




واکنش خصوصیات مرفو-فیزیولوژیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی برخی ارقام تجاری بادام به تنش خشکی

Response of Morpho-Physiological Traits and Antioxidant Capacity of Some Commercial Almond Cultivars to Drought Stressاسماعیل صفوی بختیاری^۱، سید اصغر موسوی^{۲*} , مهرباب یادگاری^۳ و بیژن حقیقتی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد واحد شهر کرد، شهر کرد، ایران.
- ۲- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهر کرد، ایران.
- ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد، شهر کرد، ایران.
- ۴- استادیار، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهر کرد، ایران.

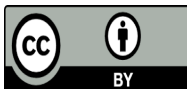
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۸

چکیده

صفوی بختیاری^۱، موسوی، س. ا.، یادگاری، م. و حقیقتی، ب. ۱۴۰۲. واکنش خصوصیات مرفو-فیزیولوژیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی برخی ارقام تجاری بادام به تنش خشکی. نهال و بذر ۳۹: ۳۸۱-۴۱۰

با توجه به گسترش کم آبی و لزوم شناسایی و معرفی ارقام متحمل به تنش خشکی، این پژوهش با هدف بررسی واکنش ارقام تجاری بادام به تنش خشکی به صورت کورت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه چهار تخته مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ اجرا شد. دوره های آبیاری بر اساس درصد رطوبت قابل استفاده خاک بین ظرفیت زراعی تا نقطه پژمردگی شامل ۷۰ درصد، ۵۰ درصد، ۳۰ درصد و ۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی به عنوان کورت اصلی و پایه رویشی GN بدون پیوند و ۱۳ رقم تجاری مامائی، ربیع، صبا، آراز، اسکندر، آیدین، شاهرود ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۲۱ که همگی بر روی پایه رویشی GN پیوند شده بودند به صورت تصادفی در کورت های فرعی قرار گرفتند. در هر دو سال مطالعه گیاهان به مدت چهار ماه از اول خرداد تا پایان شهریور تحت تنش آبی قرار داشتند و ارزیابی و اندازه گیری صفات مورد مطالعه در دو مرحله، اواسط دوره تنش (اواخر تیر) و اواخر دوره تنش (اواخر شهریور) دوره انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش معنی دار وزن تر و خشک بخش های هوایی همه ارقام تجاری بادام شد و کمترین اثر تنش خشکی در رقم شاهرود ۸ و پایه GN ثبت گردید. در هر دو مرحله مورد مطالعه اعمال تنش خشکی همراه با کاهش قابل توجه در شاخص کلروفیل بود و بین ارقام بادام نیز تفاوت معنی داری وجود داشت. در مقابل مقدار مالون دی آلدئید و نشت الکترولیت در همه ارقام بادام با افزایش شدت خشکی افزایش معنی داری داشتند. در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش، ارقام شاهرود ۸، شاهرود ۱۲ و پایه GN بیشترین شاخص کلروفیل و کمترین مقدار مالون دی آلدئید و نشت الکترولیت را تحت تنش شدید خشکی (۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) را نشان دادند. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و پراکسیداز در طول دوره تنش در ارقام بادام روند صعودی داشتند. در شرایط تنش شدید خشکی بیشترین ظرفیت آنتی اکسیدانی از نظر فعالیت آنزیم های مورد مطالعه در ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN ثبت شد. براساس نتایج این پژوهش، در سطوح مختلف تنش خشکی، ارقام شاهرود ۸، شاهرود ۱۲ و پایه GN بیشترین وزن تر و خشک، شاخص کلروفیل و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی را داشتند و در مقابل کمترین مقدار پراکسیداسیون در این ارقام مشاهده شد که بیانگر تحمل بالای این ارقام به تنش کم آبی بود.

واژه های کلیدی: بادام، شاخص کلروفیل، دوره تنش، تنش اکسیداتیو، رقم متحمل.



مقدمه

خشکی از تنش های محیطی مهم و عامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان است و تقریباً تولید ۲۴ درصد زمین های کشاورزی جهان را تحت تاثیر قرار می دهد. کاهش میزان آب در دسترس به بروز تنش خشکی و تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاه منجر می شود (Kim et al., 2020). ایران با میانگین بارندگی حدود ۲۴۱ میلی متر در سال (کمتر از یک سوم میانگین جهانی) از نظر اقلیمی در زمره مناطق خشک و نیمه خشک جهان طبقه بندی می شود. استفاده از درختان مقاوم به کم آبی مانند بادام، یکی از راهکارهای مهم و پایدار در توسعه باغبانی قلمداد می شود.

با توجه به شناخت از تحمل بالقوه بادام به شرایط خشک و نیمه خشک و نیاز کشور به این محصول برداشتن گام هایی در راستای گسترش کشت آن در کشور ضروری است (Hakimi et al., 2020). بسته شدن روزنه ها در شرایط تنش خشکی، زنجیره انتقال الکترون را مختل می سازد و باعث تولید مقادیر زیادی از گونه های واکنش گر اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری می شود. گونه های واکنش گر اکسیژن که محصولات فرعی متابولیسم هوازی در سلول هستند، دارای نقش های مثبتی می باشند. برای مثال، در مسیر انتقال پیام، به عنوان پیام رسان های ثانویه تنش عمل نموده و باعث فعال شدن چندین واکنش دفاعی

می شوند. اما تولید بیش از حد آن ها در شرایط تنش خشکی به بروز تنش اکسیداتیو در گیاه منجر می گردد (Alvarez et al., 2020; Gutiérrez-Gordillo et al., 2020).

گونه های واکنش گر اکسیژن از طریق صدمه اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک، رنگیزه ها و آنزیم های فتوسنتزی متابولیسم عادی سلول و گیاه را مختل می سازند. گیاهان برای جابجایی رادیکال های آزاد اضافی و کاهش آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو بر سلول ها به انواع سازکارهای دفاعی آنتی اکسیدان (آنزیمی و غیر آنزیمی) مجهز شده اند (Waszczak et al., 2018). سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و گلوکاتایون ردوکتاز از مهمترین آنزیم های آنتی اکسیدان موجود در سلول های گیاهان می باشند (Méndez-Toribio et al., 2020). سوپر اکسید دیسموتازها اولین عامل دفاعی در برابر گونه های واکنش گر اکسیژن محسوب می شوند که تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن ملکولی را تسهیل می کنند. سه آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز، مولکول های پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کرده، خاصیت واکنشگری آن ها را خنثی می سازند (Sánchez-Blanco et al., 2019).

تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان حائز اهمیت ویژه ای

نسبی سالانه به ترتیب ۳۱۵ میلی‌متر و ۴۷ درصد است. بر اساس روش گوسن و طبقه‌بندی اقلیمی و بیوکلیماتیک ایران، این منطقه در اقلیم استپی سرد قرار دارد و طبق روش آمبرژه این منطقه جزء مناطق خشک محسوب می‌شود. شرایط دمایی و بارندگی در دو سال اجرای این پژوهش (۱۳۹۸-۱۳۹۹ و ۱۴۰۰-۱۳۹۹) در جدول ۱ ارائه شده است.

دوره‌های آبیاری بر اساس درصد رطوبت قابل استفاده خاک بین ظرفیت زراعی تا نقطه پژمردگی شامل ۷۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (شاهد یا بدون تنش)، ۵۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، ۳۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش شدید) بدر کرت های اصلی و پایه رویشی GN بدون پیوند و ۱۳ رقم تجاری مامائی، ربیع، صبا، آراز، اسکندر، آیدین، شاهرود ۶، شاهرود ۷ (فرادئل)، شاهرود ۸ (کریستومورتو)، شاهرود ۱۰، شاهرود ۱۲ (فرانیس)، شاهرود ۱۳ و شاهرود ۲۱ بود که همگی بر روی پایه GN پیوند زده شده، بودند، به صورت تصادفی در کرت های فرعی قرار گرفتند.

قبل از اجرای آزمایش، از خاک زمین محل اجرای پروژه مورد نونه برداری شد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

بوده و تعیین می‌کند که آیا فرایند پیام‌رسانی و یا آسیب اکسیداتیو اتفاق خواهد افتاد. توانایی گیاهان در از بین بردن گونه‌های واکنشگر اکسیژن و کاهش آثار مضر آنها ممکن است با تحمل آنها در برابر تنش خشکی ارتباط داشته باشد (Wu et al., 2022). وجود همبستگی بین فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تحمل بالا به تنش خشکی در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی گزارش شده است (Sánchez-Blanco et al., 2019; García Tejero et al., 2018). پژوهش حاضر با هدف بررسی و مقایسه برخی شاخص‌های رشد، کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ۱۳ رقم تجاری بادام در سطوح مختلف تنش خشکی در دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در ایستگاه چهارتخته مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهار محال و بختیاری در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ اجرا شد. این منطقه دارای عرض جغرافیایی ۵۳ درجه، ۱۷ دقیقه و ۳۲ شمالی و طول جغرافیایی ۵۶ درجه، ۵۵ دقیقه و ۵۳ شرقی است. در منطقه مورد مطالعه، حداقل دما در زمستان و حداکثر دما در تابستان به ترتیب ۱۶- و ۳۷/۹ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. میانگین بارندگی و رطوبت

جدول ۱- اطلاعات هواشناسی ایستگاه تحقیقاتی چهارتخته، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰
Table 1. Meteorological information for Chehar Takhteh research field station, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, ShahreKord, Iran

سال	بارندگی کل (میلیمتر)	میانگین درصد رطوبت نسبی	میانگین سرعت باد (متر بر ثانیه)	میانگین دما (سانتی گراد)	حداقل دما (سانتی گراد)	حداکثر دما (سانتی گراد)
Year	Total precipitation (mm)	Mean relative humidity (%)	Mean windspeed (m s ⁻¹)	Mean temperature (°C)	Minimum temperature (°C)	Maximum Temperature (°C)
2020	259.5	38.0	2.8	12.7	-12.2	37.2
2021	198.9	35.6	3.1	13.5	-19.8	38.6

جدول ۲- ویژگی های فیزیکی-شیمیایی خاک محل باغ آزمایشی قبل از اجرای آزمایش

Table 2. Soil physico-chemical properties, before conducting the experiment, of the experimental orchard

سال	بافت	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر)	درصد کل مواد خنثی	درصد کربن آلی	درصد کل نیتروژن	اسیدیته	پتاسیم قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم)	فسفر قابل جذب (میلی گرم در کیلوگرم)
Year	Texture	Electric conductivity (dS m ⁻¹)	Total neutralizing (%)	Organic carbon (%)	Total nitrogen (%)	pH	Available potassium (mg kg ⁻¹)	Available phosphorus (mg kg ⁻¹)
2020	Loamy	1.012	29.00	0.761	0.058	7.88	354	21.20
2021	Loamy	0.925	33.50	0.410	0.038	7.90	231	8.40

در هر دو سال وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، شاخص کلروفیل، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو مرحله و در فواصل دو ماه (اواخر تیر) و چهار ماه (اواخر شهریور) پس از اعمال تنش، در هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه‌ای، در نهال‌های پیوندی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام هوایی، ابتدا یک نهال از هر واحد آزمایشی را کف بر کرده و پس از توزین وزن تر اندام هوایی، به مدت ۴۸ ساعت در آونی با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از خشک شدن، وزن خشک آنها توزین گردید.

شاخص کلروفیل

شاخص کلروفیل در برگ‌های سالم با استفاده از کلروفیل‌متر (Spad-502 Plus, Konica Minolta Optics Inc, Osaka, Japan) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، در هر نهال سه برگ وسطی انتخاب و در هر برگ شاخص کلروفیل در دو نقطه خوانش شد و میانگین آنها به عنوان شاخص کلروفیل برگ ثبت گردید.

نشت الکترولیت

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت (Electrolyte leakage = EL) طبق روش لوتس و همکاران (Lutts *et al.*, 1995)، ابتدا قطعات برگی با اندازه یک سانتی‌متر مربع همراه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شدند. در این مرحله میزان نشت اولیه (EC_1) به وسیله دستگاه هدایت سنج (EC متر) قرائت شد. سپس شیشه‌ها جهت کشته

اوایل شهریور سال ۱۳۹۷ عملیات پیوند ارقام بر روی پایه‌های یکنواخت و مناسب انجام شد، در اردیبهشت ۱۳۹۸ نهال‌های پیوندی یکنواخت از نظر سن، قطر ساقه و ارتفاع انتخاب و در زمین اصلی به فواصل ۵۰ سانتی‌متر روی ردیف و دو متر بین دو ردیف کشت شدند. ابعاد هر کرت آزمایشی ۲ × ۳ متر بود. فاصله بین کرت‌های فرعی یک متر و کرت‌های اصلی ۲/۵ متر بود. در طول فصل رشد در سال ۱۳۹۸ نهال‌های کشت شده تحت مراقبت و آبیاری قرار گرفتند. با شروع فصل رشد در سال ۱۳۹۹، به مدت دو ماه قبل از شروع تیمار تنش آبیاری، مراقبت‌های لازم از نهال‌ها انجام شد و به مدت چهار ماه از اول خرداد تا پایان شهریور تنش خشکی اعمال شد.

برای اعمال تنش خشکی در سطوح مختلف، در هر واحد آزمایشی، لوله‌های مخصوص دستگاه رطوبت سنج (= Time domain reflectometry = TDR) جهت اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک نصب شد. براساس قرائت دستگاه رطوبت سنج، دور آبیاری در تیمارهای مختلف بر اساس درصد رطوبت قابل استفاده خاک بین ظرفیت زراعی ($Field\ capacity = F.C.$) تا نقطه پژمردگی دائم ($Permanent\ wilting\ point = P.W.P.$) شامل ۷۰ درصد (شاهد یا بدون تنش)، ۵۰ درصد (تنش ملایم)، ۳۰ درصد (تنش متوسط) و ۱۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی (تنش شدید) تعیین و اعمال شد. در سال ۱۴۰۰ نیز به همین روش سطوح تنش خشکی به مدت چهار ماه از اول خرداد تا پایان شهریور اعمال شد.

شده و از تفاوت جذب در واحد زمان، فعالیت آنزیم اندازه گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH برابر با ۷، پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده با در نظر گرفتن ضریب خاموشی $39/4 \text{ mM cm}^{-1}$ بر حسب میلی مول پراکسید هیدروژن اکسید شده در دقیقه (واحد) در میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (Aebi, 1983).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase = SOD): سنجش فعالیت این آنزیم به کمک سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم (Nitro blue tetrazolium test = NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد (Sairam et al., 1998). برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7)، EDTA ۰/۱ میلی مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۰/۵ میلی مولار، متیونین ۱۳ میلی مولار و ریوفلاوین ۴ میکرومولار تهیه گردید. سپس ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره به مخلوط واکنش اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در معرض نور فلورسنت (۴۰W) قرار داده شد. سپس جذب نمونه ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. جهت سنجش این آنزیم نیاز به شاهد روشنائی (مخلوط واکنش بدون عصاره) می باشد که در روشنائی قرار داده شد. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در نمونه ها در مقایسه با شاهد روشنائی سنجیده شد و بر حسب میلی مول

شدن سلول های برگگی به اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه منتقل شدند. پس از سرد شدن محتویات داخل بطری ها، میزان نشست ثانویه (EC₂) اندازه گیری و میزان نشست الکترو لیت از طریق رابطه زیر محاسبه شد.

$$EL = (EC_1/EC_2) \times 100$$

مالون دی آلدئید

برای اندازه گیری مالون دی آلدئید، برگ تازه نمونه های گیاهی با بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH = 7) عصاره گیری شد، سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. محلول فوقانی با تری کلرواستیک ۲۰ درصد حاوی اسید تری تیوباربیتوریک ۰/۵ مخلوط شد و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و بلافاصله در حمام یخ سرد گذاشته شد. پس از سانتریفیوژ، جذب محلول رویی در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت گردید و مقدار مالون دی آلدئید بر حسب میکرومول در گرم وزن تر محاسبه شد (Dow et al., 1981).

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان

آنزیم کاتالاز (Catalase = CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میلی مول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در میلی گرم پروتئین محلول (U mg⁻¹) در دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر ارزیابی شد. در این روش، آنزیم کاتالاز موجود در عصاره گیاهی با تجزیه پراکسید هیدروژن سبب کاهش جذب این ماده در طول موج مذکور

تجزیه واریانس مرکب داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 و مقایسه میانگین بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی

تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان دهنده اثر سال، رقم، تنش خشکی و همچنین اثر متقابل تنش خشکی \times رقم بر وزن تر و خشک نهال‌های بادام در اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). وزن تر و خشک نهال‌های بادام به علت رشد سالانه در طول فصل رشد روند صعودی داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی \times رقم نشان می‌دهد تنش خشکی موجب کاهش معنی دار وزن تر و خشک نهال‌های بادام در همه ارقام مورد مطالعه شد و بیشترین کاهش در وزن خشک نهال‌ها تحت تنش شدید خشکی (۱۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده گردید.

رقم شاهرود ۷۸۵/۸ گرم وزن تر و ۴۳۵/۶۷ گرم وزن خشک) و پایه GN (۷۶۴/۶۷ گرم وزن تر و ۴۴۱/۳۳ گرم وزن خشک) بیشترین زیست توده را در شرایط تنش شدید خشکی در اواخر دوره تنش داشتند که کمترین کاهش وزن تر و خشک در واکنش به تنش خشکی در این ارقام ثبت شد. کمترین وزن تر در شرایط تنش شدید خشکی در ارقام شاهرود ۱۳ و مامائی اندازه‌گیری شد و رقم صبا کمترین وزن خشک را در شرایط تنش خشکی داشت (جدول ۴).

نیترولو تترازولیم احیا شده در دقیقه (واحد) در میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase = GPX) سنجش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز بر اساس روش پگلیا (Paglia, 1997) انجام شد. یک واحد از فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز معادل آنزیمی که بتواند (یک میکرومول) از سوپسترا (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate = NADPH) را در یک دقیقه کاتالیز کند در نظر گرفته شد. برای استاندارد شدن از نمونه آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز استاندارد استفاده شد.

آنزیم پراکسیداز (Peroxidase = POX): فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش سه میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد. افزایش جذب به دلیل احیای گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری است (Plewa *et al.*, 1991). مقدار تتراکایاکول تولید شده با استفاده از ضریب خاموشی (mM^{-1}) $25/5\text{cm}^{-1}$ بر حسب میلی مول گایاکول احیا شده در دقیقه (واحد) در میلی گرم پروتئین محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از انجام آزمون بارتلت جهت بررسی اطمینان از همگن بودن واریانس خطاهای آزمایشی،

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار برای خصوصیات مرفو-فیزیولوژیکی ارقام بادام در طول دو دوره تنش خشکی در سال های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰

Table 3. Mean and standard deviation for morpho-physiological characteristics of almond cultivars during drought stress periods in 2020 and 2021

	مرحله تنش Stress stage	وزن تر اندام هوایی (گرم) Shoot fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Shoot dry weight (g)	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	درصد نشت الکترولیت Electrolyte leakage (%)	مالون دی آلدئید (میکرومول در گرم وزن تر) Malondialdehyde ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW)
۱۳۹۹ 2020	اواسط دوره تنش Middle of stress period	438.65±100.37	157.60±43.54	26.64±4.40	28.74±14.75	20.81±8.99
	اواخر دوره تنش End of stress period	694.29±99.27	364.44±44.02	21.68±3.78	32.21±16.93	22.59±10.30
۱۴۰۰ 2021	اواسط دوره تنش Middle of stress period	823.85±101.24	443.24±99.82	24.01±3.94	26.74±15.10	19.01±9.02
	اواخر دوره تنش End of stress period	939.04±102.31	544.86±54.21	19.70±3.63	30.56±16.44	21.56±10.21

جدول ۴- مقایسه میانگین های اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر وزن تر و خشک اندام های هوایی ارقام بادام

Table 4. Mean comparison of drought stress × cultivar interaction effect on aboveground fresh and dry weight of almond cultivars

Cultivar	رقم	Above-ground fresh weight (g) (وزن تر اندام هوایی (گرم))								Above-ground dry weight (g) (وزن خشک اندام هوایی (گرم))							
		اواسط دوره تنش خشکی				اواخر دوره تنش خشکی				اواسط دوره تنش خشکی				اواخر دوره تنش خشکی			
		Middle of drought stress period				End of drought stress period				Middle of drought stress period				End of drought stress period			
		75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%
		FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	
Rabi	ربیع	724.67	661.83	543.67	440.50	914.33	846.67	728.50	625.33	378.83	331.00	253.6	179.17	527.17	488.33	447.67	395.00
Shahrood 13	شاهرود ۱۳	683.00	626.50	500.50	416.17	872.67	811.33	685.33	601.00	343.33	301.17	215.67	154.33	497.83	464.00	417.00	364.67
Shahrood 21	شاهرود ۲۱	718.67	747.50	617.50	499.83	908.33	932.33	802.33	684.67	358.83	353.67	269.17	200.67	493.17	448.00	407.00	373.67
Mamaei	مامایی	682.67	658.83	547.50	417.17	872.33	843.67	732.33	602.00	353.50	330.67	255.17	164.50	518.50	490.67	449.00	384.00
Aidin	آیدین	727.83	714.17	589.83	509.50	915.33	899.00	774.67	694.33	377.00	365.50	287.33	234.50	522.50	505.00	471.00	431.67
Shahrood 12	شاهرود ۱۲	695.83	673.17	600.17	507.83	883.33	858.00	785.00	692.67	350.00	329.67	277.83	227.67	500.50	474.33	441.67	419.67
Saba	صبا	735.50	712.17	596.83	491.83	923.00	897.00	781.67	676.67	349.33	332.00	246.17	184.17	459.50	440.00	381.67	348.67
Shahrood 7	شاهرود ۷	795.83	746.83	660.83	544.17	983.33	931.67	845.67	729.00	407.17	360.33	304.33	234.67	514.83	462.00	434.00	397.33
Shahrood 8	شاهرود ۸	777.17	725.17	658.50	600.17	964.67	910.00	843.33	785.00	388.67	358.17	313.50	281.83	496.50	479.33	454.67	435.67
Shahrood 10	شاهرود ۱۰	760.50	722.17	644.50	535.17	945.33	907.00	829.33	720.00	379.33	357.50	302.83	240.17	491.83	481.00	447.33	417.33
Shahrood 6	شاهرود ۶	758.17	703.50	617.83	510.83	943.00	888.33	802.67	695.67	399.67	349.17	293.17	228.67	534.83	483.00	450.33	418.67
Eskandar	اسکندر	700.50	622.17	543.50	479.50	885.33	807.00	728.33	664.33	354.67	311.17	252.83	201.83	502.50	488.33	444.00	396.33
Araz	آراز	728.50	709.17	592.17	496.83	913.33	894.00	777.00	681.67	358.83	334.17	270.67	200.00	482.83	447.33	431.00	375.33
GN rootstock	پایه جی ان	750.50	714.50	630.17	579.83	935.33	899.33	815.00	764.67	390.17	358.67	312.33	274.50	523.50	491.00	476.33	441.33
LSD (5%)		90.12	98.65	94.98	112.65	79.66	88.98	92.87	98.74	71.64	87.66	89.87	117.11	88.89	95.36	93.98	102.37

FC: Field capacity

FC: ظرفیت مزرعه

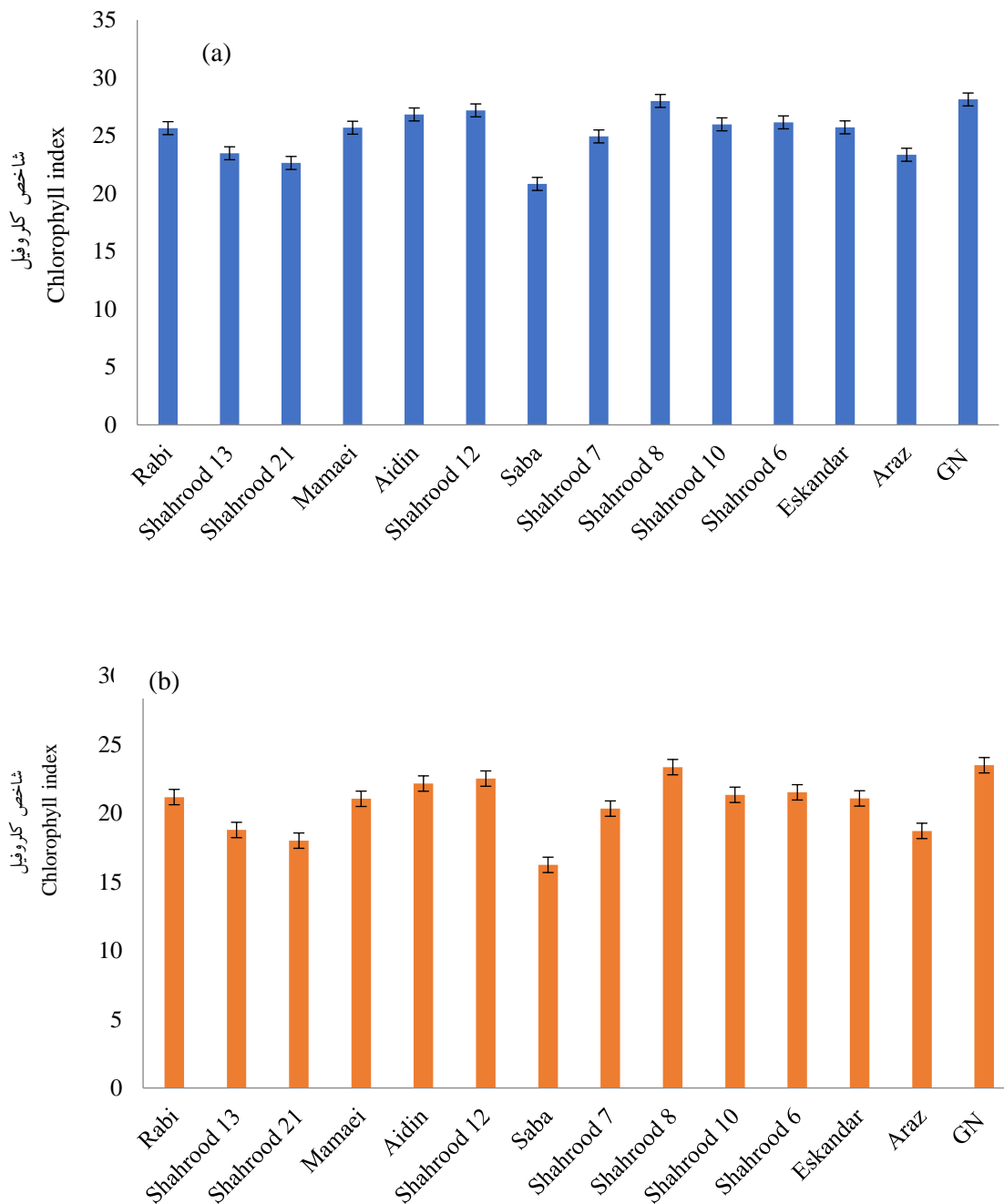
در نتیجه آن کربوهیدرات‌های بیشتری مصرف می‌شود که این تغییرات می‌تواند در کاهش عوامل رشد تأثیر داشته باشد (Oliveira *et al.*, 2018). آسیب تنش خشکی بر غشاهای سلولی، کاهش مقدار سنتز کلروفیل و به دنبال آن کاهش میزان فتوسنتز از دیگر عوامل مهم در پایین بودن وزن تر و خشک گیاه می‌باشد (Ahmad *et al.*, 2020; Ghaffari *et al.*, 2019; Alvarez *et al.*, 2020) که نتایج پژوهش حاضر با یافته این پژوهشگران مطابقت دارد.

شاخص کلروفیل

تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی و رقم بر مقدار شاخص کلروفیل در برگ نهال‌های بادام در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). شاخص کلروفیل اندازه‌گیری شده در برگ نهال‌های بادام در سال دوم کمتر از سال اول بود و در طول دوره تنش کاهش داشت و به طوری که در اواسط دوره تنش بیشتر از اواخر دوره تنش بود (جدول ۳). شاخص کلروفیل با افزایش شدت تنش خشکی کاهش معنی‌داری یافت به طوری که تحت تنش شدید خشکی در اواسط و اواخر دوره تنش به ترتیب ۶۴/۴۵ و ۲۷/۴۴ درصد کمتر از شرایط بدون تنش بود. کمترین شاخص کلروفیل در رقم صبا ثبت شد و بیشترین آن در رقم شاهرود ۸ و پایه GN اندازه‌گیری گردید (شکل ۱).

از آنجایی که رشد یکی از حساس‌ترین فرآیندهای گیاهی نسبت به کاهش آب است، بنابراین کاهش رشد اولین واکنش گیاهان نسبت به تنش خشکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌باشد. در پژوهش حاضر در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش وزن تر و خشک در ارقام مختلف بادام تحت تأثیر تنش خشکی، به ویژه تنش متوسط (۳۰ درصد FC) و شدید (۱۰ درصد FC)، کاهش معنی‌داری داشتند (جدول ۴). از آنجایی که فرایند رشد حاصل فعالیت‌های حیاتی در شرایطی است که گیاه باید آب کافی در اختیار داشته باشد، تأمین نشدن آب مورد نیاز به دلیل کاهش فشار تورژانس در تنش خشکی موجب کاهش محتوای آب سلول‌ها شده و در نتیجه رشد اندام‌های مختلف گیاه مختل می‌شود (Oliveira *et al.*, 2018). کاهش رشد ارقام مختلف بادام در واکنش به تنش خشکی توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Gitea *et al.*, 2019; Gutiérrez-Gordillo *et al.*, 2019; López-López *et al.*, 2018).

در اثر تنش خشکی، تبدلات روزنه‌ای کاهش یافته و موجب کاهش اسیمیلاسیون کربوهیدرات‌ها می‌شود که این امر منجر به کاهش تجمع ماده خشک و در نتیجه کاهش زیست توده گیاه می‌گردد (Martínez-García *et al.*, 2020; Gitea *et al.*, 2019). علاوه بر این با افزایش شدت تنش خشکی، میزان تنفس میتوکندریایی سلول‌های گیاهی افزایش یافته و



شکل ۱- میانگین شاخص کلروفیل برگ ارقام بادام در اواسط (a) و اواخر (b) دوره تنش خشکی. میله های خطا روی ستون ها نشان دهنده انحراف معیار می باشند

Fig. 1. Mean leaf chlorophyll index of almond cultivars in the middle (a) and end (b) of drought stress period. Error bars on the columns represent standard deviation

تولید گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش
اکسیداتیو می‌باشد و این کاهش بستگی به مدت و

کاهش مقدار کلروفیل (شکل ۱) در شرایط
تنش‌های محیطی مانند خشکی به علت افزایش

داشت، به طوری که تنش شدید خشکی (۱۰ درصد ظرفیت مزرعه) موجب افزایش ۴ و ۱۹ برابری نشت الکتروولت نسبت به شرایط بدون تنش به ترتیب در اواسط و اواخر دوره تنش شد. در هر دو دوره تنش خشکی، ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN کمترین و رقم شاهرود ۱۳ بیشترین میزان نشت الکتروولت را داشتند (جدول ۵).

تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل سال × خشکی و خشکی × رقم بر میزان مالون دی آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی در برگ های ارقام بادام در هر دو مرحله اندازه گیری شده معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). میزان مالون دی آلدئید اندازه گیری شده در سال دوم کمتر از سال اول بود و در اواخر دوره تنش نسبت به اواسط دوره تنش افزایش داشت (جدول ۳).

اگر چه در شرایط بدون تنش میزان مالون دی آلدئید در ارقام بادام تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند ولی تفاوت معنی داری از نظر میزان افزایش مالون دی آلدئید تحت سطوح مختلف خشکی در ارقام بادام مشاهده شد. ارقام شاهرود ۱۳ (۴۶/۶۶ میکرومول در گرم وزن تر) و ربیع (۴۵/۰۹ میکرومول در گرم وزن تر) بیشترین و ارقام شاهرود ۸ (۲۵/۱۳ میکرومول در گرم وزن تر)، شاهرود ۱۰ (۷۵/ میکرومول در گرم وزن تر) و پایه GN (۲۵/۷۵ میکرومول در گرم وزن تر) کمترین مقدار مالون دی آلدئید را تحت تنش شدید خشکی داشتند (جدول ۵). تنش خشکی با ایجاد اختلال ۲۵

شدت تنش، نوع و مرحله نموی گیاه دارد. رادیکال های آزاد اکسیژن اصلی ترین عاملی هستند که در شرایط تنش باعث خسارت و شکستن رنگیزه های فتوسنتزی و پروتئین های ساختاری دستگاه فتوسنتزی می شوند (Yang et al., 2021). همچنین تنش خشکی باعث افزایش غلظت برخی از تنظیم کننده های رشد مانند آبسزیک اسید و اتیلن می شود که تحریک کننده آنزیم کلروفیلاز بوده و موجب تجزیه کلروفیل و پیری برگ ها و در نتیجه کاهش وزن تر و خشک گیاهان می شوند (O'Connell, 2017). کاهش فتوسنتز و مقدار کلروفیل در واکنش به تنش خشکی در ارقام مختلف بادام توسط سایر پژوهشگران (Espadador et al., 2017; Akbarpour et al., 2017; Ranjbar et al., 2019) نیز گزارش شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

نشت الکتروولت و مالون دی آلدئید

تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل سال × خشکی و خشکی × رقم بر میزان نشت الکتروولت در برگ نهال های بادام در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). میزان نشت الکتروولت اندازه گیری شده در سال دوم کمتر از سال اول بود و میزان نشت الکتروولت در اواخر دوره تنش نسبت به اواسط دوره تنش افزایش نشان داد (جدول ۳). با افزایش شدت تنش میزان نشت الکتروولت اندازه گیری شده در ارقام بادام روند صعودی

جدول ۵- مقایسه میانگین های اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر نشت الکترولیت و مالون دی آلدئید در ارقام بادام

Table 5. Mean comparison of drought stress × cultivar interaction effect on electrolyte leakage and malondialdehyde in almond cultivars as affected

Cultivar	رقم r	درصد نشت الکترولیت (Electrolyte leakage (%))								مالون دی آلدئید (میکرومول بدرگرم وزن تر) (Malondialdehyde (μmol g ⁻¹ FW))							
		اواسط دوره تنش خشکی				اواخر دوره تنش خشکی				اواسط دوره تنش خشکی				اواخر دوره تنش خشکی			
		Middle of drought stress period				End of drought stress period				Middle of drought stress period				End of drought stress period			
		75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%	75%	50%	30%	10%
		FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	FC	
Rabi	ربیم	12.40	21.50	42.33	61.41	12.46	18.20	37.58	56.07	13.32	14.58	19.33	40.19	13.95	15.88	21.80	45.09
Shahrood 13	شاهرود ۱۳	14.72	24.16	57.45	66.99	14.14	20.86	52.69	61.22	14.58	15.39	20.45	41.76	15.13	16.70	22.92	46.64
Shahrood 21	شاهرود ۲۱	14.471	18.49	41.04	59.73	14.98	15.19	36.29	53.61	15.98	16.50	21.42	38.95	16.64	17.80	23.89	43.07
Mamaei	مامایی	14.31	19.17	49.27	60.30	13.72	15.87	44.50	54.16	14.23	14.62	22.42	39.77	14.89	15.93	24.88	43.87
Aidin	آیدین	10.83	17.47	38.28	45.62	10.24	14.17	33.53	39.51	11.77	12.38	16.58	33.31	12.43	13.69	19.05	37.44
Shahrood 12	شاهرود ۱۲	14.29	19.15	34.48	44.32	13.70	15.85	29.73	38.21	11.82	13.19	16.85	26.76	12.48	14.49	19.32	30.96
Saba	صبا	13.96	18.45	40.38	54.91	13.37	15.15	35.63	48.57	13.80	14.63	17.55	36.85	14.46	15.93	20.02	40.96
Shahrood 7	شاهرود ۷	13.35	19.19	39.19	54.64	12.76	15.89	34.44	48.19	12.90	13.49	17.56	38.22	13.55	14.79	20.00	42.33
Shahrood 8	شاهرود ۸	13.01	18.37	38.61	44.61	12.42	15.07	33.86	38.53	12.01	13.51	16.85	25.13	12.67	14.82	19.33	29.26
Shahrood 10	شاهرود ۱۰	12.40	17.36	34.58	48.54	11.81	14.06	29.83	42.43	13.95	14.57	17.47	25.75	14.61	15.87	19.94	29.87
Shahrood 6	شاهرود ۶	15.62	17.37	37.98	55.28	15.03	14.07	33.23	49.14	12.77	13.21	21.56	36.09	13.43	14.52	24.03	40.21
Eskandar	اسکندر	13.74	18.32	39.30	49.45	13.15	15.02	34.55	43.29	13.22	13.45	17.40	31.82	13.89	14.77	19.87	35.93
Araz	آراز	14.94	19.27	35.62	50.29	14.35	15.97	30.87	44.19	10.50	13.52	17.65	35.09	11.15	14.82	20.14	39.22
GN rootstock	پایه جی ان	12.84	16.39	33.62	43.94	12.25	13.09	28.87	37.84	11.85	13.32	17.54	25.75	12.51	14.65	20.01	29.87
LSD 5%		1.92	3.52	5.98	10.35	2.88	4.47	6.00	11.24	2.05	7.31	8.09	13.99	1.85	10.78	10.14	12.79

FC: Field capacity

FC: ظرفیت مزرعه

داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). مقایسه میانگین ها نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در اواسط و اواخر دوره تنش روندی صعودی داشت و میزان فعالیت آن در اواخر دوره تنش نسبت به اواسط دوره تنش در نهال های پیوندی ارقام بادام بیشتر بود. در هر دو مرحله فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه گیری شده در سال دوم بیشتر از سال اول بود (جدول ۶).

در فرآیند انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست و با تولید رادیکال های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن، موجب آسیب اکسیداتیو به غشاء، افزایش نشت الکترولیت، پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تولید مالون دی آلدئید در برگ ارقام بادام مورد مطالعه شد (جدول ۵). نتایج پژوهش حاضر با یافته سایر پژوهشگران (López-López *et al.*, 2018; Moriana *et al.*, 2018) مطابقت دارد.

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان

آنزیم کاتالاز (CAT): تجزیه واریانس مرکب

جدول ۶- میانگین و انحراف معیار برای فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی ارقام بادام در طول دو دوره تنش در سال های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰

Table 6. Mean and standard deviation for antioxidant enzymes activity of almond cultivars during two drought stress period in 2020 and 2021

مرحله تنش Stress stages	کاتالاز CAT	سوپراکسید دیسموتاز SOD	گلوکوتایون پراکسیداز GPX	پراکسیداز POX
	واحد در میلی گرم پروتئین (Unit mg ⁻¹ protein)			
۱۳۹۹ 2020 اواسط دوره تنش Middle of stress period	13.84±4.26	19.26±5.49	16.92±6.17	9.65±2.11
اواخر دوره تنش End of stress period	16.43±5.35	22.07±5.76	18.24±6.81	10.13±2.13
۱۴۰۰ 2021 اواسط دوره تنش Middle of stress period	14.92±4.45	19.21±5.41	17.27±6.31	10.14±2.10
اواخر دوره تنش End stress period	16.74±5.33	21.68±5.72	18.62±6.83	10.65±2.13

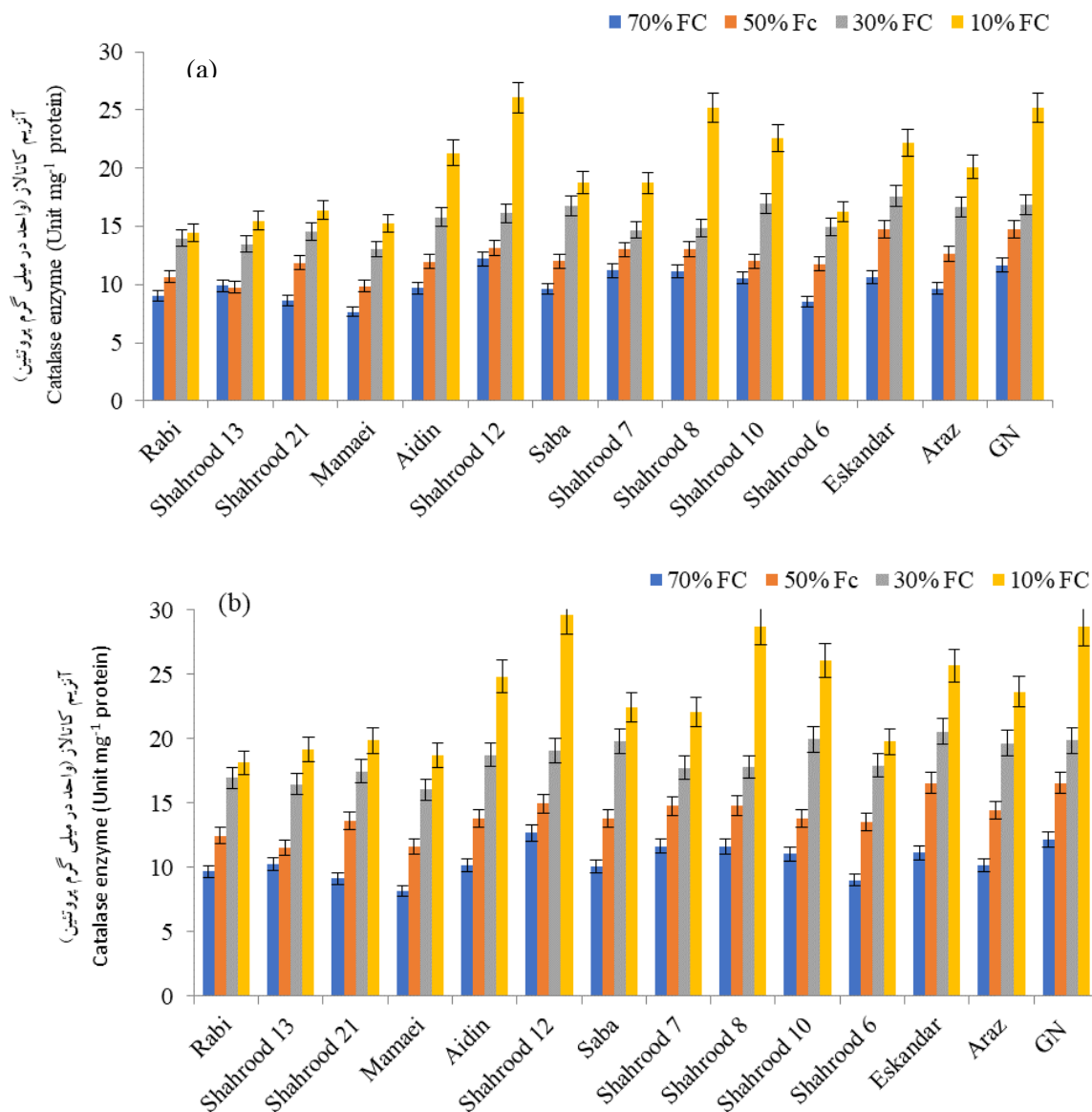
CAT: Catalase, SOD: Superoxide dismutase, GPX: Glutathione peroxidase, POX: Peroxidase.

خشکی تفاوت معنی داری داشتند. در اواسط دوره تنش و در شرایط بدون تنش رقم شاهرود ۱۲ بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۲/۱۹) واحد در میلی گرم پروتئین) داشت. تحت تنش شدید کم آبی ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN بیشترین و ارقام ربیع، شاهرود ۱۳ و مامائی

تنش خشکی موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام بادام مورد مطالعه شد و در شرایط تنش شدید خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز تقریباً دو برابر فعالیت این آنزیم در شرایط بدون تنش بود. ارقام مورد مطالعه بادام از نظر فعالیت آنزیم کاتالاز تحت سطوح تنش

پایه GN بیشترین و ارقام ربیع و مامائی کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان دادند (شکل ۲b).

کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان دادند (شکل ۲a). در اواخر دوره تنش نیز تحت تنش شدید خشکی ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و



شکل ۲- میانگین اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام بادام در اواسط (a) و اواخر (b) دوره تنش خشکی. میله های خطا روی ستون ها نشان دهنده انحراف معیار می باشند

Fig. 2. Mean of drought stress × cultivar interaction effect on catalase enzyme activity in almond cultivars under in the middle (a) and end (b) of drought stress period. Error bars on the columns represent standard deviation

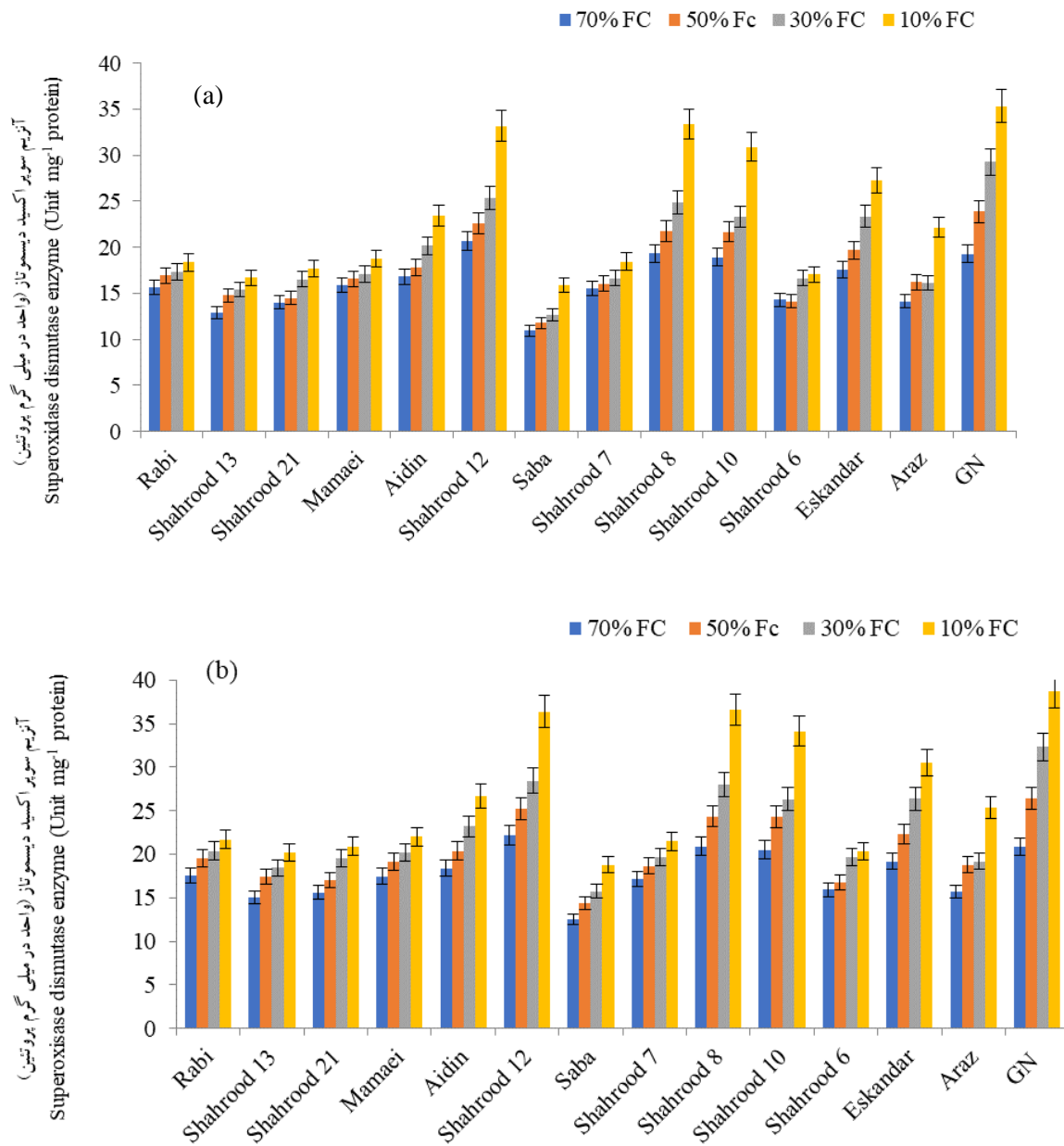
آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD): تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل سال \times خشکی و خشکی \times رقم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز اندازه گیری شده در اواخر دوره تنش سال‌های مورد مطالعه بیشتر از مقدار آن در اواخر دوره تنش بود (جدول ۶). اگرچه فعالیت این آنزیم در اواسط دوره تنش در دو سال مورد مطالعه تفاوت قابل توجهی نداشتند ولی مقدار فعالیت آن در اواخر دوره تنش سال دوم مورد مطالعه کمتر از سال اول بود (جدول ۶).

تنش خشکی موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه ارقام بادام شد. در اواسط دوره تنش، رقم صبا کمترین و ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در شرایط بدون تنش داشتند. در شرایط تنش شدید خشکی بیشترین افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پایه GN (۵۳/۸۳ درصد) و کمترین افزایش در ارقام ربیع (۶۹/۱۷ درصد)، مامائی (۱۰/۱۸ درصد) و شاهرود ۷ (۵۳/۱۸) حاصل شد (شکل ۳a). در اواخر دوره تنش نیز رقم صبا کمترین (۵۱/۱۲ واحد در میلی گرم پروتئین) و رقم شاهرود ۱۲ (۲۴/۲۲ واحد در میلی گرم پروتئین) بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشتند. تحت تنش شدید خشکی بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پایه GN (۷۶/۳۸ واحد در میلی گرم پروتئین) و کمترین فعالیت در ارقام صبا (۷۷/۱۸ واحد در میلی گرم پروتئین) شاهرود ۱۳ (۲۳/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین)، شاهرود ۶ (۳۲/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین) و شاهرود ۲۱ (۹۲/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین) ثبت گردید (شکل ۳b).

آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPX): تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل سال \times خشکی و خشکی \times رقم بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز واریانس فعالیت در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در طول دوره تنش روند صعودی داشت و در هر دو مرحله مورد مطالعه (اواسط و اواخر دوره تنش) فعالیت آنزیم در سال دوم بیشتر از سال اول بود (جدول ۶).

تنش خشکی موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در همه ارقام بادام شد. در اواسط دوره تنش، رقم صبا کمترین و ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در شرایط بدون تنش داشتند. در شرایط تنش شدید خشکی بیشترین افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پایه GN (۵۳/۸۳ درصد) و کمترین افزایش در ارقام ربیع (۶۹/۱۷ درصد)، مامائی (۱۰/۱۸ درصد) و شاهرود ۷ (۵۳/۱۸) حاصل شد (شکل ۳a). در اواخر دوره تنش نیز رقم صبا کمترین (۵۱/۱۲ واحد در میلی گرم پروتئین) و رقم شاهرود ۱۲ (۲۴/۲۲ واحد در میلی گرم پروتئین) بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشتند. تحت تنش شدید خشکی بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در پایه GN (۷۶/۳۸ واحد در میلی گرم پروتئین) و کمترین فعالیت در ارقام صبا (۷۷/۱۸ واحد در میلی گرم پروتئین) شاهرود ۱۳ (۲۳/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین)، شاهرود ۶ (۳۲/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین) و شاهرود ۲۱ (۹۲/۲۰ واحد در میلی گرم پروتئین) ثبت گردید (شکل ۳b).

آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPX): تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش خشکی، رقم و اثر متقابل سال \times خشکی و خشکی \times رقم بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز واریانس فعالیت در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در طول دوره تنش روند صعودی داشت و در هر دو مرحله مورد مطالعه (اواسط و اواخر دوره تنش) فعالیت آنزیم در سال دوم بیشتر از سال اول بود (جدول ۶).



شکل ۳- میانگین اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ارقام بادام در اواسط (a) و اواخر (b) دوره تنش خشکی. میله های خطا روی ستون ها نشان دهنده انحراف معیاری باشند

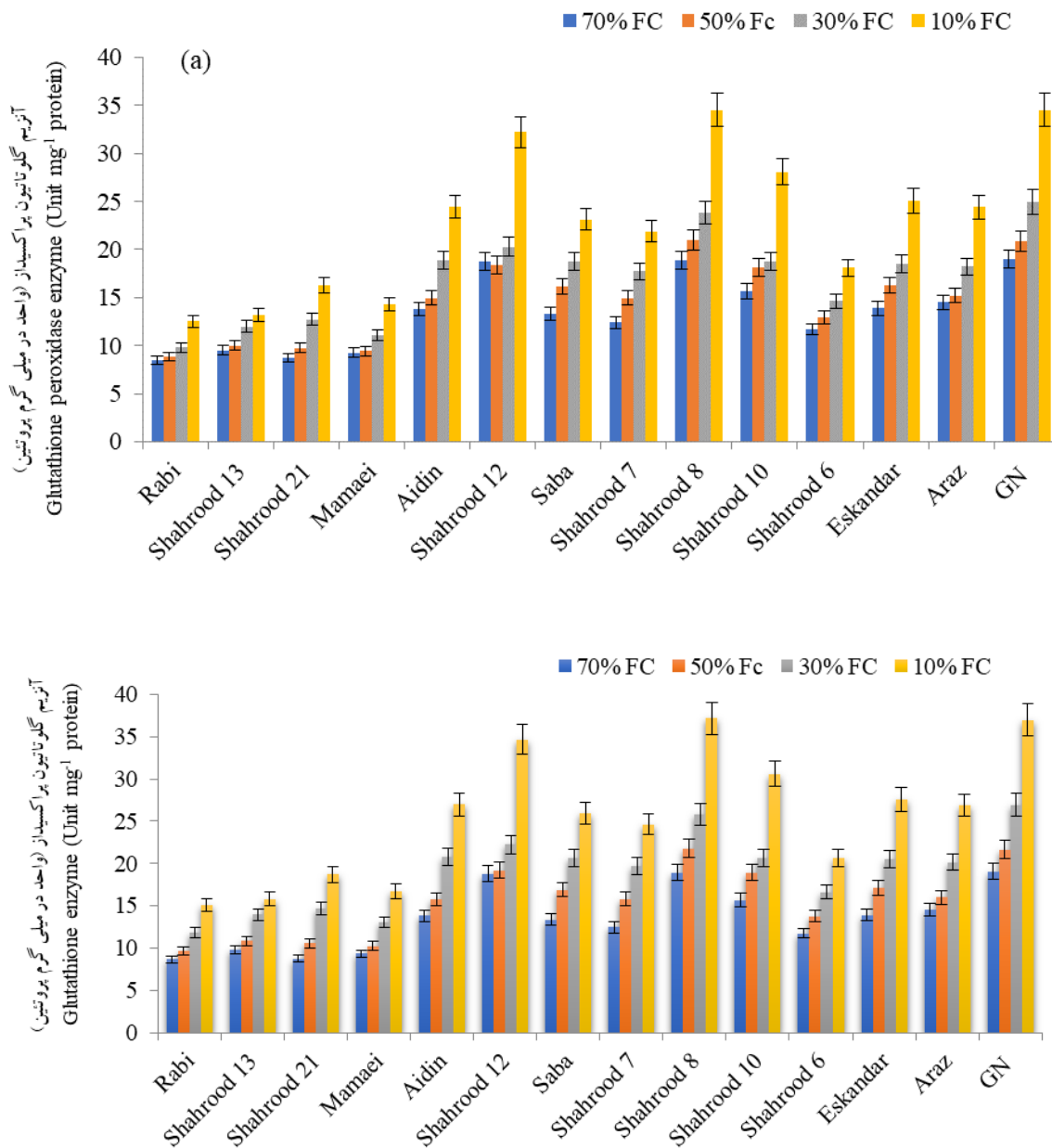
Fig. 3. Mean of drought stress × cultivar interaction effect on superoxide dismutase enzyme activity in almond cultivars under stress in the middle (a) and end (b) of drought stress period. Error bars on the columns represent standard deviation

خشکی، رقم و اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز واریانس فعالیت در هر دو مرحله اواسط و اواخر دوره تنش معنی دار بود (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است). فعالیت آنزیم پراکسیداز در اواخر بیشتر از اواسط دوره تنش بود و مقدار آن در سال دوم بیشتر از سال اول بود (جدول ۶). تنش شدید خشکی موجب افزایش ۳۶/۵۶-۳۲/۰۳ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شرایط بدون تنش به ترتیب در اواسط (شکل ۵a) و اواخر (شکل ۵b) دوره تنش گردید.

در اواسط دوره تنش در شرایط بدون تنش ارقام شاهرود ۲۱ و مامائی و تحت تنش خشکی پایه GN و رقم شاهرود ۸ بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشتند. پایه GN بیشترین و ارقام شاهرود ۱۳ و مامائی کمترین افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز را در واکنش به تنش خشکی داشتند (شکل ۵a). اندازه گیری فعالیت آنزیم در اواخر دوره تنش نشان داد که پایه GN بیشترین (۱۵/۲۴ واحد در میلی گرم پروتئین) و ارقام ربیع (۸/۵۴ واحد در میلی گرم پروتئین)، شاهرود ۷ (۹/۲۴ واحد در میلی گرم پروتئین) و آراز (۹/۶۶ واحد در میلی گرم پروتئین) کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت تنش شدید خشکی داشتند (شکل ۵b).

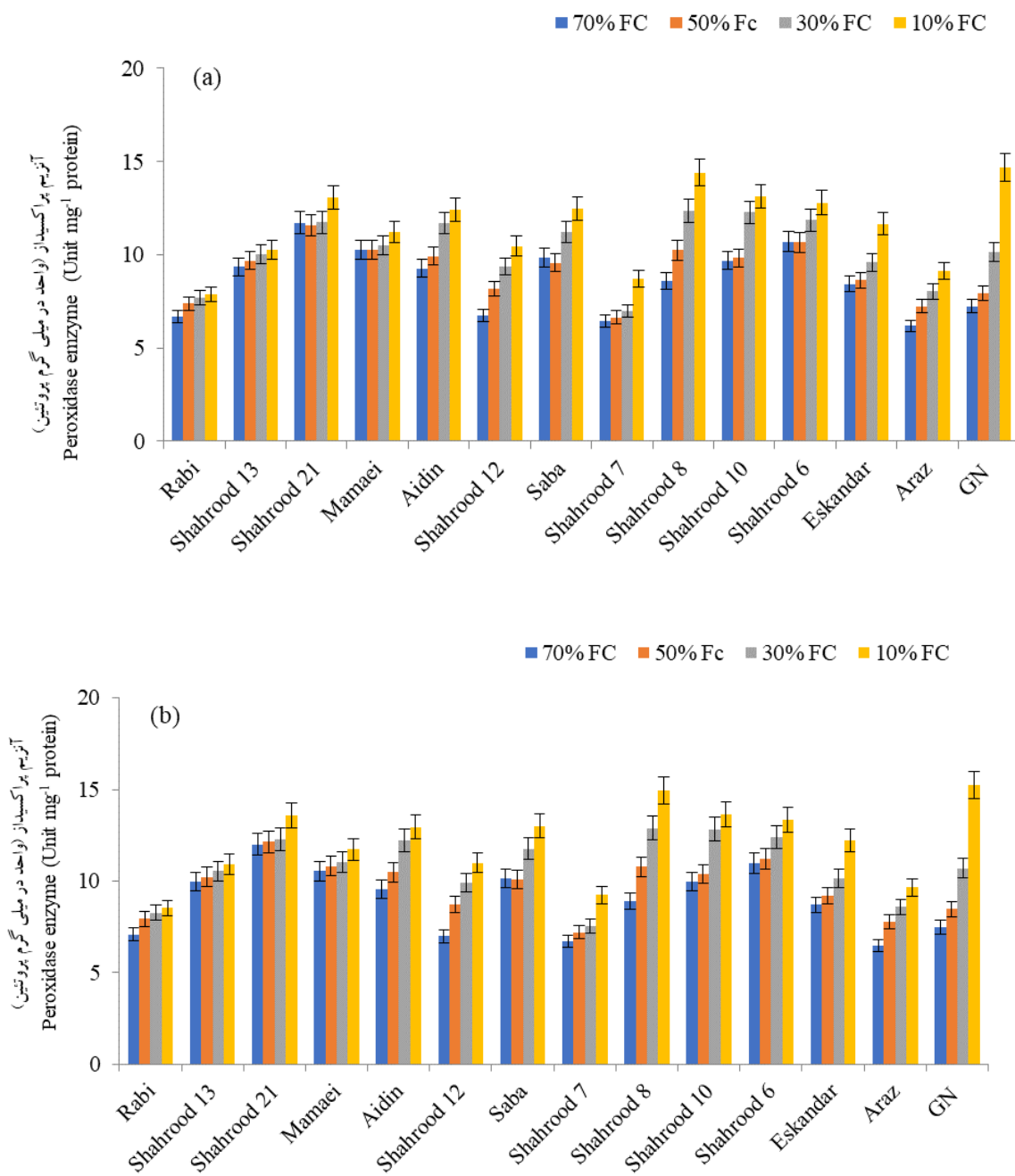
ارقام بادام از نظر فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز در سطوح مختلف تنش خشکی تفاوت معنی داری داشتند و در همه ارقام تنش خشکی موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم شد. در طول دوره تنش و در شرایط بدون تنش ارقام ربیع، شاهرود ۲۱، شاهرود ۱۳ و مامائی کمترین و ارقام شاهرود ۱۲، شاهرود ۸ و پایه GN بیشترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز را داشتند. در شرایط تنش شدید خشکی بیشترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (۳۴/۵۰ واحد در میلی گرم پروتئین) در اواسط دوره تنش در پایه GN و رقم شاهرود ۸ ثبت شد و کمترین فعالیت این آنزیم در ارقام ربیع (۱۲/۵۲ واحد در میلی گرم پروتئین)، شاهرود ۱۳ (۱۳/۱۶ واحد در میلی گرم پروتئین) و مامائی (۱۴/۳۰ واحد در میلی گرم پروتئین) حاصل گردید (شکل ۴a). در اواخر دوره تنش تحت تنش شدید خشکی رقم شاهرود ۸ (۳۷/۱۶ واحد در میلی گرم پروتئین) و پایه GN (۳۷ واحد در میلی گرم پروتئین) بیشترین و ارقام ربیع (۱۵/۱۲ واحد در میلی گرم پروتئین) و شاهرود ۱۳ (۱۵/۸۲ واحد در میلی گرم پروتئین) کمترین فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز را داشتند (شکل ۴b).

آنزیم پراکسیداز (POX): تجزیه واریانس مرکب داده ها نشان داد که اثر سال، تنش



شکل ۴- میانگین اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز در ارقام بادام در اواسط (a) و اواخر (b) دوره تنش خشکی. میله های خطا روی ستون ها نشان دهنده انحراف معیار می باشند

Fig. 4. Mean of drought stress × cultivar interaction effect on glutathione peroxidase enzyme activity in almond cultivars in the middle (a) and end (b) of drought stress period. Error bars on the columns represent standard deviation



شکل ۵- میانگین اثر متقابل تنش خشکی × رقم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام بادام در اواسط (a) و اواخر (b) دوره تنش خشکی. میله های خطا روی ستون ها نشان دهنده انحراف معیار می باشد

Fig. 5. Mean of drought stress × cultivar interaction effect on peroxidase enzyme activity in almond cultivars in the middle (a) and end (b) of drought stress period. Error bars on the columns represent standard deviation

(شکل ۴) و پراکسیداز (شکل ۵) در ارقام بادام مورد مطالعه روند صعودی داشتند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از غشاءها، پروتئین‌ها و ماکرومولکول‌ها در مقابل خسارت‌های گونه‌های فعال اکسیژن محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نظیر خشکی می‌شوند (Laxa et al., 2019).

افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی یک واکنش دفاعی گیاهان در شرایط نامطلوب محیطی می‌باشد که در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است (Yanget al., 2021; Ahmad et al., 2020; Ghaffari et al., 2019). آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیدازها در خط اصلی سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهان قرار می‌گیرند. سوپراکسید دیسموتاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دفاعی در مقابل گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر است. در واقع این آنزیم به عنوان آنتی‌اکسیدان و حفاظت‌کننده اجزای سلولی عمل می‌کند. سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم فلزی (متالو آنزیم) است که رادیکال سوپراکسید تولید شده را به هیدروژن پراکسید تبدیل می‌کند. سوپراکسید به عنوان یکی از گونه‌های اصلی اکسیژن واکنش‌گر در سلول، شناخته شده است که سبب تغییر ماهیت آنزیم‌ها، اکسیداسیون لیپیدها و متلاشی شدن DNA می‌شود. تنظیم میزان سوپراکسید دیسموتاز در تعدیل اثرهای

گیاهان عالی دارای سازکارهایی برای اجتناب و یا تحمل تنش آبی و افزایش کارایی مصرف آب می‌باشند. کامل کردن رشد فعال در دوره‌ای که آب عامل محدودکننده نباشد و فعال شدن سامانه دفاعی برای به حداقل رساندن اثر تنش خشکی از جمله سازکارهای گیاهان در واکنش به تنش خشکی است (Méndez-Toribio et al., 2020). تنش خشکی، موجب آسیب رساندن به سلول‌های گیاهی و جلوگیری از رشد گیاهان می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید شده در این شرایط موجب اکسیداسیون پروتئین‌ها، تغییرات آمینو اسیدی، شکسته شدن زنجیره‌های پپتیدی و تغییر بار الکتریکی پروتئین‌ها می‌گردد (Waszczak et al., 2018; Wu et al., 2022).

در شرایط غیرتنش بین میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن و ظرفیت دفع کردن آن‌ها توسط سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه تعادل وجود دارد. اما در شرایط تنش میزان تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت جمع‌آوری آن‌ها توسط سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه بیشتر شده و در نتیجه تنش اکسیداتیو رخ می‌دهد. بنابراین برای مقابله با تنش اکسیداتیو تغییر ظرفیت سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی ضروری می‌باشد که نیازمند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است (Laxa et al., 2019). در پژوهش حاضر با افزایش شدت تنش، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (شکل ۲)، سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۳)، گلوکاتایون پراکسیداز

بر اساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، اگرچه واکنش ارقام بادام مورد مطالعه نسبت به سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود ولی در همه ارقام تنش خشکی با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی موجب کاهش معنی دار زیست توده و شاخص کلروفیل نهال‌های بادام شد. با افزایش شدت تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز به میزان قابل توجهی افزایش یافتند. در پژوهش حاضر، پایه GN و ارقام شاهرود ۸ (کریستومورتو) و شاهرود ۱۲ (فرانسیس) از نظر وزن تر و خشک و شاخص کلروفیل در مقایسه با سایر ارقام به دلیل ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا کمتر در شرایط سطوح بالاتر تنش خشکی قرار گرفتند. بنابراین در پژوهش‌های آینده ارقام شاهرود ۸ و شاهرود ۱۲ و همچنین پایه رویشی GN می‌توانند برای ارزیابی امکان کشت بادام در مناطق با محدودیت آب آبیاری مدنظر قرار گیرند.

سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از همکاری مدیریت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری در اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌کنند.

تعارض منافع

نگارندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه تعارض منافی ندارد.

مخرب تنش اکسیداتیو بسیار مهم است (Huanget al., 2020).

آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز هر دو از آنزیم‌های پاک‌کننده پراکسید هیدروژن می‌باشند. پراکسیدازها پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می‌کنند و هم‌چنین در بیوستز لیگنین و تجزیه اکسین نقش دارند. آن‌ها می‌توانند از طیف وسیعی از دهنده‌های الکترون مانند گایاکول استفاده کنند. پراکسیدازها در هر دو گروه پراکسیدازهای محلول در آب و غشای سلولی تقسیم می‌شوند که توسط آنزیم‌های کاتالاز، گونه‌های مختلف پراکسیداز تجزیه می‌گردد (Bandeppa et al., 2019). در بسیاری از ارقام بادام فعال شدن سامانه آنتی‌اکسیدانی گیاه با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم‌ترین سازکار در شرایط مواجهه با تنش کم‌آبی گزارش شده است (Karimi et al., 2015; Hernandez-Santana et al., 2016; López-López et al., 2018; Gutiérrez-Gordillo et al., 2019). سایر پژوهشگران نیز گزارش کرده‌اند که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان با تحمل تنش رابطه مستقیم دارد (Bista et al., 2020). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارقام شاهرود ۸ و شاهرود ۱۲ و پایه GN که بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطوح مختلف تنش خشکی داشتند و بیشترین تحمل به تنش خشکی را نشان دادند.

References

- Aebi, H. 1983.** Catalase, Pp.273-277. In: Bergmeyer, H. (ed.) *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.
- Ahmad, M.A., Javed, R., Adeel, M., Rizwan, M. and Yang, Y. 2020.** PEG 6000-stimulated drought stress improves the attributes of in vitro growth, steviol glycosides production, and antioxidant activities in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plants*, 9, 1552. DOI: 10.3390/plants9111552
- Akbarpour, A., Imani, A. and Ferdowskhah-yeganeh, S. 2017.** Physiological and morphological responses of almond cultivars under in vitro drought stress. *Journal of Nuts*, 8(1), pp.61-72.
- Alvarez, S., Martín, H., Barajas, E., Rubio, J.A. and Vivaldi, G.A. 2020.** Rootstock effects on water relations of young almond trees (cv. Soleta) when subjected to water stress and rehydration. *Water*, 12(12), 3319. DOI: 10.3390/w12123319
- Bandeppa, S., Paul, S., Thakur, J.K., Chandrashekar, N., Umesh, D.K., Aggarwal, C. and Asha, A.D. 2019.** Antioxidant, physiological and biochemical responses of drought susceptible and drought tolerant mustard (*Brassica juncea* L.) genotypes to rhizobacterial inoculation under water deficit stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 143, pp.19-28.
- Bista, D.R., Heckathorn, S.A., Jayawardena, D.M. and Boldt, J.K. 2020.** Effect of drought and carbon dioxide on nutrient uptake and levels of nutrient-uptake proteins in roots of barley. *American Journal of Botany*, 107. pp.1401-1409.
- Dow, A.I., Horning, E.V. and Cline, T.A. 1981.** Salt tolerance studies on irrigated Mint. Washington State University Agricultural Research Center, 906. 10 pp.
- Espadador, M., Orgaz, F., Testi, L., Lorite, I.J., González-Dugo, V. and Fereres, E. 2017.** Responses of transpiration and transpiration efficiency of almond trees to moderate water deficit. *Scientia Horticulturae*, 225, pp.6-14. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.06.028
- García Tejero, I.F., Moriana, A., Rodríguez Pleguezuelo, C.R., Durán Zuazo, V.H. and Egea, G. 2018.** Sustainable deficit-irrigation management in almonds (*Prunus dulcis* L.): Different strategies to assess the crop water status. Pp. 271-298. In: García Tejero, I.F. and Durán Zuazo, V.H. (eds.) *Water scarcity and sustainable agriculture in semiarid environment: tools, strategies and challenges for woody crops*. Academic Press. Cambridge, MA, USA. DOI: 10.1016/B978-0-12-813164-0.00012-0
- Ghaffari, H., Tadayon, M.R., Nadeem, M., Cheema, M. and Razmjoo, J. 2019.**

- Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(2), 23. DOI: 10.1007/s11738-019-2815-z
- Gitea, M.A., Gitea, D. and Tit, D.M. 2019.** Orchard management under the effects of climate change: implications for apple, plum, and almond growing. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, pp.9908–9915. DOI: 10.1007/s11356-019-04214-1
- Gutiérrez-Gordillo, S., Durán-Zuazo, V.H. and García-Tejero, I. 2019.** Response of three almond cultivars subjected to different irrigation regimes in Guadalquivir river basin. *Agricultural Water Management*, 222, pp.72–81. DOI: 10.1016/j.agwat.2019.05.031
- Haas, J.C., Vergara, A., Serrano, A.R., Mishra, S., Hurry, V. and Street, N.R. 2021.** Candidate regulators and target genes of drought stress in needles and roots of Norway spruce. *Tree Physiology*, 41, pp.1230-1246. DOI: 10.1093/treephys/tpaa178
- Hakimi, Y., Fattahi, M. and Zamani, Z. 2022.** Evaluation of genetic diversity among some selected walnut by using morphological and pomological characteristics. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 53(1), pp.209-224. (in Persian). DOI: 10.22059/IJHS.2021.318674.1896
- Hernandez-Santana, V., Rodriguez-Dominguez, C.M., Fernández, J.E. and Diaz-Espejo, A. 2016.** Role of leaf hydraulic conductance in the regulation of stomatal conductance in almond and olive in response to water stress. *Tree Physiology*, 36, pp.725-735. DOI: 10.1093/treephys/tpv146
- Huang, Y.Y., Deng, M.H., Peng, C.X. and Wen J.F. 2020.** Studies on the response of lily petal antioxidant enzyme system to drought stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 47, pp.788-796. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2019-0469
- Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A. and Aghaalikhani, M. 2015.** Gas-exchange response of almond genotypes to water stress. *Photosynthetica*, 53, pp.29-34. DOI: 10.1007/s11099-015-0070-0
- Kim, J., Kim, K. S., Kim, Y. and Chung, Y.S. 2020.** A short review: Comparisons of high-throughput phenotyping methods for detecting drought tolerance. *Scientia Agricola*, 78(4), pp.1-8. DOI: 10.1590/1678-992x-2019-0300
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K. and Dietz, K.J. 2019.** The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8, 94. DOI: 10.3390/antiox8040094

- López-López, M., Espadador, M., Testi, L., Lorite, I.J., Orgaz, F. and Fereres, E. 2018.** Water use of irrigated almond trees when subjected to water deficits. *Agricultural Water Management*, 195, pp.84-93. DOI: 10.1016/j.agwat.2017.10.001
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1995.** Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*, 46(12), pp.1843-1852. DOI: 10.1093/jxb/46.12.1843
- Martínez-García, P.J., Hartung, J., Pérez de los Cobos, F., Martínez-García, P., Jalili, S., Sánchez-Roldán, J.M., Rubio, M., Dicenta, F. and Martínez-Gómez, P. 2020.** Temporal response to drought stress in several *Prunus* rootstocks and wild species. *Agronomy*, 10, pp.1383. DOI: 10.3390/agronomy10091383
- Méndez-Toribio, M., Ibarra-Manríquez, G., Paz, H. and Lebrija-Trejos, E. 2020.** Atmospheric and soil drought risks combined shape community assembly of trees in a tropical dry forest. *Journal of Ecology*, 108(4), pp.1347-1357. DOI: 10.1111/1365-2745.13355
- Moriana, A., Memmi, H., Centeno, A., Martín-Palomo, M.J., Corell, M. Torrecillas, A., and Pérez-López, D. 2018.** Influence of rootstock on pistachio (*Pistacia vera* L. cv Kerman) water relations. *Agricultural Water Management*, 20, pp.263-270. DOI: 10.1016/j.agwat.2017.12.026
- O'Connell, E. 2017.** Towards adaptation of water resource systems to climatic and socio-economic change. *Agricultural Water Management*, 31, pp.2965-2984. DOI:10.1007/s11269-017-1734-2
- Oliveira, I., Meyer, A., Afonso, S. and Gonçalves, B. 2018.** Compared leaf anatomy and water relations of commercial and traditional *Prunus dulcis* (Mill.) cultivars under rain-fed conditions. *Scientia Horticulturae*, 229, pp.226-232. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.11.015
- Paglia, D. 1997.** Studies on the quantitative trait Dase. *Journal of Laboratory Medicine*, 70, pp.158-165.
- Plewa, M.J., Smith, S.R. and Wagner, E.D. 1991.** Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 247(1), pp.57-64.
- Ranjbar, A., Imani, A., Piri, S. and Abdoosi, V. 2019.** Effects of drought stress on almond cultivars responses grafted on different rootstocks. *Journal of Nuts*, 10, pp.9-

24. DOI: 10.22034/jon.2019.664206
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Saxena, D.C. 1998.** Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41, pp.387-394. DOI: 10.1023/A:1001898310321
- Sánchez-Blanco, M.J., Ortuño, M.F., Bañón, S. and Álvarez, S. 2019.** Deficit irrigation as a strategy to control growth in ornamental plants and enhance their ability to adapt to drought conditions. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94, pp.137–150. DOI: 10.1080/14620316.2019.1570353
- Waszczak, C., Carmody, M. and Kangasjarvi, J. 2018.** Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 69, pp.209-236. DOI: 10.4161/psb.22455
- Wu, J., Wang, J., Hui, W., Zhao, F., Wang, P., Su, C. and Gong, W. 2022.** Physiology of plant responses to water stress and related genes: A review. *Forests*, 13, 324. DOI: 10.3390/f13020324
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z. and Chen, S. 2021.** Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50. DOI: 10.3390/horticulturae7030050
- Yildirim, A.N., Şan, B., Yildirim, C. and Karakurt, Y. 2021.** Physiological and biochemical responses of almond rootstocks to drought stress. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 45(4), 12. DOI: 10.3906/ tar-2010-47

RESEARCH ARTICLE

Response of Morpho-Physiological Traits and Antioxidant Capacity of Some Commercial Almond Cultivars to Drought Stress

E. Safavi Bakhtiari¹, S. A. Mousavi^{2*} , M. Yadegari³ and B. Haghghati⁴

1. Ph. D. Student, Department of Agronomy and Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Assistant Professor, Field and Horticulture Crops Sciences Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension organization, Shahrekord, Iran.

3. Associate Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

4. Assistant Professor, Soil and Water Research Department, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Shahrekord, Iran.

ABSTRACT

Safavi Bakhtiari, E., Mousavi, S. A., Yadegari, M. and Haghghati, B. 2023. Response of morpho-physiological traits and antioxidant capacity of some commercial almond cultivars to drought stress. *Seed and Plant*, 39, pp.381-410 (in Persian).

The present research was conducted to evaluate the response of different almond cultivars to drought stress. The experiment was carried out as split plot arrangement in randomized complete block design with three replications in the Agricultural and Natural Resources Research Center of Chaharmahal and Bakhtiari, Shahrekord, Iran, in 2020 and 2021. Different irrigation periods based on the available soil moisture; 70%, 50%, 30% and 10% of field capacity were assigned to the main plots and 13 commercial almond cultivars; Mamaei, Rabie, Saba, Araz, Eskandar, Aidin, Shahrood 6, 7, 8, 10, 12, 13, 21 and GN clonal rootstock, were randomized in the subplots. All commercial almond cultivars were grafted on GN clonal rootstock. The plants were under water stress for four months and antioxidant enzymes activity was measured at the middle (two months after application of stress) and the end (four months after application of stress) of drought stress period. The results showed that drought stress significantly decreased fresh and dry weight of the above-ground parts of all cultivars. The lowest effect of drought stress was recorded in cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock. Malondialdehyde content and electrolyte leakage in all almond cultivars significantly increased with increasing drought intensity. In both the middle and end of drought stress period, cv. Shahrood 8, cv. Shahrood 12 and GN clonal rootstock showed the highest chlorophyll index and the lowest malondialdehyde content and electrolyte leakage under severe drought stress (10% FC). Under severe drought stress, the highest antioxidant capacity of enzymes was recorded in cv. Shahrood 12, cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock. Considering the results of this research, under different levels of drought stress, cv. Shahrood 8, cv. Shahrood 12 and GN clonal rootstock had the highest above-ground fresh and dry weight, chlorophyll index and antioxidant enzymes activity, and the lowest peroxidation level that showed the high level of tolerance to water deficit stress.

Keywords: Almond, chlorophyll index, stress period, oxidative stress, tolerant cultivar.

Introduction

Changing climate, global warming and water scarcity necessitate identifying and introducing tolerant crop varieties to environmental stresses. The water shortage is the main restricting factor for different horticulture crops in regards to yield and quality of production. The plant response to different levels of water stress is complex that determines the sensitivity or tolerance of plants to water deficiency (Yanget *al.*, 2021). However, variation in growth, physiological and phytochemical process are the common response of different plant species to unfavorable environment conditions. The accumulation of reactive oxygen species (ROS) in plant tissues under drought stress adversely affects the main physiological and biochemical processes (Hernandez-Santana *et al.*, 2016). The plant defense system for detoxifying of ROS accumulation under drought stress comprises the enzymatic (e.g. catalase (CAT), peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GPX)) and non-enzymatic compounds (e.g. phenols, proline, glycine betaine, soluble carbohydrate) (Waszczak *et al.*, 2018). Almond tree is known as drought-tolerant crop, however, in arid and semi-arid conditions, water deficit restricts the nut yield and its quality (García Tejero *et al.*, 2018). The present study was aimed to assay the growth, chlorophyll index, peroxidation level, and antioxidant enzymes activity of 14 commercial almond cultivars under different imposed drought stress levels during the middle and end of growing season.

Materials and Methods

The experiment was carried out as split plot arrangement in randomized complete block design with three replications in the Agricultural and Natural Resources Research Center of Chaharmahal and Bakhtiari, Shahrekord, Iran, in 2020 and 2021. Different irrigation regimes based on the available soil moisture; 70%, 50%, 30% and 10% of field capacity were assigned to the main plots and 13 commercial almond cultivars; Mamaei, Rabie, Saba, Araz, Eskandar, Aidin, Shahrood 6, 7, 8, 10, 12, 13, 21 and GN clonal rootstock, were randomized in the subplots. All commercial almond cultivars were grafted on GN clonal rootstock. The plants were under water stress for four months (from early June) and antioxidant enzymes activity was measured at the middle (two months after application of stress) and the end (four months after application of stress) of drought stress period.

At the middle and the end of drought stress period, the leaves of plants of each cultivar were sampled and frozen rapidly, and then transferred to laboratory for biochemical assays. The chlorophyll index was measured using a chlorophyll meter. Electrolyte leakage and malondialdehyde were determined as lipid peroxidation index. Catalase (CAT) activity was determined according to the H_2O_2 extinction coefficient of 39.4 mM^{-1}

cm^{-1} as mmol decomposed H_2O_2 per min (one unit) per mg soluble protein. The peroxidase (POX) activity was measured by guaiacol substrate. The POX activity was measured as mmol produced tetraguaiacol per min per mg soluble protein (Unit mg^{-1} protein) using the tetraguaiacol extinction coefficient of $25.5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The activity of Superoxide dismutase (SOD) enzyme was assayed according to its ability to inhibit the photochemical reduction of nitro blue tetrazolium (NBT). The glutathione peroxidase (GPX) activity was calculated in mmol oxidized NADPH in one min per mg protein (units per mg soluble protein) using an extinction coefficient of $6.62 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Results and Discussion

Combine analysis of variance showed that year, drought stress, cultivar and the interaction effect of drought \times cultivar significantly affected all traits (except chlorophyll index). The aboveground fresh and dry weight of almond cultivars considerably decreased with increasing the drought level. Shahrood 8 cultivar and GN clonal rootstock had the highest biomass under severe drought stress. The chlorophyll index in the leaves of almond cultivars significantly decreased with increasing drought stress level due to damage and break of the pigments as well as decomposition of chlorophylls. Under drought stress, the lowest chlorophyll index was recorded in cv. Saba and the highest in cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock. Also, in all studied almond cultivars, with increasing drought stress level, the electrolyte leakage and malondialdehyde content showed increasing trend.

In both drought stress period cv. Shahrood 12, cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock had the lowest electrolyte leakage. However, cv. Shahrood 13 had the highest electrolyte leakage and lipid peroxidation under drought stress. The almond cultivars showed significant differences for antioxidant enzymes activity under different levels of drought stress. Antioxidant enzymes activity increased during the stress period. Under severe drought stress, the highest activity of CAT enzyme was measured in cv. Shahrood 12, cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock. The highest peroxidase and SOD activity measured in GN clonal rootstock under severe drought stressed level. Under severe drought stress, the highest GPX activity was determined in cv. Shahrood 8 and GN clonal rootstock. Considering the results of this research, under different levels of drought stress, cv. Shahrood 8, cv. Shahrood 12 and GN clonal rootstock had the highest aboveground fresh and dry weight, chlorophyll index and antioxidant enzymes activity, and the lowest peroxidation level that showed the high level of tolerance to water deficit stress.

References

García Tejero, I.F., Moriana, A., Rodríguez Pleguezuelo, C.R., Durán Zuazo, V.H.

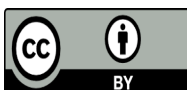
- and Egea, G. 2018.** Sustainable deficit-irrigation management in almonds (*Prunus dulcis* L.): Different strategies to assess the crop water status. Pp.271-298. In: García Tejero, I.F. and Durán Zuazo, V.H. (eds.) *Water scarcity and sustainable agriculture in semiarid environment: tools, strategies and challenges for woody crops*. Academic Press. Cambridge, MA, USA. DOI: 10.1016/B978-0-12-813164-0.00012-0
- Hernandez-Santana, V., Rodriguez-Dominguez, C.M., Fernández, J.E. and Diaz-Espejo, A. 2016.** Role of leaf hydraulic conductance in the regulation of stomatal conductance in almond and olive in response to water stress. *Tree Physiology*, 36, pp.725-735. DOI: 10.1093/treephys/tpv146
- Waszczak, C., Carmody, M. and Kangasjarvi, J. 2018.** Reactive oxygen species in plant signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 69, pp.209-236. DOI: 10.4161/psb.22455
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z. and Chen, S. 2021.** Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50. DOI: 10.3390/horticulturae7030050

Corresponding author: asgharmousavi@gmail.com

Tel.: +983833334760

Received: 30 June 2023

Accepted: 19 September 2023



2023© Seed and Plant. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.