دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و یکم، شماره دوم، ۱۳۹۳
http://jopp.gau.ac.ir

تأثیر کود زیستی EM بر پاسخ‌های فتوسنتزی، پرولین و غلظت نیتروژن انار تحت تنش شوری

*محمدعارف پوریان[۱]، غلامحسین داوری‌نژاد[۲] و یحیی سلاح‌ورزی[۳]
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد،
[۳]مربی پژوهشی مرکز تحقیقات انار دانشگاه فردوسی مشهد
تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/٤/۷

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی در مناطق مورد کشت انار در ایران می‌باشد. فتوسنتز و سوخت و ساز نیتروژن از مهم‌ترین فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان می‌باشند. این آزمایش به‌منظور، بررسی اثر ریزجانداران مفید (EM) (صفر و ۱ درصد) بر پاسخ‌های فتوسنتزی، غلظت نیتروژن و پرولین در رقم انار شیشه‌کپ تحت شرایط شوری (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) با ٤ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد، کاربرد ریزجانداران مفید می‌تواند اثرات منفی شوری بر پاسخ‌های فتوسنتزی را کاهش دهد. همچنین محتوای کلروفیل b و کل، هدایت روزنه‌ای، میزان فتوسنتز و غلظت نیتروژن تحت شرایط شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) و بدون تیمار EM به‌ترتیب ٦٦/٥، ٥٤/٣، ٣٨/٦، ٥١/٤ و ٣٨/١ درصد، کاهش نسبت به تیمار شاهد داشت. کاربرد EM در این شرایط تنشی سبب کند شدن روند نزولی صفات مذبور شده به‌طوری‌که به‌ترتیب ٤٤/١٢، ٢٣/٥٢، ٣٩/٧، ٤٤/٩ و ٢٨/٢ درصد، کاهش نسبت به تیمار شاهد را نشان دادند. همچنین افزایش سطح شوری موجب افزایش پرولین برگ شد. براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش به‌نظر می‌رسد کاربرد ریزجانداران مفید بتواند در باغ‌های انار رقم شیشه‌کپ اثرات مضر شوری را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، شیشه کپ، کلروفیل، هدایت روزنه‌ای

* مسئول مکاتبه: pourian.aref@gmail.com

مقدمه

انار (*Punica granatum* L.) یکی از میوه‌های مهم تجاری می‌باشد که به‌طور گسترده‌ای در بسیاری از مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان کشت می‌گردد (تهرانی‌فر و همکاران، ۲۰۱۰). منطقه فردوس در استان خراسان جنوبی، سابقه طولانی در زمینه تولید انار داشته و در حدود ۲۵۰۰ هکتار باغ انار (رقم شیشه‌کپ) در این منطقه وجود دارد که هر ساله انار با بهترین کیفیت توسط باغداران این منطقه تولید می‌گردد (بهزادی‌شهربابکی، ۱۹۹۸). از سوی دیگر شوری از مهم‌ترین تنش‌های محیطی می‌باشد که تولید محصولات کشاورزی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. در مناطقی که برای تولید محصولات کشاورزی نیاز به آبیاری دارند، شور شدن خاک نیز امری غیرقابل اجتناب می‌باشد که این پدیده به‌تدریج به یک مشکل عمده در مناطق خشک و نیمه‌خشک تبدیل می‌شود (فلاورز و همکاران، ۲۰۰۵)، به‌طوری‌که ۳۰-۲۰ درصد زمین‌های تحت آبیاری جهان به‌طور نامطلوبی تحت‌تأثیر شوری قرار دارند (مات و وانگ، ۲۰۰۷). بیش‌ترین زمین‌های شور در آسیا پس از چین، هند و پاکستان متعلق به ایران است (شاهسوند، ۲۰۰۰). براساس آمار موجود، سطح کلی خاک‌های شور در ایران حدود ۲۵ میلیون هکتار تخمین زده می‌شود که حدود ۳۰ درصد مساحت دشت‌ها و متجاوز از ۵۰ درصد زمین‌های مورد آبیاری کشور، تحت‌تأثیر شوری است (مهاجر میلانی، ۱۹۹٦). با توجه به کشت انار در مناطق خشک و نیمه‌خشک، بیش‌تر مناطق تولید انار در ایران با مشکل شوری مواجه هستند (نائینی و همکاران، ۲۰۰٤).

یکی از کودهای زیستی که توجه بسیاری را امروزه به خود جلب کرده ریزجانداران مفید[1] (EM) است. این کود اولین بار توسط تیراو هیگا از دانشگاه ریوکیوس ژاپن معرفی شد (هیگا، ۱۹۹۱). گزارش شده که این ماده شامل ترکیبی از ۸۰ گونه ریزجانداران مفید می‌باشد که شامل جمعیت‌هایی از باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها، تعداد کم‌تری باکتری‌های فتوسنتزی، رشته‌های قارچ و اکتینومیست‌ها می‌باشد (مایر و همکاران، ۲۰۱۰). گونه‌های اصلی برای تهیه EM شامل باکتری‌های اسید لاکتیک *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei*، *Streptococcus lactis*، باکتری‌های فتوسنتزی *Rhodopseudomonas cerevisiae* و *Candida utilis* و اکتینومیست‌های *Streptomyces albus* و *Streptomyces griseus* و در نهایت قارچ‌های *Aspergillus oryzae* و *Mucor hiemalis* می‌باشد (مایر و همکاران، ۲۰۱۰). با توجه به نقش حفاظتی که EM می‌تواند در

1- Effective Microorganisms

برابر تنش‌های محیطی داشته باشد، این پژوهش به‌منظور بررسی اثر EM بر متغیرهای بیوشیمیایی رقم شیشه‌کپ انار تحت شرایط شوری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در تابستان ۱۳۹۰ به مرحله اجرا در آمد. نهال‌های ۲ ساله انار رقم شیشه‌کپ کشت شده در گلدان‌هایی با ترکیب خاکی شامل: ۷۰ درصد خاک زراعی و ۳۰ درصد ماسه شسته شده مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ سطح EM (صفر و ۱ درصد)، ٤ سطح شوری و ٤ تکرار انجام شد. برای اعمال تنش شوری از نسبت ۱:۱۰ کلسیم کلرید و سدیم کلرید در ٤ سطح تنشی شامل: صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار استفاده شد. اعمال تیمارها همراه با آب آبیاری انجام شد، به‌نحوی‌که غلظت ۱ درصد EM و غلظت‌های مدنظر شوری در هر نوبت آبیاری به خاک گلدان‌ها اضافه شدند. در نهایت و ۳ ماه پس از شروع اعمال تیمارها صفات ذیل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

میزان فتوسنتز برگ‌های جوان و کاملاً توسعه‌یافته هر تیمار در ساعت ۱۲-۱۰ صبح به‌وسیله دستگاه فتوسنتز مدل LCA-4 اندازه‌گیری شد. از برگ‌های تازه بالغ شده برای اندازه‌گیری هدایت روزنه‌ای به‌وسیله دستگاه پرومتر[1] استفاده شد. نیتروژن موجود در برگ‌ها با استفاده از روش کجلدال اندازه‌گیری شد (امامی، ۱۹۹٦). نمونه‌های خشک و آسیاب شده پس از مراحل هضم در دمای ٤۵۰ درجه سانتی‌گراد، در دستگاه تقطیر با استفاده از اسید بوریک و معرف‌های رنگی تیتر گردیده و مقدار نیتروژن محاسبه شد. مقدار پرولین با استفاده از روش رنگ‌سنجی (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از برگ‌های بالغ استفاده شد و عصاره‌گیری با متانول ۹۹ درصد انجام شد. مخلوط به‌دست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. میزان جذب نور در طول موج‌های ٦۵۳ و ٦٦٦ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) انجام شد. در نهایت نیز براساس رابطه‌های زیر مقدار کلروفیل a و b و کل محاسبه گردید (دره و همکاران، ۱۹۹۸).

1- Leaf Prometer, Model SC-1, Decagon Devices

$$CHL_a = ۱۵/٦٥A_{٦٦٦} - ۷/۳٤۰A_{٦٥۳}$$
$$CHL_b = ۲۷/۰٥A_{٦٥۳} - ۱۱/۲۱A_{٦٦٦}$$
$$CHL_t = CHL_a + CHL_b$$

برای محاسبه‌های آماری از نرم‌افزار JMP 8.0 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد و به روش آزمون توکی انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس صفات در جدول ۱ آمده است. بین سطوح EM در تمام صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطوح مختلف شوری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل EM و شوری نیز در کلروفیل b، کلروفیل کل، فتوسنتز، نیتروژن و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد و در مورد هدایت روزنه‌ای در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس به‌دست آمده از میانگین مربعات صفات مورد مطالعه.

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	هدایت روزنه‌ای	فتوسنتز	نیتروژن	پرولین
EM	۱	۰/۵۳*	۳/۰۷**	۱٤٤/۷**	۷۸٦/۰**	۰/٤۷**	۰/۷۳**	۳/۰۱**
شوری	۳	۹/۹٦**	۷/۳۷**	٤۳۱/٥**	۷٦۰/۹**	۲/۰۰**	۱/۲۲**	۲۳/۸۸**
EM × شوری	۳	۰/۰٤ns	۰/۹۳**	٥٥/۲٥**	۲٤/۳۹*	۰/۰٦**	۰/۰۷**	۰/٤۰**
خطای آزمایش	۲٤	۰/۱۱	۰/۰٥	۰/٦۳	۷/۲۱	۰/۰۰٥	۰/۰۰۸	۰/۰۱

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار.

کلروفیل a، b و کل: استفاده از EM در شرایط تنش شدید شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) به‌ترتیب ٤٤/۱۲ و ۲۳/٥۲ درصد محتوی کلروفیل b و کل را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (جدول ۲). همچنین برهم‌کنش دو عامل مورد بررسی بر محتوی کلروفیل a معنی‌دار نشد. کاهش محتوی کلروفیل در اثر شوری براساس گزارش‌های داده شده از طرف پژوهش‌گران دیگر می‌تواند ناشی از اثر بازدارندگی یون‌های تجمع‌یافته در کلروپلاست (چوخامپاینگ، ۲۰۱۱)، تخریب کلروفیل توسط تنش اکسیداتیو

ناشی از نمک (سونجر و یاسار، ۲۰۱۱)، فعال شدن آنزیم کلروفیلاز[1] یا ناپایدار شدن کمپلکس رنگیزه-پروتئین توسط یون‌های نمک (ساها و همکاران، ۲۰۱۰) باشد. نتایج این آزمایش با گزارش‌های نازربیگی و همکاران (۲۰۱۱) همخوانی دارد.

جدول ۲- اثر EM بر رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ انار رقم شیشه کپ تحت تنش شوری.

EM (درصد)	شوری (میلی‌مولار)	کلروفیل b ($mg\ g^{-1}$ FW)	کلروفیل کل ($mg\ g^{-1}$ FW)
۰	۰	۲/۳۳^{bc}	۷/٦٤^{b}
	۵۰	۱/۷۲^{cd}	٦/۳۸^{c}
	۱۰۰	۰/۹٤^{e}	٤/۰۵^{d}
	۱۵۰	۰/۷۸^{e}	۳/٤۹^{d}
۱	۰	٤/۱۷^{a}	۹/۹۹^{a}
	۵۰	۲/٤۳^{ab}	۷/۲۸^{b}
	۱۰۰	۱/۱۵^{de}	٤/٦۲^{d}
	۱۵۰	۰/۸۸^{e}	۳/۹۲^{d}

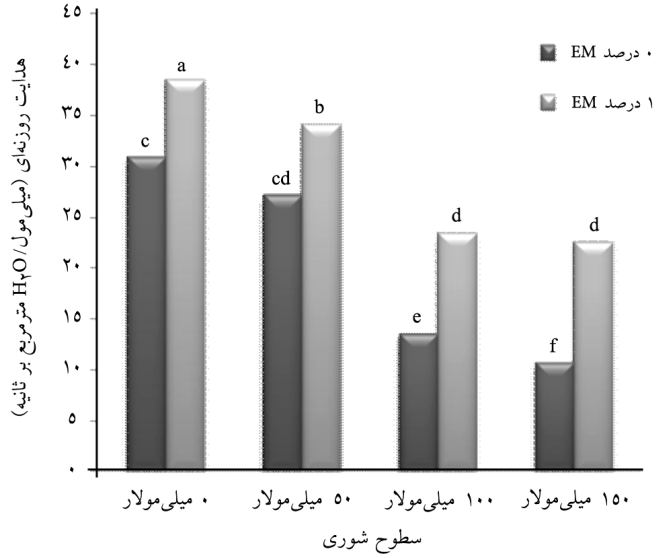
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون توکی می‌باشند.

همان‌گونه که در جدول ۲ نیز مشاهده می‌شود، بیش‌ترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل به‌ترتیب ٤/۱ و ۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در گیاهان تیمار شده با غلظت ۱ درصد EM و بدون شوری و کم‌ترین میزان آن‌ها به‌ترتیب ۰/۷ و ۳/٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر در تیمار شدید شوری و بدون EM به‌دست آمد. در این آزمایش تیمار ۱ درصد EM مقدار کلروفیل a را تحت شرایط تنش شوری افزایش داد، اما این افزایش معنی‌دار نبود. نتایج به وضوح اثرات مثبت کاربرد EM در ساخت کلروفیل‌ها به هنگام اعمال تنش شوری را نشان می‌دهد. EM با قرار دادن آب و مواد غذایی بیش‌تر توانست میزان ساخت رنگیزه‌ها را افزایش دهد که نتایج این آزمایش با نتایج الهوردیو و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد.

هدایت روزنه‌ای: شکل ۱ اثر متقابل سطوح مختلف EM و شوری، در میانگین هدایت روزنه‌ای رقم انار مورد آزمایش را نشان می‌دهد. تجزیه و تحلیل داده‌ها مشخص کرد در صورت عدم کاربرد EM و

1- Chlorophyllase

افزایش سطح تنش شوری مقدار هدایت روزنه‌ای کاهش می‌یابد، همچنین طبق نتایج به‌دست آمده اثرات مثبت کاربرد EM بر میزان هدایت روزنه‌ای گیاهان تحت تنش شوری از نظر آماری معنی‌دار بوده و کاربرد غلظت ۱ درصد از EM میزان کاهش هدایت روزنه‌ای برگ را کم‌تر نمود (شکل ۱). پاسخ‌های روزنه، ناشی از اثر اسمزی تنش شوری می‌باشد، شوری در ابتدا به‌علت اختلال در رابطه‌های آبی گیاه و پس از آن به‌علت ساخت سریع ABA، روی هدایت روزنه‌ای تأثیر منفی می‌گذارد (فریک و همکاران، ۲۰۰٤). افزایش سریع در تولید ABA در بافت‌های فتوسنتزی در ظرف مدت ۱۰ دقیقه پس از افزودن ۱۰۰ میلی‌مولار نمک گزارش شده است (فریک و همکاران، ۲۰۰٤). بسته شدن روزنه در گیاهان تحت تیمار شوری، به احتمال زیاد توسط سیگنال‌هایی از ریشه تنظیم می‌شود (داویس و همکاران، ۲۰۰۵) اثر افزایشی EM بر هدایت روزنه‌ای به‌علت جلوگیری از اختلال در رابطه‌های آب بود که مشابه گزارش شو سونگ و همکاران (۲۰۰۳) بود. آزمایش‌های انجام شده توسط سانگاکارا (۱۹۹۳) مشخص نموده که EM باعث بهبود خصوصیات ساختمانی خاک و افزایش ظرفیت نگهداری آب در خاک شد.

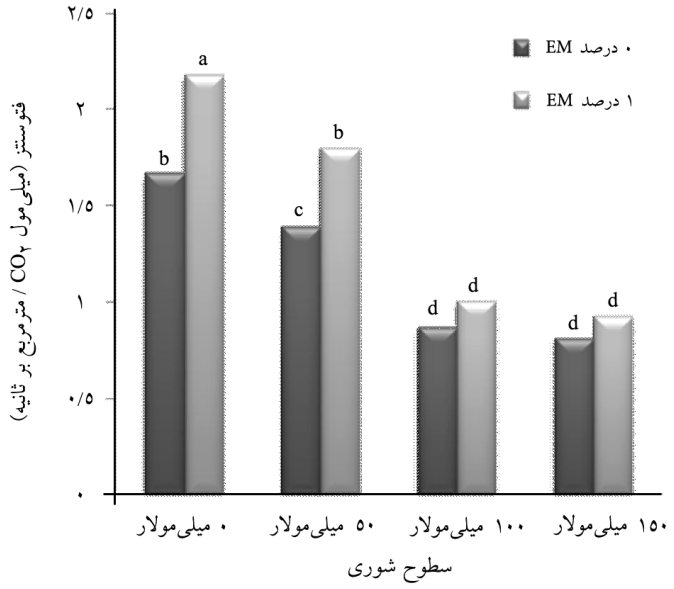


شکل ۱- اثر EM بر هدایت روزنه‌ای برگ رقم شیشه‌کپ انار تحت شرایط تنش شوری.

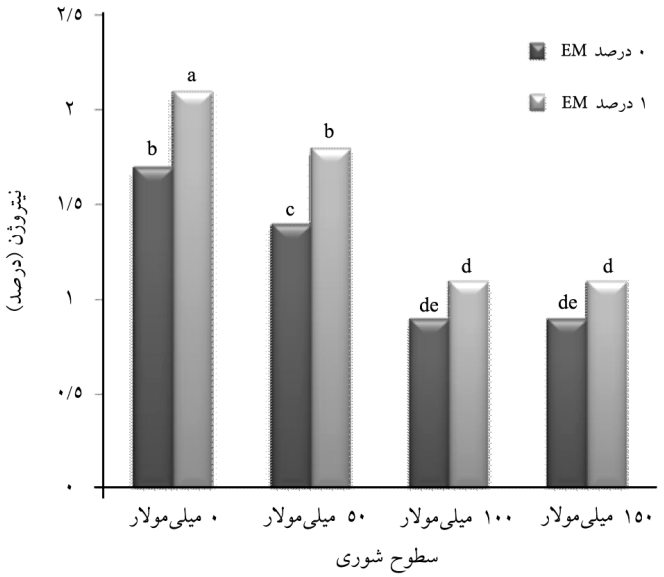
فتوسنتز: نتایج به‌دست آمده، روند نزولی میزان فتوسنتز در هر دو حالت کاربرد و عدم کاربرد نداشتن EM با افزایش شوری را نشان می‌دهد (شکل ۲). طبق نتایج به‌دست آمده، اضافه نمودن EM به آب آبیاری، فرآیند کاهش فتوسنتز در برگ‌ها را در شرایط شوری به تاخیر انداخت. کاهش میزان فتوسنتز در شرایط تنش شوری با گزارش‌های دیگر پژوهش‌گران از جمله علی و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت دارد. تنش شوری سبب افزایش پتانسیل اسمزی و نشت Na^+ به درون سیتوسل شده و موجب انتقال ندادن الکترون فتوسنتزی می‌گردد (پاریدا و داس، ۲۰۰۵) همچنین تنش شوری باعث کاهش هدایت روزنه‌ای (ژائو و همکاران، ۲۰۰۷) و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن[1] شده، که منجر به آسیب اکسیداسیونی به سیستم‌های نوری می‌شود (طباطبایی، ۲۰۰٦) از طرف دیگر، سمیت نمک با تغییر فعالیت آنزیم‌های مؤثر در فتوسنتز و پیشرفت عوارض پیری سبب کاهش فتوسنتز می‌گردد (پاریدا و داس، ۲۰۰۵). یامادا و همکاران (۱۹۹٦) گزارش کردند که EM با افزایش توسعه و فعالیت ریشه موجب افزایش بازده فتوسنتزی شده است. برخی از ریزجانداران با تولید مقدار مؤثری از اکسین و سایتوکنین سبب افزایش تعداد ریشه‌های موئین و انشعابات ریشه‌ای (جاگناو و همکاران، ۱۹۹۱) و در نهایت سبب جذب بیش‌تر مواد غذایی از خاک می‌شوند و شرایط را برای رشد بیش‌تر گیاه فراهم می‌نماید. نتایج این پژوهش با یافته‌های کویزرا و همکاران (۲۰۱۰) نیز همخوانی دارد.

مقدار نیتروژن برگ: طبق نتایج به‌دست آمده حداکثر و حداقل غلظت نیتروژن به‌ترتیب ۱/۷ و ۱ درصد مربوط به کاربرد ۱ درصد EM در شرایط بدون شوری و تیمار بدون EM با سطح شوری، ۱۰۰ میلی‌مولار بود (شکل ۳). نتیجه گزارش گراتن و گریو (۱۹۹۹) کاهش در تجمع نیتروژن در گیاهان به‌دلیل تنش شوری را نشان داده است. نیتروژن در تولید کلروفیل و فرایند فتوسنتز نقش اساسی ایفا می‌کند (ناکاساتین و همکاران، ۲۰۰۰)، به همین دلیل، هر گونه کمبود نیتروژن موجب کاهش ذخایر کلروفیل برگ شده و به‌دنبال آن کاهش شدت فتوسنتز را در پی خواهد داشت (ابراهیم‌زاده، ۱۹۹۸). کاهش میزان نیتروژن می‌تواند ناشی از اثر آنتاگونیسمی یون کلر در جذب نیترات، کاهش سوخت و ساز نیتروژن در اثر افت فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز برگ باشد (گراتن و گریو، ۱۹۹۹) گزارش شده اثر منفی تنش شوری بر جذب نیتروژن گیاه، به‌شدت به تغییر در فعالیت آنزیم‌های دخیل در مسیر جذب NO_3^- (به‌خصوص نیترات ردوکتاز) بستگی دارد (دبوبا و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج آزمایش نشان‌دهنده تأثیر مثبت EM بر غلظت نیتروژن برگ در شرایط شوری بود (شکل ۳). به‌نظر می‌رسد EM می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم نیتریت ردوکتاز (شو سونگ و همکاران، ۲۰۰۳) و همچنین افزایش جذب مواد غذایی (هیگا، ۱۹۹۱) موجب افزایش غلظت نیتروژن گردد.

1- Reactive Oxygen Species (ROS)

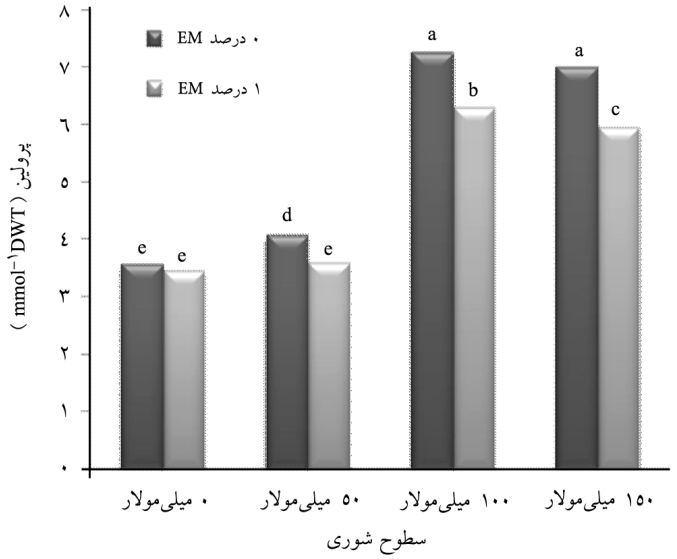


شکل ۲- اثر EM بر فتوسنتز برگ رقم شیشه‌کپ انار تحت شرایط تنش شوری.



شکل ۳- اثر EM بر غلظت نیتروژن برگ رقم شیشه‌کپ انار تحت شرایط تنش شوری.

پرولین: نتایج به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد، عدم کاربرد EM و افزایش سطح شوری موجب بالا رفتن غلظت پرولین برگ می‌گردد اما کاربرد EM در این شرایط باعث کاهش این روند صعودی می‌شود (شکل ۳). تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش پاسخ دفاعی گیاه برای حفظ فشار اسمزی سلول می‌باشد که با صرف انرژی زیادی همراه است (بایر، ۲۰۰۷). صرف انرژی زیاد برای تنظیم اسمزی برای مقابله با شوری باعث کاهش کارایی ریشه در تامین عناصر غذایی و آب برای سایر اندام‌ها می‌شود و سبب کاهش رشد اندام هوایی می‌گردد (کافی و استوارت، ۱۹۹۸) و با توجه به نقش EM در جذب آب و مواد غذایی تطابق اسمزی به تاخیر می‌افتد در نتیجه گیاه می‌تواند انرژی بیش‌تری را صرف رشد اندام هوایی اختصاص دهد.



شکل ٤- اثر EM بر غلظت پرولین برگ رقم شیشه‌کپ انار تحت شرایط تنش شوری.

نتیجه‌گیری

در این آزمایش علایم ظاهری ناشی از صدمه نمک در سطوح شوری بالاتر از ۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که رقم شیشه‌کپ انار می‌تواند شوری آب آبیاری را تا سطح ۵۰ میلی‌مولار به خوبی تحمل کند. ریزجانداران موجود در EM توانستند با جلوگیری از کاهش

فتوسنتز و بسته شدن روزنه‌ها تحت سطوح پایین تنش شوری، رشد و نمو گیاه را تحریک و پاسخ گیاه به تنش را به تاخیر بیاندازند. این ترکیب با کاهش ساخت پرولین تحت تنش از اتلاف انرژی جلوگیری و سبب صرف انرژی برای رشد گیاه گردید. بر این اساس به‌نظر می‌رسد می‌توان از ریزجانداران مفید، برای افزایش مقاومت به شوری در انار استفاده نمود.

منابع

1. Ali, G., Srivastava, P.S., and Iqbal, M. 1999. proline accumulation, protein pattern and photosynthesis in regenereants grown under NaCl stress. Biol. Plant. 42: 89-95.
2. Allahverdiyev, S.R., Atik, A., Bayazıt, S.I., and Aida, S. 2011. The response of photosystem II and photosynthetic pigments to salt and Baikal I in tree seedlings. Afr. J. Biotech. 10: 4. 535-538.
3. Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare. 1973. Rapid determination of free prolinew for water stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.
4. Bayer, C. 2007. Proper proline management needed for effective results. Sci. Agric. 8: 10-25.
5. Behzadi Shahrbabaki, H. 1998. Genetic divenity of pomegmnate genotypes in lran. Nashr Amoozesh Keshavarzi. (In Persian)
6. Chookhampaeng, S. 2011. The Effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum L.*) seedling. Eur. J. Sci. Res. 49: 103-109.
7. Davies, W.J., Kudoyarova, G., and Hartung, W. 2005. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. J. Plant Growth Regul. 24: 285-95.
8. Debouba, M., Maâroufi-Dghimi, H., Suzuki, A., Ghorbel, M.H., and Gouia, H. 2007. Changes in growth and activity of enzymes involved in nitrate reduction and ammonium assimilation in tomato seedlings in response to NaCl stress. Ann. Bot. 99: 1143-1151.
9. Dere, S., Gunes, T., and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. J. Bot. 22: 13-17.
10. Ebrahim Zadeh, H. 1998. Plant Physiology. Tehran University Press. (In Persian)
11. Emami, A. 1996. Plant Analysis Methods. First edition, Publications of Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ministry of Agriculture. (In Persian)

12.Flowers, T.J., and Flowers, S.A. 2005. Why does salinity pose such a different problem for plant breeders? Agric. Water Manage. 78: 15-24.
13.Fricke, W., Akhiyarova, G., Veselov, D., and Kudoyarova, G. 2004. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate response to salinity in barley leaves. J. Exp. Bot. 55: 1115-23.
14.Grattan, S.R., and Grieve, C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Sci. Hort. 78: 127-157.
15.Higa, T. 1991. Effective microorganisms: a biotechnology for mankind, P 8-14. In: J.F. Parr, S.B. Hornick, C.E. Whitman (Eds.) First International Conference on Kyusei Nature Farming. Washington, DC, USA.
16.Jagnow, G., Hoflich, G., and Hoffmann, H. 1991. Inoculation of non symbiotic rhizospher bacteria, possibitites of increasing and stabilizing yield. Angew botonic. 65: 97-126.
17.Kafi, M., and Stewart, D.A. 1998 . Effect of salinity on growth and yield of nine types of wheat. Agro. Food Sci. 12: 1. 77-85.
18.Kwizera, C., Shao, X., Wang, and Basil, T. 2010. Effects of effective microorganisms on yield and quality of vegetable cabbage comparatively to nitrogen and phosphorus fertilizers. Pak. J. Nutr. 9: 11. 1039-1042.
19.Mayer, J., Scheid, S., Widmer, F., and Fliebach Oberholzer, A.H. 2010. How effective are 'Effective microorganisms (EM)'? Results from a field study in temperate climate. Appl. Soil Ecol. 46: 230-239.
20.Mohajer Milani, P. 1996. An introduction on how to take advantage of the underlying soil salinization. Publication Agricultural Education Karaj. (In Persian)
21.Mott, I.W., and Wang, R.R.C. 2007. Comparative transcriptome analysis of salt-tolerant wheat germplasm lines using wheat genome arrays. Plant Sci. 173: 327-339.
22.Naeini, M.R., Khoshgoftarmanesh, A.H., Lessani, H., and Fallahi, E. 2004. Effects of sodium chloride-induced salinity on mineral nutrients and soluble sugars in three commercial cultivars of pomegranate. J. Plant Nutr. 27: 1319-1326.
23.Nakasathein, S., Israel, W.D., Wilson, F.R., and Kwanyuen, P. 2000. Regulation of seed protein concentration in soybean by supra-optimal nitrogen supply. Crop Sci. 40: 1277-1284.
24.Nazarbeygi, E., Yazdi, H.L., Naseri, R., and Soleimani, R. 2011. The effects of different levels of salinity on proline and A-, B- chlorophylls in canola. Amer-Eur. J. Agri. Environ. Sci. 10: 1. 70-74.
25.Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: Areview. Ecotox Environ Safe. 60: 324-349.
26.Saha, P., Chatterjee, P., and Biswas, A.K. 2010. NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mugbean (*Vigina radiate* L. Wilczek). Ind. J. Exp. Biol. 48: 593-600.

27. Sangakkara, U.R. 1993. Research on the technology effective microorganisms in Sri Lanka. Proc. 3rd Inter. Conf. on Kyusei Nature Arming. Oct. 5-7, Santa Barbara, California U.S.A. Pp: 138-144.
28. Sevengor, S., Yasar, F., Kusvuran, S., and Ellialtioglu, S. 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidative enzymes of pumpkin seedling. Afr. J. Agric. Res. 21: 4920-4924.
29. Shahsevand Hassani, H. 2000. The process of production new allopeloeid tritipyrum. 6th Iranian Crop Sci Cong, Babolsar. Pp: 22-24. (In Persian)
30. ShouSong, Y., CuiPing, W., HuiLian, X., and Jun-Ying, D. 2003. Effects of foliar application with effective microorganisms on leaf metabolism and seed yield in soybean. Seventh Inter. Conf. on Kyusei Nature Farming Held at Christchurch, New Zealand.
31. Tabatabaei, S.J. 2006. Effects of salinity and N on the growth, photosynthesis and N status of olive (*Olea europaea* L.) trees. Sci. Hort. 108: 432-438.
32. Tehranifar, A., Zarei, M., Nemati, Z., Esfandiyari, B., and Vazifeshenas, M.R. 2010. Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. Sci. Hort. 126: 180-185.
33. Yamada, K., Dato, S., Fujita, M., Xu, H.L., Katase, K., and Umemura, H. 1996. Investigations on the properties of EM Bokashi and development of its application technology. Proc. 5th Conf. on effective microorganisms (EM). Dec, 08 12, Sara Buri, Thailand.
34. Zhao, G.Q., Ma, B.L., and Ren, C.Z. 2007. Growth, gas exchange, chlorophyll fluorescence, and ion content of naked oat in response to salinity. Crop Sci. 41: 123-131.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 21 (2), 2014
http://jopp.gau.ac.ir

Effects of bio-fertilizer EM on photosynthetic responses, proline content and nitrogen concentration on pomegranate under salinity stress

***M.A. Pourian[1], Gh.H. Davarinejad[2] and Y. Selahvarzi[3]**
[1]M.Sc. Student, Dept. Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad,
[2]Professor, Dept. Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad,
[3]Research Instructor, Pomegranate Research Center, Ferdowsi University of Mashhad
Received: 01/23/2014; Accepted: 06/28/2014

Abstract

Salinity is a most important environmental stresses in a pomegranate-growing area of Iran. In other hand, photosynthesis and nitrogen metabolism are the most important physiological and biochemical processes in plants. In this experiment, influences of effective microorganisms (EM) (0 and %1) on the photosynthetic responses of potted pomegranate (shishe-kap cv.) under four levels of salinity stress (0 mM, 50 mM, 100 mM and 150 mM salinity includes: NaCl (10 part) and $CaCl_2$ (1 part)) with 4 replications were investigated. Results showed that the application of EM reduced the negative effects of salinity on photosynthetic responses. Also chlorophyll b and total chlorophyll content, stomatal conductance, photosynthetic rate and nitrogen concentration under the salt stress (150 mM) treatment and 0 EM, reduced 66.5, 54.3, 38.6, 51.4 and 38.1 percent in compared with control treatment, respectively. EM application under this stress conditions caused slowing downtrend aforementioned traits so 44.1, 23.5, 39.7, 44.9 and 28.2% respectively reduction compared to treatment control. By increasing the level of salinity, increased the amount of leaf praline. In general, on the base of this results, it seems that application of EM in pomegranate (shishe kap) orchards can reduce the harmful effects of Salinity.

Keywords: Proline, Shishe-kap, Chlorophyll, Stomatal conductance

* Corresponding Author; Email: pourian.aref@gmail.com