

مقاله پژوهشی

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

مکرم روان‌بخش^۱، بابک باباخانی^{۲*}، 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 باغبانی، 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 ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) که در احیای جنگل‌های طبیعی و جنگل‌کاری مورد استفاده قرار می‌گیرند، ارزیابی شد. تحقیق به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور (دو گونه و چهار سطح تنش خشکی (۲۵٪ (تنش شدید)، ۵۰٪ (تنش متوسط)، ۷۵٪ (تنش 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 کاروتنوئید در گونه توسکا کاهش، درحالی‌که افزایش غیرمعنی‌دار 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 مالون‌دآلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در دو گونه با افزایش شدت تنش افزایش نشان داد. گونه توسکا افزایش بیشتر محتوی مالون‌دآلدئید در تیمارهای تنش در مقایسه با تیمار شاهد داشت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی 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 جنگل‌کاری با محدودیت دسترسی به منابع آبی کاشت گونه افرا نسبت به توسکا در اولویت قرار گیرد.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سطح ویژه برگ، کمبود آب، گونه هیرکانی

مقدمه

تغییرات جهانی آب و هوا 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 در نهایت استقرار درختان، توازن کربن 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 گیلداغی در استان خراسان شمالی گسترده است و دامنه‌های شمالی البرز را در برمی‌گیرد، به علت حضور گونه‌های گیاهی باقیمانده از دوران سوم زمین‌شناسی بسیار ارزشمند است (نقی‌نژاد 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 برمی‌گیرد (طالشی و همکاران، ۱۳۹۷). به دلیل اهمیت و موقعیت جنگل‌های هیرکانی، شناخت ویژگی‌های 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 (حسینی 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

به کمبود آب، مشخص‌شدن نوع عملکرد آنها در مواجهه با تنش خشکی می‌تواند به بهبود مدیریت تولید نهال در نهالستان‌ها همچنین موفقیت جنگل‌کاری‌ها کمک کند (نوروزی هارونی و طبری کوچک‌سرای، ۱۳۹۴؛ آهنی و همکاران، ۱۳۹۶). تاکنون مطالعات معدودی 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 فیزیولوژی نهال‌های بلندمازو (*Quercus castaneifolia* 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 ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) به تنش کم‌آبی با تلقیح قارچ میکوریز (بور و همکاران، ۱۴۰۰) اشاره کرد. تنش‌های آبی عامل اصلی کاهش‌دهنده زنده‌مانی نهال‌ها در مرحله استقرار جنگل‌کاری بشمار می‌آیند. آگاهی از پاسخ نهال‌ها به تنش‌های آبی، مسئله 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. کاهش رشد، اثر اولیه و اساسی خشکی بر گیاهان است (Silva et al., 2010). تنش خشکی با افت پتانسیل آب برگ، فشار تورژسانس، کاهش طول‌شدگی 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

رشد فعال است (Alachew et al., 2016). پاسخ ریخت‌شناسی اولیه به تنش خشکی مکانسیم 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 تنش خشکی شاخص تحمل خشکی است (Ying et al., 2015; Toscano et al., 2016). کلروفیل رنگیزه فتوسنتزی اولیه گیاهی است که غلظت آن بازگوکننده توانایی سنتز مواد آلی است (li et al., 2015). برگ‌ها احتمالاً تحت تنش خشکی سبزی‌نگی خود را از به‌علت جلوگیری از بیوستتزی 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 تنش 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 مکانسیم‌های حفظ فشار تورژسانس در پاسخ به خشکی و تغییرات قابل توجه بر رشد به شمار می‌روند (Medeiros et al., 2012). گیاهان مقاومت به تنش 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 هدررفت بیش از حد پلاسما جلوگیری می‌کند (Guo et al., 2018).

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

اندازه‌گیری شده است (Ge et al., 2014; Abid et al., 2018). گیاهان مکانیزم‌هایی را برای جلوگیری از اثرات انرژی مضر به کمک اتلاف انرژی اضافی و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، توسط مکانسیم‌های 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 گیاهان را از تنش خشکی محافظت می‌کنند (Geng et al., 2019).

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 مخروبه انجام شده است (کیانی و همکاران، ۱۳۹۲). گونه توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey.) از خانواده Betulaceae به‌عنوان چهارمین درخت مهم تجارتي 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 تثبیت‌کنندگی ازت خاک و بیومس تولیدی زیاد به‌منظور زراعت چوب و همچنین جنگل‌کاری برای احیای مناطق مخروبه جنگل‌های شمال کشور مناسب است (فروزش و همکاران، ۱۳۸۸؛ عبدالمی و همکاران، ۱۳۹۶).

این تحقیق با توجه به چالش محیط‌زیستی تغییراقلیم در نتیجه تنش 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 تنش کمبود آب در مطالعه حاضر اثر تنش خشکی بر نهال‌های یکساله دو گونه افرا پلت و توسکا ییلاقی (گونه‌های شاخص خزری و تند رشد مورد استفاده در جنگل‌کاری‌های شمال) بررسی شده است. بررسی تاریخیچه مطالعات انجام‌شده در گذشته بر روی این دو گونه نشان

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 تنش خشکی براساس پارامترهای ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک است.

مواد و روش‌ها

گیاهشناسی گونه‌های مورد مطالعه: افراپلت درختی خزان‌کننده 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 سبز و سطح تحتانی آن سبزی (کبود) و اطراف رگبرگ‌های اصلی آن را کرک‌های مخملی پوشانده است. طول برگ به‌طور معمول ۲۰ سانتی‌متر، دم‌برگ 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 ییلاقی درختی خزان‌کننده گاهی ارتفاع بیش از ۴۰ متر با برگ کشیده و با قاعده قلبی شکل، گل‌های نر و ماده به‌صورت شاتون، گل نر در گرزهای 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 تنش: این تحقیق به-صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور (دو گونه و چهار سطح تنش 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 رضوان‌شهر تهیه شد. نهال‌ها به گلدان‌های پلی-

اتیلنی انتقال یافتند و تا زمان اعمال تنش خشکی (رشد نسبی برگ نهال‌ها و سازگاری با شرایط گلخانه) (Medeiros et al., 2012) به میزان مناسب آبیاری شدند. تیمار تنش از اوایل تیر تا اوایل مهر ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. برای تعیین چهار سطح تنش خشکی (۲۵٪ (تنش شدید)، ۵۰٪ (تنش متوسط)، ۷۵٪ (تنش شدید) و ۱۰۰٪ (بدون تنش) 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}) به‌دست آمد (رابطه ۱). سپس براساس رابطه (۲) مقدار رطوبت در ظرفیت زراعی (W_{fc}) و در نهایت 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 آلومینیومی 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_p)، وزن خاک (W_s)

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

جدول ۱- پارامترهای خاک

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

از هر تکرار یک نهال از خاک خارج شده و پس از شست- و شوی خاک اطراف ریشه، به سه قسمت ریشه، ساقه و برگ جدا شدند. قبل از قراردادن در آون، وزن تر آنها اندازه گیری سپس با قراردادن در آون (دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت) با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱) توزین و زیتوده های ریشه، ساقه و برگ تعیین شد. نسبت ریشه به شاخه (اندام هوایی) براساس نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (مجموع وزن برگ و ساقه) محاسبه شد. جهت اندازه گیری سطح برگ از هر تیمار سه پایه انتخاب و از هر پایه سه برگ از بالاترین قسمت نهال (ساداتی و همکاران، ۱۳۹۰) و با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج مدل Buble Etch Tank GCL ساخت آلمان اندازه گیری 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 نمونه های برگ با آب مقطر شسته شده و با کاغذ صافی خشک شدند. ده دیسک برگي به قطر یک سانتی متر از هر برگ جدا و وزن آنها (وزن تر) یادداشت گردید. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در داخل لوله آزمایش حاوی آب مقطر در داخل یخچال در دمای ۴ درجه قرار گرفته سپس با کاغذ صافی خشک و با ترازوی دیجیتالی با دقت ده هزارم وزن شدند. وزن آماس یادداشت و سپس در داخل آون در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد 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.

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

رابطه ۴

FW وزن تر، DW وزن خشک و TW وزن آماس برگ

است.

رنگی های فتوستزی: جهت اندازه گیری غلظت رنگی های فتوستزی، ۲۰۰ میلی گرم برگ ساییده شده به ۱۰ میلی لیتر استن ۸۰ درصد اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. جذب نوری محلول صاف شده در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر با اسپکترومتر مدل (PG Instruments Ltd T80+, Lichtenthaler) (UV/ VIS خوانده گردید و محتوی کلروفیل a, b و کاروتنوئید مطابق رابطه های 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

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

رابطه ۷

$$Carotenoids = \frac{1000 \times A_{470} - 2.27 \times Chl_a - 81.4 \times Chl_b}{22} \times \frac{V}{1000W}$$

پرولا: 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 معرف ناین هیدرین و استیک اسید اضافه گردید و سپس از 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 نمونه ها با استفاده از منحنی جذب غلظت های پرولین استاندارد و با استفاده برحسب میکرومول در گرم وزن تر نمونه با رابطه ۸ محاسبه شد.

رابطه ۸

$$prolin_{(\mu mol/gFW)} = [(\mu g \text{ prolin/ml}) \times (ml \text{ toluene}/115)] / g \text{ sample } / 5$$

مالون دآلدئید (MDA): میزان پراکسیداسیون لیپیدها از طریق میزان مالون دآلدئید (MDA) ارزیابی شد. ۱۰۰ میلی گرم بافت برگ در ۲ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد (W/V) مخلوط شد و در ۱۲۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس ۰/۵ میلی لیتر فاز بالایی با ۱/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید (TBA) مخلوط و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد گرم شد و به سرعت در یک حمام یخ خنک شد. سپس مخلوط در ۱۰۰۰۰ گرم به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. غلظت مالون دآلدئید با ضریب خاموشی $155 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد و به صورت nmol/g نشان داده شد (Chakhchar et al., 2015).

فعالیت های آنزیمی: فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD EC 1.15.1.1) از طریق توانایی مهار کاهش فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فومازان توسط رادیکال های سوپراکسید ارزیابی شد. یک واحد SOD به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای ایجاد مهار ۵۰ درصدی کاهش فتوشیمیایی NBT در ۵۶۰ نانومتر در نظر گرفته شد (Giannopolitis et al., 1977). فعالیت پراکسیداز گایاکول (GPX) (EC 1.11.1.7) براساس روش گایاکول مورد سنجش قرار گرفت. GPX توسط پراکسید هیدروژن، گایاکول را به تراگواکول در ۴۷۰ نانومتر کاتالیز می کند. میزان جذب به مدت ۲ دقیقه خوانده شد (Plewa et al., 1991).

تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده در محیط نرم افزار اکسل سازماندهی و نمودارهای مربوط ترسیم شد. تجزیه و تحلیل های آماری با نرم افزار SPSS 16.0 انجام گرفت. تجزیه واریانس به کمک رویه مدل های خطی انجام گردید. داده ها به صورت مدل فاکتوریل (دو گونه و چهار سطح تنش و سه تکرار) مورد ارزیابی قرار گرفتند. همگنی واریانس بین گروه ها با آزمون لون (Levene) و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن (در سطح احتمال پنج درصد) انجام شد.

نتایج

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

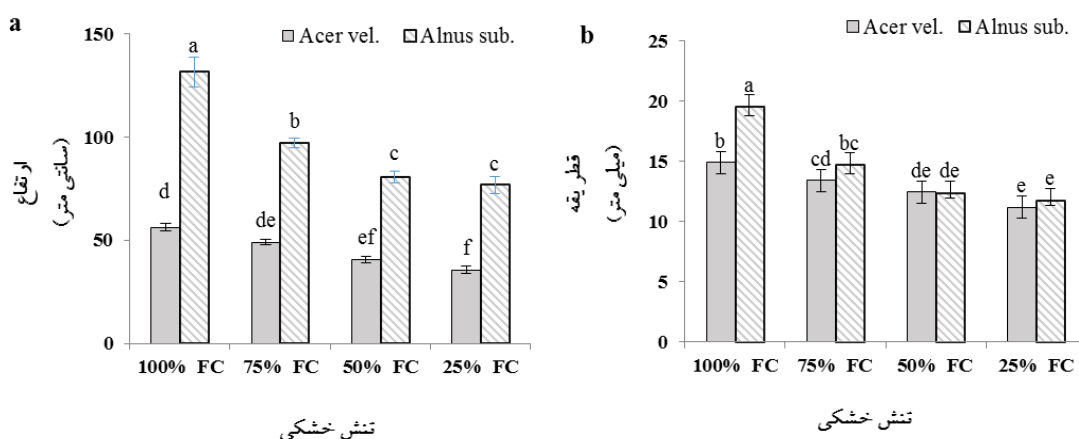
تنش خشکی شدید باعث کاهش ارتفاع نهال های توسکا و افرا به ترتیب به میزان ۴۱/۸ و ۲۶/۴ درصد در مقایسه با شاهد شد. قطر یقه نهال ها نیز کاهش ۴۰ و ۲۵ درصدی را به ترتیب در گونه های توسکا و افرا در تنش شدید نسبت به شاهد نشان دادند (شکل ۱). تأثیر نوع گونه و اثر متقابل گونه و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد بر زیست توده نهال ها 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 زیست توده در تنش شدید در مقایسه با شاهد به ترتیب در گونه های توسکا و افرا در صفت زیست توده برگ ۴۴/۶ و ۴۶/۲ درصد، زیست توده ساقه ۷۵/۸ و ۴۰/۶ درصد و زیست توده ریشه ۶۴/۴ و ۶۱ درصد بود. نسبت ریشه به اندام هوایی به ترتیب در گونه های توسکا و افرا افزایش ۵۳ و ۳/۴ درصدی در تنش شدید نسبت به شاهد را نشان داد (شکل ۲).

همچنین نتایج تجزیه واریانس داده ها 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 ۷۱/۹ و ۸۳/۶ درصد در تنش شدید نسبت به شاهد را در افرا و توسکا نشان داد. در گونه توسکا، شاخص سطح ویژه برگ نهال ها روند کاهشی با افزایش شدت تنش را نشان دادند. مقدار کاهش این شاخص در تنش شدید نسبت به شاهد ۴۹/۶ درصد بود. در گونه افرا، روند افزایش شاخص سطح ویژه برگ نهال ها با افزایش شدت تنش تا تنش

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات ریخت شناسی نهال دو گونه افرا پلت و توسکا ییلاقی

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ارتفاع	قطر یقه	زیست توده برگ	زیست توده ساقه	نسبت ریشه به شاخه	سطح برگ	سطح ویژه برگ
گونه	۱	۷۰۵/۵۰**	۳۴/۴۹**	۶۲/۴۰**	۲۴۶۰/۵۰**	۳۳۷/۴۰**	۰/۹۷**	۹۷۲۶۴/۸۴**
تیمار خشکی	۳	۶۳/۰۰**	۸۳/۸۴**	۲۷۴/۸۵**	۷۷۴/۹۲**	۲۷۴/۸۵**	۰/۰۵ ^{ns}	۸۷۹۳/۸۴**
گونه × تنش	۳	۱/۹۵ ^{ns}	۱۴/۴۳**	۱۰/۱۹**	۲۸/۷۲**	۱۰/۱۹**	۰/۰۴۵ ^{ns}	۱۱۵۵۷/۸۲**
خطا		۰/۰۰۱	۱/۴۹	۱/۴۰	۱۲/۸۷	۱۱/۶۲	۰/۰۱	۹۸۸/۴۸
ضرب تغییرات		۱/۷۴	۸/۸۵	۱۲/۶۴	۱۶/۹۴	۱۴/۷۹	۱۰/۵۲	۱۵/۱۳

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



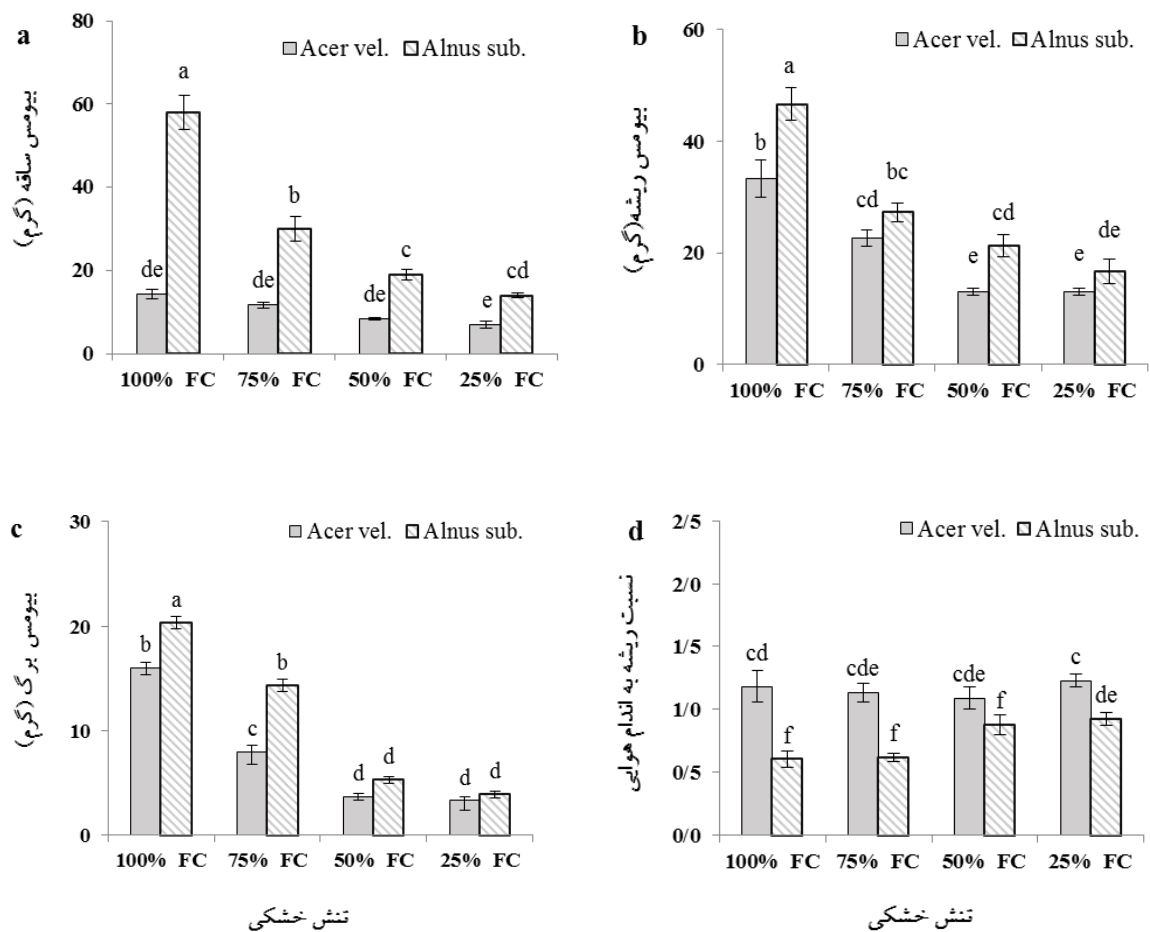
شکل ۱- مقایسه ارتفاع (a) و قطر یقه (b) در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای ییلاقی (حروف مشترک نشان دهنده عدم معنی داری در سطوح متناظر با آزمون دانکن است).

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

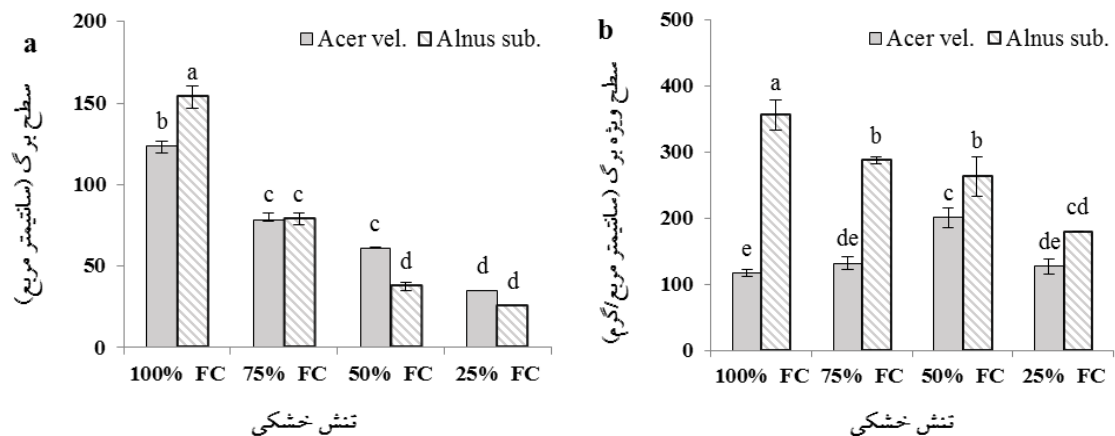
نتایج تحلیل واریانس نشان داد که بین گونه های مورد مطالعه از جهت محتوی نسبی آب برگ تفاوت وجود داشت. سطوح تنش خشکی نیز باعث تغییر محتوی نسبی آب برگ شد، اما اثر متقابل تنش خشکی و گونه بر محتوی نسبی آب برگ معنی دار نبود. افرا محتوی نسبی آب بالاتری را نسبت به توسکا تحت تنش حفظ کرد. میزان پرولین بین سطوح تنش

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 رنگیزه های فتوسنتزی تفاوت معنی دار وجود داشت. اثر متقابل تنش خشکی و گونه به غیر از پارامتر کلروفیل b بر مقدار رنگیزه ها مؤثر بود. مقایسه میانگین میزان رنگیزه های فتوسنتزی نشان داد که افرا سطح بیشتری از رنگیزه ها را تحت تنش خشکی حفظ کرد. کمترین میزان کلروفیل 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 کاروتنوئیدهای 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 معنی داری در سطوح متناظر با آزمون دانکن است).



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

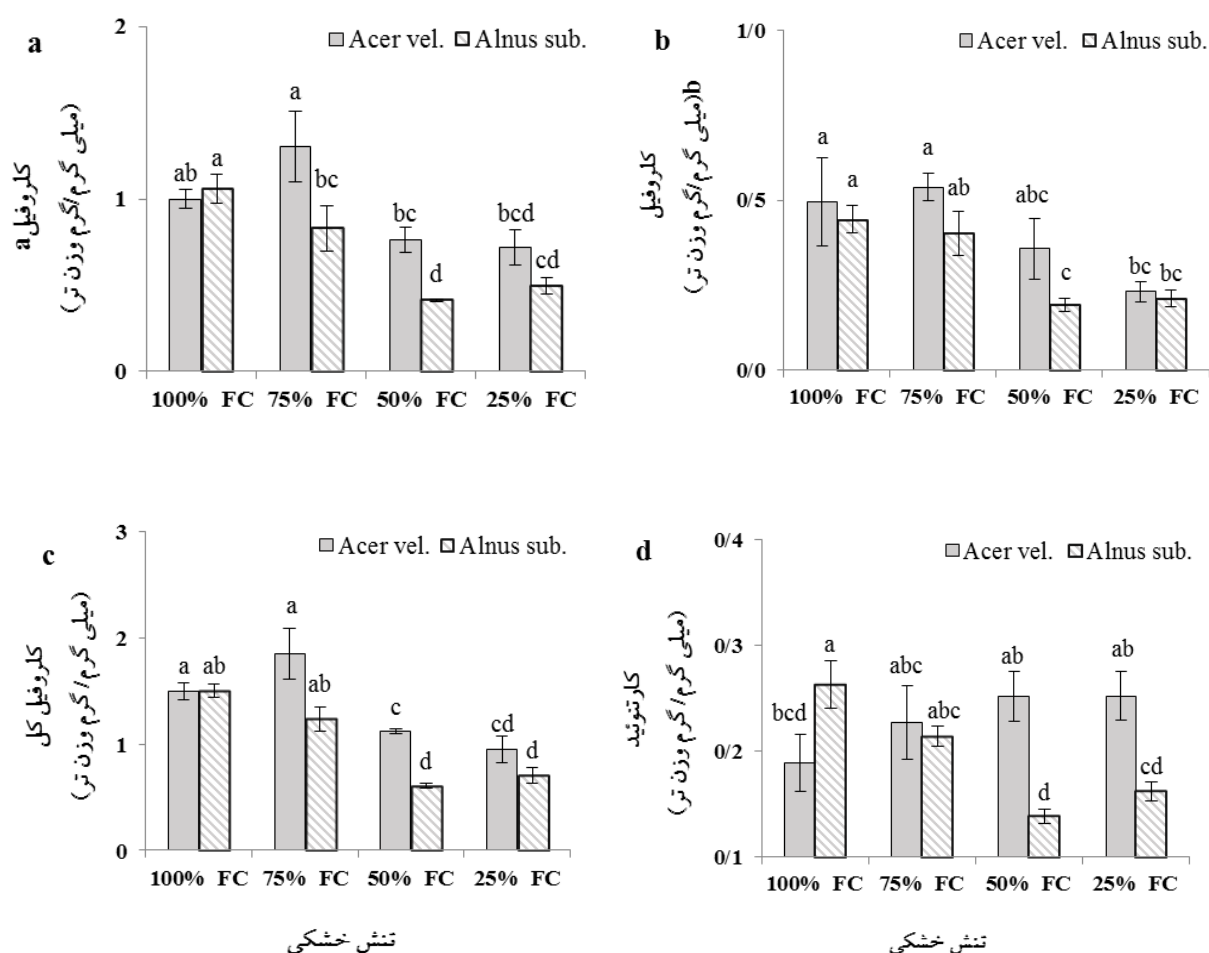
میزان پرولین مؤثر بود، لیکن بین گونه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. در هر دو گونه روند افزایش پرولین با

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

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

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کاروتنوئید	محتوی نسبی آب	پرولین	مالون دآلدئید	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز
گونه	۱	۰/۳۷**	۰/۰۶*	۰/۷۰۵**	۰/۰۰۸*	۳۸۴/۸۰**	۰/۰۹ ^{ns}	۳۵/۸۶*	۵۸۸۸/۴۷**	۱۲۳۶/۳۹**
تیمار خشکی	۳	۰/۴۱**	۰/۰۹**	۰/۹۱۱	۰/۰۰۱**	۶۳۹/۶۰**	۲/۸۵**	۶۵/۷۵**	۲۳۸۶/۲۶**	۵۸۵/۴۰**
گونه × تنش	۳	۰/۰۷**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۱۱۷**	۰/۰۱۱**	۵۳/۹۶ ^{ns}	۰/۳۷**	۷/۱۶ ^{ns}	۱۰۸۰/۰۹**	۱۹۰/۹۳*
خطا		۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۳۸	۰/۰۰۱	۲۷/۶۸	۰/۰۶	۴/۲۴	۸۵/۷۰	۳۰/۳۳
ضریب تغییرات		۲۱/۱	۲۷/۷	۱۶/۴۷	۱۴/۹۱	۸/۲۹	۱۴/۴۰	۱۸/۰۴	۲۷/۲	۴/۴۷

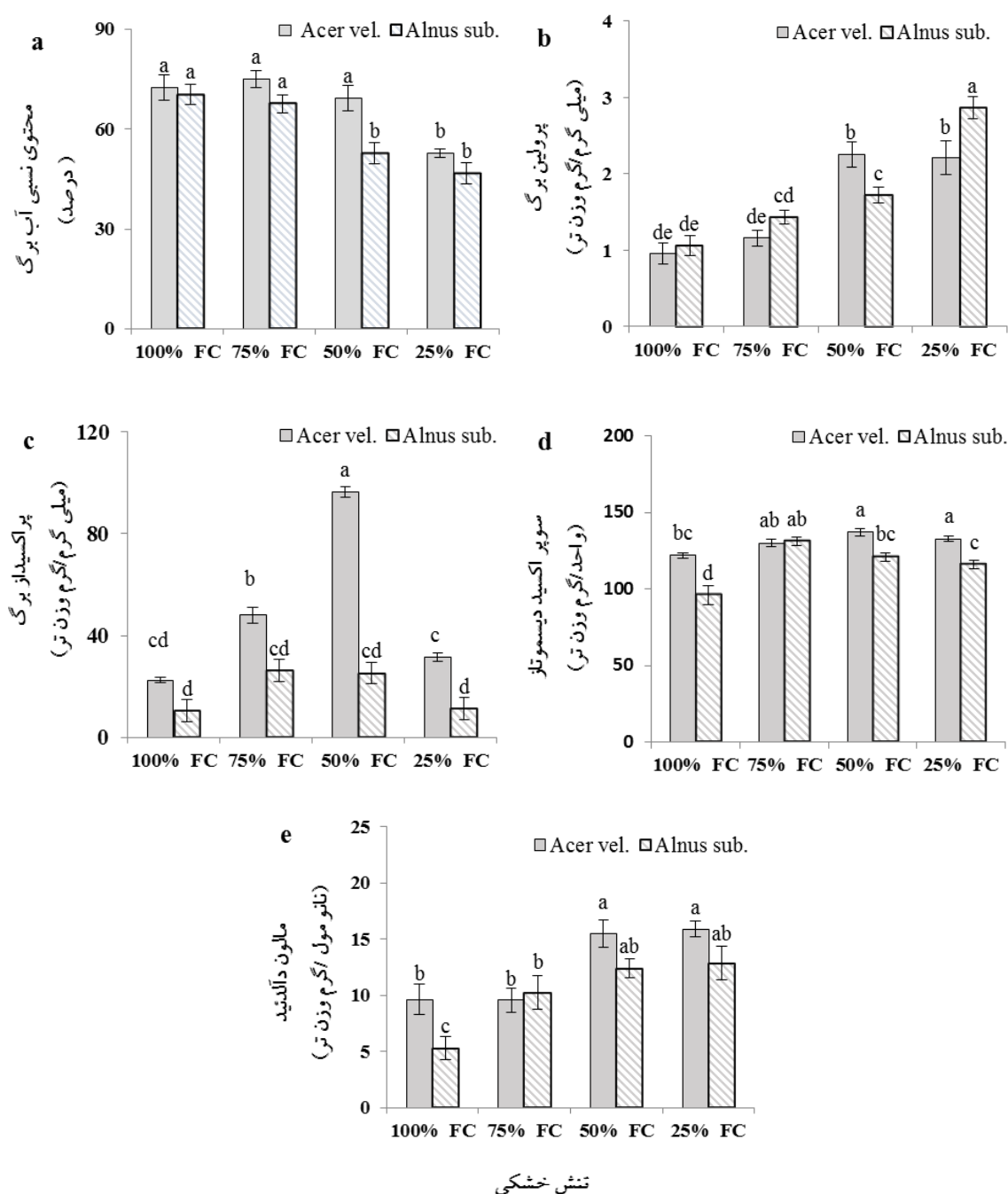
** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱، * اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ns عدم معنی داری



شکل ۴- مقایسه تغییرات رنگیزه های فتوسنتزی در تیمارهای تنش خشکی در دو گونه افرا پلت و توسکای ییلاقی. کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، کلروفیل کل (c) و کاروتنوئیدها (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 مشاهده شد. در گونه افرا تنش متوسط و شدید (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) تفاوت معنی داری با



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

با افزایش شدت تنش، میزان مالون دآلدئید افزایش یافته و بالاترین سطح شاخص در تنش متوسط و شدید مشاهده شد. گرچه سطح مالون دآلدئید 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 گونه‌های مورد مطالعه و سطوح تنش از نظر میزان محتوی مالون دآلدئید و فعالیت‌های آنزیمی تفاوت وجود داشت. اثر متقابل تنش خشکی و گونه بر فعالیت‌های آنزیمی مؤثر اما بر میزان محتوی مالون دآلدئید معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در هر دو گونه

و سوپراکسید دیسموتاز نشان داد که گونه توسکا فعالیت آنزیمی کمتری را در سطوح تنش نسبت به افرا داشت و بالاترین سطح فعالیت آنزیم در گونه افرا در تنش متوسط و در گونه توسکا در تیمار تنش خفیف مشاهده شد (شکل ۵c, d و e).

بحث

براساس طرح های پیش بینی تغییر اقلیم جهانی، هم شدت و هم وفور خشکی ناشی از تغییر اقلیم در قرن حاضر افزایش خواهد داشت. خشکی منجر به بروز عوامل تنش زای فیزیولوژیکی عظیمی خواهد شد که بر رشد، توزیع، فرایندهای فیزیولوژیکی و سهم بندی انرژی در گیاهان مؤثرند (Du et al., 2019). پاسخ های سازشی در ریخت شناسی می تواند مکانیسم اولیه گونه ها جهت کنار آمدن با ویژگی های محیط زیستی زیستگاه هایشان هستند (Wu et al., 2008). پاسخ ریخت شناسی اولیه به تنش خشکی، مکانیسم اجتناب از طریق تنظیم رشد گیاه مانند کاهش اندام هوایی، قطر یقه و زیست توده است (Lei et al., 2006). خشکی موجب کاهش صفات رشد از جمله ارتفاع، قطر یقه و سطح تاج پوشش می گردد (Guo et al., 2019). بررسی تغییرات رشد نهال ها (کاهش ارتفاع و قطر یقه) به موازات افزایش شدت تنش نشانگر درصد افت بیشتر در نهال های توسکا نسبت به افرا را نشان داد. میزان درصد افت زیست توده برگ و ریشه دو گونه مشابه، لیکن گونه توسکا افت زیست توده ساقه بیشتری را نشان داد. همچنین نسبت ریشه به اندام هوایی 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 زیست توده را کاهش و زیست توده بیشتری به ریشه اختصاص داده و نسبت ریشه به اندام هوایی را افزایش می دهند (Wu et al., 2008). به عقیده Du و همکاران (۲۰۱۰) کاهش معنی دار در پارامترهای ارتفاع، تاج پوشش و قطر یقه با شروع تنش خشکی در

نهال های *Vitex negundo* به دلیل اینکه تأمین مواد غذایی با دسترسی به رطوبت خاک مرتبط بوده و در مدت زمان کوتاهی بروز می کند، قابل انتظار بود. محققان اذعان داشتند که ممانعت از رشد در نهایت با کاهش زیست توده بروز می کند. به عقیده Tariq و همکاران (۲۰۱۸) کاهش میزان رشد و زیست توده در گونه *Alnus cremastogyne* که با کاهش میزان سطح برگ و قطر یقه نمود یافته است، ممکن است بخشی از استراتژی اجتناب از خشکی نهال های این گونه باشد. تحت شرایط خشکی، آب یک منبع محدود کننده است و بسیاری از گونه ها جذب آب را از طریق دادن سهم بیشتر به زیست توده ریشه افزایش می دهند (Wu et al., 2017). در نهال های *Jatropha curcas* میزان افت زیست توده برگ ها بیشتر از ریشه ها بوده و این موضوع موجب اضافه شدن نسبت ریشه به اندام هوایی شده است. همچنین انتقال محصولات فتوسنتزی به ریشه به جای اندام هوایی مکانیسم سازشی کاهش سطح تبخیر است (Diaz-Lopez et al., 2012). به عقیده Silva و همکاران (۲۰۱۰) افزایش خفیف و غیر معنی دار نسبت ریشه به اندام هوایی در گونه *Erythrina velutina* (گونه چوبی پهن برگ خزان کننده) به دلیل آن است که این گونه جذب کربن را در شرایط تنش مشابه با شرایط دسترسی به آب کافی انجام می دهد.

تغییرات شاخص سطح برگ نشان داد که هر دو گونه مورد مطالعه در اثر تنش خشکی سطح برگهایشان را کاهش داده اند. به عقیده Bangar و همکاران، (۲۰۱۹) خشکی به علت ایجاد اختلال در فرایندهای تقسیم و توسعه سلولی در نهایت منجر به افت فشار تورژسانس شده و عامل کاهش نرخ رشد، ارتفاع و سطح برگ خواهد شد. در گونه *Acer davidi* تنش خشکی سبب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش چشمگیر در تعرق شده است (Guo et al., 2019). بررسی تغییرات میزان شاخص سطح ویژه برگ در گونه های مورد مطالعه نشان داد که در گونه توسکا با افزایش شدت تنش خشکی مقدار شاخص افت کرده و در تنش شدید به پایین ترین سطح می رسد، اما در گونه افرا با افزایش میزان تنش از خفیف تا متوسط روند صعودی شاخص مشاهده گردید، در حالی که در تنش شدید

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 نازک شدن 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 سطح به‌همراه کاهش سطح ویژه برگ در گونه *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 افاقا (نوروزی‌هارونی و کوچک‌سرایبی، ۱۳۹۵) گزارش شده است. کاهش سطح ویژه برگ و اسکروفیلی شدن بیشتر به‌عنوان 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،

حفظ رطوبت نسبی تقریباً بالا در تنش خشکی شاخص تحمل خشکی بیان شده است (Ying et al., 2015; Toscano et al., 2016). نتایج بررسی محتوی نسبی آب گونه‌های مورد مطالعه 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 قابل‌توجه بود. Ying و همکاران (۲۰۱۵) در مقایسه دو جمعیت جغرافیایی خشک و مرطوب از گونه *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 نویسندگان 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 مواجهه 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 سبزیگی خود را از به‌علت جلوگیری از بیوستز 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 (کلروفیل‌از) 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

نداد. بنابر مطالعه Li و همکاران (۲۰۱۵) غلظت های نسبی کلروفیل در سه رقم افرای قرمز (*Acer rubrum*) به موازات پیشرفت تنش، کاهش و با تیمار شاهد تفاوت معنی دار را نشان داد. افزایش کاروتنوئید به عنوان آنتی اکسیدانت غیر آنزیمی در تنش خشکی به دلیل مقابله با رادیکال های آزاد توجیه پذیر است (فیفانی و همکاران، ۱۳۹۴). افزایش معنی دار کاروتنوئیدها در جهت کمک به جارو کردن گونه های فعال اکسیژن و نقش آنتی اکسیدانی آن مرتبط است (زرافشار 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 به دلیل است که کاروتنوئیدها به طور جزئی می توانند 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 رنگیزه ها در اثر آسیب اکسیداتیو که پدیده های رایج در برابر تنش آبی است، گیاهان آنتی اکسیدان-هایی را از جمله (کاروتنوئیدها، آسکوربات، آلفا توکوفرول، گلوتاتیون و فلاونوئید) تولید می کنند. بنابراین در شرایطی که کاهش کلروفیل با کاهش کاروتنوئیدها همراه نباشد دال بر تلاش احتمالی برای به حداقل رساندن آسیب های سیستم های فتوسنتزی ناشی از تنش وارد شده است. در مطالعه حاضر روند کاهش معنی دار میزان کاروتنوئید در گونه توسکا و افزایش غیر معنی دار در گونه افرا مشاهده شد. بر این اساس می توان اذعان نمود که روند افزایشی خفیف در میزان کاروتنوئیدها در گونه افرا نشان می دهد که احتمالاً این گونه نسبت به گونه دیگر توانایی مقابله به خشکی بیشتری را دارا است.

گیاهان مقاومت به تنش را به وسیله تجمع مقادیر قابل توجه از پرولین آزاد، پروتئین محلول و قند محلول افزایش داده تا غلظت شیره سلولی را بهبود داده که این موضوع می تواند تورژسانس سلولی را حفظ کرده و از هدررفت بیش از حد پلاسما جلوگیری می کند (Guo et al., 2018). پرولین ساختار غشا و پروتئین را از آسیب حفظ کرده و از دنا توره

شدن آنزیم ها می کاهد. این اقدامات آسیب های حاصله از دهیدراته شدن را کاهش خواهد داد (Li et al., 2008). افزایش مقدار غلظت پرولین در گونه های مورد مطالعه با روند افزایش تنش خشکی مشابه با نتایج گزارش شده سایر گونه ها 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 معنی داری بین دو گونه وجود نداشت. به عقیده Ge و همکاران (۲۰۱۴) گرچه تجمع پرولین در ارتباط با تنظیم اسمزی در گونه های با تحمل خشکی مشاهده شده است، این شاخص می تواند، 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). Sarker و Oba (۲۰۱۸) 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 نویسندگان اذعان داشتند که پرولین نقش معنی داری در مکانیسم های مقاومت به خشکی گونه مورد مطالعه ندارد. افزایش بیشتر پرولین در تنش متوسط در گونه افرا نسبت به توسکا می تواند نشانگر توانایی بیشتر این گونه در این سطح از تیمار تنش جهت کاهش بیشتر پتانسیل اسمزی و در نهایت تنظیم اسمزی باشد. به عقیده Wu و همکاران (۲۰۱۳) افزایش میزان اسمولیت هایی 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

به علت آسیب اکسیداتیو میزان تجمع اسمولیت‌ها کاهش خواهد یافت.

در تحقیق حاضر میزان مالون‌دآلدئید 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 مالون‌دآلدئید 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 شیب افزایش محتوی مالون‌دآلدئید مشاهده می‌گردد (شکل ۵ e). افزایش بیشتر میزان مالون‌دآلدئید تحت تنش خشکی در گونه حساس به خشکی *Malus hupehensis* نسبت به گونه مقاوم به خشکی *Malus prunifolia* (Wang et al., 2012)، افزایش کمتر میزان مالون‌دآلدئید در برگ‌های جمعیت منطقه خشک‌تر نسبت به جمعیت منطقه مرطوب در گونه *Camptotheca acuminata* (Ying et al., 2015) و 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 غلظت مالون‌دآلدئید با تنش رابطه مستقیم دارد و با نتایج مطالعه حاضر 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 کنترل نشان داد که بیشترین میزان افزایش فعالیت آنزیم در گونه افرا در تیمار تنش متوسط به میزان ۱۳۷/۰۷ و در گونه توسکا در تیمار تنش خفیف ۱۳۱/۰۷ واحد 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

Quercus variabilis در تنش شدید در طول دوره آزمایش کاهش ولی سایر تیمارها افزایش نشان دادند. به عقیده نویسندگان، 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 سنتز مجدد جاروب‌کننده‌های تخریب‌شده 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 فتوسنتزی و محتوای آب برگ بیشتری را طی تنش حفظ کرد. میزان مالون‌دآلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو گونه با افزایش شدت تنش افزایش نشان

داد. گونه توسکا درصد افزایش بیشتر محتوی مالون دآلدئید در تنش شدید و گونه افرا سطح آنزیمی بالاتری را در تیمار تنش متوسط و خفیف نشان داد. بر این اساس، به نظر می رسد که گونه افرا، مکانیسم پاسخ بهتری را به تنش نشان داده است. جهت سنجش و مقایسه کامل تر پاسخ گونه های مورد مطالعه به تنش خشکی، انجام مطالعات در بازه های زمانی چندساله یا

چند دوره رویشی، مطالعات تکمیلی در عرصه های جنگل کاری بر روی درختان بالغ (بدون محدودیت رشد و نمو ریشه) و نهال ها در پاسخ به عوامل اکولوژیکی چندگانه پیشنهاد می گردد.

منابع

- اسدی، م. (۱۳۶۷-۱۳۹۰) فلور ایران شماره ۷۳-۱. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع کشور.
- اسلامی، ع.، ناصری، ب. و خزایی، ج. (۱۳۹۵) بررسی ویژگی های فیزیکی و فیزیولوژیکی بذر گونه توسکا ییلاقی در شرایط متفاوت اکولوژیکی (مطالعه موردی: طرح جنگلداری گلبدن نوشهر- مازندران). پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران) ۱۹: ۴۸۳-۴۷۵.
- اصغریپور، ا.، آزادفر، د. و سعیدی، ز. (۱۳۹۶) ارزیابی تحمل به خشکی نهال های افراشیردار (*Acer cappadocicum* Gled.). پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران) ۳۰: ۱۱-۱.
- آقاجانی، ح.، مروی مهاجر، م. ر.، آصف، م. ر. و شیروانی، ا. (۱۳۹۳) بررسی فراوانی قارچ های ماکروسکوپی عامل پوسیدگی چوب روی درختان ممرز (*Carpinus betulus* L.) (مطالعه موردی: جنگل خیرود نوشهر). تحقیقات حمایت و حفاظت جنگل ها و مراتع ایران ۱۲: ۶۵-۵۵.
- آهنی، ح.، جلیوند، ح.، واعظی، ج. و ساداتی، ا. (۱۳۹۶) تأثیر تنش خشکی روی ریخت شناسی نهال سنجد تلخ *Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson. حفاظت زیست بوم گیاهان ۵: ۲۰۴-۱۹۱.
- بور، ز.، پاراد، ق. ع.، حسینی، س. م. و قنبری، ا. (۱۴۰۰) پاسخ های ریختی، فیزیولوژیکی و آنزیمی نهال های توسکا ییلاقی (*Alnus subcordata* C. A. Mey) نسبت به تنش کم آبی با تلقیح قارچ میکوریز ریزوفگوس ایریگولاریس (*Rhizophagus irregularis*). فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۶: ۹۳-۸۰.
- ثابتی، ح. ا. (۱۳۵۵) جنگل ها، درختان و درختچه های ایران. دانشگاه یزد.
- ثاقب طالبی، خ. (۱۳۷۸) نیاز رویشگاهی و نحوه زیست گونه افرا پلت "*Acer velutinum* Boiss" در جنگل خیرودکنار نوشهر. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۲: ۷۹-۱۵۰.
- جعفری، م. (۱۳۸۷) تحقیق و تحلیل عوامل تغییر اقلیم طی پنجاه سال گذشته در جنگل های منطقه خزری. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۶: ۳۲۶-۳۱۴.
- جهانبازی گوجانی، ح.، حسینی نصر، س. م.، ثاقب طالبی، خ. و حجتی، س. م. (۱۳۹۲) تأثیر تنش خشکی فراهم شده توسط ارتفاع از سطح دریا، بر چهار گونه بادام وحشی. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۲۱: ۳۸۶-۳۷۳.
- حسینی، م.، اسلامی، ع. و هادی زاده مرجانی، غ. (۱۳۹۵) بررسی تأثیر تنک کردن در توده های جوان کاشت افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss.) بر خصوصیات کمی و کیفی درختان آینده (مطالعه موردی: آمل- هلو مسر)، پژوهش های گیاهی (زیست شناسی ایران) ۲۹: ۳۵۱-۳۳۹.
- ذوقی، ز.، حسینی، س. م.، طبری کوچک سرای، م. و کوچ، ی. (۱۳۹۸) اثر افزودن پرلیت در خاک بر برخی ویژگی های رشد و فیزیولوژی نهال های بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C.A.M.). تحت تنش کم آبی. فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۴: ۱۲-۱.

- روکی، م.، طبری کوچک‌سرای، م. و ساداتی، س. (۱۳۹۸) تأثیر باکتری سودوموناس فلورسنس در بهبود صفات ریختی نهال زربین تحت تنش کم‌آبی. جنگل و فرآورده‌های چوب (منابع طبیعی ایران) ۷۲: ۲۱۳-۲۰۵.
- زرافشار، م.، اکبری‌نیا، م.، حسینی، س. م. و رهایی، م. (۱۳۹۵) ارزیابی مقاومت به خشکی در گلابی جنگلی (*Pyrus boissieriana* Buhse). جنگل و فرآورده‌های چوب ۶۹: ۹۷-۱۱۰.
- ساداتی، س.، طبری کوچک‌سرای، م.، عصاره، م.، حیدری شریف‌آباد، 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 داوری‌نژاد، غ. و شور، م. (۱۳۹۱) بررسی خصوصیات روزنه‌ای انجیر خوراکی تحت شرایط تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران (علوم کشاورزی ایران) ۴۳: ۱۲۵-۱۳۳.
- طالشی، 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 روشن تاج بر رشد و زنده‌مانی 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. م.، دولت‌شاهی، آ. و بایرام‌زاده، و. (۱۳۹۶) تحلیل روند تغییرات درازمدت پارامترهای اقلیمی و تبخیر تعرق در ناحیه خزری. جنگل ایران ۹: ۱۸۵-۱۷۱.
- فروزش 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.
- فیفانی، ر.، فتوحی‌قزوینی، 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. به‌زراعی کشاورزی ۱۷: ۹۵۲-۹۳۹.
- کیانی، گ.، جلیوند، ح. و پورمجیدیان، م. ر. (۱۳۹۲) رویش قطری افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss) در توده‌های دست کاشت مازندران (مطالعه موردی: 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 کوچک‌سرای، م. (۱۳۹۴) پاسخ‌های مورفوفیزیولوژی نهال‌های افاقا (*Robinia pseudoacacia* L.) به تنش خشکی. جنگل و فرآورده‌های چوب ۶۸: ۷۱۵-۷۲۷.
- نوروزی‌هارونی، ن.، طبری کوچک‌سرای، 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., Jiang, 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 Physiologiae 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. *Frontiers 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

Corresponding author, Email: babakhani_babak@yahoo.com