اثر سولفید هیدروژن بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل شوری در دانهال‌های پسته بادامی ریز زرند

پروانه یادگاری[۱]، مهدیه غلامی[۲*]، بهرام بانی نسب[۳]

تاریخ ارسال: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۱۹

چکیده

با وجود اینکه پسته (*Pistacia vera* L.) به عنوان یک گیاه متحمل به شوری دسته‌بندی شده، در سال‌های اخیر به دلیل خشکسالی و کیفیت پایین آب آبیاری تولید آن با مشکل روبه‌رو شده است. نقش سولفید هیدروژن در مکانیزم‌های دفاعی گیاهان تحت تنش‌های غیر زنده نشان می‌دهد که این ترکیب می‌تواند تنش شوری را در گیاهان کاهش دهد. بنابراین آزمایشی گلخانه‌ای برای سنجش اثر سولفید هیدروژن بر کاهش مضرات شوری بر دانهال‌های پسته طراحی شد. تیمارها شامل چهار سطح شوری (۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) و چهار غلظت سولفید هیدروژن (۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه در دانهال‌های پسته شد. افزایش غلظت کلرید سدیم میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول را افزایش و محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل برگ را کاهش داد. کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش پرولین، محتوای نسبی آب و میزان کلروفیل برگ در مقایسه با شاهد شد. کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت ۱/۲ میلی‌مولار همچنین سبب افزایش کربوهیدرات‌های محلول در برگ دانهال‌های پسته تحت تنش شوری شد. گرچه با افزایش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ دانهال‌های مقاوم به شوری پسته افزایش یافت، ولی کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی نسبت به شاهد شد. در کل، کاربرد سولفید هیدروژن با جلوگیری از کاهش کلروفیل و محتوای آب نسبی برگ و افزایش میزان کربوهیدرات‌ها و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی اثرات منفی ناشی از تنش شوری را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزیستی، کیفیت آب، کلرید سدیم، مولکول‌های سیگنالی

[۱] دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

[*] نویسنده مسئول: mah.gholami@iut.ac.ir

[۳] استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

پسته یکی از مهم‌ترین محصولات باغی است که با نام ایران درآمیخته و تولید آن در کشور سابقه تاریخی و طولانی دارد. پسته به عنوان یک محصول استراتژیک جایگاه خاصی در تولیدات کشاورزی دارد و بخش عمده‌ای از صادرات غیر نفتی را تشکیل می‌دهد. این محصول پس از نفت و صنایع دستی، سومین کالای صادراتی کشور است. سازگاری این محصول با شرایط نامساعد محیطی ازجمله شوری آب و خاک، مقاومت به خشکی و کم‌آبی سبب شد تا جایگاه ویژه‌ای در مناطقی که دارای شرایط نامناسب کشت برای سایر محصولات هستند، پیدا نماید و این امر از نظر اقتصادی در این مناطق اهمیت خاصی دارد. در سالهای اخیر در کشور به دلیل خشکسالی و کاهش کیفیت آب آبیاری تولید پسته نیز با مشکل روبرو شده است (Fekri *et al.*, 2015).

تنش‌های غیرزنده شامل شوری، خشکی، گرما و سرما به صورت چشم‌گیری بر رشد گیاه اثر می‌گذارند و تولید محصول را در سراسر جهان محدود می‌کنند. شوری یکی از عمده‌ترین تنش‌های غیرزنده است که به‌صورت مخربی تولید و کیفیت گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. با گرم‌شدن جهانی اقلیم، وقوع تنش‌های غیرزیستی غیرقابل اجتناب‌تر می‌شود. شوری یکی از محدودیت‌های عمده تولیدات کشاورزی و عامل کاهش ۱۰ تا ۵۰ درصدی عملکرد محصولات در سطح جهان است (Khan *et al.*, 2023). تنش شوری می‌تواند بر تمام جنبه‌های رشد و نمو گیاه و متابولیسم‌های آن از قبیل جوانه‌زنی، رشد، فتوسنتز، بیان ژن‌ها و تجمع متابولیت‌ها اثر بگذارد. سطوح بالای سدیم می‌تواند بر فعالیت آنزیم‌ها اثر منفی داشته باشد، فتوسنتز را کاهش دهد، منجر به تولید انواع اکسیژن فعال شود، عملکرد غشا را مختل سازد، رشد را کاهش دهد و باعث عدم تعادل اسمزی شود. تنش شوری می‌تواند از دو طریق گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد: ۱) توانایی جذب آب از خاک را کاهش دهد که این اثر را اثر اسمزی یا اثر کمبود آب می‌گویند. ۲) یون‌های سدیم و کلر ممکن است وارد گیاه شوند و به طور منفی سلول‌ها و فعالیت‌های آنها را تحت تأثیر قرار دهند که این اثر را اثر ویژه نمک یا اثر سمیت یونی می‌نامند (Munns, 2005). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در زمان تنش شوری در گیاه اتفاق می‌افتد تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن به دنبال بسته شدن روزنه و کاهش فتوسنتز است که می‌تواند موجب آسیب به DNA، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و پراکسیداسیون چربی‌ها، مختل شدن فعالیت غشا و کاهش رشد شود. برای کنترل میزان رادیکال‌های آزاد، سیستم سنتز ضد اکسایشی آنزیمی و غیرآنزیمی توسعه یافته است. سیستم دفاع ضداکسایشی در گیاه شامل دو گروه می‌باشند. گروه اول آنزیم‌های سوپراکسیداز دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز و گروه دوم ترکیبات ضداکسایشی غیر آنزیمی مانند گلوتاتیون احیا و آسکوربات را شامل می‌شود (Zia-ur-Rehman *et al.*, 2023).

سولفید هیدروژن می‌تواند به‌عنوان یک مولکول سیگنالی در تعدادی از فرآیندهای بیولوژیکی گیاهان و یا بهبود سیستم دفاعی در برابر تنش‌های غیرزنده مطرح

باشد. در کلم بروکلی، کاربرد سولفید هیدروژن تحت تنش شوری به صورت معنی‌داری سبب کاهش تجمع هیدروژن پراکسید و سدیم در برگ‌ها شد. همچنین این ترکیب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در کلم بروکلی شد (Shalaby *et al.*, 2023). در مطالعه‌ای دیگر، کاربرد سولفید هیدروژن تحت تنش‌های چندگانه (اسمزی، شوری و سرما) در گیاه برموداگراس، آسیب‌های ناشی از واکنش گونه‌های اکسیژن فعال به سلول را کاهش داد و سبب تعدیل متابولیسم آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند کاتالاز، سوپراکسیداز دیسموتاز، پراکسیداز وگایاکول ردوکتاز شد (Shi *et al.*, 2013). در دانهال‌های گوجه‌فرنگی نیز کاربرد سولفید هیدروژن به صورت معنی‌داری سبب حفظ تعادل یونی و عدم تخریب کلروفیل تحت شرایط تنش شوری شد (Raju and Prasad, 2023). در دانهال‌های جو، غلظت‌های پایین سولفید هیدروژن به‌طور معنی‌داری سبب کاهش اثر کلرید سدیم بر رشد گیاه و همچنین باعث کاهش نسبت سدیم به پتاسیم از طریق کاهش خروج پتاسیم و افزایش بیان ژن‌های مربوط به کانال پتاسیم و سیستم جذب پتاسیم شد (Chen *et al.*, 2015). باوجود گزارش‌های موجود در خصوص کارایی سولفید هیدروژن در کاهش خسارات تنش، با این‌حال کارایی و نقش سولفید هیدروژن در شرایط تنش شوری در درختان میوه کمتر مورد توجه قرارگرفته است. این پژوهش با هدف الف) بررسی اثرات فیزیولوژیکی تنش شوری در پسته رقم بادامی ریز زرند و ب) بررسی نقش و کارایی سولفید هیدروژن بر رشد و بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهان پسته در شرایط تنش شوری طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

نحوه اجرای آزمایش

بذرهای پسته رقم بادامی ریز زرند از مرکز تحقیقات پسته در کرمان تهیه شد. بذرها ابتدا به مدت ۴۸ ساعت در آب غوطه‌ور و سپس به مدت ۱۵ دقیقه توسط قارچ‌کش تیرام با نسبت یک در هزار ضدعفونی و به کیسه‌های پلاستیکی حاوی ماسه مرطوب منتقل شدند. بذور به مدت ۲۰ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری و سپس در گلدان‌های ۷ کیلوگرمی حاوی ماسه شسته شده در گلخانه آموزشی-پژوهشی و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه کشاورزی صنعتی اصفهان کاشته شدند. در طول مدت آزمایش تمام گیاهان با محلول حاصل از کود تجاری فلورال تغذیه شدند (mineral N, P, K, and microelements; Cifo SpA, Bologna, Italy). دمای کمینه و بیشینه در طول دوره آزمایش به ترتیب ۱۸ و ۲۴ درجه سلسیوس بود. گیاهان پس از استقرار و در مرحله ۶ تا ۵ برگ حقیقی تیمار سولفید هیدروژن را دریافت نمودند. جهت تامین سولفید هیدروژن از ترکیب سدیم هیدروژن سولفات ساخت شرکت Sigma Aldrich استفاده شد. تیمارهای سولفید هیدروژن شامل محلول‌پاشی غلظت‌های ۰، ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ میلی مولار بر روی برگ‌ها بود. تیمار سولفید هیدروژن در چهار مرحله

(۲۴ ساعت قبل از تیمار شوری و روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ تنش شوری) به صورت محلول‌پاشی اعمال شد.

برای تهیه محلول‌های شوری از نمک کلرید سدیم با درجه خلوص ۹۹/۵ درصد (Merck) استفاده شد. محلول‌هایی با غلظت ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار که به ترتیب هدایت الکتریکی [۰/۲۷، ۴/۱، ۸/۱۶ و ۱۰/۸۵] دسی زیمنس بر متر داشتند، تهیه شد. تیمار شوری ۳ بار در هفته به میزان ۳۰۰ میلی‌لیتر به ازای هر گلدان تا پایان آزمایش اعمال شد. به منظور جلوگیری از وارد آمدن شوک ناگهانی به گیاهان غلظت‌های مختلف نمک به تدریج در چند نوبت اعمال شد. آبیاری با آب حاوی نمک به گونه‌ای بود که حدود یک سوم آب از طریق زهکش گلدان خارج گردد تا از تجمع نمک در گلدان جلوگیری شود . آزمایش به صورت فاکتوریل (۴×۴) در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار و هر تکرار سه گیاه انجام شد.

۲۸ روز پس از اعمال تیمارهای شوری و به دنبال مشاهده علامت کلروز بر روی گیاهان تیمار شوری که با سولفید هیدوژن محلول‌پاشی نشده بودند (شاهد)، گیاهان برداشت شدند و ابتدا صفات رشدی شامل وزن تر و خشک گیاه و سپس سایر فاکتورها شامل شاخص کلروفیل، فلورسنس کلروفیل، میزان آب نسبی برگ، میزان پرولین برگ، میزان کربوهیدرات‌های برگ، فعالیت آنزیمهای ضد اکسایشی شامل آسکوربات-پراکسیداز و کاتالاز، مقدار عناصر برگ و میزان پروتئین برگ مورد بررسی قرار گرفت.

وزن خشک گیاه

به منظور تعیین وزن خشک اندام هوایی و ریشه، گیاهان با دقت از خاک خارج و ریشه از شاخساره جدا شد و به منظور حذف هر گونه بقایای خاک با آب شسته شدند. شاخساره و ریشه به مدت 72 ساعت در آون، در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و سپس توزین شدند.

شاخص کلروفیل

کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌سنج (مدل Cl hansateach-10 InstrumentsLTD ساخت انگلستان) در پایان دوره آزمایش و در برگهای گره سوم تا ششم اندازه‌گیری شد. بدین منظور از سه برگ مختلف هر دانهال سه قرائت و در مجموع ۹ قرائت در هر تکرار انجام و سپس میانگین آن ثبت شد.

محتوای آب نسبی برگ

از هر تکرار سه برگ بالغ جدا و از آن‌ها دیسک‌هایی به قطر ۱ سانتی‌متر تهیه شد. وزن تر به وسیله ترازوی دیجیتال وزن گردید (FW). سپس نمونه‌ها ۲۴ ساعت در آب دو بار تقطیر قرار داده شدند به طوری که آب تمام سطح آنها را فرا بگیرد و دوباره توزین شدند (TW). در نهایت نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون ۸۰ درجه سلسیوس جهت به‌دست آوردن وزن خشک (DW) قرار داده شدند (Wasaya et al., 2021). محتوای آب نسبی برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\text{RWC (\%)} = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

غلظت پرولین برگ

برای سنجش میزان پرولین برگ، ۰/۲ گرم برگ پسته در نیتروژن مایع پودر و سپس ۱۰ میلی‌لیتر

سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن ۲ میلی‌لیتر از عصاره آماده شده با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک‌اسید مخلوط شد. مخلوط به مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از آن به منظور خاتمه واکنش، بلافاصله در یخ قرار گرفتند. پس از آن، ۴ میلی‌لیتر تولوئن به هر نمونه اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. مقدار جذب فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) قرائت گردید (Bates *et al.*, 1973).

اندازه گیری غلظت سدیم و پتاسیم برگ

به منظور اندازه‌گیری غلظت برخی عناصر در برگ از روش خاکستر خشک استفاده شد. بدین منظور برگ‌ها در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس خشک و سپس پودر شدند. در ادامه ۰/۱ گرم از نمونه‌ها توزین و در کروزه چینی قرار گرفت و به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس در کوره الکتریکی قرار داده شد تا به خاکستر تبدیل شود. به خاکستر حاصل ۱۰ میلی‌لیتر کلریک‌اسید ۲ نرمال اضافه و بر روی هیتر در دمای ۲۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا زمانی که بخار سفید رنگ از آن متصاعد شود و سپس محلول باقی‌مانده از فیلتر عبور داده و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت غلظت عناصر سدیم و پتاسیم برگ در محلول حاصل با استفاده از دستگاه شعله سنج (PEP7, Jenway Co., Dunmow, UK) قرائت شد (Bagheri *et al.*, 2021).

اندازه‌گیری غلظت کربوهیدرات محلول برگ

جهت اندازه گیری کربوهیدرات محلول برگ از معرف آنترون استفاده شد (Costa *et al.*, 2013). به این منظور ۰/۲ گرم نمونه برگ منجمد شده با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی له شد. محلول رویی از عصاره بدست آمده جمع‌آوری شد و عملیات استخراج بر روی رسوبات باقیمانده طی دو مرحله شستشو با اتانول ۷۰ درصد ادامه یافت .عصاره الکلی جمع‌آوری و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و سرعت ۳۵۰۰ دور سانتریفیوژ گردید و تا زمان تعیین قندهای محلول درون لوله آزمایش درپوشدار در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه-داری شدند. به منظور تعیین کربوهیدرات، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه شده به لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون تازه (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون خالص در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد) به آن اضافه شد. سپس لوله‌های آزمایش ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌های آزمایش، جذب نمونه‌ها در طول موج ۹۲۵ نانومتر با دستگاه طیف سنج مرئی (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) قرائت گردید.

آنزیم‌های ضد اکسایشی

برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های ضد اکسایشی، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ جوان دانهال در ازت مایع پودر و سپس با ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج به طور کامل همگن شد. بافر استخراج از پلی وینیل پیرولیدن، تریتون X۱۰۰ نیم درصد و بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار

(pH ۷/۸) تشکیل شده بود. عصاره حاصل با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (Zhang *et al.*, 2020). با ردیابی اسپکتروفتومتری (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan)، در طول موج ۲۴۰ نانومتر و طول مدت یک دقیقه، فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد (Aebi, 1984). برای این منظور ۲/۹۵ میلی‌لیتر بافر واکنش (فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 7) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار) با ۰/۰۵ میلی‌لیتر از عصاره آنزیم مخلوط شد (حجم کل نهایی بافر واکنش ۳ میلی‌لیتر بود).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت اسپکتروفتومتری با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر در مدت زمان ۳۰ ثانیه تخمین زده شد (Nakano and Asada, 1981). برای شروع واکنش ۳ میلی‌لیتر بافر واکنش (فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH ۷)، پراکسید هیدروژن ۰/۵ میلی‌مولار و محلول آسکوربات ۵ میلی‌مولار) با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی مخلوط گردید.

برای تعیین مقدار پروتئین برگ، ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاه جذب عصاره در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی به صورت واحد بر میلی گرم پروتئین محاسبه و گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها توسط نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه

چنانچه جدول مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد با افزایش غلظت کلرید سدیم، وزن خشک اندام هوایی به طور معنی‌داری کاهش یافت. کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب کاهش ۳۵/۷۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۱). نتایج همچنین بیانگر این بود که بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار ۰/۸ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود که سبب افزایش ۲۱/۴۲درصدی نسبت به تیمار شاهد شد. اثر متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیشترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار شاهد همراه با کاربرد ۰/۴ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود (جدول ۱).

کمترین وزن خشک ریشه مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب کاهش ۲۶/۵۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۲). نتایج همچنین بیانگر این بود که بیشترین میزان وزن خشک ریشه مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود که سبب افزایش ۵۴/۵۴ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد.

اثرهای متقابل شوری وکاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار شاهد و غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به کاربرد سولفید هیدروژن به میزان ۱/۲ میلی‌مولار بود (جدول ۲).

جدول ۱- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر وزن خشک (گرم) اندام هوایی دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۰/۸۸ b-d	۱/۰۹ a	۰/۹۹ ab	۰/۹۵ ab	۰/۹۸ A
۴۰	۰/۸۳ b-e	۰/۷۴ c-g	۰/۸۱ b-f	۰/۶۷ e-h	۰/۷۰ B
۸۰	۰/۵۷ gh	۰/۶۲ f-h	۰/۷۰ d-g	۰/۶۳ f-h	۰/۷۴ B
۱۲۰	۰/۵۰ h	۰/۶۳ f-h	۰/۹۰ bc	۰/۹۳ ab	۰/۶۳ C
میانگین	۰/۷۰ B	۰/۷۷ AB	۰/۸۵ A	۰/۸۰ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

جدول ۲- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر وزن خشک (گرم) ریشه دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۰/۷۳ bd	۰/۷۲ b-d	۰/83 bc	۱/۰۴ a	۰/۸۳ A
۴۰	۰/۶۰ d-f	۰/۶۳ de	۰/۶۵ de	۰/۷۰ cd	۰/۶۴ B
۸۰	۰/۴۹ fg	۰/۵۳ ef	۰/۷۱ cd	۰/۸۲ bc	۰/۶۴ B
۱۲۰	۰/۳۸ g	۰/۵۱ e-g	۰/۷۰ cd	۰/۸۶b	۰/۶۱ B
میانگین	۰/۵۵ C	۰/۶۰ C	۰/۷۲ B	۰/۸۵A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان کلروفیل برگ

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان کلروفیل برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت. کمترین میزان کلروفیل برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب کاهش ۵/۷۴ درصدی میزان کلروفیل نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). نتایج همچنین بیانگر این بود که کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل برگ داشت. به طوری که بیشترین میزان کلروفیل برگ مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی-مولار سولفید هیدروژن بود که سبب افزایش ۹/۲۴ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد. اثرهای متقابل شوری و کاربرد

سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیشترین میزان کلروفیل برگ در شرایط بدون تنش و غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود (جدول ۳).

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان محتوای نسبی آب برگ

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۴، با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان محتوای نسبی آب برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت به گونه‌ای که بیشترین کاهش میزان آب نسبی برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب کاهش ۱۶/۳۰ درصدی میزان محتوای آب نسبی برگ نسبت به تیمار شاهد شد. نتایج همچنین بیانگر این بود که کاربرد سولفید هیدروژن در بیشترین غلظت ۱/۲ میلی‌مولار سبب افزایش ۵/۹۰ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد. اثرهای متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیشترین میزان آب نسبی برگ در تیمار شاهد و غلظت‌های ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود.

جدول ۳- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر کلروفیل برگ دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۵۲/۶۶ cd	۵۲/۷۳ b-d	۴۹/۳۰ d-f	۵۳/۵۶ a-c	۵۲/۰۶ A
۴۰	۴۴/۶۶ g	۴۶/۸۰ fg	۵۷/۱۶ a	۵۶/۸۰ ab	۵۱/۳۵ AB
۸۰	۴۷/۶۳ e-g	۴۹/۵۳ c-f	۵۱/۴۶ c-e	۵۰/۷۳ c-f	۴۹/۸۴ BC
۱۲۰	۴۸/۴۳ e-g	۴۸/۷۰ d-g	۴۸/۹۶ d-f	۵۰/۲۰ c-f	۴۹/۰۷ C
میانگین	۴۸/۳۵ B	۴۹/۴۴ B	۵۱/۷۲ A	۵۲/۸۲ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

جدول ۴- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان محتوای نسبی آب برگ (٪) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۸۰/۱۶ b-d	۸۳/۵۸ ab	۸۲/۳۵ a-c	۹۰/۴۸ a	۸۴/۱۴ A
۴۰	۷۷/۵۸ b-d	۶۸/۰۱ e	۷۴/۱۸ c-e	۷۵/۴۵ b-e	۷۵/۰۵ B
۸۰	۷۵/۴۰ b-e	۷۴/۰۴ c-e	۷۳/۰۷ de	۷۷/۶۸ b-d	۷۳/۸۰ BC
۱۲۰	۷۱/۱۱ de	۵۷/۹۵ f	۷۴/۰۱ c-e	۷۸/۶۰ b-d	۷۰/۴۲ C
میانگین	۷۶/۰۶ AB	۷۰/۸۹ C	۷۵/۹۰ B	۸۰/۵۵ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر غلظت پرولین برگ

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شوری اثر معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین برگ داشت. بیشترین میزان پرولین برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و کمترین مقدار مربوط به شاهد آب مقطر بود. کاربرد ۰/۸ میلی‌مولار سولفید هیدروژن سبب افزایش ۵۱/۳۹ درصدی میزان پرولین برگ نسبت به تیمار شاهد شد. اثر متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد که بیشترین میزان پرولین برگ در دانهال‌های پسته در شرایط تنش کلرید سدیم مربوط به کاربرد ۰/۸ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود، اما در شرایط بدون تنش کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر افزایش میزان پرولین برگ دانهال‌های پسته نداشت (جدول ۵).

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان کربوهیدرات محلول برگ

بیشترین میزان کربوهیدرات برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب افزایش بیش از ۴ برابری کربوهیدرات برگ نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۶). کاربرد سولفید هیدروژن در بیشترین غلظت سبب افزایش معنی‌دار و ۲۷/۹۷ درصدی میزان کربوهیدرات برگ نسبت به تیمار شاهد شد. اثر متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در شرایط بدون تنش و پایین‌ترین غلظت شوری اثر معنی‌داری بر میزان کربوهیدرات برگ دانهال‌های پسته نداشت. این در حالی است که در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، فقط غلظت ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن باعث افزایش معنی‌دار میزان کربوهیدرات برگ نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۶).

جدول ۵- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان پرولین برگ (میکرومول در گرم وزن تر) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۱/۷۸ e	۲/۰۴ de	۱/۹۵ e	۱/۷۹ e	۱/۸۹ D
۴۰	۲/۳۶ c-e	۲/۶۰ c-e	۴/۲۶ b	۱/۵۷ e	۲/۷۰ C
۸۰	۳/۶۲ b-d	۱/۸۴ e	۵/۲۰ ab	۴/۵۱ ab	۳/۸۰ B
۱۲۰	۳/۶۷ bc	۴/۴۲ ab	۵/۹۳ a	۴/۳۹ ab	۴/۶۰ A
میانگین	۲/۸۶ B	۲/۷۲ B	۴/۳۳ A	۳/۰۶ B	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

جدول۶- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان کربوهیدرات محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۱۱/۱۱ d	۱۶/۷۴ d	۱۵/۸۲ d	۱۲/۶۷ d	۱۴/۰۸ B
۴۰	۱۹/۹۹ d	۱۱/۰۹ d	۱۳/۶۱ d	۱۱/۶۹ d	۱۴/۰۹ B
۸۰	۴۹/۴۸ c	۵۲/۵۹ bc	۶۶/۸۶ ab	۶۶/۸۷ ab	۵۸/۹۵ A
۱۲۰	۵۳/۱۱ bc	۴۱/۷۰ c	۶۵/۱۵ ab	۷۹/۸۵ a	۵۹/۹۵ A
میانگین	۳۳/۴۲ BC	۳۰/۵۳ C	۴۰/۳۶ AB	۴۲/۷۷ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر غلظت سدیم و پتاسیم برگ

بیشترین میزان غلظت سدیم برگ مربوط به تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب افزایش بیش از ۳ برابری میزان سدیم برگ نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۷). نتایج همچنین بیانگر این بود که کمترین میزان سدیم برگ مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولارسولفید هیدروژن بود که سبب کاهش ۴۵/۷۸ درصدی میزان سدیم برگ نسبت به تیمار شاهد شد. اثر متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد کمترین میزان غلظت سدیم برگ در شرایط بدون تنش و تنش کلرید سدیم مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود (جدول ۷).

با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان پتاسیم برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت. کمترین میزان پتاسیم برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. نتایج همچنین بیانگر این بود که بیشترین میزان پتاسیم

برگ مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود که سبب افزایش معنی‌دار میزان پتاسیم برگ نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین میزان پتاسیم برگ در شرایط تنش کلرید سدیم مربوط به کاربرد ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن بود اما در شرایط بدون تنش کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر افزایش میزان پتاسیم برگ دانهال‌های پسته نداشت (جدول ۸).

جدول ۷- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر غلظت سدیم برگ (میلی‌گرم در گرم وزن خشک) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۰/۳۷ hi	۰/۳۲ hi	۰/۲۳ ij	۰/۱۷ j	۰/۲۸ D
۴۰	۰/۶۴ ef	۰/۴۱ gh	۰/۳۵ hi	۰/۲۹ hi	۰/۴۴ C
۸۰	۱/۰۳ b	۰/۸۰ cd	۰/۷۵ de	۰/۵۱ fg	۰/۸۱ B
۱۲۰	۱/۳۰ a	۰/۹۱ bc	۰/۸۸ cd	۰/۸۴ cd	۱/۰۰ A
میانگین	۰/۸۳ A	۰/۶۱ B	۰/۵۵ B	۰/۴۵ C	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

جدول ۸- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر غلظت پتاسیم برگ (میلی‌گرم در گرم وزن خشک) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۱۰/۹۰ a	۹/۷۱ a-c	۷/۸۵ de	۹/۳۰ a-d	۹/۴۴ A
۴۰	۷/۴۴ ef	۸/۰۱ c-f	۸/۴۲ b-f	۸/۴۷ b-e	۸/۰۹ B
۸۰	۶/۸۷ ef	۶/۶۷ f	۷/۵۴ d-f	۱۰/۱۲ ab	۷/۹۴ B
۱۲۰	۷/۷۵ d-f	۶/۸۲ ef	۷/۹۱ d-f	۹/۳۰ a-d	۷/۸۰ B
میانگین	۸/۲۴ B	۷/۸۰ B	۷/۹۳B	۹/۳۰ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

اثر شوری و کاربرد سولفید هیدروژن بر میزان فعالیت ویژه آنزیم‌های ضد اکسایشی برگ

بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ مربوط به غلظت ۰/۸ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که سبب افزایش ۳۶/۴۳ درصدی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ نسبت به تیمار شاهد شد. تیمار ۱/۲ میلی‌مولار سولفید هیدروژن سبب افزایش ۴۹/۷۳ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد. در تیمار شوری ۱۲۰

میلی‌مولار کلرید سدیم، کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ دانهال‌های پسته نداشت (جدول ۹).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد شوری اثر معنی‌داری بر افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. نتایج همچین بیانگر این بود که فقط کاربرد سولفید هیدروژن در غلظت ۱/۲ میلی‌مولار توانست سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز برگ نسبت به تیمار شاهد شود. اثرات متقابل شوری و کاربرد سولفید هیدروژن نیز نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمارهای ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مربوط به کاربرد سولفید هیدروژن به میزان ۱/۲ میلی‌مولار بود. همچنین در شرایط بدون تنش کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ نداشت (جدول ۱۰).

جدول ۹- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر فعالیت اسکوربات پراکسیداز برگ (واحد بر میلی‌گرم پروتئین) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۳۲/۵۵ gf	۱۸/۰۹ g	۴۰/۸۰ d-f	۷۰/۵۰ a	۴۰/۴۸ C
۴۰	۳۴/۷۰ ef	۴۴/۲۴ c-f	۶۰/۸۵ ab	۵۷/۹۶ a-c	۴۹/۴۴ AB
۸۰	۴۹/۲۹ b-d	۴۷/۶۹ b-f	۵۳/۲۶ b-d	۷۰/۶۹ a	۵۵/۲۳ A
۱۲۰	۴۹/۴۶ b-f	۴۵/۰۴ c-f	۴۱/۵۰ d-f	۴۴/۹۸ c-f	۴۴/۵۰ BC
میانگین	۴۰/۷۶ C	۳۸/۷۶ C	۴۹/۱۰B	۶۱/۰۳ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

جدول ۱۰- اثر کاربرد سولفید هیدروژن بر فعالیت کاتالاز برگ (واحد بر میلی گرم پروتئین) دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

کلریدسدیم (میلی‌مولار)	سولفید هیدروژن (میلی‌مولار)				میانگین
	۰	۰/۴	۰/۸	۱/۲	
۰	۲۵/۴۷ c-e	۲۱/۰۴ e	۲۱/۱۳ e	۲۳/۵۲ de	۲۲/۷۹ B
۴۰	۲۷/۹۳ c-e	۲۹/۴۸ b-d	۳۱/۲۹ bc	۳۰/۲۸ b-d	۲۹/۵۴ A
۸۰	۲۶/۴۰ c-e	۲۳/۶۷ d-e	۲۴/۷۱ c-e	۴۱/۶۰ a	۲۹/۰۹ A
۱۲۰	۲۵/۵۵ c-e	۲۹/۵۵ b-d	۳۴/۴۱ b	۳۶/۴۶ ab	۳۱/۴۹ A
میانگین	۲۶/۳۳ B	۲۵/۹۳ B	۲۷/۸۱B	۳۲/۹۶ A	

در هر ستون و ردیف میانگین‌هایی با حروف مشترک کوچک و بزرگ به ترتیب برای اثرات متقابل و اثرات اصلی، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال 5 ٪ آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) ندارند.

همبستگی صفات

مطالعه همبستگی بین صفات نشان داد بین برخی صفات مانند وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه و صفات فیزیولوژیکی محتوای نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل برگ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و غلظت عناصر سدیم و پتاسیم همبستگی‌های معنی‌داری وجود دارد. غلظت کربوهیدرات برگ نیز همبستگی مثبت معنی‌داری با غلظت پرولین برگ نشان داد. جدول همبستگی نشان دهنده وجود همبستگی معنی‌دار منفی بین میزان سدیم برگ با پتاسیم برگ و همبستگی مثبت با پرولین برگ و کربوهیدرات برگ بود (جدول ۱۱).

جدول ۱۱- جدول همبستگی بین صفات دانهال‌های پسته تحت تنش شوری

	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	محتوای کلروفیل	محتوای نسبی آب برگ	پرولین برگ	کربوهیدرات محلول برگ	کاتالاز برگ	آسکوربات پراکسیداز برگ	پتاسیم برگ	سدیم برگ
وزن خشک اندام هوایی	۰									
وزن خشک ریشه	۰/۴۸**	۰								
محتوای کلروفیل	۰/۱۵ns	۰/۲۹*	۰							
محتوای نسبی آب برگ	۰/۵۲***	۰/۴۸***	۰/۳۴*	۰						
پرولین برگ	-۰/۱۳ns	-۰/۰۹ns	-۰/۱۷ns	۰/۳۶*	۰					
کربوهیدرات محلول برگ	-۰/۲۳ns	-۰/۱۵ns	-۰/۱۵ns	-۰/۱۸ns	۰/۶۳***	۰				
کاتالاز برگ	-۰/۱۶ns	۰/۰۴ns	-۰/۰۶ns	-۰/۳۵ns	۰/۵۲***	۰/۳۸**	۰			
آسکوربات پراکسیداز برگ	-۰/۱۰ns	۰/۲۹*	۰/۰۴ns	۰/۰۲ns	۰/۳۳**	۰/۵۲**	۰/۳۱*	۰		
پتاسیم برگ	۰/۴۵**	۰/۶۵***	۰/۴۲***	۰/۶۲***	-۰/۲۶ns	-۰/۳۳**	-۰/۱۱ns	۰/۰۲ns	۰	
سدیم برگ	-۰/۴۷**	-۰/۵۹***	-۰/۵۲***	-۰/۵۲***	۰/۵۴***	۰/۶۸***	۰/۲۶**	۰/۱۸ns	-۰/۷۲***	۰

بحث و نتیجه گیری

شوری به دلیل القای کمبود آب یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های رشد گیاه است. این کاهش رشد به دلیل شوری ممکن است با اختلال در جذب عناصر غذایی نیز در ارتباط باشد و در نتیجه جذب عناصری مانند پتاسیم، کلسیم، منیزیم، فسفر و نیتروژن کاهش یابد (Fekri *et al.*, 2016). بیان شده است که شوری در دانهال‌های پسته سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه و ریشه شد که به دلیل کاهش بزرگ شدن و تقسیم سلولی در برگ‌ها است. همچنین عنوان شده است کاهش در وزن خشک ریشه و

ساقه با افزایش شوری در محیط رشد با کاهش تعداد برگ و کوچکتر شدن برگ‌ها در ارتباط است (Eskandari *et al.*, 2014). تغییرات در رشد گیاهان در معرض تنش در آغاز مربوط به اثر اسمزی می‌باشد و در مراحل بعد، رشد به واسطه اثرات سمی نمک اضافی در داخل گیاه کاهش می‌یابد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن در شرایط تنش شوری سبب بهبود وزن خشک اندام هوایی و ریشه در دانهال‌های پسته شد. در گیاه خردل نیز کاربرد سولفید هیدروژن اثر معنی‌داری بر افزایش وزن خشک اندام هوایی و ریشه نسبت به شاهد داشت (Verma *et al.*, 2023). سولفید هیدروژن اگرچه به علت توانایی در بازدارندگی فعالیت سیتوکروم اکسیداز در میتوکندری، در غلظت‌های بالا به عنوان یک ماده سمی شناخته شده است، ولی در غلظت‌های کم به عنوان یک مولکول انتقال دهنده سیگنالی عمل می‌کند و در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه عملکرد چندگانه دارد (Wu *et al.*, 2019).

این پژوهش نشان داد که شوری سبب کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ و کلروفیل برگ دانهال‌های پسته شد. این در حالی بود که کاربرد سولفید هیدروژن منجر به افزایش میزان کلروفیل برگ گردید. گزارش کرده‌اند که میزان کلروفیل برگ در دانهال‌های پسته تحت تنش شوری کاهش می‌یابد (Tavallali et al., 2009). اظهار نمودند کاهش کلروفیل در برگ‌ها تحت تنش شوری به دلیل سمیت یون‌های سدیم و کلر است. در شرایط شوری با افزایش مقدار پراکسیداز سلولی، آمینولینولیک اسید (پیش‌ساز کلروفیل) کاهش می‌یابد (Santos, 2004). همچنین تنش اکسیداتیو سبب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و آسیب به ساختار کلروپلاست و در نتیجه کاهش میزان کلروفیل می‌شود. تیمار سولفید هیدروژن در برنج تحت شرایط بدون تنش سبب بهبود در میزان کلروفیل شد (Duan *et al.*, 2015). علاوه بر آن‌که سولفید هیدروژن به عنوان یک مولکول سیگنالی می‌تواند موجب تحریک سیستم دفاع ضداکسایشی در گیاه و کاهش غلظت گونه‌های مخرب اکسیژن شود، گفته شده است گوگرد موجود در ساختار سولفید هیدروژن می‌تواند در ترکیبات دفاعی چون گلوتاتیون، فیتوکلاتین و سایر متابولیت‌ها قرار گیرد که برای حفاظت از مولکول‌های زیستی مانند کلروفیل و بقای گیاه در شرایط تنش بسیار مهم هستند (Zhang *et al.*, 2010). در بوته‌های توت فرنگی تنش اسمزی سبب کاهش محتوای نسبی آب برگ شد در صورتی که کاربرد سولفید هیدروژن از کاهش محتوای نسبی آب برگ جلوگیری کرد. سولفید هیدروژن با سیگنال‌های سلول‌های نگهبان روزنه و آبسیزیک اسید در ارتباط است. همچنین گزارش شده که پیش تیمار سولفید هیدروژن سبب افزایش هدایت روزنه‌ای در بوته‌های توت فرنگی نسبت به شاهد گردید (Christou *et al.*, 2013).

در آزمایش حاضر مشاهده گردید متناسب با افزایش سطوح شوری مقدار پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ به طور معنی‌داری در دانهال‌های پسته افزایش یافت. گزارش شده است که در پسته بین پرولین و تجمع سدیم در برگها یک همبستگی خطی وجود دارد (Fekri *et*

al., 2015). گزارش کرده‌اند در دانهال‌های پسته در پاسخ به تنش شوری، تجمع قندهای احیایی افزایش یافت (Zrig *et al.*, 2016). همچنین گزارش شده است که پرولین تحت تنش شوری به عنوان یک محافظ اسمزی و سمیت زدایی گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند و در پایداری غشای سلولی نقش دارد (Ashfaque *et al.*, 2012). قندها نیز به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند و می‌توانند فشار اسمزی را در سلول‌ها افزایش دهند. به علاوه افزایش قندهای محلول در برگ با کاهش رشد تحت تنش شوری در ارتباط است. در پژوهش حاضر بررسی کاربرد سولفید هیدروژن نشان داد که این ترکیب سبب افزایش میزان پرولین برگ در دانهال‌های پسته می‌گردد. درگیاه گندم تیمار گیاه با سولفید هیدروژن سبب بهبود فعالیت پرولین-۵-کربوکسیلاز و افزایش تجمع پرولین شد. این مسئله ممکن است با کاهش پرولین دهیدروژناز نیز در ارتباط باشد. سولفید هیدروژن به عنوان یک پیامبر ثانویه، فعالیت پرولین-5- کربوکسیلاز را افزایش و فعالیت پرولین دهیدروژناز را کاهش می‌دهد (Min *et al.*, 2016). کاربرد سولفید هیدروژن سبب تجمع قندهای محلول در اسفناج شد. بیان شده است که کاربرد سولفید هیدروژن از طریق افزایش تجمع قندهای محلول به ویژه فروکتوز و ترهالوز سبب افزایش مقاومت به تنش می‌شود (Chen *et al.*, 2016).

بررسی نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت نمک میزان سدیم برگ در دانهال‌های پسته افزایش و میزان پتاسیم کاهش یافت. کاربرد سولفید هیدروژن سبب کاهش تجمع یون سدیم و افزایش تجمع پتاسیم در برگ دانهال‌های پسته شد. مطالعات پیشین تعدادی سازوکار مهم را برای بهبود تنش شوری معرفی کرده‌اند. یکی از این سازوکارها کنترل انتشار سدیم به درون سلول‌های ریشه می‌باشد (Wang *et al.*, 2012). افزایش سطوح شوری سبب افزایش غلظت سدیم و کاهش غلظت پتاسیم در برگ‌های لوبیا به دلیل رقابت بین سدیم و پتاسیم در جایگاه‌های جذب در پلاسمالما شد (Ismail *et al.*, 2022). تنش شوری در لوبیا سبب کاهش میزان پتاسیم شد در حالی که کاربرد نیتروپروساید سبب افزایش میزان پتاسیم در برگ‌ها و شاخه‌ها شد (Dawood *et al.*, 2022). این مسئله نشان می‌دهد سولفید هیدروژن در تنظیم تعادل یون‌ها تحت تنش شوری دخالت دارد. همچنین سولفید هیدروژن سبب پایداری نسبت سدیم به پتاسیم و افزایش فعالیت ناقل‌های Na^+/H^+ شد که نتیجه آن کاهش غلظت سدیم در سیتوپلاسم و حفظ پایداری یون ها می‌باشد (Li *et al.*, 2014).

تنش شوری سبب افزایش میزان تنفس و در نتیجه نشت الکترون تنفسی به سمت اکسیژن و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. لذا بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی مانند آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز از اثرات سوء تشکیل این ترکیبات مخرب جلوگیری می‌کند. شواهدی وجود دارد که در ارقام متحمل به شوری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشتر است (Etehadpour *et al.*, 2020). آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز باعث حذف و غیر فعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند.

نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد سولفید هیدروژن باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در برگ دانهال‌های پسته شد. کاربرد سولفید هیدروژن در گندم نیز تحت تنش شوری افزایش کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را نشان داد (Yang *et al.*, 2016). افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز منطبق با کاهش خسارت غشای سلولی و کاهش میزان هیدروژن پراکسید است. نشان داده‌اند در ذرت کاربرد سولفید هیدروژن سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد (Zhou *et al.*, 2018). سولفید هیدروژن در از بین بردن اکسیژن سینگلت، کاهش پراکسید هیدروژن و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو نقش دارد. همچنین نشان داده شده است سولفید هیدروژن در مکانسیم‌های مقاومتی گیاهان دخالت دارد. در آفتابگردان نقش حفاظتی سولفید هیدروژن با افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز در ارتباط است (Chen *et al.*, 2017).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاربرد سولفید هیدروژن در دانهال‌های پسته تحت تنش شوری منجر به بهبود وضعیت رشدی گیاهان گردید. به طوری‌که فاکتورهای مرتبط به رشد رویشی گیاه از جمله وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه به دنبال کاربرد سولفید هیدروژن افزایش معنی‌داری نشان دادند. سولفید هیدروژن با برقراری تعادل بین یون‌ها سبب کاهش تنش اسمزی و ایجاد مقاومت به تنش شوری در دانهال‌های پسته گردید. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش کاربرد سولفید هیدروژن به‌ویژه در غلظت ۱/۲ میلی‌مولار به عنوان یک مولکول سیگنالی به دلیل انگیزش سیستم حفاظتی گیاهان، سبب بهبود فاکتورهای فیزیولوژیکی و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی در دانهال‌های پسته تحت تنش شوری گردید و با توجه به روش کاربرد و قیمت مقرون به صرفه، روش کاربردی و مفید برای کاهش اثرات سوء شوری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. In L. Packer (Ed.), *Methods in enzymology*, 105: 121–126.
2. Ashfaque, F., Khan, M. I. R. and Khan, N. A., 2012. Exogenously applied H_2O_2 promotes proline accumulation, water relations, photosynthetic efficiency and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Methodology*, 4:105-120.
3. Bagheri, M., Gholami, M., and Baninasab, B., 2021. Role of hydrogen peroxide pre-treatment on the acclimation of pistachio seedlings to salt stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 43:51.
4. Bates, L., waldern, R., and Tear, I., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39:205-207.
5. Chen, J., Shang, Y. T., Wang, W. H., Chen, X. Y., He, E. M., Zheng H. L., and Shangguan, Z., 2016. Hydrogen sulfide-mediated polyamines and sugar changes are involved in hydrogen sulfide-induced drought tolerance in *Spinacia oleracea* seedlings. *Fronteries in Plant Science* 7:1-18.
6. Chen, J., Wang, W. H., Wu, F. H., He, E. M., Liu, X., Shangguan, Z. P., and Zheng, H. L., 2015. Hydrogen sulfide enhances salt tolerance through nitric oxide-mediated maintenance of ion homeostasis in barley seedling roots. *Scientific Reports*, 7: 868.
7. Chen, Z., Yang, B., Hao, Z., Zhu, J., Zhang, Y., and Xu, T., 2017. Exogenous hydrogen sulfide ameliorates seed germination and seedling growth of cauliflower under lead stress and its antioxidant role. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35:5-15.
8. Christou, A., and Manganaris, G. A., Papadopoulos, I., and 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 defence pathways. *Journal of Experimental Botany*, 64:1953-.6691.
9. Costa, L., Montano, Y.M., Carrión, C., Rolny, N., Guiamet, J.J., 2013. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. *Postharvest Biology and Technology*, 86:181-191.
10. Dawood, M.F.A., Sofy, M.R., Mohamed, H.I., Sofy, A.R., and Abdel-kader, H.A.A., 2022. Hydrogen sulfide modulates salinity stress in common bean plants by maintaining osmolytes and regulating nitric oxide levels and antioxidant enzyme expression. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22: 3708–3726.
11. Duan, B., Ma, Y., Jiang, M., Yang, F., Ni, L., and Lu, W., 2015. Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) as a result of an increase in stomatal aperture and density by exogenous hydrogen sulfide treatment. *Plant Growth Regulation*, 75:3344.
12. Eskandari, S., and Mozaffari, V., 2014. Interactive effect of soil salinity and copper application on growth and chemical composition of pistachio seedlings (cv. Badami). *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 45: 688-702.
13. Eskandari, S., Mozaffari, V., and Tajabadi Pour, A., 2014. Effects of salinity and copper on growth and chemical composition of pistachio seedlings. *Journal of Plant Nutrition*, 37:1063-1079.
14. Etehadpour, M., Fatahi, R., Zamani, Z., Golein, B., Naghavi, M.R., and Gmitter, F., 2020. Evaluation of the salinity tolerance of Iranian citrus rootstocks using morph-physiological and molecular methods, *Scientia Horticulturae*, 261:109012.
15. Fekri, M., Gharanjig, L., and SoliemanZadeh, A., 2015. Responses of growth and chemical composition of pistachio seedling to phosphorus fertilization under saline conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 38:1836-1848.
16. Fekri, M., Gharanjig, L., and SoliemanZadeh, A., 2016. Effects of salinity and pistachio waste application on growth and physiological responses of pistachio seedlings. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 47: 112-121
17. Ismail, L.M., Soliman, M.I., Abd El-Aziz, M.H., and Abdel-Aziz, H.M.M., 2022. Impact of silica ions and nano silica on growth and productivity of pea plants under salinity stress. Plants, 11: 494.
18. Kang, Y.Y., Guo, S.R., Li, J., and Duan, J.J., 2009. Effect of root applied 24-epibrassinolide on carbohydrate status and fermentative enzyme activities in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under hypoxia. *Plant Growth Regulation*, 57:259-269.
19. Khan, M.N., Fu, C., Li, J., Tao, Y., Li, Y., Hu, H., Chen, L., Khan, Z., Wu, H., and Li, Z. 2023. Seed nanopriming: How do nanomaterials improve seed tolerance to salinity and drought,? *Chemosphere*, 310:136911.
20. Li, J., Jia, H., Wang, J., Cao, Q., and Wen, Z., 2014. Hydrogen sulfide is involved in maintaining ion homeostasis via regulating plasma membrane Na+/H+ antiporter system in the hydrogen peroxide-dependent manner in salt-stress *Arabidopsis thaliana* root. *Protoplasma*, 251: 899-912.
21. Min, Y., Qin, B. P., Ping, W., Li, M. L., Chen, L. L., Chen, L. T., Sun, A. Q., Wang, Z. L., and Yin, Y. P., 2016. Foliar application of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H2S) donor, can protect seedlings against heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 15: 2745-2758.
22. Munns, R., 2005. Genus and salt tolerance: bringing them together. New Phytology, 167: 645-366.
23. Nakano, Y., and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22: 867–880.
24. Raju, A.D., and Prasad, S.M., 2023.Hydrogen sulfide regulates NaCl tolerance in brinjal and tomato seedlings by Na+/K+ homeostasis and nitrogen metabolism. *Plant Stress*, 7:100129.
25. Santos, C.V., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae* 103: 93-99.
26. Shalaby, O.A.E., Farag, R., and Ibrahim, M. F.M., 2023. Effect of hydrogen sulfide and hydrogen peroxide on growth, yield and nutrient content of broccoli plants grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae*, 316: 112035.
27. Shi, H., Ye, T., and Chan, Z., 2013. Exogenous application of hydrogen sulfide donor sodium hydrosulfide enhanced multiple abiotic stress tolerance in bermudagrass (*Cynodon dactylon* L). *Plant Physiology and Boitechnology*, 71: 226-432.
28. Tavallali, V., Rahemi, M., Maftoun, M., Panahi, B., Karimi, S., Ramezanian, A., and Vaezpour, M., 2009. Zinc influence

and salt stress on photosynthesis, water relations, and carbonic anhydrase activity in pistachio. *Scientia Horticulturae*, 123: 272-279.

29. Verma, T., Bhardwaj, S., Raza, A., Djalovic, I., Prasad, PV.V. and Kapoor, D., 2023. Mitigation of salt stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) by the application of triacontanol and hydrogen sulfide. *Plant Signaling and Behavior*, 18:1
30. Wang, Y., Li, L., Cui, W., Xu, S., Shen, W., and Wang, R., 2012. Hydrogen sulfide enhances alfalfa (*Medicago sativa*) tolerance against salinity during seed germination by nitric oxide pathway. *Plant and Soil*, 351:107-119.
31. Wasaya, A., Manzoor, S., Yasir, T.A., Sarwar, N., Mubeen, K., Ismail, I.A., Raza, A., Rehman, A., Hossain, A., and EL Sabagh, A., 2021. Evaluation of fourteen bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes by observing gas exchange parameters, relative water and chlorophyll content, and yield attributes under drought stress. *Sustainability*, 13: 4799.
32. Wu, D., Zhong, P., Wang, J., and Wang, H., 2019. Exogenous hydrogen sulfide mitigates LPS + ATP-induced inflammation by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and promoting autophagy in L02 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 457: 145.
33. Yang, M., Qin, B.P., Ma, X., Wang, P., Li, M., Chen, L., Chen, L., Sun, A., Wang, Z., and Yin, Y., 2016. Foliar application of sodium hydrosulfide (NaHS), a hydrogen sulfide (H2S) donor, can protect seedlings against heat stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Integrative Agriculture*, 15: 2745-2758.
34. Zhang, H., Jiao, H., Jiang, C.X., Wang, S.H., Wei, Z.J., Luo, J.P., and Jones, R.L., 2010. Hydrogen sulfide protects soybean seedlings against drought-induced oxidative stress. Acta Physiologia Plantarum 32: 849-758.
35. Zhang, Q., Chen, G., Huang, J., Peng, C., 2020. Comparison of the ability to control water loss in the detached leaves of *Wedelia trilobata*, *Wedelia chinensis*, and their hybrid. *Plants (Basel)*, 18: 1227.
36. Zhou, Z-H., Wang, Y., Ye, X-Y., and Li, Z-G., 2018. Signaling molecule hydrogen sulfide improves seed germination and seedling growth of maize (*Zea mays* L.) under high temperature by inducing antioxidant system and osmolyte biosynthesis. *Frontiers in Plant Science* 9: 1288.
37. Zia-ur-Rehman, M., Anayatullah, S., Irfan, E., Hussain, S.M., Rizwan, M., Sohail, M.I., Jafir, M., Ahmad, T., Usman, M., and Alharby, H.F., 2023. Nanoparticles assisted regulation of oxidative stress and antioxidant enzyme system in plants under salt stress: A review, *Chemosphere*, 314:137649.
38. Zrig, A., Mohamed, H. B., Tounekti, T., Khemira, H., Serrano, M., Valero, D., and Vadel, A. M., 2016. Effect of rootstock on salinity tolerance of sweet almond (cv. Mazzetto). *South African Journal of Botany*, 102: 50-59.

Effect of hydrogen sulfide on some of physiological indices of salt tolerance in pistachio seedling cv. Badami Riz Zarand

Parvaneh yadegari[۱], Mahdiyeh gholami[۲*], Bahram baninasab[۳]

Abstract

Although Pistachio (*Pistacia vera*) is classified as a salt tolerant plant, in recent years pistachio production has reduced, due to the drought and the low quality of irrigation water. The role of hydrogen sulfide in the defense mechanisms of plants under abiotic stresses indicates that this compound can reduce the salinity stress in plants. So, a greenhouse experiment was conducted to evaluate whether application of hydrogen sulfide would protect pistachio seedlings subjected to salt stress. The treatments were four levels of salinity (0, 40, 80 and 120 mM) and four concentration of hydrogen sulfide (0, 0.4, 0.8 or 1.2 mM). The results showed that salinity stress reduced shoot and root dry weights in pistachio seedling. Increasing NaCl concentration caused increasing proline and carbohydrate content and reduced the leaf relative water content and chlorophyll content in pistachio rootstocks. The use of hydrogen sulfide increased proline and relative water content and chlorophyll content of leaves compared with the control. The application of hydrogen sulfide at 1.2 mM resulted in increased carbohydrate concentration in pistachio seedling under salinity stress. Although increasing NaCl concentration caused increasing catalase and ascorbate peroxidase activities in salt tolerant pistachio seedling, application of hydrogen sulfide significantly increased the antioxidant enzyme activities. Overall, it could be concluded that applied hydrogen sulfide ameliorated the adverse effects of salt stress through preventing decrease in leaf chlorophyll and relative leaf water content, and increasing in carbohydrate, and antioxidant enzyme activity in pistachio seedlings.

Keywords: Abiotic stress, Signaling molecules, Sodium chloride, Water quality.

[1] Former master's student, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

2 Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

∗ Corresponding author: mah.gholami@iut.ac.ir

3 Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran