

پاسخ‌های فیزیولوژیکی پنج گونه بادام به تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول

Physiological Responses of Five Almond Species to PEG-Induced Drought Stress

محمد رضا زکائی خسروشاهی^۱، محمود اثنی‌عشری^{۲*}، احمد ارشادی^۳ و علی ایمانی^۴

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۸/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۹/۳۰

چکیده

اثرات تنش خشکی بر برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌های جوان پنج گونه بادام (*P. eburnea*, *P. dulcis*، *P. scoparia* و *P. haussknechti*، *P. eleanifolia*) بررسی شد. سه سطح مختلف تنش خشکی (پتانسیل اسمزی محلول غذایی؛ $\Psi_s = 0/6$ ، $-1/1$ و $-1/6$ مگاپاسکال) و تیمار شاهد ($\Psi_s = 0/1$ - مگاپاسکال) به مدت ۲ هفته و پس از آن، ۴ هفته دوره بهبودی اعمال گردید. پتانسیل آب برگ گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. تحت تنش شدید، *P. dulcis* پایین‌ترین پتانسیل آب برگ را در میان گونه‌های مورد مطالعه داشت. قندهای محلول کل و پرولین آزاد در واکنش به تنش خشکی به‌طور معنی‌داری در برگ‌ها تجمع یافتند. بیشترین تجمع قندهای محلول تحت شرایط تنش شدید در مقایسه با شاهد در *P. eburnea* و *P. dulcis* مشاهده گردید. همچنین، بیشترین تجمع پرولین در برگ‌های *P. eburnea* و *P. dulcis* اتفاق افتاد. تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل گردید، اما محتوای کاروتنوئیدهای کل تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت. *P. dulcis* و *P. haussknechti* در مقایسه با سایر گونه‌ها کاهش کمتری در محتوای کلروفیل برگ نشان دادند. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز در برگ‌های دانه‌های تنش دیده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی، *P. dulcis* با پایین‌ترین پتانسیل آب برگ تحت شرایط تنش خشکی، بیشترین تجمع پرولین، تجمع نسبتاً بالای قندهای محلول و کاهش نسبتاً کمتر رنگیزه‌های برگ ممکن است در مقایسه با سایر گونه‌های مورد بررسی مقاومت بیشتری به تنش خشکی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: بادام، تنش خشکی، نشانگرهای فیزیولوژیکی

۱. دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

۲. دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

۳. استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

۴. استادیار بخش باغبانی مؤسسه اصلاح نژاد و بذر، کرج

* نویسنده مسئول
Email: m.esnaashari@basu.ac.ir

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط آزمایش

این آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان انجام شد. مواد گیاهی مورد استفاده دانه‌های یک‌ساله بادام اهلی (*P. dulcis*) و چهار گونه از بادام‌های وحشی ایران شامل *P. eleagnifolia*، *P. haussknechti*، *P. scoparia* و *P. eburnea* بود که بذور آنها از بخش باغبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذرها در گلدان کاشته شده و در گلخانه نگهداری شدند. در زمستان، گلدان‌ها به بیرون از گلخانه منتقل شده و پس از خزان طبیعی و رفع نیاز سرمایی گیاهان، مجدداً به گلخانه (درجه حرارت روزانه و شبانه به ترتیب، ۲۵ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۷۰-۶۵ درصد) انتقال یافتند. دانه‌ها در گلدان‌های ۷/۵ لیتری محتوی مخلوط پرلایت و کوکوپیت (نسبت ۱:۱) کاشته شده و تا زمان شروع تیمارها (برای مدت ۴ ماه)، با محلول غذایی هوگلند (نصف غلظت) تغذیه شدند. این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل (با ۴ سطح تنش و ۵ گونه) در قالب طرح کاملاً تصادفی و سه تکرار اجرا گردید. تیمارها معادل ۰/۶، ۱/۱- و ۱/۶- مگاپاسکال، به علاوه یک تیمار شاهد (۰/۱- مگاپاسکال) بود که براساس پتانسیل اسمزی محلول غذایی تعیین و طبق دستورالعمل میشل و کافمن^۵ (۱۹۷۳) با افزودن مقادیر متفاوتی از پلی‌اتیلن گلیکول -۶۰۰۰ به محلول غذایی هوگلند (نصف غلظت) ایجاد شدند. دانه‌ها دو هفته در معرض تنش خشکی قرار گرفته و سپس، در طول دوره بهبودی (مدت چهار هفته) برای تمامی گیاهان از پتانسیل اسمزی ۰/۱- مگاپاسکال (تیمار شاهد) استفاده شد.

اندازه‌گیری‌ها

قندهای محلول، پرولین آزاد و پتانسیل آب برگ در چهار نوبت شامل: میانه دوره تنش، پایان دوره تنش، میانه دوره بهبودی و پایان آزمایش اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری میزان قندهای محلول طبق روش به کار رفته توسط بایسه و مرکس^۶ (۱۹۹۳) صورت گرفت و جذب نوری نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر Varian، مدل CARY-100 در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد. اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ به روش اسپکتروفتومتری بیتز^۷ و همکاران (۱۹۷۳) در طول موج ۵۱۵ نانومتر انجام شد. اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ در ساعات اولیه صبح و با کمک یک

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان است. بسیاری از گونه‌های گیاهی دائمی دارای مکانیسم‌هایی برای مقابله با کمبود آب هستند. گیاهان می‌توانند با افزایش جذب یا به حداقل رساندن تلفات آب از تنش خشکی اجتناب نمایند. برخی از گونه‌ها از طریق فرایند تنظیم اسمزی؛ یعنی انباشت مواد محلول مختلف، تنش آبی را تحمل می‌کنند (گونزالز^۱ و همکاران، ۲۰۰۹). کاهش پتانسیل اسمزی در واکنش به تنش رطوبتی مکانیسم شناخته‌ای است که بسیاری از گیاهان از طریق آن با شرایط خشکی سازگاری می‌یابند. در بسیاری از گیاهان، تجمع مواد فعال اسمزی (نظیر قندهای محلول و پرولین) تداوم فرایندهای وابسته به آماس را در شرایط تنش آبی ممکن می‌سازد. تنظیم اسمزی باعث تسهیل جذب آب از خاک‌های خشک و حفظ آماس سلولی، تبادل گازها و رشد در محیط‌های بسیار خشک می‌شود (پاتاکاس^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). گونه‌های بادام عمدتاً به عنوان درختان یا درختچه‌های مقاوم به خشکی شناخته شده و با محیط‌های خشک و نیمه‌خشک سازگاری یافته‌اند. گونه‌های وحشی بادام دارای تنوع ژنتیکی بسیار بالایی بوده و منبع ژرم‌پلاسم ارزشمندی جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی به شمار می‌روند (گرادزیل^۳ و همکاران، ۲۰۰۱). اگرچه بسیاری از گونه‌های وحشی بادام، به عنوان پایه برای بادام اهلی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، اما برتری گونه‌های وحشی بر بادام اهلی از این لحاظ هنوز به اثبات نرسیده است (سرخه^۴ و همکاران، ۲۰۰۹). گزینش بهترین پایه‌ها بر اساس بررسی خصوصیات اکوفیزیولوژیکی آنها در شرایط تنش خشکی، در راستای بهبود عملکرد محصول در محیط‌های خشک حائز اهمیت فراوانی است. بنابراین، هدف از تحقیق حاضر مقایسه الگوی تغییرات برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی در بادام‌های وحشی و اهلی طی دوره تنش و دوره بهبودی متعاقب آن در راستای گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی است.

1. Gonzalez et al.
2. Patakas et al.
3. Gradziel et al.
4. Sorkheh et al.

5. Michel and Kaufmann
6. Buysse and Merckx
7. Bates et al.

سیب تحت تنش آبی در مقایسه با درختان شاهد تا حد زیادی تجمع یافت (سیرسلج^۹ و همکاران، ۲۰۰۷). در بسیاری از گونه-گونه‌های گیاهی، تجمع قندهای محلول در برگ‌ها طی تنش خشکی ارتباط تنگاتنگی با تحمل به خشکی آنها دارد (لیو^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۱). در انبه، رقمی که مقدار قند بیشتری انباشته نمود، نسبت به رقم دیگر از مقاومت بیشتری در برابر تنش خشکی برخوردار بود (الشیری و کائو^{۱۱}، ۲۰۰۸). با توجه به این که قندهای محلول به عنوان تنظیم کننده‌های اسمزی در سلول‌های گیاهی عمل می‌کنند، افزایش غلظت آنها نقش مهمی در کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌ها و افزایش شیب پتانسیل آب بین سلول‌های گیاهی و خاک ایفا کرده و جذب آب توسط ریشه‌ها را بهبود می‌بخشد. در منابع علمی، دلایل مختلفی برای افزایش محتوای قندهای محلول در شرایط کم-آبی ذکر شده است. گزارش‌ها نشان می‌دهند که تجمع قندهای محلول در شرایط تنش خشکی ممکن است به دلیل تجزیه کربوهیدرات‌های مرکب نظیر نشاسته به قندهای ساده‌تر باشد (لی^{۱۲} و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین، پاتاکاس و همکاران (۲۰۰۲) پیشنهاد می‌کنند که افزایش محتوای قندهای محلول برگ تحت شرایط تنش خشکی ممکن است ناشی از تولید بیشتر سوکروز، به علاوه کاهش انتقال آن به بیرون از برگ‌ها باشد.

در همه مراحل اندازه‌گیری غیر از مرحله اول، با افزایش شدت تنش، میزان قندهای محلول برگ ابتدا افزایش و سپس مجدداً کاهش یافت (شکل ۱). تجمع قندهای محلول به عنوان یک پاسخ فیزیولوژیکی در برابر تنش خشکی با افزایش شدت تنش تا سطح ۱/۱- مگاپاسکال در همه گونه‌ها اتفاق افتاد (بیشترین میزان قند محلول مربوط به تیمار ۱/۱- مگاپاسکال می‌باشد)، اما با افزایش بیشتر شدت تنش، دوباره به طور معنی‌داری کاهش یافت. این امر احتمالاً به دلیل اختلال در فتوسنتز و یا کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها تحت تنش شدید خشکی باشد.

دستگاه محفظه فشار (بمب فشار)^۱ که در دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا طراحی و ساخته شد، صورت گرفت. اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های مختلف شامل کلروفیل‌های a، b و کل (a+b) و کاروتنوئید کل در پایان دوره تنش طبق روش موسی^۲ و همکاران (۲۰۰۷) صورت گرفت. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید و غلظت هر یک از رنگیزه‌ها بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. برای این منظور، نمونه‌های بافت تازه برگ (۱۰۰ میلی‌گرم) در ازت مایع کوبیده شده و تا زمان مصرف در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (بیچامپ و فریدویچ^۳، ۱۹۷۱)، کاتالاز (ایبای^۴، ۱۹۸۴)، پراکسیداز (هرزاک و فهیمی^۵، ۱۹۷۳)، آسکوربات پراکسیداز (ناکانو و آسادا^۶، ۱۹۸۱) و گلوکاتایون ردوکتاز (فویر و هالیول^۷، ۱۹۷۶) با دستگاه اسپکتروفتومتر Varian، مدل CARY-100 به ترتیب، در طول موج‌های ۵۶۰، ۲۴۰، ۴۶۵، ۲۹۰ و ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به دست آمده از این تحقیق به کمک نرم‌افزار SAS-9.1 تجزیه آماری شده و مقایسه میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن^۸ انجام گرفت.

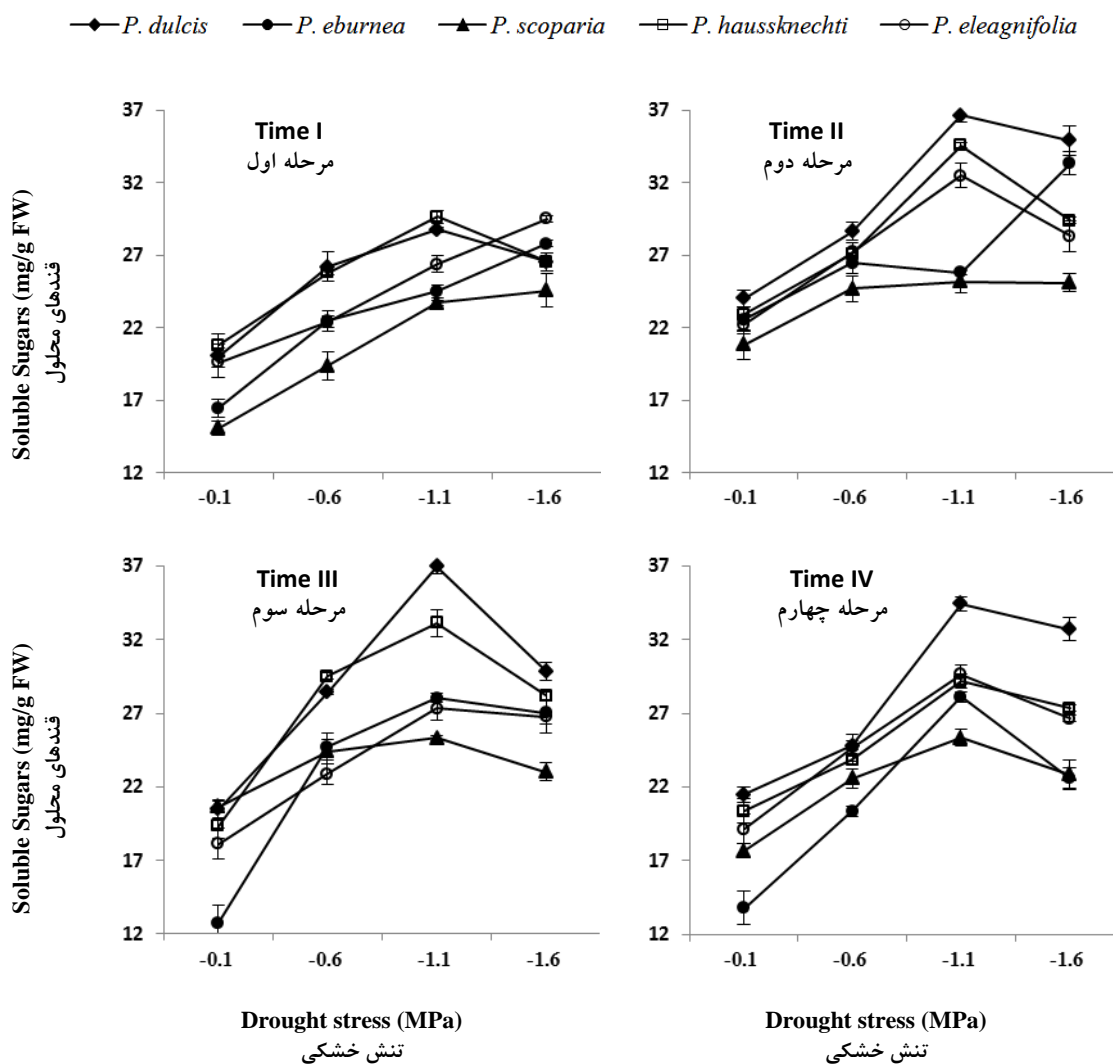
نتایج و بحث

قندهای محلول

ژنوتیپ و تنش خشکی اثرات معنی‌داری بر محتوای قندهای محلول برگ داشتند. در همه مراحل اندازه‌گیری، تفاوت معنی‌داری بین گونه‌ها وجود داشت ($P \leq 0.05$). در غیاب تنش خشکی، بیشترین و کمترین محتوای قندهای محلول به ترتیب، مربوط به دو گونه *P. dulcis* و *P. scoparia* بود. در تمامی گونه‌ها، تنش خشکی باعث افزایش قندهای محلول برگ شد (شکل ۱). آزمایش‌های متعدد ثابت کرده‌اند که غلظت قندهای محلول در برگ درختان میوه در شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری بالاتر از برگ درختان خوب آبیاری شده است. قندهای کل، قندهای احیایی و سوربیتول در برگ‌های درختان

1. pressure chamber (pressure bomb)
2. Mousa *et al.*
3. Beauchamp and Fridovich
4. Aebi
5. Herzog and Fahimi
6. Nakano and Asada
7. Foyer and Halliwell
8. Duncan's multiple range test

9. Sircelj *et al.*
10. Liu *et al.*
11. Elsheery and Cao
12. Lee *et al.*



شکل ۱: تأثیر تیمارهای خشکی بر میزان قندهای محلول برگ پنج گونه بادام در چهار مرحله اندازه‌گیری. مراحل I و II به ترتیب یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی و مراحل III و IV دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی هستند. شاخص‌های عمودی بیانگر \pm خطای استاندارد سه تکرار هستند.
 Fig. 1: Effects of drought treatments on leaf soluble sugars content of five almond species at four measurement times. Times I and II are one and two weeks after the beginning of drought treatments and times III and IV are two and four weeks after the recovery period, respectively. Vertical bars indicate \pm standard error (SE) of three replications

جدول ۱: افزایش قندهای محلول برگ‌های پنج گونه بادام تحت تنش خشکی (۱/۱- مگاپاسکال) در مقایسه با شاهد (۱/۱- مگاپاسکال)

Table 1: increase in total soluble sugars in leaves of five almond species under drought stress ($\Psi_s = -1.1$ MPa) as compared to the control ($\Psi_s = -0.1$ MPa)

species (گونه)	I		II		III		IV		average (میانگین)	
	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%
<i>P. dulcis</i>	8.70	43.4	12.62	52.6	16.48	80.5	12.95	60.3	12.69	59.2
<i>P. eburnea</i>	8.06	49.0	3.23	14.3	15.27	119.5	14.33	104.0	10.22	71.7
<i>P. scoparia</i>	8.63	57.3	4.33	20.8	4.66	22.6	7.69	43.5	6.33	36.0
<i>P. haussknechti</i>	8.85	42.6	11.64	50.8	13.77	71.2	8.82	43.3	10.77	52.0
<i>P. eleagnifolia</i>	6.77	34.6	10.27	46.3	9.20	50.7	10.48	54.8	9.18	46.6

I و II: یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی

III و IV: دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی

I and II: one and two weeks after the beginning of drought treatments

III and IV: two and four weeks after recovery period

مقایسه مقادیر پرولین آزاد شاهد با تیمار ۱/۱- مگاپاسکال در مراحل چهارگانه اندازه‌گیری (جدول ۲) نشان می‌دهد که بیشترین تجمع پرولین آزاد تحت تأثیر تنش خشکی در برگ-های دو گونه *P. dulcis* (۸۲/۸ درصد) و *P. eburnea* (۴۸/۱ درصد) اتفاق افتاده است، درحالی‌که کمترین تجمع پرولین مربوط به *P. haussknechti* (۶/۲ درصد) است. لذا به نظر می‌رسد تنظیم اسمزی از طریق تجمع مواد آلی محلول، به ویژه پرولین در برگ و کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌ها تحت تنش آبی از مکانیسم‌های عمده تحمل تنش خشکی در *P. dulcis* و *P. eburnea* می‌باشد.

پتانسیل آب برگ

ژنوتیپ و تیمار خشکی اثر معنی‌داری بر پتانسیل آب برگ داشتند ($P \leq 0/05$). در همه گونه‌ها، با افزایش شدت تنش، پتانسیل آب برگ کاهش یافت (شکل ۳). این امر ممکن است نتیجه تجمع قندهای محلول و پرولین آزاد در برگ‌ها باشد. تأیید این ادعا، لیو و همکاران (2011) در تعدادی از گونه‌های گیاهی چوبی رابطه خطی و منفی معنی‌داری را بین پتانسیل آب برگ و محتوای پرولین و قندهای محلول در شرایط تنش خشکی پیدا نمودند. همچنین، در همه مراحل اندازه‌گیری، اختلاف معنی‌داری بین گیاهان شاهد گونه‌های مختلف وجود داشت. در غیاب تنش خشکی، کمترین مقدار پتانسیل آب برگ در اولین مرحله اندازه‌گیری مربوط به *P. haussknechti* (۱۸/۳۳- بار)، و در مراحل دوم، سوم و چهارم مربوط به *P. dulcis* (به ترتیب، ۲۰/۳۳-، ۲۰/۶۷- و ۲۰/۳۳- بار) بود. گیاهان شاهد *P. eburnea* دارای بیشترین مقدار پتانسیل آب برگ (به ترتیب، ۱۵/۰-، ۱۵/۰-، ۱۵/۶۷- و ۱۵/۶۷- بار در مراحل اول، دوم، سوم و چهارم) بودند. طی دوره خشکی، اختلاف معنی‌داری بین شاهد و سایر تیمارهای تنش خشکی وجود داشته و پتانسیل آب گیاهان شاهد با اختلاف معنی‌داری بیشتر از گیاهان تحت تنش بود. کمترین مقدار پتانسیل آب برگ در این دوره، مربوط به بالاترین سطح تنش (به ترتیب، ۲۵/۱۳- و ۲۵/۶۰- بار در مراحل اول و دوم) بود. اگرچه این تیمار اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱/۱- مگاپاسکال نداشت، اما اختلاف آن با سایر تیمارها معنی‌دار بود. طی دوره بهبودی، پتانسیل آب برگ دانه‌های بادام مجدداً افزایش یافت؛ به طوری که تفاوت معنی‌داری بین شاهد و سایر تیمارهای تنش خشکی مشاهده نشد.

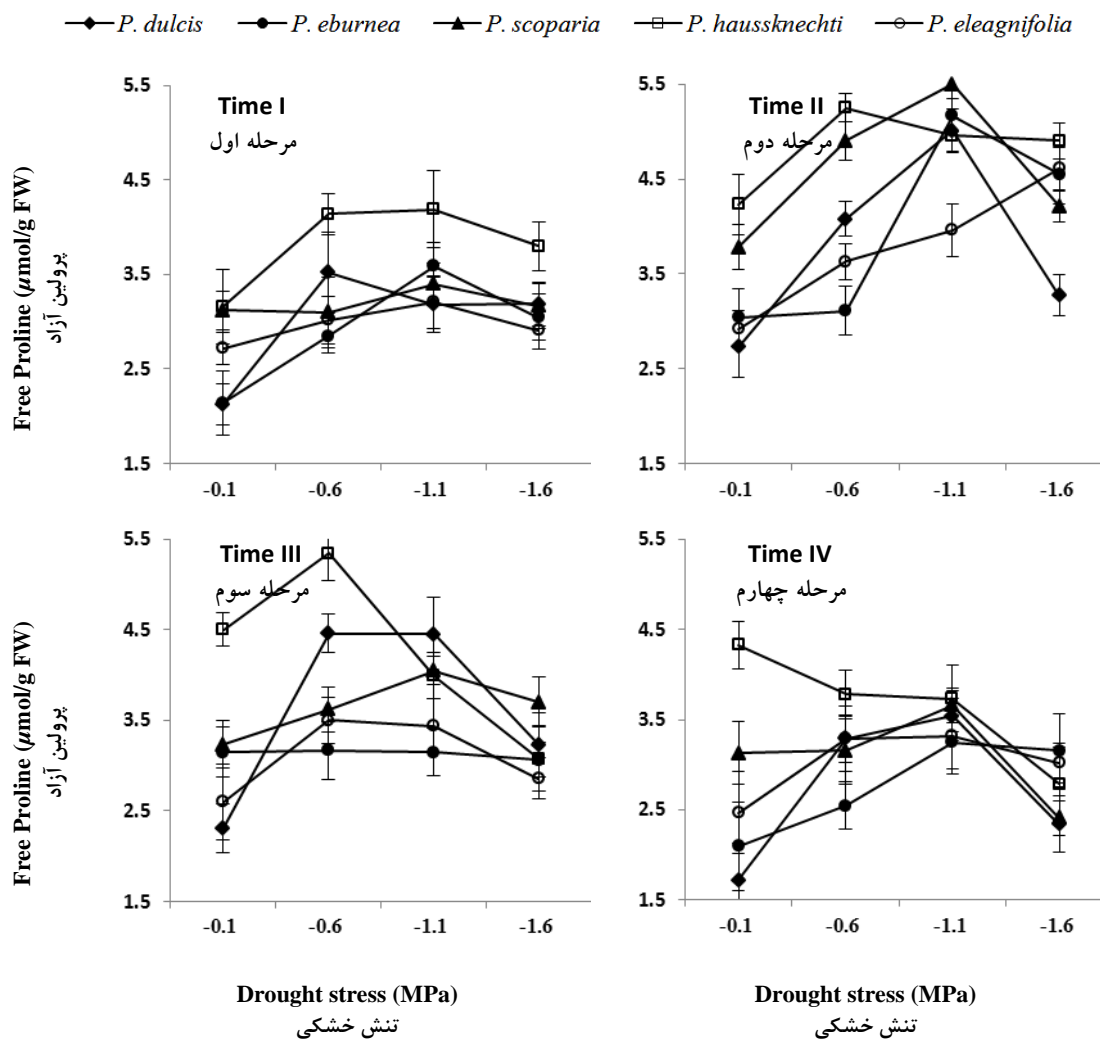
مقایسه اختلاف محتوای قندهای محلول برگ بین تیمار شاهد هر یک از گونه‌ها و تیمار ۱/۱- مگاپاسکال (که بیشترین میانگین قندهای محلول برگ را دارا است) در مراحل چهارگانه اندازه‌گیری (جدول ۱) نشان داد که تجمع قندهای محلول در *P. eburnea* بیشتر از سایر گونه‌ها (۷۱/۷ درصد میانگین چهار مرحله) است. از سوی دیگر، کمترین تجمع قندهای محلول در *P. scoparia* (۳۶ درصد) مشاهده شد. لذا به نظر می‌رسد فرایند تنظیم اسمزی از طریق افزایش میزان قندهای محلول و کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های برگ یکی از مکانیسم‌های مهم تحمل خشکی در *P. eburnea* می‌باشد، درحالی‌که این پدیده فیزیولوژیکی در *P. scoparia* کمتر اتفاق می‌افتد. انباشت بیشتر قندهای محلول در برگ‌های *P. eburnea* حاکی از آن است که این گونه به هنگام مواجهه با خشکی، بیشتر از سایر گونه‌های بادام برای حفظ تورژسانس و آماس سلولی خود، از مکانیسم تنظیم اسمزی استفاده می‌کند.

پرولین آزاد

محتوای پرولین آزاد برگ به طور معنی‌داری تحت تأثیر ژنوتیپ و تیمار خشکی قرار گرفت ($P \leq 0/05$). اختلاف آماری معنی‌داری بین گونه‌های مورد بررسی مشاهده شد. در همه مراحل اندازه‌گیری، بیشترین و کمترین مقادیر پرولین آزاد گیاهان شاهد به ترتیب، مربوط به *P. haussknechti* و *P. dulcis* بود. تنش خشکی باعث افزایش محتوای پرولین برگ همه گونه‌ها شد. تجمع پرولین آزاد تحت شرایط خشکی قبلاً در بادام گزارش شده است (شارما و جولکا^۱، 2004؛ ارزانی^۲ و همکاران، 2010). با این حال، هنوز نقش آن به‌عنوان یک ماده محلول تنظیم‌کننده اسمزی بحث‌برانگیز است. تجمع پرولین ممکن است نتیجه یک اختلال متابولیکی در شرایط کم‌آبی باشد (لارهر^۳ و همکاران، 2002). همان طور که شکل ۲ نشان می‌دهد، تقریباً در تمامی گونه‌ها با افزایش شدت تنش تا ۱/۱- مگاپاسکال، محتوای پرولین برگ‌ها افزایش یافته و پس از آن با افزایش بیشتر شدت تنش، مجدداً کاهش یافته است. به احتمال زیاد، این تغییرات بیشتر در ارتباط با فرایند تنظیم اسمزی هستند تا یک اختلال متابولیکی.

نتایج تحقیق حاضر حاکی از افزایش غلظت پرولین آزاد برگ تحت تأثیر تنش خشکی در همه گونه‌های بادام می‌باشد.

1. Sharma and Joolka
2. Arzani et al.
3. Larher et al.



شکل ۲: تأثیر تیمارهای خشکی بر میزان پرولین آزاد برگ پنج گونه بادام در چهار مرحله اندازه‌گیری. مراحل I و II به ترتیب یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی و مراحل III و IV دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی هستند. شاخص‌های عمودی بیانگر \pm خطای استاندارد سه تکرار هستند
 Fig. 2: Effects of drought treatments on free proline content of five almond species at different measurement times. Times I and II are one and two weeks after the beginning of drought treatments and times III and IV are two and four weeks after the recovery period, respectively. Vertical bars indicate \pm standard error (SE) of three replications

جدول ۲: افزایش محتوای پرولین آزاد برگ‌های پنج گونه بادام تحت تنش خشکی (۱/۱- مگاپاسکال) در مقایسه با شاهد (۱/۱- مگاپاسکال)

Table 2: increase in free proline content in leaves of five almond species under drought stress ($\Psi_s = -1.1$ MPa) as compared to the control ($\Psi_s = -0.1$ MPa)

species (گونه)	I		II		III		IV		average (میانگین)	
	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%	$\mu\text{mol/g}$	%
<i>P. dulcis</i>	1.05	49.3	2.28	83.5	2.14	92.6	1.82	105.8	1.82	82.8
<i>P. eburnea</i>	1.45	67.8	2.13	70.1	0.00	0.0	1.15	54.8	1.18	48.1
<i>P. scoparia</i>	0.28	9.0	1.72	45.5	0.82	25.4	0.53	16.9	0.84	24.2
<i>P. haussknechti</i>	1.03	32.6	0.73	17.3	-0.51	-11.3	-0.60	-13.9	0.16	6.2
<i>P. eleagnifolia</i>	0.49	18.0	1.04	35.6	0.84	32.3	0.85	34.4	0.81	30.1

I و II: یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی

III و IV: دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی

I and II: one and two weeks after the beginning of drought treatments

III and IV: two and four weeks after recovery period

شدت تغییرات پتانسیل آب برگ تحت تأثیر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلابکول در گونه‌های مختلف به ترتیب زیر بوده است: *P. dulcis* (۶/۳۳-)، *P. eleagnifolia* (۴/۵۰-)، *P. haussknechti* (۳/۹۲-)، *P. eburnea* (۳/۷۵-) و *P. scoparia* (۲/۷۵-). به عبارت دیگر، کمترین تغییرات پتانسیل آب برگ تحت تأثیر تنش خشکی مربوط به *P. scoparia* بوده و این گیاهان پتانسیل آب برگ‌های خود را تقریباً در همان سطح نگاه داشتند. *P. dulcis* بیشترین کاهش پتانسیل آب برگ را در بین گونه‌های مورد مطالعه داشت.

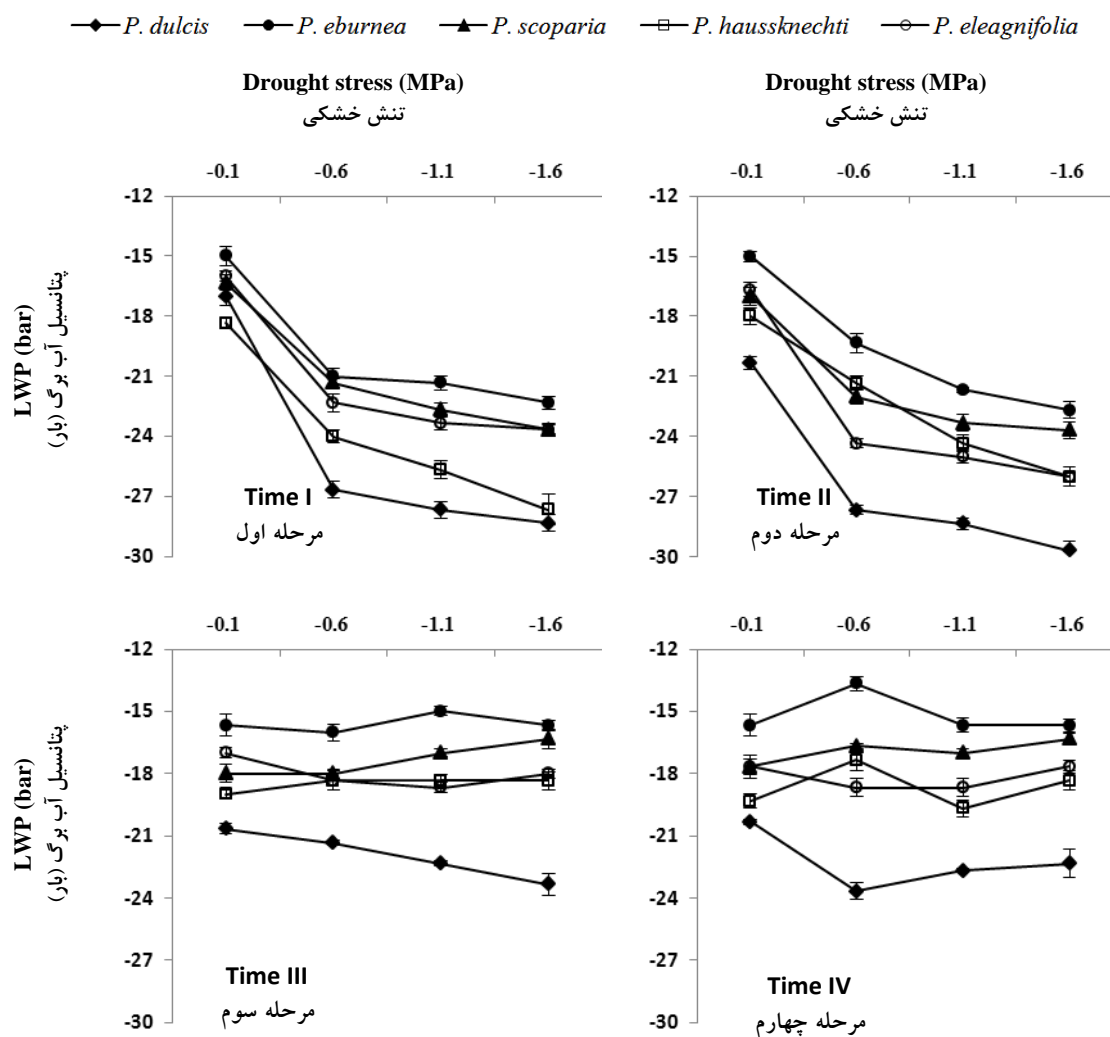
محتوای رنگیزه‌ها

گونه‌های مختلف بادام از نظر غلظت کلروفیل a، b و کل تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. در غیاب تنش خشکی، بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کل در *P. scoparia* مشاهده شد. گیاهان شاهد *P. eleagnifolia* کمترین مقدار کلروفیل a و کل را در میان گونه‌های بادام داشتند. همچنین مقدار کلروفیل b در بین گیاهان شاهد مربوط به *P. dulcis* بود. تنش خشکی باعث کاهش معنی‌داری در محتوای کلروفیل a، b و کل در همه گونه‌ها شد ($P \leq 0.05$). همان‌طور که شکل ۴ نشان می‌دهد، تغییرات کلروفیل a و b در *P. scoparia* شدیدتر از سایر گونه‌ها می‌باشد و تفاوت آماری معنی‌داری بین گیاهان شاهد و تیمار شده این گونه وجود دارد. کاهش محتوای کلروفیل می‌تواند به دلیل ممانعت از سنتز کلروفیل و تحریک تخریب آن به وسیله خشکی باشد. مشخص شده است که تنش خشکی باعث صدمه به کلروپلاست‌ها و کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌شود (خالید^۴ و همکاران، ۲۰۱۰).

پتانسیل آب برگ شاخصی از میزان آب در دسترس گیاه می‌باشد؛ زیرا ارتباط نزدیکی با پتانسیل آب خاک در ناحیه ریشه داشته و با کاهش پتانسیل آب خاک کاهش می‌یابد. در واقع، پتانسیل آب برگ نمایانگر میزان رطوبت داخلی برگ بوده و طبق گزارشات، معیار مناسبی برای مطالعه وضعیت رطوبتی برگ می‌باشد (سیرسلج و همکاران، ۲۰۰۷). گیاهان هنگامی که تحت تنش رطوبتی قرار می‌گیرند، پتانسیل آب اندام‌های خود را کاهش می‌دهند (عمدتاً از طریق پایین آوردن پتانسیل اسمزی) تا بتوانند به جذب آب از خاک ادامه دهند (گوک^۱، ۱۹۹۸). به عقیده بین^۲ و همکاران (۲۰۰۵) ژنوتیپ‌هایی که قادر باشند طی دوره‌های کمبود آب پتانسیل آب پایین‌تری را تحمل نمایند، مقاومت به خشکی بالاتری دارند. اوزتورک و ساکالی^۳ (۲۰۰۴) گزارش دادند گونه‌های مختلف بلوط در شرایط تنش رطوبتی می‌توانند مکانیسم‌های مقاومت به خشکی مختلفی اتخاذ کنند که یکی از مهمترین این مکانیسم‌ها کاهش پتانسیل آب در اندام‌های گیاه بخصوص برگ‌ها می‌باشد. طبق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بین گونه‌های مورد مطالعه، از لحاظ میزان پتانسیل آب برگ تفاوت فاحشی وجود داشت که نشان می‌دهد گونه‌های مختلف بادام نسبت به تنش آبی واکنش متفاوتی دارند. نتایج این تحقیق حاکی از آن است که *P. dulcis* در شرایط تنش آبی، با کاهش شدید پتانسیل آب برگ‌های خود نسبت به سایر گونه‌های بادام مقاومت به خشکی بیشتر و نیاز آبی کمتری دارد. پتانسیل آب برگ ثبت شده برای این گونه تحت بالاترین سطح تنش خشکی، در میانه و پایان دوره تنش، به ترتیب ۲۸/۳۳- و ۲۹/۶۷- بار می‌باشد. از سوی دیگر، *P. eburnea* با بالاترین پتانسیل آب برگ (به ترتیب، ۲۲/۳۳- و ۲۲/۶۷- بار در میانه و پایان دوره تنش)، نیاز آبی بالایی داشته و به خشکی حساس‌تر می‌باشد.

در تحقیق حاضر، همان‌طور که شکل ۳ نیز نشان می‌دهد، در همه گونه‌ها، تغییرات پتانسیل آب برگ روند نزولی داشته و رابطه عکس بین شدت تنش و پتانسیل آب برگ گیاهان دیده می‌شود؛ به طوری که با افزایش شدت تنش خشکی، پتانسیل آب برگ به طور مرتب کاهش یافته است. مقایسه مقادیر پتانسیل آب برگ تیمار شاهد هر یک از گونه‌ها با تیمار ۱/۶- مگاپاسکال آن گونه (که کمترین پتانسیل آب برگ را دارا است) در مراحل چهارگانه اندازه‌گیری (جدول ۳) نشان می‌دهد

1. Guak
2. Yin et al.
3. Ozturk and Sakcali



شکل ۳: تأثیر تیمارهای خشکی بر پتانسیل آب برگ پنج گونه بادام در چهار مرحله اندازه‌گیری. مراحل I و II به ترتیب یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی و مراحل III و IV دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی هستند. شاخص‌های عمودی بیانگر \pm خطای استاندارد سه تکرار هستند

Fig. 3: Effects of drought treatments on leaf water potential (LWP) of five almond species at different measurement times. Times I and II are one and two weeks after the beginning of drought treatments and times III and IV are two and four weeks after the recovery period, respectively. Vertical bars indicate \pm standard error (SE) of three replications

جدول ۳: تغییرات پتانسیل آب برگ (بار) پنج گونه بادام تحت تنش شدید خشکی (۱/۶- مگاپاسکال) در مقایسه با شاهد (۱/۱- مگاپاسکال) در چهار مرحله اندازه‌گیری

Table 3: Variations of leaf water potential (bar) in five almond species under severe drought stress ($\Psi_s = -1.6$ MPa) in comparison with the control ($\Psi_s = -0.1$ MPa) at four measurement times

species (گونه)	I	II	III	IV	average (میانگین)
<i>P. eburnea</i>	-11.33	-9.33	-2.67	-2.00	-6.33
<i>P. scoparia</i>	-7.33	-7.67	0.00	0.00	-3.75
<i>P. haussknehti</i>	-7.33	-6.67	1.67	1.33	-2.75
<i>P. eleagnifolia</i>	-9.33	-8.00	0.67	1.00	-3.92
<i>P. dulcis</i>	-7.67	-9.33	-1.00	0.00	-4.50

I و II: یک و دو هفته پس از شروع تیمارهای خشکی،

III و IV: دو و چهار هفته پس از شروع دوره بهبودی

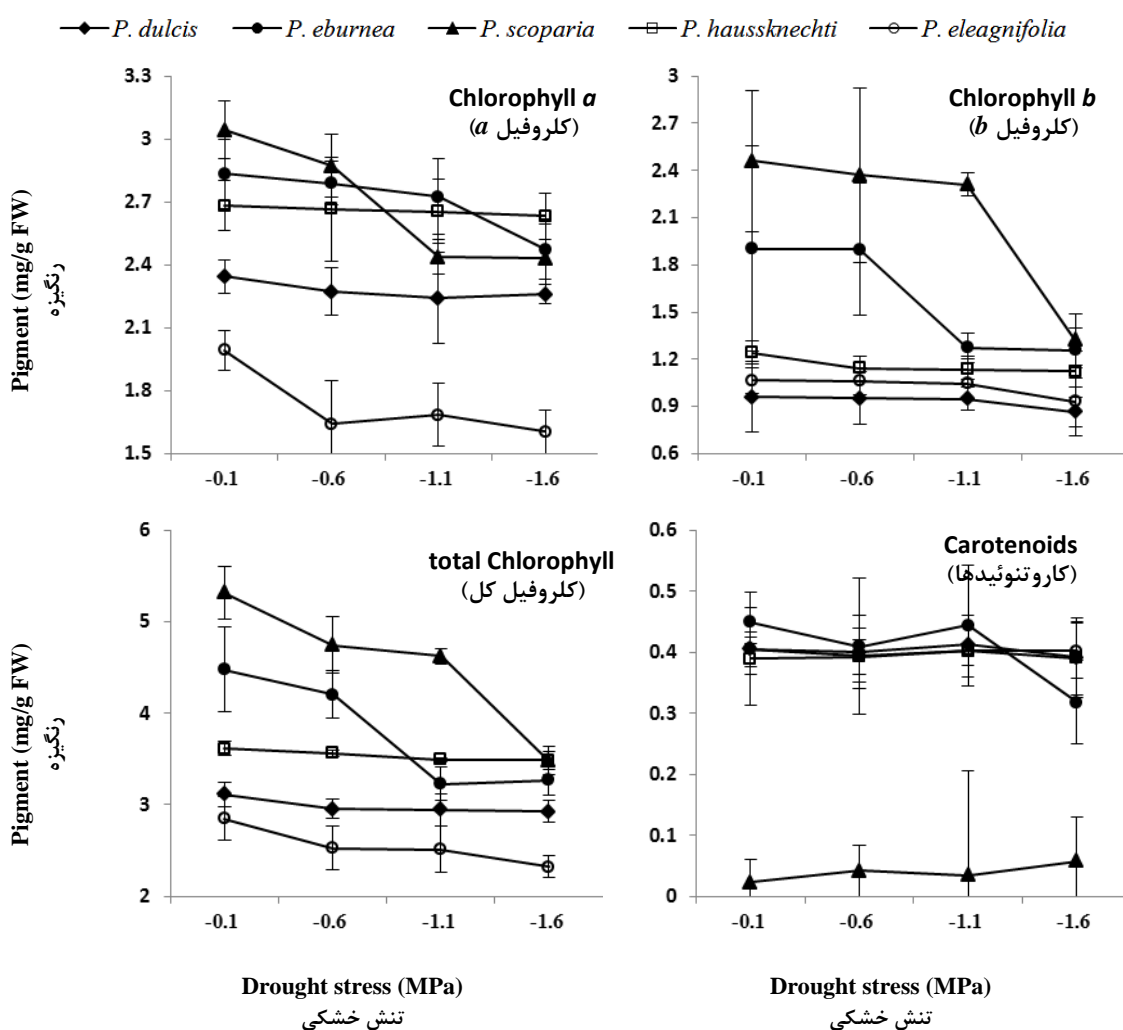
I and II: one and two weeks after the beginning of drought treatments

III and IV: two and four weeks after recovery period

جدول ۴: تغییرات محتوای رنگیزه‌ها در برگ‌های پنج گونه بادام تحت تنش شدید خشکی (۱/۶- مگاپاسکال) در مقایسه با شاهد (۰/۱- مگاپاسکال)

Table 4: Variations of pigments content in leaves of five almond species under severe drought stress ($\Psi_s = -1.6$ MPa) as compared to the control ($\Psi_s = -0.1$ MPa)

species (گونه)	chlorophyll a (کلروفیل a)		chlorophyll b (کلروفیل b)		total chlorophyll (کلروفیل کل)		total carotenoids (کاروتنوئید کل)	
	mg/g FW	%	mg/g FW	%	mg/g FW	%	mg/g FW	%
<i>P. dulcis</i>	-0.1	-3.6	-0.1	-10.1	-0.2	-5.9	-0.014	-3.5
<i>P. eburnea</i>	-0.4	-12.7	-0.6	-33.9	-1.2	-27.0	-0.131	-29.2
<i>P. scoparia</i>	-0.6	-20.1	-1.1	-46.2	-1.8	-34.5	0.035	152.2
<i>P. haussknechti</i>	-0.1	-1.9	-0.1	-9.7	-0.1	-3.4	0.001	0.3
<i>P. eleagnifolia</i>	-0.4	-19.5	-0.1	-12.7	-0.5	-18.4	-0.003	-0.7



شکل ۴: تأثیر تیمارهای خشکی بر میزان رنگیزه‌های برگ پنج گونه بادام، در پایان دوره تنش. شاخص‌های عمودی بیانگر \pm خطای استاندارد سه تکرار هستند
Fig. 4: Effects of drought treatments on pigments content of five almond species, at the end of drought period. Vertical bars indicate \pm standard error (SE) of three replications

های گیاه در ارتباط با میزان فتوسنتز آن بوده و احتمالاً حفظ محتوای بالای کلروفیل (یعنی، صفت سبز باقی ماندن برگ‌ها)

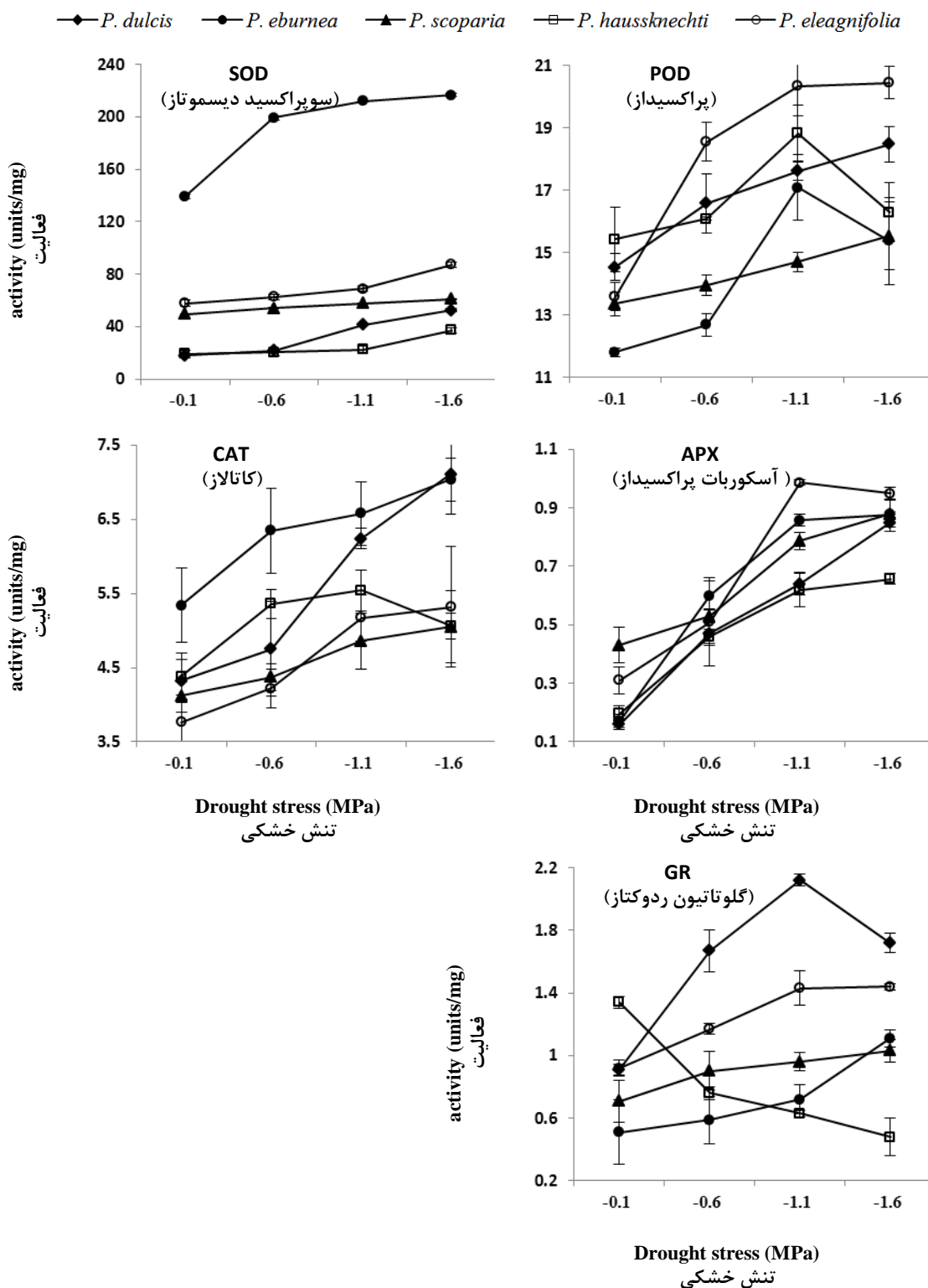
کلروفیل یکی از ترکیبات اصلی کلروپلاست است که در فرایند فتوسنتز دخیل می‌باشد. محتوای نسبی کلروفیل برگ-

موجب حفظ عملکرد تحت شرایط تنش خشکی گردد. در شرایط کمبود آب، سبز باقی ماندن برگ‌های گیاه به کارآیی بیشتر مصرف آب و عملکرد بیشتر محصولات کشاورزی منجر می‌شود (جانگپروما^۱ و همکاران، 2010). نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف بادام از این نظر تفاوت چشمگیری با یکدیگر داشته و ممکن است درجات متفاوتی از مقاومت به تنش خشکی را از خود بروز دهند. مقادیر عددی تغییرات غلظت انواع رنگیزه‌ها در برگ‌های گونه‌های مختلف بادام تحت تأثیر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول در جدول ۴ آورده شده است. نتایج این جدول که از مقایسه بین شاهد و بالاترین سطح تنش (تیمار ۱/۶- مگاپاسکال) به دست آمده‌اند، نشان می‌دهند که محتوای کلروفیل برگ‌های *P. scoparia* به شدت تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافته است و این امر می‌تواند دلیلی بر حساسیت بالای این گونه به تنش خشکی باشد. بیشترین میزان کاهش غلظت کلروفیل a (۲۰/۱ درصد)، کلروفیل b (۴۶/۲ درصد) و کلروفیل کل (۳۴/۵ درصد) در *P. scoparia* دیده می‌شود و دو گونه *P. eburnea* و *P. eleagnifolia* (به ترتیب، با ۲۷/۰ و ۱۸/۴ درصد کاهش در محتوای کلروفیل کل) در رده دوم حساسیت قرار دارند. کمترین کاهش محتوای کلروفیل برگ تحت تأثیر تنش خشکی مربوط به *P. haussknechti* و *P. dulcis* (به ترتیب، ۳/۴ و ۵/۹ درصد کاهش در کلروفیل کل) می‌باشد. به نظر می‌رسد این دو گونه نسبت به سایر گونه‌ها از مقاومت بیشتری در برابر شرایط کمبود آب برخوردار باشند.

کاروتنوئیدها دومین گروه مهم رنگیزه‌های گیاهی هستند که علاوه بر نقشی که در فتوسنتز دارند، به عنوان محافظین کلروفیل نیز عمل می‌کنند (سیرسلج و همکاران، 2007). کاروتنوئیدها از ترکیبات دفاعی با نقش آنتی‌اکسیدانی هستند که در شرایط تنش، اثرات مضر گونه‌های واکنشگر اکسیژن^۲ را خنثی می‌سازند. به همین دلیل، کاروتنوئیدها می‌توانند نشانگرهای خوبی برای تنش خشکی باشند (سیرسلج و همکاران، 2007). بر اساس منابع علمی موجود، بسته به گونه گیاهی، نوع رنگیزه کاروتنوئیدی، شدت و مدت تنش خشکی و عوامل دیگر ممکن است غلظت این مواد افزایش یا کاهش یافته و یا بدون تغییر باقی بماند. شوالو^۳ و همکاران (2005) گزارش کردند که در درختان دو کلون اوکالیپتوس^۴، غلظت

کاروتنوئیدهای برگ در واکنش به تنش شدید خشکی افزایش یافت که نشان می‌دهد کاروتنوئیدها ممکن است در محافظت برگ‌ها در برابر تنش خشکی نقش داشته باشند. نتایج این آزمایش نشان داد که زنازانتین و گلوکوتانین بهترین نشانگرهای تنش خشکی در سبب هستند. در تحقیق حاضر، غلظت کاروتنوئیدهای برگ تحت تأثیر ژنوتیپ قرار گرفت (۰/۰۵ ≤ *P*). کمترین و بیشترین محتوای کاروتنوئید کل در بین گیاهان شاهد به ترتیب در *P. scoparia* (۰/۰۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر) و *P. eburnea* (۰/۴۴۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد. غیر از *P. scoparia* که غلظت کاروتنوئید کل آن با اختلاف معنی‌داری کمتر از گونه‌های دیگر بود، سایر گونه‌های بادام (حتی تحت شرایط تنش شدید خشکی) از این لحاظ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. این امر نشان می‌دهد که تفاوت گونه‌های مختلف بادام از نظر مقاومت به خشکی، بیشتر در ارتباط با مکانیسم‌های اجتناب از خشکی می‌باشد تا تحمل کمبود آب. از سوی دیگر، اگرچه تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول تا حدودی باعث کاهش غلظت کاروتنوئید کل گردید، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد. مقایسه تغییرات غلظت کاروتنوئید کل در گونه‌های مختلف بادام تحت شرایط تنش شدید خشکی و بدون تنش (جدول ۴) نشان می‌دهد که غلظت کاروتنوئید کل در برگ‌های سه گونه *P. eleagnifolia*، *P. dulcis* و *P. eburnea* تحت تنش شدید خشکی نسبت به شاهد کاهش یافته است. این کاهش در *P. eleagnifolia* و *P. dulcis* بسیار جزئی (به ترتیب، ۰/۷ و ۳/۵ درصد)، ولی در *P. eburnea* نسبتاً زیاد (۲۹/۲ درصد) می‌باشد. از سوی دیگر، در دو گونه *P. haussknechti* و *P. scoparia*، تنش خشکی باعث افزایش غلظت کاروتنوئیدها (به ترتیب، ۰/۳ و ۱۵۲/۲ درصد) شده است. به نظر می‌رسد افزایش غلظت کاروتنوئیدهای برگ به ویژه در *P. scoparia*، نوعی مکانیسم مقاومتی در برابر تنش خشکی است که در سایر گونه‌ها مشاهده نمی‌شود.

1. Jangpromma *et al.*
2. reactive oxygen species (ROS)
3. Shvaleva *et al.*
4. *Eucalyptus globulus*



شکل ۵: تأثیر تیمارهای خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلووتاتیون ردوکتاز (GR) برگ پنج گونه بادام. شاخص‌های عمودی بیانگر \pm خطای استاندارد سه تکرار هستند

Fig. 5: Effects of drought treatments on leaf superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) activities in five almond species. Vertical bars indicate \pm standard error (SE) of three replications

جدول ۵: تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های پنج گونه بادام تحت تنش شدید خشکی (۱/۶- مگاپاسکال) در مقایسه با شاهد (۱/۰- مگاپاسکال)

Table 5: Variations of antioxidant enzymes activities in leaves of five almond species under severe drought stress ($\Psi_s = -1.6$ MPa) as compared to the control ($\Psi_s = -0.1$ MPa)

species (گونه)	(سوپراکسید دیسموتاز)		(پراکسیداز)		(کاتالاز)		(آسکوربات پراکسیداز)		(گلوکوتائین ردوکتاز)	
	SOD		POD		CAT		APX		GR	
	units/mg	%	units/mg	%	units/mg	%	units/mg	%	units/mg	%
<i>P. dulcis</i>	34.53	191.1	3.95	27.2	2.79	64.6	0.69	431.3	0.81	89.0
<i>P. eburnea</i>	77.43	55.6	3.57	30.2	1.70	31.8	0.71	415.9	0.60	117.6
<i>P. scoparia</i>	11.24	22.6	2.18	16.3	0.93	22.6	0.45	104.7	0.32	45.1
<i>P. haussknechti</i>	18.20	94.9	0.87	5.6	0.68	15.5	0.46	233.5	-0.86	-64.2
<i>P. eleagnifolia</i>	29.67	51.3	6.87	50.6	1.56	41.5	0.64	206.5	0.52	56.5

SOD: سوپراکسید دیسموتاز، POD: پراکسیداز، CAT: کاتالاز، APX: آسکوربات پراکسیداز، GR: گلوکوتائین ردوکتاز

SOD: superoxide dismutase, POD: peroxidase, CAT: catalase, APX: ascorbate peroxidase, GR: glutathione reductase

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

تنش خشکی به دلیل تولید مقادیر زیادی از گونه‌های واکنشگر اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری معمولاً به تنش اکسیداتیو منجر می‌شود. گیاهان برای از بین بردن رادیکال‌های آزاد اضافی و کاهش آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو بر سلول‌ها به انواع مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی (آنزیمی و غیرآنزیمی) مجهز شده‌اند (لیو و همکاران، 2011). توانایی گیاهان در از بین بردن گونه‌های واکنشگر اکسیژن و کاهش اثرات مضر آنها ممکن است با تحمل آنها در برابر تنش خشکی ارتباط داشته باشد. در منابع علمی، وجود رابطه تنگاتنگ بین فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت بالا به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان گزارش شده است. به عنوان مثال، در یک کلون متحمل به خشکی گیاه قهوه تحت شرایط تنش خشکی، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در مقایسه با یک کلون حساس به خشکی افزایش بیشتری نشان داد و به کاهش سطوح پراکسیداسیون لیپید و نشت الکترولیت‌ها منجر گردید (لیما^۱ و همکاران، 2002). همچنین، یک گونه مقاوم به خشکی لوبیا در مقایسه با گونه حساس به خشکی آن فعالیت بالاتر SOD، CAT، APX و پراکسیداز (POD) و نیز سطوح پایین‌تر پراکسیداسیون لیپید را نشان داد (تورکان^۲ و همکاران، 2005). در تحقیق حاضر، ژنوتیپ و تنش خشکی اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT)،

آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوکوتائین ردوکتاز (GR) داشت ($P \leq 0.05$). در غیاب تنش خشکی، تفاوت معنی‌داری بین گونه‌های بادام از نظر فعالیت SOD وجود داشت و بیشترین کمترین فعالیت این آنزیم به ترتیب مربوط به *P. eburnea* (۱۳۹/۴ واحد در میلی‌گرم) و *P. dulcis* (۱۸/۱ واحد در میلی‌گرم) بود. از نظر فعالیت آنزیم‌های POD، CAT و APX تفاوت معنی‌داری بین گیاهان شاهد مشاهده نشد، اما تفاوت آنها از لحاظ فعالیت آنزیم GR معنی‌دار بود. بیشترین و کمترین میزان فعالیت GR در گیاهان شاهد به ترتیب مربوط به *P. haussknechti* (۱/۳۴ واحد در میلی‌گرم) و *P. eburnea* (۰/۵۱ واحد در میلی‌گرم) بود. در همه گونه‌ها، فعالیت آنزیم‌های مذکور تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی افزایش یافت (شکل ۵). افزایش فعالیت POD تنها در *P. eleagnifolia* و فعالیت CAT تنها در *P. dulcis* معنی‌دار بود. تفاوت بین گیاهان شاهد و تیمار شده از نظر فعالیت SOD در سه گونه *P. dulcis*، *P. eburnea* و *P. eleagnifolia* معنی‌دار، اما در *P. haussknechti* و *P. scoparia* غیرمعنی‌دار بود. افزایش فعالیت APX تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی در *P. scoparia* معنی‌دار نبود. در سایر گونه‌ها، تنها تفاوت بین شاهد و گیاهان تیمار شده با سطوح بالای تنش (۱/۱- و ۱/۶- مگاپاسکال) معنی‌دار بود. همچنین، تفاوت بین گیاهان شاهد و تیمار شده از نظر فعالیت GR در *P. scoparia* غیرمعنی‌دار، اما در سایر گونه‌ها معنی‌دار بود. تنش خشکی فعالیت GR را در برگ‌های *P. haussknechti* به‌طور معنی‌داری کاهش داد. ممانعت از فعالیت GR توسط تیمارهای تنش خشکی ممکن است نتیجه

1. Lima et al.

2. Turkan et al.

داشتند، اما تجمع پرولین در اثر تنش خشکی در برگ‌های این گونه کمتر از گونه‌های دیگر بود. بیشترین تجمع پرولین تحت شرایط تنش خشکی در دو گونه *P. dulcis* و *P. eburnea* مشاهده شد. پتانسیل آب برگ در گیاهان شاهد *P. haussknechti* (میان دوره تنش) و *P. dulcis* (پایان دوره تنش و طی دوره بهبودی) پایین‌تر از سایر گونه‌ها بود. همچنین، پایین‌ترین پتانسیل آب برگ ثبت شده تحت شرایط تنش خشکی مربوط به *P. dulcis* بود. علیرغم این که در ابتدای آزمایش برگ‌های *P. scoparia* محتوای کلروفیل بالاتری داشتند، اما بیشترین کاهش محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در همین گونه اتفاق افتاد. کمترین کاهش در محتوای کلروفیل کل تحت تأثیر تنش خشکی در *P. haussknechti* و *P. dulcis* اتفاق افتاد. به طور کلی، به نظر می‌رسد *P. dulcis* به دلیل بیشترین تجمع پرولین آزاد در برگ‌ها و نیز داشتن پایین‌ترین پتانسیل آب برگ تحت شرایط تنش شدید، افزایش نسبتاً زیاد میزان قندهای محلول برگ، کاهش اندک در محتوای رنگیزه‌های برگ و بیشترین افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (به ویژه سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) احتمالاً نسبت به گونه‌های وحشی بادام از مقاومت بیشتری در برابر تنش خشکی برخوردار باشد. البته بدیهی است که اثبات این ادعا مستلزم انجام آزمایشات بیشتر با استفاده از انواع تیمارهای تنش خشکی با مدت‌های متفاوت و با به کارگیری نشانگرهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مختلف بر روی این گیاهان می‌باشد.

ممانعت از بیان ژن یا ناشی از تجزیه، غیرطبیعی یا غیرفعال شدن این پروتئین‌ها باشد (کاولکانتی^۱ و همکاران، ۲۰۰۷). مقایسه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ گونه‌های بادام مورد بررسی در غیاب تنش خشکی و تحت بالاترین سطح تنش (جدول ۵) نشان داد که *P. dulcis* بیشترین افزایش فعالیت SOD (۱۹۱/۱ درصد)، CAT (۶۴/۶ درصد) و APX (۴۳۱/۳ درصد) را در واکنش به تیمار تنش خشکی داشت. همچنین، *P. eburnea* بیشترین افزایش فعالیت GR (۱۱۷/۶ درصد) را داشته و افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های APX (۴۱۵/۹ درصد) و POD (۳۰/۲ درصد) را نشان داد. از سوی دیگر، *P. scoparia* کمترین افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD (۲۲/۶ درصد) و APX (۱۰۴/۷ درصد) را دارا بود. همچنین، کمترین افزایش فعالیت آنزیم‌های POD (۵/۶ درصد) و CAT (۱۵/۵ درصد) و نیز کاهش ۶۴/۲ درصدی فعالیت GR در واکنش به تنش خشکی در *P. haussknechti* مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری نهایی

تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول و پرولین آزاد برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش معنی‌دار پتانسیل آب برگ و محتوای رنگیزه‌های مختلف گردید. همچنین، گونه‌های مختلف از نظر اغلب صفات مورد بررسی تفاوت‌های معنی‌داری با یکدیگر داشتند. لذا به نظر می‌رسد میزان قندهای محلول، پرولین آزاد، کلروفیل، پتانسیل آب برگ (قبل از طلوع آفتاب) و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشانگرهای مناسبی برای تنش خشکی باشند. با توجه به نتایج به دست آمده میزان کاروتنوئیدهای کل برگ شاخص خوبی برای ارزیابی تنش خشکی در دانه‌های بادام نیست.

در این آزمایش، در غیاب تنش خشکی، همه گونه‌های مورد مطالعه از نظر صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی تفاوت‌های چشمگیری با یکدیگر داشتند. همچنین، پاسخ‌های مشابهی به تنش خشکی نشان دادند، اما شدت این پاسخ‌ها در گونه‌های مختلف متفاوت بود. گیاهان شاهد *P. dulcis* از محتوای قندهای محلول بالاتری نسبت به سایر گونه‌ها برخوردار بودند. همچنین، بیشترین تجمع قندهای محلول تحت تأثیر تنش خشکی در *P. eburnea* و *P. dulcis* اتفاق افتاد. گیاهان شاهد *P. haussknechti* پرولین آزاد بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها

1. Cavalcanti et al.

- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
- Arzani, K., Yadollahi, A., Ebadi, A. and Wirthensohn, M. 2010. The relationship between bitterness and drought resistance of almond (*Prunus dulcis* Mill.). African Journal of Agricultural Research, 5(9): 861-866.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44: 276-287.
- Buysse, J. and Merckx, R. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. Journal of Experimental Botany, 44(267): 1627-1629.
- Cavalcanti, F. R., Lima, J. P. M. S., Ferreira-Silva, S. L., Viegas, R. A. and Silveira, J. A. G. 2007. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. Journal of Plant Physiology, 164: 591-600.
- Elsheery, N. I. and Cao, K. F. 2008. Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. Acta Physiologia Plantarum, 30: 769-777.
- Foyer, C.H. and Halliwell, B. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. Planta, 133: 21-25.
- Gonzalez, J. A., Gallardo, M., Hilal, M., Rosa, M. and Prado, F. E. 2009. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: dry matter partitioning. Botanical Studies, 50: 35-42.
- Gradziel, T. M., Martinez-Gomez, P., Dicenta, F. and Kester, D. E. 2001. The utilization of *Prunus* species for almond variety improvement. Journal of American Pomology Society, 55: 100-108.
- Guak, S. 1998. Water relations, stomatal conductance, and abscisic acid content of container-grown apple (*Malus domestica* Borkh.) plants in response to sorbitol-induced osmotic stress. PhD thesis, Oregon State University, USA, 275 p.
- Herzog, V. and Fahimi, H. 1973. Determination of the activity of peroxidase. Annual Biochemistry, 55: 554-562.
- Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Lomthaisong, K., Daduang, S., Jaisil, P. and Thammasirak, S. 2010. A proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 6(2): 89-102.
- Khalid, K. A., da Silva, J. A. T. and Cai, W. 2010. Water deficit and polyethylene glycol 6000 affects morphological and biochemical characters of *Pelargonium odoratissimum* (L.). Scientia Horticulturae, 125:159-166.
- Larher, F.R., Monnier, C., Gaudriot, Y. and Lemesle, P. 2002. The suppression of the osmoinduced proline syndrome in higher plants. 13th Congress of the Federation of the European Societies of Plant Physiology, Hersonissos (Greece). Poster no.348.
- Lee, B. R., Jin, Y. L., Jung, W. J., Avice, J. C., Morvan-Bertrand, A., Ourry, A., Park, C. W. and Kim, T. H. 2008. Water-deficit accumulates sugars by starch degradation - not by *de novo* synthesis - in white clover leaves (*Trifolium repens*). Physiologia Plantarum, 134: 403-411.
- Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R. and Loureiro, M. E. 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany, 47: 239-247.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in Karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany, 71: 174-183.
- Michel, B.E. and Kaufmann, M. R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51: 914-916.
- Mousa, N. A., Siaguru, P., Wiryowidagdo, S. and Wagih, M. E. 2007. Evaluation and selection of elite clonal genotypes of the sweet crop licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in a new environment. Sugar Technology, (9): 83-94.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology, 22: 867-880.
- Ozturk, M. and Sakcali, M. S. 2004. Eco-physiological behaviors of some Mediterranean plants as suitable candidates for reclamation of degraded areas. Journal of Arid Environments, 57(2): 141-153.
- Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K. and Niotsakis, B. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science, 163: 361-367.
- Sharma, M.K. and Joolka, N.K. 2004. Screening of almond rootstocks for drought tolerance. Horticultural Journal, 17(3): 191-197.
- Shvaleva, A. L., Silva, F. C. E., Breia, E., Jouve, L., Hausmann, J. F., Almeida, M. H., Maroco, J. P., Rodrigues, M. L., Pereira, J. S. and Chaves, M. M. 2005. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globulus* clones with contrasting drought sensitivity. Tree Physiology, 26: 239-248.
- Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D. and Batic, F. 2007. Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. Scientia Horticulturae, 113: 362-369.

- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Asadi, E., Jahanbazi, H., Moradi, H., Gradziel, T. M. and Martinez-Gomez, P. 2009. Phenotypic diversity within native Iranian almond (*Prunus* spp.) species and their breeding potential. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56: 947-961.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
- Yin, C., Duan, X., Luo, B. and Li, J. 2005. Early growth, dry matter allocation and water use efficiency of two sympatric *Populus* species as affected by water stress. *Environmental and Experimental Botany*. 53(3): 315-322.

Physiological Responses of Five Almond Species to PEG-Induced Drought Stress

Zokaee-Khosroshahi¹, M. R., Esna-Ashari^{*2}, M., Ershadi³, A. and Imani⁴, A.

Abstract

Effects of polyethylene glycol-induced drought stress on some physiological characteristics of young seedlings of five almond species (*Prunus dulcis*, *P. eburnea*, *P. eleagnifolia*, *P. haussknechti* and *P. scoparia*) were studied. Three different drought levels resulted from three osmotic potential of the nutrient solutions including $\Psi_s = -0.6$, -1.1 and -1.6 MPa and a control treatment ($\Psi_s = -0.1$ MPa) were applied over 2 weeks followed by 4 weeks of recovery. Leaf water potential (LWP) of treated plants was significantly decreased compared to the controls. Under severe stress, *P. dulcis* had the lowest LWP among examined species. Soluble sugars and free proline were significantly accumulated in leaves in response to drought stress. The greatest accumulation of soluble sugars was observed in *P. eburnea* and *P. dulcis* under severe stress as compared to the control. Also, proline was greatly accumulated in the leaves of *P. dulcis* and *P. eburnea*. Drought stress caused a significant decrease in chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total chlorophyll of the leaves, but total carotenoids content was not influenced by drought. *P. haussknechti* and *P. dulcis* showed lesser reduction in leaf chlorophyll content compared to the other species. The activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase, peroxidase, catalase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase were significantly increased in leaves of the seedlings subjected to drought treatments. In conclusion, *P. dulcis* with the lowest LWP, the greatest proline accumulation, relatively higher accumulation of soluble sugars and relatively lesser reduction in leaf pigments under drought condition, showed the higher resistance to drought compared to the other almond species.

Keywords: Almond, Drought Stress, Physiological Markers

1, 2 and 3: PhD student, Professor Associate and Assistant Professor respectively, Department of Horticultural sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan

4. Assistant Professor, Horticultural Division, Seeds and Plant Improvement Institute, Karaj.

*: Corresponding author Email: m.esnaashari@basu.ac.ir