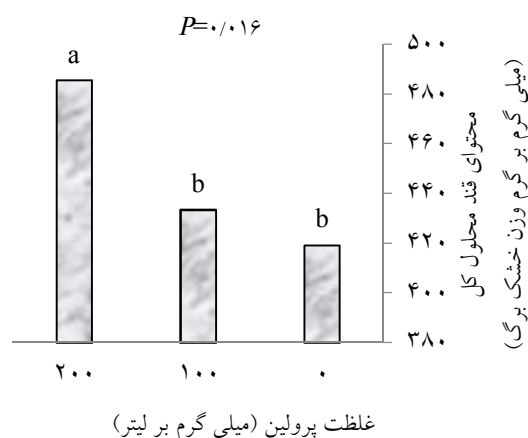
شکل ۲: اثر متقابل رقم و پراکسیداز بر تعداد برگ



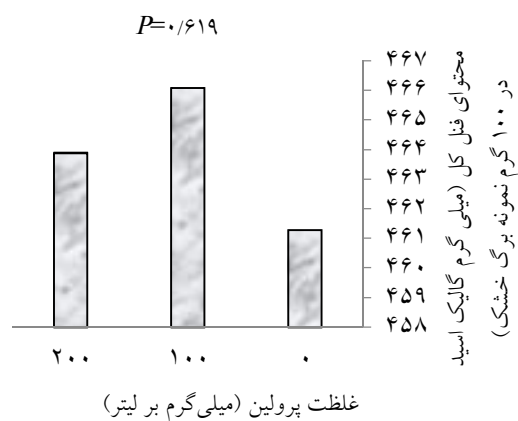
شکل ۱: اثر پراکسیداز بر عرض برگ

محتوای فنل در تیمار کرونایکی - شوری ۵۰ (۴۷۵/۴۰ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک) و کمترین مقدار فنل نیز در تیمار آربوسانا - شوری صفر (۴۲۷/۴۰ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک) مشاهده شد (جدول ۴). از بین ارقام مورد مطالعه رقم کرونایکی بیشترین و آربوسانا کمترین محتوای فنل کل را داشتند. نتایج حاصل نشان داد که اثر مستقل پراکسیداز بر فنل کل معنی دار نبود ($P=0/619$ ، شکل ۳).

براساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، اثر متقابل شوری و پراکسیداز بر تعداد برگ بسیار معنی دار بود ($P<0/001$). بیشترین تعداد برگ مربوط به تیمار شوری صفر - پراکسیداز ۱۰۰ (۴۷/۴۱) و کمترین تعداد برگ مربوط به تیمار شوری ۲۰۰ - پراکسیداز ۱۰۰ (۱۲/۷۸) بود (جدول ۵). در واقع با افزایش سطح شوری، تعداد برگ کاهش یافت و تیمار با غلظت شوری صفر بیشترین تعداد برگ را داشت. نتایج نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای فنل کل معنی دار بود ($P=0/031$). بیشترین



شکل ۴: اثر پراکسیداز بر محتوای فنل محلول کل

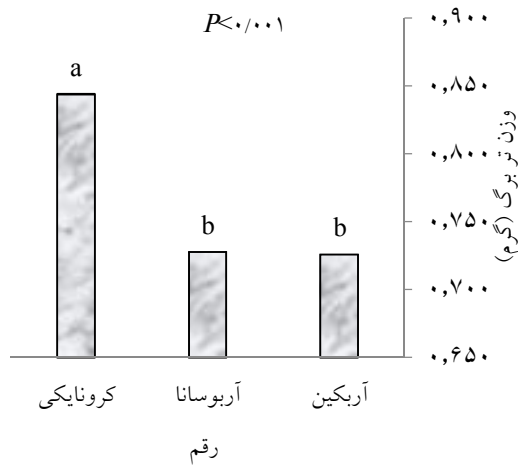


شکل ۳: اثر پراکسیداز بر محتوای فنل کل برگ

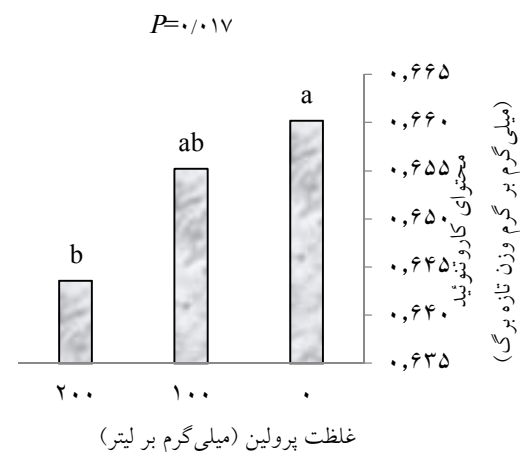
بیشترین مقدار کاروتنوئید در تیمار آرکین - شوری صفر (۰/۶۷۶ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین مقدار در تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰ (۰/۶۱۶ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده شد (جدول ۴). با افزایش غلظت شوری مقدار کاروتنوئید کاهش یافت، به طوری که در ارقام آربوسانا و کرونایکی کمترین مقدار مربوط به سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار بود. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش، اثر مستقل پرولین بر محتوای کاروتنوئید معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۷). گیاهانی که با پرولین محلول‌پاشی نشده بودند، بیشترین کاروتنوئید (۰/۶۶۰ میلی‌گرم بر گرم) را داشتند (شکل ۵). کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار پرولین ۲۰۰ (۰/۶۴۴ میلی‌گرم بر گرم) بود. به طور کلی با افزایش غلظت پرولین، مقدار کاروتنوئید کاهش یافت.

بر اساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، اثر متقابل رقم و شوری بر قند محلول کل، بسیار معنی‌دار بود (P=۰/۰۰۴). تیمار آربوسانا - شوری ۲۰۰ با ۵۳۲/۳۰ میلی‌گرم بر گرم بیشترین و تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰ با ۳۷۷/۲۰ میلی‌گرم بر گرم کمترین مقدار قند محلول کل را داشتند (جدول ۴). همچنین اثر مستقل پرولین بر محتوای قند محلول کل معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۶). بیشترین مقدار در تیمار پرولین ۲۰۰ (۴۸۵/۶۰ میلی‌گرم بر گرم) و کمترین مقدار قند نیز در تیمار شاهد (۴۱۹/۲۰ میلی‌گرم بر گرم) مشاهده شد (شکل ۴). به طور کلی، با افزایش غلظت پرولین مقدار قند برگ‌ها افزایش یافت.

نتایج حاصل نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر محتوای کاروتنوئید معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۶).



شکل ۶: اثر رقم بر وزن تر برگ



شکل ۵: اثر پرولین بر محتوای کاروتنوئید

۰/۸۴۴ گرم بیشترین و رقم آرکین با ۰/۷۲۶ گرم کمترین وزن تر برگ را داشت (شکل ۶). نتایج این مطالعه نشان داد که اثر متقابل رقم و شوری بر وزن خشک برگ معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۳). بیشترین مقدار وزن خشک برگ مربوط به تیمار کرونایکی - شوری ۱۰۰ (۰/۴۱۶ گرم) و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار کرونایکی - شوری ۲۰۰

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اثر متقابل شوری و پرولین بر وزن تر برگ بسیار معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). بیشترین وزن تر در تیمار شوری ۲۰۰ - پرولین ۱۰۰ (۰/۸۹۲ گرم) و کمترین وزن تر در تیمار شوری ۲۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۰/۵۱۸ گرم) مشاهده شد (جدول ۵). همچنین اثر مستقل رقم بر وزن تر برگ بسیار معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۱). رقم کرونایکی با

al., 2009) نیز با اعمال تنش شوری تعداد برگ کاهش یافت.

تغییر وضعیت آبی گیاه باعث توقف رشد، جلوگیری از تقسیم و طویل شدن سلولی و مرگ سلولی می‌شود (Abdollahi et al., 2013). بر اساس مطالعات قبلی در تنش شوری با افزایش غلظت نمک در محلول غذایی، پتانسیل اسمزی محلول افزایش یافته، جذب آب کم شده و به دنبال آن فشار تورژسانس سلول‌ها نیز کاهش می‌یابد. خروج آب از سلول‌ها مانع از رشد آن‌ها می‌گردد. از طرف دیگر با کوچک شدن و ریزش برگ‌ها منبع تولید اسیمیلات در گیاه کاهش می‌یابد. بنابراین مقدار موادی که به سلول‌ها می‌رسد به مراتب کاهش چشم‌گیری پیدا می‌کند، که در نهایت هم تعداد و هم اندازه‌ی سلول‌ها کاهش می‌یابد (Fatemy et al., 2009). کایا و همکاران (Kaya et al., 2002) نیز بیان نمودند که علائم قابل مشاهده تنش شوری بر روی گیاهان، شامل کاهش رشد بخش‌های هوایی و ایجاد برگ‌های کوچک می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که کاربرد خارجی پرولین رشد سلول‌ها را در شرایط تنش تحریک می‌کند (Heuer, 2003).

با افزایش شوری سلول‌های اپیدرم مزوفیل، آب بیشتری در خود جمع نموده، آبدار و گوشتی می‌شوند که همین امر باعث افزایش ضخامت برگ می‌شود (Fatemy et al., 2009). در مطالعه کی‌کائو و همکاران (Kchaou et al., 2010) ضخامت برگ در پاسخ به تنش شوری افزایش یافت، که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. بر اساس یافته‌های آن‌ها، مقدار این افزایش بین واریته‌های مورد مطالعه متفاوت بود و در ارقام آربکین ۱۸، آربوسانا ۱۴۳ و کرونایکی، برگ‌ها ۱/۲ تا ۱/۶ برابر ضخیم‌تر از شاهد بودند. در واقع بین افزایش ضخامت برگ و افزایش غلظت

(۰/۲۹۷ گرم) بود (جدول ۴). در رقم کرونایکی، کمترین مقدار وزن خشک برگ در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد، اما در رقم آربوسانا کمترین در تیمار شاهد و بیشترین در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. همچنین بر اساس نتایج بدست آمده، اثر متقابل شوری و پرولین بر وزن خشک برگ بسیار معنی‌دار بود ($P=0/006$). بیشترین وزن خشک برگ در تیمار شوری ۵۰ - پرولین ۱۰۰ (۰/۴۰۰ گرم) مشاهده شد (جدول ۵). کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار شوری ۲۰۰ - پرولین ۲۰۰ (۰/۲۵۱ گرم) بود.

بحث

تنش شوری توانایی گیاه در جذب آب و مواد معدنی و در نتیجه رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Cicek and Cakirlar, 2002). در شرایط شوری انرژی لازم برای تنظیم یونی و اسمزی زیاده‌تر شده و انرژی رشد کاهش می‌یابد. کاهش رشد یک نوع سازگاری برای زنده ماندن گیاه در شرایط تنش است (Eskandari et al., 2013). در همه ارقام مورد مطالعه در این آزمایش با افزایش سطح شوری، تعداد برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. سلول‌های برگ اولین اندام گیاه است که بلافاصله بعد از وقوع تنش تحت تاثیر قرار گرفته و رشد آن کاهش می‌یابد. کاهش تعداد برگ می‌تواند به علت تشدید ریزش برگ و یا کاهش تولید برگ‌های جدید در شرایط شوری باشد (Abdollahi et al., 2013). داود و همکاران (Dawood et al., 2014) گزارش کردند که تعداد برگ‌های باقلا در شرایط تنش شوری کاهش یافت و کاربرد پرولین ۲۵ میلی‌مولار در این شرایط باعث افزایش تعداد برگ گردید، اما پرولین ۵۰ میلی‌مولار اثر منفی بر تعداد برگ داشت. براساس سایر گزارش‌ها (Alaee and Tafazzoli, 2009; Oraei et al., 2009)

درخت زیتون که به عنوان یک داروی گیاهی تجاری مصرف می‌شود، به‌علت اثرات مفید آن روی متابولیسم به خوبی شناخته شده است. این خواص به ترکیب‌های فنلی برگ زیتون نسبت داده می‌شود (Sedef and Karakaya, 2009). ترکیب‌های فنلی طیف وسیعی از خواص فیزیولوژیکی مثل اثرات ضد حساسیت، ضد التهاب، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، ضد لخته، و گشادکننده‌ی عروق قلب را عرضه می‌نماید (Balasundram et al., 2006). در این تحقیق در رقم آربوسانا با افزایش غلظت سدیم کلرید محتوای فنل برگ افزایش یافت. در مطالعه‌ای که محققان روی چهار رقم زیتون در شرایط شوری ۷۵ و ۱۲۵ میلی‌مولار سدیم کلرید انجام دادند، نشان دادند که با افزایش شوری، محتوای فنل کل برگ در همه‌ی ارقام (به جز رقم آربکین در تیمار ۷۵ میلی‌مولار) افزایش یافت. محتوای فنل کل برگ در تیمار ۱۲۵ میلی‌مولار در مقایسه با گیاهان شاهد در همه‌ی ارقام بیش از دو برابر بود. رقم آسکولانا ۱۲۹ درصد، کروناکی ۱۲۷ درصد، رقم زرد ۱۱۲ درصد و رقم آربکین ۱۱۰ درصد افزایش داشت (Petridis et al., 2012).

کربوهیدرات‌های محلول دسته عمده‌ی املاح سازگار آلی هستند که نقش کلیدی در کاهش تنش شوری، یا از طریق تنظیم اسمزی یا با القای برخی از مقاومت‌های دهیدراسیونی در سلول‌های گیاهی، دارند (Hassanein et al., 2009). تعیین میزان قندهای محلول ممکن است روش مفیدی در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (Gholami et al., 2013). با افزایش سطوح سدیم کلرید میزان قندهای محلول در برگ‌های بالغ انار به طور معنی‌داری کاهش یافت. احتمال می‌رود کاهش میزان قندهای محلول در غلظت‌های بالاتر سدیم کلرید به علت کاهش میزان ساکارز باشد (Naeini et al.,

سدیم برگ ارتباط خطی وجود داشت. با این وجود داود و همکاران (Dawood et al., 2014) گزارش کردند که ضخامت رگبرگ میانی و بافت اسفنجی برگ باقلا در شرایط تنش شوری ۳/۱۳ و ۶/۲۵ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد کاهش یافت و تیمار این گیاهان با پرولین باعث افزایش مقدار آن گردید.

اعمال تنش شوری باعث کاهش وزن تر و خشک برگ شد. یکی از ویژگی‌های مطلوب جهت ارزیابی تاثیر تنش شوری بر گیاهان، تعیین وزن خشک گیاه می‌باشد. کاهش وزن گیاه در شرایط تنش شوری ممکن است به دلیل کاهش فتوسنتز باشد چرا که شوری از طریق تاثیر بر فتوسنتز و فرآیندهای جانبی آن موجب کاهش میزان رشد در گیاه می‌گردد (Razavi Zadeh et al., 2013). جمیل و همکاران (Jamil et al., 2005) بیان نمودند که شوری از طریق اختلال در جذب آب منجر به کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاهان می‌شود. مطالعات سایر پژوهشگران نیز نشان داد که تنش شوری باعث کاهش وزن تر و خشک برگ می‌شود (Kchaou et al., 2010). افزایش وزن تر برگ در پی کاربرد خارجی اسمولیت سازگار ممکن است به علت نقش فعال آن در تنظیم اسمزی باشد که به نوبه‌ی خود جذب آب را افزایش می‌دهد و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Dawood et al., 2014).

گیاهان عالی ظرفیت بی‌نظیری برای سنتز متابولیت‌های ثانویه‌ی غیرآنزیمی مثل فنل‌ها دارند که نقش آنتی‌اکسیدانی در مهار گونه‌های اکسیژن فعال دارد. فنل، سلول‌ها را از خسارت اکسیداتیو محافظت می‌کند و پایداری غشای سلول را افزایش می‌دهد. تجمع ترکیب‌های فنلی در پاسخ به تنش غیرزنده می‌تواند به فعال‌سازی آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز نسبت داده شود (Dawood et al., 2014). برگ

آنتی‌اکسیدانی از خود بروز دهند. کاهش چشم‌گیری در مقدار کاروتنوئیدها در طی تنش شوری وجود دارد (Razavi Zade et al., 2013). داود و همکاران (Dawood et al., 2014) نیز بیان داشتند که تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید گردید و استفاده از پرولین به افزایش محتوای این رنگیزه به میزان ۴/۲ درصد نسبت به شاهد منجر شد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش شوری باعث کاهش رشد نهال‌های زیتون گردید. با افزایش سطح شوری تعداد برگ و وزن تر و خشک برگ کاهش یافت و رقم آربکین با تعداد برگ بیشتر مقاومت بهتری در برابر تنش داشت. در بالاترین غلظت سدیم کلرید، رقم آربوسانا بیشترین مقدار قند و رقم آربکین بالاترین میزان کاروتنوئید را داشت. به طور کلی رقم آربوسانا حساسیت بیشتری نسبت به دو رقم دیگر در برابر تنش شوری اعمال شده داشت و رقم کرونا یکی مقاوم‌تر بود. بر اساس نتایج بدست آمده می‌توان به باغداران محترم توصیه نمود که در اراضی شور حتی‌الامکان از ارقام کرونا یکی و آربکین استفاده نمایند.

سپاسگزاری

از مهندس شاهرادی برای تامین نهال‌های زیتون قدردانی می‌گردد.

2003). همچنین در مطالعه‌ای روی باقلا تنش شوری میزان کربوهیدرات محلول و کل را کاهش داد و پرولین باعث افزایش معنی‌دار مقدار آن شد. کاربرد خارجی پرولین ممکن است اثرات منفی شوری بالا بر متابولیسم کربوهیدرات را خنثی کرده، و در نتیجه رشد کل گیاه را افزایش دهد. این امر ممکن است به علت نقش پرولین در حداقل‌سازی اثرات مخرب شوری باشد که با کاهش محتوای سدیم و کلر و افزایش پتاسیم در برگ‌های باقلا همراه است (Dawood et al., 2014). عدم تعادل اسمزی ناشی از شوری به طور جزئی توسط افزایش در غلظت کربوهیدرات‌های محلول به ویژه اسموپروتکتانت قند الکلی مانیتول مقابله می‌شود (Cimatoa et al., 2010). در دیگر پژوهش‌ها نیز شوری باعث کاهش میزان قندهای محلول شد. از آن‌جا که تنش شوری و خشکی اسیمیلایسون CO_2 را کاهش می‌دهند، کاهش در کربوهیدرات‌های محلول برگ امری غیر منتظره نیست (Gholami and Rahemi, 2009). پاتاکاس و همکاران (Patakas et al., 2002) نیز علت را کاهش در نرخ فتوسنتزی می‌دانند.

کاروتنوئیدها گروه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرنوئیدی هستند که توسط تمام اندام‌های فتوسنتزی و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی ساخته می‌شوند. کاروتنوئیدها به‌عنوان حامی رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند انرژی اضافی طول موج‌های کوتاه را بگیرند و نقش

References

1. Abdollahi, F., Jafari, L. and Gordi Takhti, S. 2013. Effect of GA_3 on growth and chemical composition of jujube leaf (*Ziziphus spina-christi*) under salinity condition. *Journal of Plant Process and Function*, 2(2): 53-67. (In Persian).
2. Abtahi, A. 1992. The tolerance limitation of plants against to salinity. *Technical journal, agricultural faculty of Shiraz University*, 16: 34. (In Persian).
3. Alaei, Sh. and Tafazzoli, A. 2009. The Effect of salinity and plant growth regulators (kinetin and CCC) on vegetative growth in Olive cv. dezfol.

- Journal of plant and ecosystem, 5(17): 83-97. (In Persian).
4. AliNiaeiFard, S., Tabatabaei, S.J., Hajilou, J. and Seifi Kalhor, M. 2008. Vegetative and physiological responses of Olive trees to antioxidants and salinity. Journal of Horticultural Science and Technology of Iran, 9(4): 275-284. (In Persian).
 5. Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206–216.
 6. Balasundram, N., Sundram. K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99: 191-203.
 7. Barnes, J.D., Balaguer, L., Maurigue, E., Elvira, S. and Davison, A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll 'a' and 'b' in lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany, 32 (2): 85–100.
 8. Cicek, N., Cakirlar, H. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in twomaize cultivars. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 28: 66–74.
 9. Cimatoa, A., Castelli b, S., Tattini, M. and Traversia, M.L. 2010. An ecophysiological analysis of salinity tolerance in olive. Environmental and Experimental Botany, 68: 214–221.
 10. Dai, J. and Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15: 7313-7352.
 11. Darvishian, M. 1997. Olive, Translation, Published by Agricultural education press, Karj, Iran, 295p. (In Persian).
 12. Dawood, M.G., Taie, H.A.A., Nassar, R.M.A., Abdelhamid, M.T. and Schmidhalter, U. 2014. The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. South African Journal of Botany, 93: 54-63.
 13. DolatAbadian, A., Modarres Sanavi, A.M. and Sharifi, M. 2009. Effect of leaf feeding by ascorbic acid on antioxidant enzymes activity, proline accumulation, and lipid peroxidation of Canola (*Brassica napus* L.) under salt stress condition. Science and technology of Agriculture and natural resources, 47(B): 611-620. (In Persian).
 14. Eskandari Zanjani, K., Shirani Rad, A.H., Moradi Aghdam, A. and TaherKhani, T. 2013. Effect of salicylic acid application under salinity conditions on physiological and morphological characteristics of *Artemisia* (*Artemisia annua* L.). Journal of Crop Echophysiology, 6(4): 415-428. (In Persian).
 15. Farzaneh, M., Ghanbari, M., and Eftekharian Jahromi, A. 2013. Effect of hydropriming on seed germination and proline content of radish (*Raphanus sativus* L.) under salt stress. Journal of plant environmental physiology, 8(1): 65-74. (In Persian).
 16. Fatemy, L.S., Tabatabaei, S.J. and Fallahi, E. 2009. The effect of silicon on the growth and yield of strawberry grown under saline conditions. Journal of Horticultural Sciences, 23(1): 88-95. (In Persian).
 17. Flowers, T.J. 1999. Salinisation and horticultural production. Scientia Horticulture, 78: 1-4.
 18. Gholami, R., Kashefi, B. and Saedi Sar, S. 2013. Effect of salicylic acid on alleviation of salt stress on growth traits of *Salvia limbata* L. Journal of Plant Ecophysiology, 15: 63-73. (In Persian).
 19. Gholami, M. And Rahemi, M. 2009. Effect of NaCl salt stress on physiological and morphological characteristic of vegetative Peach-Almond hybrid (GF677) rootstock. Plant Production Technology, 9(1): 21-31. (In Persian).
 20. Ghrab, M., Gargouria, K., Bentaherb, H., Chartzoulakisc, K., Ayadia, M., Mimound, M.B., Masmoudid, M.M., Mechliad, N.B. and Psarrasc, G. 2013. Water relations and yield of olive tree (cv. Chemlali) in response topartial root-zone drying (PRD) irrigation technique and salinity under arid climate. Agricultural Water Management, 123: 1–11.
 21. Gucci, R., Lombardini, L. and Tattini, M. 1997. Analysis of leaf water relations

- in leaves of two olive (*Olea europaea*) cultivars differing in tolerance to salinity. *Tree Physiology*, 17: 13-21.
22. Gucci, R. and Tattini, M. 1997. Salinity tolerance in olive. *Horticultural Reviews*, 21: 177-214.
 23. Hassanein, R.A., Bassiouny, F.M., Barakat, D.M. and Khalil, R.R. 2009. Physiological effects of nicotinamide and ascorbic acid on *Zea mays* plant grown under salinity stress, changes in growth, some relevant metabolic activities and oxidative defense systems. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5: 72-81.
 24. Heuer, B. 2003. Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. *Plant Science*, 165: 693-699.
 25. Jalali, A., Seifi, E., Alizadeh, M. and Fereydooni, H. 2015. Study on some qualitative characteristics, phenolic compounds and antioxidant capacity in fruit and oil of favorite genotypes of *Olea europaea* L. at Golestan state. *Echophytochemistry Journal of Medicinal Plants*, 9: 43-54.
 26. Jamil, M., Chunlee, C., Rehman, S.U., Baelee, D., Ashraf, M. and Rha, E.S. 2005. Salinity (NaCl) tolerance of *Brassica* species at germination and early seedling growth. *Plant Science*, 4(4): 970-976.
 27. Kafi, M., Borzoe, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A. and Nabatim J. 2009. *Physiology of environmental stresses in plants*, Jahad daneshgahi mashhad press, Mashhad, Iran, 82p. (In Persian).
 28. Kaya, C.B.E, Higgs, D. and Murillo-Amador, B. 2002. Influence of foliar applied calcium nitrate on strawberry plants grown under salt stress conditions. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 42: 631-636.
 29. Kchaou, H., Larbi, A., Gargouri, K., Chaieb, M., Morales, F. and Msallem, M. 2010. Assessment of tolerance to NaCl salinity of five olive cultivars, based on growth characteristics and Na⁺ and Cl⁻ exclusion mechanisms. *Scientia Horticulturae*, 124: 306-315.
 30. McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V. and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. *Analytical chemistry*, 22: 1156-1158.
 31. Mohammadi, H. and Vakili, D. 2007. *Olive (planting, harvesting, processing)*. Nedaye sabze shomal publications, Lahijan, Iran. (In Persian).
 32. Naeini, M.R., Khoshgoftar, A.H., Lessani, H. and Mirzapour, M.H. 2003. Effect of NaCl-induced salinity on mineral nutrients and soluble sugar in three commercial cultivars of pomegranate. *Journal of Soil and Water Sciences*, 18(1): 95-104. (In Persian).
 33. Oraei, M., Tabatabaei, S.J., Fallahi, E. and Imani, A. 2009. The effects of salinity stress and rootstock on the growth, photosynthetic rate, nutrient and sodium concentrations of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Journal of Horticultural Sciences*, 23(2): 131-140. (In Persian).
 34. Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K. and Niotsakis, B. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science*, 163: 361-367.
 35. Petridis, A., Therios, I., Samouris, G. and Tananaki, C. 2012. Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. *Environmental and Experimental Botany*, 79: 37-43.
 36. Razavi Zadeh, R., Kazem Zadeh, M. and Enteshari, Sh. 2013. Effect of paclobutrazol on some physiological indices of rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings under salt stress conditions. *Journal of crop physiology- Islamiz Azad University of Ahvaz*, 5(19): 35-48. (In Persian).
 37. Sedef, N, El, and Karakaya, S. 2009. Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67(11): 632-638.
 38. Shahbaz, M., Mushtaq, Z., Andaz, F. and Masood, A. 2013. Does proline application ameliorate adverse effects of salt stress on growth, ions and photosynthetic ability of eggplant

(*Solanum melongena* L.). Scientia Horticulturae, 164: 507-511.
39. Slinkard, K. Singleton, V.L. 1997. Total phenol analysis; automation and

comparison with manual methods. American Society for Enology and Viticulture, 28: 49-55.

The effect of salt stress and proline on some morphological, physical and phytochemical traits of leaf in three olive cultivars

Pouri, N.¹, Seifi, E.^{2*}, Alizadeh, M.²

¹M.Sc student, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production,

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan

University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received: 3-2-2017 ; Accepted: 9-5-2017

Abstract

Olive (*Olea europaea* L.) is one of the moderately resistant plants to salinity and its resistance is depends on the cultivar and so this species can be used as a model to study the responses of wooden plants to salt stress. In this study six-months-old plantlets of three olive cultivars, including Arbequina, Arbosana, and Koroneiki were under salt stress through various concentrations of sodium chloride, containing 0, 50, 100, and 200mM for five months, and sprayed with proline at 0, 100, and 200 mg/L for three times. At the end of the stress period, the number of leaves on each plant was counted; and thickness, length and width, and fresh and dry weight of the leaves were measured. Carotenoid content of leaves was determined by using DMSO, total leaf phenol was measured by Folin ciocalteu reagent, and glucose levels were estimated based on McCready. The results indicated that the number of leaves was decreased by increasing salinity levels and Arbosana had the greatest reduction. Koroneiki showed a significant reduction in leaf length and width at 200 mM and application of proline could not prevent this decline. The lowest fresh and dry weight was observed at 200 mM salinity. Leaf thickness was increased in the response of salt stress and the content of carotenoids reduced. Among the cultivars studied, Arbosana had the lowest total phenolic contents. Also, at salinity 200 mM, the highest and the lowest sugar content was observed in Arbosana and koroneiki, respectively. Plantlets treated with proline 200 mg/L had the highest carbohydrates.

Keywords: *Olea europaea*, Proline, Phytochemical, Salt stress, Spraying

*Corresponding author; esmaeilseifi@yahoo.com