علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۴ (ص ۵۶۱-۵۴۹)

ارزیابی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و رشدی سه ژنوتیپ مختلف گردو نسبت به بیکربنات آب آبیاری

میثم منظری توکلی[۱]، واحد باقری[۲]، حمیدرضا کریمی[۳]* و حمیدرضا روستا[۴]
۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشجوی سابق دکتری و دانشیاران گروه علوم باغبانی،
دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۶ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۶/۱)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر بیکربنات سدیم آب آبیاری بر صفات رشدی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های گردو، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور بیکربنات سدیم در ۳ سطح (صفر، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار) و ژنوتیپ‌های گردو در ۳ سطح شامل: ژنوتیپ محلی A؛ ژنوتیپ‌های وحشی B و C در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف بیکربنات بر روی صفات مختلفی نظیر رشد رویشی، خصوصیات فتوسنتزی، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و غلظت عناصر معدنی بافت گیاهی هر یک از ژنوتیپ‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که وجود بیکربنات کلیهٔ صفات مطالعه‌شده را تحت‌تأثیر قرار داد و اختلاف این اثر در بین سه ژنوتیپ به‌وضوح قابل مشاهده بود. مقدار آهن در اندام هوایی صرف نظر از نوع ژنوتیپ کاهش یافت. کمترین میزان کاهش (۱۵/۱۷ درصد) آهن اندام هوایی در غلظت ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات مربوط به ژنوتیپ A بود. کمترین درصد کاهش در کلروفیل بر اثر بیکربنات در مقایسه با شاهد در گیاهان ژنوتیپ A مشاهده شد. نتایج نشان داد که گردو جزء آن دسته از محصولات باغی است که حساسیت زیادی به بیکربنات آب آبیاری دارد، به‌طوری‌که از تیمار ۲۰ میلی‌مولار به بعد رشد گیاهان کاهش یافت. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، ژنوتیپ A بیشترین میزان تحمل به بیکربنات و نیز رشد رویشی بهتری در چنین شرایطی داشت، هرچند بین گیاهان ژنوتیپ B و C اختلاف معناداری مشاهده نشد. بنابراین، می‌توان ژنوتیپ A را به‌منزلهٔ ژنوتیپ متحمل به بیکربنات آب آبیاری در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: آهن، ژنوتیپ مقاوم، قلیاییت، گردو، pH.

مقدمه

گردو از میوه‌های آجیلی (مغزدار) و از جنس *Juglans* است که انواع وحشی یا بومی آن در ایران، چین، ژاپن، هند و آمریکا در امتداد کوه‌های آند تا آرژانتین یافت می‌شود (Darvishyan, 1997). ایران یکی از مراکز مهم گوناگونی ژنتیکی گردو محسوب می‌شود. شهرستان بافت به‌دلیل آب و هوای مناسب و ارتفاع بالا از سطح دریا از مهم‌ترین نقاط گردوخیز ایران محسوب می‌شود. در این شهرستان گردو به‌منزلهٔ یک محصول مهم باغی جایگاه خاصی در بین تولیدات کشاورزی دارد و می‌تواند عنوان محور توسعهٔ اقتصادی این شهرستان را به خود اختصاص دهد. قلیاییت آب مصرفی برای آبیاری محصولات ازجمله گردو نگرانی عمده‌ای ایجاد کرده است. قلیاییت به‌منزلهٔ غلظتی از

* تلفن: ۰۳۹۱-۳۲۰۲۰۰۶، ۰۹۱۷۳۵۱۴۸۲۷
E-mail: h_karimi1019@yahoo.com

نمک‌های محلول که ظرفیت خنثی‌کردن اسیدها را دارند، مشخص می‌شود (Whipker *et al.*, 1996). بیکربنات یون اصلی است که سبب قلیائیت و افزایش ظرفیت بافری آب می‌شود، اما در غلظت‌های بیشتر از ۲ میلی‌مولار می‌تواند سبب توقف معنادار در رشد گونه‌های حساس به pH زیاد آب شود (Valdez-Aguilar & Reed, 2010). بیشتر باغ‌های گردو در خاک‌های حاوی مقدار زیادی آهک قرار دارند. آهک از یک طرف سبب افزایش pH خاک می‌شود و از طرف دیگر در خاک‌های تحت آبیاری سنگین به‌دلیل کاهش تهویه و درنتیجه افزایش غلظت CO_2 در حضور آهک بیکربنات تولید می‌شود (Alcantara *et al.*, 1988). توانایی ریشهٔ گیاهان مختلف در جذب آهن متفاوت است به‌گونه‌ای‌که گیاهان مقاوم به کمبود آهن، ریشه‌های کارآمدتری برای جذب آهن دارند که البته این ویژگی بیشتر جنبهٔ توارثی دارد. در بین تمام عناصر کم‌مصرف، گیاهان بیشترین نیاز را به آهن دارند. اهمیت آهن بیشتر به‌دلیل دو وظیفهٔ حیاتی آن است. آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا است و برای سنتز کلروفیل مورد نیاز است (Fernandez *et al.*, 2005). تأثیر بیکربنات بر ویژگی‌های رشدی و فیزیولوژیکی بسیاری از گیاهان بررسی شده است، اما براساس اطلاعات پژوهشی ما، هیچ گزارشی دربارهٔ اثر بیکربنات بر ژنوتیپ‌های مختلف گردو در منابع موجود نیست. در پژوهش De La Guardia & Alcantara (2002)، بیکربنات سبب کاهش رشد رویشی و غلظت پتاسیم، مس و منگنز در اندام هوایی زیتون شد. در یک آزمایش گلدانی، تأثیر غلظت‌های مختلف بیکربنات آب آبیاری در بروز اختلالات تغذیه‌ای در سه رقم نهال سیب (رد دلشیز، گلدن دلشیز و گلاب کهنز) بررسی شد. نتایج نشان داد که مهم‌ترین عارضهٔ ناشی از زیادبودن غلظت بیکربنات در آب آبیاری کلروز آهن است (Shahabi *et al.*, 2005). همچنین Alcantara *et al.* (2003) ضمن ارزیابی ۸ پایهٔ مختلف زیتون به بیکربنات گزارش دادند که در بین پایه‌های مختلف تفاوت‌های آشکاری از نظر وزن تر و خشک اندام هوایی وجود دارد به‌طوری‌که کاهش در وزن تر و خشک در پایه‌های حساس بیشتر از پایه‌های مقاوم بود. نتایج پژوهش Ksouri *et al.* (2007) در زمینهٔ اثر بیکربنات بر روی پنج رقم انگور نشان داد که خصوصیات رویشی (وزن ساقه، مجموع سطح برگ، تعداد برگ و تولید زیست‌توده) و مقدار کلروفیل در برگ‌های جوان به ژنوتیپ گیاه و مقدار بیکربنات بستگی داشت، به‌طوری‌که واریتهٔ Khamri بیشترین مقاومت را به بیکربنات نشان داد. همچنین Shi *et al.* (1993) گزارش کردند که رشد اندام هوایی در هلو تحت‌تأثیر بیکربنات کاهش یافت اما رشد ریشه کمتر تحت‌تأثیر قرار گرفت.

با توجه به pH زیاد در بیشتر خاک‌های مناطق گردوکاری و کاهش شدید رشد گیاه به‌دلیل قابل دسترس نبودن عناصر غذایی و همچنین با توجه به میزان زیاد یون‌های بیکربنات در آب و خاک این مناطق که منجر به تشدید قلیاییت خاک می‌شود، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف بیکربنات بر روی خصوصیات رویشی و فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های مختلف گردو و تعیین ژنوتیپ مقاوم به بیکربنات، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

کاشت بذور و محلول‌دهی

این پژوهش بر روی نوع ژنوتیپ گردو شامل؛ ژنوتیپ A (تهیه‌شده از روستای آرن سفلی در شهرستان بافت، کرمان) و ژنوتیپ‌های وحشی B و C (تهیه‌شده از جنگل‌های شمال کشور) در گلخانهٔ دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان انجام شد. بذور بعد از ضد عفونی و چینه‌سرمایی در دمای ۵°C و جوانه‌زنی داخل پارچهٔ مرطوب به گلدان‌های ۴ لیتری یونولیتی حاوی پرلایت منتقل شدند. گیاهان در گلخانه‌ای در دمای ۲۱°C روزانه و ۱۸°Cشبانه و رطوبت نسبی ۶۰ درصد رشد کردند. محلول غذایی استفاده‌شده برای تغذیهٔ گیاهان حاوی ۵ میلی‌مولار $Ca(NO_3)_2.4H_2O$، ۰/۲ میلی‌مولار KH_2PO_4، ۰/۲ میلی‌مولار K_2SO_4، ۰/۳ میلی‌مولار $MgSO_4.7H_2O$ و ۰/۱ میلی‌مولار NaCl بود. ریزمغذی‌ها عبارت بودند از ۲۰ میکرومولار Fe-EDDHA، ۷ میکرومولار $MnSO_4.H_2O$، ۰/۷ میکرومولار

$ZnCl_2$، ۰/۸ میکرومولار $CuSO_4.5H_2O$، ۲ میکرومولار H_3BO_3، و ۰/۸ میکرومولار $Na_2MoO_4.2H_2O$ (Roosta & Schjoerring, 2007). در طول رشد گیاهان، محلول‌دهی به‌صورت روزانه به مقدار ۲۰۰ میلی‌لیتر (۱۰۰میلی‌لیتر ساعت ۸ صبح و ۱۰۰ میلی‌لیتر ساعت ۱۸ عصر) در هر گلدان انجام شد. میانگین pH در محلول غذایی محتوی ۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم به‌ترتیب ۷/۱، ۸/۱ و ۸/۴ بود. بعد از گذشت ۴۰ روز تیمارهای بیکربنات شامل سه سطح مختلف (۰، ۲۰ و۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم) هفته‌ای دو بار همراه با محلول غذایی به‌مدت ۱۰۰ روز اعمال شد.

خصوصیات رویشی

در پایان آزمایش، برای اندازه‌گیری وزن خشک، ابتدا گیاه از گلدان بیرون آورده شده و به دو قسمت اندام هوایی و ریشه تقسیم شد و پس از شست‌وشوی سیستم ریشه‌ای و خشک‌شدن، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰°C قرار گرفتند و سپس توزین شدند. بر این اساس وزن خشک اندام هوایی و ریشه به‌صورت گرم در هر گیاه گزارش شد.

قندهای محلول کل و پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش Paquin & Lechasseur (1979) استفاده شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول کل، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصارهٔ الکلی که قبلاً برای پرولین تهیه شده بود، با سه میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه‌شده، مخلوط شد. این محلول ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. سپس میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت و مقدار قندهای محلول محاسبه شد (Irigoyen *et al*., 1992).

ترکیبات فنولی

برای تعیین مقدار ترکیبات فنولی، ۰/۱ گرم از برگ تازه توسعه‌یافته در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد ساییده شد. عصارهٔ حاصل به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و ۱ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن اضافه شد و با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. به محلول آماده‌شده ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۵ درصد اضافه شد (Singleton & Rossi, 1965).

پارامترهای فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل (F_v/F_m) و شاخص کارایی دستگاه فتوسنتزی (PI) از دستگاه Chlorophyll Fluorimeter مدل Hansatech LTD Pocket PEA ساخت انگلیس استفاده شد. این دستگاه میزان فلورسانس کلروفیل را براساس پارامتر F_v/F_m، که عبارت‌است از نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر، ثبت می‌کند. روش کار به این صورت است که از هر گلدان بسته به تعداد برگ‌های سالم دو تا چهار برگ بالغ از قسمت‌های مرکزی گیاه انتخاب شدند و در گیره‌های مخصوص برای ایجاد شرایط تاریکی به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و پس از این مدت میزان F_v/F_m و PI با قراردادن سنسور دستگاه بر روی این گیره‌ها ثبت شد. همچنین اندازه‌گیری کلروفیل کل، a، b و کارتنوئیدها براساس روش Lichtenthaler (1987) انجام گرفت.

عناصر غذایی

عناصر غذایی‌ای که در این آزمایش اندازه‌گیری شدند شامل فسفر، منیزیم، آهن و روی در اندام هوایی و ریشه بود. فسفر بعد از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. عناصر منیزیم، روی و آهن بعد از عصاره‌گیری با استفاده از دستگاه جذب اتمیک (مدل GBC avanta ساخت استرالیا) اندازه‌گیری شد (Champan *et al*., 1982).

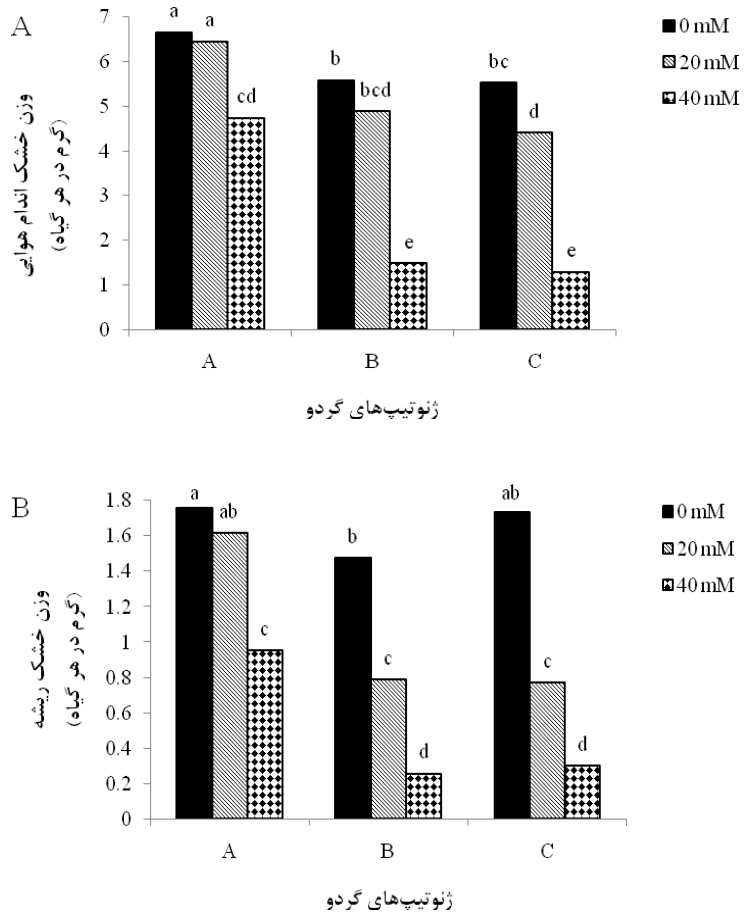
این پژوهش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور شامل ژنوتیپ در سه سطح و فاکتور بیکربنات در سه سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسهٔ میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون

دانکن انجام شد. با استفاده از برنامهٔ MINITAB ورژن ۱۴ تست نرمالیته بر روی داده‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات رویشی

اثر بیکربنات سدیم بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تقابل با ژنوتیپ در شکل ۱ آورده شده است. صرف نظر از نوع ژنوتیپ، تیمار بیکربنات سدیم سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد. همچنین دربارهٔ ژنوتیپ، بیشترین وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطوح مختلف بیکربنات سدیم مربوط به گیاهان ژنوتیپ A بود (شکل ۱-A و ۱- B).



شکل ۱. اثر سطوح بیکربنات سدیم بر وزن خشک بخش هوایی (A) و ریشه (B) در دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

* حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین تیمارها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

آزمایش‌های زیادی نشان داده‌اند که pH زیاد به‌عنوان یک عامل کلیدی در محدودکردن رشد و توسعهٔ گیاه در شرایط قلیایی است (Wang *et al*., 2011; Deng *et al*., 2010; Yang *et al*., 2009; De La Guardia & Alcantara, 2002). زیاد ناشی از pH تنش بیکربنات سدیم به ساختار ریشه و فعالیت‌های آن مانند جذب آب و یون‌ها، محتویات رنگدانه‌های فتوسنتزی و سیستم غشا آسیب می‌رساند (Yang *et al*., 2009). با استناد به نتایج پژوهش حاضر، این موارد ممکن است دلیل اصلی کاهش رشد گردو تحت تنش قلیاییت باشد و مقاومت بیشتر ژنوتیپ A به بیکربنات احتمالاً به‌دلیل تأثیر کمتر بیکربنات بر دستگاه فتوسنتزی این گیاهان باشد. نمک‌های قلیایی (Na_2CO_3 و $NaHCO_3$) تأثیرات مخرب‌تری نسبت به نمک‌های خنثی (NaCl و Na_2SO_4) بر گیاه دارند (Shi & Yin, 1993). Marschner (1995) طی

بررسی بر روی گیاه لوپن گزارش کرد که افزایش pH به‌دلیل کاهش طول سلول، سبب جلوگیری از رشد ریشه می‌شود. pH زیاد آپوپلاست، کاهش‌دهندهٔ خاصیت ارتجاعی دیوارهٔ سلول و درنتیجه محدودکنندهٔ توسعه و رشد سلول است (Valdez-Aguilar, 2004). گاهی کاهش رشد را به سرعت کم فتوسنتز که تحت غلظت زیاد بیکربنات اتفاق می‌افتد نسبت می‌دهند که با انتقال کم آهن و یا با غیرقابل حل‌کردن آهن در محلول محیط کشت که سبب صدمه به سنتز کلروفیل می‌شود همراه است (Bavaresco *et al*., 1999). به‌طورکلی، اغلب تأثیرات قلیاییت بر رشد گیاه از طریق کاهش در قابلیت حل عناصر توسط افزایش pH که به‌علت یون بیکربنات است ایجاد می‌شود (Yang *et al*., 2009). بنابراین، کاهش غلظت فسفر، منیزیم، آهن و روی در اندام هوایی گیاه تحت‌تأثیر بیکربنات سدیم می‌تواند بخشی از دلیل کاهش رشد گردو تحت بیکربنات سدیم باشد. مقاومت به بیکربنات در ژنوتیپ A ممکن است به‌علت جذب بهتر عناصر مخصوصاً آهن باشد. وزن خشک بیشتر در ژنوتیپ A تحت بیکربنات نشان‌دهندهٔ فتوسنتز بیشتر در این گیاهان است، زیرا توانایی فتوسنتز بیشتر مادهٔ خشک بیشتری را نتیجه می‌دهد.

بررسی‌های انجام‌شده در این آزمایش نشان داد که میزان رشد رویشی ژنوتیپ‌های مختلف با افزایش غلظت بیکربنات کاهش می‌یابد ولی شدت کاهش رشد رویشی در ژنوتیپ A نسبت به دو ژنوتیپ دیگر، کمتر بود. این مسئله بیانگر مقاومت بیشتر ژنوتیپ A نسبت به دو ژنوتیپ دیگر در غلظت‌های مختلف بیکربنات بود. در شرایط تنش هرچه گیاه میزان کاهش عناصر و کلروفیل کمتری داشته باشد، مقاومت آن به تنش بیشتر خواهد بود.

هماهنگ با نتایج این آزمایش کاهش وزن گیاه بر اثر بیکربنات در هلو و زیتون (De La Guardia & Alcantara, 2002) و انگور (Ksouri *et al*., 2007) مشاهده شد.

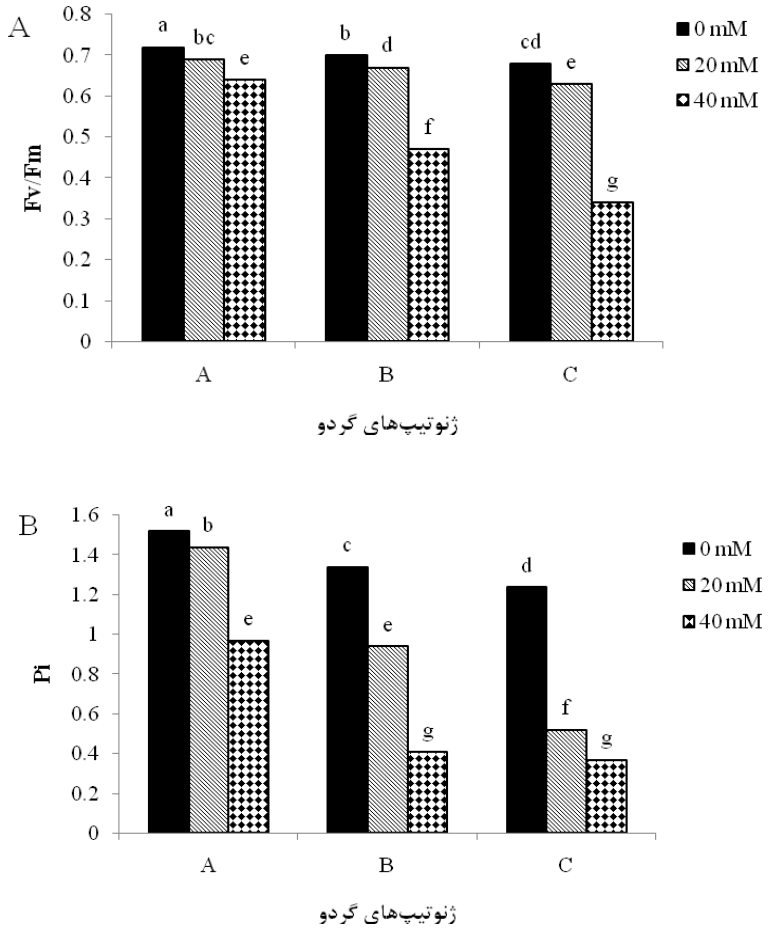
کلروفیل،کارتنوئیدها و فلورسانس کلروفیل

اثر بیکربنات سدیم بر میزان کلروفیل کل، a، b و کارتنوئیدها در سه ژنوتیپ گردو در جدول ۱ آورده شده است. براساس نتایج به‌دست‌آمده کمترین میزان کاهش کلروفیل a و کارتنوئیدها در تیمار ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم نسبت به شاهد، در گیاهان ژنوتیپ A مشاهده شد. همچنین به استثنای گیاهان ژنوتیپ A در سایر ژنوتیپ‌ها، غلظت ۲۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم میزان کلروفیل a و کارتنوئیدها را نسبت به شاهد به‌طور معناداری کاهش داد. تیمار بیکربنات سدیم در هر دو سطح ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد (صفر میلی‌مولار) سبب کاهش معنادار میزان کلروفیل b و کل در تمامی ژنوتیپ‌ها شد. کمترین میزان کاهش کلروفیل b و کل در تیمار ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم نسبت به شاهد، در گیاهان ژنوتیپ A مشاهده شد (جدول ۱). نتایج تأثیر بیکربنات سدیم بر نسبت کلروفیل فلورسانس متغیر به حداکثر (F_V/F_M) و شاخص کارایی فتوسنتزی (PI) در تقابل با ژنوتیپ در شکل‌های ۲-A و ۲-B آورده شده است. براساس نتایج به‌دست‌آمده صرف نظر از نوع ژنوتیپ، تیمار بیکربنات سدیم سبب کاهش F_V/F_M و PI شد؛ این در حالی بود که کمترین میزان کاهش F_V/F_M و PI در تیمار ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم نسبت به شاهد، در گیاهان ژنوتیپ A مشاهده شد.

در پژوهش حاضر تیمار بیکربنات سدیم سبب کاهش میزان کلروفیل کل، a، b و کارتنوئیدها شد. کمترین درصد کاهش در کلروفیل و کارتنوئید بر اثر بیکربنات سدیم در مقایسه با شاهد در گیاهان ژنوتیپ A مشاهده شد (جدول ۱). دسترسی‌نداشتن گیاه به عنصر آهن به ساخت کلروفیل صدمه می‌زند (De La Guardia & Alcantara, 2002). کلروفیل و کارتنوئیدها، مهم‌ترین رنگدانه‌های فعال در عمل فتوسنتز هستند. pH زیاد ناشی از تنش قلیاییت سبب تخریب کلروپلاست و کاهش فعالیت فتوسنتزی گیاهان می‌شود. تحت شرایط بیکربنات، کاهش غلظت آهن برگ سبب کاهش کلروفیل می‌شود (Malassiotis *et al*., 2006). کاهش غلظت کلروفیل، قدرت رشد و مقاومت به تنش را در گیاه کاهش می‌دهد (Yang *et al*., 2011). کاهش میزان کلروفیل تحت تیمار بیکربنات سدیم می‌تواند به‌علت تجزیه کلروفیل بر اثر آنزیم کلروفیلاز (Deng *et al*.,

2010)، رسوب عنصر منیزیم در pH زیاد (Shi & Zhao, 1997)، اختلال در تعادل یون سدیم (Wang *et al.*, 2011) و کمبود آهن (De La Guardia & Alcantara, 2002) باشد. با توجه به این موارد کاهش آهن و منیزیم در اندام هوای تحت بیکربنات می‌تواند یکی از دلایل کاهش کلروفیل و کارتنوئیدها در درختان گردو باشد. هماهنگ با نتایج این پژوهش، کاهش میزان کلروفیل در پایه‌های هلو (De La Guardia & Alcantara, 2002) و انگور (Ksouri *et al.*, 2007) تحت تیمار بیکربنات سدیم گزارش شده است. در پژوهش حاضر نیز زیادبودن میزان کلروفیل کل، a، b و کارتنوئیدها در ژنوتیپ A در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها را می‌توان به جذب بهتر عناصر غذایی مخصوصاً آهن و منیزیم در این گیاهان تحت شرایط تنش قلیاییت نسبت داد.

فلورسانس کلروفیل یکی از راه‌های مصرف انرژی برانگیختگی در فتوسنتز است که به‌طور گسترده‌ای در پژوهش‌های فتوسنتز به‌کار گرفته می‌شود. همچنین از کلروفیل فلورسانس برای تعیین وضعیت فیزیولوژی گیاه و میزان آسیب وارده به دستگاه فتوسنتزی استفاده می‌شود (Hakam *et al.*, 2000). یکی از پارامترهای مهم کلروفیل فلورسانس نسبت F_v/F_m است. نسبت F_v/F_m بیشترین کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل نور جذب‌شده به انرژی شیمیایی را نشان می‌دهد (Soltani, 2004). گزارش‌های کمی دربارهٔ اثر تنش قلیاییت بر روی فتوسنتز، مخصوصاً کلروفیل فلورسانس وجود دارد (Liu & Shi, 2010)، با وجود این، بازداشتن فتوسنتز و به تأخیر انداختن رشد گیاه بر اثر تنش قلیاییت در برخی پژوهش‌ها گزارش شده است (Yang *et al.*, 2009).



شکل ۲. اثر سطوح بیکربنات سدیم بر میزان F_v/F_m (A) وPI (B) در دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

* حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین تیمارها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

(PI: شاخص کارایی فتوسنتزی، بیشینهٔ پتانسیل کارایی‌کوانتومی فتوسیستم II= Fv/Fm = (Fm – F0) / Fm

Fm: بیشترین فلورسانس،F0: کمترین فلورسانس)

جدول ۱. اثر بیکربنات سدیم بر غلظت رنگیزه‌های کلروفیل و کارتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در برگ دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

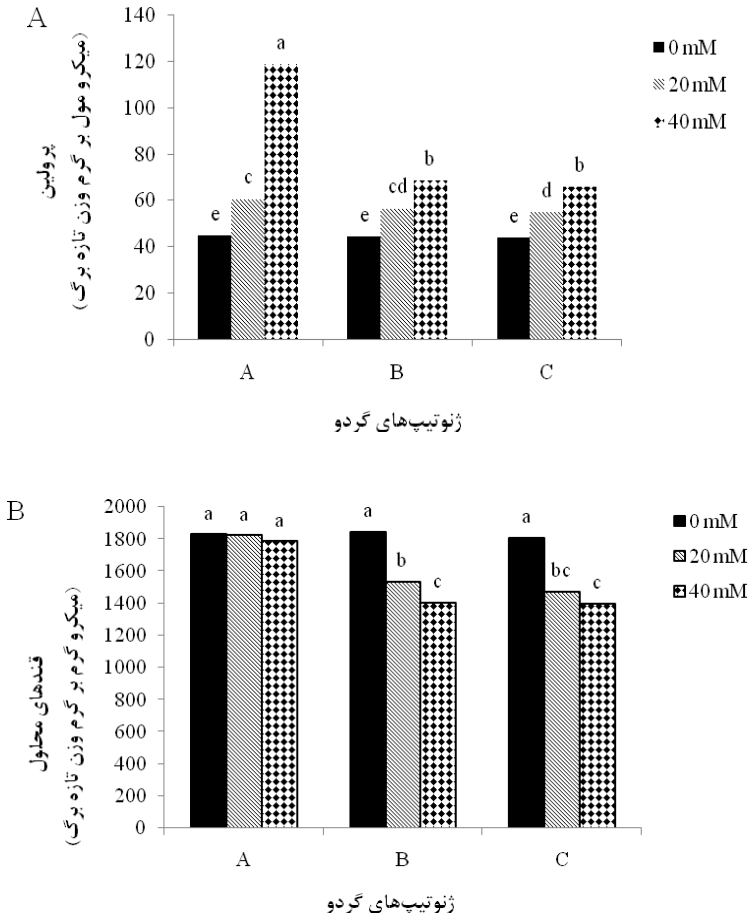
ژنوتیپ	بیکربنات سدیم (میلی‌مولار)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئیدها
A	۰	۰/۶۹۸a*	۰/۶۹۹a	۲/۱۴۲a	۰/۴۴۶a
	۲۰	۰/۶۶۳a	۰/۵۷۶c	۱/۵۹۹b	۰/۴۲۵a
	۴۰	۰/۵۷۰b	۰/۴۱۳d	۱/۵۴۹b	۰/۳۷۷b
B	۰	۰/۶۸۰a	۰/۶۵۸ab	۲/۰۱۰a	۰/۴۴۵a
	۲۰	۰/۵۶۳bc	۰/۵۲۷c	۱/۵۳۶b	۰/۳۱۳b
	۴۰	۰/۳۸۶d	۰/۲۳۱f	۰/۸۵۸d	۰/۲۶۱d
C	۰	۰/۵۳۰bc	۰/۶۲۰bc	۱/۵۶۶b	۰/۴۰۸ab
	۲۰	۰/۳۸۶d	۰/۲۳۱f	۰/۸۸۵d	۰/۲۶۱d
	۴۰	۰/۲۴۴e	۰/۱۵۱g	۰/۵۱۴e	۰/۱۰۷e

* حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

برای درک بهتر تغییرات فلورسانس کلروفیل تحت شرایط تنش‌های مختلف، پژوهش‌های پیشرفتهٔ تست JIP را که براساس تئوری جریان انرژی در غشاهای تیلاکوئید بنا نهاده شده استفاده می‌کنند (Romanowska-Duda *et al.*, 2005). این تست شامل آنالیز چندین گروه از پارامترهای اندازه‌گیری‌شده توسط دستگاه و محاسبه‌شده از طریق نسبت‌های ریاضی بوده است که پارامترهای خاص و پدیدارشناختی دربارهٔ جریان انرژی هستند. یکی از پارامترهای محاسبه‌شده در تست JIP که بیشتر از سایر پارامترها نیز استفاده می‌شود، شاخص کارایی فتوسنتزی (PI) است. شاخص کارایی فتوسنتزی یکی از شاخص‌های مهم فتوسنتز است که عملکرد هر دو فتوسیستم I و II را بازتاب و اطلاعات کمّی (مقداری) دربارهٔ عملکرد گیاه تحت شرایط تنش به ما ارائه می‌دهد (Strasser *et al.*, 2000). کاهش نسبت F_v/F_m و PI تحت تنش ترکیب شوری و قلیائیت به تأثیرات مخرب pH زیاد بر از بین بردن دستگاه فتوسنتزی و پذیرنده‌های الکترون، کاهش کارایی فلورسانس، تضعیف فعالیت فتوسیستم II و کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی نسبت داده شده است (Liu & Shi, 2010). در پژوهش حاضر، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمارهای بیکربنات سدیم ممکن است یکی از دلایل کاهش F_V/F_M و PI باشد. همچنین نتایج ما نشان داد گیاهان ژنوتیپ A تحت شرایط قلیائیت بیشترین میزان رنگیزه‌های گیاهی، F_V/F_M، PI و احتمالاً بیشترین میزان فتوسنتز (وزن خشک بیشتر در ژنوتیپ A تأییدکنندهٔ فتوسنتز بیشتر در این گیاهان است) داشته‌اند. این خود می‌تواند دلیلی بر تداوم رشد و تأثیرپذیری کمتر گیاهان ژنوتیپ A از شرایط تنش ایجادشده توسط بیکربنات سدیم باشد.

قندهای محلول کل و پرولین

براساس نتایج به‌دست‌آمده (شکل ۳-A) بیکربنات سدیم در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار سبب افزایش میزان پرولین در مقایسه با شاهد شد، به‌طوری‌که گیاهان ژنوتیپ A بیشترین میزان پرولین در سطح تیمار ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم را داشتند. در تیمار شاهد (صفر میلی‌مولار بیکربنات سدیم)، بین ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معناداری از نظر میزان پرولین وجود نداشت (شکل ۳-A). نتایج نشان داد که تیمار بیکربنات سدیم سبب کاهش قندهای محلول شد، به‌طوری‌که در غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم، به‌استثنای گیاهان ژنوتیپ A سایر ژنوتیپ‌ها کاهش معناداری در میزان قندهای محلول کل در مقایسه با شاهد نشان دادند. بنابراین، افزایش غلظت بیکربنات سدیم تأثیر معناداری بر میزان قندهای محلول گیاهان ژنوتیپ A نداشت (شکل ۳-B).



شکل ۳. اثر سطوح بیکربنات سدیم بر میزان پرولین (A) و قندهای محلول کل (B) در دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

* حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار تیمارها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

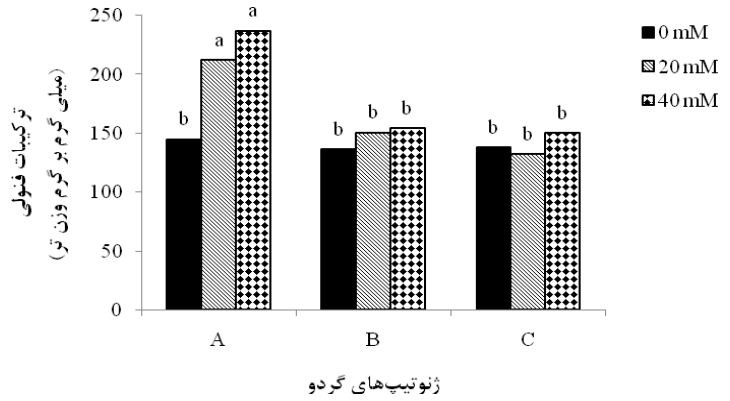
پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تجمع پرولین و قندهای محلول به‌منزلهٔ پاسخ عمومی گیاهان تحت تنش شوری و قلیاییت است (Yang *et al*., 2009). وجود اسید آمینهٔ پرولین در تمام گیاهان عالی شناخته می‌شوند و به‌طور معمول در پاسخ به تنش‌های محیطی در سلول تجمع می‌یابند. به‌علاوه نقش آن به‌منزلهٔ تنظیم‌کنندهٔ اسمزی، تثبیت‌کنندهٔ ساختار سلولی (غشا و پروتئین)، دروکنندهٔ اکسیدکننده‌ها و بافر سلولی شناخته شده است. پرولین ممکن است همچنین در کم‌کردن اسیدیته و نگهداری و حفظ نسبت $NADP^+/NADPH$ در سلول دخالت داشته باشد. همچنین پرولین بعد از تنش به‌سرعت شکسته می‌شود که ممکن است عامل‌هایی را فراهم کند که سبب حمایت از چرخهٔ فتوفسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری شود و انرژی لازم (ATP) برای برگشت از حالت تنش را فراهم کند (Satoh *et al*., 2002). در پاسخ به تنش شوری و خشکی در گیاهان، پرولین در سیتوسول تجمع می‌یابد و سبب تنظیم اسمزی سیتوپلاسمیک می‌شود. در طول شرایط تنش، گیاهان نیاز به حفظ پتانسیل آب درون سلول به‌منظور حفظ تورژسانس و جذب آب برای رشد دارند که این امر توسط سنتز مواد تنظیم‌کنندهٔ اسمزی ازجمله پرولین و قندهای محلول ایجاد می‌شود (Peng *et al*., 2007). مطابق با نتایج این پژوهش افزایش میزان پرولین در شاه‌توت تحت‌تأثیر تنش قلیائیت گزارش شده است (Ahmad & Sharma, 2010). تجمع مواد محلول سازگار مثل قندهای محلول و پرولین در شرایط تنش سبب محافظت غشاهای سلول در برابر غلظت بالای یون‌های معدنی و انواع اکسیژن واکنشگر می‌شود (Ahmad & Sharma, 2010). با توجه به مزایای تجمع

مواد محلول سازگار در گیاه هنگام وقوع تنش و با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان بیان کرد که محتوای بیشتر قندهای محلول کل و پرولین در گیاهان ژنوتیپ A می‌تواند نشان‌دهندهٔ مقاومت بیشتر این گیاهان به تنش قلیائیت باشد.

ترکیبات فنولی

افزایش غلظت بیکربنات سدیم تأثیر معناداری بر میزان ترکیبات فنولی گیاهان ژنوتیپ B و C نداشت، اما دربارهٔ گیاهان ژنوتیپ A ترکیبات فنولی را به‌میزان شایان توجهی افزایش داد، به‌طوری‌که گیاهان ژنوتیپ A در غلظت ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم بیشترین (۲۳۷/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) میزان ترکیبات فنولی را داشتند (شکل ۴).

ترکیبات فنلی گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند که نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و ضداکسایشی داشته باشند. افزایش سنتز این ترکیبات بر اثر تنش‌های محیطی گزارش شده است (Taiz & Zeiger, 2002). با توجه به مزایای تجمع ترکیبات فنولی در گیاه هنگام وقوع تنش و با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان گفت که غلظت بیشتر ترکیبات فنولی در گیاهان ژنوتیپ A می‌تواند نشان‌دهندهٔ افزایش مقاومت این گیاهان به تنش قلیاییت باشد.



شکل ۴. اثر سطوح بیکربنات سدیم بر مقدار ترکیبات فنولی در دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

* حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار تیمارها در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

عناصر غذایی

نتایج (جدول ۲) نشان داد که با افزایش غلظت بیکربنات سدیم، مقدار آهن در اندام هوایی صرف نظر از نوع ژنوتیپ کاهش یافت. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، کمترین میزان کاهش (۱۵/۱۷ درصد) آهن اندام هوایی در غلظت ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم مربوط به گیاهان ژنوتیپ A بود (جدول ۲). با افزایش غلظت بیکربنات سدیم، مقدار آهن در ریشه صرف نظر از نوع ژنوتیپ افزایش یافت. گیاهان ژنوتیپ A هرچند در سایر تیمارها بیشترین میزان آهن ریشه را داشتند ولی در غلظت ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم این افزایش مشهود بود. تیمار بیکربنات سدیم به‌طور شایان ملاحظه‌ای میزان روی (Zn) اندام هوایی و ریشه را در مقایسه با شاهد کاهش داد. کمترین میزان روی اندام هوایی و ریشه در غلظت ۴۰ میلی‌مولار مربوط به گیاهان ژنوتیپ C بود (جدول ۲). در بین ژنوتیپ‌ها، گیاهان ژنوتیپ A بیشترین میزان روی اندام هوایی و ریشه را در غلظت ۰ میلی‌مولار داشتند (جدول ۲). در ارتباط با عنصر منیزیم در اندام هوایی و ریشه نتایج نشان داد که با افزایش بیکربنات سدیم میزان منیزیم کاهش یافت به‌طوری‌که کمترین میزان منیزیم در اندام هوایی و ریشه در ژنوتیپ‌های C و B مشاهده شد (جدول ۲). تیمار بیکربنات سدیم سبب کاهش غلظت فسفر در اندام هوایی و ریشه شد، به‌طوری‌که در غلظت ۲۰ و ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم، میزان فسفر اندام هوایی و ریشه تمام ژنوتیپ‌ها

نسبت به شاهد کاهش قابل ملاحظه‌ای داشت. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، کمترین درصد کاهش میزان فسفر در غلظت ۴۰ میلی‌مولار بیکربنات سدیم مربوط به گیاهان ژنوتیپ A بود (جدول ۲). یون بیکربنات با اختلال در جذب و انتقال عناصر غذایی سبب بر هم زدن ترکیب عناصر گیاه می‌شود (Marschner, 1995). به‌طورکلی، کاهش در غلظت عناصر غذایی تحت تنش بیکربنات می‌تواند به‌علت تأثیرات بازدارندهٔ بیکربنات بر فعالیت‌های متابولیکی گیاه (Bialczyk *et al.*, 1994)، اختلال در فعالیت ریشه (Yang *et al.*, 1993)، کاهش در فراهمی عناصر غذایی در خاک‌هایی با pH زیاد (Alcantara *et al.*, 1988) و افزایش در خروج یا انتشار مواد غذایی (Alhendawi *et al.*, 1997) باشد. گزارش شده است که در محلول غذایی با pH بالا فراهمی عناصر منیزیم، کلسیم، فسفر و پتاسیم به میزان کمی کاهش می‌یابد، درصورتی‌که فراهمی منگنز، روی، مس و مخصوصاً آهن به‌طور معناداری کاهش می‌یابد (Bugbee, 2003). یون‌های بیکربنات در جذب عناصر پرمصرف، به‌ویژه فسفر، پتاسیم و منیزیم توسط گیاه تداخل ایجاد می‌کنند (Pissaloux *et al.*, 1995). به‌طور مثال در خاک‌های قلیایی، فسفر به‌صورت فسفات‌های منیزیم و کلسیم کم‌محلول رسوب می‌کند و از دسترس گیاه خارج می‌شود (Nikolic & Kastori, 2000) و از این طریق به خسارت‌های شدید به عملکرد و کیفیت منجر می‌شود (Valdez-Aguilar, 2004). با توجه به نتایج می‌توان تشخیص داد که میزان فسفر با افزایش غلظت بیکربنات سدیم در مقایسه با شاهد کاهش شایان توجهی داشت، که با نتایج Shi *et al.* (1993) بر روی هلو و Colla *et al.* (2010) بر روی هندوانه‌های پیوندی مطابقت داشت. بیکربنات فاکتوری اصلی در ایجاد کمبود روی در گیاهان است (Yang *et al.*, 1993). بیکربنات از جذب روی توسط ریشه‌ها ممانعت و از انتقال آن نیز از ریشه‌ها به اندام هوایی جلوگیری می‌کند (Valdez-Aguilar & Reed 2010). مطابق نتایج پژوهش حاضر کاهش غلظت روی در هندوانه‌های پیوندی (Colla *et al.*, 2010) و زیتون و هلو (De La Guardia & Alcantara, 2002) بر اثر کاربرد بیکربنات گزارش شده است. تحت شرایط قلیائیت با pH زیاد، Fe^{2+} به Fe^{3+} اکسید می‌شود که نسبتاً برای گیاه قابل دسترس نیست. به‌ازای هر واحد افزایش pH فراهمی آهن هزار برابر کاهش می‌یابد (Barber, 1995). دو فرضیه برای توضیح زردی ناشی از کمبود آهن تحریک‌شده به‌وسیلهٔ بی‌کربنات وجود دارد. یکی از این فرضیه‌ها بیان می‌کند که بیکربنات در ریزوسفر از جذب آهن جلوگیری می‌کند (Romheld, 2000)، درحالی‌که دیگری اظهار می‌کند که آهن جذب می‌شود اما به‌وسیلهٔ قلیاییت ناشی از بیکربنات در بافت‌های ریشه غیرفعال می‌شود (Bertoni *et al.*, 1992). در این پژوهش ریشه‌ها غلظت بالایی از عناصر ازجمله آهن نسبت به اندام هوایی دارند که شاید به‌علت تجمع این عناصر در آپوپلاست ریشه بر اثر افزایش pH به‌دلیل رسوب عناصر باشد که با نتایج به‌دست‌آمده در زیتون و هلو (De La Guardia & Alcantara, 2002) و گلابی (Zribi & Gharsalli, 2002) بر اثر کاربرد بیکربنات سدیم مطابقت داشت. دو ژنوتیپ B و C به‌طور مشترک در یک گروه و ژنوتیپ A در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت. بنابراین، می‌توان گفت ژنوتیپ A از نظر کارایی برای جذب آهن و میزان مقاومت در غلظت‌های مختلف بیکربنات نسبت به دو ژنوتیپ دیگر مقاومت بیشتری داشت. آهن به‌طور مستقیم در چرخهٔ فتوسنتز گیاه دخالت دارد و تولید مواد غذایی هم با افزایش بازده فتوسنتز در ارتباط است. اگرچه تولید مواد غذایی به فاکتورهای دیگری هم بستگی دارد، اما اگر فتوسنتز گیاه افزایش پیدا کند تولید موادغذایی نیز افزایش پیدا خواهد کرد. مطابق با نتایج این پژوهش، غلظت آهن در اندام هوایی گلابی (Zribi & Gharsalli, 2002)، هلو (De La Guardia & Alcantara, 2002) و هندوانه‌های پیوندی (Colla *et al.*, 2010) با افزایش غلظت بیکربنات سدیم کاهش چشمگیری نشان داد. منیزیم تنها عنصر فلزی موجود در مرکز کلروفیل است. کمبود منیزیم سبب کاهش میزان کلروفیل می‌شود و مشخص شده است که بدون وجود این ترکیب، زندگی گیاه دچار اختلال می‌شود (Marschner, 1995).

جدول ۲. اثر بیکربنات سدیم بر غلظت عناصر آهن، روی، منیزیم و فسفر در اندام هوایی و ریشهٔ دانهال‌های سه ژنوتیپ گردو

ژنوتیپ	بیکربنات سدیم (میلی‌مولار)	آهن (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		روی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)		منیزیم (درصد)		فسفر (درصد)	
		اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه
A	۰	۸۴/۵۶a*	۱۵۰/۶۷c	۲۸/۸۳a	۴۲/۵۸a	۰/۴۳۷a	۰/۲۳۲a	۰/۲۲۳a	۰/۴۳۷a
	۲۰	۷۸/۶۳b	۱۷۷/۹۱b	۲۷/۱۳a	۳۲/۲۳b	۰/۳۹۲b	۰/۲۰۷ab	۰/۱۹۸b	۰/۳۸۲bc
	۴۰	۷۱/۳۷c	۲۸۲/۴۰a	۲۵/۱۷b	۳۱/۱۰b	۰/۳۸۴b	۰/۱۹۹b	۰/۱۸۸b	۰/۳۷۶bc
B	۰	۸۱/۷۳ab	۹۸/۷۲f	۲۶/۱۸a	۳۲/۰۳b	۰/۴۲۸a	۰/۲۱۸ab	۰/۱۸۹b	۰/۴۲۲ab
	۲۰	۶۰/۹۳d	۱۱۳/۳۹ef	۲۳/۱۳ab	۲۹/۳۰bc	۰/۲۷۰c	۰/۱۰۷cd	۰/۱۶۵c	۰/۳۳۱d
	۴۰	۳۴/۳۴e	۱۴۲/۲۵cd	۱۸/۴۸b	۲۴/۷۰cd	۰/۱۶۶d	۰/۰۹۲d	۰/۱۲۷e	۰/۲۰۰e
C	۰	۷۷/۷۲b	۹۱/۲۲f	۲۸/۰۳a	۳۳/۵۳b	۰/۴۱۹ab	۰/۲۱۷ab	۰/۱۴۷d	۰/۳۷۰cd
	۲۰	۵۶/۰۳d	۱۰۴/۵۷ef	۱۹/۲۸b	۲۷/۲۰bc	۰/۲۴۷c	۰/۱۲۶c	۰/۱۱۱f	۰/۲۲۹e
	۴۰	۳۰/۴۶e	۱۲۶/۰۰de	۱۷/۲۳b	۱۹/۹۱d	۰/۱۵۳d	۰/۱۰۴cd	۰/۱۰۰f	۰/۱۸۹e

* حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهندهٔ اختلاف معنادار بین میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن است.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، مشخص شد که گیاهان ژنوتیپ A در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر، کمترین درصد کاهش در رشد رویشی، پارامترهای فتوسنتزی و عناصر غذایی تحت تنش بیکربنات را داشتند. هرچند بین گیاهان ژنوتیپ B و C اختلاف معناداری مشاهده نشد. با توجه به نتایج این پژوهش مشاهده شد که ژنوتیپ‌های گردو از نظر مقاومت به تنش بیکربنات متفاوت‌اند و با توجه به منشأ ژنوتیپ‌های استفاده‌شده (کرمان و شمال کشور) انتخاب طبیعی در ارتباط با ژنوتیپ‌های مقاوم در طول زمان صورت گرفته است، اگرچه در این مناطق به‌دلیل چگونگی تکثیر گردو تنوع ژنتیکی وسیعی در این ارتباط دیده می‌شود که باید در این ارتباط بررسی شود. علاوه بر این پژوهش حاضر نشان داد که گردو جزء آن دسته از محصولات باغی است که حساسیت زیادی به بیکربنات آب آبیاری دارد، به‌طوری‌که حد آستانهٔ آن کمتر از ۲۰ میلی‌مولار است، چراکه این سطح بیکربنات سدیم سبب کاهش معناداری در شاخص‌های اندازه‌گیری شده نسبت به شاهد شد. به‌طورکلی، با توجه به ضرورت معرفی پایه‌های مقاوم یا متحمل، نتایج این پژوهش نشان داد که گیاهان ژنوتیپ A در شرایط این آزمایش توانستند در غلظت‌های مختلف بیکربنات، برای اغلب صفات مطالعه‌شده نسبت به دو ژنوتیپ دیگر برتری نسبی از خود نشان دهند. از این‌رو می‌توان با پژوهش‌های بیشتری بر روی ژنوتیپ A بررسی‌شده در پژوهش یادشده از آن به‌منزلهٔ پایهٔ متحمل در برابر بیکربنات در تکثیر گردو استفاده کرد.

REFERENCES

1. Ahmad, P. & Sharma, S. (2010). Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alb*a L.) under $NaHCO_3$ stress. *International Journal of Plant Production*, 4 (2), 1735-6814.
2. Alcantara E., Manuel Cordeiro A. & Barranco D. (2003). Selection of olive varieties tolerance to iron chlorosis. *Plant Physiology*, 160, 1467-1477.
3. Alcantara, E., Romera, F. J. & de la Guardia, M. D. (1988). Genotypic differences in bicarbonate-induced iron chlorosis in sunflower. *Journal of Plant Nutrition*, 11, 65-67.
4. Alhendawi, R. A., Römheld, V. E., Kirkby, A. & Marschner, H. (1997). Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum and maize. *Journal of Plant Nutrition*, 20, 1731-1753.
5. Barber, S. A. (1995). *Soil Nutrient Bioavailability, a Mechanistic Approach.* (2nd ed.). John Wiley & Sons, New York.
6. Bavaresco, L., Giachino, E. & Colla, R. (1999). Iron chlorosis paradox in grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 22, 1589-1597.
7. Bertoni, G. M., Pissaloux, A., Morad, P. & Sayag, D. R. (1992). Bicarbonate-pH relationship with iron chlorosis in white lupine. *Journal of Plant Nutrition*, 15, 1509- 1518.

8. Bialczyk, J., Lechowski, Z. & Libik, A. (1994).Growth of tomato seedlings under different HCO_3^- concentration in the medium. *Journal of Plant Nutrition*, 17, 801-816.
9. Bugbee, B. (2003). Nutrient management in recirculating hydroponic culture. Available at http://www.usu.edu/cpl/research hydroponics 3. htm. Accessed 22 November 2010.
10. Chapman, H. D. & Pratt, P. F. (1982). *Methods of Analysis for Soils, Plants and Waters*. Division of Agriculture, University of California, Berkeley, CA. 4034p.
11. Colla, G., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Salerno, A. & Rea, E. (2010). The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon. *Environmental & Experimental Botany*, 68,283-291.
12. Darvishyan, M. (1997). *Walnut culture to new method.* Publication company technical of Iran. (in Farsi)
13. De la Guardia, 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, 1021-1032.
14. Deng, C. N., Zhang, G. X., Pan, X. L. & Zhao, K. Y. (2010). Chlorophyll fluorescence and gas exchange responses of maize seedlings to saline-alkaline stress. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16(1), 49-58.
15. Fernandez, V., Ebert, G. & Winkelmann, G. (2005). The Use of microbial siderophores for foliar iron application studies. *Plant & Soil*, 272, 245-252.
16. Hakam, P., khanizade, S., Deell, J. R. & Richr, C. (2000). Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. *HortScience*, 35, 184-186.
17. Irigoyen, J. J., Emerich, D. W. & Sanchez- Diaz, M. 1992. Water stress induced changesin concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84, 67-72.
18. Ksouri, R., Debez, A., Mahmoudi, H., Ouerghi, Z., Gharsalli, M. & Lachaal, M. (2007). Genotypic variability within Tunisian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) facing bicarbonate-induced iron deficiency. *Plant Physiology & Biochemistery*, 45, 315-322.
19. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and Cartenoids: Pigments and Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
20. Liu, J. & Shi, D.C. (2010). Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica*, 48, 127-134.
21. Malassiotis, A., Tanou, G., Diamantidis, G., Patakas, A. & Therios, L. (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, 176-185.
22. Marschner, H. (1995). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. IIthedn. Press, London.
23. Nikolic, M. & Kastori, R. (2000). Effect of bicarbonate and Fe supply on Fe nutrition of grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23, 1619-1627.
24. Paquin R. & Lechasseur, P. (1979). Observations sur une methode dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57, 1851-1854.
25. Peng, Y. L., Gao, Z. W., Gao, Y., Liu, G. F., Sheng, L. X. & Wang, D. L. (2007). Ecophysiological characteristics of alfalfa seedling in response to various mixed salt-alkaline stresses. *Horticultural Science*, 58, 240-278.
26. Pissaloux, A., Morarad, P. & Bertoni, G. (1995). *Alkalinity-Bicarbonate Calcium Effects on Iron Chlorosis in White Lupine in Soilless Culture. In: Abadia, J. (ed.)*. Development in plant and soil science. Iron nutrition in soils and plants; Seventh International Symposium on Iron Nutrition and Interactions in Plants, vol. 59. Zaragoza, Spain, June 27–July 2, 1993. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 127-133.
27. Romanowska-Duda, B., Kalaji, M. H. & Strasser, R. J. (2005). *The Use of PSII Activity of Spirodela Oligorrhiza Plants as an Indicator for Water Toxicity*. In: Van der Est A., Bruce D. Photosynthesis: Fundamental Aspects to Global Perspectives. Allen Press, Lawrence.
28. Römheld, V. (2000). The chlorosis paradox: Fe inactivation as a secondary event in chlorotic leaves of grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23, 1629-1643.
29. Roosta, H. R. & J. K. Schjoerring. (2007). Effects of ammonium toxicity on nitrogen metabolism and elemental profile of cucumber (*Cucumis sativus* L., cv. Styx) plants. *Journal of Plant Nutrition*, 30, 1933-1951.
30. Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki K. (2002). ACTCAT, a novel *cis*-acting element for proline- and hypoosmolarity-responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in *Arabidopsis*. Plant Physiology, 130, 709-719.
31. Shahabi, A., Malakouti, M. J. & Fallahi, E. (2005). Effects of Bicarbonate content of irrigation water on nutrition disorders of some apple varieties. *Journal of Plant Nutrition*, 28, 1663-1678.

32. Shi, D. C. & Yin, L. J. (1993). Different between salt (NaCl) and alkaline (Na_2CO_3) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb) Scribn. et. Merr. Plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 35, 144-149.
33. Shi, D. C. & Zhao, K. F. (1997). Effects of NaCl and Na_2CO_3 on growth of *Puccinellia tenuiflora* and on present state of mineral elements in nutrient solution. *Acta Prataculturae Sinica*, 6, 51-61.
34. Shi, Y., Byme, D. H., Reed, D. W. & Loeppert, R. H. (1993). Iron chlorosis development and growth response of peach rootstocks to bicarbonate. *Journal of Plant Nutrition*, 16, 1039-1046.
35. Singleton, V. L. & J. Rossi, A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology & Viticulture*, 16, 144-153.
36. Soltani, A. (2004). *Chlorophyll Fluorescence and Its Application*. Internal Press. University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran. (in Farsi)
37. Strasser, R. J., Srivastava, A. & Tsimilli-Michael, M. (2000). *The Fluorescence Transient as Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples*. In: Yunus, M., Pathre, U., Mohanty, P. Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation. Taylor and Francis, London.
38. Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. (3nd Edition). Sinauer Assoc. Inc., Publishers, Sunderl and MA, pp: 283-308.
39. Valdez-Aguilar, L. A. & Reed, D. W. (2010). Growth and nutrition of young bean plants under high alkalinity as affected by mixtures of ammonium, potassium, and sodium. *Journal of Plant Nutrition*, 33, 1472-1488.
40. Valdez-Aguilar, L. A. (2004). *Effect of alkalinity in irrigation water on selected greenhouse ornamental plants*. Ph.D Dissertation, College Station, Texas: Texas A&M University.
41. Wang, X., Geng, S., Ri, Y. J., Cao, D., Liu, J., Shi, D. C. & Yang, C. W. (2011). Physiological responses and adaptive strategies of tomato plants to salt and alkali stresses. *Scientia Horticulturae*, 130, 248-255.
42. Whipker, B. E., Bailey, D. A., Nelson, P. V., Fonteno, W. C. & Hammer, P. A. (1996). Anoval approach calculate acid additions for alkalinity control in grrenhouse irrigation water. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 27, 959-976.
43. Yang, C. W., Xu, H. H., Wang, L. L., Liu, J., Shi, D. C. & Wang, D. L. (2009). Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica*, 47, 79-86.
44. Yang, J. Y., Zheng, W., Tian, Y., Wu, Y. & Zhou, D. W. (2011). Effects of various mixed salt-alkaline stresses on growth, photosynthesis, and photosynthetic pigment concentrations of *Medicago ruthenica* seedlings. *Photosynthetica*, 49, 275- 284.
45. Yang, X., Römheld, V. & Marschner, H. (1993). Effect of bicarbonate and root zone temperature on uptake of Zn, Fe, Mn and Cu by different rice cultivars (*Oryza sativa* L.) grown in calcareous soil. *Plant & Soil*, 155, 441-444.
46. Zribi, K. & Gharsalli, M. (2002). Effect of bicarbonate on growth and iron nutrition of pea. *Journal of Plant Nutrition*, 25, 2143-2149.

Iranian Journal of Horticultural Science, Vol. 46, No. 4, Winter 2016

Evaluation of some the physiological and growth responses of three walnut genotypes to different bicarbonate concentrations in irrigation water

Meysam Manzari Tavakkoli[1], Vahed Bagheri[2], Hamid Reza Karimi[3*] and Hamid Reza Roosta[4]
1, 2, 3, 4. Former M.Sc. Student, Former Ph.D. Student and Associate Professors, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran
(Received: Nov. 7, 2013 - Accepted: Aug. 23, 2014)

ABSTRACT

In order to evaluate the effects of sodium bicarbonate of irrigation water on the physiology and growth characteristics of walnut genotypes, a factorial experiment was performed with two factors including bicarbonate at 3 levels (0, 20 and 40 mM) and walnut genotypes (including local genotype A and wild genotypes B and C), based on completely random design. In this study, the effect of bicarbonate on various traits such as growth, photosynthetic parameters, osmotic adjustment compounds and nutrient elements of each genotype were examined. Results showed that bicarbonate affected all traits, and the differences among the three genotypes were clearly obvious. Irrespective of genotype, iron concentration decreased in shoots of all plants. The lowest reduction (15.17%) of iron concentration of shoots at 40 mM bicarbonate was related to the genotype A. The lowest chlorophyll percentage was observed in genotype A when exposed to bicarbonate, as compared with control. Results showed that walnut belongs to the group of horticultural crops that are highly sensitive to bicarbonate existance in irrigation water. So that, the growth of plants began to reduce from 20 mM treatment. According to the results of this study, genotype A had the highest tolerance to bicarbonate and had better growth in these conditions. Although, there was no significant difference between genotype B and C. Therefore, genotype A can be introduced as a tolerant genotype to bicarbonate existence in irrigation water and can be used in walnut breeding programs.

Keywords: alkalinity, iron, ph, tolerant genotypes, walnut.

* Corresponding author E-mail: h_karimi1019@yahoo.com Tel: +98 917 351 4827, +98 391 3202006