القاء تحمل به خشکی در گردو چندلر با استفاده از سیگنال تنش شوری کنترل‌شده

حدیث کرمی، سهیل کریمی*، کورش وحدتی
گروه علوم باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران.
*نویسنده مسئول: skarimi@ut.ac.ir

چکیده

گردو (*Juglans regia*) از محصولات حساس به خشکی است و ازاین‌رو همواره بخشی از درختان جوان به دلیل کم‌آبی و گرما به‌محض انتقال از خزانه به محیط باغ دچار تنش شده و از بین بروند. در پژوهش حاضر تلاش شد با اعمال تنش شوری کنترل‌شده (کاربرد ۱۰۰ میلی مولار سولفات سدیم، کلرید کلسیم یا نیترات پتاسیم در محلول غذایی) بر نهال‌های گردو چندلر یک‌ساله که در بستر کشت بدون خاک با محلول هوگلند تغذیه می‌شدند تحمل سیستمیک نسبت به تنش خشکی القاء گردد. کارایی تیمارها در ایجاد تحمل به خشکی با ارزیابی آسیب‌های ساختاری سلول، روابط آبی، سرعت تعرق، و تنظیم اسمزی در برگ گیاهان پس از یک دوره ۳۰ روزه توقف آبیاری ارزیابی شد. تیمارهای سولفات سدیم و نیترات پتاسیم به‌صورت معنی‌داری از نشت الکترولیت در شرایط تنش خشکی جلوگیری نمود. این امر ناشی از بهبود محتوای آب نسبی، پتانسیل آب و تورژسانس در بافت برگ بود. هرچند در تیمار کلرید کلسیم روابط آبی برگ در حد تیمار شاهد حفظ شد، ولی نشت الکترولیت در حد تیمار تنش خشکی بود. بهبود روابط آبی گیاهان تحت تنش خشکی در پاسخ به پیش‌تیمار تنش شوری کنترل‌شده در درجه اول به بهبود تنظیم اسمزی و سپس به عملکرد بهتر روزنه‌ها در محدودیت تعرق گیاه ارتباط داده شد. در این خصوص پیش تیمار سولفات سدیم با القاء تجمع بیشتر پرولین و کاهش معنی‌دار سرعت تعرق، بیشترین کارایی را در ایجاد تحمل به خشکی در گردو چندلر داشت.

کلمات کلیدی: **. پتانسیل آب، تنظیم اسمزی، سرعت تعرق، محتوای آب نسبی برگ، *Juglans regia*.**

مقدمه

از زمانی که کشاورزی آغاز شد، خشکی یکی از مهم‌ترین خطراتی بود که کشت و کار محصولات و تأمین غذای بشر را تهدید نموده است. کاهش دسترسی به آب می‌تواند رشد و متابولیسم سلول‌های گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Farooq *et al*., 2009) و ادامه رشد و فعالیت‌های حیاتی گیاه را با کاهش پتانسیل آب و محتوای آب برگ، سبب بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت تأمین فتواسیمیلات‌ها مختل کند (Karimi *et al*., 2015). تغلیظ عناصر در محلول خاک در شرایط خشکی ممکن است منجر به کاهش فعالیت متابولیک ریشه‌ها شود که جذب عناصر را محدود و غلظت عناصر را در برگ کاهش می‌دهد (Isaakidis *et al*., 2004). در این شرایط تجمع رادیکال‌های آزاد و بروز تنش اکسیداتیو سبب آسیب به سلول و بافت می‌شود که سرانجام مرگ گیاه را در پی خواهد داشت (Farooq *et al*., 2009). گردو از محصولات مهم کشور است که حساسیت زیادی به تنش خشکی و گرما نشان می‌دهد (Hassani *et al*., 2001). این حساسیت در گیاهان جوان بیشتر است و شوک ناشی از گرما و کم‌آبی در زمان انتقال از خزانه انتظار به باغ سبب توقف رشد، آسیب به تاج و یا از بین رفتن گیاه می‌شود. با توجه به هزینه‌های زیاد تهیه نهال و مدیریت باغ، هر یک از این موارد ضرر اقتصادی شایان توجهی بر باغدار تحمیل می‌کند.

جهت ایجاد آمادگی در گیاه برای مواجه‌شدن با چنین شرایطی می‌توان از روش‌های مختلفی که جهت پیش تیمار گیاه (پرایمینگ) توسعه‌یافته‌اند استفاده نمود. در این روش‌ها با استفاده از تیمارهای فیزیکی یا شیمیایی، بیان ژن‌های

مرتبط با تحمل تنش در گیاه افزایش داده می‌شود و به‌این‌ترتیب گیاه قادر خواهد بود سریع‌تر و با قدرت بیشتری به تغییرات محیطی پاسخ دهد (Karimi *et al.*, 2017a). در پژوهش حاضر فرض شد که اگر سیستم دفاعی گیاه با کمک تنش شوری کنترل‌شده تحریک گردد، گیاه را قادر خواهد ساخت تا نسبت به شرایط تنش‌های چندگانه‌ای که پس از انتقال به محیط باغ با آن روبرو می‌گردد تحمل بیشتری نشان دهد. تنش شوری یک تنش غیرزنده پیچیده است و ازاین‌رو می‌تواند مکانیسم‌های دفاعی متنوعی را در گیاه فعال نماید (Lotfi *et al.*, 2009). به‌عنوان نمونه، فعال شدن مکانیسم‌های تنظیم اسمزی، تشدید فعالیت عوامل آنتی‌اکسیدان، افزایش کارایی مصرف آب، و تغییرات موفوفیزیولوژیک برگ در پاسخ به تنش شوری گزارش شده است (Vahdati and Lotfi, 2013). تمامی این عوامل قادرند به تحمل به خشکی گیاه کمک نمایند.

مواد و روش‌ها

نهال‌های کشت بافتی گردو چندلر در محیط گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰ درصد در بستر کشت کوکوپیت و پرلیت (نسبت ۱ به ۳) مستقر شدند. گیاهان با محلول هوگلند تغذیه شدند و پس از پنج ماه، تحت تأثیر نمک‌های مختلف (سولفات سدیم، نیترات پتاسیم و کلرید کلسیم به غلظت ۱۰۰ میلی مولار) جهت ایجاد تحمل به خشکی پیش تیمار شدند. تنش خشکی با متوقف کردن آبیاری گیاهان برای یک دوره ۳۰ روزه اعمال گردید. جهت ارزیابی کارایی تیمارهای مختلف بر ایجاد تحمل به خشکی در گیاهان، شاخص‌های زیر در انتهای دوره تنش خشکی ارزیابی شد. پتانسیل آب برگ (Ψ_L) با دستگاه بمب فشار و پتانسیل اسمزی برگ (Ψ_S) با اسمومتر اندازه‌گیری شدند. پتانسیل تورگور (Ψ_T) بر اساس پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب برگ محاسبه شد. سرعت تعرق (E) با استفاده از دستگاه فتوسنتز متر ارزیابی شد. محتوای آب نسبی برگ و نشت الکترولیت (EL) طبق روش گزارش شده توسط Karimi و همکاران (۲۰۱۲) اندازه‌گیری شدند. غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در برگ بر اساس روش گزارش شده توسط Irrigoyen و همکاران (۱۹۹۲) ارزیابی شد. آزمایش‌های مربوط به این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. تجزیه تحلیل‌های آماری با استفاده از SPSS v. 21 انجام شد. جهت تجزیه میانگین از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.

نتایج و بحث

جدول ۱ تغییرات روابط آبی و شاخص پایداری غشاء در برگ گردو چندلر را در انتهای آزمایش نشان می‌دهد. تنش خشکی محتوای آب نسبی برگ را به‌صورت معنی‌داری نسبت به شاهد (۱۲/۶ درصد) کاهش داد. با کاهش محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش خشکی، پتانسیل آب و پتانسیل تورژسانس برگ نیز کاهش معنی‌داری پیدا کرد (به ترتیب ۸۷/۴ و ۳۳/۴ درصد) و نشت الکترولیت به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت (۳۷/۳ درصد). هرچند حفظ آب در پیش تیمارهای تنش شوری سبب کاهش نشت الکترولیت شد، ولی در تیمار کلرید کلسیم نشت شدید الکترولیت مشاهده شد که می‌تواند به دلیل تجمع کلر در بافت و مسمومیت یونی رخ داده باشد. کاهش محتوای آب گیاه در پاسخ به تنش خشکی یک واکنش کلی است که سبب ایجاد اختلال در فرآیندهای بیولوژیک و متابولیسم سلول می‌گردد و آسیب‌های ساختاری به غشاء را در پی دارد که منجر به نشت الکترولیت می‌شود (Karimi *et al.*, 2017a).

کاهش پتانسیل آب برگ در این شرایط سبب محدود شدن رشد می‌شود و در شرایط تنش خشکی شدید باعث از دست رفتن تورژسانس سلول‌ها و پژمردگی برگ می‌گردد. در چنین شرایطی، گیاهانی که بتوانند آب بافت را برای مدت بیشتری حفظ کنند توانایی تحمل به خشکی بیشتری خواهند داشت (Farooq *et al.*, 2009). نتایج نشان داد که پیش تیمارهای سولفات سدیم و کلرید کلسیم سبب حفظ محتوای آب نسبی برگ، پتانسیل آب و پتانسیل تورژسانس برگ گیاهان تحت تنش در سطح تیمار شاهد شد. بهبود سطح آب در شرایط تنش خشکی می‌تواند به دو دلیل رخ

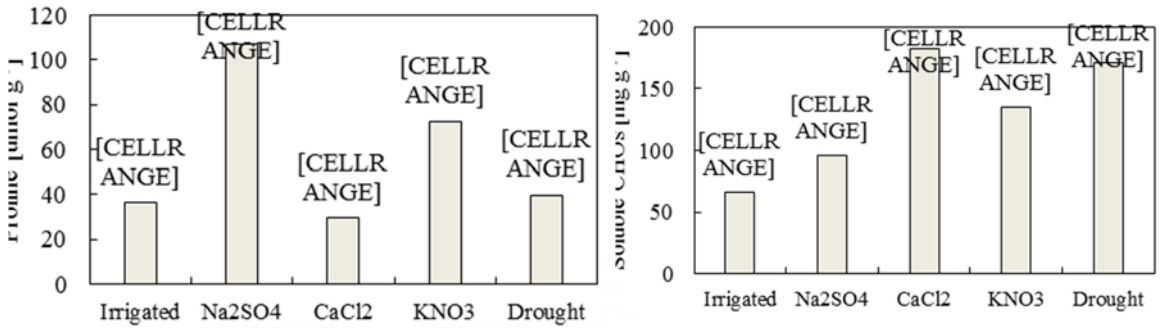
دهد: محدود شدن سرعت تعرق با کاهش هدایت روزنه‌ای، و یا فعال شدن مکانیسم‌های تنظیم اسمزی. در پژوهش حاضر هرچند که سرعت تعرق در شرایط تنش خشکی بدون پیش تیمار تنش شوری، کاهش یافت ولی تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. این مهم نشان می‌دهد که تنظیم روزنه‌ها در گردو در شرایط کم‌آبی با کارایی کمی انجام می‌شود و نمی‌تواند در حفظ آب برگ مؤثر باشد. ولی پیش تیمار تنش شوری با استفاده از سولفات سدیم به‌صورت قابل‌ملاحظه‌ای سرعت تعرق را در شرایط تنش خشکی محدود کرد که این امر با حفظ آب و پتانسیل آب و تورژسانس بیشتر برگ در این تیمار مرتبط بود. پیش از این نیز Karimi و همکاران (۲۰۱۷b) نشان دادند که پیش تیمار تنش شوری کنترل‌شده به گیاه کمک می‌کند تا درجه گشودگی روزنه‌ها را در پاسخ به خشکی سریع‌تر محدود کند. از طرف دیگر در شرایط تنش خشکی کاهش معنی‌داری در پتانسیل اسمزی برگ مشاهده شد که می‌تواند فعال شدن مکانیسم‌های تنظیم اسمزی را در این شرایط نشان دهد (). ارزیابی پتانسیل تورژسانس نشان داد که کاهش پتانسیل اسمزی در گیاهان پیش تیمار نشده به دلیل از دست رفتن آب بافت و تغلیظ شیره سلولی رخ داد. از طرف دیگر، نرخ کاهش پتانسیل اسمزی در گیاهان پیش تیمار شده با تنش شوری به‌صورت معنی‌داری بیشتر بود و این امر با بهبود پتانسیل تورژسانس بافت در شرایط خشکی همراه شد. این مشاهدات تنظیم اسمزی فعال در بافت برگ را تأیید می‌کند که حاکی از افزایش تحمل به خشکی گیاه است (Isaakidis *et al*., 2004).

جدول ۱- اثر تیمارهای تنش شوری با نمک‌های مختلف بر روابط آبی در برگ گردو رقم چندلر در شرایط تنش خشکی.

Treatments	RWC [%]	Ψ_S [MPa]	Ψ_L [MPa]	Ψ_T [MPa]	E [μmol m^{-2} s^{-1}]	EL [%]
Irrigated	90.3^{a}	-1.880^{a}	-0.738^{a}	1.245^{b}	1.401^{a}	23.0^{c}
Na_2SO_4	84.2^{ab}	-2.873^{c}	-0.979^{ab}	1.894^{ab}	0.947^{b}	48.9^{b}
$CaCl_2$	86.7^{ab}	-3.578^{d}	-0.915^{ab}	2.598^{a}	1.029^{ab}	66.1^{a}
KNO_3	81.4^{b}	-2.918^{c}	-1.057^{b}	1.861^{ab}	1.332^{a}	43.5^{b}
Drought	77.7^{b}	-2.212^{b}	-1.383^{c}	0.829^{c}	1.073^{ab}	60.3^{a}
ANOVA	*	*	**	**	Ns	**

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. تفکیک میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵.

سلول جهت تنظیم اسمزی و کمک به جذب آب در شرایط تنش خشکی از تجمع ترکیبات محلول سازگار با متابولیسم همچون پرولین و قندهای محلول استفاده می‌کند (Irrigoyen *et al*., 1992). در این پژوهش در گیاهان پیش تیمار نشده غلظت کربوهیدرات‌های محلول ۴۶/۲ درصد و غلظت پرولین ۹/۹ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱). این مشاهدات تغییرات محدود پتانسیل اسمزی برگ در گیاهان پیش تیمار نشده را توجیه می‌نماید. ولی در گیاهان پیش تیمار شده تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول بیشتر بود. تیمار سولفات سدیم (۱۹۵/۲ درصد) و نیترات پتاسیم (۹۹/۷ درصد) سبب افزایش معنی‌دار پرولین در برگ شد. تیمار کلرید کلسیم هرچند بر تجمع پرولین در برگ اثری نداشت، سبب ایجاد بیشترین تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ شد. این مشاهدات نشان می‌دهد که تنظیم اسمزی فعال در برگ گردو که سبب بهبود روابط آبی و کاهش آسیب‌های ساختاری در شرایط تنش خشکی می‌شود، ناشی از تجمع پرولین است و کربوهیدرات‌های محلول در این راستا نقشی ندارند. پژوهش‌های پیشین تجمع پرولین را در پاسخ به تنش شوری و اسمزی نشان داده‌اند و اهمیت این موضوع را برای تحمل به این تنش‌ها نشان داده‌اند (Karimi *et al*., 2012). به نظر می‌رسد که تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ یک پاسخ غیرفعال تنش خشکی و ناشی از کاهش رشد گیاه و عدم مصرف فتواسیمیلات‌ها باشد (Irrigoyen *et al*., 1992).



شکل ۱- اثر تیمارهای تنش شوری بانمک‌های مختلف بر محتوای کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در برگ گردو رقم چندلر در شرایط تنش خشکی. تفکیک میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵.

درمجموع مشخص شد که تنش شوری کنترل‌شده می‌تواند سبب القاء تحمل به خشکی در گردو شود و از این راهکار می‌توان برای ایجاد آمادگی در نهال، پیش از انتقال به باغ استفاده شود. تنش شوری کنترل‌شده به حفظ آب گیاه در شرایط تنش خشکی کمک می‌کند که این امر ناشی از بهبود پاسخ روزنه‌ها به خشکی و افزایش قابلیت تنظیم اسمزی گیاه است.

منابع

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In Sustainable agriculture. Springer Netherlands. pp. 153-188.

Hassani, D., Aqaei, M.J., Dastjerdi, R., Sorkhi, B. and Damyar, S. 2011. Guideline for evaluation and determination of factors causing damages in walnut orchards. FAO, http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IR2012000099.

Irrigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugers in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.

Isaakidis, A., Sotirpoulos, T., Almaliotis, D., Therois, I. and D. Styliandis. 2004. Response to severe water stress if almond (*Prunuse amygdalus*) Ferragnes grafted on eight rootstocks. New Zealand Journal of Crop Horticulture Science, 32: 355-362.

Karimi, S., Eshghi, S., Karimi, S. and Hasan-Nezhadian, S., 2017a. Inducing salt tolerance in sweet corn by magnetic priming. Acta Agriculturae Slovenica, 109(1): 89-102.

Karimi, S., Hojati, S., Eshghi, S., Nazari-Moghadam, R. and Jandoust, S. 2012. Magnetic field treatment improves fig 'Sabz' explants tolerance to *in vitro* induced drought stress. Scientia Horticulturae, 137: 95-100.

Karimi, S., Mirfattahi, Z. and Tavallali, V. 2017b. Preventing transplant failure by engaging plant defense machinery via imposing controlled salt stress and β-aminobutyric acid signaling. Scientia Horticulturae, Under press.

Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A. and Aghaalikhani, M. 2015. Gas-exchange response of almond genotypes to water stress. Photosynthetica, 53(1): 29-34.

Lotfi, N., Vahdati, K., Hassani, D., Kholdebarin, B. and Amiri, R. 2009. Peroxidase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activity accumulation in leaves and roots of walnut trees in response to drought stress. In VI International Walnut Symposium 861 (pp. 309-316).

Vahdati, K. and Lotfi, N. 2013. Abiotic stress tolerance in plants with emphasizing on drought and salinity stresses in walnut. INTECH Open Access Publisher.

Enhancing Drought Tolerance in Walnut 'Chandler' by Controlled Salt Stress Signal

Hadis Karami, Soheil Karimi*, and Kourosh Vahdati
Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran.
** Corresponding author: skarimi@ut.ac.ir.*

Abstract

Walnut (*Juglans regia*) is drought sensitive crop and a portion of young plants die due to experiencing water stress and high temperatures soon after transplantation from nursery to orchard. In this study we tried to induce systemic drought tolerance in one year old walnut 'Chandler' trees grown in soilless medium by imposing controlled salt stress (100 mM Na_2SO_4, $CaCl_2$, or KNO_3) in Hoagland's nutrient solution. The efficiency of the treatments was determined by evaluating cell structural damages, water relations, transpiration rate, and osmoregulation in the leaves after withholding irrigation for a 30-day. Na_2SO_4, and KNO_3 significantly reduced electrolyte leakage under drought stress, which was related to improving relative water content, leaf water potential and turgidity of leaf tissue. Although leaf water relations of CaCl2 treated plants significantly improved under drought stress, electrolyte leakage from the leaves was as high as non-primed drought stressed plants. Enhancement of plant water relations in response to controlled salt stress pretreatments was firstly related to improvement of osmoregulation capability in the leaves and later, improvement of stomata function in regulating transpiration rate. In this regard Na_2SO_4 stress by inducing the highest accumulation of proline and limitation of transpiration rate in the leaves was the most effective pretreatment for inducing drought tolerance in Walnut 'Chandler'.

***Keywords*: Membrane stability index, Leaf relative water content Leaf water potential, Priming, Turgor potential.**