

مقایسه روش‌های ارزیابی مقاومت به کلروز آهن در ترکیب‌های پیوندی سیب

محسن پیرمردیان^۱، لطفعلی ناصری^{۲*}، حمید عبداللهی^۳ و علی اصغر شهابی^۴

۱. دانشجوی سابق دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه و استادیار، بخش تحقیقات گیاهان زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی اصفهان، ایران
 ۲. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران
 ۳. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
 ۴. استادیار بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۳/۲۷)

چکیده

کلروز آهن ناشی از آهن، از مشکلات مهم درختان میوه به‌ویژه سیب در خاک‌های آهنکی می‌باشد. این عارضه هر ساله خسارت زیادی به درختان میوه در این مناطق وارد می‌سازد. تحقیق حاضر با هدف تعیین یک روش مناسب برای ارزیابی مقاومت پایه‌ها و ارقام سیب در برابر تنش کلروز آهن انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تیمارها شامل رقم (گلاب کهنز، رد دلشیز و گلدن‌دلشیز)، پایه در ۶ سطح (M9، M26، M7 و MM106) از پایه‌های نیمه‌پاکوتاه و M25 و MM111 از پایه‌های پر رشد سیب) و تنش آهن در سه سطح (۲ میکرومولار آهن، ۹۰ میکرومولار آهن همراه با و بدون بی‌کربنات سدیم ۱۰ میلی‌مولار) انجام شد. نهال‌های پیوندی سیب در گلدان‌های حاوی پرلیت پس از دو ماه و نیم تغذیه با محلول غذایی نصف غلظت هوگلند به مدت ۸ هفته، تحت تیمارهای فوق قرار گرفتند. در این پژوهش اثرات سطوح مختلف تنش آهن بر شاخص‌های آهن-کارایی و ویژگی‌های بیوشیمیایی ترکیب‌های پیوندی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از واکنش‌های متفاوت ارقام و پایه‌ها و در نتیجه ترکیب‌های پیوندی به تنش‌های اعمال شده بود. ارقام و پایه‌ها تفاوت‌های زیادی در جذب و انتقال آهن دارند، به‌طوری‌که آنها را می‌توان به ارقام و پایه‌های مقاوم و حساس و نیمه‌مقاوم طبقه‌بندی نمود. به‌طور کلی روش بیوشیمیایی، ارزیابی دقیق‌تری از تفاوت‌های ارقام و پایه‌ها در پاسخ به تنش آهن نسبت به ارزیابی نظری شاخص‌های آهن-کارایی فراهم نمود.

واژه‌های کلیدی: آهن-کارایی، ارزیابی بیوشیمیایی، پایه‌ها و ارقام سیب، شاخص‌های نظری.

Comparison of the methods for evaluating iron chlorosis resistance in different apple scion/ rootstock combinations

Moshen Pirmoradian¹, Lotfali Naseri^{2*}, Hamid Abdollahi³ and Ali Asghar Shahabi⁴

1. Former Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urumieh University, Iran, and Assistant Professor, Horticultural crop Research Department, Isfahan agricultural and natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran
2. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urumieh University, Iran
3. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Assistant Professor, Soil Science Research Department, Isfahan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran

(Received: Apr. 15, 2018 - Accepted: Jun. 17, 2018)

ABSTRACT

Lime induced iron chlorosis is one of the important problems of fruit trees, especially apple, in calcareous soils. This disorder affects many fruit trees in these areas, each year. The purpose of this study was to determine a suitable method for evaluation of apple rootstocks and cultivars against iron stress. A factorial experiment based on Randomized Complete Block Design with 18 treatments and 3 replications was performed. Treatments included cultivars (Golab Kohanz, Red Delicious and Golden Delicious), rootstock at 6 levels (M9, M26, M7, M25, MM106, MM111) and iron stress at three levels (2 μ M iron, 90 μ M iron with and without 10 mM sodium bicarbonate). The treatments were applied to the grafted pot trees in in perlite after 8 weeks of feeding with half strength Hoagland solution. In this study, the effects of different levels of iron stress on theoretical Fe-efficiency indices and the biochemical properties of grafted combinations were evaluated. The results indicated different reactions of the cultivars and rootstocks, and thus the grafted combinations to the applied stresses. Cultivars and rootstocks showed remarkable differences in the absorption and transfer of iron, so that they can be categorized into resistant (iron efficient), sensitive (iron inefficient) and semi-sensitive ones. The method of biochemical assessment more accurately showed the differences between cultivars and rootstocks in response to iron stress, and provided an effective evaluation compared to the theoretical Fe-efficiency indices.

Keywords: Apple cultivars and rootstocks, Biochemical assessment, Fe-efficiency, Theoretical indices.

* Corresponding author E-mail: Inaseri@chmail.ir

مقدمه

خاک اکثر مناطق دنیا، به‌ویژه منطقه خاورمیانه، حاوی مقادیر زیادی کربنات کلسیم می‌باشد (Jones *et al.*, 2012). در ایران بیش از ۶۰ درصد خاک‌ها آهکی است (Mirabdolbaghi, 2007). کمبود آهن ناشی از آهک منجر به عارضه زرد برگ، کاهش رشد رویشی، کاهش وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه (Mahmoudi *et al.*, 2005)، تغییر غلظت آهن گیاه (Tabatabaee *et al.*, 2011) می‌گردد. با توجه به وجود پتانسیل بالای مواد گیاهی در بروز پاسخ‌های سازشی به کمبود آهن، استفاده از ارقام متحمل یا مقاوم به کلروز آهن روش بسیار کم‌هزینه و کارآمدی در پیشگیری از کلروز آهن می‌باشد (Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2010). از آنجایی که جذب آهن توسط گیاه به‌صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، گونه‌ها و واریته‌های مختلف یک گیاه، حتی اگر در شرایط یکسانی کشت شده باشند، به تغذیه آهن عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان می‌دهند (Clark, 1990). در سال‌های اخیر، مطالعه تفاوت‌های ژنتیکی ارقام گیاهی از لحاظ آهن-کارایی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است (Tabatabaee *et al.*, 2011). کارایی ژنوتیپ‌ها در جذب و استفاده از آهن، به توان آنها برای محلول کردن، جذب و مصرف مؤثرتر این عنصر مربوط است (Sharma, 2007). در چند سال اخیر، تحقیقات زیادی در مورد واکنش ارقام و پایه‌های درختان میوه به تغذیه آهن صورت گرفته است. به‌منظور تعیین اثر بی‌کربنات آب آبیاری در بروز کلروز آهن در ارقام سیب، Shahabi & Malakuti (2001) با اعمال غلظت‌های ۱۰ تا ۳۰ میلی‌مولار بی‌کربنات آمونیم، بین ارقام از نظر شدت سبزیگی تفاوت معنی‌داری مشاهده نمودند. رقم گلدن دلشس بیشترین سبزیگی، گلاب کهنز در گروه دوم و رد دلشس بیشترین علائم کلروز را نشان داد. Mirabdolbaghi (2007) با اعمال تیمار سطوح مختلف آهک به خاک مزرعه روی پایه‌های مورد مطالعه، نشان داد که با افزایش میزان آهک، مقدار غلظت کلروفیل در برگ‌های جوان پایه‌های MM106 و M26 (در سال اول) و M9 و B9 (در سال دوم) کاهش یافت. Abdolahi *et al.* (2011) با بررسی ۱۳

ژنوتیپ به روی پایه‌های به، زالزالک و گلابی نشان دادند که سه ژنوتیپ روی اغلب پایه‌ها کلروز کمتری داشتند، دو ژنوتیپ روی اغلب پایه‌ها حساسیت نسبتاً زیاد تا زیاد بروز دادند، در یک ژنوتیپ پایه (KVD1) سبب افزایش حساسیت به کلروز آهن و پایه‌های زالزالک و گلابی سبب کاهش قابل توجه حساسیت آن شدند. Mohamadi *et al.* (2013) برای تعیین واکنش پایه‌های گیاه به، شامل PQBA29 و QC و QB به غلظت‌های آهن در محلول غذایی در حضور و عدم حضور بی‌کربنات، نشان دادند که پایه PQBA29 از نظر محتوای کلروفیل، غلظت آهن فعال برگ، سطح برگ و فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به سایر پایه‌های مورد آزمایش کمتر تحت تأثیر غلظت پایین آهن یا وجود بی‌کربنات در محلول غذایی قرار گرفت. پایه بذری به‌شدت علائم کلروز آهن را نشان داد و پایه QC سازگاری بهتری نسبت به پایه QB در شرایط کمبود آهن نشان داد. Asadi Kangarshahi *et al.* (2015) با بررسی مقاومت پایه‌های مرکبات به آهک در بستر خاک بر اساس درجه زردی برگ، آهن فعال برگ و ریشه و ماده خشک گیاه، پایه‌های حساس و متحمل به آهک را متمایز نمودند.

آنزیم فریک کیلیت ردوکتاز^۱ (FCR) یک آنزیم کلیدی در طی فرآیند جذب آهن محسوب می‌شود. اهمیت فعالیت این آنزیم برای افزایش قابلیت استفاده از آهن به‌قدری است که برخی از محققین، گیاهان را بر حسب توانایی ریشه آنها در القاء فعالیت آنزیم FCR به دو دسته آهن-کارا (Fe-Efficient) و آهن-ناکارا (Fe-Inefficient) تقسیم می‌کنند (Rombola *et al.*, 2002). واکنش‌های گیاه به تنش آهن معمولاً در سطح ریشه اتفاق می‌افتد درحالی‌که برخی به نقش اندام‌های هوایی نیز در بروز چنین پاسخ‌هایی اشاره کرده‌اند. سیگنال‌های سیستمیک در تنظیم پاسخ به تنش کمبود آهن در گیاهان با راهبرد I (گیاهان دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای‌های غیرگرامینه‌ای) دخالت دارند. تاکنون در طبیعت این سیگنال یا سیگنال‌ها شناخته نشده است ولی تعدادی از محققین، هورمون‌های گیاهی و یا

1. Ferric Chelate Reductase

هوایی می‌تواند مفید باشد (Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2010). استفاده از شاخص‌های گلوکاتینون‌اکسیداز، غلظت کاروتنوئیدها و کلروفیل برگ و آهن فعال برای ارزیابی وضعیت زردبرگی درختان چنار، مشخص ساختند که غلظت کلروفیل a، کاروتنوئیدها و فعالیت گلوکاتینون‌پراکسیداز برگ به‌عنوان شاخص‌های مناسب ارزیابی وضعیت آهن در درختان چنار می‌باشند.

مواد و روش‌ها

نهال‌های پیوندی سالم و یکنواخت سیب ارقام گلاب، کهنیز، رد دلشیز و گلدن دلشیز روی پایه‌های M9، M26 (پاکوتاه) و M7 و MM106 (نیمه پاکوتاه) و M25 و MM111 (پر رشد) سیب در ایستگاه تحقیقات باغبانی سمیرم تهیه شد و یک اصله نهال پیوندی در هر گلدان ۲۰ لیتری حاوی پرلیت، مجموعاً ۱۶۲ اصله نهال، کشت گردیدند. نهال‌ها ابتدا به‌مدت دو ماه و نیم با محلول غذایی نصف غلظت هوگلند استاندارد با آهن به‌صورت Fe(III)-EDTA و غلظت ۹۰ میکرومول در لیتر تغذیه گردیدند. سپس تیمارها شامل ۱- محلول غذایی نصف غلظت هوگلند با آهن به غلظت ۹۰ میکرومول در لیتر به‌عنوان شاهد ۲- محلول غذایی نصف غلظت هوگلند با آهن به غلظت ۲ میکرومول در لیتر ۳- محلول غذایی نصف غلظت هوگلند به‌علاوه ۱۰ میلی‌مول در لیتر بی‌کربنات سدیم به‌مدت ۸ هفته اعمال گردیدند. pH محلول غذایی در تیمار شاهد (+Fe) و بدون آهن (-Fe) برابر ۶/۵ و برای بررسی اثر pH بالا در پاسخ‌های گیاه، pH محلول غذایی در تیمار بی‌کربنات (Fe+Bic) روی ۸ تنظیم گردید و نوسانات pH به‌وسیله اسید سولفوریک و بی‌کربنات سدیم تنظیم گردید (Chouliaras *et al.*, 2004). این آزمایش به‌صورت گلدانی در محیط گلخانه با پوشش توری پلاستیکی^۱ در محل مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان اجرا گردید. حداکثر درجه حرارت در این ایستگاه ۳۹، و حداقل درجه حرارت ۹- درجه سلسیوس با اقلیم خشک و معتدل می‌باشد.

پیش‌ماده‌های آنها را به‌عنوان شرکت‌کننده در این سیگنال‌ها پیشنهاد نموده‌اند (Romera *et al.*, 2011). Wu *et al.* (2012) با مطالعه دو گونه سیب گزارش نمودند که ریشه ابتدا کمبود آهن را دریافت می‌کند سپس واکنش اولیه برای ارسال سیگنال‌های لازم به شاخه و تسریع بیوسنتز IAA در انتهای شاخه انجام می‌شود، IAA با حرکت قطبی از شاخه به سمت ریشه رفته و پاسخ‌های مربوطه مانند افزایش انشعابات ریشه در آنجا بروز می‌کند. علاوه بر FCR، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POD) و ترکیب‌های فنلی نیز در واکنش به کمبود آهن مؤثر هستند (Forner-Giner & Ancillo, 2010).

علاوه بر تغییرات شیمیایی و بیوشیمیایی، گاهی تغییرات مورفولوژیک نیز در سطح ریشه گیاهان مقاوم برای افزایش قابلیت جذب آهن رخ می‌دهد. Pirmoradian *et al.* (2017) با اعمال تنش‌های کمبود آهن روی پایه‌های سیب گزارش کردند که میزان متورم شدن انتهای ریشه‌های مویین به‌عنوان یکی از تغییرات مورفولوژیک گیاهان استراتژی I (دولپه‌ایها و تک‌لپه‌ایهای غیرگرامینه‌ای) در شرایط تنش آهن برای جذب بیشتر آهن، بیشترین ریشه‌های متورم مربوط به پایه M7 در تیمار ۲ میکرومول در لیتر آهن و بی‌کربنات ۱۰ میلی‌مول در لیتر و پس از آن پایه‌های M9 و M25 در تیمار بی‌کربنات ۱۰ میلی‌مول در لیتر و کمترین مقادیر تورم ریشه در تیمار شاهد تمام پایه‌ها، و در پایه‌های M26 و MM111 بوده است. انتخاب یک روش ارزیابی درست و دقیق برای غربالگری ارقام و پایه‌های مقاوم و حساس به تنش آهن می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ‌ها، ارقام و پایه‌های درختان میوه به ما کمک نماید. در این تحقیق، هدف آن است تا ضمن بررسی حساسیت یا مقاومت ترکیب‌های پیوندی سیب در دو حالت عدم وجود آهن در شرایط pH مطلوب، همچنین وجود آهن در شرایط pH بالا، یعنی شرایطی که در خاک‌های آهکی وجود دارد، یک روش دقیق و کارآمد برای ارزیابی پایه‌ها، ارقام و ترکیب‌های پیوندی سیب ارائه گردد. استفاده از شاخص‌هایی مانند کارایی جذب آهن، کارایی سنتز کلروفیل و محاسبه انتقال عنصر جذب‌شده به اندام

اندازه‌گیری ظرفیت احیای ریشه

در پایان آزمایش (۱۳۰ روز پس کاشت نهال‌ها در گلدان) ظرفیت احیا Fe-EDTA توسط ریشه، به صورت کمی در پایان آزمایش براساس روش Wu *et al.* (2012) با اندازه‌گیری میزان ظرفیت ریشه در احیا Fe^{3+} به Fe^{2+} انجام گرفت. ظرفیت احیای ریشه به دو روش اندازه‌گیری شد. در روش اول با ریشه‌های جدا شده^۱ انجام شد، به این منظور ۲ گرم از ریشه‌های مویین سالم و شفاف به طول ۱۰ تا ۱۵ میلی‌متر با آب مقطر شستشو داده شد و برای حذف یون‌های سطحی ریشه، به مدت ۵ دقیقه در محلول EDTA-Na² قرار داده شد و پس از گذشت این مدت، ریشه‌ها به لوله آزمایش حاوی محلول غذایی شامل عناصر ماکرو به علاوه Fe-EDTA به غلظت ۱۰۰ میکرومول در لیتر و 2,2'-Bipyridine به غلظت ۴۰۰ میکرومول در لیتر در pH ۵/۵ منتقل گردیدند. جهت جلوگیری از ورود نور، لوله‌های آزمایش با فویل آلومینیم پوشانده شده و به مدت ۲ ساعت روی شیکر قرار داده شدند. میزان جذب کمپلکس Dipyridyl-Fe²⁺ تشکیل شده در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل JENWAY 6310) قرائت گردید. میزان احیای Fe^{3+} به صورت نانومول Fe^{2+} در گرم وزن تر ریشه در ساعت تعیین گردید.

اکسین برگ و ریشه

به منظور اندازه‌گیری میزان اکسین ۱ گرم بافت برگ از برگ‌های نزدیک به راس ساقه (برگ + ساقه) و ریشه به طور جداگانه در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد جوشانده شد و پس از ساییدن، از روی کاغذ صافی عبور و سپس مقدار یک میلی‌لیتر از عصاره‌های به دست آمده را درون لوله آزمایش‌های جداگانه ریخته و ۲ میلی‌لیتر معرف سالکوفسکی به هر لوله آزمایش اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا واکنش کامل و حضور اکسین در عصاره با رنگ صورتی آشکار گردید. در پایان میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول

موج ۵۳۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل Pharmacia LKB-Novaspac) اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان اکسین ریشه هم با برداشت ۱ گرم انتهای ریشه‌های با طول ۲ سانتی‌متر مقدار IAA موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد مقادیر IAA موجود در نمونه محاسبه شد. برای رسم منحنی استاندارد از IAA خالص استفاده گردید (Suzuki & Oyaizu, 2003).

اندازه‌گیری عناصر غذایی برگ و ریشه

پس از آسیاب نمونه‌های خشک برگ و ریشه برای اندازه‌گیری غلظت آهن در برگ و ریشه، یک گرم نمونه خشک آسیاب شده درون بوتله‌های چینی قرار داده شد. نمونه‌های گیاهی به مدت دو ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس، در کوره الکتریکی به خاکستر تبدیل شده و با استفاده از اسید کلریدریک و نیتریک غلیظ عصاره‌گیری شدند (Emami, 1997). غلظت آهن در عصاره برگ و ریشه با استفاده از دستگاه جذب اتمی Shimadzu مدل ۶۷۰ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری سبزی‌نگی

سبزی‌نگی برگ به وسیله دستگاه کلروفیل‌متر دیجیتالی اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) در چهار برگ کاملاً توسعه یافته جوان انتهایی قرائت شد.

محاسبه شاخص‌های آهن-کارایی

شاخص‌های کارایی جذب آهن، فاکتور انتقال نسبی، نسبت انتقال آهن و محتوای آهن بر اساس Graham *et al.* (1992) و Cakmak *et al.* (1997) به صورت زیر محاسبه گردید.

$$(۱) \text{ کارایی جذب آهن در تیمار Fe-} =$$

$$\frac{\text{غلظت آهن در تیمار Fe-}}{\text{غلظت آهن در تیمار شاهد}}$$

$$(۲) \text{ کارایی جذب آهن در تیمار Fe+Bic} =$$

$$\frac{\text{غلظت آهن در تیمار Fe+Bic}}{\text{غلظت آهن در تیمار شاهد}}$$

آهن یک درخت پیوندی دارد، برخی پایه‌ها در شرایط عدم حضور آهن قابل جذب در محیط ریشه یعنی کمبود مطلق آهن قابل جذب، می‌توانند با مکانیزم‌هایی نظیر افزایش ظرفیت احیای آهن توسط ریشه و یا تقویت خروج پروتون، حلالیت آهن در محیط ریشه را افزایش داده و جذب آن را تسریع نمایند.

همچنین در شرایطی که علی‌رغم وجود مقادیر کافی آهن، قابلیت جذب آن در اثر اختلالات فیزیولوژیکی در سطح جذب، انتقال و یا متابولیسم محدود می‌شود، پایه‌های رویشی مقاوم توانایی جذب و استفاده از آهن را دارند. در این آزمایش تیمار Fe+Bic شرایط کمبود آهن در محیط ریشه و تیمار Fe+Bic وجود عوامل و شرایط نامناسب برای جذب، انتقال یا متابولیسم آهن یعنی وجود بی‌کربنات در محیط ریشه را فراهم می‌سازد. نتایج محاسبه کارایی جذب آهن پایه‌های سبب در این آزمایش با یافته‌های سایر محققین مبنی بر این‌که ریشه گیاهان آهن کارآ توانایی بیشتری در افزایش فعالیت FCR در پاسخ به کمبود آهن نسبت به گیاهان آهن ناکارا دارند (Pestana et al., 2005; Molassiotis et al., 2006; Gonzalo et al., 2011) منطبق می‌باشد.

کارایی جذب آهن در ریشه در شرایط عدم حضور Fe تحت تأثیر رقم و پایه قرار نگرفت؛ اما این صفت در تیمار Fe+Bic تحت تأثیر پایه معنی‌دار شد ($P < 0/01$). از نظر کارایی جذب آهن، ریشه پایه‌های MM106، MM111 و M26 در شرایط Fe+Bic کارایی بیشتری نشان دادند (شکل ۴). باتوجه به این‌که این صفت از حاصل‌ضرب غلظت Fe در وزن خشک ریشه به‌دست آمده است؛ بنابراین اندازه‌گیری این صفت به‌تنهایی نشانگر توانایی استفاده از آهن به‌وسیله این پایه‌ها نمی‌باشد زیرا این سه پایه در سایر ویژگی‌ها مانند میزان شاخص کلروفیل، وزن خشک برگ و نسبت انتقال از شاخص‌های پایبندی نسبت به پایه‌های M9، M7 و M25 برخوردار بوده‌اند. عدم توانایی این پایه‌ها در انتقال آهن و تجمع آن در ریشه موجب افزایش این شاخص در پایه‌های MM106، MM111 و M26 گردیده است.

(۳) = انتقال نسبی آهن

$$\frac{\text{غلظت آهن در برگ}}{\text{غلظت آهن در ریشه}}$$

(۴) = نسبت انتقال

$$\frac{\text{انتقال نسبی آهن در شرایط تنش}}{\text{انتقال نسبی آهن در شرایط بدون تنش}}$$

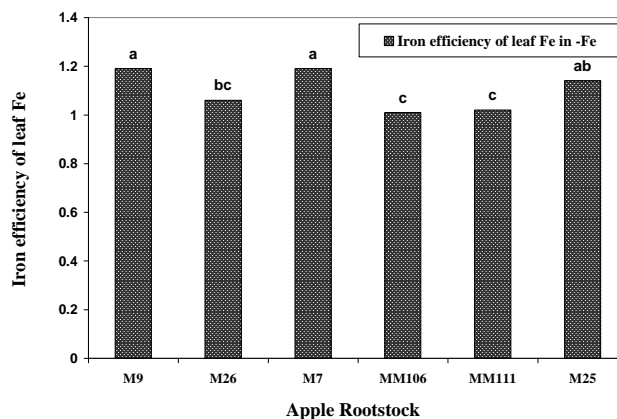
طرح آماری مورد استفاده

ترکیب‌های پیوندی مورد آزمایش در گلدان‌های ۲۰ لیتری و براساس طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار آرایش یافت و داده‌های به‌دست‌آمده براساس طرح کاملاً تصادفی و به‌صورت فاکتوریل با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد.

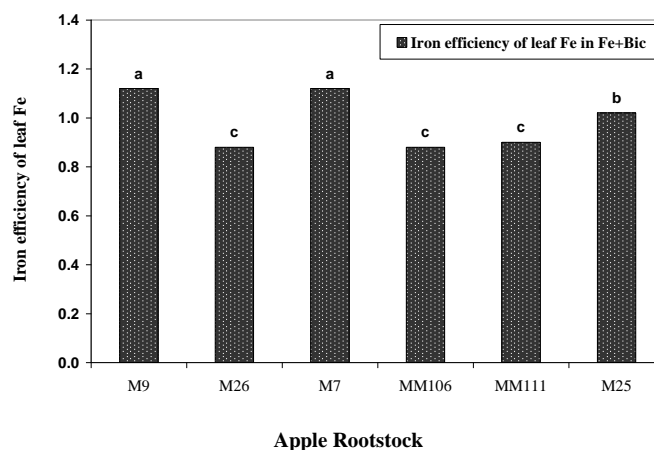
نتایج و بحث

آهن-کارایی بر اساس جذب Fe برگ

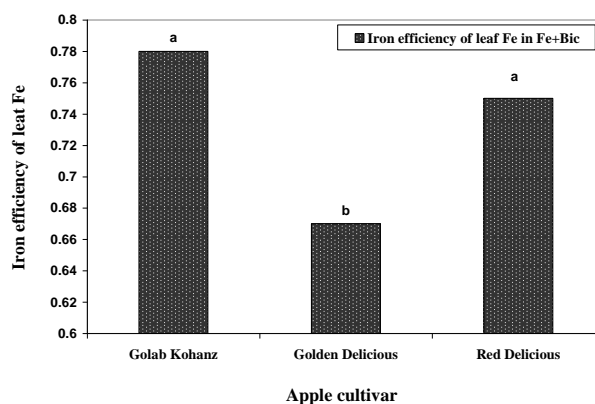
نوع پایه، در شرایط عدم حضور آهن در محیط ریشه (-Fe) و حضور آهن همراه با بی‌کربنات (Fe+Bic) شاخص کارایی جذب آهن را در برگ تحت تأثیر قرار داد ($P < 0/01$). کارایی جذب آهن در برگ به‌معنی توانایی بیشتر گیاه در جذب این عنصر از بستر دارای محدودیت آهن است و از نسبت جذب آهن کل در شرایط تنش (-Fe یا Fe+Bic) به جذب آهن کل در شرایط شاهد (+Fe) به‌دست می‌آید. پایه‌های MM106 و MM111 و M26 در هر دو تیمار تنش آهن دارای کمترین مقادیر کارایی جذب آهن در برگ (شکل‌های ۱ و ۲) و پایه‌های M9، M7 و M25 بیشترین میزان کارایی جذب برگ را دارا بوده‌اند. نوع رقم در عدم حضور آهن بر کارایی جذب آهن در برگ تأثیر معنی‌داری کارایی جذب برگ نداشته است؛ اما در تیمار Fe+Bic تأثیر معنی‌داری داشته است ($P < 0/01$). اثر نوع رقم بر کارایی جذب آهن برگ در تیمار Fe+Bic، حاکی از کارایی بیشتر ارقام گلاب کهنز و رد دلشیز نسبت به رقم گل‌دلشیز می‌باشد (شکل ۳). پایه، نقش اساسی در کارایی جذب



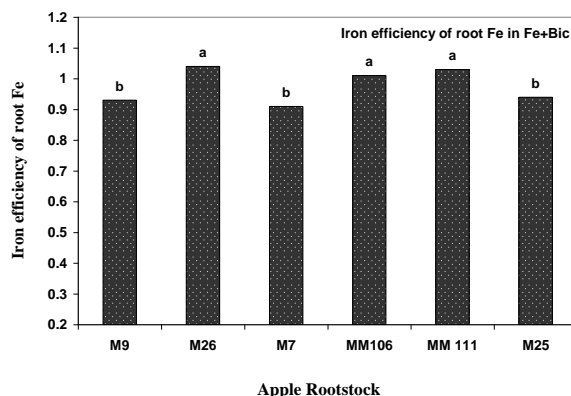
شکل ۱. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر کارایی جذب آهن در برگ در تیمار -Fe. ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 1. Effect of apple rootstocks on leaf Fe uptake in -Fe treatment. Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$



شکل ۲. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر کارایی جذب آهن در برگ در تیمار Fe+Bic. ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 2. Effect of apple rootstocks on leaf Fe uptake in Fe+Bic treatment. Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$



شکل ۳. مقایسه اثر رقم بر کارایی جذب آهن در برگ در تیمار Fe+Bic. ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 3. Effect of cultivar on leaf Fe uptake in Fe+Bic treatment. Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$



شکل ۴. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر کارایی جذب آهن در ریشه در تیمار Fe+Bic ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.
Figure 4. Effect of apple rootstocks on root Fe uptake in Fe+Bic treatment
Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$

زیرا Fe علاوه بر این که به‌عنوان کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌ها عمل می‌کند (Marschner, 1995)، بخش عمده آهن گیاه در کلروپلاست‌ها ذخیره می‌شود؛ بنابراین در هنگام تنش آهن در اثر اختلال در جذب، انتقال و تحرک آهن، کاهش کلروفیل در کلروپلاست‌ها یکی از تغییرات بیوشیمیایی است که رخ می‌دهد. این مسئله سبب کاهش فتوسنتز و بیوماس گیاه می‌گردد (Forner-Giner & Ancillo 2011). اضافه‌شدن یون‌های بی‌کربنات به محلول غذایی، اثرات مخربی روی برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند غلظت کلروفیل، فتوسنتز، رشد و غلظت آهن دارد. یافته‌های این تحقیق با نتایج سایر محققین مبنی بر کاهش کلروفیل تحت تأثیر تیمار بی‌کربنات در بعضی گیاهان مانند هلو (Molassiotis *et al.*, 2006) و مو (Ksouri *et al.*, 2007) مطابقت دارد.

نسبت انتقال

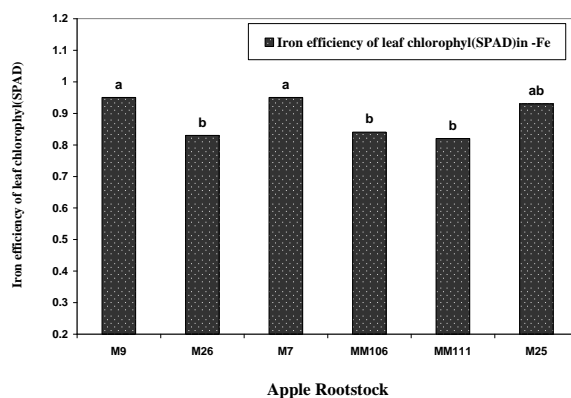
پایه و رقم در تیمار Fe- تأثیر معنی‌داری بر نسبت انتقال آهن از ریشه به برگ نداشت ولی در تیمار Fe+Bic این تأثیر از نظر آماری معنی‌دار گردید ($P < 0.01$). با توجه به کارایی بیشتر پایه‌های M9، M7 و M25 نسبت به سه پایه دیگر، همچنین کارایی بیشتر رقم گلاب که نسبت به ارقام رد و گلدن‌دلشیز در جذب آهن برگ در تیمار Fe+Bic می‌توان نتیجه گرفت که بی‌کربنات با افزایش pH آپوپلاست منجر به اختلال در انتقال Fe از ریشه به

آهن-کارایی کلروفیل برگ از تقسیم شاخص کلروفیل (SPAD) در شرایط تنش، به این شاخص در تیمار شاهد به‌دست آمد. این شاخص تحت تأثیر پایه و رقم در هر دو تیمار تنش آهن Fe- ($P < 0.05$) و Fe+Bic ($P < 0.01$) معنی‌دار گردید. این شاخص در تیمار Fe- در پایه‌های M9 و M7 بیشتر و در پایه‌های MM106، MM111، M26 و M25 کمتر و در پایه بینابین قرار گرفته است (شکل ۵). شاخص آهن کارایی کلروفیل برگ در تیمار Fe+Bic پایه‌ها را به دو گروه M9، M7، M25 با کارایی بیشتر و MM106، MM111 و M26 با کارایی کمتر تقسیم کرده است (شکل ۶). این شاخص در ارقام مورد آزمایش نشان می‌دهد که در تیمار Fe- رقم گلاب کهنز بیشترین کارایی و گلدن‌دلشیز کمترین و رد دلشیز دارای کارایی بینابین بوده است (شکل ۷). آهن کارایی کلروفیل برگ ارقام سیب در تیمار Fe+Bic در گلاب کهنز بیشترین و ارقام رد و گلدن‌دلشیز از کمترین کارایی برخوردار بوده‌اند (شکل ۸).

علائم ظاهری کمبود Fe را کلروز آهن می‌نامند، که معمولاً به‌خاطر کاهش کلروفیل برگ صورت می‌گیرد (Ranieri *et al.*, 2001; Gogorcena *et al.*, 2005). سبزی‌نگی بیشتر برگ در پایه‌های M9، M7 و M25 تحت تیمار Fe- و Fe+Bic نشان‌دهنده تحمل بیشتر آن پایه‌ها به تنش آهن می‌باشد. کمبود آهن باعث تغییرات فیزیولوژیک مختلف در برگ می‌شود؛

حاصل ترکیب سیستم ریشه‌ای و قسمت هوایی درخت می‌باشد. نسبت انتقال کمتر آهن در پایه‌های MM106، MM111 و M26 به علت ناکارآمدی این پایه‌ها در پویایی و متحرک‌ساختن آهن و نسبت انتقال و کارایی جذب آهن برگ بیشتر، نمایانگر کارآمدی پایه‌های M9، M7 و M25 می‌باشد. این نتیجه‌گیری با تعریف انجمن علوم خاک آمریکا (1997) مبنی بر توانایی یک گیاه در جذب و انتقال یک عنصر غذایی خاص به‌عنوان ژنوتیپ یا گیاه کارآمد از نظر آن عنصر غذایی، سازگار است. همچنین با یافته‌های Forno *et al.* (1975) مطابقت دارد که نشان دادند افزایش یون بی‌کربنات در محیط ریشه از جذب روی جلوگیری کرده، تحرک آهن در ریشه و انتقال آن به بخش‌های هوایی گیاه را کاهش داد.

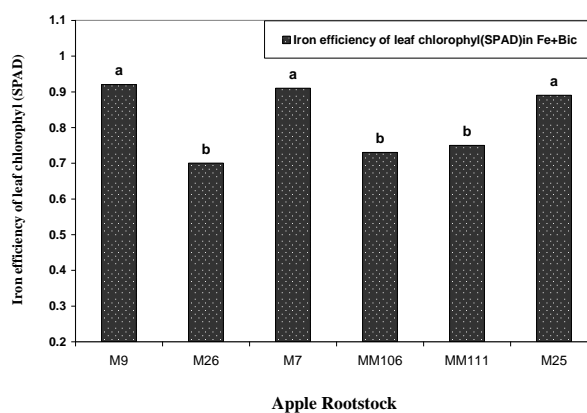
برگ در پایه‌های MM106، MM111 و M26 (شکل ۹) و ارقام رد و گلدن دلشیز نسبت به گلاب کهنز (شکل ۱۰) گردیده است. بنابراین پایه‌های M9 و M7 و Tاحدودی M25 و رقم گلاب کهنز کاراترین پایه‌ها و رقم از دیدگاه شاخص نسبت انتقال آهن در تیمار Fe+Bic می‌باشند. در اثر کلروز ناشی از بی‌کربنات، انتقال بی‌کربنات به داخل استوانه مرکزی ریشه، منجر به قلیایی‌شدن شیره خام و آپوپلاست شده و منجر به کاهش تحرک آهن می‌گردد (Mengel, 1994). بررسی‌های Tagliavini *et al.* (1992) در مورد اثرات پایه در درختان میوه پیوندی به این نکته اشاره دارد که تفاوت در جذب و انتقال عناصر غذایی بسته به رشد رقم پیوندک و غلظت عناصر غذایی در شیره‌خام به‌نظر می‌رسد که مرتبط با رشدی است که



شکل ۵. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر آهن کارایی کلروفیل برگ در تیمار -Fe

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

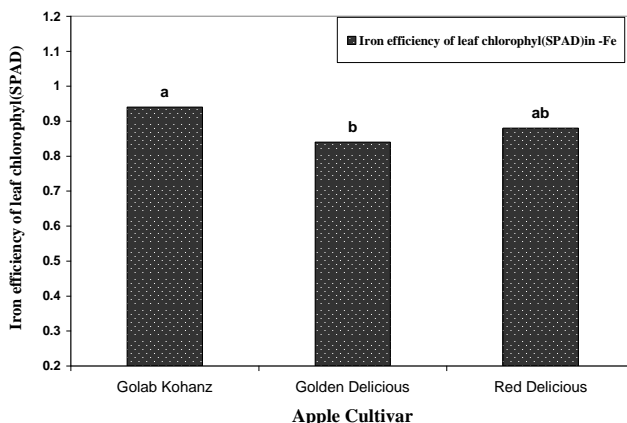
Figure 5. Effect of rootstock on iron-efficiency of leaf chlorophyll at -Fe treatment
Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$



شکل ۶. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر آهن-کارایی کلروفیل برگ در تیمار Fe+Bic

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 6. Effect of apple rootstocks on iron-efficiency of leaf chlorophyll in Fe+Bic treatment
Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$

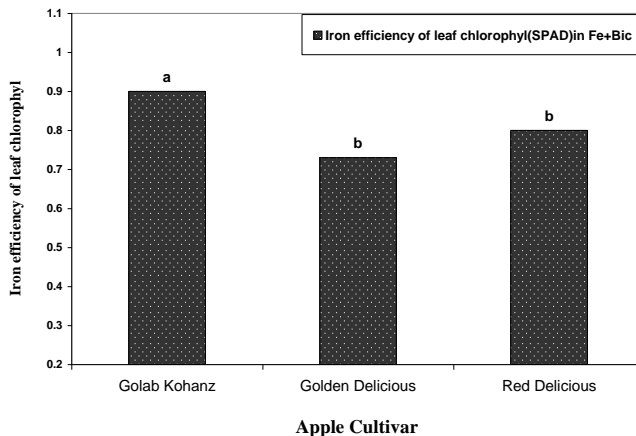


شکل ۷. مقایسه اثر رقم بر آهن-کارایی کلروفیل برگ در تیمار -Fe

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 7. Effect of cultivar on Iron-efficiency of leaf chlorophyll in -Fe treatment

Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$

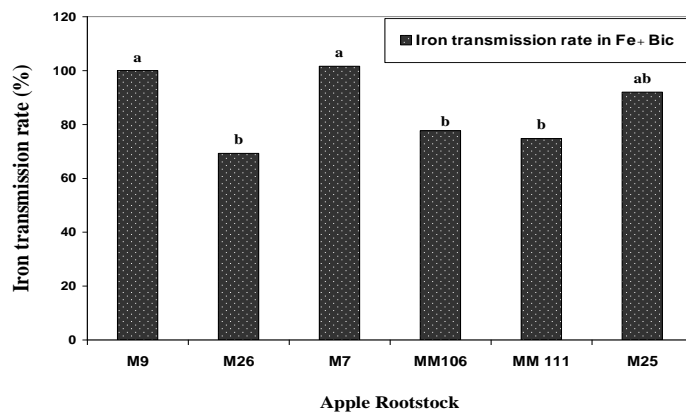


شکل ۸. مقایسه اثر رقم بر آهن-کارایی کلروفیل برگ در تیمار Fe+Bic

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 8. Effect of cultivar on Iron-efficiency of leaf chlorophyll in Fe+Bic treatment

Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$

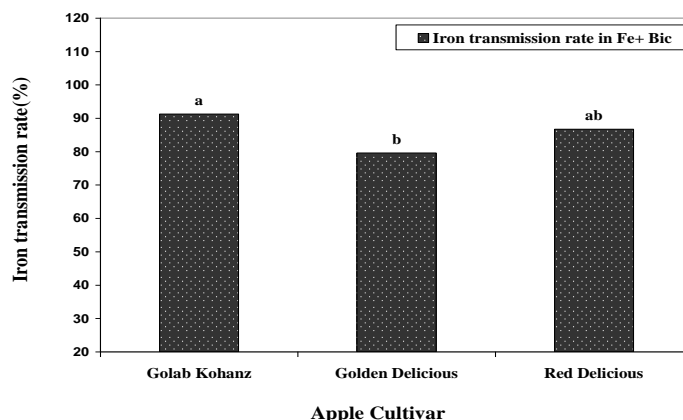


شکل ۹. مقایسه اثر پایه‌های رویشی سیب بر نسبت انتقال آهن در تیمار Fe+Bic

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Figure 9. Effect of apple rootstocks on Fe transmission proportion in Fe+Bic treatment

Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$



شکل ۱۰. مقایسه اثر رقم بر نسبت انتقال آهن در تیمار Fe+Bic

ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

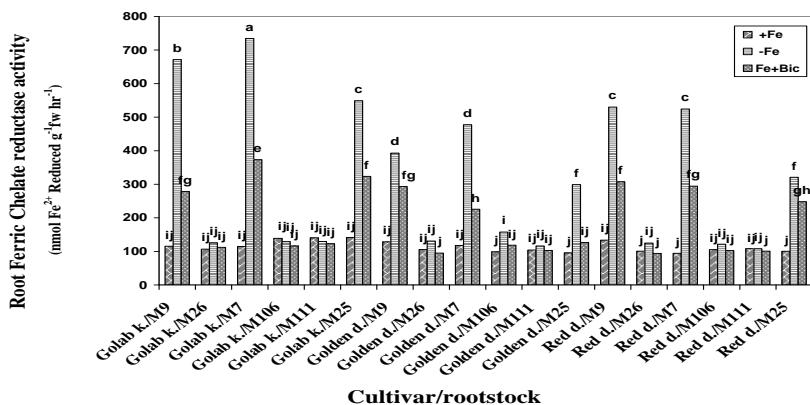
Figure 10. Effect of cultivar on Fe transmission proportion in Fe+Bic treatment
Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.01$

پایه MM111 هیچگونه افزایشی در فعالیت FCR نسبت به شاهد نداشته‌اند.

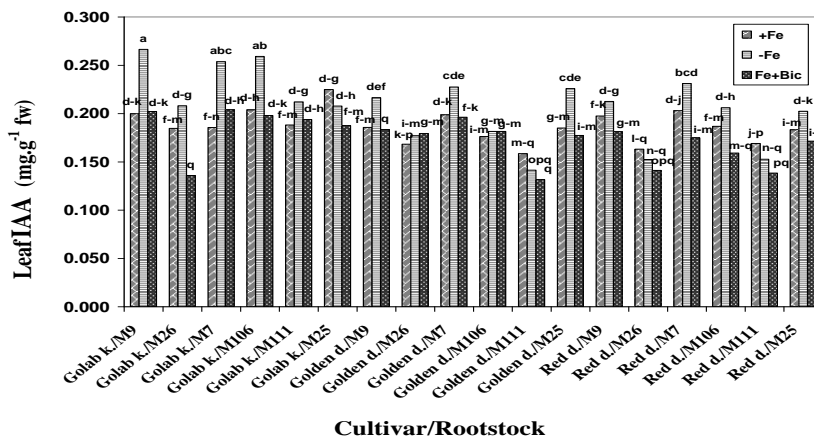
در حضور بی‌کربنات به‌علاوه آهن (Fe+Bic) نیز فعالیت ارقام روی پایه‌های M7، M9 و M25 به ترتیب ۲/۷۳، ۲/۳۲ و ۲/۰۷ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱۱). این نتایج در تطابق با یافته‌های دیگر محققین می‌باشد (Romera *et al.*, 1991; Molassiotis *et al.*, 2006; Gonzalo *et al.*, 2011). فعالیت FCR ریشه پایه‌های M9، M7 و M25 در مقایسه با سه پایه دیگر، کمتر تحت تأثیر سو بی‌کربنات قرار گرفته است که نشان می‌دهد در حضور بی‌کربنات نیز این پایه‌ها قادر به احیاء و جذب بیشتر Fe می‌باشند. یکی از دلایل این افزایش را می‌توان به اثر این پایه‌ها در کاهش pH ریزوسفر و افزایش حلالیت Fe(III) در شرایط تنش Fe نسبت داد (Schmidt, 2006; Romera *et al.*, 1991). همچنین فعالیت بیشتر FCR در رقم گلاب کهنز در ترکیب با پایه‌های کارآمد، نشان‌دهنده تأثیر رقم در واکنش به تنش آهن می‌باشد که احتمالاً از طریق افزایش میزان اکسین برگ و ریشه (شکل‌های ۱۲ و ۱۳) و متعاقب آن افزایش تعداد ریشه‌های مویین، این اثر خود را اعمال نموده است. زیرا عمده فعالیت احیایی در زیر نقطه انتهایی ریشه‌های مویین اتفاق می‌افتد و اکسین با افزایش تعداد انشعابات، در واقع محل‌های احیاء آهن را افزایش می‌دهد (Gupta *et al.*, 2011).

فعالیت آنزیم فریک کیلیت ردوکتاز ریشه

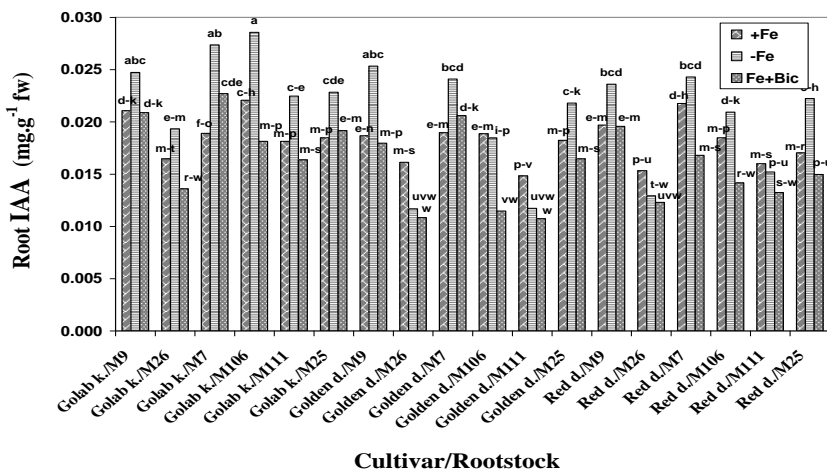
فعالیت آنزیم فریک کیلیت ردوکتاز ریشه به شدت تحت تأثیر کلیه تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. این متغییر تحت تأثیر رقم، پایه و سطوح تنش آهن معنی‌دار گردید ($P < 0.01$). همچنین اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آنها نیز معنی‌دار شد ($P < 0.01$). نتایج حاصل از بررسی اثر پایه، رقم و تنش آهن بر فعالیت FCR ریشه نشان داد (شکل ۱۱) رقم گلاب کهنز روی پایه M7 با تقریباً سه برابر افزایش فعالیت نسبت به شاهد (۳/۰۹ برابر) در شرایط حذف Fe از بستر آزمایش (تیمار -Fe) بیشینه فعالیت را داشته و این فعالیت در ارقام رد و گلدن دلشیز روی همان پایه و در همان تیمار تنش آهن به ترتیب با ۲/۸۵ و ۲/۴۹ برابر نسبت به شاهد، رتبه‌های بعدی را داشته‌اند. فعالیت این آنزیم در تیمار Fe+Bic نسبت به -Fe کمتر شده و در ارقام گلاب کهنز، رد و گلدن دلشیز روی پایه M7 به ترتیب ۱/۷۵، ۱/۸۳ و ۱/۴۸ برابر افزایش را نسبت به شاهد نشان می‌دهد. بررسی اثر متقابل رقم، پایه و تنش آهن بر فعالیت FCR بیانگر این است که در شرایط عدم حضور آهن در محلول غذایی، ارقام روی پایه M7 با ۵/۳۱ برابر نسبت به شاهد فعالیت بیشتری داشته‌اند که این میزان، حداکثر میزان فعالیت FCR در بین تیمارها بوده است. پس از آن M9 با ۴/۳۳ برابر فعالیت FCR بیشتر نسبت به شاهد قرار داشته در حالی که در تیمار -Fe ارقام روی



شکل ۱۱. مقایسه فعالیت آنزیم FCR ریشه در ترکیب‌های پیوندی سیب در تیمارهای سطوح تنش آهن ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 11. Root FCR enzyme activity of grafted apple plants in the iron stress treatments Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$



شکل ۱۲. مقایسه IAA برگ ترکیب‌های مختلف پیوندی سیب در سطوح تنش آهن ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 12. Leaf IAA of grafted apple plants in the iron stress levels Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$



شکل ۱۳. مقایسه IAA ریشه ترکیب پایدهای مختلف سیب در سطوح تنش آهن ستون‌های دارای حروف مشابه، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. Figure 13. Root IAA of different grafted apple combinations in the iron stress levels Columns with similar letters are not significantly different; using Duncan's multiple range test at $P \leq 0.05$

اکسین برگ و ریشه

اثرات ساده و متقابل رقم با سطوح تنش آهن ($P < 0.01$) و اثر متقابل سه‌گانه فاکتورها بر IAA برگ و ریشه ($P < 0.05$) معنی‌دار گردید. حذف آهن از بستر ریشه منجر به افزایش سطح IAA برگ در هر سه رقم گردیده است (شکل ۱۲) و این افزایش در رقم گلاب کهنز بیشتر و در ارقام گل‌دن‌دلشز و رد دلشز کمتر و در یک سطح بوده است. وجود بی‌کربنات موجب کاهش IAA برگ در هر سه رقم گردیده است ولی این کاهش در رقم رد دلشز محسوس‌تر بوده است. ارقام بر روی پایه‌های M9، M7، M25 و MM106 در شرایط عدم حضور آهن در بستر ریشه، تولید IAA برگ خود را افزایش داده‌اند. اعمال تیمار بی‌کربنات سطح IAA برگ‌های انتهایی شاخه روی پایه‌های M26، MM111 و M25 نسبت به شاهد کاهش داده است و روی سایر پایه‌ها تغییر محسوسی حاصل نشده است.

بررسی وضعیت IAA ریشه نیز در این آزمایش نشان می‌دهد که میزان IAA اندازه‌گیری‌شده در ریشه تا حدودی از الگوی تولید IAA در برگ تبعیت نموده است (شکل ۱۳). بیشترین میزان IAA برگ متعلق به رقم گلاب روی پایه‌های M9، MM106 و M7 بود و کمترین میزان آن مربوط به رقم گل‌دن‌دلشز روی پایه‌های M26 و MM111 بوده است. ترکیب گلاب کهنز علاوه بر این که روی پایه‌های M9، M7 و M25 واکنش‌های مثبتی را نشان داد، روی پایه‌های M26، MM106 و MM111 هم در تیمار Fe- نسبت به شاهد از نظر تولید و انتقال IAA مختصری افزایش نشان داد.

همبستگی بالای IAA برگ و ریشه ($r^{**} = 0.926$) نشان داد که انتقال قطبی اکسین به‌خوبی صورت گرفته است. غلظت اکسین در ریشه گیاهان دچار کمبود آهن، افزایش می‌یابد و پاسخ‌های مورفولوژیک شاخصی مانند تورم انتهایی ریشه، تشکیل ریشه‌های جانبی و توسعه تارهای کشنده را در پی دارد که این تغییرات مورفولوژیک را می‌توان با استفاده از IAA یا 2,4-D نیز شبیه‌سازی کرد (Gupta et al., 2011). اکسین احتمالاً عامل مهمی در شکل‌گیری فرایندهای مربوط به پاسخ به کمبود آهن در گیاهان با راهبرد I می‌باشد (Landsberg, 1996; Schmidt, 2006).

جلوگیری از سنتز یا انتقال قطبی IAA برای گیاهان با راهبرد I در شرایط تنش آهن می‌تواند پاسخ‌های مربوطه مانند تراوش H^+ یا توانایی احیاء ریشه، یا تشکیل ریشه‌های جانبی و متورم‌شده انتهایی ریشه را کاهش دهد (De la Guardia & Alcantara, 2002).

این نتایج با یافته‌های Wu et al. (2012) مطابقت دارد که با مقایسه دو گونه سیب، از نظر کارآمدی در جذب آهن نتیجه‌گیری کردند که این ریشه است که آغازگر اولین پاسخ به کمبود آهن می‌باشد و پیوندک نقشی ندارد. البته آنها چگونگی نقش اندام هوایی در انتقال سیگنال‌های اولیه از ریشه و متعاقب آن پاسخ گیاه به کمبود آهن را نیز بررسی نمودند. گرچه نوع رقم به‌طور مستقیم نمی‌تواند تأثیری بر فعالیت FCR ریشه داشته باشد ولی از آن جایی که میزان IAA برگ ارقام متفاوت است، این تأثیر به‌طور غیرمستقیم اعمال گردیده است. منطقه احیاء ریشه و محلی که بیشترین حجم تراوش پروتون، ترکیبات فنلی و بیشترین میزان فعالیت FCR و جذب مواد غذایی در آنجا صورت می‌گیرد در ناحیه ۲۰ میلی‌متری انتهایی ریشه قرار دارد. با توجه به نقش اکسین در افزایش انشعابات ریشه، طبیعتاً هرچه تعداد انشعابات بیشتر باشد سایت‌های احیا نیز افزایش می‌یابد؛ بنابراین احتمالاً فعالیت بیشتر FCR در رقم گلاب کهنز نسبت به سایر ارقام به این دلیل می‌باشد.

ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری‌شده نشان می‌دهند (جدول ۱) ارتباط بین صفات به‌جز کارایی جذب آهن ریشه در Fe- معنی‌دار گردیده است. همان‌طور که قبلاً هم اشاره گردید این صفت تحت تأثیر پایه و رقم قرار نگرفت. کارایی جذب آهن ریشه در Fe+Bic با سایر صفات همبستگی منفی دارد. به‌عبارت دیگر بی‌کربنات اثر منفی بر فعالیت FCR ریشه و IAA برگ و ریشه داشته است. همچنین با شاخص‌های آهن-کارایی و انتقال آهن ارتباط منفی معنی‌دار دارد. این ضرایب همبستگی نشان می‌دهند که در مجموع هر دو روش اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی و محاسبات نظری شاخص‌های آهن-کارایی مغایرتی باهم ندارند؛ اما با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل سه‌طرفه در ارزیابی‌های بیوشیمیایی، این روش از قدرت تفکیک بالاتری نسبت به روش تعیین شاخص‌های نظری برخوردار است.

جدول ۱. ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در ترکیب‌های پیوندی سیب

Table 1. Correlation coefficients between measured traits in apple cultivar/rootstock combinations

	Root FCR Activity	IAA of leaf	IAA of root	Iron transfer ratio in Fe ^T	Iron transfer ratio in Fe+Bic	Leaf absorption iron efficiency in -Fe	Leaf absorption iron efficiency in Fe+Bic	Root absorption iron efficiency in -Fe	Root absorption iron efficiency in Fe+Bic	Leaf SPAD iron efficiency in -Fe
Root FCR Activity										
IAA of leaf	0.683**									
IAA of root	0.725**	0.927**								
Iron transfer ratio in -Fe	0.825**	0.816**	0.867**							
Iron transfer ratio in Fe+Bic	0.872**	0.796**	0.867**	0.976**						
Leaf absorption iron efficiency in -Fe	0.782**	0.868**	0.942**	0.912**	0.939**					
Leaf absorption iron efficiency in Fe+Bic	0.834**	0.781**	0.885**	0.903**	0.957**	0.953**				
Root absorption iron efficiency in -Fe	0.03	0.309	0.272	-0.032	0.056	0.312	0.211			
Root absorption iron efficiency in Fe+Bic	-0.757**	-0.606**	-0.615**	-0.861**	-0.843**	-0.681**	-0.661**	0.263		
Leaf SPAD iron efficiency in -Fe	0.665**	0.717**	0.827**	0.776**	0.799**	0.793**	0.744**	0.206	-0.708**	
Leaf SPAD iron efficiency in Fe+Bic	0.740**	0.790**	0.906**	0.817**	0.850**	0.883**	0.858**	0.262	-0.626**	0.949**

*, **: Significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

* و **: معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ناکارا تقسیم نمود، پایه‌های MM106 و M25 هم رفتارهای بینابینی نشان می‌دهند. به‌علاوه، پاسخ مثبت رقم گلاب کهنز به تیمار تنش آهن حتی روی پایه‌های حساس هم تا حدودی مشهود است درحالی‌که در محاسبه شاخص‌های آهن-کارایی این تمایز دیده نشد. از دلایل این اختلاف این است که در روش محاسبه نظری کارایی جذب و انتقال آهن، فقط از یک متغیر غلظت آهن برگ و ریشه در تیمارهای تنش و شاهد استفاده می‌شود، درحالی‌که در روش دوم، علاوه بر غلظت آهن برگ و ریشه، صفات بسیار مهمی شامل سبزیگی و اکسین برگ و ریشه، و ظرفیت احیا ریشه (FCR) نیز در نظر گرفته می‌شوند که از عوامل کلیدی در واکنش گیاه به تنش آهن به‌شمار می‌روند؛ بنابراین حساسیت و قدرت تفکیک روش تخمین نظری آهن-کارایی نسبت به شاخص‌های بیوشیمیایی کمتر می‌باشد و در مقایسات دقیق غربالگری پایه و رقم بهتر است از صفات بیوشیمیایی استفاده شود.

نتیجه‌گیری

از مقایسه نتایج حاصل از محاسبه شاخص‌های نظری آهن-کارایی با صفات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده ملاحظه می‌شود که در روش محاسبه شاخص‌های نظری آهن-کارایی، فقط اثرات متقابل بین پایه و تیمار تنش و یا رقم و تیمار تنش آهن معنی‌دار گردیده است درحالی‌که صفات بیوشیمیایی علاوه بر اثرات دوگانه، در اثرات متقابل سه‌گانه نیز معنی‌دار شده‌اند. بر اساس شاخص‌های نظری، آهن-کارایی پایه‌های مورد بررسی را می‌توان به دو گروه آهن-کارا شامل M9 و M7 و پایه‌های M25 و آهن-ناکارا شامل MM106، MM111 و M26 تقسیم نمود، همچنین رقم گلاب کهنز به‌عنوان رقم آهن-کارا و دو رقم دیگر از ارقام آهن-ناکارا به حساب می‌آیند. اما در ارزیابی‌های حاصل از صفات بیوشیمیایی، علاوه بر این‌که پایه‌های M7، M9 و پایه‌های MM111 و M26 را می‌توان به ترتیب به‌عنوان پایه‌های آهن-کارا و آهن

REFERENCES

1. Abdollahi, H., Gasemi, A. A. & Mehrabipor, S. (2010). The effects of cultivar and rootstock interaction on iron chlorosis of some Iranian quince genotypes. *Seed and Plant Improvement Institute Journal*, 1, 1-26.
2. Asadi-Kangarshahi, A., Akhgaghi, A. N. & Samar, M. (2015). Chlorosis index and active iron for evaluating of citrus rootstocks resistance to soil limes. *Iranian Journal of Soil Research*, 3, 269-284.
3. Benyahia, H., Beniken, L., Omari, F. E., Benazzouze, A., Handaji, N., Msatef, Y. & Olitrault, P. (2011). Evaluation of the resistance of few citrus rootstocks to alkalinity by applying a fast test of screening. *African Journal of Agricultural Research*, 6(4), 780-784.
4. Cakmak, I., Ekiz, H., Yilamz, A., Torun, B., Kololi, N., Gultekin, I., Alkan, A. & Eker, S. (1997). Differential response of rey, triticale, bread wheat and durum wheats to zinc deficiency in calcareous soils. *Plant and Soil*, 188, 1-10.

5. Cesco, S., Neumann, G., Tomasi, N., Pinton, R. & Weiskopf, L. (2010). Release of plant-borne flavonoids into the rhizosphere and their role in plant nutrition. *Plant and Soil*, 329(1-2), 1-25.
6. Chouliaras, V., Dimassi, K., Therios, I., Molassiotis, A. & Diamantidis, G. (2004). Root-reducing capacity, rhizosphere acidification, peroxidase and catalase activities and nutrient levels of *Citrus taiwanica* and *C. volkameriana* seedlings, under Fe deprivation conditions. *Agronomie*, 24(1), 1-6.
7. Clark, R. B. (1990). Physiology of cereals for mineral nutrient uptake, use, and efficiency. In; V. C. Baligar (Ed.), *Crops as Enhancers of Nutrient Use*, pp131-209. Academic Press.
8. De laGuardia, M. D. & Alcántara, E. (2002). Bicarbonate and low iron level increase root to total plant weight ratio in olive and peach rootstock. *Journal of Plant Nutrition*, 25(5), 1021-1032.
9. Emami, A. (1997). *Plants Analysis Methods*. Agricultural Research, Education and Extension Organization Publication, Iran. 128 p. (in Farsi)
10. Fageria, N. K., Baligar, V. C. & Li, Y. C. (2008). The role of nutrient efficient plants in improving crop yields in the twenty first century. *Journal of Plant Nutrition*, 31(6), 1121-1157.
11. Fageria, N. K., Santos, A. B., Barbosa Filho, M. P. & Guimarães, C. M. (2008). Iron toxicity in lowland rice. *Journal of Plant Nutrition*, 31(9), 1676-1697.
12. Fernández, A., Fiehn, O., López-Millán, A. F. & Abadía, J. (2010). Changes in the proteomic and metabolic profiles of *Beta vulgaris* root tips in response to iron deficiency and resupply. *BMC Plant Biology*, 10(1), 1.
13. Forner-Giner, M. A. & Ancillo, G. (2011). *Iron Stress in Citrus*. Intech Open Access Publisher.
14. Forner-giner, M. A. (2009). The citrus rootstocks 'Cleopatra' mandarin, *Poncirus trifoliata*, Forner-Alcaide 5 and Forner-Alcaide 13 vary in susceptibility to iron deficiency chlorosis. *Journal of the American Pomological Society*, 63(4), 160-167.
15. Forno, D. A., Youshida, S. & Asher, C. J. (1975). Zinc deficiency in rice. II. Studies on two varieties differing in susceptibility to zinc deficiency. *Journal of Plant Soil*, 42, 551-563.
16. Gogorcena, Y., Abadía, J. & Abadía, A. (2005). A new technique for screening iron-efficient genotypes in peach rootstocks: Elicitation of root ferric chelate reductase by manipulation of external iron concentrations. *Journal of Plant Nutrition*, 27(10), 1701-1715.
17. Gonzalo, M. J., Moreno, M. A. & Gogorcena, Y. (2011). Physiological responses and differential gene expression in *Prunus* rootstocks under iron deficiency conditions. *Journal of Plant Physiology*, 168(9), 887-93.
18. Gourley, C. J., Allan, D. L. & Russelle, M. P. (1994). Plant nutrient efficiency: A comparison of definitions and suggested improvement. *Plant and Soil*, 158(1), 29-37.
19. Gupta, M., Kumar, A. & Gautam, R. (2011). Iron essentiality; in relation to morphology and physiology of roots. *Indian Journal of Applied and Pure Biology*, 26(1), 91-105.
20. Graham, R. D., Ascher, J. S. & Hynes, S. C. (1992). Selecting zinc-efficient cereal genotypes for soils of low zinc status. *Plant and Soil*, 146, 241-250.
21. Jones, A., Panagos, P., Barcelo, S., Bouraoui, F., Bosco, C., Dewitte, O., Gardi, C., Erhard, M., Hervás, J. & Hiederer, R. (2012). *The State of Soil in Europe*. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
22. Khoshgofarmanesh, A. H., Schulin, R., Chaney, R. L., Daneshbakhsh, B. & Afyuni, M. (2010). Micronutrient-efficient genotypes for crop yield and nutritional quality in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(1), 83-107.
23. Khoshgofarmanesh, A. H., Eshghizadeh, H. Sanai, A., Mirlohi, M. & Taban, M. (2012). Physiological index of iron deficiency of the trees in Esfahan landscape. *Iranian Journal of Agricultural and Forestry, Water and Soil Science and Technology*, 64, 19-31.
24. Ksouri, R., Debez, A., Mahmoudi, H., Ouerghi, Z., Gharsalli, M. and Lachaâl, M. (2007). Genotypic variability within Tunisian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) facing bicarbonate-induced iron deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(5), 315-322.
25. Landsberg, E. C. (1996). Hormonal regulation of iron-stress response in sunflower roots: a morphological and cytological investigation. *Protoplasma*, 194(1-2), 69-80.
26. Mahmoudi, H., Ksouri, R., Gharsalli, M. & Lachaâl, M. (2005). Differences in responses to iron deficiency between two legumes: Lentil (*Lens culinaris*) and chickpea (*Cicer arietinum*). *Journal of Plant Physiology*, 162(11), 1237-1245.
27. Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. (2nd eds.) Academic Press. New York.
28. Mengel, K. (1994). Iron availability in plant tissues-iron chlorosis on calcareous soils. *Plant Soil*, 165, 275-283.
29. Mirabdolbaghi, M. (2007). Study the effect of lime on decreasing leaf nutrient and lime-induced chlorosis on apple clonal rootstocks. *Final Report. Horticultural Science Department of Agriculture Ministry, Iran*. (in Farsi)

30. Molassiotis, A., Tanou, G., Diamantidis, G., Patakas, A. & Therios, I. (2006). Effects of 4-month Fe deficiency exposure on Fe reduction mechanism, photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense in two peach rootstocks differing in Fe deficiency tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 163(2), 176-185.
31. Mohamadi, S., Bani Nasab, B., Khoshgoftarmanesh, A. H. & Ghasemi, A. A. (2013). *Quince (Cydonia oblonga Mill.) seedling and clonal rootstocks responses to iron*. 8th Iranian Horticultural Congress. Bu Alisina University.
32. Motesharezadeh, B. Hesam-Arefi, A. & Savaghebi, G. R. (2017). The effect of bicarbonate on iron (Fe) and zinc (Zn) uptakes by soybean varieties. *Desert*, 22(2), 145-155.
33. Pestana, M., Correia, P. J., David, M., Abadía, A., Abadía, J. & de Varennes, A. (2011). Response of five citrus rootstocks to iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174(5), 837-846.
34. Pestana, M., Varennes, A., Abad, J. & Faria, E. (2005). Differential tolerance to iron deficiency of citrus rootstocks grown in nutrient solution. *Scientia Horticulturae*, 104, 25-36.
35. Pirmoradian, M., Naseri, L., Abdollahi, H. & Shahabi, A. A. (2017). Ferric chelate reductase activity as screening index for selecting iron chlorosis resistance of apple rootstocks. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(3), 655-668. (in Farsi)
36. Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B. & Soldatini, G. F. (2001). Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. *Journal of Experimental Botany*, 52, 25-35.
37. Rombola, A. D., Bruggemann, W., Lopez, A. F., Tagliavini, M., Abadía, J., Marangoni, B. & Moog, P. R. (2002). Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*, 22, 869-875.
38. Romera, F. J., Alcántara, E. & De La Guardia, M. D. (1991). Characterization of the tolerance to iron chlorosis in different peach rootstocks grown in nutrient solution. *Plant and Soil*, 130(1-2), 121-125.
39. Romera, F. J., García, M. J., Alcántara, E. & Pérez-Vicente, R. (2011). Latest findings about the interplay of auxin, ethylene and nitric oxide in the regulation of Fe deficiency responses by strategy I plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6(1), 167-170.
40. Shabi, A. A. & Mallakoti, M. J. (2001). The effects of water irrigation bicarbonate on leaf chlorophyll and nutrients in different apple cultivars. *Soil and Water*, 12(14), 135-148.
41. Schmidt, W. (2006). Iron stress responses in roots of strategy I plants. In *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms Springer Netherlands*. Pp. 229-250.
42. Sharma, S. (2007). Adaptation of photosynthesis under iron deficiency in maize. *Journal of Plant Physiology*, 164(10), 1261-1267.
43. Soil Science Society of America. (1997). Glossary of Soil Science Terms. *Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin*.
44. Tabatabaei, S., Razzazi, A., Khoshgoftarmanesh, A. H., Khodaeian, N., Mehrabi, Z., Fathian, S., Askari, E., Ramezanzadeh, F. & Arabzadegan, H. (2011). Response of different crops to iron deficiency in soilless culture. *Agronomy Journal*, 90, 65-73.
45. Tagliavini, M. & Rombolà, A. D. (2001). Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *European Journal of Agronomy*, 15, 71-92.
46. Tagliavini, M., Scudellari, D., Marangoni, B., Bastianel, A., Franzin, F. & Zamborlini, M. (1992). Leaf mineral composition of apple tree: Sampling date and effects of cultivar and rootstock 1. *Journal of Plant Nutrition*, 15(5), 605-619.
47. Tagliavini, M. & Rombolà, A. D. (2001). Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *European Journal of Agronomy*, 15(2), 71-92.
48. Wu, H., Li, L., Du, J., Yuan, Y., Cheng, X. & Ling, H. Q. (2005). Molecular and biochemical characterization of the Fe (III) chelate reductase gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 46(9), 1505-1514.
49. Wu, T., Zhang, H. T., Wang, Y., Jia, W. S., Xu, X. F., Zhang, X. Z. & Han, Z. H. (2012). Induction of root Fe (III) reductase activity and proton extrusion by iron deficiency is mediated by auxin-based systemic signalling in *Malus xiaojinensis*. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 859-870.