

اثر محلول پاشی با سولفید هیدروژن در کاهش خسارت ناشی از تنش شوری در پایه بادام تلخ

لیلا چهل تنان^۱، بهرام بانی نسب* و مهدیه غلامی

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۳)

چکیده

تنش شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که عملکرد و کیفیت گیاهان را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش تحمل به تنش‌های مختلف از جمله شوری در گیاهان می‌شود. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تأثیر سولفید هیدروژن بر کاهش خسارت تنش شوری در پایه بادام تلخ بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار به اجرا درآمد. تیمارها شامل چهار سطح شوری (۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و چهار سطح سولفید هیدروژن (۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد تنش شوری به ویژه در غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب کاهش معنی‌دار طول ساقه، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ و افزایش معنی‌دار شاخص خسارت ظاهری، نشت یونی، میزان پرولین، سدیم برگ و ریشه و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز برگ شد. در مقابل کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار با کاهش نشت یونی، میزان سدیم ریشه و افزایش معنی‌دار میزان پرولین، شاخص کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی سبب تعدیل آثار منفی تنش شوری و بهبود رشد گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های ضد اکسایشی، بادام، پرولین، سولفید هیدروژن، کلرید سدیم.

مقدمه

می‌شود (خشکی فیزیولوژیک) و عمدتاً کاهش رشد برگ و ریشه را در پی دارد، مرحله دوم سمیت یونی است که با تداوم شرایط تنش و ورود یون‌های کلر و سدیم به درون بافت ریشه اتفاق می‌افتد که در نهایت می‌تواند منجر به مرگ سلول‌ها شود (۱۹). در پاسخ به شوری، گیاهان از استراتژی‌ها و مکانیزم‌های مختلفی برای افزایش تحمل به شوری استفاده می‌کنند که از جمله آن می‌توان به مواردی مانند جلوگیری از ورود نمک، تقسیط نمک در محفظه‌های زیر سلول، محدود کردن حرکت نمک از ریشه به شاخه‌ها،

تنش شوری از جمله مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که تولید محصولات کشاورزی را در سراسر جهان به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. در حال حاضر حدود یک سوم از زمین‌ها در مقیاس جهانی با مشکل شوری مواجه هستند که پیش‌بینی می‌شود سطح زمین‌های شور در آینده افزایش یابد (۲۱ و ۲۶). تنش شوری به دو طریق بر گیاهان اثر می‌گذارد، مرحله اول تنش اسمزی ناشی از کمبود آب است که منجر به بروز پاسخ‌های مشابه با تنش خشکی

۱- گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bbanin@iut.ac.ir

پراکسیداز شده و غلظت پراکسید هیدروژن و فعالیت لیپواکسیژناز را کاهش می‌دهد و بدین طریق در حفاظت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو نقش دارد (۳۱). کاربرد سولفید هیدروژن روی توت‌فرنگی با افزایش بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز گلوکاتایون، مقاومت گیاهان به تنش شوری را افزایش داده است (۶). در جو، سولفید هیدروژن سبب ممانعت از کاهش رشد و تعدیل نسبت پتاسیم به سدیم به وسیله کاهش خروج پتاسیم و افزایش بیان ژن کانال پتاسیم یک‌طرفه درونی و یک سیستم جذب بالای پتاسیم در شرایط تنش شوری شد (۴). در یونجه، سولفید هیدروژن با محدود کردن خروج پتاسیم سبب افزایش تحمل به شوری شد (۳۰). کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش مقاومت در گیاهان در معرض خشکی می‌شود که این کار را به وسیله بهبود فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز انجام می‌دهد (۳۱). شواهد نشان می‌دهد سولفید هیدروژن در مرکبات تحت تنش خشکی سبب برنامه‌ریزی خاص پروتئین می‌شود، این گروه از پروتئین‌ها که تحت تأثیر سولفید هیدروژن هستند، سبب تنظیم کمپلکس پروتئین فتوسیستم ۲، روبیسکو و گلوتامات گلیوکسیلات آمینوترانسفراز می‌شود که نشان‌دهنده نقش سودمند آن در حفظ عملکرد دستگاه فتوسنتزی تحت شرایط تنش خشکی است (۳۲). همچنین گزارش شده است سولفید هیدروژن در توت‌فرنگی با تنظیم رونویسی از پروتئین‌های شوک گرمایی و اکوپورین‌ها سبب افزایش تحمل سیستمیک در برابر گرما می‌شود (۶).

بنابراین با توجه به حساسیت درختان بادام به تنش شوری و از طرفی نقش مثبت سولفید هیدروژن در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی این امکان وجود دارد که این ترکیب بتواند تنش شوری را در گیاهان کاهش دهد. بنابراین در پژوهش حاضر این فرضیه در پایه بادام تلخ که از دیرباز به‌عنوان پایه برای تکثیر ارقام بادام استفاده می‌شود (۲۴)، بررسی شد.

تجمع املاح در بافت و افزایش تحمل بافت به غلظت زیاد نمک اشاره کرد (۲۶).

بادام (*Prunus dulcis*) یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین میوه‌های خشک در جهان است که زیستگاه اصلی آن خاورمیانه و به ویژه ایران است (۲۸). اگرچه از بادام به عنوان یک درخت متحمل در برابر کم‌آبی نام برده می‌شود با وجود این، کشت و کار بادام نه تنها در ایران بلکه در اکثر نواحی دنیا با آسیب‌های زیاد برخی عوامل محدودکننده تولید از جمله شوری و سرمای زودرس بهاره همراه است (۲۸). حد تحمل بادام به شوری برابر ۱/۵ دسی‌زیمنس بر متر گزارش شده است و به‌ازای هر واحد افزایش شوری، ۱۹ درصد از عملکرد بادام کاهش می‌یابد (۱۱). افزایش تحمل به شوری در بادام سبب بهبود عملکرد و افزایش بهره‌وری از منابع آبی شده و ممکن است به افزایش سطح کشت بادام منجر شود (۲۶).

امروزه کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد و مواد شیمیایی مختلف به‌عنوان یک راه حل کوتاه مدت برای مقابله با تنش شوری مطرح است. سولفید هیدروژن گازی بی‌رنگ و قابل اشتعال است (۷)، که در سلول‌های گیاهی به‌عنوان سومین فرستنده گازی پس از نیتریک اکسید و مونوکسید کربن محسوب می‌شود (۲۹). این ماده در گیاهان به صورت درون‌زا تولید می‌شود و در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو گیاه، از جوانه‌زنی بذر تا پیری و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارد. اعتقاد بر این است که سولفید هیدروژن در قسمت‌های از سلول که با متابولیسم گوگرد در ارتباط است مانند کلروپلاست، سیتوزول، میتوکندری و پروکسی‌زوم‌ها تولید می‌شود (۳۱). کاربرد خارجی سولفید هیدروژن آثار مخرب بسیاری از تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی، فلزات سنگین، دماهای زیاد و کم را کاهش می‌دهد (۹). سدیم هیدروسولفید از منابع سولفید هیدروژن محسوب می‌شود، که می‌تواند سولفید هیدروژن را هنگام حل شدن در آب آزاد کند (۱۲). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، سولفید هیدروژن سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه آموزشی پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت فاکتوریل (۴ × ۴) در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و هر تکرار شامل سه دانغال به اجرا درآمد. تیمارهای مورد بررسی شامل چهار سطح شوری و چهار سطح سولفید هیدروژن بودند. به منظور انجام پژوهش، ابتدا بذور بادام تلخ از یک نهالستان معتبر در استان اصفهان، شهرستان نجف‌آباد تهیه شده و پس از خراش دهی مکانیکی به منظور تأمین نیاز سرمایی در کیسه‌های پلاستیکی حاوی پیت-ماس مرطوب قرار گرفت و به یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از ظهور علائم خروج ریشه‌چه، بذور در گلدان‌های هفت کیلوگرمی حاوی ترکیبی از خاک، ماسه و پرلیت به نسبت حجمی ۱:۱:۱ کشت شدند. سپس گلدان‌ها به گلخانه با میانگین دمایی بیشینه ۳۰ و کمینه ۲۰ درجه سلسیوس منتقل شدند. سولفید هیدروژن از منبع سدیم هیدروسولفید (NaHS)، در غلظت‌های ۰، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار تهیه شده و در دو نوبت بر روی اندام هوایی دانغال‌ها محلول پاشی شد. اولین مرحله محلول پاشی پس از گذشت ۳۰ روز از کشت بذرها و در مرحله ۶-۵ برگی و مرحله دوم پس از گذشت ۷ روز از اولین محلول پاشی انجام شد. پس از گذشت یک هفته از دومین مرحله محلول پاشی سولفید هیدروژن، تنش شوری اعمال شد. به منظور اعمال تنش شوری از نمک کلرید سدیم در غلظت‌های ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار استفاده شد. تیمارهای مذکور به ترتیب دارای رسانایی الکتریکی معادل ۰/۳۸، ۳/۸، ۶/۶ و ۹/۲ دسی‌زیمنس بر متر بودند. برای جلوگیری از وارد آمدن تنش ناگهانی به گیاهان تیمارهای شوری به تدریج اعمال شد و در مجموع اعمال تنش شوری به مدت ۶۰ روز ادامه یافت.

در پایان آزمایش به منظور بررسی آثار تنش شوری و سولفید هیدروژن، میزان خسارت ظاهری بر اساس درصد ظهور علائم کلروز و نکروز در برگ‌ها تعیین شد (۱). طول ساقه از محل طوقه تا انتهای ساقه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل برگ توسط دستگاه کلروفیل‌سنج دستی (مدل Hansateach Instruments CL-01 ساخت انگلستان) بر روی جوان‌ترین برگ توسعه یافته انجام شد. محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش چرکی و همکاران (۵) اندازه‌گیری شد. بدین منظور از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته نمونه‌های برگ تهیه و وزن تازه (FW) آن‌ها اندازه‌گیری شد و سپس به مدت ۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفته و وزن تورژسانس (TW) آن‌ها تعیین شد. در ادامه نمونه‌ها با وزن خشک (DW) آن‌ها به دست آمد و در نهایت با استفاده از فرمول زیر، RWC محاسبه شد:

$$RWC = \frac{[FW-DW]}{[TW-DW]} \times 100 \quad (1)$$

اندازه‌گیری میزان نشت یونی بر اساس روش لوتس و همکاران (۱۵) و میزان پرولین برگ بر اساس روش بیتس و همکاران (۳) انجام گرفت. اندازه‌گیری سدیم برگ و ریشه به روش خاکستر خشک و با کمک دستگاه شعله‌سنج انجام گرفت و در پایان با استفاده از نمودار استاندارد غلظت سدیم و پتاسیم تعیین شده و سپس بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک محاسبه شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی با استفاده از روش سایرام و ساکسنا (۲۵) انجام شد. بدین ترتیب که به ۰/۱ گرم از بافت برگ پس از ساییده شدن یک میلی‌لیتر بافر استخراج افزوده شد و ۲۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به عصاره آنزیمی، بافر فسفات عمومی حاوی دی‌پتاسیم فسفات، منوپتاسیم فسفات و پراکسید هیدروژن افزوده شده و جذب آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۴۰ نانومتر بر حسب واحد بر گرم وزن تازه محاسبه شد. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز به عصاره آنزیمی، بافر فسفات عمومی، گایاکول و آب اکسیژنه افزوده شده و میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

جدول ۱. اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) و سولفید هیدروژن (H₂S) بر شاخص خسارت ظاهری (IRV) و طول ساقه (SH) دانه‌های بادام.

Table 1. Effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) and hydrogen sulfide (H₂S) on the injury rating value (IRV) and stem height (SH) of almond seedlings.

H ₂ S (mM)	NaCl (mM)				Mean
	0	30	60	90	
	IRV (%)				
0	1.25 ^f	4.00 ^f	41.00 ^{bc}	67.50 ^a	28.43 ^A
0.05	1.50 ^f	2.00 ^f	31.25 ^{cd}	54.00 ^{ab}	22.19 ^A
0.1	1.00 ^f	2.00 ^f	11.25 ^{ef}	37.50 ^{cd}	12.94 ^B
0.15	1.00 ^f	1.50 ^f	23.75 ^{de}	35.25 ^{cd}	15.37 ^B
Mean	1.19 ^C	2.37 ^C	26.81 ^B	48.56 ^A	
	SH (cm)				
0	61.10 ^{ab}	47.22 ^{e-h}	45.30 ^{gh}	33.49 ⁱ	46.78 ^B
0.05	58.22 ^{a-c}	54.00 ^{cd}	46.66 ^{f-h}	38.10 ^j	49.24 ^{AB}
0.1	63.68 ^a	53.27 ^{c-e}	49.00 ^{d-g}	42.23 ^{hi}	52.04 ^A
0.15	55.00 ^{b-d}	52.57 ^{e-f}	50.58 ^{d-g}	45.04 ^{gh}	50.80 ^A
Mean	59.50 ^A	51.76 ^B	47.89 ^C	39.71 ^D	

در هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each trait, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

۰/۱۵ میلی‌مولار سولفید هیدروژن به‌دست آمد (جدول ۱). همچنین برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نشان داد اگرچه کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت کم نمک اثری بر کاهش خسارات نداشت اما کاربرد این ترکیب در غلظت‌های بیش‌تر شوری (۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) سبب کاهش معنی‌دار شاخص خسارت ظاهری نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۱). نتایج مشابه در گیاهان برنج پیش‌تیمار شده با سولفید هیدروژن نشان داد سولفید هیدروژن با حفاظت از کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئیدها و پروتئین سبب کاهش معنی‌دار نشانه‌های سمیت ظاهری (زرد شدن، کلروز، سوزاندن و ریزش برگ) در شرایط تنش شوری شد (۱۸). همچنین کاربرد سولفید هیدروژن در توت فرنگی در شرایط تنش شوری سبب کاهش علائم نکروزه در برگ‌ها شد (۷).

طول ساقه

بر اساس نتایج حاصله با افزایش غلظت کلرید سدیم، ارتفاع گیاهان به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. کم‌ترین ارتفاع ساقه مربوط به غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (۳۹/۷۱ سانتی‌متر) بود که سبب کاهش ۳۳/۲۶ درصدی ارتفاع گیاهان نسبت به تیمار

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS (Ver 9.4) و مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام گرفت.

نتایج و بحث

شاخص خسارت ظاهری

نتایج نشان داد با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان خسارت ظاهری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین میزان خسارت ظاهری به میزان ۴۸/۵۶ درصد مربوط به غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود (جدول ۱). تنش شوری بر فرایندهای مختلف فیزیولوژیک و متابولیکی گیاه آثار مخربی دارد و پاسخ به این تغییرات با علائم مختلفی از جمله کلروزه و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخساره همراه است (۲۲). در تأیید نتایج فوق کریستو و همکاران (۷) در توت‌فرنگی و مؤمن‌پور و همکاران در بادام (۱۷) نشان دادند تنش شوری باعث ایجاد علائم نکروزه و صدمه شدید برگ می‌شود. کاربرد غلظت‌های مختلف سولفید هیدروژن سبب کاهش معنی‌دار میزان شاخص خسارت ظاهری شد، به‌گونه‌ای که در تیمار ۹۰ میلی‌مولار شوری کم‌ترین شاخص خسارت ظاهری با محلول‌پاشی ۰/۱ و

مواد مغذی و در نتیجه تنش اسمزی و سمیت می شود (۲۲). نتایج پژوهش حاضر با نتایج زیرگ و همکاران (۳۴) و امیری و بانی نسب (۱) در بادام در شرایط تنش شوری همخوانی دارد. کاربرد سولفید هیدروژن تنها با غلظت ۰/۱ میلی مولار اثر معنی داری بر افزایش محتوای نسبی آب برگ داشت، به گونه ای که منجر به افزایش ۱۰/۶ درصدی میزان محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد (۵۹/۴۳ درصد) شد (جدول ۲). در تأیید نتایج فوق، کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش معنی دار محتوای نسبی آب برگ در گیاه جو (۴) و توت فرنگی (۷) در شرایط تنش شوری شد. همچنین پیش تیمار گیاهان برنج با سولفید هیدروژن در شرایط تنش شوری سبب افزایش ۱۹ درصدی محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد شد که افزایش محتوای نسبی آب برگ سبب حفظ آماس برگ و یکپارچگی غشا سلولی در مقایسه با گیاهان شاهد شد (۱۸). همچنین نتایج بیانگر آن بود که برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت (جدول ۲).

شاخص کلروفیل برگ

با افزایش غلظت کلرید سدیم، شاخص کلروفیل برگ به طور معنی داری کاهش یافت، به طوری که کمترین میزان شاخص کلروفیل برگ در غلظت ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم (۴۸/۸۳) مشاهده شد که سبب کاهش ۹/۸ درصدی میزان شاخص کلروفیل برگ نسبت به تیمار شاهد (۵۴/۱۵) شد (جدول ۲). کاهش شاخص کلروفیل در شرایط تنش شوری ممکن است به دلیل تخریب کلروفیل، کاهش سنتز کلروفیل و پایداری غشا تیلاکوئید و همچنین افزایش فعالیت آنزیم تجزیه کننده کلروفیل (کلروفیلاز) باشد (۸). کاهش شاخص کلروفیل برگ در شرایط تنش شوری توسط رشدی و همکاران (۲۳) در توت فرنگی و مؤمن پور و همکاران (۱۷) در بادام نیز گزارش شده است.

نتایج نشان داد کاربرد غلظت های مختلف سولفید هیدروژن به استثنای تیمار ۰/۰۵ میلی مولار سولفید هیدروژن اثر معنی داری بر افزایش میزان شاخص کلروفیل برگ داشت

شاهد (۵۹/۵۰ سانتی متر) شد (جدول ۱). تنش شوری به دو دلیل مانع رشد گیاه می شود، در مرحله اول منجر به تنش اسمزی شده که سبب کاهش سرعت رشد می شود و در مرحله دوم باعث ایجاد سمیت یونی و کاهش بیش تر رشد می شود (۲۱). به عبارتی کلرید سدیم با تأثیر بر رشد و تقسیم سلولی، باعث کاهش تقسیم سلولی و در نتیجه سبب کاهش رشد در مقایسه با شرایط نرمال می شود (۱۷ و ۲۲). بر اساس گزارش های ره نشان و همکاران (۲۲) در پسته و دژامپور و همکاران (۸) در بادام، با افزایش غلظت کلرید سدیم رشد شاخساره کاهش یافت.

کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش معنی داری طول ساقه شد به گونه ای که بیش ترین طول ساقه مربوط به غلظت ۰/۱ میلی مولار سولفید هیدروژن (۵۲/۰۴ سانتی متر) بود که بدون تفاوت معنی داری با دو غلظت کاربردی دیگر منجر به افزایش ۱۱/۲۴ درصدی ارتفاع گیاه نسبت به تیمار شاهد (۴۶/۷۸ سانتی متر) شد. همچنین برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت های ۳۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم اثر معنی داری بر طول ساقه دانه ها داشت (جدول ۱). در تأیید نتایج این پژوهش کاربرد سولفید هیدروژن در جو (۴) سبب بهبود ارتفاع در شرایط تنش شوری شد. همچنین نتایج پژوهش ها بیانگر آن است که سولفید هیدروژن از طریق کاهش جذب سدیم باعث افزایش رشد در گندم در شرایط تنش شوری شد (۹).

محتوای نسبی آب برگ

مقایسه میانگین ها نشان داد کاربرد کلرید سدیم تنها در غلظت ۹۰ میلی مولار سبب کاهش معنی دار محتوای نسبی آب برگ شد که نسبت به شاهد ۱۲/۱ درصد کاهش نشان داد (جدول ۲). محتوای نسبی آب برگ بیانگر وضعیت آب گیاه است که کاهش آن نشان دهنده تأثیر شوری بر کاهش آماس سلولی و در نتیجه کاهش آب قابل دسترس برای فرایندهای سلولی است به عبارتی افزایش نمک های محلول سبب کند شدن جذب آب و

جدول ۲. اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) و سولفید هیدروژن (H₂S) بر محتوای نسبی آب برگ (RWC)، شاخص کلروفیل (RC)، نشست یونی (EL) و پرولین برگ (Pr) دانهال‌های بادام.

Table 2. Effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) and hydrogen sulfide (H₂S) on the leaf relative water content (RWC), chlorophyll index (CI), electrolyte leakage (EL) and leaf proline (Pr) of almond seedlings.

H ₂ S (mM)	NaCl (mM)				Mean
	0	30	60	90	
RWC (%)					
0	63.99 ^{ab}	63.81 ^{ab}	58.38 ^{b-d}	51.52 ^d	59.43 ^B
0.05	63.70 ^{ab}	62.67 ^{a-c}	60.95 ^{a-d}	53.00 ^{ed}	60.08 ^B
0.1	66.94 ^{ab}	67.50 ^{ab}	66.13 ^{ab}	62.35 ^{a-c}	65.73 ^A
0.15	63.62 ^{ab}	68.93 ^a	63.69 ^{ab}	60.14 ^{a-d}	64.09 ^{AB}
Mean	64.56 ^A	65.73 ^A	62.29 ^A	56.75 ^B	
CI					
0	56.35 ^{ab}	49.45 ^{ef}	46.62 ^{fg}	42.17 ^g	48.65 ^C
0.05	50.07 ^{d-f}	50.62 ^{d-f}	50.92 ^{c-f}	51.52 ^{b-e}	50.78 ^{BC}
0.1	57.75 ^a	55.72 ^{a-c}	54.35 ^{a-d}	49.07 ^{ef}	54.22 ^A
0.15	52.42 ^{b-e}	49.82 ^{d-f}	52.05 ^{b-e}	52.55 ^{b-e}	51.71 ^B
Mean	54.15 ^A	51.40 ^B	50.98 ^{BC}	48.83 ^C	
EL (%)					
0	20.21 ^{hi}	29.74 ^{e-g}	43.02 ^{bc}	53.78 ^a	36.69 ^A
0.05	19.65 ⁱ	24.24 ^{g-i}	34.66 ^{de}	48.50 ^{ab}	31.76 ^B
0.1	23.93 ^{g-i}	22.92 ^{g-i}	27.28 ^{fg}	38.77 ^{cd}	28.22 ^C
0.15	23.06 ^{g-i}	27.10 ^{f-h}	32.95 ^{d-f}	42.85 ^{bc}	31.49 ^{BC}
Mean	21.71 ^D	26.00 ^C	34.48 ^B	45.97 ^A	
Pr (μmol g ⁻¹ FW)					
0	0.71 ^c	0.51 ^c	0.71 ^c	1.69 ^b	0.90 ^B
0.05	0.41 ^c	0.54 ^c	0.69 ^c	1.86 ^b	0.88 ^B
0.1	0.59 ^c	0.44 ^c	0.77 ^c	1.92 ^b	0.93 ^B
0.15	0.18 ^c	0.40 ^c	2.09 ^b	5.57 ^a	2.06 ^A
Mean	0.47 ^C	0.48 ^C	1.06 ^B	2.76 ^A	

در هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each trait, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

سولفید هیدروژن در سیب‌زمینی شیرین سبب محافظت از کلروفیل در برابر تنش اسمزی و در نتیجه ممانعت از کاهش کلروفیل برگ شد. در توت‌فرنگی نیز کاربرد ۰/۲ و ۰/۵ میلی-مولار سولفید هیدروژن به ترتیب سبب افزایش ۲۵/۲۶ و ۳۱/۲۵ درصدی شاخص کلروفیل برگ نسبت به شاهد در شرایط تنش قلیایی شد (۲).

درصد نشست یونی

با افزایش غلظت کلرید سدیم، درصد نشست یونی برگ‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین میزان نشست یونی مربوط به غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (۴۵/۹۷ درصد) بود که سبب افزایش بیش از دو برابری میزان نشست یونی برگ نسبت به تیمار

(جدول ۲). بیش‌ترین میزان شاخص کلروفیل برگ مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار سولفید هیدروژن (۵۴/۲۲) بود که نسبت به شاهد (۴۸/۶۵) ۱۱/۴ درصد افزایش نشان داد (جدول ۲). برهم‌کنش شوری و سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیش‌ترین میزان شاخص کلروفیل برگ در شوری ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به غلظت‌های ۰/۱، ۰/۱ و ۰/۱۵ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود که به ترتیب سبب افزایش ۱۲/۷، ۱۶/۶ و ۲۴/۶ درصدی میزان شاخص کلروفیل برگ نسبت به تیمارهای شاهد مربوط به خود شدند (جدول ۲). پژوهش‌های پیشین نیز نشان داده است پیش‌تیمار ریشه‌های پرتقال با سولفید هیدروژن سبب کاهش آثار منفی تنش خشکی بر محتوای کلروفیل و سرعت فتوسنتز شد (۳۲). ژانگ و همکاران (۳۱) بیان کردند

بانی نسب (۱) در بادام همسو است. بسیاری از گونه‌ها برای محافظت سلول‌ها از آثار ناشی از تنش شوری تولید تنظیم-کننده‌های اسمزی مانند پرولین و قندهای محلول می‌کنند (۲۲)، در بادام نیز پرولین از شاخص‌های مؤثر برای تحمل به شوری محسوب می‌شود (۳۴). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، در حفاظت از پروتئین‌ها و غشا، از بین رفتن رادیکال‌های آزاد، ثبات غشا، تنظیم اسیدپتید سیتوپلاسم و رفع خسارت‌های ناشی از تنش و ذخیره نیتروژن و کربن برای رشد بعد از رهایی از تنش نقش دارد (۸ و ۲۲).

کاربرد سولفید هیدروژن تنها در غلظت ۰/۱۵ میلی‌مولار (۲/۰۶ میکرومول در گرم وزن تازه برگ) اثر معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین داشت که منجر به افزایش ۲/۳ برابری میزان پرولین برگ نسبت به تیمار شاهد (۰/۹ میکرومول در گرم وزن تازه برگ) شد (جدول ۲). برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نشان داد اگرچه در شرایط بدون تنش و ۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ نداشت اما در غلظت‌های بیش‌تر شوری (یعنی ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) کاربرد ۰/۱۵ میلی‌مولار سولفید هیدروژن سبب افزایش به‌ترتیب ۲/۹ و ۳/۳ برابری میزان پرولین نسبت به تیمارهای شاهد مربوط به خود شد (جدول ۲). در تأیید نتایج پژوهش حاضر، پیش‌تیمار ۰/۵ میلی‌مولار سولفید هیدروژن در برموداگراس با تجمع اسمولیت‌ها مانند پرولین سبب افزایش تحمل به تنش‌های شوری، اسمزی و سرما شد (۲۷). همچنین پیش‌تیمار ۰/۵ میلی‌مولار سولفید هیدروژن در گیاه ذرت در شرایط تنش گرمایی سبب بهبود فعالیت ۱-پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) و کاهش فعالیت پرولین دهیدروژناز (ProDH) و منجر به تجمع پرولین درونی شد در نتیجه تحمل گیاهان به تنش گرما را افزایش داد (۱۳).

غلظت سدیم برگ

بررسی نتایج نشان داد با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان سدیم برگ گیاهان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که بیش‌ترین

شاهد (۲۱/۷۱ درصد) شد (جدول ۲). بر اساس گزارش اورایی و همکاران در انگور نیز با افزایش تنش شوری نشت یونی افزایش یافت (۲۰). بررسی نشت یونی به‌منظور کسب اطلاعات بیش‌تر در مورد پایداری غشا و در نتیجه میزان یون‌های نسبی در فضای آپوپلاستی است. آسیب به غشا سلولی سبب افزایش نفوذپذیری غشا شده و تراوش الکتروولیت‌ها از سلول را به‌دنبال دارد (۲۰).

کاربرد غلظت‌های مختلف سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر کاهش میزان نشت یونی برگ‌ها داشت به‌گونه‌ای که کم‌ترین میزان نشت یونی مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار سولفید هیدروژن (۲۸/۲۲ درصد) بود که نسبت به تیمار شاهد (۳۶/۶۹ درصد) کاهش ۲۳/۰۸ درصدی را نشان داد (جدول ۲). برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نیز نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در شوری ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب کاهش معنی‌دار نشت یونی نسبت به تیمار شاهد مربوطه شد که بیش‌ترین کاهش مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌مولار بود (جدول ۲). استفاده از سولفید هیدروژن در گیاه توت‌فرنگی در شرایط تنش شوری با کاهش سنتز نیتریک اکسید و هیدروژن پراکسید سبب کاهش نشت یونی شد (۷). همچنین استفاده از سولفید هیدروژن به وسیله افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون ردوکتاز سبب کاهش رادیکال سوپراکسید و هیدروژن پراکسید شد و بدین طریق سبب حفظ ساختار غشا و کاهش نشت یونی در شرایط تنش سرمایی در موز شد (۱۴).

پرولین برگ

غلظت‌های زیاد کلرید سدیم سبب افزایش معنی‌دار میزان پرولین برگ شد که بیش‌ترین افزایش مربوط به غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (۲/۷۶ میکرومول در گرم وزن تازه برگ) بود که نسبت به شاهد (۰/۴۷ میکرومول در گرم وزن تازه برگ) افزایش ۵/۹ برابری نشان داد (جدول ۲). نتایج فوق با گزارش‌های اورایی و همکاران (۲۰) در انگور و امیری و

جدول ۳. اثر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (NaCl) و سولفید هیدروژن (H₂S) بر غلظت سدیم برگ (Na⁺ SH)، غلظت سدیم ریشه (Na⁺ R)، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و آنزیم پراکسیداز (POD) دانه‌های بادام.

Table 3. Effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) and hydrogen sulfide (H₂S) on the Na⁺ concentration of shoot (Na⁺ SH), Na⁺ concentration of root (Na⁺ R), catalase activity (CAT) and peroxidase activity (POD) of almond seedlings.

H ₂ S (mM)	NaCl (mM)				Mean
	0	30	60	90	
Na ⁺ SH (mg g ⁻¹ DW)					
0	2.35 ^d	4.64 ^{a-c}	4.47 ^{a-c}	5.32 ^{ab}	4.19 ^A
0.05	2.05 ^d	4.07 ^c	4.01 ^c	5.51 ^a	3.91 ^A
0.1	2.01 ^d	3.95 ^c	4.92 ^{a-c}	4.72 ^{a-c}	3.90 ^A
0.15	1.85 ^d	4.35 ^{bc}	3.99 ^c	4.07 ^c	3.57 ^A
Mean	2.07 ^C	4.25 ^B	4.35 ^{AB}	4.90 ^A	
Na ⁺ R (mg g ⁻¹ DW)					
0	1.55 ^f	8.69 ^{de}	13.49 ^{ab}	14.76 ^{ab}	9.62 ^A
0.05	1.75 ^f	9.56 ^d	13.54 ^{ab}	14.87 ^a	9.93 ^A
0.1	1.35 ^f	8.44 ^{de}	11.35 ^c	13.49 ^{ab}	8.65 ^B
0.15	1.60 ^f	7.62 ^e	11.35 ^c	13.34 ^b	8.48 ^B
Mean	1.56 ^D	8.58 ^C	12.43 ^B	14.11 ^A	
CAT (U g FW ⁻¹ min ⁻¹)					
0	0.56 ^c	0.43 ^{c-e}	0.35 ^{c-e}	0.24 ^e	0.40 ^B
0.05	0.57 ^c	0.49 ^{c-e}	0.39 ^{c-e}	0.27 ^{de}	0.43 ^B
0.1	0.54 ^{cd}	0.48 ^{c-e}	1.48 ^b	1.77 ^a	1.07 ^A
0.15	0.50 ^{c-e}	0.50 ^{c-e}	1.69 ^{ab}	1.88 ^a	1.14 ^A
Mean	0.54 ^B	0.47 ^B	0.98 ^A	1.04 ^A	
POD (U g FW ⁻¹ min ⁻¹)					
0	1.74 ^{gh}	2.92 ^{fh}	3.62 ^{d-f}	11.37 ^a	4.91 ^B
0.05	1.31 ^h	3.03 ^{fh}	6.14 ^c	3.31 ^{e-g}	3.45 ^C
0.1	5.03 ^{c-e}	4.03 ^{d-f}	3.73 ^{d-f}	9.97 ^{ab}	5.69 ^{AB}
0.15	5.38 ^{cd}	3.93 ^{d-f}	9.11 ^b	5.26 ^{cd}	5.92 ^A
Mean	3.37 ^C	3.48 ^C	5.65 ^B	7.48 ^A	

در هر صفت، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

In each trait, numbers with similar letters are not significantly different (LSD, $P < 0.05$).

غلظت سدیم ریشه

نتایج نشان داد هرچه بر غلظت کلرید سدیم افزوده شد، میزان سدیم ریشه گیاهان به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که بیش‌ترین میزان سدیم ریشه در ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به‌دست آمد که نسبت به شاهد ۹ برابر افزایش نشان داد (جدول ۳). بر اساس پژوهش‌های پیشین، سدیم و به میزان کم‌تر کلر موجود در آب آبیاری مهم‌ترین عامل سمیت یونی برای پایه-های بادام است (۲۶). غلظت زیاد سدیم سبب اختلال در تعادل اسمزی و ساختار غشا، کاهش رشد و ممانعت از تقسیم سلولی می‌گردد (۱۶ و ۱۹). تنش شوری سبب افزایش سدیم ریشه در گیاهان پسته (۲۲) تحت تنش شوری شد که با نتایج پژوهش حاضر همسو است.

افزایش مربوط به غلظت ۹۰ میلی‌مولار (۴/۹۰) میلی‌گرم در گرم وزن خشک) بود که سبب افزایش ۲/۴ برابری میزان سدیم برگ گیاهان نسبت به تیمار شاهد (۲/۰۷) میلی‌گرم در گرم وزن خشک) شد (جدول ۳). کاربرد سولفید هیدروژن و همچنین برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن تأثیر معنی‌داری بر میزان سدیم برگ دانه‌ها نداشت (جدول ۳). تنش شوری سبب تجمع بیش از حد سدیم در سلول‌های گیاهان شده، که به‌دلیل رقابت منجر به مهار جذب پتاسیم و در نتیجه کمبود پتاسیم می‌شود (۱۲). افزایش غلظت سدیم برگ در شرایط تنش شوری در بادام توسط ساندر و همکاران (۲۶)، زریگ و همکاران (۳۳) و دژامپور و همکاران (۸) نیز گزارش شده است.

معنی داری افزایش یافت که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به تیمار ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم بود که نسبت به شاهد حدود دو برابر افزایش نشان داد (جدول ۳). گیاهانی که در معرض غلظت زیاد کلرید سدیم هستند به دلیل تولید انواع مختلف گونه‌های اکسیژن واکنش گر مانند سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن مستعد تنش اکسیداتیو هستند (۲۱). در این بین به ویژه پراکسید هیدروژن که سرکوب کننده چرخه کلون است باید به سرعت از بین برود. کاتالاز و پراکسیداز دو آنزیم مهم در مقابله با پراکسید هیدروژن هستند (۱۶). در بسیاری از گیاهان از جمله توت فرنگی (۲۳) و بادام (۱۶) افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است.

برای بررسی نقش ضد اکسایشی سولفید هیدروژن، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بررسی شد. نتایج نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز شد که بیشترین افزایش مربوط به تیمار ۰/۱۵ میلی-مولار سولفید هیدروژن (۱/۱۴ واحد بر گرم وزن تازه) بود که سبب افزایش حدود سه برابری آن نسبت به تیمار شاهد (۰/۴۰ واحد بر گرم وزن تازه) شد (جدول ۳). برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت-های زیاد کلرید سدیم (۶۰ و ۹۰ میلی مولار) تأثیر معنی داری بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز دارد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در سطوح شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار مربوط به تیمار ۰/۱۵ میلی مولار سولفید هیدروژن بود که سبب افزایش به ترتیب حدود ۵ و ۸ برابری فعالیت آنزیم نسبت به تیمارهای شاهد مربوطه شدند (جدول ۳). پیش تیمار گیاهان برنج با سولفید هیدروژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز سبب کاهش ۲۷ درصدی فعالیت پراکسید هیدروژن، ۲۸ درصدی فعالیت لیپواکسیژناز و ۳۴ درصدی سطح مالون‌دی‌آلدئید شد و در نتیجه سبب محافظت گیاه از تنش اکسیداتیو ناشی از کلرید سدیم شد (۱۸). همچنین کاربرد سولفید هیدروژن در گیاهچه‌های گندم تحت تنش شوری میزان

کاربرد سولفید هیدروژن سبب کاهش معنی داری میزان سدیم ریشه شد که کمترین میزان سدیم ریشه مربوط به کاربرد ۰/۱۵ میلی مولار سولفید هیدروژن (۸/۴۸ میلی گرم در گرم وزن خشک) بود که سبب کاهش ۱۱/۸۵ درصدی میزان سدیم ریشه نسبت به تیمار شاهد (۹/۶۲ میلی گرم در گرم وزن خشک) شد. کنترل جذب سدیم از طریق ریشه‌ها یکی از مهم‌ترین مکانیزم-های تحمل به شوری در گیاهان است (۱۸). تجمع ترجیحی یون سدیم و نگهداری آن در ریشه‌ها در مقایسه با اندام هوایی ممکن است سبب حفظ پتانسیل لازم برای جذب اسمزی آب به درون ریشه‌ها و همچنین محدود کردن انتشار یون سدیم به اندام هوایی شود و در نتیجه آثار منفی آن بر رشد شاخساره به حداقل می‌رسد (۱۹ و ۲۲). سولفید هیدروژن با حفظ یکپارچگی غشا پلاسمایی به طور قابل توجهی از جذب سدیم جلوگیری می‌کند در حالی که جذب پتاسیم را افزایش می‌دهد در نتیجه سبب افزایش نسبت پتاسیم به سدیم می‌شود (۱۸). کاهش تجمع سدیم در گیاهان تیمار شده با سولفید هیدروژن در شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل کاهش جذب سدیم یا خروج سدیم یا ترکیبی از هر دو مکانیسم باشد. به عنوان مثال پیش تیمار گیاه گندم در شرایط تنش شوری با سولفید هیدروژن سبب افزایش دفع سدیم و کاهش جذب سدیم از طریق پروتئین‌های ناقل غشا مانند NSCCs و SOS1 شد و سبب کاهش غلظت سدیم در ریشه و شاخه و کاهش نسبت سدیم به پتاسیم شد اما بر غلظت پتاسیم تأثیری نداشت (۹). در خیار کاربرد سولفید هیدروژن سبب مهار جذب سدیم و بهبود جذب پتاسیم و در نتیجه کاهش نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و برگ گیاهان تحت تنش شوری شد (۱۲). کریستو و همکاران (۷) نشان دادند که سولفید هیدروژن با تنظیم بیان ژن‌های مسیر SOS سبب حفظ تعادل سدیم و پتاسیم در گیاهان توت فرنگی تحت تنش شوری می‌شود.

فعالیت آنزیم کاتالاز

با افزایش غلظت کلرید سدیم، فعالیت آنزیم کاتالاز به طور

هیدروژن با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز سبب کاهش نشت یونی و آسیب به غشا سلولی شد. در خیار کاربرد سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند کاتالاز و پراکسیداز سبب کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در شرایط تنش شوری شد (۱۲). وانگ و همکاران (۳۰) گزارش کردند که سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز سبب کاهش آسیب اکسیداتیو در شرایط تنش شوری در یونجه می‌شود. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که کاربرد سولفید هیدروژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی در حفاظت گیاه در برابر صدمات اکسیداتیو نقش دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد تنش شوری تأثیر منفی بر تمامی صفات مورد ارزیابی داشت درحالی که محلول‌پاشی سولفید هیدروژن در مرحله ۶-۵ برگی دانه‌ها با افزایش میزان پرولین و فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی سبب بهبود رشد، افزایش کلروفیل نسبی و همچنین کاهش نشت یونی، شاخص خسارت ظاهری و غلظت سدیم ریشه شد که بدین طریق آثار سوء ناشی از تنش شوری بر پایه بادام تلخ را کاهش داد و مناسب‌ترین غلظت مربوط به ۱/۰ و ۱۵/۰ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود.

فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی مانند سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز را به ترتیب ۱۴/۲، ۱۲/۳ و ۸/۳ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (۱۰).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

افزایش غلظت کلرید سدیم سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که بیش‌ترین آن مربوط به ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که نسبت به شاهد بیش از ۲ برابر افزایش نشان داد (جدول ۳). بر اساس نتایج حاصله کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به تیمار ۵/۰ میلی‌مولار سولفید هیدروژن (۳/۴۵ واحد بر گرم وزن تازه) و بیش‌ترین آن مربوط به تیمار ۱۵/۰ میلی‌مولار سولفید هیدروژن (۵/۹۲ واحد بر گرم وزن تازه) بود (جدول ۳). برهمکنش شوری و سولفید هیدروژن نیز نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت ۹۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز شد ولی در غلظت ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تأثیر معنی‌دار بر افزایش فعالیت آنزیم مربوطه داشت که بیش‌ترین میزان فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز در شوری ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به تیمار ۱۵/۰ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود که افزایش ۲/۵ برابری نسبت به تیمار شاهد مربوطه نشان داد (جدول ۳). کاربرد سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی و کاهش آسیب غشا در حفظ یکپارچگی غشا سلولی نقش دارد (۲). در این پژوهش نیز کاربرد سولفید

منابع مورد استفاده

1. Amiri, A., Baninasab, B., 2016. Evaluation of the effects of paclobutrazol on increasing salinity tolerance in peach-almond hybrid vegetative rootstock (GF677). *Journal of Horticultural Science* 30(2): 260-269. (in Persian)
2. Bahmanbiglo, F.A., Eshghi, S., 2021. The effect of hydrogen sulfide on growth, yield and biochemical responses of strawberry (*Fragaria× ananassa* cv. Paros) leaves under alkalinity stress. *Scientia Horticulturae* 282: 110013.
3. Bates, L., Waldren, R., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39(1): 205-207.
4. Chen, J., Wang, W., Wu, F., He, E., Liu, X., Shanguan, Z., Zheng, H., 2015. Hydrogen sulfide enhances salt tolerance through nitric oxide-mediated maintenance of ion homeostasis in barleys seedling roots. *Scientific Reports* 5(1): 1-19.
5. Cherki, G. H., Foursy, A., Fares, K., 2002. Effects of salt stress on growth inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 47(1): 39-50.
6. Christou, A., Filippou, P., Manganaris, G., Fotopoulos, V., 2014. Hydrogen sulfide induces systemic

- thermotolerance to strawberry plants through transcriptional regulation of heat shock proteins and aquaporin. *BMC Plant Biology* 42(1): 1–11.
7. Christou, A., Manganaris, G. A., Papadopoulos, I., Fotopoulos, V., 2013. Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defense pathways. *Journal of Experimental Botany* 64(7): 1953–1966.
 8. Dejampour, J., Aliasgarzad, N., Zeinalabedini, M., Niya, M.R., Hervean, E.M., 2012. Evaluation of salt tolerance in almond [*Prunus dulcis* (L.) Batsch] rootstocks. *African Journal of Biotechnology* 11(56): 11907–11912.
 9. Deng, Y., Bao, J., Yuan, F., Liang, X., Feng, Z., Wang, B., 2016. Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress in wheat seedlings by decreasing Na⁺ content. *Plant Growth Regulation* 79(3): 391–399.
 10. Ding, H., Ma, D., Huang, X., Hou, J., Wang, C., Xie, Y., Wang, Y., Qin, H., Guo, T., 2019. Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress by improving antioxidant defenses and the salt overly sensitive pathway in wheat seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* 41(7): 1–11.
 11. Grattana, S. R., Grieveb, C. M., 1999. Salinity – mineral nutrient relations in horticultural crop. *Scientia Horticulturae* 78(1): 127–157.
 12. Jiang, J.L., Tian, Y., Li, L., Yu, M., Hou, R.P., Ren, X.M., 2019. H₂S alleviates salinity stress in cucumber by maintaining the Na⁺/K⁺ balance and regulating H₂S metabolism and oxidative stress response. *Frontiers in Plant Science* 28: 10–6781.
 13. Li, Z., Ding, X., Du, P., 2013. Hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide-improved heat tolerance in maize and involvement of proline. *Journal of Plant Physiology* 170(8): 741–747.
 14. Luo, Z., Li, D., Du, R., Mou, W., 2015. Hydrogen sulfide alleviates chilling injury of banana fruit by enhanced antioxidant system and proline content. *Scientia Horticulturae* 183(12): 144–151.
 15. Lutts, S., Kinet, J. M., Bouharmon, J., 1996. NaCl-induced senescence in leave of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78(3): 389–398.
 16. Mohammadi, H., Imani, A., Abdossi, V., Asghari, M., Talaei, A., 2020. Effects of salicylic acid application on two almond cultivars under salinity stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 85(4): 325–334.
 17. Momenpour, A., Imani, A., Bakhshi, D., Akbarpour, E., 2018. Evaluation of salinity tolerance of some selected almond genotypes budded on GF677 rootstock. *International Journal of Fruit Science* 18(4): 410–435.
 18. Mostofa, M. G., Saegusa, D., Fujita, M., Tran, L., 2015. Hydrogen sulfide regulates salt tolerance in rice by maintaining Na⁺/K⁺ balance, mineral homeostasis and oxidative metabolism under excessive salt stress. *Frontiers in Plant Science* 21(6): 1055–1060.
 19. Munns, R., M. Tester., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–681.
 20. Oraei, M., Gohari, G., Panahirad, S., Zareei, E., Zaare-Nahandi, F., 2019. Effect of salicylic acid foliar application on *Vitis vinifera* L. cv. ‘Sultana’ under salinity stress. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus* 18(2): 159–169.
 21. Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22(6): 4056–4075.
 22. Rahneshan, Z., Nasibi, F., Moghadam, A.A., 2018. Effects of salinity stress on some growth, physiological, biochemical parameters and nutrients in two pistachio (*Pistacia vera* L.) rootstocks. *Journal of Plant Interactions* 13(1): 73–82.
 23. Roshdy, A.E.D., Alebidi, A., Almutairi, K., Al-Obeed, R., Elsabagh, A., 2021. The effect of salicylic acid on the performances of salt stressed strawberry plants, enzymes activity, and salt tolerance index. *Agronomy* 11(4): 771–775.
 24. Rubio-Cabetas. M. J., 2016. Almond rootstocks: overview. *Options Mediterraneennes* 119(1): 133–143.
 25. Sairam, R. K., Saxena, D. C., 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184(1): 55–61.
 26. Sandhu, D., Kaundal, A., Acharya, B.R., Forest, T., Pudusser, M.V., Liu, X., Ferreira, J.F., Suarez, D.L., 2020. Linking diverse salinity responses of 14 almond rootstocks with physiological, biochemical, and genetic determinants. *Scientific Reports* 10(1): 1–13.
 27. Shi, H., Ye, T., Chan, Z., 2013. Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L). Pers.). *Plant Physiology and Biochemistry* 71: 226–234.
 28. Sorkheh, K., Shiran, B., Asadi, E., Jahanbazi, H., Moradi, H., Grabziel, T. M., Martinez-Gómez, P., 2009. Phenotypic diversity within native Iranian almond (*Prunus* spp.) species and their breeding potential. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56(7): 947–961.
 29. Wang, R. U. I., 2002. Two's company, three's a crowd: can H₂S be the third endogenous gaseous transmitter. *The FASEB Journal* 16(13): 1792–1798.
 30. Wang, Y. Q., Li, L., Cui, W. T., Xu, S., Shen, W. B., Wang, R., 2012. Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant and Soil* 351(1): 107–119.
 31. Zhang, H., Ye, Y. K., Wang, S. H., Luo, J. P., Tang, J., Ma, D. F. 2009. Hydrogen sulfide counteracts chlorophyll

- loss in sweet potato seedling leaves and alleviates oxidative damage against osmotic stress. *Plant Growth Regulation* 58(3): 243–250.
32. Ziogas, V., Tanou, G., Belghazi, M., Filippou, P., Fotopoulos, V., Grigorios, D., Molassiotis, A., 2015. Roles of sodium hydrosulfide and sodium nitroprusside as priming molecules during drought acclimation in citrus plants. *Plant Molecular Biology* 89(4): 433–450.
33. Zrig, A., Mohamed, H.B., Tounekti, T., Ennajeh, M., Valero, D., Khemira, H., 2018. A comparative study of salt tolerance of three almond rootstocks: Contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment. *Journal of Agricultural Science and Technology* 17: 675–689.
34. Zrig, A., Mohamed, H.B., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valero, D., Vadel, A.M., 2016. Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany* 102: 50–59.



Alleviation of Salinity Effect on Almond by Foliar Spray of Hydrogen Sulfide

L. Cheheltanan¹, B. Baninasab* and M. Gholami

(Received: 30 November 2021; Accepted: 23 January 2022)

Abstract

Salinity is one of the most important abiotic stresses that severely affect the yield and quality of plants. The use of hydrogen sulfide in low concentrations increases tolerance to various stresses, including salinity in plants. This study aimed to investigate the effect of hydrogen sulfide (H₂S) on reducing the damage to almond rootstock under salinity stress. The experiment was performed as a factorial based on a completely randomized design with four replications. The treatments included four levels of salinity (0, 30, 60 and 90 mM NaCl) and four concentrations of H₂S (0, 0.05, 0.10 and 0.15 mM). Results showed that salinity stress, especially at a concentration of 90 mM NaCl caused a significant decrease in stem height, relative chlorophyll and leaf relative water content and a significant increase in injury rating value, electrolyte leakage, proline and sodium concentrations of root and shoot, activities of catalase and peroxidase of leaf. However, H₂S at concentrations of 0.10 and 0.15 mM improved plant growth with a decrease in electrolyte leakage and sodium concentration of root, and a significant increase in proline, relative chlorophyll and antioxidant enzyme activity ameliorated the negative effect of salinity stress and improved plant growth.

Keywords: Almond, Antioxidant enzyme, Hydrogen sulfide, Proline, Sodium chloride.

Background and Objective: Currently, about a third of the world's land is facing salinity problems, which are expected to increase in the future (4, 5). Almond (*Prunus amygdalus*) is classified as a salt-sensitive plant and in recent years its production has reduced due to drought and low quality of irrigation water (3). The use of growth regulators and various chemicals is a short-term solution against salinity stress. Hydrogen sulfide (H₂S) is a colorless, highly soluble, flammable gas that is known to be a cell-signaling molecule involved in growth and development in higher plants (1). The role of H₂S in the defense mechanisms of plants under abiotic stresses indicates that this compound may also reduce the salinity stress in plants (2).

Methods: Almond seeds were prepared and after scratching and meeting the cold need were planted in 7 kg pots containing a mixture of soil, sand and perlite in a ratio of 1: 1: 1 by volume. H₂S was prepared at concentrations of 0, 0.05, 0.1 and 0.15 mM and sprayed on the shoots of seedlings in two stages, including 30 days after sowing seeds and 7 days after the first foliar application. One week after the second stage of H₂S foliar application, salinity stress was applied at four levels (0, 30, 60 and 90 mM sodium chloride) for 60 days. Then ion leakage, leaf and root sodium concentrations, proline and catalase and peroxidase activity were measured. The experimental layout was a 4×4 factorial in a complete randomized design with four

1- Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

*: Corresponding author, Email: bbanin@iut.ac.ir

replications. Data analysis was performed by SAS software and the comparison of treatment means was performed using the least significant difference (LSD) test.

Results: Results showed that salinity stress reduced vegetative growth traits such as stem length and increased injury rating value in almond seedlings. Application of H₂S ameliorated the adverse effects of injury caused by salt stress. Increasing NaCl concentration caused increasing ion leakage and proline content and reducing relative chlorophyll content and relative water content in almond leaves. Application of H₂S especially at the higher concentrations significantly increased proline content. H₂S ameliorated the injury caused by salt stress through preventing increased ion leakage and inhibiting decreases in relative chlorophyll and relative water content. NaCl also caused the accumulation of Na⁺ ion in the leaves and roots of almond seedlings. However, application of H₂S reduced Na⁺ in almond seedlings. NaCl increased activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidase in leaves. H₂S application especially at the higher concentrations significantly increased the activity of catalase and peroxidase compared with control.

Conclusions: Results of the present study showed that salinity stress had a negative effect on all the traits evaluated, while the use of H₂S with increasing proline and antioxidant enzyme activity improved growth, increased relative chlorophyll and reduced ion leakage, injury rating value and root sodium concentration and thus reduced the effects of salinity stress on almonds. The most effective concentrations of H₂S were 0.1 and 0.15 mM.

References:

1. Christou, A., Manganaris, G. A., Papadopoulos, I., Fotopoulos, V., 2013. Hydrogen sulfide induces systemic tolerance to salinity and non-ionic osmotic stress in strawberry plants through modification of reactive species biosynthesis and transcriptional regulation of multiple defense pathways. *Journal of Experimental Botany* 64(7): 1953–1966.
2. Deng, Y., Bao, J., Yuan, F., Liang, X., Feng, Z., Wang, B., 2016. Exogenous hydrogen sulfide alleviates salt stress in wheat seedlings by decreasing Na⁺ content. *Plant Growth Regulation* 79(3): 391–399.
3. Grattana, S. R., Grieveb, C. M., 1999. Salinity – mineral nutrient relations in horticultural crop. *Scientia Horticulturae* 78(1): 127–157.
4. Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22(6): 4056–4075.
5. Sandhu, D., Kaundal, A., Acharya, B.R., Forest, T., Pudussery, M.V., Liu, X., Ferreira, J.F., Suarez, D.L., 2020. Linking diverse salinity responses of 14 almond rootstocks with physiological, biochemical, and genetic determinants. *Scientific Reports* 10(1): 1–13.