

مقاله پژوهشی

پاسخ‌های مورفو-فیزیولوژی نهال‌های دو گونه افرا پلت و توسکا بیلاقی به تنش خشکی

مکرم روان‌بخش^۱، بابک باباخانی^{۱*}، محمود قاسم‌نژاد^۲، فریبا سرپوشان^۱ و محمدحسن بیگلویی^۳

^۱ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

^۲ دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن؛ گروه باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۳ دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن؛ گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳)

چکیده

در این پژوهش تأثیر تنش خشکی بر پارامترهای ریخت‌شناسی و فیزیولوژی دو گونه جنگلی افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss.) و توسکا بیلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) که در احیای جنگل‌های طبیعی و جنگل کاری مورد استفاده قرار می‌گیرند، ارزیابی شد. تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور (دو گونه و چهار سطح تنش خشکی ۰٪ (تش شدید)، ۲۵٪ (تش متوسط)، ۵۰٪ (تش خفیف) و ۱۰۰٪ (بدون تنش) درصد ظرفیت زراعی) در قالب طرح کامل‌اً تصادفی بر روی نهال‌های یکساله اجرا شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش ارتفاع، قطر یقه، زیست‌توده برگ و ریشه نهال‌های دو گونه گردید. گونه توسکا افت زیست‌توده ساقه بیشتری را نشان داد، همچنین نسبت ریشه به اندام هوایی در گونه توسکا افزایش محسوس ولی در گونه افرا افزایش جزئی داشت. سطح برگ هر دو گونه تحت تنش کاهش یافت، شاخص سطح ویژه برگ در گونه توسکا با افزایش شدت تنش خشکی افت داشته، اما در گونه افرا در سطح تنش خفیف و متوسط افزایش مشاهده شد. میزان کاهش کلروفیل کل و کلروفیل a در گونه توسکا بیشتر از افرا و میزان افت کلروفیل b دو گونه تفاوتی نشان نداد، همچنین میزان کاروتینوئید در گونه توسکا کاهش، درحالی که افزایش غیرمعنی دار در گونه افرا مشاهده شد. تنش خشکی اثر معنی‌داری بر میزان محتوی نسبی آب و پرولین در دو گونه نشان داد. بین دو گونه از نظر میزان پرولین تفاوت وجود نداشت، لیکن گونه افرا افت محتوی نسبی آب کمتری از توسکا در سطح تنش متوسط نشان داد. میزان مالون‌آلدیید و فعالیت آنزیمهای آنتی-اکسیدانی در دو گونه با افزایش شدت تنش افزایش نشان داد. گونه توسکا افزایش بیشتر محتوی مالون‌آلدیید در تیمارهای تنش در مقایسه با تیمار شاهد داشت. فعالیت آنزیمهای آنتی-اکسیدانی در دو گونه در تیمار تنش متوسط و خفیف افزایش و گونه افرا سطح آنزیمی بالاتری را نشان داد. با توجه به نتایج، می‌توان گفت که دو گونه، پاسخ‌های مشابهی به تنش خشکی نشان ندادند، همچنین براساس پارامترهای مورد سنجش می‌توان اذعان نمود که گونه افرا مکانیسم پاسخ بهتری را به تنش نشان داده است. با توجه به مقاومت به خشکی بیشتر گونه افرا نسبت به توسکا پیشنهاد می‌گردد تا در عرصه‌های جنگل کاری با محدودیت دسترسی به منابع آبی کاشت گونه افرا نسبت به توسکا در اولویت قرار گیرد.

کلمات کلیدی: آنزیمهای آنتی-اکسیدانی، سطح ویژه برگ، کمبود آب، گونه هیرکانی

مقدمه

به کمبود آب، مشخص شدن نوع عملکرد آنها در مواجهه با تنش خشکی می‌تواند به بمبود مدیریت تولید نهال در نهالستان‌ها همچنین موفقیت جنگل‌کاری‌ها کمک کند (نوروزی هارونی و طبری کوچک‌سرایی، ۱۳۹۴؛ آهنی و همکاران، ۱۳۹۶). تاکنون مطالعات محدودی در زمینه اثر تنش خشکی بر روی نهال‌های گونه‌های درختی بومی هیرکانی صورت گرفته که از آن جمله می‌توان به تحمل خشکی نهال‌های افرا شیردار (*Acer cappadocicum* Gled) (اصغرپور و همکاران، ۱۳۹۶)، افزودن پرلیت به خاک بر صفات رشد و *Quercus castaneifolia* (فیزیولوژی نهال‌های بلندمازو (C.A.M. تحت تنش کم‌آبی (ذوقی و همکاران، ۱۳۹۸)، تأثیر باکتری سودوموناس فلورسنس در بهبود صفات ریختی نهال زربین در تنش خشکی (روکی و همکاران، ۱۳۹۸) و پاسخ‌های ریختی، فیزیولوژیکی و آنزیمی نهال‌های توسکای بیلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) به تنش کم‌آبی با تلقیح قارچ میکوریز (بور و همکاران، ۱۴۰۰) اشاره کرد. تنش‌های آبی عامل اصلی کاهش دهنده زندگانی نونهال‌ها در مرحله استقرار جنگل‌کاری بشمار می‌آیند. آگاهی از پاسخ نونهال‌ها به تنش‌های آبی، مستله اساسی در موفقیت جنگل‌کاری محسوب می‌شود (جهانبازی گوجانی و همکاران، ۱۳۹۲).

تنش خشکی، تهدید غیرزیستی اولیه رشد گیاهان در سراسر دنیاست. وقوع تنش خشکی موقت یا دائمی به رشد و نمو گیاه آسیب شدید وارد کرده و جذب مواد غذایی توسط اندام‌های گیاهی را بسیار بیشتر از سایر عوامل محیط زیستی محدود می‌نماید (Tariq *et al.*, 2018). تنش آبی با ایجاد تغییرات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در اندام‌های گیاه، رشد گیاه را کاهش می‌دهد. تنش آبی منجر به کاهش دسترسی به آب خواهد شد و متعاقباً رشد کند می‌گردد. Silva کاهش رشد، اثر اولیه و اساسی خشکی بر گیاهان است (et al., 2010). تنش خشکی با افت پتانسیل آب برگ، فشار تورژسانس، کاهش طویل‌شدگی سلول و رشد نمود می‌یابد. در سطح سلولی دسترسی به آب سلول محدود می‌شود. بنابراین اولین پاسخ سلول تلاش برای نگهداری آب از طریق اجتناب از

تغییرات جهانی آب و هوای ناشی از انتشار گازهای گلخانه‌ای، فراوانی، دوره و شدت خشکی را در مناطق مختلف دنیا افزایش داده است. تنش خشکی از عوامل محیط زیستی منفی بسیار مؤثر بر رشد و تولید است که حضور و توزیع گونه‌های گیاهی و درنهایت استقرار درختان، توازن کرین و موقعیت و ساختار جنگل‌ها را تغییر خواهد داد (Guo *et al.*, 2019; du *et al.*, 2019). جنگل‌های هیرکانی (خزری) که از تالش تا منطقه گلیداغی در استان خراسان شمالی گسترده است و دامنه‌های شمالی البرز را در بر می‌گیرد، به علت حضور گونه‌های گیاهی باقیمانده از دوران سوم زمین‌شناسی بسیار ارزشمند است (نقی نژاد و زارع‌زاده، ۱۳۹۲). این جنگل‌ها با طول حدود ۸۰۰ کیلومتر و عرض ۱۱۰ کیلومتر و مساحت کلی ۱/۸۵ میلیون هکتار، ۱۵ درصد از کل جنگل‌های ایران و ۱/۱ درصد از کل مساحت ایران را در بر می‌گیرد (طلشی و همکاران، ۱۳۹۷). به دلیل اهمیت و موقعیت جنگل‌های هیرکانی، شناخت و پژوهش گیاهی زیستی گونه‌های درختی در تصمیم‌گیری آتی و شناخت کامل‌تر آنها کمک شایانی می‌کند (آقاجانی و همکاران، ۱۳۹۳). جعفری (۱۳۸۷) اذعان داشت که در نیم قرن گذشته، اقلیم جنگل‌های خزری گرم‌تر شده است و گرایش رویش در پوشش گیاهی حدود صد متر به سمت بالا حرکت نموده است، پیش‌بینی‌ها نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۵۰ دمای هوای ایران ۲/۷ درجه سانتی‌گراد افزایش خواهد یافت که افزایش نیاز آبی گیاهان را در پی خواهد داشت (عطارد و همکاران، ۱۳۹۶). علاوه بر این، توالی جنگل‌های طبیعی شمال ایران نیز به دلیل بهره‌برداری‌های غیراصولی و عدم تجدید حیات طبیعی مورد تهدید قرار گرفته است (حسنی و همکاران، ۱۳۹۵).

خشکی بر طرح‌های جنگل‌داری نیز به دلیل آسیب‌پذیری بیشتر نهال‌ها به مرگ ناشی از کمبود آب نسبت به درختان بالغ اثر منفی ایجاد خواهد کرد. با توجه به تغییرات اقلیمی پیش‌رو، گونه با تحمل خشکی می‌تواند به عنوان گونه با توان بالقوه جهت کمک به حفظ اکوسیستم جنگلی پایدار مورد توجه قرار گیرد (Bhusal *et al.*, 2020). تحقیق در مورد واکنش گیاهان

اندازه‌گیری شده است (Ge *et al.*, 2014; Abid *et al.*, 2018). گیاهان مکانیزم‌هایی را برای جلوگیری از اثرات انرژی مضر به کمک ائتلاف انرژی اضافی و از بین‌بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، توسط مکانیسم‌های پیچیده آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی بکار می‌برند (Moustaka *et al.*, 2018; Sarker and Oba, 2018). پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گونه‌های فعال اکسیژن را متلاشی می‌کنند، بنابراین Geng *et al.*, 2019 گیاهان را از تنفس خشکی محافظت می‌کنند ().

گونه افراپلت (*Acer velutinum* Boiss.) متعلق به تیره Sapindaceae از فراوان‌ترین و بلندترین افراهای ایران است که در جنگل‌های جلگه‌ای شمال کشور از جنگل‌های آستارا در غرب تا گلستان در شرق گسترش دارد (حسنی و همکاران، ۱۳۹۵). جنگل‌کاری با گونه افرا پلت در سطح وسیعی از عرصه‌های جنگلی محرومیه انجام شده است (کیانی و همکاران، ۱۳۹۲). گونه توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) از خانواده Betulaceae به عنوان چهارمین درخت مهم تجاری جنگل‌های شمال کشور ۷/۷۵ درصد از کل حجم سرپای جنگل‌های شمال را در بر می‌گیرد (اسلامی و همکاران، ۱۳۹۵). این گونه پیشگام با داشتن قدرت ثبیت‌کنندگی ازت خاک و بیومس تولیدی زیاد به منظور زراعت چوب و همچنین جنگل‌کاری برای احیای مناطق محرومیه جنگل‌های شمال کشور مناسب است (فروزان و همکاران، ۱۳۸۸؛ عبدالهی و همکاران، ۱۳۹۶).

این تحقیق با توجه به چالش محیط‌زیستی تغییرات‌قیم در نتیجه تنفس خشکی احتمالی در آینده، نقش گونه‌های درختی در ترسیب کربن و کمک به کاهش اثرات زیان‌بار ناشی از آن مورد توجه قرار گرفته است. همچنین با توجه به حساسیت بیشتر نهال‌های چوبی به تنفس کمبود آب در مطالعه حاضر اثر تنفس خشکی بر نهال‌های یکساله دو گونه افرا پلت و توسکا ییلاقی (گونه‌های شاخص خزری و تندر) رشد مورد استفاده در جنگل‌کاری‌های شمال) بررسی شده است. بررسی تاریخچه مطالعات انجام‌شده در گذشته بر روی این دو گونه نشان

رشد فعال است (Alachew *et al.*, 2016). پاسخ ریخت‌شناسی اولیه به تنفس خشکی مکانیسم اجتناب از طریق تنظیم رشد گیاه مانند کاهش اندام هوایی (ارتفاع، قطر یقه) و زیست‌توده است (Lei *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2019).

رطوبت نسبی آب برگ شاخص کلیدی درجه هیدراته شدن سلول و بافت بوده که برای عملکردهای فیزیولوژیک بهینه و فرایندهای رشد حیاتی است. در بسیاری از مطالعات نشان داده شده که حفظ رطوبت نسبی نسبتاً بالا در تنفس خشکی شاخص تحمل خشکی است (Ying *et al.*, 2015; Toscano *et al.*, 2016). کلروفیل رنگیزه فتوستترزی اولیه گیاهی است که غلظت آن بازگوکننده توانایی ستر مواد آلی است (Li *et al.*, 2015). برگ‌ها احتمالاً تحت تنفس خشکی سبزینگی خود را از به‌علت جلوگیری از بیوسنتر رنگیزه‌های سبز در گیاهان در حال رشد و تخریب کلروفیل از دست می‌دهند. کمبود آب منجر به شکستن ساختارهای کلروفیل شده و کاهش احتمالی آن در اثر تنفس اکسیداتیو نیز اتفاق می‌افتد (Ghaffari *et al.*, 2019). بسیاری از گیاهان، ترکیبات آلی محلول (ترکیبات محلول سازگار) تحت عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی را تجمع می‌دهند که از مهمترین مکانیسم‌های حفظ فشار تورژسانس در پاسخ به خشکی و تغییرات قابل توجه بر رشد به شمار می‌روند (Medeiros *et al.*, 2012).

گیاهان مقاومت به تنفس را به‌وسیله تجمع مقادیر قابل توجه از پرولین آزاد، پروتئین محلول و قند محلول افزایش داده تا غلظت شیره سلولی را بهبود داده که این موضوع می‌تواند تورژسانس سلولی را حفظ کرده و از هدرافت بیش از حد پلاسما جلوگیری می‌کند (Guo *et al.*, 2018).

کاهش جذب کربن تحت تنفس خشکی منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، عمدتاً سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود، این گونه‌های فعال اکسیژن به غشای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رساند و باعث تنفس اکسیداتیو می‌شود (Abid *et al.*, 2018). غلظت مالون‌دآلدید (MDA) که محصول تجزیه پراکسیداسیون لیپیدی است به عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو

اتیلنی انتقال یافتند و تا زمان اعمال تنفس خشکی (رشد نسبی برگ نهال‌ها و سازگاری با شرایط گلخانه) (Medeiros *et al.*, 2012) به میزان مناسب آبیاری شدند. تیمار تنفس از اوایل تیر تا اوایل مهر ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. برای تعیین چهار سطح تنفس خشکی (٪۷۵ (تنفس شدید)، ٪۵۰ (تنفس متوسط)، ٪۲۵ (تنفس شدید) و ٪۱۰۰ (بدون تنفس) درصد ظرفیت زراعی، ابتدا برخی پارامترهای خاک از جمله بافت، وزن مخصوص و رطوبت در آزمایشگاه خاک براساس جدول ۱ تعیین شد. با توجه به ظرفیت زراعی، نقطه پژمردگی و وزن نهال و گلدان و وزن خاک خشک و رطوبت خاک در نقاط یادشده، وزن مرجع مشخص شد و آبیاری نهال‌ها در هر چهار تیمار پس از توزین گلدان با توجه به این وزن انجام گردید. براساس مقدار رطوبت وزنی خاک در ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی ابتدا مقدار آب در دسترس خاک (W_{AW}) به دست آمد (رابطه ۱). سپس براساس رابطه (۲) مقدار رطوبت در ظرفیت زراعی (W_{fc}) و درنهایت رابطه (۳) مقدار وزن کل در ظرفیت زراعی ($W_{t(fc)}$) مشخص گردید (شیربانی و همکاران، ۱۳۹۱؛ آهنی و همکاران، ۱۳۹۶). برای جلوگیری از تبخیر سطحی خاک، سطوح گلدان‌ها با ورق آلومینیوم پوشانده شد. گلدان‌ها یک روز در میان با ترازو توزین شدند و به اندازه اختلاف از وزن مرجع، آبیاری شدند.

$$W_{AW} = (W_{fc} - W_{pwp}) \times W_s \quad \text{رابطه ۱}$$

$$W_{fc} = (W_{pwp} + W_{AW}) \times W_s \quad \text{رابطه ۲}$$

$$W_{t(fc)} = W_s + W_p + W_{fc} \quad \text{رابطه ۳}$$

وزن آب قابل دسترس (W_{AW})، وزن آب در ظرفیت زراعی (W_{fc})، وزن آب در نقطه پژمردگی (W_{pwp})، وزن گلدان و نهال (W_s)، وزن خاک (W_p)، وزن برگ (W_b)،

پارامترهای رشد (ارتفاع، قطر یقه، زیست‌توده، نسبت ریشه به شاخه سطح برگ و سطح ویژه برگ): در انتهای دوره آزمایش، قطر یقه با استفاده از کولیس دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) و ارتفاع نهال‌ها با استفاده از خط‌کش مدرج با دقت (۰/۱ متر) اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین زیست‌توده اندام‌ها

می‌دهد که مطالعات زیادی در مورد جنگل‌شناسی، عوامل محیطی مؤثر بر گونه، ویژگی‌های چوب و مطالعات مربوط به رویش بذر وجود دارد، لیکن اطلاعاتی در مورد پاسخ و میزان سازش با خشکی مبتنی بر داده‌های آزمایشی موجود نیست؛ از این‌رو هدف این تحقیق شناسایی، بررسی و مقایسه مکانیسم‌های پاسخ دو گونه به تنفس خشکی براساس پارامترهای ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک است.

مواد و روش‌ها

گیاهشناسی گونه‌های مورد مطالعه: افرایلت درختی خزان کننده به ارتفاع بیش از ۳۰ متر و قطر تنه یک متر با برگ‌های پنجه‌ای بزرگ با لوب‌های مثلثی محدب و حاشیه دندانه‌دار کمانی

غیرمنظم و قاعده قلبی شکل، سطح فوقانی سیز و سطح تحتانی آن سبزآبی (کبود) و اطراف رگبرگ‌های اصلی آن را کرک‌های مخلملی پوشانده است. طول برگ به طور معمول ۲۰ سانتی‌متر، دمیرگ هم اندازه پهنک یا کمی بلندتر اغلب ارغوانی رنگ است. میوه از نوع فندقه بالدار (دی‌سامار) با دو بال به طول ۴/۵ و عرض ۱/۵ سانتی‌متر با زاویه حدود ۵۰ درجه است.

توسکای بیلاقی درختی خزان‌کننده گاهی ارتفاع بیش از ۴۰ متر با برگ کشیده و با قاعده قلبی شکل، گل‌های نر و ماده به صورت شاتون، گل نر در گرزن‌های مجتمع و شاتون ماده مخروطی شکل با فلس‌های پایا (پنج لوب با دو بذر در هر فلس)، بذر سبک، تخم مرغی پهن با بال باریک است. زمان گلدهی اسفند تا فروردین و زمان رسیدن بذر آبان تا آذر ماه است (ثابتی، ۱۳۵۵؛ اسدی، ۱۳۶۹-۱۳۹۰؛ ثاقب طالبی، ۱۳۷۸؛ Zare and Amini, 2012).

مواد گیاهی و اعمال تیمارهای تنفس: این تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور (دو گونه و چهار سطح تنفس خشکی) در قالب طرح کاملاً تصادفی (با سه تکرار و در هر تکرار سه نهال و در مجموع ۳۶ گلدان برای هر نوع نهال) اجرا شد. نهال‌های یکساله از مراکز تهیه نهال ایستگاه پیلمبرا در شهرستان رضوان شهر تهیه شد. نهال‌ها به گلدان‌های پلی-

جدول ۱- پارامترهای خاک

وزن مخصوص ظاهری	بافت خاک (%)			مقدار رطوبت وزنی خاک (%)		
	سیلت	شن	رس	ظرفیت زراعی	نقطه پژمردگی	مقدار رطوبت وزنی خاک (%)
۱/۴۵	۶۰	۲۷/۵	۱۲/۵	۹	۲۱	

رنگیزه‌های فتوسترزی: جهت اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسترزی، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ ساییده شده به ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی و اتمن شماره ۲ عبور داده شد. جذب نوری محلول صاف شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکترومتر مدل (PG Instruments Ltd T80+, Lichtenthaler) UV/ VIS خوانده گردید و محتوی کلروفیل a، b و کاروتینید مطابق رابطه‌های ۵ تا ۷ محاسبه شد (Arnon, 1967; Lichtenthaler 1987؛

رابطه ۵

$$Chl_a = [(12.7 \times A_{663}) - (2.69 \times A_{645})] \times \frac{V}{1000W}$$

رابطه ۶

$$Chl_b = [(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] \times \frac{V}{1000W}$$

رابطه ۷

$$Cartenoids = \frac{\frac{1000 \times A_{470} - 2.27 \times Chl_a - 91.4 \times Chl_b}{22}}{V} \times \frac{V}{1000W}$$

پروپرتو

ین: میزان پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) تعیین گردید. در این روش به نمونه برگ منجمد آسیاب شده با نیتروژن مایع سولفوسالیسیلیک اسید اضافه گردید. این مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول رویی و صاف شده به حمام آب گرم، واکنش در حضور یخ متوقف و تولوئن به مخلوط اضافه گردید. جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکترومتر خوانده گردید. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی جذب غلظت‌های پرولین استاندارد و با استفاده بر حسب میکرومول در گرم وزن تر نمونه با رابطه ۸ محاسبه شد.

رابطه ۸

$$prolin_{(\mu\text{mol/gFW})} = [(\mu\text{g prolin/ml}) \times (\text{ml toluene}/115)]/\text{g sample}$$

5

از هر تکرار یک نهال از خاک خارج شده و پس از شست-شوی خاک اطراف ریشه، به سه قسمت ریشه، ساقه و برگ جدا شدند. قبل از قراردادن در آون، وزن تر آنها اندازه‌گیری سپس با قراردادن در آون (دما ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱ تو زین و زیتوده‌های ریشه، ساقه و برگ تعیین شد. نسبت ریشه به شاخه (اندام هوایی) بر اساس نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (مجموع وزن برگ و ساقه) محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری سطح برگ از هر تیمار سه پایه انتخاب و از هر پایه سه برگ از بالاترین قسمت نهال (садاتی و همکاران، ۱۳۹۰) و با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج مدل Buble Etch Tank GCL ساخت آلمان اندازه‌گیری شد. از تقسیم سطح برگ بر کل وزن خشک برگ در هر گیاه، سطح ویژه برگ تعیین گردید (Wu et al., 2017).

محتوای نسبی آب برگ: ابتدا نمونه‌های برگ با آب مقطر شسته شده و با کاغذ صافی خشک شدند. ده دیسک برگی به قطر یک سانتی‌متر از هر برگ جدا و وزن آنها (وزن تر) یادداشت گردید. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل لوله آزمایش حاوی آب مقطر در داخل یخچال در دما ۴ درجه قرار گرفته سپس با کاغذ صافی خشک و با ترازوی دیجیتالی با دقت ده هزارم وزن شدند. وزن آamas یادداشت و سپس در داخل آون در دما ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و وزن آنها یادداشت شده (وزن خشک) (Toscano et al., 2016) محتوای نسبی آب برگ از رابطه ۴ تعیین گردید.

رابطه ۴

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

FW وزن تر، DW وزن خشک و TW وزن آamas برگ است.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر اصلی گونه و سطوح تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بررسی شد (ارتفاع و قطر یقه نهال‌ها) معنی دار بود. اثر متقابل گونه و تنش خشکی بر ارتفاع بی‌معنی اما میزان قطر یقه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). بررسی میانگین رشد نهال‌ها در سطوح تنش خشکی کاهش رشد در هر دو گونه را نشان داد.

تنش خشکی شدید باعث کاهش ارتفاع نهال‌های توسکا و افرا به ترتیب به میزان $41/8$ و $26/4$ درصد در مقایسه با شاهد شد. قطر یقه نهال‌ها نیز کاهش 40 و 25 درصدی را به ترتیب در گونه‌های توسکا و افرا در تنش شدید نسبت به شاهد نشان دادند (شکل ۱). تأثیر نوع گونه و اثر متقابل گونه و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر زیست‌توده نهال‌ها معنی دار بود. نسبت ریشه به شاخه در دو گونه تفاوت نشان داد، لیکن تنش خشکی و اثر متقابل گونه و تنش خشکی بر این پارامتر اثر معنی داری را نشان نداد (جدول ۲). کاهش زیست‌توده در تنش شدید در مقایسه با شاهد به ترتیب در گونه‌های توسکا و افرا در صفت زیست‌توده برگ $44/6$ و $46/2$ درصد، زیست‌توده ساقه $75/8$ و $40/6$ درصد و زیست‌توده ریشه $64/4$ و 61 درصد بود. نسبت ریشه به اندام هوایی به ترتیب در گونه‌های توسکا و افرا افزایش 53 و $3/4$ درصدی در تنش شدید نسبت به شاهد را نشان داد (شکل ۲).

همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اگر چه سطح برگ دو گونه تفاوت معنی داری نداشت، لیکن سطح ویژه برگ آنها تفاوت معنی دار داشتند. تنش خشکی و اثر متقابل گونه و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر این صفات معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میزان میانگین تغییرات سطح برگ به ترتیب کاهش $71/9$ و $83/6$ درصد در تنش شدید نسبت به شاهد را در افرا و توسکا نشان داد. در گونه توسکا، شاخص سطح ویژه برگ نهال‌ها روند کاهشی با افزایش شدت تنش را نشان دادند. مقدار کاهش این شاخص در تنش شدید نسبت به شاهد $49/6$ درصد بود. در گونه افرا، روند افزایش شاخص سطح ویژه برگ نهال‌ها با افزایش شدت تنش تا تنش

مالون‌دآلدئید (MDA): میزان پراکسیداسیون لیپیدها از طریق میزان مالون‌دآلدئید (MDA) ارزیابی شد. 100 میلی‌گرم بافت برگ در 2 میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید $0/1$ درصد (W/V) مخلوط شد و در 12000 گرم به مدت 15 دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس $0/5$ میلی‌لیتر فاز بالایی با $1/5$ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید 20 درصد (وزنی/حجمی) حاوی $0/5$ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) مخلوط و به مدت 90 دقیقه در دمای 90 درجه سانتی‌گراد گرم شد و به سرعت در یک حمام یخ خنک شد. سپس مخلوط در 10000 گرم به مدت 5 دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب مایع رویی در طول موج 532 و 600 نانومتر ثبت شد. غلظت مالون‌دآلدئید با ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد و به صورت nmol/g نشان داده شد (Chakhchar *et al.*, 2015).

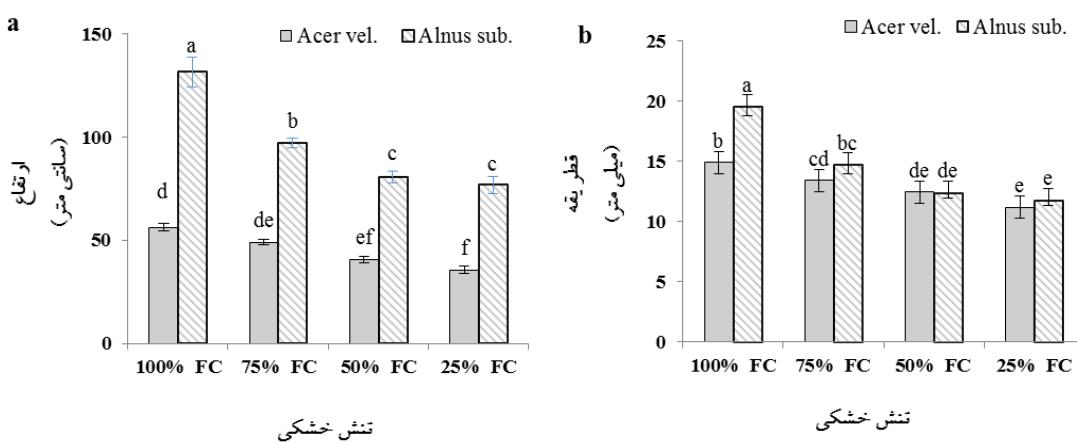
فعالیت‌های آنزیمی: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD 1.15.1.1) از طریق توانایی مهار کاهش فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فومازان توسط رادیکال‌های سوپراکسید ارزیابی شد. یک واحد SOD به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای ایجاد مهار 50 درصدی کاهش فتوشیمیایی Giannopolitis *et al.*, 1977 در 560 نانومتر در نظر گرفته شد (GPX) (EC 1.11.1.7). فعالیت پراکسیداز گایاکول (GAK) براساس روش گایاکول مورد سنجش قرار گرفت. GPX توسط پراکسید هیدروژن، گایاکول را به تراگوایاکول در 470 نانومتر کاتالیز می‌کند. میزان جذب به مدت 2 دقیقه خوانده شد (Plewa *et al.*, 1991).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده در محیط نرم‌افزار اکسل سازماندهی و نمودارهای مربوط ترسیم شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام گرفت. تجزیه واریانس به کمک رویه مدل‌های خطی انجام گردید. داده‌ها به صورت مدل فاکتوریل (دو گونه و چهار سطح تنش و سه تکرار) مورد ارزیابی قرار گرفتند. همگنی واریانس بین گروه‌ها با آزمون لون (Levene) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (در سطح احتمال پنج درصد) انجام شد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات ریخت‌شناسی نهال دو گونه افرا پلت و توسکا بیلارقی

منبع تغییر	آزادی	ارتفاع	قطر یقه	زیست‌توده برگ	زیست‌توده ساقه	زیست‌توده ریشه به شاخه	نسبت ریشه به برگ	سطح برگ	سطح ویژه برگ	میانگین مریعات	
										درجه	
گونه	۱			۶۲/۴۰ **	۲۴۶۰/۵۰ **	۳۳۷/۴۰ **	۰/۹۷ **	۱/۹۴۴ns	۹۷۲۶۴/۸۴ **		
تیمار خشکی	۳			۸۷۴/۸۴ **	۲۷۴/۸۵ **	۷۷۴/۹۴ **	۰/۰۵ ns	۱۳۵۰۸/۹۳ **	۸۷۹۳/۸۴ **		
گونه × تنش	۳			۱۰/۱۹ **	۲۸/۷۲ **	۱۰/۱۹ **	۰/۰۴۵ns	۷۷۷/۱۸ **	۱۱۵۰۷/۸۲ **		
خطا				۱۱/۶۲	۱۲/۸۷	۱۲/۸۷	۰/۰۱	۱۴۳/۸۵	۹۸۸/۴۸		
ضریب تغییرات				۱/۴۰	۱/۴۹	۱/۴۹	۰/۰۰۱	۱۶/۱۹	۱۵/۱۳		

ns: عدم معنی داری در سطح ۰/۰۵ و *: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱



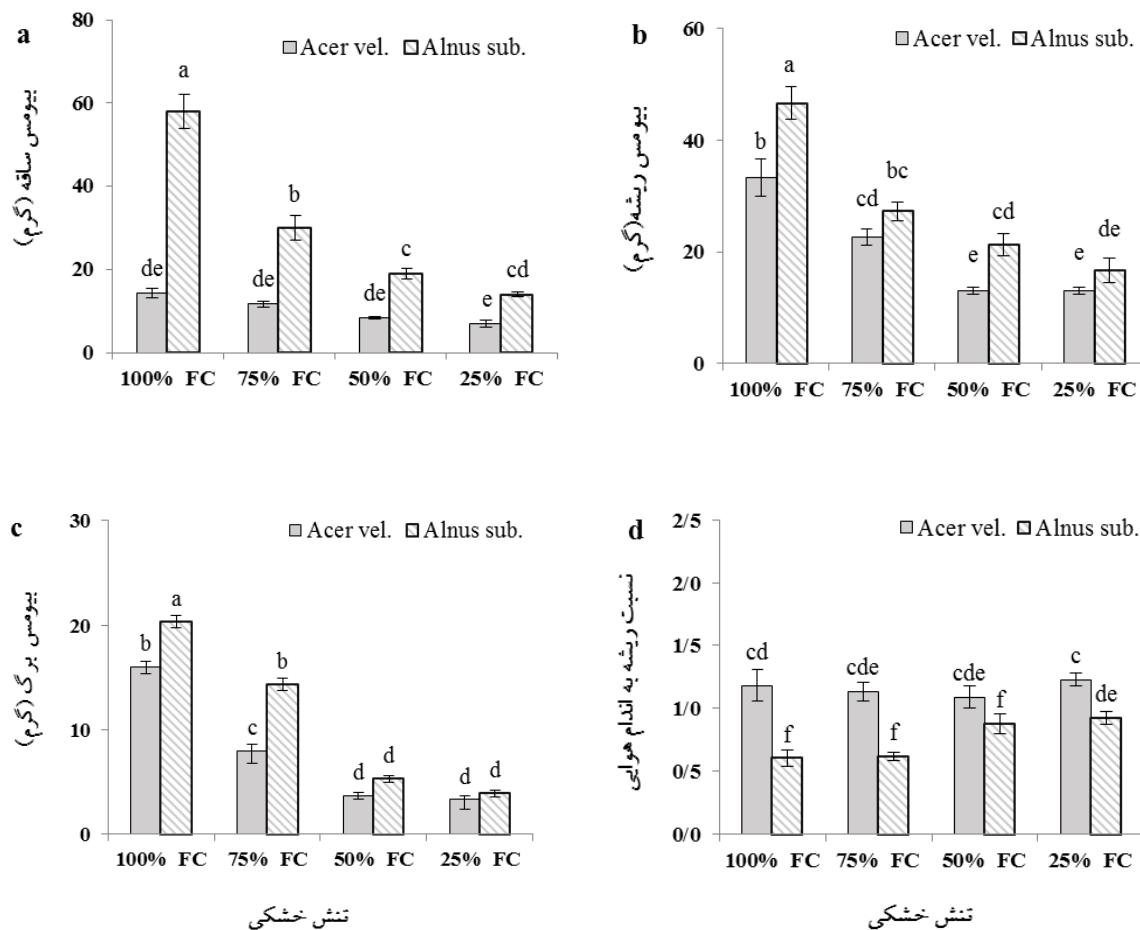
شکل ۱- مقایسه ارتفاع (a) و قطر یقه (b) در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای بیلارقی (حرف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون دانکن است).

نهال‌ها نشان داد که در گونه افرا گر چه روند افزایش کاروتونئیدها با افزایش سطح تنش مشاهد شد، لیکن از نظر آماری بین سطوح تنش تفاوت معنی داری وجود نداشت اما در گونه توسکا روند کاهش کاروتونئیدها با تفاوت آماری معنی داری بین سطوح تنش مشاهده شد (شکل ۴).

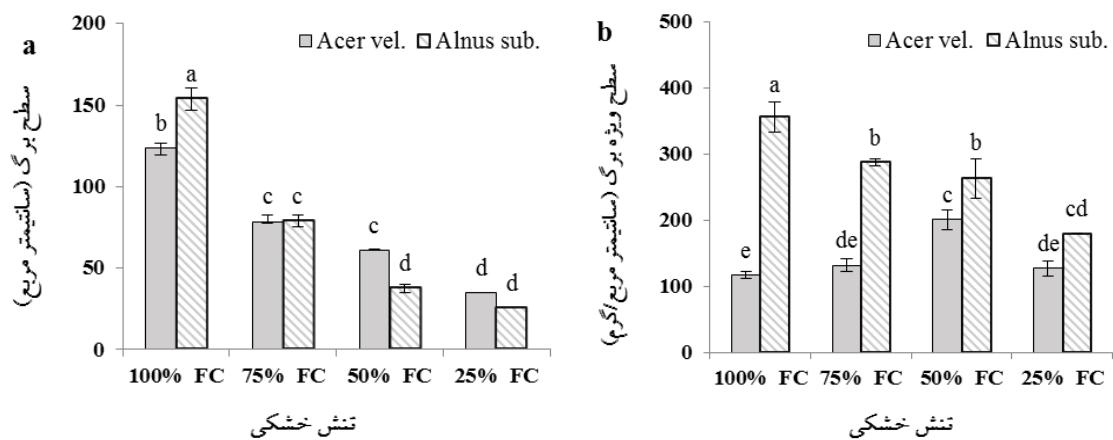
نتایج تحلیل واریانس نشان داد که بین گونه‌های مورد مطالعه از جهت محتوی نسبی آب برگ تفاوت وجود داشت. سطوح تنش خشکی نیز باعث تغییر محتوی نسبی آب برگ شد، اما اثر متقابل تنش خشکی و گونه بر محتوی نسبی آب برگ معنی دار نبود. افرا محتوی نسبی آب بالاتری را نسبت به توسکا تحت تنش حفظ کرد. میزان پرولین بین سطوح تنش

متوسط به میزان ۷۰/۹ ادامه یافت، اما در تنش شدید کاهش محسوس داشت (شکل ۳).

مطابق نتایج ارائه شده در جدول ۳ بین دو گونه و چهار سطح تنش خشکی از نظر میزان رنگیزه‌های فتوستتری تفاوت معنی دار وجود داشت. اثر متقابل تنش خشکی و گونه به غیر از پارامتر کلروفیل b بر مقدار رنگیزه‌ها مؤثر بود. مقایسه میانگین میزان رنگیزه‌های فتوستتری نشان داد که افرا سطح بیشتری از رنگیزه‌ها را تحت تنش خشکی حفظ کرد. کمترین میزان رنگیزه‌ها کل در گونه افرا در تنش شدید و در گونه توسکا در تنش متوسط و شدید (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین میزان کاروتونئیدهای برگ



شکل ۲ - تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای بیلاقی. بیومس ساقه (a)، بیومس ریشه (b)، بیومس برگ (c) و نسبت ریشه به اندام هوایی (d) (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطوح متناظر با آزمون دانکن است).



شکل ۳ - تغییرات سطح برگ (a) و سطح ریشه برگ (b) برگ در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای بیلاقی (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطوح متناظر با آزمون دانکن است).

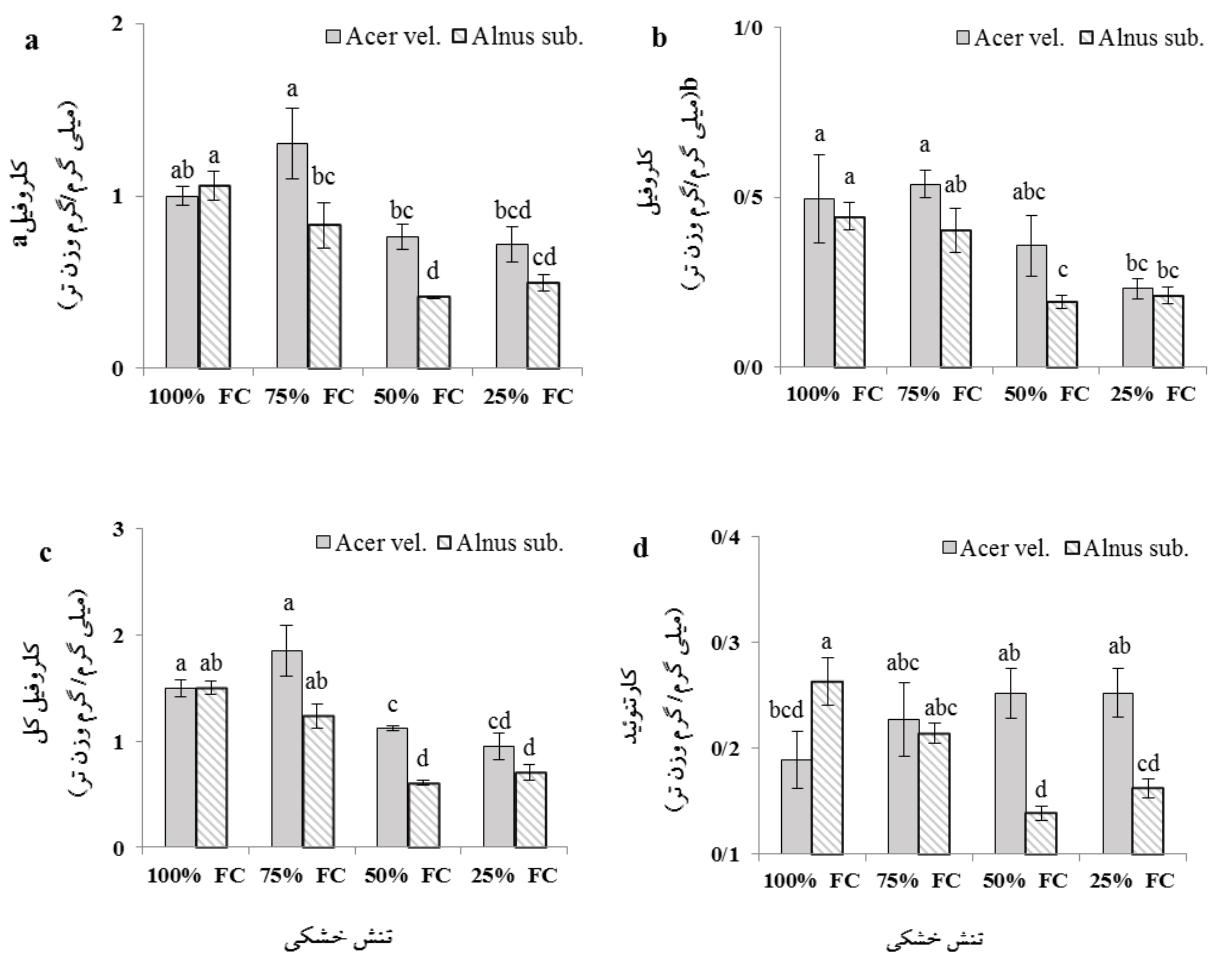
میزان پرولین مؤثر بود، لیکن بین گونه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در هر دو گونه روند افزایش پرولین با

تفاوت معنی‌دار آماری را نشان داد. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و گونه نیز به طور معنی‌داری در سطح یک درصد بر

جدول ۳- تجزیه واریاتس اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک نهال دو گونه افرا پلت و توسکا بیلاقی

میانگین مربعات									منبع تغییرات	آزادی	درجه
سوپر اکسید پراکسیداز دیسموتاز	مالون دآلدئید	پرولین	محتوی نسبی آب	کاروتونوئید	کاروفیل a+b	کاروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل b			
۱۲۳۶/۳۹**	۵۸۸۸/۴۷**	۳۵/۸۶*	۰/۰۹ns	۳۸۴/۸۰**	۰/۰۰۸*	۰/۰۵**	۰/۰۶*	۰/۳۷**	۱	گونه	
۵۸۵/۴۰**	۲۳۸۶/۲۶**	۶۵/۷۵**	۲/۸۵**	۶۳۹/۶۰**	۰/۰۰۱**	۰/۹۱۱	۰/۰۹**	۰/۴۱**	۳	تیمار خشکی	
۱۹۰/۹۳*	۱۰۸۰/۰۹**	۷/۱۶ns	۰/۳۷**	۵۳/۹۶ns	۰/۰۱۱**	۰/۱۱۷**	۰/۰۱ns	۰/۰۷**	۳	گونه × تنش	
۳۰/۳۳	۸۵/۷۰	۴/۲۴	۰/۰۶	۲۷/۶۸	۰/۰۰۱	۰/۰۳۸	۰/۰۱	۰/۰۳		خطا	
۴/۴۷	۲۷/۲	۱۸/۰۴	۱۴/۴۰	۸/۲۹	۱۴/۹۱	۱۶/۴۷	۲۷/۷	۲۱/۱		ضریب تغییرات	

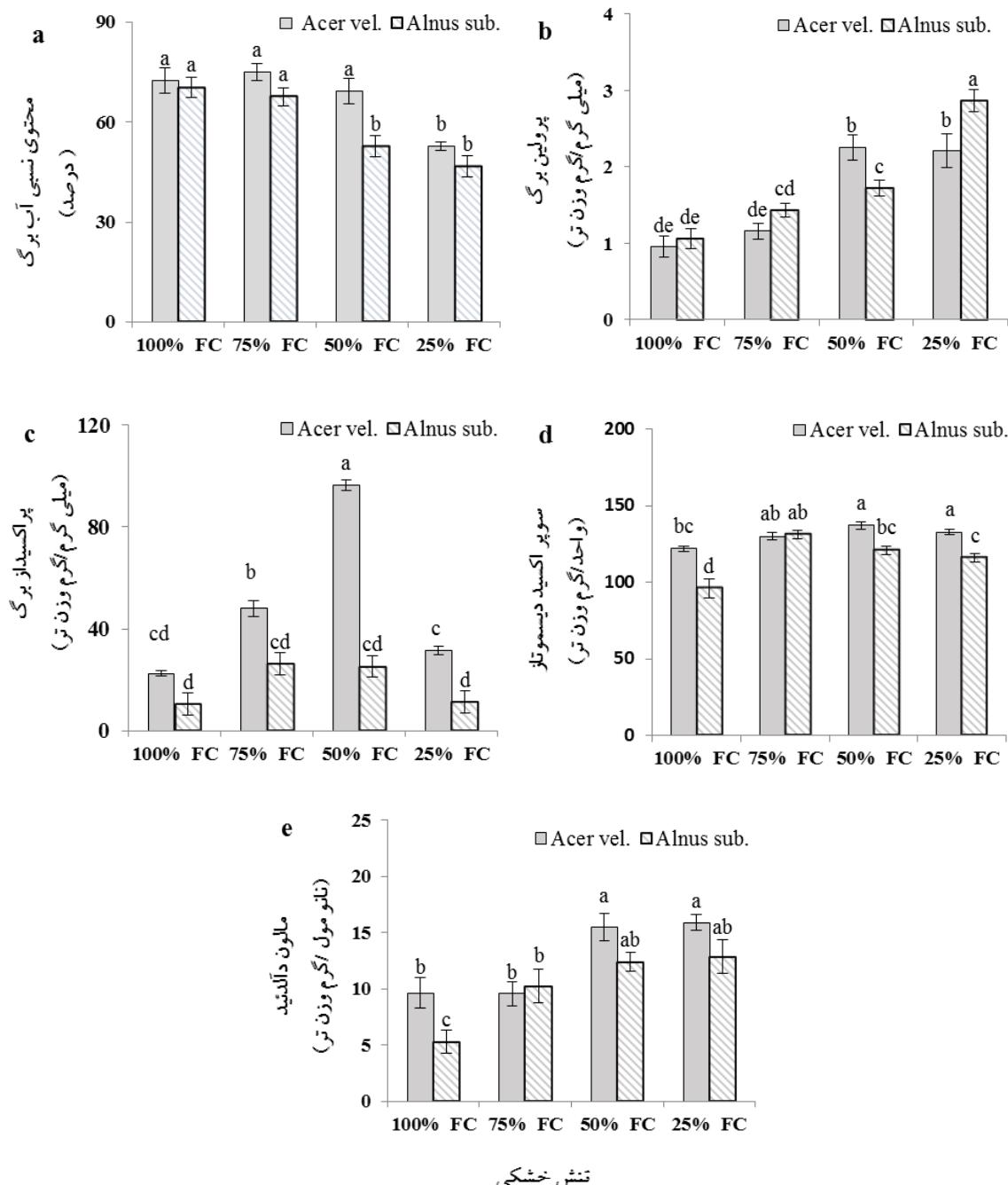
**: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱، *: اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ns: عدم معنی‌داری



شکل ۴- مقایسه تغییرات رنگیزه‌های فتوستتری در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکا بیلاقی. کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، کلروفیل کل (c) و کارتونوئیدها (d)

یکدیگر نداشتند، اما بالاترین مقدار غلظت پرولین در گونه توسکا در تنش شدید مشاهده شد (جدول ۳ و شکل b و ۵a).

افزایش سطوح تنش مشاهد شد. در گونه افرا تنش متوسط و شدید (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) تفاوت معنی‌داری با



شکل ۵- مقایسه تغییرات صفات فیزیولوژیکی در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای بیلاقی. محتوی نسبی آب برگ (a)، پرولین برگ (b)، پراکسیداز (c)، سوپر اکسید دیسموتاز (d) و مالون دالدیید (e).

با افزایش شدت تنش، میزان مالون دالدیید افزایش یافته و بالاترین سطح شاخص در تنش متوسط و شدید مشاهده شد. گرچه سطح مالون دالدیید در گونه افرا بیشتر از توسکا بود، لیکن درصد افزایش شاخص از شاهد تا تنش شدید در توسکا بیشتر از افرا بود. مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

مطابق نتایج ارائه شده جدول ۳ بین گونه های مورد مطالعه و سطوح تنش از نظر میزان محتوی مالون دالدیید و فعالیت های آنزیمی تفاوت وجود داشت. اثر متقابل تنش خشکی و گونه بر فعالیت های آنزیمی مؤثر اما بر میزان محتوی مالون دالدیید معنی دار نبود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو گونه

نهال‌های *Vitex negundo* به دلیل اینکه تأمین مواد غذایی با دسترسی به رطوبت خاک مرتبط بوده و در مدت زمان کوتاهی بروز می‌کند، قابل انتظار بود. محققان اذعان داشتند که ممانعت از رشد درنهایت با کاهش زیست‌توده بروز می‌کند. به عقیده Tariq و همکاران (۲۰۱۸) کاهش میزان رشد و زیست‌توده در گونه *Alnus cremastogynne* که با کاهش میزان سطح برگ و قطر یقه نمود یافته است، ممکن است بخشی از استراتژی اجتناب از خشکی نهال‌های این گونه باشد. تحت شرایط خشکی، آب یک منبع محدود‌کننده است و بسیاری از گونه‌ها جذب آب را از طریق دادن سهم بیشتر به زیست‌توده ریشه افزایش می‌دهند (Wu et al., 2017). در نهال‌های *Jatropha curcas* میزان افت زیست‌توده برگ‌ها بیشتر از ریشه‌ها بوده و این موضوع موجب اضافه‌شدن نسبت ریشه به اندام‌هوای شده است. همچنین انتقال محصولات فتوستتری به ریشه به جای *Diaz-* (اندام‌هوای مکانیسم سازشی کاهش سطح تبخیر است) (Lopez et al., 2012) به عقیده Silva و همکاران (۲۰۱۰) افزایش خفیف و غیرمعنی دار نسبت ریشه به اندام‌هوای در گونه *Erythrina velutina* (گونه چوبی پهن‌برگ خزان‌کننده) به دلیل آن است که این گونه جذب کردن را در شرایط تنفس مشابه با شرایط دسترسی به آب کافی انجام می‌دهد.

تغییرات شاخص سطح برگ نشان داد که هر دو گونه مورد مطالعه در اثر تنفس خشکی سطح برگ‌هایشان را کاهش داده‌اند. به عقیده Bangar و همکاران، (۲۰۱۹) خشکی به علت ایجاد اخلال در فرایندهای تقسیم و توسعه سلولی درنهایت منجر به افت فشار توربوزانس شده و عامل کاهش نرخ رشد، منجر به افت جذب آب می‌شود. در گونه *Acer davidi* تنفس ارتفاع و سطح برگ خواهد شد. در گونه *Vitex negundo* در خشکی سبب کاهش سطح برگ و درنتیجه کاهش چشمگیر در تعرق شده است (Guo et al., 2019). بررسی تغییرات میزان شاخص سطح ویژه برگ در گونه‌های مورد مطالعه نشان داد که در گونه توسکا با افزایش شدت تنفس خشکی مقدار شاخص افت کرده و در تنفس شدید به پایین‌ترین سطح می‌رسد، اما در گونه افرا با افزایش میزان تنفس از خفیف تا متوسط روند صعودی شاخص مشاهده گردید، در حالی‌که در تنفس شدید

و سوپراکسید دی‌سی‌متواز نشان داد که گونه توسکا فعالیت آنزیمی کمتری را در سطوح تنفس نسبت به افرا داشت و بالاترین سطح فعالیت آنزیم در گونه افرا در تنفس متوسط و در گونه توسکا در تیمار تنفس خفیف مشاهده شد (شکل e و d).

بحث

براساس طرح‌های پیش‌بینی تغییر اقلیم جهانی، هم شدت و هم وفور خشکی ناشی از تغییر اقلیم در قرن حاضر افزایش خواهد داشت. خشکی منجر به بروز عوامل تنفس‌زای فیزیولوژیکی عظیمی خواهد شد که بر رشد، توزیع، فرایندهای فیزیولوژیکی و سهم‌بندی انرژی در گیاهان مؤثرند (Du et al., 2019). پاسخ‌های سازشی در ریخت‌شناسی می‌تواند مکانیسم اولیه گونه‌ها جهت کنار آمدن با ویژگی‌های محیط‌زیستی زیستگاه‌هایشان هستند (Wu et al., 2008). پاسخ ریخت‌شناسی اولیه به تنفس خشکی، مکانیسم اجتناب از طریق تنظیم رشد گیاه مانند کاهش اندام‌هوای، قطر یقه و زیست‌توده است (Lei et al., 2006). خشکی موجب کاهش صفات رشد از جمله ارتفاع، قطر یقه و سطح تاج‌پوشش می‌گردد (Guo et al., 2019). بررسی تغییرات رشد نهال‌ها (کاهش ارتفاع و قطر یقه) به موازات افزایش شدت تنفس نشان‌گر درصد افت بیشتر در نهال‌های توسکا نسبت به افرا را نشان داد. میزان درصد افت زیست‌توده برگ و ریشه دو گونه مشابه، لیکن گونه توسکا افت زیست‌توده ساقه بیشتری را نشان داد. همچنین نسبت ریشه به اندام‌هوای در گونه توسکا افزایش محسوس و قابل توجه ولی در گونه افرا افزایش بسیار جزئی را نشان داد.

به منظور کاهش مصرف و افزایش جذب آب، گیاهان در محیط خشک اغلب نرخ رشد و میزان تولید زیست‌توده را کاهش و زیست‌توده بیشتری به ریشه اختصاص داده و نسبت ریشه به اندام‌هوای را افزایش می‌دهند (Wu et al., 2008). به عقیده Du و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی‌دار در پارامترهای ارتفاع، تاج‌پوشش و قطر یقه با شروع تنفس خشکی در

حفظ رطوبت نسبی تقریباً بالا درتنش خشکی شاخص تحمل خشکی بیان شده است (Ying *et al.*, 2015; Toscano *et al.*, 2016). نتایج بررسی محتوی نسبی آب گونه‌های مورد مطالعه ۲۰۱۶ نشان داد که هر دو گونه افت میزان آب برگ را نشان دادند. این میزان افت در تنش شدید نسبت به تیمار شاهد در دو گونه مشابه و اما در تیمار تنش متوسط در گونه افرا ناچیز و در گونه توسکا قابل توجه بود. Ying و همکاران (۲۰۱۵) در مقایسه دو *Camptotheca acuminata* در تیمارهای تنش خشکی شدید و متوسط دریافتند که در هر دو جمعیت میزان محتوی نسبی آب برگ کاهش یافته، لیکن میزان افت در تنش شدید و متوسط در جمعیت منطقه خشکتر کمتر بوده است. به عقیده نویسنده‌گان این موضوع نشانگر تحمل بیشتر این جمعیت بوده و با شرایط طبیعی رشد گونه مطابقت دارد. بررسی میزان تغییرات محتوی نسبی آب برگ در دو گونه از سیب، یک گونه با تحمل خشکی (*Malus prunifolia*) و دیگری حساس به خشکی (*Malus hupehensis*) در مواجه با خشکی نشان داد که با توجه به درصد افت کمتر در گونه مقاوم نسبت به گونه حساس گونه مقاوم ظرفیت بیشتری جهت حفظ آب تحت تنش داراست (Wang *et al.*, 2012).

برگ‌ها احتمالاً تحت تنش خشکی سبزینگی خود را از به‌علت جلوگیری از بیوسنتر رنگیزه‌های سبز در گیاهان در حال رشد و تخریب کلروفیل ازدست می‌دهند. کمبود آب منجر به شکستن ساختارهای کلروفیل شده و کاهش احتمالی آن در اثر تنش اکسیداتیو (افزایش رادیکال‌های آزاد و سایر گونه‌های فعال اکسیژن) ایجاد می‌شود (Zaefyzadeh *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2015; Ghaffari *et al.*, 2019). حفظ کلروفیل و عدم تخریب و تجزیه آن (کلروفیلаз) در طی تنش خشکی نشان‌دهنده مقاومت گونه به تنش است (زرافشار و همکاران، ۱۳۹۵). در گونه‌های مورد مطالعه با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b کاهش نشان داد. میزان کاهش کلروفیل کل و کلروفیل a در گونه توسکا بیشتر از افرا و میزان افت کلروفیل b دو گونه تفاوتی نشان

میزان شاخص افت کرده است. شاخص سطح ویژه برگ نهال‌های *Jatropha curcas* در تنش شدید و بسیار شدید نسبت به شاهد افزایش داشت (Diaz-Lopez *et al.*, 2012). در گونه *Vitex negundo* گرچه تغییرات افزایشی در سطح ویژه برگ طی تنش خشکی مشاهده شد، اما این تغییرات معنی‌دار نبودند (Du *et al.*, 2010). سطح ویژه برگ نهال‌های ارغوان در سطح تنش خفیف و متوسط افزایش، اما در تیمار تنش شدید کاهش نشان داد. دلیل افزایش سطح برگ در این سطوح از تنش، کاهش وزن خشک و نازکشدن نهال‌ها عنوان شد (نوروزی‌هارونی و همکاران، ۱۳۹۴). نسبت وزن به سطح برگ (LMA) با شاخص سطح ویژه برگ نسبت عکس داشته و گونه با شاخص سطح ویژه برگ کمتر، پهنک برگی ضخیم‌تر یا بافت متراکم‌تر یا هر دو ویژگی را داراست (Du *et al.*, 2010). افزایش شاخص سطح ویژه برگ در گونه افرا در تنش خفیف و متوسط می‌تواند بیانگر توانایی مقابله با تنش این گونه در این سطوح از تنش باشد. سطح ویژه بالای برگ می‌تواند کارایی ساختاری سطح برگ را از طریق جبران کاهش کربن تخصیص یافته به برگ‌ها افزایش دهد (Barros *et al.*, 2020). کاهش *Sophora davidii* استراتژی اجتناب از خشکی برای کاهش تعرق عنوان شد (Wu *et al.*, 2008). همچنین کاهش سطح برگ در گونه سنجد تلخ (آهنی و همکاران، ۱۳۹۶) و گونه اقاقيا (نوروزی‌هارونی و کوچک سرانی، ۱۳۹۵) گزارش شده است. کاهش سطح ویژه برگ و اسکلروفیلی‌شدن بیشتر به عنوان تغییرات سازشی تحت تنش خشکی تلقی شده است، زیرا برگ ضخیم‌تر کارایی مصرف آب را بهبود بخشیده و جهت اجتناب از هدر رفت آب سودمند است (Du *et al.*, 2010). بنابراین گونه توسکا در تمام سطوح تنش و گونه افرا در تنش شدید با کاهش سطح ویژه برگ موجب جلوگیری و هدررفت بیشتر آب گیاه شده‌اند.

رطوبت نسبی آب برگ شاخص کلیدی درجه هیدراته شدن سلول و بافت بوده که برای عملکردهای فیزیولوژیک بهینه و فرایندهای رشد حیاتی است. در بسیاری از مطالعات،

شدن آنژیم‌ها می‌کاهد. این اقدامات آسیب‌های حاصله از دهیدراته شدن را کاهش خواهد داد (Li *et al.*, 2008). افزایش مقدار غلظت پرولین در گونه‌های مورد مطالعه با روند افزایش تنش خشکی مشابه با نتایج گزارش شده سایر گونه‌ها در مقابل تنش خشکی همخوانی داشت. بیشترین درصد افزایش پرولین نسبت به تیمار شاهد در تنش شدید در گونه توسکا و در تنش متوسط در گونه افرا مشاهده شد، گرچه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین دو گونه وجود نداشت. به عقیده Ge و همکاران (۲۰۱۴) گرچه تجمع پرولین در ارتباط با تنظیم اسمزی در گونه‌های با تحمل خشکی مشاهده شده است، این شاخص می‌تواند، همچنین در ارقام حساس به خشکی نارگیل و کاساوا نیز تجمع یابد. آنها بر این اساس اذعان داشتند که پرولین توانایی محدودی در تنظیم اسمزی سلول در این سطوح از تنش را دارند. مقایسه میزان افزایش پرولین در دو گونه حساس (*Quercus robur*) و مقاوم به خشکی (*Quercus cerris*) نشان داد که هر دو گونه تجمع پرولین خود را افزایش داده، لیکن گونه حساس تجمع پرولین بیشتری را در تنش شدید نسبت به شاهد نشان داد (Deligoz and Bayar, 2018) و Oba and Sarker (2018) در بررسی مقاومت به خشکی دو واریته از گونه *Amarantus tricolor* افزایش میزان پرولین در هر دو واریته را گزارش کردند. این افزایش در واریته حساس به تنش خشکی بیشتر بود. بر این اساس نویسنده‌گان اذعان داشتند که پرولین نقش معنی‌داری در مکانیسم‌های مقاومت به خشکی گونه مورد مطالعه ندارد. افزایش بیشتر پرولین در تنش متوسط در گونه افرا نسبت به توسکا می‌تواند نشانگر توانایی بیشتر این گونه در این سطح از تیمار تنش جهت کاهش پتانسیل اسمزی و درنهایت تنظیم اسمزی باشد. به عقیده Wu و همکاران (۲۰۱۳) افزایش میزان اسمولیت‌هایی مانند پرولین و قند محلول در تیمارهای تنش ۶۰ و ۸۰٪ ظرفیت زراعی در مقایسه با تیمار ۲۰ و ۴۰٪ در گونه *Quercus variabilis* مؤید توان گیاه در حفظ متوازن آب در این سطوح از تنش باشد، چرا که در سطوح تنش شدید

نداد. بنابر مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۵) غلظت‌های نسبی کلروفیل در سه رقم افرای قرمز (*Acer rubrum*) به موازات پیشرفت تنش، کاهش و با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار را نشان داد. افزایش کاروتنوئید به عنوان آنتی‌اکسیدانت غیرآنژیمی در تنش خشکی بهدلیل مقابله با رادیکال‌های آزاد توجیه‌پذیر است (Fevani و همکاران، ۱۳۹۴). افزایش معنی‌دار کاروتنوئیدها در جهت کمک به جاروکردن گونه‌های فعال اکسیژن و نقش آنتی‌اکسیدانی آن مرتبط است (Zrafshar و همکاران، ۱۳۹۵). به عقیده Ge و همکاران (۲۰۱۴) علت افزایش اولیه خفیف میزان کاروتنوئیدها در گونه *Phoebe bournei* تحت تیمار تنش مداوم تا ۱۰ روز و سپس افت شدید آن بهدلیل است که کاروتنوئیدها به طور جزئی می‌توانند به گیاهان در برابر تنش خشکی کمک کنند و این ترکیبات به تخریب اکسیداتیو بسیار حساس هستند. همچنین بنابر نظر Medeiros و همکاران (۲۰۱۲) علیرغم تخریب رنگیزهای رنگیزهای اکسیداتیو که پدیدهای رایج در برابر تنش آبی است، گیاهان آنتی‌اکسیدان-هایی را از جمله (کاروتنوئیدها، آسکوربیات، آلفا توکوفرول، گلوتاٹیون و فلاونوئید) تولید می‌کنند. بنابراین در شرایطی که کاهش کلروفیل با کاهش کاروتنوئیدها همراه نباشد دال بر تلاش احتمالی برای به حداقل رساندن آسیب‌های سیستم‌های روند کاهش معنی‌دار میزان کاروتنوئید در گونه توسکا و افزایش غیرمعنی‌دار در گونه افرا مشاهده شد. بر این اساس می‌توان اذعان نمود که روند افزایشی خفیف در میزان کاروتنوئیدها در گونه افرا نشان می‌دهد که احتمالاً این گونه نسبت به گونه دیگر توانایی مقابله به خشکی بیشتری را دارد.

گیاهان مقاومت به تنش را به‌وسیله تجمع مقدار قابل توجه از پرولین آزاد، پروتئین محلول و قند محلول افزایش داده تا غلظت شیره سلولی را بهبود داده که این موضوع می‌تواند تورژسانس سلولی را حفظ کرده و از هدررفت بیش از حد پلاسمای جلوگیری می‌کند (Guo *et al.*, 2018). پرولین ساختار غشا و پروتئین را از آسیب حفظ کرده و از دناتوره

Quercus variabilis در تنش شدید در طول دوره آزمایش کاهش ولی سایر تیمارها افزایش نشان دادند. به عقیده نویسنده‌گان، افزایش فعالیت آنزیم‌ها در تیمارهای تنش کم تا متوسط بیانگر آنست که این تیمارها توانسته‌اند کارایی بیشتری در کاهش آسیب اکسیداتیو و سمیت سلولی ایجاد کنند. در این آزمایش نیز سطح فعالیت هر دو آنزیم آنتی‌اکسیدانی در تیمار تنش متوسط و خفیف افزایش نشان داد. به عقیده Abid و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی میزان مقاومت دو رقم گندم، طی دوره تنش، سطح آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز فوراً افزایش یافته، اما به موازات افزایش دوره تنش کاهش نشان می‌دهد. این موضوع ممکن است به این دلیل باشد که عموماً جاروب‌کننده‌های گونه‌های فعال اکسیژن محلول در آب بوده و در طی فرایند سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن یا به صورت خود اکسیدشوندگی، تخریب شوند. سلول ظرفیت محدودی جهت سنتر مجدد جاروب‌کننده‌های تخریب شده یا اکسیدشده در طول دوره تنش طولانی دارا است. این موضوع می‌تواند با کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش شدید در گونه‌های مورد مطالعه همخوانی داشته باشد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر تنش خشکی فصلی بر برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی نهال‌های دو گونه مورد استفاده در جنگل‌کاری‌های شمال ایران بررسی شده است. نتایج نشان داد که هر دو گونه ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی خود را در پاسخ به تنش خشکی تغییر دادند. گونه افرا افت کمتری را در ارتفاع، قطر یقه و زیست‌توده اندام‌ها به موازات کاهش آب در دسترس نشان داد. گونه توسکا نسبت ریشه به اندام هوایی بیشتری در تیمارهای تنش نسبت به گونه افرا نشان داد. سطح ویژه برگ با افزایش شدت تنش خشکی در گونه افرا افزایش، لیکن در گونه توسکا کاهش یافت. همچنین گونه افرا سطح رنگیزه‌های فتوستترزی و محتوای آب برگ بیشتری را طی تنش حفظ کرد. میزان مالون‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو گونه با افزایش شدت تنش افزایش نشان

به علت آسیب اکسیداتیو میزان تجمع اسмолیت‌ها کاهش خواهد یافت.

در تحقیق حاضر میزان مالون‌آلدئید با افزایش شدت تنش افزایش نشان داد و میزان آن در تنش شدید در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب در گونه‌های توسکا و افرا ۱۴۲/۷۲ و ۶۹/۷۹ درصد افزایش نشان داد. بررسی مقایسه روند افزایش میزان مالون‌آلدئید از تیمار شاهد تا تنش شدید نشان داد که در گونه افرا تیمارهای تنش متوسط و شدید و در گونه توسکا از تیمار تنش خفیف شبی افزایش محتوى مالون‌آلدئید مشاهده می‌گردد (شکل ۵). افزایش بیشتر میزان مالون‌آلدئید تحت *Malus hupehensis* نسبت به گونه حساس به خشکی Wang et al., (2012)، افزایش کمتر میزان مالون‌آلدئید در برگ‌های جمعیت منطقه خشک‌تر نسبت به جمعیت منطقه مرطوب در گونه Ying et al., (2015) *Camptotheca acuminata* افزایش کمتر این شاخص در تیمار ۶۰٪ ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار ۴۰ و ۲۰٪ در گونه *Quercus variabilis* Wu et al., (2013) بیانگر آنست که غلاظت مالون‌آلدئید با تنش رابطه مستقیم دارد و با نتایج مطالعه حاصل همخوانی دارد.

در هر دو گونه مورد مطالعه با افزایش شدت تنش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش نشان داد. بررسی درصد افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای تنش نسبت به تیمار کترنل نشان داد که بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم در گونه افرا در تیمار تنش متوسط به میزان ۱۳۱/۰۷ و در گونه توسکا در تیمار تنش خفیف ۱۳۷/۰۷ مشاهده شد. این میزان افزایش فعالیت نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۱۲ و ۳۶ درصد افزایش را در گونه‌های افرا و توسکا نشان داد (شکل ۵c). بیشترین درصد فعالیت آنزیم پراکسیداز در گونه افرا در تیمار تنش متوسط و خفیف به ترتیب با افزایش به میزان ۳۲۷ و ۱۱۳ درصد نسبت به تیمار شاهد و در گونه توسکا در تیمار تنش متوسط و خفیف با افزایش به ترتیب به میزان ۱۴۰ و ۱۴۸ درصد مشاهده شد (شکل ۵d). بنابر مطالعه Wu و همکاران (۲۰۱۳) فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گونه

چند دوره رویشی، مطالعات تكمیلی در عرصه‌های جنگل کاری بر روی درختان بالغ (بدون محدودیت رشد و نمو ریشه) و نهال‌ها در پاسخ به عوامل اکولوژیکی چندگانه پیشنهاد می‌گردد.

داد. گونه توسکا در صد افزایش بیشتر محتوى مalononadaldehid در تنش شدید و گونه افرا سطح آنزیمی بالاتری را در تیمار تنش متوسط و خفیف نشان داد. بر این اساس، بهنظر می‌رسد که گونه افرا، مکانیسم پاسخ بهتری را به تنش نشان داده است. جهت سنجش و مقایسه کامل‌تر پاسخ گونه‌های مورد مطالعه به تنش خشکی، انجام مطالعات در بازه‌های زمانی چندساله یا

منابع

- اسدی، م. (۱۳۶۷-۱۳۹۰) فلور ایران شماره ۷۳-۱. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراعت کشور. اسلامی، ع.، ناصری، ب. و خزایی، ج. (۱۳۹۵) بررسی ویژگی‌های فیزیکی و فیزیولوژیکی بذر گونه توسکا ییلاقی در شرایط متفاوت اکولوژیکی (مطالعه موردی: طرح جنگلداری گلیند نوشهر- مازندران). پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران) ۱۹: ۴۸۳-۴۷۵.
- اصغرپور، ا.، آزادفر، د. و سعیدی، ز. (۱۳۹۶) ارزیابی تحمل به خشکی نهال‌های افراشیردار (*Acer cappadocicum* Gled.). پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران) ۳۰: ۱۱-۱.
- آقاجانی، ح.، مروی مهاجر، م. ر.، آصف، م. ر. و شیروانی، ا. (۱۳۹۳) بررسی فراوانی قارچ‌های ماکروسکوپی عامل پوسیدگی چوب روی درختان ممرز (*Carpinus betulus* L.) (مطالعه موردی: جنگل خیروود نوشهر). تحقیقات حمایت و حفاظت جنگل‌ها و مراعت ایران ۱۲: ۶۵-۵۵.
- آهنی، ح.، جلیلوند، ح.، واعظی، ج. و ساداتی، ا. (۱۳۹۶) تأثیر تنش خشکی روی ریخت‌شناسی نهال سنجد تلخ (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) حفاظت زیست‌بوم گیاهان ۵: ۲۰۴-۱۹۱.
- بور، ز.، پاراد، ق. ع.، حسینی، س. م. و قنبری، ا. (۱۴۰۰) پاسخ‌های ریختی، فیزیولوژیکی و آنزیمی نهال‌های توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) نسبت به تنش کم‌آبی با تلقیح قارچ میکوریز ریزوفاگوس ایریگولاریس (*Rhizophagus irregularis*). فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۶: ۹۳-۸۰.
- ثابتی، ح. ا. (۱۳۵۵) جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران. دانشگاه یزد.
- ثاقب طالبی، خ. (۱۳۷۸) نیاز رویشگاهی و نحوه زیست گونه افرا پلت ("Acer velutinum" Boiss.) در جنگل خیروودکنار نوشهر. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۲: ۱۵۰-۷۹.
- جعفری، م. (۱۳۸۷) تحقیق و تحلیل عوامل تغییر اقلیم طی پنجاه سال گذشته در جنگل‌های منطقه خزری. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۶: ۳۲۶-۳۱۴.
- جهانبازی گوجانی، ح.، حسینی‌نصر، س. م.، ثاقب طالبی، خ. و حجتی، س. م. (۱۳۹۲) تأثیر تنش خشکی فراهم‌شده توسط ارتفاع از سطح دریا، بر چهار گونه بادام و حشی. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۲۱: ۳۸۶-۳۷۳.
- حسنی، م.، اسلامی، ع. و هادی‌زاده مرجانی، غ. (۱۳۹۵) بررسی تأثیر تنک‌کردن در توده‌های جوان دست کاشت افرا پلت ("Acer velutinum" Boiss.) بر خصوصیات کمی و کیفی درختان آینده (مطالعه موردی: آمل- هلوسر)، پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران) ۲۹: ۳۵۱-۳۳۹.
- ذوقی، ز.، حسینی، س. م.، طبری‌کوچک سرایی، م. و کوچ، ی. (۱۳۹۸) اثر افزودن پرلیت در خاک بر برخی ویژگی‌های رشد و فیزیولوژی نهال‌های بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C.A.M.). تحت تنش کم‌آبی. فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۴: ۱۲-۱.

- روکی، م.، طبری کوچک سرایی، م. و ساداتی، س. (۱۳۹۸) تأثیر باکتری سودوموناس فلورسنس در بهبود صفات ریختی نهال زربین تحت تنش کم آبی. جنگل و فرآوردهای چوب (منابع طبیعی ایران) ۷۲: ۲۱۳-۲۰۵.
- زرافشار، م.، اکبری نیا، م.، حسینی، س. م. و رهایی، م. (۱۳۹۵) ارزیابی مقاومت به خشکی در گلبای جنگلی (*Pyrus boisseriana*) (Buhse). جنگل و فرآوردهای چوب ۶۹: ۱۱۰-۹۷.
- садاتی، س.، طبری کوچک سرایی، م.، عصاره، م.، حیدری شریف آباد، ح. و فیاض، پ. (۱۳۹۰) واکنش نهال سفیدپلت (*Populus caspica* Bornm.) به تنش غرقابی. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۹: ۳۴۰-۳۵۵.
- شیربانی، س.، و داوری نژاد، غ. و شور، م. (۱۳۹۱) بررسی خصوصیات روزنهای انجیر خوارکی تحت شرایط تنش خشکی. مجله علوم باگبانی ایران (علوم کشاوری ایران) ۴۳: ۱۲۵-۱۳۳.
- طلالی، ح.، جلالی، س. غ.، علوی، س. ج.، حسینی، س. م. و نعیمی، ب. (۱۳۹۷) اثر تغییر اقلیم بر پراکنش جغرافیایی بالقوه گونه راش شرقی (*Fagus orientalis*) در جنگل‌های هیرکانی ایران. مجله جنگل ایران ۱۰: ۲۵۱-۲۶۶.
- عبداللهی، ا.، علی‌عرب، ع.، پرهیزکار، پ. و پورملکشاه، ع. م. (۱۳۹۶) اثر اندازه و موقعیت‌های داخلی روشنیه تاج بر رشد و زندمانی نهال‌های بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.)، شیردار (*Acer cappadocicum* Gled.) و توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.). تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۲۵: ۲۸۵-۲۷۵.
- عطارد، پ.، خیرخواه، ف.، خلیقی سیگارودی، ش.، صادقی، س. م.، دولت‌شاهی، آ. و بایرامزاده، و. (۱۳۹۶) تحلیل روند تغییرات درازمدت پارامترهای اقلیمی و تبخیر تعرق در ناحیه خزری. جنگل ایران ۹: ۱۸۵-۱۷۱.
- فروزان سوتگوابری، ر.، احمدی، م.، اعتماد و. و سعیدی، ح. (۱۳۸۸) بررسی کمی و کیفی توده دست کاشت توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata*) ۱۹ ساله در منطقه سیاهکل. جنگل ایران ۱: ۱۵۰-۱۳۷.
- فیغانی، ر.، فتوحی قزوینی، ر.، گلعین، ب. و حمیداوغلی، ی. (۱۳۹۴) اثر تنش خشکی بر مقدار پرولین، قندهای محلول، مالون دی‌آلدئید و رنگدانه‌ها در پایه‌های تجاری مرکبات شمال کشور. بهزارعی کشاورزی ۱۷: ۹۵۲-۹۳۹.
- کیانی، گ.، جلیلوند، ح. و پورمجیدیان، م. ر. (۱۳۹۲) رویش قطری افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss.) در توده‌ای دست کاشت مازندران (مطالعه موردنی: منطقه پهنه‌کلای ساری). بوم‌شناسی جنگل‌های ایران ۱: ۹۴-۸۶.
- نقی‌نژاد، ع. و زارع‌زاده، س. (۱۳۹۲) بررسی جامعه‌شناسی گیاهی جنگل‌های جلگه‌ای نور و سیسنگان، استان مازندران. زیست‌شناسی گیاهی ۵: ۱۲۱-۱۰۳.
- نوروزی‌هارونی، ن. و طبری کوچک سرایی، م. (۱۳۹۴) پاسخ‌های مورفو‌فیزیولوژی نهال‌های افاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.) به تنش خشکی. جنگل و فرآوردهای چوب ۶۸: ۷۲۷-۷۱۵.
- نوروزی‌هارونی، ن.، طبری کوچک سرایی، م. و ساداتی، ا. (۱۳۹۵) پاسخ شاخص‌های رشد نهال ارغوان معمولی (*Cercis siliquastrum* L.) به سطوح مختلف آبیاری. مجله جنگل ایران ۸: ۴۳۰-۴۱۹.
- Abid, M., Ali, S., Qi, L. K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., Snider, J. L. and Dai, T. (2018) Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports* 8: 1-15.
- Alachew, E., Muhammad, H., Azamal, H., Samuel, S. and Kasim, M. (2016) Differential sensitivity of *Pisum sativum* L. cultivars to water-deficit stress: Changes in growth, water status, chlorophyll fluorescence and gas exchange attributes. *Journal of Agronomy* 15: 45-57.
- Arnon, A. N. (1967) Method of chlorophyll measurements in plants. *Agronomy Journal* 23: 112-121.
- Bangar, P., Chaudhury, A., Tiwari, B., Kumar, S., Kumari, R. and Bhat, K. V. (2019) Morphophysiological and biochemical response of mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] varieties at different developmental stages under drought stress. *Turkish Journal of Biology* 43: 58-69.

- Barros, V., Melo, A., Santos, M., Nogueira, L., Frosi, G. and Santos, M. G. (2020) Different resource-use strategies of invasive and native woody species from a seasonally dry tropical forest under drought stress and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry* 147: 181-190.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water studies. *Journal of Plant Soil* 39: 205-208.
- Bhusal, N., Lee, M., Han, A. R., Han, A. and Kim, H. S. (2020) Responses to drought stress in *Prunus sargentii* and *Larix kaempferi* seedlings using morphological and physiological parameters. *Forest Ecology and Management* 465: 118099.
- Chakhchar, A., Wahbi, S., Lamaoui, M., Ferradous, A., El Mousadik, A., Ibnsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A. and El Modafar, C. (2015) Physiological and biochemical traits of drought tolerance in *Argania spinosa*. *Journal of Plant Interactions* 10: 252-261.
- Deligoz, A. and Bayar, E. (2018) Drought stress responses of seedlings of two oak species (*Quercus cerris* and *Quercus robur*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 42: 114-123.
- Diaz-Lopez, L., Gimeno, V., Simon, I., Martinez, V., Rodriguez-Ortega, W. M. and Garcia-Sanchez, F. (2012) *Jatropha curcas* seedlings show a water conservation strategy under drought conditions based on decreasing leaf growth and stomatal conductance. *Agricultural Water Management* 105: 48-56.
- Du, L., Liu, H., Guan, W., Li, J. and Li, J. (2019) Drought affects the coordination of belowground and aboveground resource-related traits in *Solidago canadensis* in China. *Ecology and Evolution* 9: 9948-9960.
- Du, N., Guo, W., Zhang, X. and Wang, R. (2010) Morphological and physiological responses of *Vitex negundo* L. var. heterophylla (Franch.) Rehd. to drought stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 32: 839-848.
- Ge, Y., He, X., Wang, J., Jiang, B., Ye, R. and Lin, X. (2014) Physiological and biochemical responses of *Phoebe bournei* seedlings to water stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 1241-1250.
- Geng, D. L., Lu, L. Y., Yan, M. J., Shen, X. X., Jiangi, L. J., Li, H. Y., Wang, L. P., Yan, Y., Xu, J. D., Li, C. Y. and Yu, J. T. (2019) Physiological and transcriptomic analyses of roots from *Malus sieversii* under drought stress. *Journal of Integrative Agriculture* 18: 1280-1294.
- 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: 22-35.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant Physiology* 59: 315-318.
- Guo, X., Luo, Y. J., Xu, Z. W., Li, M. Y. and Guo, W. H. (2019) Response strategies of *Acer davidii* to varying light regimes under different water conditions. *Flora* 257: 151423.
- Guo, Y. Y., Yu, H. Y., Yang, M. M., Kong, D. S. and Zhang, Y. J. (2018) Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of *Lycium ruthenicum* Murr. Seedling. *Russian Journal of Plant Physiology* 65: 244-250.
- Lei, Y., Yin, C. and Li, C. (2006) Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiologia Plantarum* 127: 182-191.
- Li, K. R., Wang, H. H., Han, G., Wang, Q. J. and Fan, J. (2008) Effects of brassinolide on the survival, growth and drought resistance of *Robinia pseudoacacia* seedlings under water-stress. *New Forests* 35: 255-266.
- Li, L., Liu, Y., Liu, Y., He, B., Wang, M., Yu, C. and Weng, M. (2015) Physiological response and resistance of three cultivars of *Acer rubrum* L. to continuous drought stress. *Acta Ecologica Sinica* 35: 196-202.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Medeiros, D. B., Silva, E. C. D., Santos, H. R. B., Pacheco, C. M., Musser, R. D. S. and Nogueira, R. J. M. C. (2012) Physiological and biochemical responses to drought stress in *Barbados cherry*. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 24: 181-192.
- Moustaka, J., Ouzounidou, G., Sperdouli, I. and Moustakas, M. (2018) Photosystem II is more sensitive than photosystem I to Al³⁺ induced phytotoxicity. *Materials* 11: 1772.
- 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: 57-64.
- Sarker, U. and Oba, S. (2018) Catalase, superoxide dismutase and ascorbate-glutathione cycle enzymes confer drought tolerance of *Amaranthus tricolor*. *Scientific Reports* 8: 1-12.
- Silva, E. C. D., Silva, M. F., Nogueira, R. J. and Albuquerque, M. B. (2010) Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 22: 225-233.
- Tariq, A., Pan K., Olatunji, O. A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., Zhang, L., Wu, X., Chen, W., Song, D. and Huang, D. (2018) Phosphorous fertilization alleviates drought effects on *Alnus cremastogyne* by regulating its antioxidant and osmotic potential. *Scientific Reports* 8: 1-11.

- Toscano, S., Farieri, E., Ferrante, A. and Romano, D. (2016) Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Front Plant Science* 7: 645.
- Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F. and Shu, H. (2012) Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry* 51: 81-89.
- Wu, F., Bao, W., Li, F. and Wu, N. (2008) Effects of drought stress and N supply on the growth, biomass partitioning and water-use efficiency of *Sophora davidii* seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 63: 248-255.
- Wu, M., Zhang, W. H., Ma, C. and Zhou, J. Y. (2013) Changes in morphological, physiological, and biochemical responses to different levels of drought stress in Chinese cork oak (*Quercus variabilis* Bl.) seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology* 60: 681-692.
- Wu, J., Li, J., Su, Y., He, Q., Wang, J., Qiu, Q. and Ma, J. (2017) A morphophysiological analysis of the effects of drought and shade on *Catalpa bungei* plantlets. *Acta Physiologae Plantarum* 39: 1-11.
- Ying, Y. Q., Song, L. L., Jacobs, D. F., Mei, L., Liu, P., Jin, S. H. and Wu, J. S. (2015) Physiological response to drought stress in *Camptotheca acuminata* seedlings from two provenances. *Fronteries Plant Sciences* 6: 361.
- Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S. M. and Abbasov, M. A. (2009) The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of Biology* 33: 1-7.
- Zare, H. and Amini, T. (2012) A review of the genus *Alnus* Mill. in Iran, new records and new species. *Iranian Journal of Botany* 18: 11-21.

Morpho-physiological responses in *Alnus subcordata* and *Acer velutinum* seedlings to drought stress

Mokarram Ravanbakhsh¹, Babak Babakhani^{1*}, Mahmood Ghasemnezhad², Fariba Serpooshan¹, Mohamad Hassan Biglouie³

¹ Department of plant science, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

² Department of plant science, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran; Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

³ Department of plant science, Faculty of Biological Sciences, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran; Department of Water Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 24/10/2021, Accepted: 24/05/2022)

Abstract

In this study, the effect of drought stress on morphological and physiological characteristics of two forest species: *Alnus subcordata* and *Acer velutinum*, which are used in natural forest restoration and afforestation, was evaluated. A factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with two factors (two species and four levels of drought stress: (25% (severe stress), 50% (moderate stress), 75% (mild stress), and 100% (no stress) percentage of field capacity). The results showed that drought stress significantly reduced the height, basal diameter, Leaf, and root biomass in both species. Whereas *A. subcordata* showed more stem biomass reduction. Root to shoot ratio showed a noticeable and slight increase in *A. subcordata* in *A. velutinum* respectively. Both species experienced a significant decrease in leaf area in drought conditions. Meanwhile, the specific leaf area decreased in *A. subcordata* as the degree of water stress increased, but it increased under mild and moderate treatment in *A. velutinum* seedlings. Total chlorophyll and chlorophyll a decreased in *A. subcordata* more than *A. velutinum*. Also, chlorophyll b decrease was similar in both species, while, carotenoids content decreased significantly in *A. subcordata* and increased insignificantly in *A. velutinum*. Drought stress showed a significant effect on the relative water content and proline in both species. There were no differences between the two species in proline content. furthermore, *A. velutinum* had more relative water content than *A. subcordata* seedlings under moderate treatment. These findings suggested that the two species did not show similar responses to drought stress. Also, based on the measured characteristics *A. velutinum* may maintain stronger drought tolerance. The malondialdehyde content and antioxidant enzymes activities in both species increased with increasing stress. *A. subcordata* had a more increase in malondialdehyde content in drought treatment compared to the control treatment. The activity of antioxidant enzymes in both species increased in moderate and mild stress treatment and *A. velutinum* showed higher enzyme levels. Our results highlighted that the two species did not show similar responses to drought stress and *A. velutinum* maintained stronger drought tolerance based on the measured parameters. According to these findings and based on more ability of *A. velutinum* to cope with drought, it is recommended that *A. velutinum* plantation has more priority compared to *A. subcordata* in water deficit regions.

Keywords: antioxidant enzymes, Biomass, Hyrcanian species, Specific leaf area, Water stress