

پاسخ‌های رشدی و بیوشیمیایی برخی ژنوتیپ‌های بادام روی پایه GN₁₅ به تنش کم‌آبایی

حسین فتحی^۱، علی ایمانی^{۲*}، محمد اسماعیل امیری^۱، جعفر حاجیلو^۳ و جعفر نیکبخت^۴

^۱گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ^۲عضوهیئت علمی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سرد سیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، ^۳گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ^۴گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۹/۲۱)

چکیده

انتخاب ارقام مناسب بادام در مناطق کم‌آب برای عملکرد بالا اهمیت زیادی دارد. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل دو عاملی (رقم در پنج سطح: سهند، فرانس، K13-40، H و K3-3-1 و آبیاری در سه سطح شامل: آبیاری در حد ظرفیت زراعی، ۷۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی) با سه تکرار در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند روی پایه GN₁₅ انجام شد. نتایج نشان داد با افزایش تنش، پرولین در رقم سهند و H (به ترتیب با ۸۳/۱۳ و ۸۴/۲ میکرومول) و ژنوتیپ K13-40 با ۵۳/۶۵ میکرومول دارای بیشترین و کمترین غلظت بودند. رقم فرانس دارای ۱۶/۲۸ و K13-40 دارای ۱۱/۴۸ میلی گرم پروتئین کل در برگ بودند. فنل کل در ارقام از ۶۹۸ در تیمار شاهد به ۹۴۸ واحد در تیمار تنش شدید رسید و رقم سهند با ۹۱۲/۵ واحد فنل بیشترین فعالیت فنلی را داشت. درصد نشت الکترولیت‌ها از ۱۱/۵۹ تا ۵۹٪ در تنش شدید خشکی افزایش یافت. میزان فلورسانس حداقل افزایش و فلورسانس حداکثر کاهش یافت و نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (Fv/Fm) از ۰/۸۳ در تیمار شاهد به ۰/۷۶ در برگ رقم سهند و از ۰/۸۱ به ۰/۷۷ در برگ رقم فرانس کاهش یافت و باعث کاهش صفات رویشی و افزایش وزن ویژه برگ شد. رشد طولی شاخه‌ها با کاهش میانگرمه‌ها کاهش یافت. آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز به ترتیب با ۵/۸۳ و ۱۸۸/۸ واحد در رقم فرانس دارای بیشترین و در ژنوتیپ‌های K3-3-1 و K13-40 دارای کمترین فعالیت بودند. رقم سهند و فرانس با تحمل بالا و ژنوتیپ H با تحمل متوسط و K3-3-1 و K13-40 با ریزش ۸۰ درصد برگ‌ها به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ به تنش شدید مشخص شدند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، پروتئین، رشد رویشی، فلورسانس، کم‌آبایی، نشت یونی

مقدمه

سطح کشور کمتر از ۵۰۰ میلی‌متر بارندگی داشته و با تنش خشکی مواجه هست (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). تنش اسمزی که بوسیله خشکی، شوری و سرما ایجاد می‌شود یک تنش فراگیر محسوب می‌شود (Zang et al., 2007) که به طور مستقیم یا غیرمستقیم سبب تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) شده و باعث خسارت اکسیداتیو در گیاهان می‌شود. بنابراین درک پاسخ گیاهی به تنش اسمزی دارای اهمیت زیادی

تنش خشکی شایع‌ترین تنش محیطی و یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی در سرتاسر جهان است. تنش خشکی تقریباً تولید ۲۵ درصد زمین‌های کشاورزی جهان را محدود نموده و به تنهایی مسبب ۴۵ درصد از کاهش عملکرد محصولات بوده است (علیزاده، ۱۳۸۷ و کافی و همکاران، ۱۳۸۸). می‌توان گفت که بیش از ۹۰ درصد

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: imani_a45@yahoo.com

مونوساکاریدها)، پلی‌اول‌ها (polyols) (قندهای الکلی مثل سوربیتول و مانیتول)، پلی‌آمین‌ها، ترکیبات آمونومی چهارتایی (خصوصاً گلايسين بتائين)، پروتئين‌های خاص و اسیدهای آلی (عمدتاً ملات و سترات) در سیتوزول افزایش یافته و ادامه فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه را ممکن می‌سازند (Petridis et al., 2012). پرولین پایدارترین اسیدآمینه بوده و در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارد، به همین دلیل، در شرایط نامساعد تجمع آن از سایر اسیدهای آمینه بیشتر بوده و نقش ذخیره کربن و ازت را بازی می‌کند. افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش سنتز کلروفیل می‌شود (Sofa et al., 2005). دلیل تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی افزایش سنتز این اسید آمینه در اثر کاهش اکسیداسیون گلوتامات و نیز کاهش مصرف آن برای سنتز پروتئین‌ها به خاطر توقف رشد گیاه می‌دانند (Larher et al., 2009). ایران خاستگاه اصلی بادام بوده و دارای ژرم‌پلاسما غنی بادام می‌باشد که این ژنوتیپ‌ها به عنوان درختان متحمل در شرایط خشک و نیمه‌خشک مطرح می‌باشند و علی‌رغم ارزیابی و اثبات دیرگل بودن برخی از این ژنوتیپ‌ها در خصوص تحمل آنها به تنش کم آبیاری روی پایه‌های رویشی متحمل به تنش خشکی (مانند GN15) که یکی از مسائل مهم در صنعت میوه کاری می‌باشد، تحقیقاتی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق مقایسه تحمل به تنش کم آبیاری چند ژنوتیپ امید بخش، پربار و دیر گل و یک رقم تجاری بادام و تعیین متحمل‌ترین آنها از روی الگوی تجمع پرولین، پروتئین، فنل کل، فلورسنس کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در واکنش به تنش خشکی ملایم و شدید به منظور بررسی و برآورد پتانسیل تحمل آنها روی پایه GN15 به عنوان یک پایه مناسب برای بادام می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق از سال ۱۳۹۳ تا ۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور رقم/ژنوتیپ شامل دو رقم

است و یک ضرورت برای اصلاح گیاهان متحمل به تنش محسوب می‌شود (Liu et al., 2011). تنش آب باعث تغییرات شیمیایی در درون سلول‌ها می‌شود. ترکیبات سازگار کننده و برخی پروتئین‌های ویژه به سرعت در درون سلول جمع می‌یابند. این ترکیبات ساختار ماکرومولکول‌های مهم را حفظ کرده و این مواد پتانسیل داخل سلول را پایین می‌آورند تا جذب آب تسهیل شده و غلظت نمک داخل سلولی به حالت اولیه خود برگردد (Petridis et al., 2012). آنچه مسلم است استفاده از درختان مقاوم به کم‌آبی نظیر بادام یکی از راهکار-های مهم و پایدار در توسعه باغبانی می‌باشد (Cirio, 1997) و ژنوتیپ‌های بومی متحمل به کم‌آبی اهمیت ویژه‌ای تحت این شرایط دارند (Sorkheh et al., 2009). در بین ژنوتیپ‌ها، ارقام و گونه‌های بادام، تحمل متفاوتی به تنش خشکی، شوری، سرما، فتوسنتز و pH بالا گزارش شده است (Alarcón et al., 2002; Arzani et al., 2010; Barzegar et al., 2012; Zokaei et al., 2013). رقم سوپرنووا و ژنوتیپ‌های ایرانی '8-6' و 'B-124' به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی معرفی شده‌اند (Karimi et al., 2015). Isaakidis و همکاران (۲۰۰۴) عادت‌های رشدی و فیزیولوژیکی بادام رقم فرانسیس روی ۸ پایه را بررسی و رقم فرانسیس روی پایه GN22 را از لحاظ رشد، پتانسیل آب برگ و ریزش برگ متحمل به تنش خشکی گزارش کردند. طبق این گزارش پایه GN22 از لحاظ بیشتر خصوصیات با پایه‌های GN15، GF677 و Derepanto اختلاف معنی‌دار نداشته است. بر پایه این گزارش تنش خشکی باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، تنظیم و تطابق اسمزی از طریق سنتز ترکیبات سازگار کننده در مواجهه با تنش خشکی شده است. همچنین یک پایه متحمل سازگار به تنش خشکی از لحاظ جذب عناصر غذایی بهتر عمل می‌کند. گیاهان همچنین برای کاهش آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو بر سلول‌ها به انواع مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان (آنزیمی و غیرآنزیمی) نیز مجهز هستند (Liu et al., 2011). تحت شرایط تنش خشکی غلظت برخی از یون‌ها مانند پتاسیم، سدیم، کلسیم، نیترات و کلر در واکوئل و برخی متابولیت‌ها نظیر اسیدهای آمینه (بخصوص پرولین)، قندها (به ویژه

جدول ۱- برخی خصوصیات مهم فیزیکی و شیمیایی مخلوط خاک مورد استفاده در گلدان‌ها

عمق خاک (cm)	درصد رطوبت اشباع (S.P)	شوری خاک (dSm-1(EC)	واکنش خاک (pH)	نیترژن (%)	کربن آلی (%O.C)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	کلسیم محلول (ppm)	بافت
۰-۴۰	۲۹	۲/۰۲	۷/۶	۰/۱۶	۱/۵۴	۶۸/۹	۸۵۴	۱۰۳۰	لوم شنی

جدول ۲- خصوصیات آب مورد استفاده برای آبیاری گلدان‌ها

شوری (زیمنس بر متر)	واکنش آب (pH)	کربنات (میلی گرم بر لیتر)	بی کربنات (میلی گرم بر لیتر)	کلر (میلی گرم بر لیتر)	کلسیم (میلی اکی والان بر لیتر)
۲/۰۲۳	۷/۲	۱۱۲	۹۸	۳۵	۶۷

بخش تحقیقات باغبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه و روی پایه‌ها پیوند جوانه انجام گرفت. در ابتدای فصل رویشی سال بعد (۱۳۹۴)، سربرداری نهال‌ها انجام و با اعمال مراقبت‌های لازم، رشد پیوندک‌ها بدون هیچ گونه تنش محیطی و غذایی به مدت ۳/۵ ماه ادامه یافت. تیمار کم آبیاری در مرحله فیزیولوژیکی پایان فاز اول رشد (۱۵ تیر ماه) نهال‌ها در ۳ سطح بر اساس روش بیلان حجمی یا روش لایسیمتر زهکشی (رابطه ی ۱) اعمال شد.

$$I - O = \Delta S$$

رابطه ۱

در این رابطه I: آب ورودی به گلدان، O: آب زهکش شده از انتهای گلدان و ΔS : جبران رطوبت خارج شده از خاک درفاصله بین دو آبیاری به علت تبخیر- تعرق گیاه می باشد. لازم به توضیح است که سطوح آبیاری بر اساس منابع علمی مورد بررسی (Yadollahi et al., 2011) و منحنی مشخصه رطوبتی خاک مورد استفاده (منحنی $\theta-P$) استخراج شد.

تیمارهای کم آبیاری از ۱۵ تیر ماه تا آخر مرداد ماه (به مدت ۴۵ روز) اعمال گردید. دور آبیاری قبل از ماه‌های گرم دو روز و از اول تا آخر مرداد ماه آبیاری به صورت روزانه انجام شد. در انتهای آزمایش و ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمارهای تنش کم آبیاری، برخی صفات رویشی و برخی فاکتورهای مهم بیوشیمیایی در برگ‌ها سنجش و مورد بررسی قرار گرفتند.

فرانسیس و سهند، سه ژنوتیپ دیر گل H، K3-3-1 و K13-40 پیوند شده روی پایه GN15 و تیمار آبیاری در ۳ سطح شامل: آبیاری کامل یا ظرفیت زراعی (شاهد)، تنش ملایم: ۷۰ درصد (۰/۸- مگاپاسکال) و تنش شدید: ۴۰ درصد (۱/۶- مگاپاسکال) ظرفیت زراعی در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی با مختصات جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی و ۴۶ درجه و ۴۵ دقیقه طول شرقی و ارتفاع ۱۳۲۷ از سطح دریا به صورت گلدانی در سه تکرار و سه اصله نهال در هر تکرار انجام شد. میانگین دمای محیط ۳۲ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۱ درجه سانتی‌گراد در شب بود. به منظور انجام این تحقیق، پایه رویشی GN15 تکثیر شده از طریق ریزازدیادی تهیه و هر پایه در اوایل فروردین سال ۱۳۹۳ به گلدان پلاستیکی با قطر دهانه ۴۰ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر حاوی مخلوط کود دامی پوسیده، ماسه نرم و خاک باغ به نسبت وزنی (۱:۱:۱) پس از ضد عفونی کردن خاک (جدول ۱) با قارچ کش بنومیل منتقل و بلافاصله پس از کشت، آبیاری (جدول ۲) و در فضای باغ ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند قرار گرفتند. قبل از انتقال پایه به گلدان، ۴ سوراخ از ته گلدان‌ها ایجاد و درکف گلدان‌ها شن‌ریزه جهت زهکشی ریخته شد. از گلدان‌ها در فضای بیرون مراقبت‌های لازم انجام شد تا پایه‌ها به خوبی رشد نمودند و در هفته اول شهریور ماه پیوندک ژنوتیپ‌ها و ارقام بادام از

قرائت شد. پرولین نمونه‌های برگ بر حسب میکرومول در گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

برای سنجش غلظت پروتئین کل برگ از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. برای تعیین غلظت پروتئین یک میلی لیتر از محلول برادفورد و ۵۰ میکرو لیتر از عصاره گیاهی به آن اضافه کرده و جذب در طول موج ۵۹۵ نانو متر قرائت گردید. منحنی استاندارد پروتئین با استفاده از سرم آلبومین گاوی (BSA) با غلظت های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ میلی گرم در لیتر تهیه و استفاده شد.

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره برگ توسط رنگ سنجی به روش فولین-سیوکالته (Folin-Ciocalteu) و جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت و به صورت میلی گرم در گرم نمونه خشک بیان شد. کاروتنوئید کل برگ طبق روش دره و همکاران (Dere et al., 1998) در ۴۷۰ نانومتر (حداکثر جذب نور کاروتنوئیدها) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر، با استفاده از استون ۸۰٪ به عنوان بلانک قرائت شد.

درصد نشت یونی (EL%)، طبق روش باجی و همکاران (Bajji et al., 2002) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد.

رابطه ۲: $EL\% = Lt/Lo \times 100$ که در این رابطه Lt: هدایت الکتریکی دیسک های برگی پس از ۲۴ ساعت و Lo: هدایت الکتریکی نمونه‌ها پس از اتوکلاو در ۱۲۰ درجه به مدت یک ساعت. برای اندازه گیری فلورسانس کلروفیل در هر گیاه، ابتدا گیره های دستگاه اندازه گیری کلروفیل Opti-Sciences (ساخت شرکت Hansatech Instrument انگلستان) به برگ ها وصل شد و قسمتی از برگ مورد نظر به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفت. پس از قرار گرفتن برگ در مقابل نور، پارامتر های فلورسانس کلروفیل شامل: Fo و Fm بدست آمد و سپس $Fv = Fm - Fo$ محاسبه شد و در نهایت حداکثر کارایی کوآنتومی فتوسیستم II (نسبت Fv/Fm) که تبدیل نور جذب شده به انرژی شیمیایی را نشان می دهد محاسبه گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز طبق روش اسپکتروفوتومتری ارائه شده توسط (Aebi, 1984) و بر اساس میزان ناپدید شدن آب

شاخص های رویشی: طول کل شاخساره: طول کل شاخساره های هر نهال در انتهای تیمار تنش کم آبیاری اندازه گیری و مجموع طول شاخساره‌ها بر حسب سانتی متر برای هر گیاه محاسبه و بیان شد.

تعداد یا تراکم میانگره: در هر بلوک سه نهال و از هر نهال سه شاخه انتخاب شد و تعداد میانگره در واحد مشخصی از شاخساره شمارش گردید.

وزن کل خشک برگ (TLDW): در انتهای آزمایش برگ‌ها در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون خشک شده و وزن خشک آنها به وسیله ترازوی دیجیتالی اندازه گیری گردید.

وزن ویژه برگ (Specific leaf weight): شاخصی از ضخامت برگ می باشد (ماده خشک برگ در واحد سطح آن)، پهنک برگ‌ها پس از اندازه گیری سطح آنها، خشک شده و با یک ترازوی دیجیتال وزن شدند. وزن ویژه برگ بر حسب میلی گرم بر سانتی متر مربع بیان گردید.

اندازه برگ طبق گزارش بانی نسب و راحمی (۲۰۰۷)، از میانگین اندازه‌های مربوط به سه برگ از قاعده انشعابات جانبی هر بوته به کمک نرم افزار آنالیزر تصویر (ImageJ، نسخه 1.32j) و از طریق عکس برداری از برگ‌ها اندازه گیری شد.

ریزش برگ: به منظور اندازه گیری میزان ریزش برگ، در طول مدت آزمایش، تعداد برگ های ریزش یافته تا پایان آزمایش یادداشت برداری شد. تعداد برگ های سبز گیاه از طریق تفاضل تعداد کل برگ ها از برگ های ریزش یافته محاسبه شد (Rahmani et al., 2003).

شاخص های بیوشیمیایی: به منظور سنجش صفات بیوشیمیایی، برگ های تازه و کاملاً توسعه یافته گیاه جمع آوری و بلافاصله در ازت مایع فریز و تا زمان استفاده در فریزر ۸۰- درجه نگهداری شدند.

غلظت پرولین آزاد برگ به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) به روش کلری متریک با استفاده از اسید نین هیدرین توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-2100 Spectrometer ساخت کشور چین) در طول موج ۵۲۰ نانومتر

همچنین یک واکنش سازگاری به تنش کم آبی است و یک تغییر بیوشیمیایی حاصل از آسیب تنش می‌باشد. گزارش شده است که به دلیل نقش مثبت سوربیتول، رافینوز و پرولین به عنوان آنتی‌اکسیدان، می‌توانند اثرات زیان آور تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی را بوسیله محافظت از غشاهای سلولی و آنزیم‌ها بهبود بخشیده و کاهش دهند. همچنین این اسموپروتکتانت‌ها ممکن است به عنوان متابولیت‌های سازگار کننده به پایه‌های متحمل به تنش (مانند GF677 و Rootpac R) منتقل شود تا بتوانند اثرات مفیدی را هم در پایه‌ها و هم در پیوندک اعمال نموده و تنظیم اسمزی را در برگ‌ها فراهم نمایند. در واقع تغییرات فیزیولوژیکی مرتبط با تغییرات بیوشیمیایی در این گیاهان است (Jonak, 2012). در تحقیق حاضر اثرات تجمع پرولین در تحمل به تنش خشکی به وضوح نشان داده شد. به طوری که رقم سهند که بیشترین تحمل به تنش خشکی را نشان داد مقدار پرولین بیشتری در تنش کم آبیاری شدید (۱۵۰/۱ میکرومول برگرم) نسبت به سایر ارقام مورد بررسی داشت و ژنوتیپ H با ۱۴۳/۳ میکرومول برگرم پرولین تحمل مناسبی به تنش شدید خشکی نشان داد هر چند که سایر پارامترهای بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در این تحمل دخیل هستند. تحت تنش شدید آسیب به غشاهای سلولی و مقدار ریزش برگ‌ها در ژنوتیپ‌های متحمل کمتر بود (جدول ۳). زمانی و همکاران (Zamani *et al.*, 2002) نیز در آزمایشی روی بادام گزارش کردند که وقتی تنش خشکی به اندازه کافی شدید باشد، تجمع پرولین بیشتر می‌شود. با این وجود سیرکلج و همکاران (Sircelj *et al.*, 2007) الگوی ثابتی را در میزان پرولین در ارقام سبب تحت تنش خشکی مشاهده نکردند که احتمالاً بیانگر مکانیزم متفاوت در تحمل به تنش در گونه‌های مختلف می‌باشد. دجیبیل و همکاران (Djibil *et al.*, 2005) نیز افزایش معنی‌دار پرولین در ارقام مقاوم را گزارش کرده‌اند که با افزایش میزان تنش خشکی در دانه‌های خرما در ارتباط بود.

بررسی اثرات متقابل تنش کم آبیاری با رقم‌های بادام نشان داد پروتئین کل با تشدید تنش خشکی به طور معنی‌داری

اکسیژنه (H₂O₂) در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به روش اسپکتروفوتومتری و براساس قابلیت بازدارندگی آن از احیای فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیوم (nitrobluetetrazolium) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (Beauchamp and Fridovich, 1971). در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه (SAS Institute, 2000) و سپس مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون Duncan انجام شد.

نتایج و بحث

جدول ۳ اثرات متقابل کم آبیاری و رقم‌های بادام بر غلظت پروتئین، پرولین، فنل، کاتنولیدهای کل و درصد نشت الکتروولیت‌ها را نشان می‌دهد. از لحاظ غلظت پرولین و پروتئین کل بین سطوح تنش خشکی اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.01$) مشاهده شد. مقایسه میانگین غلظت پرولین نشان داد که در تیمار شاهد، رقم فرانیس با ۲۳/۰۶ میلی‌گرم پرولین دارای کمترین و رقم سهند با ۴۸/۱۱ میکرومول برگرم پرولین بودند. با اعمال تنش کم آبیاری ملایم و شدید غلظت پرولین افزایش یافت و در تنش کم آبیاری شدید به بیشترین مقدار خود رسید و رقم سهند و ژنوتیپ H به ترتیب با ۱۵۰/۱ و ۱۴۳/۳ میکرومول دارای بیشترین و ژنوتیپ K13-40 با ۸۶/۱۷ میکرومول کمترین غلظت پرولین را داشتند. فرانیس با ۱۱۵/۸ میکرومول دارای غلظت حد واسط بود و با دو رقم سهند و ژنوتیپ H تحمل مناسبی به تنش کم آبی نشان دادند. گزارش شده است که پرولین توسط گیاهان به عنوان یک مکانیسم تحمل در مقابله و تحمل به تنش خشکی تجمع یافته (Garcia-Sanchez *et al.*, 2007; Bandurska *et al.*, 2009; Krasensky and Jonak, 2012) و افزایش پرولین همراه سایر سازگارکننده‌ها از قبیل رافینوز و سوربیتول در برگ و ریشه درختان جنس پرونوس گزارش شده است (Jiménez *et al.*, 2013; Gholami *et al.*, 2012).

پرولین به عنوان جاروب‌گرگونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و نگهبان مولکولی عمل می‌نماید که ساختارهای پروتئینی را تثبیت می‌کند (Krasensky and Jonak, 2012). تجمع پرولین

جدول ۳ - مقایسه میانگین اثرات متقابل کم آبیاری و رقم بر غلظت پروتئین، پرولین، فنل، کاتنوئیدهای کل و درصد نشت الکترولیت‌ها

تیمار کم آبیاری / رقم	پروتئین (mg g ⁻¹)	پرولین (μmol g ⁻¹)	نشت الکترولیت‌ها (EL%)	کاتنوئید کل (mg g ⁻¹)	فنل کل (mg g ⁻¹)
بدون تنش (شاهد با ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)					
سهند	۱۱/۹۲ ^c	۴۸/۱۱ ^f	۱۰/۳۳ ^{ef}	۰/۱۴ ^{de}	۷۹۹/۷ ^{de}
فرانیس	۱۱/۵۴ ^{cd}	۲۳/۰۶ ^h	۹/۵۸ ^{ef}	۰/۱۴ ^{de}	۶۷۰/۳ ^f
K13-40	۶/۸۰ ^e	۳۲/۵۰ ^{gh}	۱۲/۲۸ ^{ef}	۰/۰۳۳ ^e	۷۱۲ ^f
H	۱۵/۸۲ ^b	۴۲/۱۷ ^{fg}	۵/۴۲ ^f	۰/۱۴ ^{de}	۷۰۰ ^f
K3-3-1	۱۱/۰۰ ^{cd}	۳۳/۸۹ ^{gh}	۱۸/۳۴ ^{def}	۰/۱۲ ^{de}	۶۱۲/۳ ^g
تنش ملایم (کم آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی)					
سهند	۱۶/۱۱ ^{ab}	۵۱/۲۲ ^f	۲۷/۷۴ ^{cd}	۰/۳۶ ^{abc}	۹۴۱ ^{ab}
فرانیس	۱۸/۰۰ ^{ab}	۳۵/۲۲ ^g	۲۹/۸۶ ^{cd}	۰/۲۷ ^{bcd}	۹۰۲/۷ ^{bc}
K13-40	۸/۵۲ ^{de}	۴۲/۲۸ ^{fg}	۸۸/۷۶ ^a	۰/۱۲ ^{de}	۸۴۹/۳ ^{cd}
H	۱۷/۷۸ ^{ab}	۶۲/۱۱ ^e	۲۰/۸۷ ^{de}	۰/۱۴ ^{de}	۸۰۶/۷ ^{de}
K3-3-1	۱۸/۴۳ ^{ab}	۶۴/۸۴ ^e	۴۳/۷۵ ^b	۰/۲۰ ^{cde}	۷۷۷ ^e
تنش شدید (کم آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی)					
سهند	۱۹/۳۵ ^a	۱۵۰/۱ ^a	۲۳/۶۳ ^{de}	۰/۵۲ ^a	۹۹۷ ^a
فرانیس	۱۹/۲۹ ^{ab}	۱۱۵/۸ ^b	۳۷/۷۵ ^{bc}	۰/۲۲ ^{cd}	۹۸۳/۳ ^a
K13-40	۱۹/۱۱ ^{ab}	۸۶/۱۷ ^d	۹۹/۱۳ ^a	۰/۱۲ ^{de}	۹۸۳/۳ ^a
H	۱۵/۹۷ ^{ab}	۱۴۳/۳ ^a	۳۹/۱۹ ^{bc}	۰/۴۱ ^{ab}	۸۷۴/۳ ^c
K3-3-1	۱۸/۷۸ ^{ab}	۹۸/۵۶ ^c	۹۸/۸۴ ^a	۰/۱۹ ^{cde}	۹۰۵ ^{bc}

حروف مشابه در هر ستون از هر بخش نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ یا ۰/۰۵ می‌باشد.

شرایط تنش خشکی می‌شود (Hayat and Ahmad, 2007). تنش‌های محیطی سبب تغییر در بیان ژن و نهایتاً به شکل تولید پروتئین‌هایی مشخص می‌شود که قبل از القاء تنش وجود نداشتند. این پروتئین‌ها به رشد گیاه در شرایط تنش کمک نموده و سبب پایداری غشا می‌شوند (Bartels and Salamini, 2001). در واقع، سنتز پروتئین فرایند سوخت و ساز اساسی است که موجب بهبود تحمل به خشکی گیاه می‌شود. در ارقام بادام با افزایش سطوح تنش مقدار پروتئین کل حفظ شده یا افزایش یافت که احتمال می‌رود این افزایش یکی دیگر از ساز و کارهای مهم تحمل به تنش خشکی باشد که به سازگاری آن تحت این شرایط کمک می‌کند، زیرا بسیاری از پروتئین‌ها از سلول در مقابل آثار زیان بار خشکی محافظت می‌کنند. بر

افزایش یافته است (جدول ۳). کمترین مقدار پروتئین کل در تیمار شاهد با غلظت ۱۱/۴۲ میلی‌گرم و بیشترین مقدار آن با غلظت ۱۸/۵ میلی‌گرم در تنش شدید مشاهده شد. بین ژنوتیپ‌ها و ارقام بادام نیز از لحاظ مقدار پروتئین کل در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار شد. کمترین مقدار ۶/۸ میلی‌گرم در تیمار شاهد و در ژنوتیپ K13-40 و بیشترین مقدار آن در ۱۹/۳۵ و ۱۹/۲۹ میلی‌گرم در رقم سهند و فرانیس در تنش شدید سنجش شد. هر چند که اختلاف معنی‌داری بین ارقام و ژنوتیپ‌ها از لحاظ غلظت پروتئین در تنش شدید مشاهده نشد. بر اساس گزارش‌های موجود پروتئین کل علامت مهمی از وضعیت بیوشیمیایی گیاهان است (Doganlar et al., 2010) و افزایش تجمع پروتئین‌ها، موجب سازگاری فیزیولوژیکی در

کمتر مالون دی آلدئید در برگ ارقام بادام در ارتباط است که این مورد در ژنوتیپ سهند و H و رقم فرانس با وضوح مشاهده گردید (جدول ۳). گزارشاتی نیز وجود دارند که به روشنی نشان دادند که ترکیبات فنلی فعالیت های آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به ویتامین E، C و کاروتن دارند (Wang et al., 2011; Kahkonen et al., 1999). فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی به علت ویژگی احیاء کنندگی آنها می باشد که به آنها اجازه می دهد به عنوان یک عامل احیاء، دهنده هیدروژن و کلات کننده فلزات به ویژه مس و آهن که در واکنش فنتون (Fenton) موجب تولید رادیکال‌های هیدروکسیل از پراکسید هیدروژن می گردند، عمل نمایند. نقش ترکیبات فنلی در از بین بردن گونه های اکسیژن واکنش پذیر طی سیستم فنول/آسکوربیک اسید/پراکسیداز به اثبات رسیده است (Michalak, 2006). به طور کلی در ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل مقادیر فنل کل نسبت به ژنوتیپ‌های حساس غلظت بالاتری نشان دادند (جدول ۳). با وجود اینکه در ژنوتیپ K13-40 مقدار فنل کل در برگ ها بیشتر بود ولی تحمل این ژنوتیپ به تنش خشکی پایین بوده و حساس مشاهده و ارزیابی گردید. می توان گفت علت عدم تحمل به تنش خشکی و زردی و ریزش برگ ها در این ژنوتیپ بیشتر به دلایل مورفولوژیک بوده باشد.

گیاهان علاوه بر سیستم غیرآنزیمی دارای سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی آنزیمی نیز می باشند که می توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی نمایند. این سیستم دفاعی شامل چندین آنزیم آنتی اکسیدان می باشد که سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase) و کاتالاز مهم ترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان موجود در سلول‌های گیاهان می باشند (Xu et al., 2008). فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز با افزایش تنش کم آبیاری و در ارقام بادام معنی دار ($P \leq 0.01$) بود. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در تنش شدید کم آبیاری (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در رقم فرانس و K13-40، و بیشترین فعالیت آنزیم سوپر

اساس گزارش پتریدیس و همکاران (Petridis et al., 2012) گیاهان در مواجهه با تنش خشکی پروتئین‌های خاص و اسیدهای آلی (عمدتاً ملات و سترات) و برخی متابولیت‌ها نظیر اسیدهای آمینه (به خصوص پرولین)، قندها (به ویژه مونوساکاریدها)، پلی‌اول‌ها (polyols) (قندهای الکلی مثل سوربیتول و مانیتول)، پلی‌آمین‌ها، ترکیبات آمونومی چهارتایی (خصوصاً گلايسين بتائين) را در سیتوزول خود افزایش می دهند. ژنوتیپ H، سهند و رقم فرانس با توجه به حفظ و افزایش غلظت پروتئین کل از تحمل بالایی به تنش خشکی برخوردار بودند.

تنش خشکی به صورت معنی داری ($P \leq 0.01$) تجمع فنل ها در برگ ارقام بادام را تحریک نمود (جدول ۳). بیشترین مقدار فنل در برگ ارقام بادام در تنش شدید خشکی استخراج گردید. تنها در ارقام فرانس و ژنوتیپ K13-40 مقدار فنل برگ در تنش شدید معنی دار نبود. در انتهای دوره تنش شدید، بیشترین مقدار فنل کل در برگ ارقام سهند و فرانس و کمترین مقدار در برگ ژنوتیپ K3-3-1 استخراج شد. آبیاری نهال‌های شاهد در همه ارقام بادام به غیر از سهند و ژنوتیپ K13-40 باعث کاهش معنی دار مقدار فنل کل در برگ‌ها شده بود. در تحقیقات مشابه نیز اثر تنش خشکی بر بالا رفتن محتوای مواد فنلی برگ گزارش شده است (Chen et al., 2011; Petridis et al., 2012). Hura و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند عامل تنش می تواند محرک تجمع فنل در گیاه باشد. تجمع کربوهیدرات‌ها در برگ تحت شرایط تنش خشکی، نظیر شرایطی که در خصوص ارقام بادام مشاهده شد می تواند در تجمع ترکیبات فنلی در برگ در شرایط تنش خشکی موثر باشد (Hale et al., 2005) و گیاه در تولید چنین موادی با کاهش بیوماس مواجه می گردد. فنل‌ها ضمن این که سلول را از آسیب های اکسیداتیو محافظت می نمایند باعث پایداری غشاء سلولی می شوند. افزایش محتوای فنل‌ها در تیمار تنش شدید خشکی در همه ارقام و ژنوتیپ های بادام مشاهده شد که این امر نشان می دهد سیگنال های محرک تولید و تجمع این متابولیت های ثانویه در گیاه القا شده است. تجمع مقادیر زیاد فنل‌ها با پایداری بیشتر غشا و مقادیر

جدول ۴-مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش کم آبیاری با رقم بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز در پنج رقم / ژنوتیپ بادام روی پایه GN15.

سطوح تنش	رقم/ژنوتیپ	کاتالاز (میلی گرم بر گرم)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی گرم بر گرم)
شاهد (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)	سهند	۴/۶۶ ^d	۵۶/۸ ^{de}
	فرانیس	۶/۲۴ ^{a-d}	۱۳۸/۵ ^b
	K13-40	۵/۲۸ ^{cd}	۱۸/۲ ^f
	H	۵/۰۲ ^d	۴۸/۷ ^{de}
	K3-3-1	۵/۲۲ ^d	۱۷/۲ ^f
تنش کم آبیاری ملایم (۷۰٪ ظرفیت زراعی)	سهند	۶/۰۷ ^{bcd}	۶۷/۹ ^{cd}
	فرانیس	۷/۴۸ ^{ab}	۲۱۰/۷ ^a
	K13-40	۶/۴۴ ^{a-d}	۲۱/۵ ^f
	H	۵/۷۶ ^{bcd}	۵۶/۶ ^{de}
	K3-3-1	۷/۱۴ ^{abc}	۴۰/۳ ^{ef}
تنش کم آبیاری شدید (۴۰٪ ظرفیت زراعی)	سهند	۶/۲۲ ^{a-d}	۸۶/۵ ^c
	فرانیس	۷/۸۶ ^a	۲۱۶/۷ ^a
	K13-40	۵/۸۶ ^{bcd}	۳۶/۴ ^{ef}
	H	۵/۸۵ ^{bcd}	۶۰/۰ ^{de}
	K3-3-1	۸/۰۱ ^a	۵۱/۷ ^{de}

حروف مشابه در هر ستون از هر بخش نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ یا ۰/۰۵ می‌باشد.

ارتباط با سایر عوامل از جمله صفات مورفولوژیکی و سایر عوامل فیزیولوژیکی ارقام و ژنوتیپ‌ها دارد. تحقیقات نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد (Sairam and Srivastava, 2002). محققین نشان داده‌اند که غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش دو برابر شده و لذا باعث افزایش مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند و از طرفی تنش خشکی نیز میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز و سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش داده است (Lascano et al., 2005). در شرایط تنش آبی ملایم، افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز گزارش شده است، اما کارآیی این آنزیم‌ها با شدیدتر شدن تنش خشکی

اکسید دیسموتاز (SOD) در فرانیس و سهند مشاهده گردید. بررسی اثرات متقابل کم آبیاری × رقم نشان داد فعالیت آنزیم کاتالاز در تقابل رقم سهند، فرانیس و ژنوتیپ H با تنش کم آبیاری بیشتر از بقیه ارقام بود. در ژنوتیپ K-3-3-1 هم فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر از بقیه ارقام و ژنوتیپ‌ها بود و این مسئله نشان داد که احتمالاً بالا بودن فعالیت این آنزیم ارتباطی با تحمل به تنش خشکی نداشته باشد چون که این ژنوتیپ در انتهای تنش شدید خشکی بیشتر برگ‌های خود را ریزش داد. اثرات متقابل رقم و تنش روی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز هم نشان داد که رقم سهند و فرانیس دارای فعالیت بالای این آنزیم در طی تنش کم آبیاری بودند. نتایج همچنین نشان داد که تحمل به تنش خشکی تنها در ارتباط با بالا بودن فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی نبوده بلکه توأم با این موضوع

آب و از دست دادن آب برگ‌ها باشد. این تحقیق و تحقیقات مشابه دیگر نشان داد که حفظ و یکپارچگی غشاهای سلولی در برگ های گیاهان متحمل به تنش خشکی بیشتر است (Bukhov *et al.*, 1990; Bajji *et al.*, 2002) و برگ درختان حساس که با تنش آبی مواجه می‌شوند به سرعت آسیب می‌بینند و این آسیب دیدگی در ژنوتیپ‌های مختلف با یکدیگر فرق می‌کنند (Karimi *et al.*, 2015). به طوریکه از جدول ۳ مشخص است بیشترین آسیب دیدگی در ژنوتیپ K3-3-1 و K13-40 اتفاق افتاد و این ژنوتیپ ها خیلی حساس به تنش شدید کم آبی (۱/۶- مگاپاسکال) ظاهر شدند.

میانگین غلظت کاروتنوئیدها در برگ ارقام و ژنوتیپ های بادام در انتهای دوره تنش ملایم و شدید کم آبیاری نسبت به شاهد به صورت معنی داری افزایش یافت (جدول ۳). در تنش کم آبیاری ملایم بیشترین مقدار کاروتنوئیدها از برگ ارقام سهند، فرانسیس و ژنوتیپ K3-3-1 استخراج شد. ژنوتیپ‌های H و K13-40 کمترین مقدار غلظت کاروتنوئید را نشان دادند. بررسی‌های انتهای دوره تنش شدید نیز نشان از افزایش غلظت کاروتنوئیدهای برگ نسبت به شاهد و تنش ملایم در ژنوتیپ های سهند و H داشت و در ژنوتیپ‌های K13-40 و K3-3-1 مقدار آن نسبت به تنش ملایم معنی دار نبود.

کاروتنوئیدها آنتی اکسیدان‌های محلول در چربی هستند که سه نقش عمده در گیاه ایفا می‌کنند. این ترکیبات نور را در طول موج بین ۴۰۰ و ۵۵۰ نانومتر جذب نوده و به کلروفیل منتقل می‌کنند (نقش کمک به جذب نور).

همچنین با پاکسازی اکسیژن فعال شده و سایر رادیکال های آزاد مضر که به طور طبیعی طی فتوسنتز تولید می‌شوند (از دستگاه فتوسنتزی گیاه حفاظت می‌کنند (نقش آنتی اکسیداتیو) و در حفظ فتوسیستم I ثبات پروتئین های دریافت کننده نور و همین طور غشای تیلاکوئید حائز اهمیت هستند (نقش ساختاری) (Niyogi *et al.*, 2001; Collins, 2001). از آنجا که کارتنوئیدها مسئول پراکنش انرژی اضافه و پاک‌سازی اکسیژن فعال هستند، بنابراین افزایش در میزان کارتنوئیدها باعث کاهش در سطوح اکسیژن فعال و یا فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می

کاهش یافته است (Baisak *et al.*, 1994). در طی این تحقیق نیز فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز با شروع تنش ملایم افزایش یافت و نسبت به شاهد معنی دار شد و با افزایش تنش افزایش یافت. به طور کلی اثرات متقابل تنش با رقم حاکی از افزایش فعالیت نسبت به تنش ملایم بود ولی فعالیت آنزیم کاتالاز تا حدودی ثابت مانده و با سطح قبلی معنی دار نگردید. در حالت کلی در ارقام و ژنوتیپ های متحمل مقادیر این آنزیم ها نسبت به ژنوتیپ‌های حساس فعالیت بالاتری نشان دادند (جدول ۴). با وجود اینکه در ژنوتیپ K13-40 فعالیت کاتالاز بیشتر بود ولی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز پایین بود. می‌توان گفت علت عدم تحمل به تنش خشکی و زردی و ریزش برگ ها در این ژنوتیپ بیشتر به دلایل فیزیولوژیک و مورفولوژیک بوده باشد.

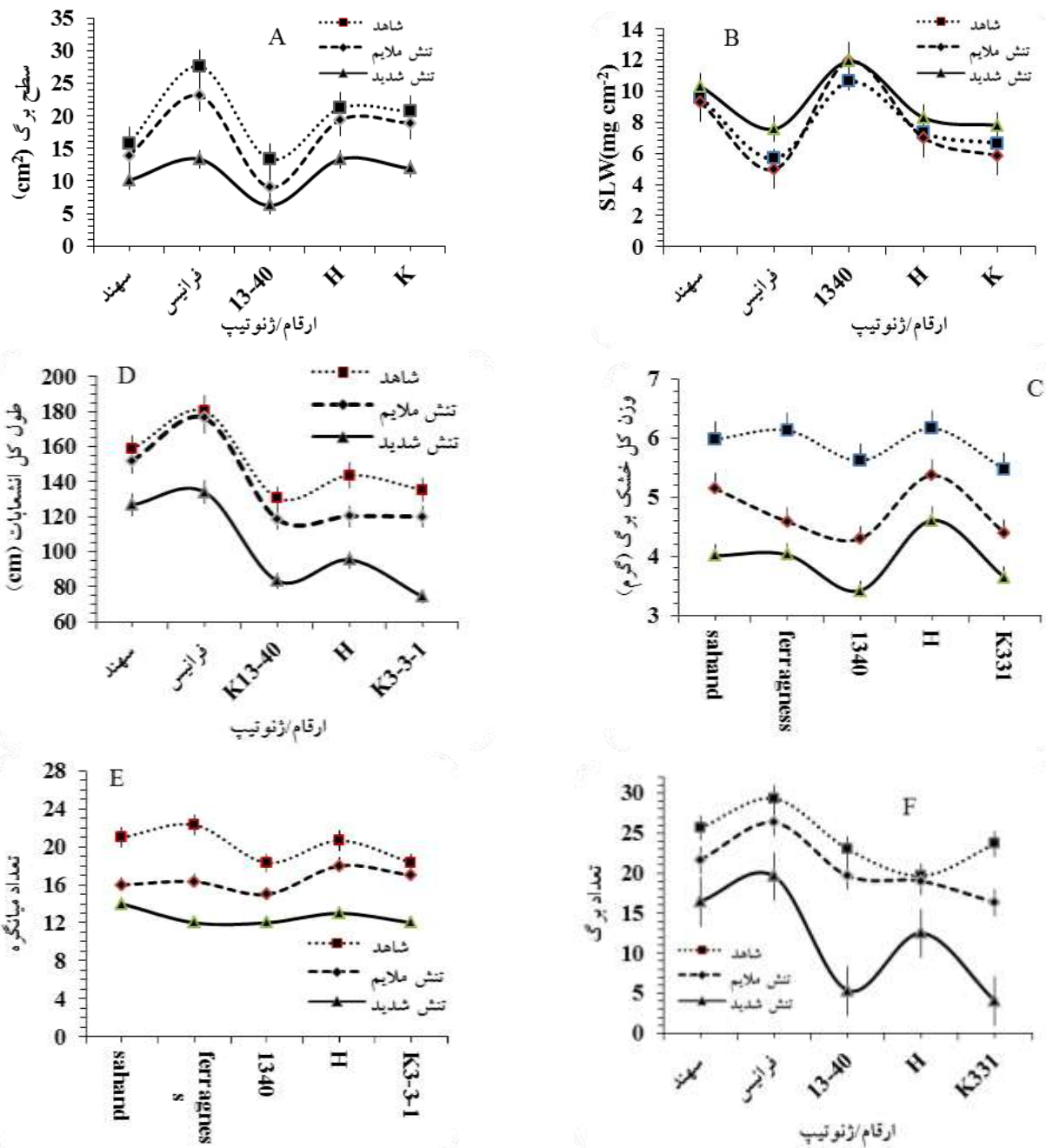
افزایش درصد نشت الکترولیت ها تحت تنش کم آبیاری (از شاهد به تنش ملایم و تنش شدید) و بین ارقام بادام معنی دار ($P \leq 0/01$) بود. بررسی اثرات متقابل کم آبیاری \times رقم نشان داد تحت تنش ملایم و شدید کم آبیاری (۷۰٪ و ۴۰٪ ظرفیت زراعی) بیشترین درصد نشت الکترولیت ها (به ترتیب ۸۸/۷۶ و ۹۹ درصد) در ژنوتیپ K13-40 و کمترین مقدار آن در رقم سهند (۲۳ درصد) و ژنوتیپ H (۲۰ و ۳۹ درصد) اندازه گیری شد. شیب کاهش شاخص پایداری غشا در K3-3-1 و K13-40 بیشتر و در رقم سهند کمتر و ژنوتیپ H در حد متوسط بود. در تحقیقات پیشین نیز کاهش شاخص پایداری غشا در اثر تنش خشکی گزارش شده است و کاهش شاخص پایداری غشا در برگ ژنوتیپ های بادام به موازات کاهش محتوای نسبی آب برگ و آبگیری سلول در شرایط تنش خشکی رخ می‌دهد (Sivritepe *et al.*, 2008; Karimi *et al.*, 2015). نشت الکترولیت‌ها در ارتباط با حفظ و یکپارچگی غشای سلولی تحت تنش خشکی می‌باشد. در حالی که نشت الکترولیت‌ها در برگ‌های درختان شاهد همه ارقام و ژنوتیپ‌ها خیلی پایین بود افزایش معنی‌دار در نشت الکترولیت‌ها در ژنوتیپ‌های بادام K3-3-1 و K13-40 در تنش ملایم احتمالاً در ارتباط با حساسیت بالای این ژنوتیپ‌ها نسبت به کمبود

محافظت نوری در برگ عمل می‌نمایند. پژوهش‌های پیشین نیز این یافته‌ها را تایید نموده است (Gould *et al.*, 2000; Close and Beadle, 2003; Merzlyak *et al.*, 2008).

وضعیت رشدی نهال‌ها: اندازه برگ در هر دو سطح

تنش کم آبیاری در همه ژنوتیپ‌ها کاهش یافت که در رقم فرانیس، سهند و ژنوتیپ H کاهش سطح برگ تحت تنش ملایم با شاهد معنی‌دار نبود ولی تحت تنش شدید با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۱A). وزن ویژه برگ (SLW) در تنش ملایم به استثناء ژنوتیپ K13-40 کاهش یافت و با تنش شدید افزایش یافت (شکل ۱B). وزن کل خشک برگ (TLDW) در هر دو سطح تنش کاهش یافت. در تنش ملایم رقم سهند و H دارای بیشترین و ژنوتیپ‌های K3-3-1 و K13-40 دارای کمترین مقدار TLDW بودند. در تنش شدید رقم فرانیس و H دارای بیشترین TLDW بودند (شکل ۱C). طول کل شاخساره در هر دو سطح تنش کاهش یافت ولی در رقم فرانیس، سهند و K13-40 در تنش ملایم کاهش رشد با شاهد معنی‌دار نبود و در ژنوتیپ‌های K3-3-1 و K13-40 کاهش بیشتر از بقیه ارقام بود (شکل ۱D). نهال‌های یکساله بادام روی پایه GN15 در مواجهه با تنش ملایم و شدید فاصله میانگره‌های خود را کاهش داده و برگ‌های خود را ریزش دادند. ریزش برگ در دو ژنوتیپ K13-40 و K3-3-1 تحت تنش شدید بیش از ۸۰ درصد بود (شکل ۱E و F). با توجه به این که چرخه رشد درختان طولانی مدت است پیش‌غریب کردن نهال‌ها در برنامه‌های اصلاحی درختان میوه حائز اهمیت است. مکانیسم درختان برای مقابله با تنش کم آبی عموماً شامل اجتناب بافت‌ها از تنش کم آبی است. اجتناب از تنش کم آبی شامل بستن روزنه‌ها، تغییر در سطح برگ و همچنین می‌توان به سایر مکانیسم‌ها مانند طول و تراکم ریشه-ها، وزن خشک ریشه و نسبت ریشه به ساقه، افزایش هدایت هیدرولیکی و همچنین عادت ریشه‌دهی عمقی در گیاهان تحت تنش اشاره کرد (Yadollahi *et al.*, 2011). در مطالعه حاضر تفاوت‌های معنی‌داری مابین ژنوتیپ و ارقام از لحاظ سطح برگ، میزان رشد رویشی ریزش برگ تحت اثرات تنش

شود (Pompelli *et al.*, 2010). نتایج این تحقیق نشان داد مقدار کاروتنوئیدها در انتهای دوره تنش خشکی به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. افزایش مقدار کاروتنوئیدها در تنش ملایم کم آبیاری، در ژنوتیپ حساس K3-3-1 به صورت قابل ملاحظه‌ای بیشتر از سایر ارقام بود. این در حالی بود که با افزایش تنش غلظت کاروتنوئیدها در ارقام حساس نسبت به ارقام متحمل کاهش پیدا نمود. از این رو شاید بتوان چنین نتیجه‌گیری نمود که در شرایط تنش خشکی در محیط بیرون، احتمالاً کاروتنوئیدها نقش مهمی در سیستم دفاعی بادام و بخصوص در حمایت از کلروفیل‌ها نداشته باشند. گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی علاوه بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل سیستم غیر آنزیمی اسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها) می‌باشد (Blokhin *et al.*, 2003). کثرت سیستم‌های دفاعی به این خاطر است که انواع اکسیژن‌های واکنش‌زا (ROS) در سلول‌ها و بخش‌های زیر سلولی مختلف تولید می‌شوند و هم‌چنین در خاصیت هائی چون توانائی انتشار، حلالیت و گرایش به وارد واکنش شدن با مولکول‌های بیولوژیک مختلف، متفاوت هستند. بنابراین به مجموعه‌ای بهم پیوسته از مولکول‌های دفاعی برای عمل در هر دو مرحله آلی و غشائی در تمام بخش‌های سلول برای غیر فعال کردن رادیکال‌ها به همان سرعتی که آن‌ها شکل می‌گیرند، نیازاست. گزارش شده که آنتوسیانین‌ها با توجه به جذبی که در طول موج‌های بین ۴۰۰ و ۶۰۰ نانومتر دارند قادرند کلروپلاست را از تشعشعات شدید محافظت نمایند، هرچند که کاروتنوئیدها نقش پررنگ‌تری داشته باشند (Gould *et al.*, 2000). مقایسه نتایج آزمایش‌های درون شیشه‌ای و درون بافتی نشان داده که تجمع آنتوسیانین‌ها در برگ ارقام بادام به صورت عمده تحت شرایط نور شدید صورت می‌گیرد (Karimi *et al.*, 2015). این یافته‌ها نشان می‌دهد که آنتوسیانین‌ها احتمالاً در شرایط تنش خشکی به عنوان عامل



شکل ۱- تغییرات پارامترهای رشدی نهال‌های یکساله بادام روی پایه GN15 در پاسخ به تنش ملایم (۰/۸- مگاپاسکال) و شدید خشکی (۱/۶- مگاپاسکال). (A): اندازه برگ (B): وزن ویژه برگ (C): وزن خشک کل برگ (D): تعداد برگ (E): تعداد میانگره (F): طول کلی انشعابات. هر نقطه بیانگر ۳ تکرار می باشد و نشانگرهای عمودی بیانگر انحراف از میانگین استاندارد (\pm SEM).

برگ‌های خود را در طول دوره تنش حفظ کنند و با تشدید تنش، برگ‌ها زرد و ریزش می‌کنند اما این نوع ارقام اهلی بادام اثرات تنش را با مکانیزم‌های ساختاری و تغییرات فیزیولوژیکی تنظیم و جبران می‌کنند (Levitt, 1980). براساس گزارش Rouhi و همکاران (۲۰۰۷) ژنوتیپ‌های وحشی بادام

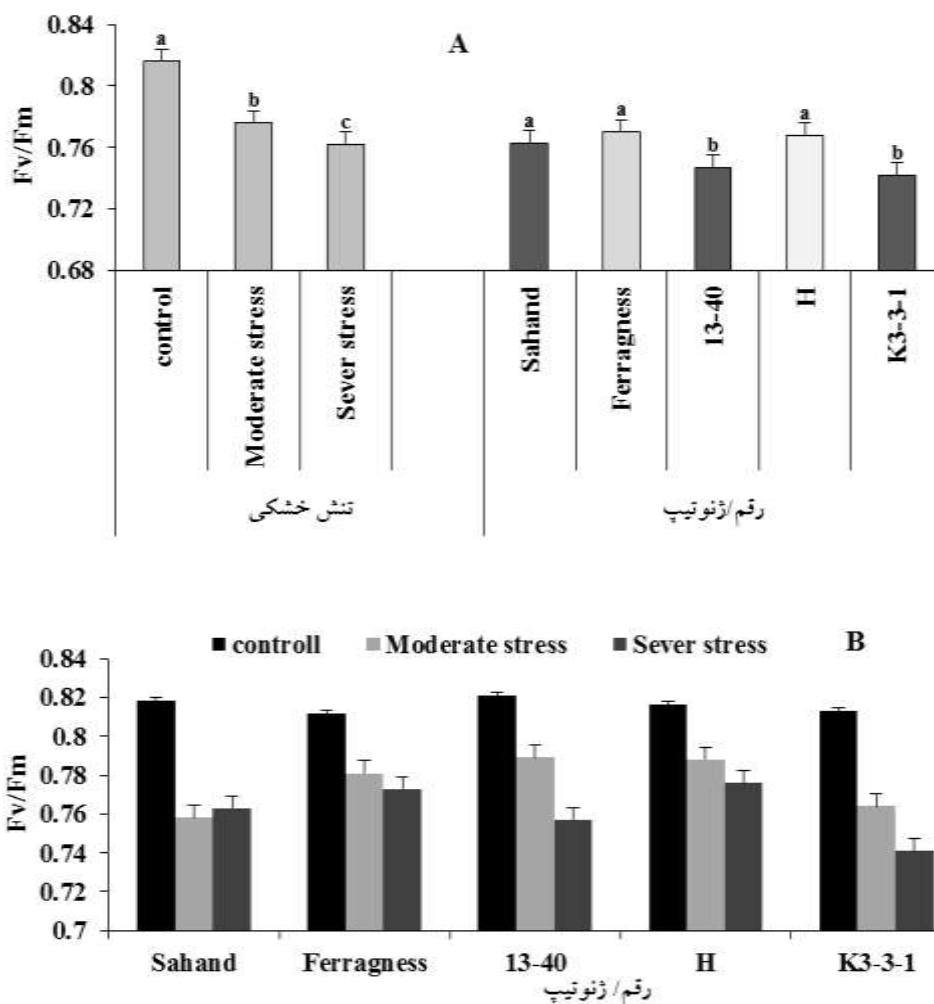
خشکی مشاهده گردید (شکل ۱F). سطح برگ یک ویژگی ژنتیکی می‌باشد که تغییرات اندک را در نتیجه شرایط محیطی تحمل می‌کند (Gispert and Vargas, 2011). عکس العمل رشدی گیاهان به رطوبت پایین خاک به ژنوتیپ گیاه وابسته است و به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌ها و ارقام اهلی بادام می‌توانند

در طول دوره تنش سطح برگ های خود را کاهش داده اند (مکانیسم اجتناب از تنش خشکی). مشاهده شده است که وزن ویژه برگ (SLW) تحت اثر تنش خشکی افزایش پیدا کرد (Bacelar *et al.*, 2006). در این تحقیق بالاترین وزن ویژه برگ در تیمارهای تنش کم آبی مشاهده شد. روند تغییرات وزن ویژه برگ تحت تأثیر سطوح مختلف تنش کم آبیاری در همه ارقام مشابه بود. در رقم های K13-40 و K3-3-1 تحت تأثیر تنش شدید کم آبی SLW افزایش یافت. این صفت هم به ضخامت برگ و هم به تراکم بافت برگ بستگی دارد و تفاوت در SLW ممکن است هماهنگ با تراکم برگ نباشد. در صورتی که محتوای آب برگ افزایش یابد تراکم بافت برگ کاهش می یابد و محتوای آب برگ در تعیین SLW خیلی مهم است. وزن ویژه برگ در واقع بیانگر میزان ماده خشک برگ در واحد سطح آن می باشد. به عقیده Ali و همکاران (۲۰۱۱)، وزن ویژه برگ یکی از صفات مهم در گیاهان بوده و به عنوان یک نشانگر مورفو-فیزیولوژیکی قابل اطمینان برای مطالعه تحمل خشکی در بسیاری از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است. تقریباً در تمامی مطالعات انجام شده روی این گیاهان، تنش رطوبتی باعث افزایش وزن ویژه برگ شده است. افزایش وزن ویژه برگ تحت شرایط تنش خشکی در محصولات باغبانی از جمله درختان هلو (Martinez, 2010) نیز گزارش شده است. Zhou و Xu (۲۰۰۵) نیز اظهار داشتند که تغییرات وزن ویژه برگ در شرایط تنش ممکن است به دلیل تغییرات مقدار کربوهیدرات ها از جمله نشاسته باشد. در تحقیق حاضر SLW تحت تنش ملایم (۰/۸- مگا پاسکال) در رقم K3-3-1 افزایش یافت که می تواند ناشی از کاهش در پتانسیل آب برگ ($w\Psi$) باشد. رقم K3-3-1 کمترین SLW را در میان ژنوتیپ ها و ارقام مورد بررسی داشت و در بررسی نهایی مشخص شد که این رقم حساسیت بیشتری به تنش دارد. اگرچه SLW عموماً در ژنوتیپ ها یا گونه های سازگار شده به شرایط کم آبی پایین تر است (Rieger *et al.*, 2003). نتایج این تحقیق با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد و همه ژنوتیپ های تحت مطالعه در این تحقیق رقم های اهلی بودند و SLW پایین با مقاومت

کمتر به تنش آبی در بادام های اهلی در ارتباط می باشد.

فلوروسانس کلروفیل: با توجه به شکل ۲ همه ارقام در

تیمار شاهد مقدار Fv/Fm مشابه و نزدیک به هم داشتند (۰/۸۱۲ تا ۰/۸۲۱)، در تنش ملایم کاهش Fv/Fm بین ارقام معنی دار شد و بیشترین کاهش مربوط به ژنوتیپ K3-3-1 و سهند بود (از ۰/۸۱۳ به ۰/۷۶۴). تحت تنش شدید کم آبیاری در هر پنج ژنوتیپ و رقم در مقایسه با تنش ملایم شاهد کاهش شدید Fv/Fm مشاهده گردید (شکل ۲B). به طور کلی از طریق اندازه گیری عملکرد فلوروسانس کلروفیل می توان اطلاعاتی در مورد تغییرات کارآیی فتوشیمیایی به دست آورد. تنش های غیرزنده مانند تنش کم آبی از طریق آسیب به فتوسیستم II و سایر اجزای انتقال الکترون سبب بازدارندگی یا کاهش شدید انتقال الکترون فتوستتزی شده که در این صورت سهم بیشتری از انرژی نورانی جذبی، به صورت گرما و فلوروسانس هدر خواهد رفت (Maxwell and Johnson, 2000). در این تحقیق کاهش در Fv/Fm در ارتباط با تغییرات بیوشیمیایی در ارقام بادام بود. چنین تغییراتی در پارامترهای فلوروسانس برای گیاهان یکساله و چند ساله که در معرض تنش خشکی و یا شوری قرار داشتند توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Yadollahi *et al.*, 2011; Ranjbarferdoe *et al.*, 2006). بر اساس پژوهش های انجام شده جریان الکترون در فتوستتز شاخصی برای میزان کلی فتوستتز می باشد به طوریکه اندازه گیری فلوروسانس کلروفیل تخمین میزان جریان الکترون و نحوه عمل فتوستتز را امکان پذیر می سازد (Yuan *et al.*, 2005). گزارشات دیگر نشان می دهد وقتی که Fv/Fm در حد ۰/۸۳ باشد، به این معنی است که تنشی برگیه وارد نشده و مقادیر کمتر از این مقدار، حاکی از وجود تنش در گیاهان است (Maxwell and Johnson, 2000). در این تحقیق با توجه به مقادیر Fv/Fm در ژنوتیپ ها و ارقام، پاسخ های متفاوتی به تنش خشکی در بین ارقام مشاهده شد: در رقم فرانیس، ژنوتیپ H و K13-40 کاهش Fv/Fm تحت تنش ملایم نسبت به بقیه کمتر بود. در تنش شدید این کاهش در رقم فرانیس، سهند و تا حدودی H با تنش ملایم



شکل ۲- اثر رقم/ژنوتیپ و تنش خشکی (A) و اثر متقابل رقم و تیمار تنش خشکی (B) بر میزان فلورسانس متغیر به حداکثر در برگ های ژنوتیپ و ارقام بادام. حروف مشابه در هر ستون از هر بخش نشان دهنده عدم اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد

در برگ‌ها می‌تواند با استفاده از سنجش کلروفیل فلورسانس در برنامه‌های غربالگری به منظور یافتن ژنوتیپ‌های متحمل در پاسخ به تنش خشکی از روی تعیین کارایی فتوسنتزی گیاه اصلاح شده برای این منظور استفاده شود (Baker and Rosenqvist, 2004). بر اساس مشاهدات Romero و همکاران (۲۰۰۳) برگ‌های بادام در مقایسه با سایر گونه‌های جنس پرونوس دارای نقطه اشباع نوری بالایی بوده و کارایی فتوسنتزی بالایی دارند. بنابراین تحت برخی شرایط و تنش محیطی مانند تنش آبی، نور شدید فتوسنتز را زیاد محدود نمی‌کند (Ranjbarferdoe et al., 2006). تمام ژنوتیپ‌ها روی پایه GN15 به تنش متوسط (۷۰٪ ظرفیت زراعی) تحمل نشان دادند اما تنش شدید (۴۰٪ ظرفیت زراعی) F_v/F_m را

معنی‌دار نبود. این ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش شدید خودشان را حفظ نمودند. ژنوتیپ K3-3-1 و K13-40 کاهش سریع F_v/F_m در تنش شدید نشان دادند و با وجود کاهش F_v/F_m در ژنوتیپ H، نهایتاً این ژنوتیپ با شرایط تنش سازگاری نشان داد و این وضعیت با وضعیت پتانسیل آب برگ ($w\Psi$) و RWC ژنوتیپ‌ها در ارتباط بود (دیتا نشان داده نشده است). در حالی‌که ژنوتیپ K13-40 و K3-3-1 نتوانستند تنش شدید را تا انتهای هفته ششم تحمل نمایند و بیش از ۸۰ و ۹۸ درصد برگ‌های خود را ریزش داد (شکل ۱D). اثر تنش خشکی روی کاهش F_v/F_m در درختان سیب، Cashew، قهوه، پایا و سیب زمینی نیز نشان داده شده است (Baker and Rosenqvist, 2004). ارتباط بین پارامترهای کلروفیل فلورسانس و کارایی فتوسنتزی

متفاوت بود. عملکرد و کارایی برگ (فلورسنس کلروفیل) یک معیار بهتری برای تعیین اثر تنش خشکی در بادام است. نهال های بادام سهند و فرانسیس روی پایه GN15 در مقایسه با سایر ژنوتیپ ها تحمل بالایی به تنش خشکی داشتند و می توانند به عنوان رقم مناسب تحت این شرایط استفاده شوند. ژنوتیپ H در مقایسه با سایر ژنوتیپ ها از مقاومت نسبی برخوردار بود. تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ های K13-40 و K3-3-1 در مقایسه با آنها ضعیف بود. بالا بودن وزن ویژه برگ (SLW) می تواند بطور بالقوه نشانگر خوبی برای تحمل به تنش خشکی در نهال های بادام باشند.

کاهش داد. ژنوتیپ سهند و رقم فرانسیس در هفته آخر کاهش معنی داری در مقدار Fv/Fm در میان تیمارهای کم آبی نشان ندادند بنابراین این ژنوتیپ ها ممکن است مکانیسم های کارآمدتر نسبت به سایر ژنوتیپ ها در مواجهه با تنش خشکی داشته باشند.

نتیجه گیری کلی

نهال های بادام روی پایه GN15 تنش ملایم ($w = -0.8 \text{ Mpa}\Psi$) را توانستند تحمل کنند، اما تنش شدید ($w = -1.6 \text{ Mpa}\Psi$) به مدت طولانی رشد نهال های جوان را محدود نمود. تغییرات در رشد شاخساره در پاسخ به تنش خشکی در همه ژنوتیپ ها

منابع

علیزاده، امین. (۱۳۸۷) رابطه آب و خاک و گیاه. چاپ هشتم. انتشارات دانشگاه امام رضا (ع)، مشهد، شماره ۷۵، ۴۸۴ صفحه.
کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش های محیطی در گیاهان. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. شماره ۳۹۴، ۵۰۲ صفحه.

- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. In: Methods in Enzymology (Eds. Colowickand, S. P. and Kaplan, N. O.). Pp. 121-126. New York Academic Press,
- Arzani, K., Yadollahi, A., Ebadi, A. and Wirthensohn, M. (2010) The relationship between bitterness and drought resistance of almond (*Prunus dulcis* Mill.). African Journal of Agricultural Research 5: 861-866.
- Alarcón, J. J., Sánchez-Blanco, M. J., Nicolás, E., Egea, J. and Dicenta, F. (2002) Effects of drought on shoot water relations in 'Antoneta' and 'Marta' almond cultivars grafted onto 'Garrigues' and 'GF677' rootstocks. Acta Horticulturae 591:345-349.
- Ali, M. A., Jabran, K., Awan, S. I., Abbas, A., Zulkiffal, E. M., Acet, T., Farooq, J. and Rehman, A. (2011) Morpho-physiological diversity and its implications for improving drought tolerance in grain sorghum at different growth stages. Australian Journal of Crop Science 5:311-320.
- Bacelar, E. A., Santos, D. L., Jose, M. M. P., Goncalves, B. C., Ferreira, H. F. and Correia, C. M. (2006) Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. Plant Science 170: 596-605.
- Bajji, M., Kinet J. M. and Lutts, S. (2002) The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance in durum wheat. Plant Growth Regulation 36: 61-70.
- Baker, N. R and Rosenqvist, E. (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany 55: 1607-1621.
- Baninasab, B. and Rahemi, M. (2007) Evaluation of three wild species of almond on the basis of their morphological characters. Journal of Plant Science 2:61-67.
- Bartels, D and Salamini, F. (2001) Desiccation tolerance in resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. A contribution to the study of drought tolerance at the molecular level. Plant Physiology 127: 1346-1353
- Barzegar, K., Yadollahi, A., Imani, A. and Ahmadi, N. (2012) Response to drought stress of almond cultivars and genotypes grown under field conditions. International Journal of Agriculture: Research and Review 2: 205-210.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39:205-207.
- Baisak, R., Rana, D., Acharya, P. B. B. and Kar, M. (1994) Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress. Plant Cell Physiology 35: 489-495.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44:276-287.
- Blokhin, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. (2003) Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annual Review of Botany 91:179-194.

- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bukhov N. G., Sabat S. C., Mohanty P. (1990) Analysis of chlorophyll a fluorescence changes in weak light in heat treated *Amaranthus* chloroplasts. *Photosynthesis Research* 23: 81-87.
- Chen, Y., Guo, Q., Liu, L., Liao, L. and Zhu, Z. (2011) Influence of fertilization and drought stress on the growth and production of secondary metabolites in *Prunella vulgaris* L. *Journal of medicinal plant research* 5: 1749-1755.
- Cirio, U. (1997) Agrochemicals and environmental impact in olives farming. *Olivea* 65:32-39.
- Close, D. C., Beadle, C. L., Holz, G. K. and Brown, P. H. (2002) Effect of shade cloth tree shelters on cold induced photoinhibition, foliar anthocyanin and growth of *Eucalyptus globules* and *E. nitens* seedlings during establishment. *Australian Journal of Botany* 50:15-20.
- Collins, A. R. (2001) Carotenoids and genomics stability. *Mutant Research* 475: 1-28.
- Djibril, S., Mohamed, O.K., Diaga, D., Diégane, D., Abaye, B.F., Maurice, S. and Alain, B. (2005) Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. *African Journal of Biotechnology* 4: 968-972.
- De Campos, M. K. F., De Carvalho, K., De Souza, F. S., Marur, C. J., Pereira, L. F. P., Filho, J. C. B. and Vieira, L. G. E. (2011) Drought tolerance and antioxidant enzymatic activity in transgenic "Swingle" citrumele plants over-accumulating proline. *Environmental and Experimental Botany* 72:242-250.
- Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R. (1998) Spectrophotometric determination of chlorophyll- A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany* 22:13-
- Doganlar, Z., Demir, B. K., Basak, H. and Gul, I. (2010) Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. *African Journal Agriculture Research* 5: 2056-2065.
- Garcia-Sanchez F., Syvertsen J. P., Martinez V. and Melgar J. C. (2006) Salinity tolerance of "Valencia" orange trees on rootstocks with contrasting salt tolerance is not improved by moderate shade. *Journal of Experimental Botany* 121:1-10.
- Gispert, J. R. and Vargas, F. J. (2011) "Assessment of drought tolerance in almond varieties." *Acta Horticulture* 912:121-127.
- Gholami, M., Rahemi, M. and Rastegar S. (2012) Use of rapid screening methods for detecting drought tolerant cultivars of fig (*Ficus carica* L.). *Scithia Horticulturae* 143: 7-14.
- Gould, K. S., Markham, K. R., Smith, R. H. and Goris, J. J. (2000) Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn. *Journal of Experimental Botany* 51: 1107-1115.
- Hayat, S. and Ahmad, A. (2007) *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Springer. Pp: 97-99.
- Hale, B. K., Herms, D. A., Hansen, R. C., Clausen, T. P. and Arnold, D. (2005). Effects of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides and rapid induced resistance of poplar to two lymantriid defoliators. *Journal of Chemistry and Ecology* 31: 2601-2620.
- Hura, T., Hura, K. and Grzesiak, S. (2009) Possible contribution of cell-wall- bound ferulic acid in drought resistance and recovery in triticale seedlings. *Journal of Plant Physiology* 166:1720- 1733.
- Isaakidis, A., Sotiropoulos, T., Almaliotis, D., Therios, I. and Stylianidis, D. (2004) Response to severe water stress of the almond *Prunus amygdalus*. 'Ferragnes' grafted on eight rootstocks. *New Zealand Journal Crop and Horticultural Science* 32:355-362.
- Jiménez, S., Dridi, J., Gutiérrez, D., Moret, D., Irigoyen, J.J., Moreno, M. A., Gogorcena, Y. (2013) Physiological, biochemical and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology* 33:1061-75.
- Karimi, S., Yadollahi, A., Arzani, K., Imani, A. and Aghaalikhani, M. (2015) Gas- exchange response of almond genotypes to water stress. *Photosynthetica* 53: 29-34.
- Kahkonen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999) Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 47: 3954-3962.
- Krasensky, J. and Jonak, C. (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. *Journal of Experimental Botany* 63:1593-1608.
- Larher, F. R., Lugan, R., Gagneul, D., Guyot, S., Monnier, C., Lespinasse, Y. and Bouchereau, A. (2009) A reassessment of the prevalent organic solutes constitutively accumulated and potentially involved in osmotic adjustment in pear leaves. *Environmental and Experimental Botany* 66:230-241.
- Lascano, H. R., Antonicelli, G. E., Luna, C. M., Melchiorre, M. N., Gomez, L. D., Racca, R. W., Trippi, V. S. and Casano, L. M. (2005) Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Australian Journal of Plant Physiology* 28:1095-1102.
- Levitt, J. (1980) Responses of plants to environmental stresses, Volume II: Water, radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York, 479 p.

- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L. and Yang, R. (2011) Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in Karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany* 71:174-183.
- Martinez, X. D. (2010) Effects of irrigation and nitrogen application on vegetative growth, yield and fruit quality in peaches (*Prunus persica* L. Batsch cv. Andross) for processing. PhD thesis, Lleida University, Spain, 136 p.
- Maxwell, K. and Johnson, G. N. (2000) Chlorophyll fluorescence- A practical Guide. *Experimental Botany* 51: 659-668.
- Merzlyak, M. N., Chivkunova, O. B., Solovchenko, A. E. and Naqvi K. R. (2008) Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves. *Journal of Experimental Botany* 59: 3903-3911.
- Michalak, A. (2006) Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environment Study* 15: 523-530.
- Niyogi, K. K., Shih, C., Chow, W. S., Pogson, B. J., DellaPenna, D. and Bjorkman, O. (2001) Photoprotection in a zeaxanthin-and lutein-deficient double mutant of *Arabidopsis*. *Photosynthetic Research* 67: 139-145.
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. and Giannakoula, A. (2012) Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry* 60:1-11.
- Pompelli, M. F., Barata-Luís, R., Vitorino, H. S., Gonçalves, E. R., Rolim, E. V., Santos, M. G., Almeida-Cortez, J. S., Ferreira, V. M., Lemos, E. E. and Endres, L. (2010) Photosynthesis, Photoprotection and antioxidant activity of purging nut under drought deficit and recovery. *Biomass Bioenergy* 34:1207-1215.
- Rahmani, A., Daneshvar, H. A. and Sardabi, H. (2003) Effect of salinity on growth of two wild almond species and two genotypes of the cultivated almond species (*P. dulcis*). *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 11: 202-208.
- Ranjbarfardooei, A., Samson R. and Van Damme, P. (2006) Chlorophyll fluorescence performance of sweet almond [*Prunus dulcis* (Miller) D. Webb] in response to salinity stress induced by NaCl. *Photosynthetica* 44: 513-522.
- Rouhi, V., Samson, R., Lemeur R. and Van Damme, P. (2007) Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany* 59:117-129.
- Romero, P., Navarro, J., Garcia, F. and Ordaz, P. (2003) Effects of regulated deficit irrigation during the preharvest period on gas exchange, leaf development and crop yield of mature almond trees. *Tree Physiology* 24: 303-312.
- Rieger, M., Lo Bianco, R. and Okie, W. R. (2003) Response of *Prunus ferganensis*, *Prunus persica* and two interspecific hybrids to moderate drought stress. *Tree Physiology* 23:51-58.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science* 162: 897-904.
- SAS Institute (2000) SAS/STAT User's Guide. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D. and Batic, F. (2007) Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae* 113: 362-369.
- Sivritepe, N. N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M. and Ozdemir, F. (2008) Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. *Biologia Plantarum* 52: 573-576.
- Sofa, A., Tuzio, A. C., Dichio, B. and Xiloyannis, C. (2005) Influence of water deficit and rewatering on the components of the ascorbate-glutathione cycle in four interspecific *Prunus* hybrids. *Plant Science* 169:403-412.
- Sorkheh, K., Shiran, B., Rouhi, V., Asadi, E., Jahanbazi, H., Moradi, H., Gradziel, T. M. and Martinez-Gomez, P. (2009) Phenotypic diversity within native Iranian almond (*Prunus* spp.) species and their breeding potential. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56:947-961.
- Wang, Y., Ma, F., Li, M., Liang, D. and Zou, J. (2011) Physiological responses of kiwifruit plants to exogenous ABA under drought conditions. *Plant Growth Regulation* 64:63-74.
- Xu, Z. Z. and Zhou, G. S. (2005) Effects of water stress and high nocturnal temperature on photosynthesis and nitrogen level of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Plant and Soil* 269:131-139.
- Yadollahi, A., Arzani, K., Ebadi, A., Wirthensohn, M. and Karimi, S. (2011) The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae* 129: 403-413.
- Yuan, S., Liu, W. L., Zhang, N. H., Wang, M. B., Liang, H. G. and Lin, H. H. (2005) Effects of water stress on major photosystem II gene expression and protein metabolism in barley leaves. *Physiologia Plantarum* 125: 464-473.
- Zamani, Z., Taheri, A., Vezaei, A. and Poustini, K. (2002) Proline content and stomatal resistance of almond seedlings as affected by irrigation intervals. *Acta Horticulturae* 591: 411-416.
- Zokae-Khosroshahi, M., Esna-Ashari, M., Ershadi, A. and Imani, A. (2013) Investigation of drought tolerance in five Iranian almond species based on the important morphological and physiological markers Ph.D. Thesis. Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.
- Zang, X. and Setsuko, K. (2007) A proteomics approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. *Phytochemistry* 68:426-437.