

Effect of Nitric Oxide Application on Some Morpho-Physiological Parameters and Nutrients Uptake of Apple Rootstock M7 under Iron Deficiency Stress

Maryam Rafiee¹, Jafar Amiri^{2*}, Iotfali Naseri³, Mirhassan Rasouli-Sadaghiani⁴, Nasser Mahna⁵

(Received: March, 2024

Accepted: September, 2024)

Abstract

This study investigated the impact of sodium nitrosopruside (SNP) application, a nitric oxide (NO) releaser, on growth, physiological parameters, and macro- and micronutrient uptake in apple rootstock M7 under hydroponic conditions in response to both direct and indirect (bicarbonate-induced) iron deficiency. The experiment was conducted in a factorial arrangement using a randomized complete block design with two factors: SNP at four levels (0, 50, 100, and 200 μM) and iron treatment at five levels: control (90 μM FeNaEDTA, pH 6), direct iron deficiency (45 μM FeNaEDTA, pH 6 and 2 μM FeNaEDTA, pH 6), and indirect iron deficiency induced by potassium bicarbonate (90 μM FeNaEDTA+ pH 7 and 90 μM FeNaEDTA+ pH 8), with three replications. Results indicated that direct and indirect iron deficiency significantly reduced shoot and root fresh and dry weights, chlorophyll content, and increased leaf yellowing. SNP application at 200 μM significantly enhanced chlorophyll content by 80.64%, 47.95%, 69.80%, and 97.85% in treatments (Fe 2 μM), (Fe 45 μM), (Fe 90 μM + pH7), and (Fe 90 μM + pH8), respectively, compared to corresponding treatments without SNP (SNP = 0), and were not significantly different from the control treatment (Control, SNP = 0). Sodium nitrosopruside significantly increased total iron content in leaves and roots, with 200 μM SNP resulting in 3.2, 3.2, 1.7, and 1.9-fold increases in total leaf iron content in treatments (Fe 2 μM), (Fe 45 μM), (Fe 90 μM + pH7), and (Fe 90 μM + pH8), respectively, compared to corresponding treatments without SNP (SNP = 0). SNP enhanced nitrogen, calcium, magnesium, zinc, and manganese concentrations in leaves and roots. These findings demonstrate the beneficial role of SNPs in improving physiological indices and nutrient uptake in apple rootstock M7 under iron deficiency stress.

Keywords: Potassium bicarbonate, Zinc, Phosphorus, Manganese, Nitrogen

Rafiee M., Amiri J., Naseri L., Rasouli-Sadaghiani M.H., and Mahna N. 2025. Effect of Nitric Oxide Application on Some morpho-physiological Parameters and Nutrients Uptake of Apple Rootstock M7 under Iron Deficiency Stress. *Applied Soil Research*, 13(1): 47-62.

1-Ph.D. student of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

2-Assiatant Professor of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

3-Associate Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University

4-Professors of soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University

5-Professors of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

* Corresponding Author Email: j.amiri@urmia.ac.ir

تأثیر کاربرد نیتریک اکسید بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی پایه سیب M7 در شرایط تنش کمبود آهن

مریم رفیعی^۱، جعفر امیری^{۲*}، لطفعلی ناصری^۳، میرحسن رسولی صدقیانی^۴ و ناصر مهنّا^۵

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۷)

چکیده

این پژوهش به بررسی اثر کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان آزادکننده نیتریک اکسید (NO) در شرایط کمبود آهن مستقیم و غیرمستقیم (ناشی از بی کربنات پتاسیم) بر برخی فاکتورهای رشدی، فیزیولوژیک و عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف در پایه سیب M7 در محیط کشت هیدروپونیک پرداخته است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور، سدیم نیتروپروساید در چهار سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) و تیمار آهن در پنج سطح شامل: شاهد (90 μM FeNaEDTA, pH6, Control)، کمبود آهن مستقیم شامل: (45 μM FeNaEDTA, pH6) و (2 μM FeNaEDTA, pH6) و کمبود آهن غیرمستقیم ناشی از بی کربنات پتاسیم شامل: (90 μM FeNaEDTA+ pH7) و (90 μM FeNaEDTA+ pH8) و با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که کمبود آهن چه به صورت مستقیم و چه غیرمستقیم، سبب کاهش معنی داری در وزن تر و خشک برگ و ریشه و شاخص سبزی‌نگی و افزایش در درجه‌ی زردی برگ شد. غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP سبب افزایش معنی دار ۸۰/۶۴، ۴۷/۹۵، ۶۹/۸۰ و ۹۷/۸۵ درصدی شاخص سبزی‌نگی به ترتیب در تیمارهای (Fe 2 μM)، (Fe 45 μM)، (Fe 90 μM + pH7) و (Fe 90 μM + pH8) نسبت به تیمارهایی که مشابه آنها بودند و فقط SNP دریافت نکرده بودند (SNP = 0) شد به طوریکه با تیمار شاهد (Control, SNP = 0) تفاوت معنی داری نداشتند. سدیم نیتروپروساید سبب افزایش قابل توجهی در آهن کل برگ و ریشه شد و غلظت ۲۰۰ میکرومولار آن سبب افزایش ۳/۲، ۳/۲، ۱/۷ و ۱/۹ برابری در آهن کل برگ به ترتیب در تیمارهای (Fe 2 μM)، (Fe 45 μM)، (Fe 90 μM + pH7)، (Fe 90 μM + pH8) نسبت به تیمارهای مشابه آنها ولی فاقد SNP (SNP = 0) شد. سدیم نیتروپروساید سبب افزایش غلظت نیتروژن، کلسیم، منیزیم، روی و منگنز در برگ و ریشه شد. یافته‌های این پژوهش، نقش مثبت سدیم نیتروپروساید را بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و جذب عناصر غذایی در پایه سیب M7 در شرایط تنش کمبود آهن به اثبات رساند.

واژه‌های کلیدی: بی کربنات پتاسیم، روی، فسفر، منگنز، نیتروژن

رفیعی م.، امیری ج.، ناصری ل.، رسولی صدقیانی م. ح.، مهنّا ن. ۱۴۰۴. تأثیر کاربرد نیتریک اکسید بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و جذب عناصر غذایی پایه سیب M7 در شرایط تنش کمبود آهن. تحقیقات کاربردی خاک جلد ۱۳، شماره ۱. صفحه: ۴۷-۶۲.

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده)

۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۴- استاد علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۵- استاد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* پست الکترونیک: j.amiri@urmia.ac.ir

مقدمه

کمبرود آهن از شایع‌ترین نابسامانی‌های تغذیه‌ای و تنش غیرزیستی محدودکننده تولید میوه در بسیاری از محصولات است که عمدتاً در خاک‌های آهکی یا خاک‌هایی با pH بالا رخ می‌دهد (Dobbels & Lorenz, 2019). آهن، عنصر کم‌مصرف ضروری برای رشد و نمو گیاهان است (Kaya et al., 2019). که برای سنتز کلروفیل، استفاده می‌شود (Salhi et al., 2022). کمبود آهن بر رشد و فیزیولوژی گیاه توسط تأثیر بر کارایی فتوسنتز اثر منفی می‌گذارد (Kaya et al., 2019). سیب (*Malus domestica* Borkh.)، یکی از محصولات باغی مهم و تجاری و با سطح زیرکشت بالا در جهان است که به کمبود آهن حساس بوده و به میزان زیادی کلروز در این میوه مشاهده می‌گردد (Zheng et al., 2021). عدم تحمل به کلروز آهن ناشی از آهک، یکی از مشکلات اساسی مربوط به پایه‌های پاکوتاه‌کننده سیب می‌باشد (Ashtari et al., 2018). دو سازوکار کارآمد برای جذب و استفاده از آهن در گیاهان تکامل یافته‌اند: سازوکار احیا، استراتژی I، که اغلب توسط دولپه‌ای‌ها و تک‌لپه‌ای‌های غیرعلفی مورد استفاده قرار می‌گیرد و سازوکار کلاته نمودن¹، استراتژی II که عمدتاً توسط گیاهان علفی استفاده می‌شود (Tong et al., 2020). در گیاهان استراتژی I، کاهش pH ریزوسفر توسط فعالیت H^+ ATPase غشای پلاسمایی انجام می‌شود تا Fe^{3+} را حل کند و احیای آن به Fe^{2+} توسط فعالیت FCR (آنزیم فریک کلات ردوکتاز)، حلالیت آهن را افزایش می‌دهد. پس از آن، انتقال Fe^{2+} به سلول ریشه از طریق یک ناقل آهن ویژه (*IRT1*) برای جذب آهن در گیاهان انجام می‌شود (Vert et al., 2021). درختان سیب از استراتژی I برای شروع پاسخ به کمبود آهن استفاده می‌کنند (Tong et al., 2020). اما مقدار زیاد کربنات کلسیم موجود در خاک‌های آهکی در مقابل ترشح کُند پروتون از ریشه گیاه، سبب دسترسی محدود به آهن می‌شود (Kaya et al., 2019). تاکنون کودهای حاوی آهن به‌طور گسترده در باغات سیب برای تأمین آهن استفاده شده‌است، اما استفاده‌ی فراوان و طولانی‌مدت از کود می‌تواند باعث تخریب ویژگی‌های بیولوژیکی خاک شود و به‌طور جدی بر عملکرد و کیفیت میوه تأثیر بگذارد

(Zhang et al., 2020). از این‌رو، بهبود راندمان استفاده‌ی مؤثر از آهن و افزایش تحمل پایه‌های سیب به تنش کمبود آهن به کانون تحقیقاتی تبدیل شده است (Zheng et al., 2021). یکی از روش‌های مؤثر در کاهش تنش ناشی از کمبود آهن در گیاهان، کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است (Ciura & Kruk, 2018). نیتریک اکسید، مولکول گازی بی‌رنگ و یک رادیکال آزاد چربی‌دوست است که به‌راحتی از طریق غشای پلاسمایی انتشار یافته و به‌عنوان یک پیام‌رسان شیمیایی، نقش مهمی در رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفاء می‌نماید. (Khan et al., 2023). نیتریک اکسید، همچنین در هموستازی آهن در گیاهان نقش دارد (Tewari et al., 2021). در مطالعه‌ی لیو و همکاران (Liu et al., 2022) در گلابی رقم 'Qingzhen D1'، کاربرد نیتریک اکسید، کلروز ناشی از تنش کمبود آهن را در برگ‌های جدید به‌طور مؤثر کاهش و همچنین، رشد گیاه و وزن تر و خشک برگ را در شرایط کمبود آهن افزایش داد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تأثیر کاربرد نیتریک اکسید به‌صورت سدیم نیتروپروپوساید، بر برخی شاخص‌های رشدی، شاخص‌های مربوط به سبزی‌نگی برگ، عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در پایه سیب M7 در شرایط کمبود آهن مستقیم و غیرمستقیم (ناشی از حضور بی‌کربنات پتاسیم) در سیستم آبکشت بوده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۹ به اجرا درآمد. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تیمارها شامل: تیمار شاهد (محلول غذایی نیم‌غلظت هوگلند با آهن کامل ۹۰ میکرومولار (۳۳/۰۳ میلی‌گرم آهن در لیتر محلول غذایی) و pH=6، آهن به‌شکل FeNaEDTA ($C_{10}H_{12}N_2O_8FeNa$)، Duchefa، هلند) استفاده شد. تیمارهای کمبود آهن مستقیم شامل محلول غذایی نیم‌غلظت هوگلند با آهن ۲ و ۴۵ میکرومولار و pH=6. تیمارهای کمبود آهن غیرمستقیم ناشی از بی‌کربنات پتاسیم ($KHCO_3$) (Merck، آلمان) (محلول

میزان شاخص سبزی‌نگی با استفاده از دستگاه کلروفیل متر دیجیتال، مدل (KONICA MINOLTA) (SPAD) قرائت شد. رتبه‌بندی ظاهری کلروز گیاهان در پایان آزمایش انجام شد (Yue Ao et al., 1987).

اندازه‌گیری عناصر غذایی

نمونه‌های برگ و ریشه برداشت شده، پس از شستشو و خشکانده شدن در آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت)، به وسیله‌ی آسیاب پودر شدند. به منظور اندازه‌گیری غلظت نیتروژن، هضم تر و برای کلسیم، منیزیم، فسفر و پتاسیم و نیز عناصر کم‌مصرف آهن، روی، منگنز و مس، هضم خشک انجام شد. در عصاره‌های حاصل، میزان نیتروژن با دستگاه کج‌دال، میزان فسفر به روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO-2100)، میزان پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فوتومتر مدل CORNING 400 و میزان عناصر غذایی کم‌مصرف (آهن، روی، منگنز و مس) و پرمصرف (کلسیم و منیزیم) با دستگاه جذباتمی مدل Analytic jena, novAA قرائت گردید (Ohyama et al., 1991; Mizukoashi et al., 1994).

واکاوی آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی، از نرم‌افزار SAS نسخه 9.4 استفاده شد. مقایسه میانگین‌های داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم شکل از نرم‌افزار Excel نسخه‌ی ۲۰۱۶ استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به سبزی‌نگی برگ و شاخص‌های رشدی در پایه سیب M7 نشان داد که تمامی اثرهای اصلی و برهمکنش سدیم-نیتروپروساید و آهن بر شاخص سبزی‌نگی، کلروز برگ و وزن تر و خشک برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

غذایی نیم‌غلظت هوگلند با آهن ۹۰ میکرومولار و $pH = 8$ (Pirmoradian et al., 2017).

سدیم‌نیتروپروساید (آزادکننده‌ی نیتریک اکسید) Sodium nitroprusside dihydrate $\geq 99\%$ (ACS, FlukaTM) در غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار، یک‌بار در هفته همزمان با شروع تیمارهای آزمایشی و همراه با محلول غذایی استفاده شد. پایه‌های سیب M7 حاصل از کشت‌بافت با ارتفاع حدود ۳۰ سانتی‌متر (شرکت اروم‌زیست‌تاک، ارومیه، ایران) تهیه شد. این گیاهان به گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر حاوی پرلیت و پیت‌ماس به نسبت حجمی (۱:۱) منتقل شدند و هر گلدان حاوی یک گیاه بود. گلدان‌ها در گلخانه‌ای با دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد و میانگین حداقل و حداکثر دمای به‌ترتیب ۱۷ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گیاهان با محلول غذایی نیم‌غلظت هوگلند تغذیه شدند (Hoagland & Arnon, 1950). پس از ۸ هفته که ارتفاع گیاهان به ۵۰ سانتی‌متر رسید، تیمارها شروع شد. هر تیمار شامل سه تکرار و هر واحد آزمایشی شامل ۵ گلدان بود (این آزمایش شامل ۳۰۰ گلدان و هر گلدان حاوی یک گیاه بود)، مدت‌زمان اعمال تیمارها ۶۰ روز بود و پس از بروز علائم کلروز، گیاهان برداشت شدند.

ویژگی‌های مورفولوژیک

وزن تر برگ و ریشه به کمک ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین وزن خشک نمونه‌ها (برگ و ریشه)، ابتدا نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از خارج نمودن نمونه‌ها از آون، وزن خشک آن‌ها به کمک ترازوی دیجیتال تعیین شدند.

اندازه‌گیری شاخص سبزی‌نگی (SPAD) و درجه زردی (کلروز) برگ

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سدیم نیتروپروساید بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک پایه سیب M7 در سطوح مختلف آهن

Table 1. Variance analysis of the effect of sodium nitroprusside on some morphological and physiological characteristics of M7 apple rootstock at different levels of Fe

Source of variation	Degree of freedom	Mean squares					
		Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Root fresh weight	Root dry weight	SPAD	Leaf chlorosis
Repeat	2	0.038 ^{ns}	0.011 [*]	8.07 ^{ns}	0.75 ^{ns}	0.282 ^{ns}	0.05 ^{ns}
SNP	3	1.22 ^{**}	0.202 ^{**}	262.3 ^{**}	23.87 ^{**}	587.9 ^{**}	15.17 ^{**}
Fe	4	0.46 ^{**}	0.08 ^{**}	128.7 ^{**}	25.11 ^{**}	139.02 ^{**}	2.358 ^{**}
SNP × Fe	12	0.09 ^{**}	0.013 ^{**}	22.09 ^{**}	1.82 ^{**}	58.16 ^{**}	1.247 ^{**}
Error	38	0.014	0.003	3.80	0.65	2.96	0.068
CV (%)		7.87	10.72	8.50	11.55	4.77	15.28

^{ns}, * و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}, * and **: non-significant, significant at 5% level and significant at 1% level, respectively

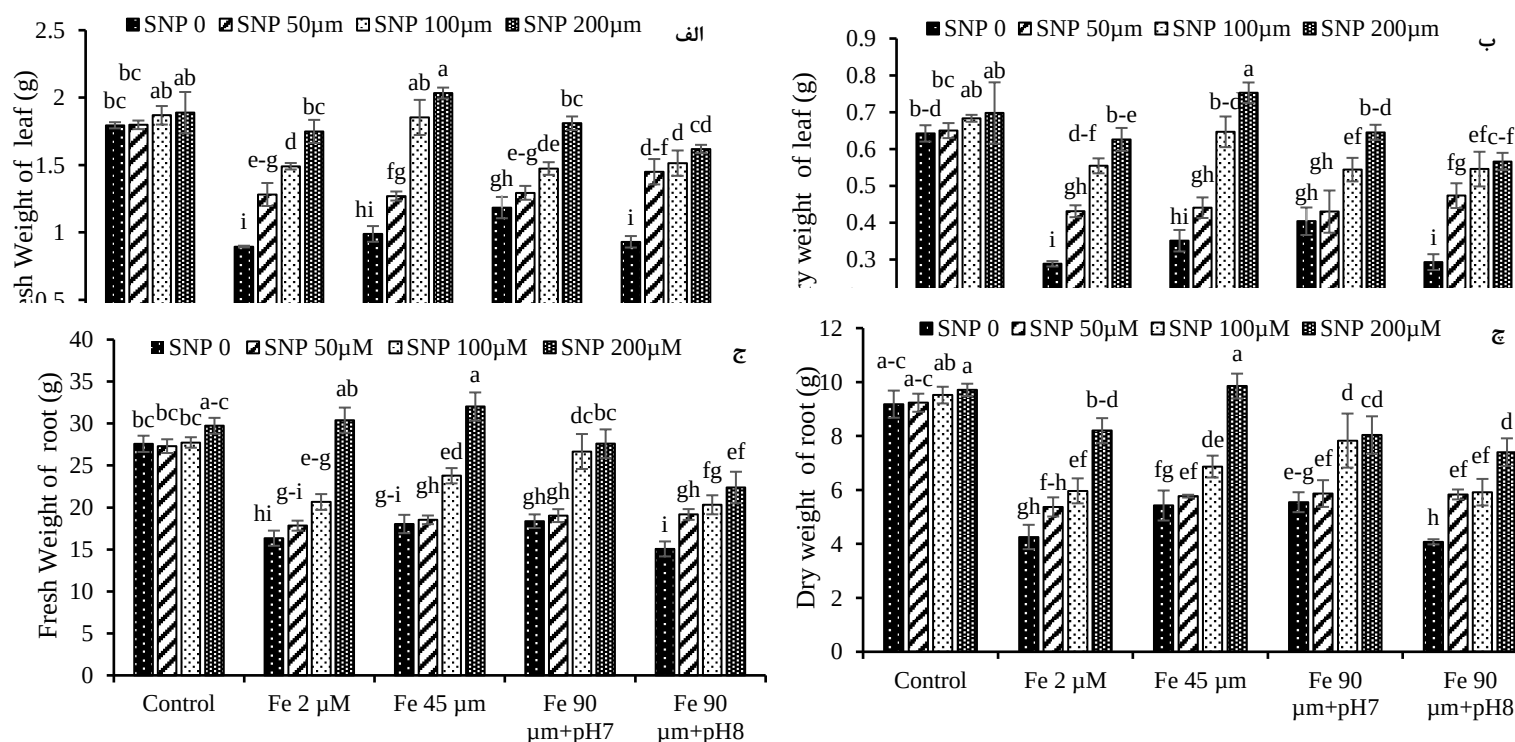
صفات رشدی

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل آهن و سدیم-نیتروپروساید نشان داد که کاهش معنی‌دار ۵۰/۱۴، ۴۴/۹۰، ۳۴/۰۴ و ۴۸/۱۳ درصدی در میزان وزن تر برگ به ترتیب در تیمارهای (Fe 2 μM, SNP = 0)، (Fe 45 μM, SNP = 0)، (Fe 90 μM+ pH7, SNP = 0) و (Fe 90 μM+ pH8, SNP = 0) نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) مشاهده شد. استفاده از SNP سبب روند افزایشی در وزن تر برگ شد به‌طوریکه وزن تر برگ در گیاهان تحت تیمار (Fe 2 μM, SNP = 200 μM)، (Fe 45 μM, SNP = 200 μM) و (Fe 90 μM+ pH7, SNP = 200 μM) تفاوت معنی‌داری با شاهد (Control, SNP = 0) نداشتند حتی در تیمار (Fe 45 μM, SNP = 200 μM) افزایش معنی‌دار ۳/۲۳ درصدی نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) مشاهده شد (شکل ۱-الف). روندی مشابه وزن تر، در وزن خشک برگ نیز مشاهده شد (شکل ۱-ب). وزن تر ریشه نیز کاهش معنی‌دار ۴۰/۷۵، ۳۴/۶۳، ۳۳/۴۳ و ۴۵/۳۹ درصدی به ترتیب در تیمارهای (Fe 2 μM, SNP = 0)، (Fe 45 μM, SNP = 0)، (Fe 90 μM+ pH7, SNP = 0) و (Fe 90 μM+ pH8, SNP = 0) نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) داشت. استفاده از SNP بخصوص غلظت ۲۰۰ میکرومولار در گیاهان تحت تیمار کمبود آهن مستقیم

و غیرمستقیم (ناشی از بی‌کربنات‌پتاسیم) سبب افزایش معنی‌داری در میزان وزن تر ریشه نسبت به تیمارهای مشابه ولی فاقد SNP شد (شکل ۱-ج). در وزن خشک ریشه نیز روندی مشابه وزن تر مشاهده شد (شکل ۱-چ). نتایج این پژوهش، نشان داد که کمبود آهن چه با محدود کردن حضور آهن و یا با افزودن بی‌کربنات به محلول غذایی، باعث کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک برگ و ریشه شد. در پایه سیب *M. baccata*، وزن تر برگ‌های جوان در شرایط کمبود آهن کاهش یافت (Zheng et al., 2021). یکی از اثرات ثانویه تنش‌های مختلف از جمله تنش کمبود آهن، القای تنش اکسیداتیو در سلول‌ها است که می‌تواند با افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، اختلال در فعالیت‌های متابولیکی مهم و کاهش در سرعت فتوسنتز و تولید قند، ظاهر شود (Karimi et al., 2019). این شرایط، باعث کاهش تخصیص قند به ریشه، کاهش حجم، طول و ماده خشک ریشه می‌شود و بر حلالیت و در دسترس بودن عناصر معدنی توسط ریشه گیاه تأثیر منفی می‌گذارد (Covarrubias & Rombola, 2013). در انگور، تیمار ۱۰ میلی‌مولار بی‌کربنات، باعث کاهش وزن خشک ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد شد (Karimi & Salimi, 2021). در پژوهش حاضر، کاربرد سدیم-نیتروپروساید (SNP) باعث افزایش وزن تر و خشک برگ و ریشه در گیاهان

مستقیم و غیرمستقیم (ناشی از بی‌کربنات) در مقایسه با گیاهان تیمار نشده با سدیم نیتروپروساید شد (Amooaghaie & Roohollahi, 2017).

تحت تنش کمبود آهن شد. در گیاه بادرنجبویه، کاربرد ۱۰۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید، باعث افزایش وزن تر و خشک شاخه و ریشه در گیاهان با کمبود آهن



شکل ۱ - مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آهن بر (الف) وزن تر برگ (ب) وزن خشک برگ (ج)

وزن تر ریشه (د) وزن خشک ریشه در پایه سیب M7

(حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها براساس آزمون دانکن می‌باشد)

Figure 1. Means comparison of interaction effects of sodium nitroprusside and Fe on a) fresh weight of leaf b) dry weight of leaf c) fresh weight of root d) dry weight of root in M7 apple rootstock (Non-similar letters indicate significant difference at the 5% probability level using the Duncan's test)

کمبود آهن چه به صورت کمبود آهن مستقیم و چه با افزودن بی‌کربنات پتاسیم به محلول غذایی، سبب کاهش معنی‌دار SPAD نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) شد. افزودن SNP به محلول غذایی سبب روند افزایشی در میزان SPAD در تیمارهای کمبود آهن مستقیم و غیرمستقیم شد. غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP سبب افزایش معنی‌دار ۸۵/۹۷، ۸۰/۶۴، ۹۵/۴۷، ۸۰/۶۹ و ۸۰/۶۹ درصدی به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM)، (Fe 45μM)، (Fe 90μM+pH7) و (Fe 90μM+pH8) نسبت به تیمارهایی که مشابه آنها بودند و فقط SNP دریافت نکرده بودند (SNP = 0) شد و با تیمار شاهد (Control, SNP = 0) تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۲-الف).

نیتریک اکسید به عنوان یک تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی عمل می‌کند و نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان دارد. استفاده از نیتریک اکسید تولید ROS از جمله پراکسید-هیدروژن (H₂O₂)، سوپراکسید (O₂⁻) و مالون دی‌آلدئید (MDA) را با تنظیم سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی محدود می‌کند، در نتیجه از آسیب به دستگاه فتوسنتزی جلوگیری می‌کند. افزایش فتوسنتز منجر به تولید قندهای بیشتر می‌شود که در نهایت باعث رشد بهتر گیاه می‌شود (Sami et al., 2021).

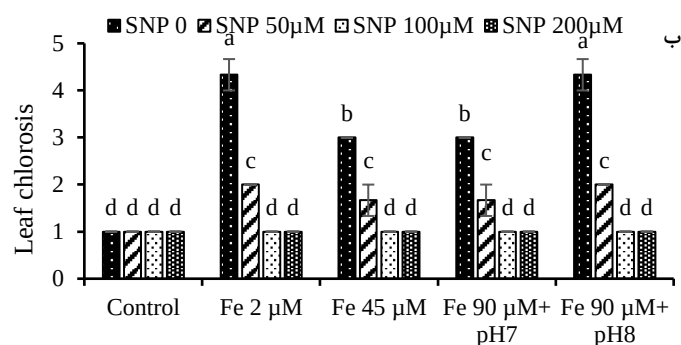
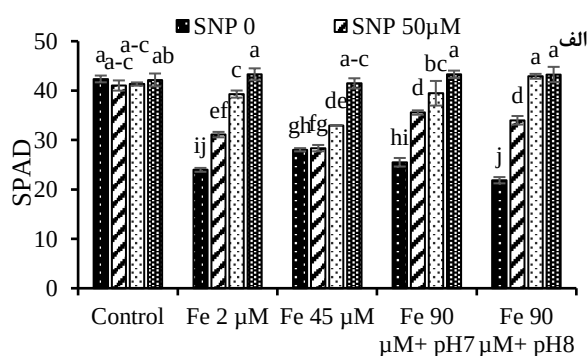
شاخص سبزی‌نگی (SPAD)

براساس نتایج مقایسه میانگین، اثرات متقابل آهن و سدیم نیتروپروساید، قرار گرفتن در معرض تمامی سطوح

درجه زردی (کلروز) برگ

گیاهانی که در معرض سطوح مختلف کمبود آهن قرار گرفته بودند افزایش میزان کلروز معنی‌داری نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) داشتند. بیشترین مقدار کلروز در گیاهان تیمار شده با (Fe 2μM + SNP=0) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. هر دو تیمار افزایش ۴/۳۳ برابری در میزان کلروز، در مقایسه با شاهد (Control, SNP = 0) داشتند. غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار SNP سبب کاهش درجه زردی ظاهری برگ در تیمارهای تنش کمبود آهن مستقیم و غیرمستقیم (ناشی از بی-کربنات) تا سطحی مشابه شاهد (Control, SNP = 0) شدند (شکل ۲-ب). مدل رگرسیون بین شاخص سبزینگی (SPAD) و درجه زردی برگ از یک همبستگی خطی منفی تبعیت می‌کند (شکل ۳). نتایج این پژوهش، نشان داد که سطوح مختلف تنش کمبود آهن سبب کاهش معنی‌داری در میزان شاخص سبزینگی و افزایش در درجه کلروز نسبت به گیاهان شاهد شد. در پژوهشی در پایه سیب M9، کمبود آهن، باعث کاهش میزان

کلروفیل برگ (SPAD) در طول دوره‌ی رشد در مقایسه با گیاهان شاهد شد و علائم کلروز آهن در برگ‌های جوان ظاهر شد (Valentinuzzi *et al.*, 2019). کاهش میزان کلروفیل، ممکن است به دلیل نقش آهن در سنتز δ-آمینولوولینیک اسید و پروتوکلروفیلید، به عنوان پیش-سازهای بیوسنتز کلروفیل باشد. بی‌کربنات به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد کلروز آهن در گیاهان دارای استراتژی I، عمدتاً در خاک‌های آهکی به شمار می‌رود. کلروز برگ گیاهان تحت تأثیر بی‌کربنات با کاهش غلظت آهن فعال برگ‌های آنها ارتباط دارد که ناشی از اثر محدودکننده بی‌کربنات بر دسترسی آهن است (Amooaghaie & Roohollahi, 2017). در این پژوهش، کاربرد سدیم نیتروپروساید، سبب افزایش میزان شاخص سبزینگی (SPAD) و همچنین کاهش درجه کلروز برگ در گیاهان تحت تنش کمبود آهن شد. کاربرد نیتریک اکسید میزان شاخص سبزینگی و فتوسنتز خالص برگ‌های گلابی (*Pyrus communis*) را در شرایط کمبود آهن به‌طور معنی‌داری افزایش و درجه کلروز برگ را کاهش داد (Liu *et al.*, 2022).

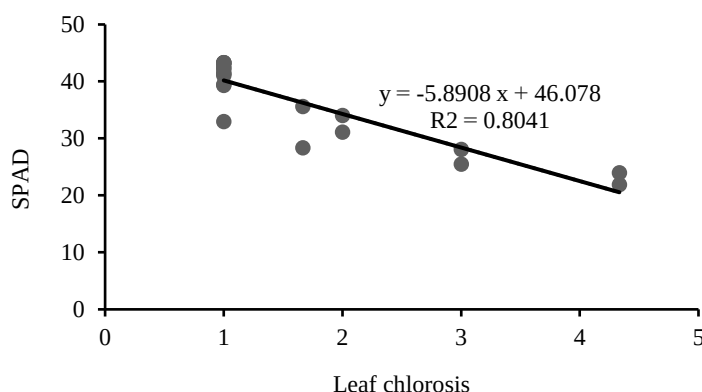


شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آهن بر الف) شاخص سبزینگی (SPAD) و ب) کلروز برگ در پایه سیب M7

(حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها براساس آزمون دانکن می‌باشد)

Figure 2. Means comparison of interaction effects of sodium nitroprusside and Fe on a) SPAD b) Leaf chlorosis in M7 apple rootstock

(Non-similar letters indicate significant difference at the 5% probability level using the Duncan's test)



شکل ۳ - رگرسیون بین شاخص SPAD و کلروز برگ در پایه سیب M7

Figure 3. Regression between SPAD index and leaf chlorosis in M7 apple rootstock

عناصر غذایی برگ و ریشه
نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲
نشان داد که تمامی اثرهای اصلی و برهمکنش سدیم-
نیتروپروساید و تنش آهن بر میزان آهن کل، روی، منگنز
و مس برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد (به
استثنای اثر اصلی تنش آهن در مس ریشه در سطح
احتمال پنج درصد) معنی‌دار شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر سدیم نیتروپروساید بر برخی عناصر غذایی کم مصرف در برگ و ریشه پایه سیب M7 در سطوح مختلف آهن

Table 2. Variance analysis of the effect of sodium nitroprusside on some micronutrients in leaves and roots of M7 apple rootstock at different levels of Fe

Source of variation	Degree of freedom	Mean squares							
		Leaf total Fe	Root total Fe	Leaf Zn	Root Zn	Leaf Cu	Root Cu	Leaf Mn	Root Mn
Repeat	2	57.8 ^{ns}	133.9 ^{ns}	0.87 ^{ns}	2.15 ^{ns}	2.39 ^{ns}	3.73 ^{ns}	11.31 ^{ns}	4.62 ^{ns}
SNP	3	3147 ^{**}	50421 ^{**}	46.61 ^{**}	117.3 ^{**}	82.52 ^{**}	81.4 ^{**}	500.48 ^{**}	555.4 ^{**}
Fe	4	346.6 ^{**}	16072 ^{**}	90.66 ^{**}	44.5 ^{**}	100.05 ^{**}	9.85 [*]	482.18 ^{**}	121.5 ^{**}
SNP × Fe	12	269.4 ^{**}	2219 ^{**}	7.77 ^{**}	33.79 ^{**}	12.47 ^{**}	21.73 ^{**}	282.64 ^{**}	274.9 ^{**}
Error	38	51.7	503	0.946	3.18	2.43	2.64	33.6	7.99
CV (%)		14.55	16.73	14.58	9.62	9.91	8.44	18.78	13.98

^{ns}, * و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}, * and **: non-significant, significant at 5% level and significant at 1% level, respectively.

آهن کل
بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل آهن و

سدیم-نیتروپروساید موجود در جدول ۳ کاهش معنی‌دار
۴۸/۵۴، ۴۷/۴۸، ۴۹/۹۱ و ۵۷/۰۷ درصدی در میزان آهن
کل ریشه به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)،
(Fe 45μM + SNP=0)، (Fe 90μM + pH7+ SNP=200 μM)،
(Fe 90μM + pH8+ SNP=200 μM) و همچنین افزایش
۱/۶، ۳/۴، ۳/۱، ۲/۴ و ۲/۸ برابری در آهن کل ریشه
به ترتیب در تیمارهای (Control + SNP=200 μM)،
(Fe 2μM + SNP=200 μM)، (Fe 45μM +)

رشد افزایشی در میزان آهن کل برگ و ریشه شد و
غلظت ۲۰۰ میکرومولار آن سبب افزایش ۳/۲، ۳/۲،
۱/۷ و ۱/۹ برابری در آهن کل برگ به ترتیب در تیمارهای
(Fe 2μM + SNP=200 μM)، (Fe 45μM + SNP=200 μM)،
(Fe 90μM + pH7+ SNP=200 μM) و همچنین افزایش
۱/۶، ۳/۴، ۳/۱، ۲/۴ و ۲/۸ برابری در آهن کل ریشه
به ترتیب در تیمارهای (Control + SNP=200 μM)،
(Fe 2μM + SNP=200 μM)، (Fe 45μM +)

(Control, SNP=50μM), (Fe 2μM + SNP=200) افزایش (Fe 45μM + SNP=100,200 μM)، معنی‌داری در میزان منگنز برگ نسبت به شاهد (Control, SNP=0) مشاهده شد. بیشترین میزان منگنز برگ در تیمار (Fe 2μM + SNP=200μM) (ppm) ۶۶/۵۴ وجود داشت. افزایش در میزان منگنز ریشه در تمامی تیمارهای تنش کمبود آهن چه مستقیم و چه غیرمستقیم (ناشی از بی‌کربنات پتاسیم) در حضور SNP نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) مشاهده شد. بیشترین میزان منگنز ریشه در تیمار (Fe 45μM +) (SNP=200μM) (۴۵/۱۸ ppm) مشاهده گردید (جدول ۳). نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عناصر غذایی پرمصرف در پایه سیب M7 نشان داد که تمامی اثرهای اصلی سدیم نیتروپروساید و آهن بر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم برگ و ریشه معنی‌دار شد و اثرات برهمکنش سدیم نیتروپروساید و آهن بر نیتروژن، پتاسیم، منیزیم برگ و ریشه، فسفر ریشه و کلسیم برگ معنی‌دار شد (جدول ۴).

نیتروژن

افزایش معنی‌دار ۱۴/۶ و ۳۲/۳ درصدی در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) در میزان نیتروژن برگ و ۲۰ و ۲۶/۴۳ درصدی در تیمارهای (Fe 90μM+ pH7+ SNP=0) و (Fe 90μM+) (pH8+ SNP=0) در میزان نیتروژن ریشه نسبت به شاهد (Control, SNP=0) مشاهده شد. کاربرد غلظت‌های مختلف SNP سبب افزایش معنی‌داری در میزان نیتروژن برگ و ریشه در تمامی تیمارهای کمبود آهن نسبت به شاهد (Control, SNP=0) شد.

فسفر

در تیمار (Fe 2μM + SNP=0) و میزان فسفر برگ نسبت به شاهد (Control, SNP=0) ۱۴/۰۹ درصد افزایش یافت. در تیمار (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) کاهش معنی‌داری در میزان فسفر برگ نسبت به تیمار شاهد (Control, SNP=0) مشاهده شد. همچنین افزایش ۵۴/۸ و ۳۸/۹۸ و ۳۳/۳۳ درصدی در میزان فسفر ریشه در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)، (Fe 45μM +) (SNP=0) و (Fe 90μM+ pH7+ SNP=0) نسبت به شاهد (Control, SNP=0) مشاهده شد. غلظت ۱۰۰ و

(Fe 90μM+ pH7+ SNP=200 μM)، (SNP=200 μM) (Fe 90μM+ pH8+ SNP=200 μM) نسبت به تیمارهای مشابه آنها ولی فاقد SNP (SNP = 0) شد.

روی

افزایش معنی‌دار ۱/۶، ۱/۸۸، ۲/۷۳ برگ به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)، (Fe 90μM+ pH7+ SNP=0)، 45μM + SNP= 0) نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) مشاهده شد. افزایش و کاهش معنی‌داری در میزان روی ریشه به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) نسبت به شاهد (Control,) (SNP=0) مشاهده شد. کاربرد SNP سبب افزایش غلظت روی در برگ و ریشه نسبت به شاهد (Control, SNP=0) شد و بیشترین میزان روی برگ در تیمار (Fe 2μM +) (SNP=200 μM) (۱۶/۵۶ ppm) و بیشترین میزان روی ریشه در تیمار (Fe 45μM + SNP=200 μM) (۳۰/۶۶) مشاهده شد.

مس

میزان مس برگ به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM +) (SNP=0) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0)، ۷۲/۲۳ و ۶۴/۶۸ درصد نسبت به شاهد (Control, SNP=0) افزایش یافت. افزایش معنی‌دار ۴۹/۸۳، ۲۳/۴۵ و ۳۲ درصدی در میزان مس ریشه به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)، (Fe 45μM + SNP=0) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) نسبت به شاهد (Control,) (SNP=0) مشاهده شد. کاربرد غلظت‌های مختلف SNP سبب کاهش معنی‌داری در میزان مس برگ در تیمارهای (Fe 2μM) و (Fe 90μM+ pH8) و در میزان مس ریشه در تیمارهای (Fe 2μM)، (Fe 45μM) و (Fe 90μM+ pH8) نسبت به تیمارهای با سطح آهن مشابه آنها ولی فاقد SNP (SNP=0) شد.

منگنز

کاهش معنی‌دار ۵۰/۲۷ درصدی در میزان منگنز برگ در تیمار (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) نسبت به شاهد (Control, SNP = 0) مشاهده شد. در منگنز ریشه تفاوت معنی‌داری مابین شاهد (Control, SNP = 0) و تیمارهای کمبود آهن چه مستقیم و چه غیرمستقیم (ناشی از بی‌کربنات پتاسیم) مشاهده نشد. در تیمارهای

۲۰۰ میکرومولار SNP سبب افزایش معنی‌داری در میزان فسفر برگ در تیمار (Fe 90μM+ pH8) نسبت به تیمار با سطح آهن مشابه آن ولی فاقد SNP (Fe 90μM) نسبت به تیمار با سطح آهن مشابه آن و (Fe 2μM + SNP=0, Fe 90μM+ pH7+ SNP=0) نسبت به تیمارهای با سطح آهن مشابه آنها و فاقد SNP (Fe 2μM + SNP=0, Fe 90μM+ pH7+ SNP=0) مشاهده شد. (مشاهده شد. ۱۸/۲ و ۹/۸ شد. کاهش معنی‌دار + pH8 + SNP=0 درصدی در میزان فسفر ریشه در تیمارهای (Fe 2μM)

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آهن بر عناصر غذایی کم مصرف برگ و ریشه در

پایه سیب M7

Table 3. Means comparison of interaction effects of sodium nitroprusside and Fe on micronutrients of leaves and roots in M7 apple rootstock

Fe Treatment (μm)	SNP (μm)	Leaf total Fe (ppm)	Root total Fe (ppm)	Leaf Zn (ppm)	Root Zn (ppm)	Leaf Cu (ppm)	Root Cu (ppm)	Leaf Mn (ppm)	Root Mn (ppm)
Control	0	54.1 ^{c-e}	160.5 ^b	3.21 ^{jk}	16.29 ^{h-j}	14.30 ^{d-h}	18.34 ^{d-f}	26.32 ^{e-g}	11.09 ^{ef}
	50	54.2 ^{c-e}	177.7 ^b	5.23 ^{hi}	16.89 ^{g-j}	15.61 ^{d-f}	18.25 ^{d-f}	44.67 ^b	36.75 ^b
	100	58.3 ^{cd}	182.3 ^b	7.01 ^{d-g}	16.92 ^{g-j}	13.53 ^{f-i}	17.85 ^{ef}	28.77 ^{e-g}	13.43 ^e
	200	59.2 ^{bc}	250.4 ^a	6.64 ^{d-h}	22.17 ^{bc}	12.87 ^{g-i}	19.36 ^{de}	29.60 ^{d-g}	14.85 ^{de}
Fe 2μM	0	21.9 ^j	50.5 ^f	8.76 ^c	20.06 ^{c-f}	24.63 ^a	27.48 ^a	31.40 ^{c-f}	14.54 ^{de}
	50	32.3 ^{h-j}	67.4 ^{d-f}	7.30 ^{c-f}	18.40 ^{e-h}	19.11 ^{bc}	18.15 ^{d-f}	28.07 ^{e-g}	14.67 ^{de}
	100	52.9 ^{c-e}	101.4 ^{cd}	12.49 ^b	19.69 ^{c-g}	16.26 ^{de}	13.93 ^g	24.97 ^{e-g}	27.72 ^c
	200	70.3 ^{ab}	173.8 ^b	16.56 ^a	23.07 ^b	13.02 ^{g-i}	13.86 ^g	66.54 ^a	32.73 ^b
Fe 45μm	0	24 ^{ij}	84.3 ^{c-f}	6.03 ^{f-h}	16.87 ^{g-j}	15.42 ^{d-g}	22.64 ^{bc}	24.33 ^{fg}	14.09 ^{de}
	50	35.3 ^{g-i}	63.3 ^{ef}	6.34 ^{e-h}	15.43 ^{ij}	16.73 ^{cd}	19.91 ^{de}	34.49 ^{c-e}	12.66 ^e
	100	38.1 ^{f-h}	110.6 ^c	5.99 ^{f-h}	16.18 ^{h-j}	15.82 ^{d-f}	16.36 ^{fg}	40.51 ^{bc}	18.58 ^d
	200	77.1 ^a	265.5 ^a	8.05 ^{cd}	30.66 ^a	12.29 ^{hi}	17.81 ^{ef}	38.64 ^{b-d}	45.18 ^a
Fe 90μm+ pH7	0	42.3 ^{e-h}	80.4 ^{c-f}	5.15 ^{hi}	16.01 ^{h-j}	14.06 ^{e-h}	20.02 ^{c-e}	28.76 ^{e-g}	11.61 ^{ef}
	50	42.5 ^{e-h}	99.9 ^{c-e}	5.69 ^{g-i}	20.99 ^{b-e}	12.46 ^{hi}	20.73 ^{cd}	29.01 ^{e-g}	26.5 ^c
	100	48.9 ^{c-f}	184.7 ^b	5.10 ^{hi}	21.81 ^{b-d}	11.15 ⁱ	19.82 ^{de}	27.88 ^{e-g}	25.28 ^c
	200	70.6 ^{ab}	189.9 ^b	7.94 ^{c-e}	17.55 ^{fi}	11.13 ⁱ	19.56 ^{de}	28.16 ^{e-g}	24.11 ^c
Fe 90μm+ pH8	0	37.6 ^{f-h}	68.9 ^{d-f}	1.70 ^k	11.25 ^k	23.55 ^a	24.21 ^b	13.09 ^h	7.85 ^f
	50	48.8 ^{c-f}	70.5 ^{d-f}	4.26 ^{ij}	13.98 ^{jk}	20.45 ^b	19.72 ^{de}	20.37 ^{gh}	13.81 ^e
	100	46.8 ^{d-g}	102.2 ^{cd}	4.09 ^{ij}	17.58 ^{fi}	16.06 ^{d-f}	19.27 ^{de}	21.91 ^{f-h}	23.93 ^c
	200	72.6 ^a	196.2 ^b	5.92 ^{f-h}	18.94 ^{d-h}	16.33 ^{de}	18.25 ^{d-f}	29.68 ^{d-g}	15 ^{de}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

Non-identical letters in each column indicate a significant difference between the means at the 5% probability level with the Duncan's test.

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر سدیم نیتروپروساید بر برخی عناصر غذایی پرمصرف در برگ و ریشه پایه سیب M7 در سطوح مختلف آهن

Table 4. Variance analysis of the effect of sodium nitroprusside on some macronutrients in leaves and roots of M7 apple rootstock at different levels of Fe

Source of variation	Degree of freedom	Mean squares									
		Leaf N	Root N	Leaf P	Root P	Leaf K	Root K	Leaf Ca	Root Ca	Leaf Mg	Root Mg
Repeat	2	0.12 *	0.008 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.014 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.003 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.0004 ^{ns}
SNP	3	0.75 **	0.29 **	0.001 **	0.0006 *	1.008 **	0.44 **	0.14 **	0.04 **	0.03 **	0.017 **
Fe	4	0.43 **	0.13 **	0.001 **	0.018 **	1.23 **	0.47 **	0.05 **	0.06 **	0.02 **	0.022 **
SNP × Fe	12	0.11 **	0.06 *	0.0001 ^{ns}	0.0005 **	0.095 **	0.03 **	0.014 **	0.006 ^{ns}	0.009 **	0.003 **
Error	38	0.03	0.03	0.0001	0.0002	0.01	0.007	0.004	0.003	0.001	0.0007
CV (%)		6.13	9.51	8.28	5.61	4.38	7.4	4.45	4.06	11.83	10.66

^{ns}, * و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

^{ns}, * and **: non-significant, significant at 5% level and significant at 1% level, respectively

پتاسیم

میزان پتاسیم برگ در تیمارهای کمبود آهن (Fe 2μM) و (Fe 90μM+ pH7+ SNP=0)، (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) افزایش معنی‌دار ۲۸/۷ و ۵۹/۲۶ درصدی نسبت به شاهد (Control،) داشت، نتایج مشابهی در میزان پتاسیم ریشه نیز مشاهده شد. به استثنای پتاسیم برگ در تیمار (Fe 90μM+ pH8) در سایر تیمارها کاربرد SNP سبب کاهش در میزان پتاسیم برگ و ریشه شد و پتاسیم را تا نزدیک تیمار شاهد (Control، SNP=0) کاهش داد.

کلسیم

میزان کلسیم برگ در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0) و (Fe 45μM + SNP=0) کاهش معنی‌دار ۱۶/۳۱ و ۸/۱۹ درصدی نسبت به شاهد (Control، SNP=0) داشت در کلسیم ریشه نیز کاهش معنی‌داری در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0) و (Fe 45μM + SNP=0) مشاهده شد. به‌استثنای کلسیم ریشه در تیمار (Fe 90μM+ pH8) و (Fe 90μM+ pH7) در سایر تیمارها کاربرد SNP سبب افزایش در میزان کلسیم برگ و ریشه در مقایسه با تیمارهای با سطح آهن مشابه و فاقد SNP (SNP=0) شد.

منیزیم

در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)، (Fe 45μM +) و (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) کاهش معنی-دار ۶۰/۷، ۳۹/۲۹ و ۲۰ درصدی در میزان منیزیم برگ

نسبت به شاهد (Control، SNP = 0) وجود داشت. کاهش معنی‌دار ۱۷/۲۴، ۳۰/۲۷، ۱۷/۲۴ و ۳۴/۸۶ درصدی در میزان منیزیم ریشه به ترتیب در تیمارهای (Fe 2μM + SNP=0)، (Fe 45μM + SNP=0)، (Fe 90μM+ pH8+) و (Fe 90μM+ pH7+ SNP=0) مشاهده شد. استفاده از SNP سبب روند افزایشی در میزان منیزیم شد به‌ویژه افزایش معنی‌داری در میزان منیزیم برگ و ریشه در تیمارهای (Control)، (Fe 2μM) و (Fe 45μM) در حضور غلظت‌های مختلف SNP در مقایسه با تیمارهای مشابه آنها ولی فاقد SNP (SNP=0) مشاهده شد. منیزیم ریشه در تیمار (Fe 90μM+ pH8+ SNP=200μM) تفاوت معنی‌داری با شاهد (Control، SNP=0) نداشت و افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار (Fe 90μM+ pH8+ SNP=0) نشان داد. در پژوهش حاضر، کمبود آهن چه به صورت مستقیم و چه غیرمستقیم، سبب کاهش مقدار آهن کل در برگ و ریشه پایه سیب M7 نسبت به شاهد شد. در پایه سیب *M. baccata* میزان آهن کل در ریشه و برگ گیاهان تحت تنش کمبود آهن، بسیار کمتر از شاهد بود (Zheng et al., 2021). در این پژوهش، غلظت روی و مس در شرایط کمبود آهن افزایش یافت. در پایه سیب M9، در شرایط کمبود آهن، غلظت روی، مس و منگنز در ریشه‌ها افزایش یافت (Valentinuzzi et al., 2019).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید و آهن بر عناصر غذایی پرمصرف برگ و ریشه در پایه

سیب M7

Table 5. Means comparison of interaction effects of sodium nitroprusside and Fe on macronutrients of leaves and roots in M7 apple rootstock

Fe Treatment (μm)	SNP (μm)	Leaf N (%)	Root N (%)	Leaf P (%)	Root P (%)	Leaf K (%)	Root K (%)	Leaf Ca (%)	Root Ca (%)	Leaf Mg (%)	Root Mg (%)
Control	0	2.26 ^{gh}	1.40 ^e	0.149 ^{b-d}	0.177 ^{e-g}	2.16 ^{e-g}	1.05 ^{de}	1.416 ^{d-f}	1.441 ^{d-h}	0.285 ^{cd}	0.261 ^{c-e}
	50	2.48 ^{e-g}	1.37 ^e	0.143 ^{b-f}	0.193 ^{c-e}	1.93 ^{hi}	0.86 ^{f-h}	1.434 ^{c-e}	1.563 ^{ab}	0.285 ^{cd}	0.335 ^{ab}
	100	2.80 ^{cd}	1.87 ^{ab}	0.146 ^{b-f}	0.194 ^{c-e}	1.89 ^{hi}	0.80 ^{g-i}	1.546 ^{ab}	1.580 ^a	0.342 ^b	0.369 ^a
	200	2.82 ^{b-d}	1.77 ^{ab}	0.145 ^{b-f}	0.196 ^{c-e}	1.71 ^j	0.74 ^{hi}	1.475 ^{b-d}	1.548 ^{a-c}	0.330 ^{bc}	0.303 ^{bc}
Fe 2 μM	0	2.59 ^{d-f}	1.49 ^{c-e}	0.170 ^a	0.274 ^a	2.78 ^b	1.28 ^{bc}	1.185 ^h	1.255 ^k	0.112 ⁱ	0.216 ^{f-h}
	50	2.75 ^{c-e}	1.68 ^{b-d}	0.170 ^a	0.279 ^a	2.52 ^c	1.17 ^{cd}	1.243 ^{gh}	1.456 ^{c-g}	0.155 ^{hi}	0.241 ^{e-g}
	100	3.08 ^b	1.68 ^{b-d}	0.155 ^{ab}	0.282 ^a	2.32 ^{de}	1.16 ^{cd}	1.559 ^{ab}	1.496 ^{a-d}	0.318 ^{bc}	0.262 ^{c-e}
	200	3.39 ^a	1.96 ^a	0.153 ^{a-c}	0.247 ^b	2.18 ^{e-g}	1.06 ^{de}	1.277 ^{gh}	1.354 ^{h-j}	0.244 ^{d-f}	0.293 ^{b-d}
Fe 45 μm	0	2.45 ^{fg}	1.43 ^{de}	0.160 ^{ab}	0.246 ^b	2.23 ^{ef}	1.17 ^{cd}	1.30 ^g	1.299 ^{jk}	0.173 ^{gh}	0.182 ^{hi}
	50	2.43 ^{fg}	1.40 ^e	0.154 ^{ab}	0.243 ^b	1.87 ^{ij}	1.14 ^d	1.30 ^g	1.301 ^{i-k}	0.248 ^{de}	0.184 ^{hi}
	100	2.61 ^{d-f}	1.40 ^e	0.147 ^{b-f}	0.244 ^b	2.12 ^{fg}	0.99 ^{ef}	1.599 ^a	1.415 ^{d-h}	0.412 ^a	0.230 ^{e-g}
	200	2.89 ^{bc}	1.96 ^a	0.142 ^{b-f}	0.248 ^b	1.94 ^{hi}	0.89 ^{fg}	1.342 ^{e-g}	1.366 ^{g-j}	0.355 ^b	0.316 ^b
Fe 90 μm + pH7	0	2.15 ^h	1.68 ^{b-d}	0.146 ^{b-f}	0.236 ^b	2.77 ^b	1.40 ^b	1.316 ^{fg}	1.407 ^{d-h}	0.250 ^{de}	0.216 ^{f-h}
	50	2.61 ^{d-f}	1.68 ^{b-d}	0.148 ^{b-e}	0.215 ^c	2.43 ^{cd}	0.92 ^{fg}	1.421 ^{de}	1.404 ^{d-h}	0.251 ^{de}	0.251 ^{d-f}
	100	3.08 ^b	1.71 ^{a-c}	0.133 ^{d-f}	0.214 ^c	2.06 ^{gh}	0.96 ^{ef}	1.418 ^{d-f}	1.486 ^{a-e}	0.243 ^{d-f}	0.232 ^{e-g}
	200	2.77 ^{cd}	1.77 ^{ab}	0.133 ^{c-f}	0.193 ^{d-f}	2.14 ^{fg}	0.71 ⁱ	1.411 ^{d-f}	1.474 ^{b-f}	0.260 ^{de}	0.260 ^{d-f}
Fe 90 μm + pH8	0	2.99 ^{bc}	1.77 ^{ab}	0.127 ^f	0.171 ^g	3.44 ^a	1.72 ^a	1.345 ^{e-g}	1.390 ^{f-j}	0.228 ^{ef}	0.170 ⁱ
	50	2.96 ^{bc}	1.77 ^{ab}	0.128 ^{ef}	0.175 ^{fg}	2.45 ^{cd}	1.40 ^b	1.428 ^{de}	1.396 ^{e-i}	0.213 ^{e-g}	0.165 ⁱ
	100	2.89 ^{bc}	1.87 ^{ab}	0.152 ^{a-d}	0.177 ^{e-g}	2.53 ^c	1.28 ^{bc}	1.552 ^{ab}	1.457 ^{c-g}	0.197 ^{f-h}	0.207 ^{g-i}
	200	2.99 ^{bc}	1.84 ^{ab}	0.158 ^{ab}	0.172 ^g	2.47 ^{cd}	1.16 ^{cd}	1.531 ^{a-c}	1.450 ^{d-h}	0.250 ^{de}	0.261 ^{c-e}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها با آزمون دانکن می‌باشد.

Non-identical letters in each column indicate a significant difference between the means at the 5% probability level with the Duncan's test.

در پژوهش حاضر، کاهش معنی‌داری در میزان آهن کل برگ و ریشه، روی ریشه و منگنز برگ در تیمار (Fe Control,) نسبت به شاهد (90 μM + pH8+ SNP=0) مشاهده شد. نتایج مشابهی در ارقام انگور (SNP = 0) (Karimi & Salimi, 2021) و در ارقام سیب (Shahabi, 2005) مشاهده شد. قلیائیت به دلیل pH بالا و همچنین مصرف H^+ توسط بی‌کربنات‌ها (HCO_3^-) باعث کاهش غلظت آهن قابل دسترس در خاک و تحرک آهن در ریشه گیاهان، افزایش pH داخل سلولی و کاهش فعالیت فیزیولوژیکی آهن می‌شود. علاوه بر این، بی-کربنات جذب شده به گیاه می‌تواند از طریق آوند چوبی

گزارش شده است که کمبود آهن، علاوه بر بیان ژن *FRO4* جذب فلز *COPT2*، منجر به افزایش بیان ژن‌های *FRO5* و *Cai et al.*, 2021 می‌شود که در جذب مس نقش دارند (Cai et al., 2021). آهن و روی به دلیل شباهت شیمیایی مابین کاتیون‌های دو ظرفیتی‌شان و پروتئین‌های ناقل اصلی با هم تعامل دارند (Sinclair & Krämer, 2012). کمبود آهن منجر به افزایش بیان *IRT1* می‌شود (José Correia et al., 2018). که می‌تواند واسطه‌ی جذب کاتیون‌های دیگر، مانند روی، منگنز، کبالت یا کادمیوم شود (Tao & Lu, 2022).

به طور معنی داری افزایش دادند، همچنین غلظت مس را در برگ‌ها و ریشه‌ها کاهش دادند (Kong et al., 2016). در نهال‌های ارقام سیب 'Golden Red Delicious' و 'Golab-e-Kohanz' افزایش سطوح بی-کربنات باعث افزایش غلظت نیتروژن، پتاسیم و فسفر در برگ شد، اما باعث کاهش غلظت منیزیم شد. کمبود آهن که در نتیجه واکنش‌های بی‌کربنات است، متابولیسم نیتروژن و ساختار درشت‌مولکول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به طوریکه غلظت نیتروژن به دلیل دو عامل کاهش رشد (رقت کمتر) و اختلال در واکنش‌های متابولیک نیتروژن، افزایش می‌یابد. واکنش‌های بی-کربنات منجر به تجمع پتاسیم در برگ‌ها می‌شود. کاهش میزان منیزیم را می‌توان به تأثیر منفی بی‌کربنات بر جذب منیزیم و انتقال آن به اندام‌های هوایی گیاه مرتبط دانست (Shahabi et al., 2005). در این مطالعه میزان فسفر در برگ گیاهان تحت تنش بی‌کربنات با $\text{pH}=8$ کاهش معنی داری نسبت به شاهد داشت. زیرا فسفر جزء ترکیباتی است که در محیط‌هایی با pH بالاتر نامحلول هستند و در محدوده pH ۵-۶ در دسترس گیاهان قرار می‌گیرد (Shah et al., 2023). در ریشه‌ی پونسیروس (*Poncirus trifoliata*)، مقادیر فسفر برای تیمار بدون آهن و تیمار یک میکرومولار آهن (Fe(III)-EDDHA) بیشتر از تیمار ۴۰ میکرومولار آهن بود (José Correia et al., 2018). هنگامی که آهن توسط ریشه‌ها جذب می‌شود، می‌تواند با فسفات (Pi) تعامل داشته باشد و منجر به کاهش انتقال آنها به شاخه‌ها شود (Hanikenne et al., 2021). در پژوهشی در پایه سیب M9 در شرایط کمبود آهن، غلظت کلسیم ریشه کاهش یافت (Valentinuzzi et al., 2019). در پژوهش حاضر، کاربرد سدیم نیتروپروساید، باعث افزایش غلظت نیتروژن برگ و ریشه پایه M7 شد. در مطالعه‌ای در گلایی رقم 'Qingzhen D1' در شرایط کمبود آهن، نیتریک اکسید برون‌زاد باعث افزایش میزان نیتروژن کل در برگ‌های جوان شد (Liu et al., 2022). در مطالعه‌ی حاضر، تیمار سدیم نیتروپروساید، باعث افزایش غلظت کلسیم شد. نیتریک اکسید، هموستازی Ca^{2+} و همچنین تقریباً همه-

به سمت برگ‌ها منتقل شود و pH آپوپلاست برگ و سیتوپلاسم را افزایش دهد (Cartmill et al., 2008). بی-کربنات، مانع جذب روی توسط ریشه‌ها و حرکت آن از ریشه به اندام‌هوایی می‌شود (Roosta et al., 2016). همچنین می‌تواند پتانسیل احیای ریشه را کاهش دهد، کاهش غلظت منگنز در برگ ممکن است ناشی از مقادیر کمتر جذب آن توسط ریشه‌ها باشد (Shahabi et al., 2005). در مطالعه‌ی حاضر، نیتریک اکسید برون‌زاد توانست تحمل پایه سیب را به تنش کمبود آهن با افزایش غلظت آهن ریشه و برگ بهبود بخشد. در ذرت در حال رشد در غلظت آهن ۱۰ میکرومولار Fe-EDTA، گیاهان تیمار شده با SNP (۱۰۰ میکرومولار)، رشد طبیعی داشتند و NO سطح آستانه‌ی آهن مورد نیاز برای گیاهان ذرت را برای رشد کردن بدون علائم کمبود آهن، کاهش داد (Graziano et al., 2002). در گلایی رقم 'Qingzhen D1' تحت تنش کمبود آهن، تیمار SNP ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) فعالیت آنزیم FCR (فریک-کلات ردوکتاز) و میزان آهن محلول را در برگ‌های جوان گیاه به طور معنی داری افزایش داد. علاوه بر این، بیان ژن‌های جذب آهن، *PbFRO2* و *PbFRO4* و همچنین بیان ژن‌های مرتبط با انتقال آهن *PbIRT1* را افزایش داد (Liu et al., 2022). از سوی دیگر، NO، دسترسی داخلی آهن را با تشکیل کمپلکس‌های مونونیتروزیل-یا دی-نیتروزیل آهن (به ترتیب MNIC و DNIC)، بهبود می‌بخشد. این کمپلکس‌ها یکی از اجزای مهم مخزن آهن ناپایدار^۱ هستند، بخشی از آهن کل که به راحتی در دسترس است و می‌تواند به راحتی از میان غشاء عبور کند یا توسط یک ناقل غشای پلاسمایی منتقل شود (Simontacchi et al., 2012). همچنین، DNIC‌ها حرکت آهن را در فواصل طولانی از ریشه تا ساقه حتی در شرایط کمبود آهن تسهیل می‌کنند (Vanin et al., 2004). در این پژوهش، کاربرد SNP سبب افزایش غلظت روی و منگنز و کاهش در میزان مس در برگ و ریشه شد. در بادام زمینی تحت شرایط کمبود آهن تیمارهای ($50 \mu\text{M SNP} + 0 \mu\text{M FeNaEDTA}$)، ($0 \mu\text{M FeNaEDTA} + 100 \mu\text{M SNP}$) یا ($0 \mu\text{M FeNaEDTA} + 250 \mu\text{M SNP}$) غلظت روی را در ریشه

1- Labile iron pool (LIP)

ی کانال‌ها و ناقل‌های Ca^{2+} را کنترل می‌کند. نیتریک-اکسید، باعث تحریک آزاد شدن Ca^{2+} از ذخایر درون-سلولی شده و به‌عنوان محرک قوی باعث عبور Ca^{2+} از غشای پلاسمایی می‌گردد و غلظت Ca^{2+} سیتوزولی را در شرایط تنش افزایش می‌دهد (Sokolovski & Blatt, 2006).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، شرایط کمبود آهن چه به صورت مستقیم و چه غیرمستقیم (ناشی از بی‌کربنات پتاسیم) باعث کاهش شاخص‌های رشدی، شاخص سبزینگی (SPAD)، آهن کل، کلسیم و منیزیم در برگ و ریشه شد ولی در مقابل، سبب افزایش درجه زردی (کلروز) برگ، مس، نیتروژن،

پتاسیم و فسفر در برگ و ریشه در پایه سیب M7 شد. استفاده از سدیم نیتروپروساید به‌عنوان آزادکننده‌ی نیتریک اکسید، باعث افزایش شاخص‌های رشدی، شاخص سبزینگی، آهن کل، نیتروژن، کلسیم، منیزیم، روی و منگنز برگ و ریشه شد درحالی‌که درجه زردی برگ، پتاسیم، فسفر و مس برگ و ریشه را در پایه سیب M7 در شرایط تنش کمبود آهن کاهش داد. در نتیجه، کاربرد نیتریک اکسید (به‌خصوص در غلظت ۲۰۰ میکرومولار SNP) به صورت مصرف از طریق ریشه می‌تواند تحمل پایه سیب به تنش کمبود آهن را با افزایش غلظت آهن و افزایش ویژگی‌های پایداری سلول بهبود بخشد همچنین به بهبود شاخص‌های رشدی و حفظ تعادل موادمغذی در این گیاه کمک کند.

References

- Amooaghaie R., and Roohollahi S. 2017. Effect of sodium nitroprusside on responses of *Melissa officinalis* to bicarbonate exposure and direct Fe deficiency stress. *Photosynthetica*, 55: 153-163.
- Ashtari S., Dadpour M.R., Oustan S., and Zaree Nahandi F. 2018. Endurance evaluation of apple rootstocks for Fe deficiency induced chlorosis through iron hunger and bicarbonate stress. *Environmental Sciences*, 15 (2): 181-198. (In Persian)
- Cai Y., Li Y., and Liang G. 2021. FIT and bHLH 1b transcription factors modulate iron and copper crosstalk in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment*, 44 (5): 1679 -1691.
- Cartmill A.D., Valdez-Aguilar L.A., Bryan D.L., and Alarcon A. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water. *Scientia Horticulturae*, 115 (3):275–84.
- Ciura J., and Kruk J. 2018. Phytohormones as targets for improving plant productivity and stress tolerance. *Journal of plant physiology*, 229: 32- 40.
- Covarrubias J.I., and Rombolà A.D. 2013. Physiological and biochemical responses of the iron chlorosis tolerant grapevine rootstock 140 Ruggeri to iron deficiency and bicarbonate. *Plant Soil*, 370: 305–315.
- Dobbels A.A., and Lorenz A.J. 2019. Soybean iron deficiency chlorosis high throughput phenotyping using an unmanned aircraft system. *Plant Methods*, 15:97.
- Graziano M., Beligni M.V., and Lamattina L. 2002. Nitric oxide improves internal iron availability in plants. *Plant Physiology*, 130(4): 1852-1859.
- Hanikenne M., Esteves S.M., Fanara S., and Rouached H. 2021. Coordinated homeostasis of essential mineral nutrients: a focus on iron. *Journal of experimental botany*, 72(6): 2136-2153.
- Hoagland D.R., and Arnon D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347(2ndEd.).
- José Correia P., de Varennes A., Gama F., Saavedra T., and Pestana M. 2018. Changes in nutritional homeostasis of *Poncirus trifoliata* and *Ceratonia siliqua* as a response to different iron levels in nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, 41(16): 2103-2115.
- Karimi R., Koulivand M., and Ollat N. 2019. Soluble sugars, phenolic acids and antioxidant capacity of grape berries as affected by iron and nitrogen. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41 (7): 117.
- Karimi R., and Salimi F. 2021. Iron-chlorosis tolerance screening of 12 commercial grapevines (*Vitis vinifera* L.) cultivars based on phytochemical indices. *Scientia Horticulturae*, 283:110111.
- Kaya C., Akram N.A., and Ashraf M. 2019. Influence of exogenously applied nitric oxide on strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) plants grown under iron deficiency and/or saline stress. *Physiologia plantarum*, 165(2), 247-263.
- Khan M., Ali S., Al Azzawi T.N.I., and Yun B.W. 2023. Nitric oxide acts as a key signaling molecule in Plant development under stressful conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5): 4782.
- Kong J., Dong Y., Song Y., Bai X., Tian X., Xu L., Liu S., and He Z. 2016. Role of exogenous nitric oxide in alleviating iron deficiency stress of peanut seedlings (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of plant growth regulation*, 35: 31-43.
- Liu J., Wang J., Wang Z., Li M., Liang C., Yang Y., Li D., and Wang R. 2022. Alleviation of iron deficiency in pear by ammonium nitrate and nitric oxide. *BMC Plant Biology*, 22(1): 1-11.
- Mizukoshi K., Nishiwaki T., Ohtake N., Minagawa R., Kobayashi K., Ikarashi T., and Ohyama T. 1994. Determination of tungstate concentration in plant materials by HNO₃-HClO₄ digestion and colorimetric method using thiocyanate. *Plant Analysis and Methods*, 46:51–6.
- Ohayama T., Ito M., Kobayashi K., Araki S., Yasuyoshi S., Sasaki O., Yamazaki T., Soyama K., Tanemura R., Mizuno Y., and Ikarashi T. 1991. Analytical procedures of N, P, K contents in plant and manure materials using H₂SO₄-H₂O₂ Kjeldahl digestion method. Bulletin of the Faculty of Agriculture, Niigata University, Japan, 43: 111-120.
- Pirmoradian M., Naseri L., Abdollahi H., and 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 Persian)

- Roosta H.R., Tavakkoli M.M., and Hamidpour M. 2016. Comparison of different soilless media for growing gerbera under alkalinity stress condition. *Journal of Plant Nutrition*, 39 (8):1063–73.
- Salhi K., Hajlaoui H., and Krouma A. 2022. Genotypic differences in response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) to lime-induced iron chlorosis. *Plant Direct*, 6(1): e377.
- Sami F., Siddiqui H., and Hayat S. 2021. Nitric oxide-mediated enhancement in photosynthetic efficiency, ion uptake and carbohydrate metabolism that boosts overall photosynthetic machinery in mustard plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40: 1088-1110.
- Shahabi A., Malakouti M.J., and Fallahi E. 2005. Effects of bicarbonate content of irrigation water on nutritional disorders of some apple varieties. *Journal of plant nutrition*, 28(9): 1663-1678.
- Shah S.H., Parrey Z.A., and Mohammad F. 2023. Nutrients homeostasis and nitric oxide in plants. In: *Nitric Oxide in Developing Plant Stress Resilience*. Academic Press, pp. 201-215.
- Simontacchi M., Buet A., Lamattina L., and Puntarulo S. 2012. Exposure to nitric oxide increases the nitrosyl-iron complexes content in *sorghum* embryonic axes. *Plant science*, 183: 159-166.
- Sinclair S.A., and Krämer U. 2012. The zinc homeostasis network of land plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1823(9):1553-67.
- Sokolovski S.G., and Blatt M.R. 2006. Nitric oxide and plant ion channel control. In: *Nitric Oxide in Plant Growth, Development and Stress Physiology*. Eds. L. Lamattina and J. C. Polacco. Berlin, Heidelberg: Springer, pp. 153–171.
- Tao J., and Lu L. 2022. Advances in genes-encoding transporters for cadmium uptake, translocation, and accumulation in plants. *Toxics*, 10: 411.
- Tewari R.K., Horemans N., and Watanabe M. 2021. Evidence for a role of nitric oxide in iron homeostasis in plants. *Journal of Experimental Botany*, 72(4): 990-1006.
- Tong H., Madison I., Long T.A., and Williams C.M. 2020. Computational solutions for modeling and controlling plant response to abiotic stresses: a review with focus on iron deficiency. *Current Opinion in Plant Biology*, 57: 8–15.
- Valentinuzzi F., Venuti S., Pii Y., Marroni F., Cesco S., Hartmann F., Mimmo T., Morgante M., Pinton R., Tomasi N., and Zanin L. 2019. Common and specific responses to iron and phosphorus deficiencies in roots of apple tree (*Malus × domestica*). *Plant molecular biology*, 101: 129-148.
- Vanin A.F., Svistunenko D.A., Mikoyan V.D., Serezhenkov V.A., Fryer M.J., Baker N.R., and Cooper C.E. 2004. Endogenous superoxide production and the nitrite/nitrate ratio control the concentration of bioavailable free nitric oxide in leaves. *Journal of Biological Chemistry*, 279 (23): 24100-24107.
- Vert G., Grotz N., Dédaldéchamp F., Gaymard F., Guerinet M.L., Briat J.F., and Curie C. 2021. Correction: IRT1, an *Arabidopsis* transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *Plant Cell*, 33: 439–440.
- Yue Ao T., Chaney R.L., Korcak R.F., Fan F., and Faust M. 1987. Influence of soil moisture level on apple iron chlorosis development in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 104: 85-92.
- Zhang J.C., Wang X.F., Wang X.N., Wang F.P., Jia X.L., An J.P., Yang K., Zhao Q., You C.X., and Hao Y.J. 2020. Abscisic acid alleviates iron deficiency by regulating iron distribution in roots and shoots of apple. *Scientia Horticulturae*, 262: 109018.
- Zheng X., Chen H., Su Q., Wang C., Sha G., Ma C., Sun Z., Yang X., Li X., and Tian Y. 2021. Resveratrol improves the iron deficiency adaptation of *Malus baccata* seedlings by regulating iron absorption. *BMC Plant Biology*, 21: 1-13.