



دانشگاه گنبد کاووس

نشریه "حفاظت زیست بوم گیاهان"

دوره یازدهم، شماره بیست و سوم

<http://pec.gonbad.ac.ir>

علمی-پژوهشی

تحمل به خشکی نهال‌های افرا پلت با استفاده از تجزیه و تحلیل ریخت- فیزیولوژیکی

مکرم روان بخش^{۱*}، بابک باباخانی^۲، محمود قاسم‌نژاد^۳، فریبا سرپوشان^۴، محمد حسن بیگلویی^۵

^۱مربی پژوهشی، گروه پژوهشی محیط زیست طبیعی، پژوهشکده محیط زیست جهاد دانشگاهی، رشت، ایران؛ دانش آموخته دکتری زیست‌شناسی گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۲استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۳استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
^۴استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۵دانشیار، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۲

چکیده

افرا پلت یکی از گونه‌های صنعتی و غالب جنگل‌های هیرکانی (خزری) است. این گونه در جنگل‌های دیگر نقاط دنیا کمتر دیده می‌شود و فقط از جنگل‌های قفقاز گزارش شده است و از این رو اطلاعات در خصوص این گونه ارزشمند بسیار محدود است. هدف از این تحقیق بررسی پاسخ این گونه به تنش خشکی به عنوان یکی از پیامدهای تغییرات اقلیمی است. نهال‌های افرا از نظر ارتفاع، قطر پایه، سطح برگ، سطح ویژه برگ، زی‌توده، رنگدانه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب، پرولین آزاد، مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نهال‌های گلدانی یک‌ساله در معرض چهار رژیم رطوبت آب (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) تحت عنوان شاهد (بدون تنش آبی)، تنش آبی شدید، تنش آبی متوسط و تنش آبی خفیف قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تنش خشکی صفات رشد در افرا پلت را کاهش داد و موجب کاهش ارتفاع نهال‌ها، قطر یقه، زی‌توده و سطح برگ شد، اما سطح ویژه برگ در تیمار تنش متوسط افزایش معنی‌داری را نشان داد. تنش خشکی محتوای کلروفیل را کاهش داد، اما کاروتنوئیدها تفاوت معنی‌داری را در تیمارهای تنش نشان ندادند. محتوای نسبی آب برگ فقط تحت تنش شدید خشکی کاهش معنی‌دار داشت. محتوای پرولین و مالون‌دی‌آلدئید در تیمار تنش متوسط و شدید افزایش معنی‌دار یافت. تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز گردید و بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌ها در تنش خفیف و متوسط مشاهده گردید. پژوهش حاضر نشان داد که نهال‌های افرا پلت توانسته‌اند با پاسخ‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی به خشکی مقاومت نشان داده و به کمک مکانیسم‌های اجتناب و تحمل به تنش خشکی پاسخ داده‌اند. نتایج این تحقیق به‌طور خلاصه مکانیسم‌های تحمل به خشکی را در افرا پلت را نشان داد و اطلاعات پایه‌ای برای پژوهش‌های بیشتر در آینده فراهم خواهد ساخت.

واژه‌های کلیدی: تنش خشکی، تنش اکسیداتیو، تنظیم اسمزی، افرا پلت

مقدمه

با افزایش پیش‌بینی شده در دمای هوای جهانی گردد (Wang et al., 2016). نابودی گونه‌های درختی در نتیجه شرایط زیست‌محیطی نامساعد روزافزون می‌تواند منجر به تغییرات ساختار و ترکیب توده‌های پوشش گیاهی گردد و در بلندمدت اثرات اقتصادی منفی بر تنوع زیستی داشته باشد. کاربرد گونه‌های درختی سازگارتر با خشکی می‌تواند

بر اساس پیش‌بینی‌ها، تغییر اقلیم عامل تغییر در پراکنش بارش، افزایش دوره‌های خشکی شدید، افزایش دمای هوا و افزایش سیلاب‌ها در آینده است (رستم‌آبادی و همکاران، ۱۳۹۵). تغییر اقلیم ممکن است منجر به توسعه مناطق و نواحی تحت تأثیر خشکی و افزایش شدت خشکی هم‌زمان

*نویسنده مسئول: Ravanbakhsh@acecr.ir

یکی از راه‌حل‌ها جلوگیری از این مشکل باشد (Kunze et al., 2016).

تنش خشکی از جمله تنش‌های محیطی اساسی کنترل‌کننده رشد گیاه است (Ying et al., 2015). گیاهان می‌توانند با ایجاد تغییرات ریخت‌شناسی مانند ریشه‌های گسترده، عمیق یا متراکم (افزایش جذب آب)، محدود کردن رشد برگ و بسته روزنه‌ها از خشکی جلوگیری کنند. علاوه، گیاهان مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند تجمع محلول‌های سازگار، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و آنزیمی مقاومت به خشکی را افزایش دهند (Wu et al., 2013). تجمع و تولید انبوه گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) از جمله رادیکال سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اکسیژن یکتایی (O_2^{\cdot}) یا رادیکال هیدروکسیل (OH^{\cdot}) در تنش خشکی می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو شود (Sarker & Oba, 2018). گونه‌های فعال اکسیژن با از بین بردن درشت مولکول‌ها، متابولیسم گیاه را مختل و در مقابل گیاهان نیز آن‌ها را مهار می‌کنند و انرژی اضافی را با کمک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مدیریت می‌کنند (Khaleghi et al., 2019; Guo et al., 2018). گیاهان پتانسیل اسمزی را از طریق مجموعه املاح سازگار (اسیدهای آمینه آزاد، پرولین، قندهای محلول و پروتئین محلول) کاهش می‌دهند. تنظیم اسمزی همچنین می‌تواند پایداری غشای سلولی و تثبیت ماکرو مولکول‌ها را بهبود بخشد و به جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن کمک کند و در نهایت مقاومت گیاه در برابر خشکی را بهبود بخشد (Abid et al., 2018; Wu et al., 2013).

نهال‌ها به دلیل کمبود ذخایر کربن، سیستم ریشه‌های ضعیف و دسترسی کمتر به ذخایر آب خاک بیشتر در معرض خشکی و محدودیت منابع آبی هستند (Kunze et al., 2016). دانش مکانیسم‌های مقاومت به خشکی گیاهان بومی، درک بهتری از تحمل تنش از طریق ارزیابی فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیک، ارائه خواهد داد (Díaz-López et al., 2012). واکنش نهال سفید پلت (*Salix alba*) به تنش خشکی با تیمارهای دور آبیاری و سنجش صفات ریخت‌شناسی، مقاومت نسبی گونه به تنش خشکی حتی تحت تنش کم‌آبی شدید را نشان داد (برشان و همکاران، ۱۳۹۵). ارزیابی مقاومت به خشکی را در نهال‌های شش‌ماهه گل‌ابی جنگلی (*Pyrus boissieriana*)

نشان داد که گونه مورد بررسی با کاهش برخی فعالیت‌های فیزیولوژیکی از جمله تبادلات گازی، پتانسیل آبی و محتوی نسبی رطوبت و افزایش مؤلفه‌های آنتی‌اکسیدانی تنش را تحمل نموده است (زر افشار و همکاران، ۱۳۹۵). بررسی پاسخ نهال‌های چهارماهه افرا شیردار (*Acer cappadocicum*) به چهار سطح تنش خشکی عدم تغییر معنی‌دار بیشتر صفات ریخت‌شناسی را نشان داد. نویسندگان زمان کوتاه بین شروع اعمال تنش و آستانه پژمردگی گونه را دلیل احتمالی عدم پاسخ پارامترهای ریخت‌شناسی به تنش دانستند (اصغر پور و همکاران، ۱۳۹۶). افرا پلت (*Acer velutinum* Boiss.) از جمله باارزش‌ترین گونه‌های بومی ایران با وفور بالا و انحصاری جنگل‌های هیرکانی است که در برنامه‌های جنگل‌کاری و احیای جنگل مورد استفاده قرار می‌گیرد (مظفریان، ۱۳۸۳; Akhani et al., 2010). این تحقیق به دنبال شناسایی میزان موفقیت نسبی گونه افرا پلت در شرایط مختلف کاهش رطوبت خاک است. هدف این تحقیق، بررسی پاسخ نهال‌های این‌گونه به سطوح مختلف تیمارهای خشکی به کمک صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بود. نتایج این تحقیق درک مناسبی از اثرات بالقوه کمبود آب بر روی نهال‌های افرا پلت ارائه می‌دهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت طرح تصادفی کامل با سه تکرار و چهار سطح تنش خشکی اجرا شد. نهال‌های یک‌ساله از مرکز تهیه نهال ایستگاه پیلمبرا در شهرستان رضوان‌شهر تهیه شد. نهال‌ها به گلدان‌های پلی‌اتیلنی انتقال یافت و تا زمان اعمال تنش خشکی به میزان مناسب آبیاری شدند. برای تعیین میزان چهار سطح تنش خشکی (۲۵٪ (تنش شدید)، ۵۰٪ (تنش متوسط)، ۷۵٪ (تنش خفیف) و ۱۰۰٪ (بدون تنش) درصد ظرفیت زراعی، ابتدا برخی پارامترهای خاک از جمله بافت، وزن مخصوص و رطوبت در آزمایشگاه 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 (آهنی و همکاران، ۱۳۹۶; Saxton et al., 1986).

قطر یقه با استفاده از کولیس دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) و ارتفاع نهال‌ها با استفاده از خط کش مدرج با

در ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (W/V) مخلوط شده و در ۱۲۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر فاز بالایی با ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) مخلوط و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد 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 (Chakhchar et al., 2015). فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از طریق توانایی مهار کاهش فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فومازان توسط رادیکال‌های سوپراکسید اندازه‌گیری شد. یک واحد SOD به‌عنوان مقدار آنزیم موردنیاز برای ایجاد مهار ۵۰ درصدی کاهش فتوشیمیایی NBT در ۵۶۰ نانومتر در نظر گرفته شد (Giannopolitis et al., 1977). فعالیت پراکسیداز گایاکول (GPX) بر اساس روش گایاکول موردسنجش قرار گرفت. GPX توسط پراکسید هیدروژن، گایاکول را به تتراکوایاکول در ۴۷۰ نانومتر کاتالیز می‌کند. میزان جذب به مدت ۲ دقیقه خوانده شد (Plewa et al., 1991).

در نهایت برای تجزیه و تحلیل آماری، داده‌ها در نرم‌افزار اکسل سازمان‌دهی و نمودارهای مربوط ترسیم شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام گرفت. از تجزیه واریانس یک‌طرفه به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر هریک از صفات استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. پیش از آزمون، نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگورف-سمیرنوف و همگنی واریانس بین گروه‌ها با آزمون لون بررسی شد.

نتایج

جدول ۱ تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی در تیمارهای تنش در گونه افرا را نشان می‌دهد. تمام صفات ریخت‌شناسی اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد را نشان دادند و تنها صفت قطریقه تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد را نشان دادند. با توجه به معنی‌دار بودن تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی، تفاوت میانگین تیمارها در جدول ۲ آمده است. ارتفاع و قطر یقه نهال‌ها به ترتیب افت ۲۱/۵ و ۱۶/۹ درصد در تیمار تنش شدید و افت

دقت (۰/۱ متر) اندازه‌گیری گردید. برای تعیین زی‌توده اندام‌ها از هر تکرار یک نهال از خاک خارج شده و پس از شست‌وشوی خاک اطراف ریشه، به سه قسمت ریشه، ساقه و برگ جدا شدند. قبل از قرار دادن در آون، وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری سپس با قرار دادن در آون (دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱) توزین و زی‌توده‌های ریشه، ساقه و برگ اندازه‌گیری و ثبت شد. به‌منظور اندازه‌گیری سطح برگ از هر تیمار سه پایه انتخاب و از هر پایه سه برگ به‌صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از دستگاه سطح برگ سنج اندازه‌گیری شد. از نسبت بین کل سطح برگ هر گیاه و کل وزن خشک برگ در هر گیاه، سطح ویژه برگ محاسبه شد.

به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ ابتدا نمونه‌های برگ با آب مقطر شسته شده و با کاغذ صافی خشک شدند. ده دیسک برگ به قطر یک سانتیمتر از هر برگ جدا و وزن آن‌ها (وزن تر) یادداشت شد. نمونه‌ها 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 ده‌هزارم وزن شدند. وزن آماس یادداشت و سپس در داخل آون در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و وزن خشک آن‌ها یادداشت شد (Toscano et al., 2016). برای اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ ساییده شده به ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی واتمن شماره ۲ عبور داده شد. جذب نوری محلول صاف‌شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید (Arnon, 1967؛ Lichtenthaler, 1987). میزان پرولین به روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) انجام گرفت. در این روش به نمونه برگ منجمد آسیاب‌شده با نیتروژن مایع سولفوسالیسیلیک اسید اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول رویی و صاف‌شده به معرف ناین‌هیدرین و استیک‌اسید افزوده شد و پس از حمام آب گرم، واکنش در حضور یخ متوقف و تولوئن به مخلوط اضافه شد. جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکترومتر قرائت شد. غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از منحنی جذب غلظت‌های پرولین استاندارد محاسبه شد. میزان پراکسیداسیون لیپیدها از طریق میزان مالون‌دی‌آلدئید اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ

ترتیب در تیمارهای تنش خفیف، متوسط و شدید نسبت به شاهد نشان داد و در نهایت در ویژگی زی توده ریشه به ترتیب افت ۵۸/۳ و ۵۵/۴، ۳۳/۸، متوسط و شدید نسبت به شاهد مشاهده شد. سطح برگ نیز کاهش ۳۶/۳، ۵۰/۷ و ۷۱/۹ درصدی را به ترتیب در تنش، متوسط و شدید نسبت به شاهد نشان داد و در نهایت شاخص سطح ویژه برگ افزایش معنی دار در سطح تنش متوسط به میزان ۷۰/۹ درصد نسبت به شاهد نشان داد.

۱۵/۹ و ۶/۳ درصد در تیمار تنش متوسط نسبت به شاهد را نشان دادند. افت زی توده کل و زی توده اندامها در هر سه سطح تنش اعمال شده کاهش معنی دار را نشان داد. میزان افت زی توده کل به ترتیب ۳۱، ۵۹/۷ و ۶۴/۷ درصد در تنش خفیف، متوسط و شدید نسبت به شاهد بود. کاهش در میزان زی توده برگ در تنش خفیف، متوسط و شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۳۶، ۷۷/۷ و ۸۰/۱۲ درصد مشاهده شد. زی توده ساقه کاهش ۹/۲، ۴۸/۱۸ و ۶۲/۹ درصدی را به

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ریخت شناسی نهال های گونه افرا در تیمارهای تنش خشکی

صفات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی داری
ارتفاع	۳	۲۵۴/۱۳۲	۷/۶۸	۰/۰۰۱**
قطر یقه	۳	۱۰/۳۰۸	۳/۷۸	۰/۰۲*
زی توده ریشه	۳	۲۵۵/۳۳	۱۵/۸۷	۰/۰۰۱**
زی توده ساقه	۳	۵۰	۳۷/۵	۰/۰۰۰**
زی توده برگ	۳	۱۲۱/۴۱	۹۱/۰۶	۰/۰۰۰**
زی توده کل	۳	۱۱۴۲/۵۲	۵۲/۷	۰/۰۰۰**
سطح برگ	۳	۴۱۸۵/۲۳	۳۵/۶۷	۰/۰۰۰**
سطح ویژه برگ	۳	۴۳۳۶/۵۴	۱۲/۳۳	۰/۰۰۲**

** اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱، * اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ns: معنی دار نیست.

جدول ۲- میانگین و انحراف از میانگین صفات ریخت شناسی نهال های افرا در تیمارهای تنش خشکی

صفات	تیمار ۱۰۰ درصد	تیمار ۷۵ درصد	تیمار ۵۰ درصد	تیمار ۲۵ درصد
	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی
ارتفاع (سانتی متر)	۵۱/۲±۵/۶۶ ^a	۵۰/۱±۷/۲۳ ^a	۴۳/۱±۳/۴۴ ^b	۴۰/۲±۴/۳۳ ^b
قطر یقه (میلی متر)	۱۴/۰±۲/۵۸ ^a	۱۴/۰±۰/۵۲ ^a	۱۳/۰±۳/۵۹ ^{ab}	۱۱/۰±۸/۴۸ ^b
زی توده ساقه (گرم)	۱۴/۰±۳/۸۸ ^a	۱۱/۰±۷/۸۸ ^b	۷/۰±۳/۳۳ ^c	۵/۰±۳/۳۳ ^c
زی توده ریشه (گرم)	۳۴/۲±۲/۹ ^a	۲۲/۳±۷/۲۸ ^b	۱۵/۰±۳/۸۸ ^{bc}	۱۴/۱±۳/۲۰ ^c
زی توده برگ (گرم)	۱۶/۰±۶/۳۳ ^a	۱۰/۱±۶/۲۰ ^b	۳/۰±۷/۳۳ ^c	۳/۰±۳/۳۳ ^c
زی توده کل (گرم)	۶۵/۳±۳/۷۵ ^a	۴۵/۳±۰/۲۱ ^b	۲۶/۱±۳/۴۵ ^c	۲۳/۱±۰/۵۳ ^c
سطح برگ (سانتی متر مربع)	۱۲۳/۱۱±۴/۲۱ ^a	۷۸/۳±۵/۴۱ ^b	۶۰/۴±۸/۳۰ ^b	۳۴/۰±۶/۸۱ ^c
سطح ویژه برگ (سانتی متر مربع/ گرم)	۱۱۷/۵±۲/۲۲ ^b	۱۳۱/۱۰±۸/۳۴ ^b	۲۰۰/۱۴±۳/۵۳ ^a	۱۲۶/۱۱±۷/۱۱ ^b

شاهد ۲۷/۳ درصد بود. میزان درصد افزایش پرولین در تیمار تنش شدید ۱۳۲/۶ درصد و متوسط ۱۳۶/۸ درصد نسبت به شاهد بود. میزان مالون دی آلدئید با افزایش شدت تنش افزایش نشان داد و میزان آن در تنش شدید و متوسط در مقایسه با شاهد ۶۵، ۶۰/۵ افزایش نشان داد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش متوسط و شدید به ترتیب افزایش ۱۲/۵ و ۸/۹ درصد را نشان داد. افزایش معنی دار فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۳۲۷/۳، ۱۱۳/۶ و ۴۰ درصد به ترتیب در تیمار تنش متوسط، خفیف و شدید نسبت به شاهد مشاهده شد.

جدول ۳ تجزیه واریانس تفاوت صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در تیمارهای تنش در گونه افرا پلت را نشان می دهد. از بین صفات مورد بررسی کلروفیل b و کاروتنوئید تغییر معنی داری بین تیمارهای تنش نداشته و مابقی صفات تفاوت معنی دار در سطح ۹۹ درصد را نشان دادند. با توجه به معنی دار بودن آزمون، تفاوت میانگین تیمارها در جدول ۴ آمده است. میزان کاهش به ترتیب در تیمار تنش شدید و متوسط نسبت به شاهد در کلروفیل a ۲۸ و ۲۴ درصد و کلروفیل کل ۳۶/۲ و ۲۵/۵ درصد نسبت به شاهد بود. میزان افت معنی دار رطوبت برگ در تنش شدید نسبت به

جدول ۳- تجزیه واریانس تغییرات صفات فیزیولوژیک - بیوشیمیایی در تیمارهای آبی گونه افرا پلت

صفات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F	سطح معنی داری
کلروفیل a	۳	۰/۲۱۹	۴/۸۳۵	۰/۰۳۳ *
کلروفیل b	۳	۰/۰۵۹	۲/۷۸۴	۰/۱۱۰ ns
کلروفیل کل	۳	۰/۴۸۰	۸/۰۴۷	۰/۰۰۸ **
کارتونئید	۳	۰/۰۰۳	۱/۱۷۰	۸۰/۰۳ ns
محتوی نسبی آب برگ	۳	۲۰۲/۹۴	۱۰/۵۶۳	۰/۰۰۱**
پروکلین	۳	۱/۴۰۸	۱۷/۱۱۵	۰/۰۰۱**
آنزیم پراکسیداز	۳	۳۲۴۵/۳۸۲	۲۰/۵۴۳	۰/۰۰۰**
آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز	۳	۱۲۴/۴۴۷	۹/۶۴۶	۰/۰۰۵**
مالون دی آلدئید	۳	۳۷/۱۳۶	۹/۹۷۱	۰/۰۰۴**

xx: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱، x: اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ و ns: معنی دار نیست.

جدول ۴- میانگین و انحراف از میانگین صفات فیزیولوژیک - بیوشیمیایی در تیمارهای آبی گونه افرا پلت

صفات	تیمار ۱۰۰ درصد	تیمار ۷۵ درصد	تیمار ۵۰ درصد	تیمار ۲۵ درصد
	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی	ظرفیت زراعی
کلروفیل a (میلی گرم/ گرم وزن تر)	۱/۰±۰/۰۵ ^a	۱/۰±۳۰/۳۵ ^{ab}	۰/۰±۷۶/۱۳ ^b	۰/۰±۷۲/۱۰ ^b
کلروفیل کل (میلی گرم/ گرم وزن تر)	۱/۰±۴۹/۰۷ ^{ab}	۱/۰±۸۴/۲۳ ^a	۱/۰±۱۱۴/۰۲ ^{bc}	۰/۰±۹۵/۱۳ ^c
محتوی نسبی آب برگ (درصد)	۷۲/۳±۵۸/۸۳ ^a	۷۵/۲±۰۸/۶۶ ^a	۶۹/۳±۲۰/۸۲ ^a	۵۲/۱±۷۷/۳۶ ^b
پروکلین (میکرو مول/ گرم وزن تر)	۰/۰±۹۵/۱۴ ^b	۱/۰±۱۶/۱۰ ^{۴b}	۲/۰±۲۵/۱۶ ^a	۲/۰±۲۱/۳۹ ^a
مالون دی آلدئید (نانومول/ گرم وزن تر)	۹/۱±۶۳/۳۶ ^b	۹/۱±۵۴/۰ ^{۱b}	۱۵/۱±۴۶/۲۲ ^a	۱۵/۱±۸۹/۲۳ ^a
آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (میکرو مول/ گرم وزن تر)	۱۲۱/۱±۷۸/۶۰ ^c	۱۲۹/۲±۸۵/۴۴ ^b	۱۳۷/۲±۰۶/۴۸ ^a	۱۳۲/۱±۷۲/۵۶ ^{ab}
آنزیم پراکسیداز (میکرو مول/ گرم وزن تر)	۲۲/۳±۵۵/۵۸ ^c	۴۸/۸±۱۲/۱۴ ^b	۹۶/۸±۳۶/۷ ^a	۳۱/۷±۵۷/۴۶ ^{bc}

تنش خشکی عموماً سطح برگ را کاهش می دهد. این کاهش به دلیل جلوگیری از توسعه برگ به دلیل آسب تورژانس سلول ها و همچنین کاهش سرعت کاهش فتوسنتز به فراورده های فتوسنتزی برای ایجاد سلول های جدید رخ می دهد (Tariq et al., 2018; Zhang et al., 2019). به عقیده وو و همکاران (Wu et al., 2008) کاهش سطح برگ و سطح ویژه برگ، نشانگر استراتژی اجتناب است. کاهش این صفات در افرا پلت تحت تنش شدید می تواند استراتژی اجتناب باشد. باین حال، سطح ویژه برگ در تیمار تنش متوسط بالاتر از سایر تیمارهای تنش بودند. سطح ویژه بالاتر نشان دهنده ناحیه فتوسنتزی بالاتر و بنابراین جذب کارآمدتر کربن است (Barros et al., 2020). گیاهان سطح برگ را تحت تنش خشکی کاهش می دهند. داشتن سطح برگ کم اما سطح ویژه بالا شاخص تحمل به خشکی است (Wu et al., 2017).

میزان سطح آب برگ شاخص اساسی تعیین میزان آب سلول ها و بافتها است که برای فرآیندهای فیزیولوژیکی مناسب و رشد بسیار مهم است (Ying et al., 2015).

بحث و نتیجه گیری

تنش خشکی به طور قابل توجهی ارتفاع، زی توده و قطر یقه نهال های افرا را از شاهد تا خشکی شدید کاهش داد. رشد گیاه یکی از مهم ترین فرآیندهای اساسی گیاه بوده که به میزان قابل توجهی توسط عوامل محیطی از جمله تغییر میزان آب تحت تأثیر قرار می گیرد (Liu et al., 2019). خشکی رشد گیاه را کاهش داده و این کاهش رشد در نهایت منجر به کاهش زی توده می شود. زمانی که فعالیت مریستم ریشه ای تحت تنش خشکی قرار می گیرد، سیگنال هایی با منشأ ریشه به برگ ها منتقل شده و منجر به کاهش هدر رفت آب و افت رشد برگ می گردد (Du et al., 2010). پاسخ ریخت شناسی اولیه گیاهان به تنش خشکی تنظیم میزان رشد است که به صورت کاهش ارتفاع ساقه، قطر یقه و تولید زی توده رخ می دهد و به عنوان مکانیسم های سازش یا اجتناب شناخته می شود (Lei et al., 2008; Wu et al., 2006).

اکسیداتیو این گونه در این سطوح از تیمار تنش شده است. سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهمی هستند که می‌توانند به‌طور قابل‌توجهی تجمع و آسیب گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهند، بنابراین می‌توانند سطوح پراکسیداسیون لیپیدها را تنظیم کنند. واکنش‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی فوق با مقاومت به خشکی مرتبط است (Ying et al., 2015; Li et al., 2008). تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز را تحت تیمارهای خشکی افزایش داد. مقادیر فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی با پتانسیل گیاهان برای مقابله با محیط نامساعد مرتبط است (Guo et al., 2018). مشاهده تغییرات در دو آنزیم نشان دادند که پراکسیداز نسبت به سوپراکسید دیسموتاز افزایش معنی‌دار بیشتری داشت. یانگ و همکاران (Yang et al., 2015) با بررسی تغییرات میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در یک دوره زمانی در گونه *Campotheca acuminata* تحت تنش خشکی گزارش دادند که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ابتدا افزایش و سپس با تداوم تنش، کاهش یافته است و این آنزیم، آنزیم آنتی‌اکسیدان اساسی تحت تنش خشکی در این گونه خواهد بود. در این مطالعه بیشترین مقدار فعالیت پراکسیداز در تیمار تنش متوسط و کمترین آن تحت تنش شدید مشاهده شد. به عقیده توسکانو و همکاران (Toscano et al., 2016) برخی از گونه‌های گیاهی سازگار با تنش خشکی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را طی تنش خشکی متوسط و خفیف نشان می‌دهند.

گیاهان با تغییر برخی پارامترها، مدیریت تأمین آب و سازش با تنش را انجام می‌دهند. پژوهش حاضر نشان داد که نهال‌های افرا پلت می‌توانند با پاسخ‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی به خشکی مقاومت نشان دهند. نهال‌های افرا پلت به کمک مکانیسم‌های اجتناب و تحمل از جمله کاهش رشد، زی‌توده، سطح برگ، میزان آب برگ، کلروفیل و افزایش سطح ویژه برگ، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش پاسخ داده‌اند. آسیب فیزیولوژیک و کاهش شدید رشد و زی‌توده برای احیای پوشش گیاهی توصیه نمی‌شود و تأمین آب در مرحله نهال بسیار حیاتی است. بررسی خشکی بلندمدت و چند فصل ریشی در رویشگاه طبیعی و گلخانه به‌منظور ارزیابی دقیق-

بنابراین شاخص قدرتمند و مطمئن تخمین تحمل خشکی است (Tariq et al., 2018). در مطالعه حاضر، نهال‌ها فقط تحت تنش شدید آب کاهش قابل‌توجهی را در میزان این شاخص نشان دادند که نشان‌دهنده توانایی نسبی گونه برای حفظ فشار اسمزی و تحمل تنش خشکی است. کاهش محتوای کلروفیل که به دلیل سنتز آهسته یا تخریب سریع به دلیل افزایش فعالیت کلروفیل‌از رخ می‌دهد و یکی از علائم رایج تنش اکسیداتیو است (Medeiros et al., 2013). محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل با افزایش تنش به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت. اگرچه میزان کاروتنوئیدها در اثر خشکی افزایش جزئی و غیر معنی‌دار را نشان داد. این موضوع ممکن است تلاشی به‌منظور کاهش آسیب ساختار فتوسنتزی ناشی از تنش باشد. کاروتنوئیدها نقش ویژه‌ای در ساختار فتوسنتزی دارند، آن‌ها انرژی اضافی را به‌صورت گرما آزاد می‌کنند، گونه‌های فعال اکسیژن را از بین می‌برند و از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند (Wu et al., 2013). گیاهان با تجمع مقادیر قابل‌توجهی از پرولین آزاد، پروتئین محلول و قند محلول مقاومت به تنش را در خود ارتقا داده تا غلظت شیره سلولی را حفظ کرده و این امر موجب حفظ فشار سلول شده و از دهیدراته شدن بیش‌از اندازه پلاسما جلوگیری می‌کند (Guo et al., 2018). تجمع پرولین مکانیسم سازشی تنظیم‌کننده اسمز است. پرولین همچنین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی عمل می‌کند و با حفظ ساختار شیمیایی موجب تثبیت پروتئین‌ها می‌شود (Toscano et al., 2016; Guo et al., 2010). در این تحقیق، محتوای پرولین در تیمار تنش متوسط و شدید در نهال‌های افرا به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. تنظیم اسمزی تحت شرایط پایین‌تر از شرایط بهینه در نهال‌های جوان به‌منظور حفظ فعالیت متابولیکی در طی استقرار که ریشه‌ها به آب سطوح عمیق خاک دسترسی ندارند، می‌تواند مزیت اکولوژیکی باشد (Lei et al., 2006).

مالون‌دی‌آلدئید محصول تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع در فسفولیپیدهای غشای سلولی است و شدت آسیب اکسیداتیو از طریق پایش میزان مالون‌دی‌آلدئید در تنش خشکی استفاده می‌گردد (Wang et al., 2012; Guo et al., 2018). خشکی منجر به تجمع قابل‌توجه مالون‌دی‌آلدئید در نهال افرا پلت تحت تنش شدید و متوسط شد. افزایش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید طی تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی باعث آسیب

- Arnon, AN. 1967. Method of chlorophyll measurements in plants. *Agronomy Journal*. 23: 112-121.
- Barros, V., Melo, A., Santos, M., Nogueira, L., Frosi, G., 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. 1973. Rapid determination of free proline for water -stress studies. *Plant and Soil* 207, 205–207.
- Chakhchar, A., Wahbi, S., Lamaoui, M., Ferradous, A., Mousadik, A. El, Ibsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., Cherkaoui, & Modafar, E., El Modafar, C. 2015. Physiological and biochemical traits of drought tolerance in *Argania spinosa*. *Journal of Plant Interactions* 10, 252–261.
- Díaz-lópez, L., Gimeno, V., Simón, I., Martínez, V., Rodríguez-ortega, W.M., García-sánchez, 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, N, Guo, W., Zhang, X., Wang, R. 2010. Morphological and physiological responses of *Vitex negundo* L. var. *heterophylla* (Franch.) Rehd. to drought stress. *Acta physiologiae plantarum*, 32, 839-848.
- Giannopolitis, C.N., Ries, S.K., Gutteridge, J.M.C. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant physiology* 59, 309–314.
- Guo, J., Yang, Y., Wang, G., Yang, L., Sun, X. 2010. Ecophysiological responses of *Abies fabri* seedlings to drought stress and nitrogen supply. *Physiologia Plantarum* 139, 335–347.
- Guo, Y.Y., Yu, H.Y., Yang, M.M., Kong, D.S., 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 1 65, 244–250.
- Khaleghi, A., Naderi, R., Brunetti, C., Maserti, B.E., Salami, S.A., Babalar, M. 2019. Morphological, physiochemical and antioxidant responses of *Maclura pomifera* to drought stress. *Scientific Reports* 9, 1–12.
- تر پاسخ گونه مورد مطالعه به تنش خشکی سودمند خواهد بود.
- ### منابع
- اصغریور، ا.، آزادفر، د.، سعیدی، ز. ۱۳۹۶. ارزیابی تحمل به خشکی نهال‌های افرا شیردار (*Acer cappadocicum* Gled.) مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۳۰: ۱-۱۱.
- آهنی، ح.، جلیلود، ح.، واعظی، ج.، ساداتی، ا. ۱۳۹۶. تأثیر تنش خشکی روی ریخت‌شناسی نهال سنجد تلخ *Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson نشریه حفاظت زیست‌بوم گیاهان، ۵: ۱۹۱-۲۰۴.
- برشان، م.، طبری کوچک‌سرای، م.، ساداتی، س. ا.، شاه‌حسینی، ر. ۱۳۹۵. رویش و زنده‌مانی نهال بید سفید (*Salix alba* L.) تحت تنش کم‌آبی، جنگل و فرآورده‌های چوب، مجله منابع طبیعی ایران، ۶۹: ۲۵۷-۲۴۹.
- رستم‌آبادی، ع.، جلیلود، ح.، نعمت‌زاده، ق.، گودرزی، م.، صیاد، ا. ۱۳۹۵. پارامترهای تبادلات گازی و عملکرد فلورسانس کلروفیل نهال‌های تحت تنش خشکی بلوط اوری (*Quercus macranthera* F&M) در استان گلستان، بوم‌شناسی جنگل‌های ایران ۴: ۵۰-۴۱.
- زرافشار، م.، اکبری‌نیا، م.، حسینی، س.م.، رهایی، م. ۱۳۹۵. ارزیابی مقاومت به خشکی در گلابی جنگلی (*Pyrus boissieriana* Buhse.) نشریه جنگل و فرآورده‌های چوب، ۶۹: ۹۷-۱۱۰.
- مظفریان، و.ا. ۱۳۸۳. درختان و درختچه‌های ایران، انتشارات فرهنگ معاصر، ۱۰۰۳ صفحه.
- Abid, M., Ali, S., Qi, L.K., Zahoor, R., Tian, Z., Jiang, D., Snider, J.L., Dai, T., 2018. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports* 1–15.
- Akhani, H., Djamali, M., Ghorbanalizadeh, A., Ramezani, E. 2010. Plant biodiversity of Hyrcanian relict forests, N Iran: an overview of the flora, vegetation, palaeoecology and conservation. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1): 231-258.

- drought effects on *Alnus cremastogyne* by regulating its antioxidant and osmotic potential. *Scientific Reports* 8, 1–11.
- Toscano, S., Farieri, E., Ferrante, A., Romano, D. 2016. Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Frontiers in plant science* 7, 645.
- Wang, R., Gao, M., Ji, S., Wang, S., Meng, Y., Zhou, Z. 2016. Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period, *Plant Physiology et Biochemistry* 107: 137-146.
- Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F., 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., 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, J., Li, J., Su, Y., He, Q., Wang, J., Qiu, Q., Ma, J. 2017. A morphophysiological analysis of the effects of drought and shade on *Catalpa bungei* plantlets. *Acta Physiologiae Plantarum* 39(3), 80.
- Wu, M., Zhang, W.H., Ma, C., 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.
- Ying, Y.Q., Song, L.L., Jacobs, D.F., Mei, L., Liu, P., Jin, S.H., Wu, J.S. 2015. Physiological response to drought stress in *Camptotheca acuminata* seedlings from two provenances. *Frontiers in Plant Science* 6, 1–8.
- Zhang, Y., Yu, T., Ma, W., Tian, C., Sha, Z., Li, J. 2019. Morphological and physiological response of *Acer catalpifolium* Rehd. Seedlings to water and light stresses. *Global Ecology and Conservation* 19.
- Kunz, J., Räder, A., Bauhus, J. 2016. Effects of drought and rewetting on growth and gas exchange of minor European broadleaved tree species. *Forests*, 7: 239.
- Lei, Y., Yin, C., 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, H.H., Han, G., Wang, Q.J., 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.
- Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology* 148, 350–382.
- Liu, B., Liang, J., Tang, G., Wang, X., Liu, F., Zhao, D. 2019. Drought stress affects on growth, water use efficiency, gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Juglans* rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 250, 230-235.
- Medeiros, D.B., Silva, E.C. da, Nogueira, R.J.M.C., Teixeira, M.M., Buckeridge, M.S. 2013. Physiological limitations in two sugarcane varieties under water suppression and after recovering. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 25, 213–222.
- Plewa, M.J., Smith, S.R., Wagner, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase 247, 57–64.
- Sarker, U., Oba, S. 2018. Catalase, superoxide dismutase and ascorbate-glutathione cycle enzymes confer drought tolerance of *Amaranthus tricolor*. *Scientific Reports* 8, 1–12.
- Saxton, K.E., Rawls, W.J., Romberger, J.S., Papendick, R.I. 1986. Estimating generalized soil-water characteristics from texture, *Soil Science Society of America Journal*, 50:1031-1036.
- Tariq, A., Pan, K., Olatunji, O.A., Graciano, C., Li, Z., Sun, F., Zhang, L., Wu, X., Chen, W., Song, D., Huang, D., Xue, T., Zhang, A. 2018. Phosphorous fertilization alleviates

Drought tolerance in *Acer velutinum* Boiss. seedlings using morphophysiological analysis

Mokarram Ravanbakhsh^{1*}, Babak Babakhani², Mahmood Ghasemnezhad³, Fariba Serpooshan⁴,
Mohamad Hassan Biglouie⁵

¹Instructor, Environmental Research Institute, Academic Center for Education, Cultural Research (ACECR), Guilan, Rasht, Iran.; ¹PhD Student of Biology, Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

²Assistant professor, Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

³ professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

⁴Assistant professor, Department of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran.

⁵Associate professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: 2022/12/03; Accepted: 2023/07/13

Abstract

Acer velutinum Boiss. (Persian or velvet maple) is one of the industrial and important species of Hyrcanian (Caspian) forests with wide distribution. This species is rarely seen in the forests of other parts of the world and has only been reported from the forests of the Caucasus. Therefore the information about this species is very limited. This research aims to investigate the response of *A. velutinum* seedlings to drought stress as one of the consequences of climate change. Seedlings of velvet maple were analyzed in terms of height, basal diameter, leaf area (LA), specific leaf area (SLA), biomass, photosynthesis pigments, relative water content (RWC), free proline, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and peroxidase (POD) activities to drought stress. One year old of Potted plants were exposed to four water supply regimes (100, 75, 50, and 25% field capacity (FC)); performed as a control, mild, moderate, and severe water stress. The results showed that drought reduced all aspects of growth in the velvet maple. It negatively affected on growth and reduced plant height, stem diameter, biomass, and leaf area, but SLA significantly increased under moderate treatment. Drought stress reduced chlorophyll content, however, no significant difference was found for carotenoids. RWC reduced significantly just under severe drought stress. Proline and MDA content increased significantly when plants were exposed to moderate and severe drought stress. Drought stress induced POD and SOD activity under drought treatments, although the highest activities were measured under mild and moderate treatments. Our data demonstrate that *A. velutinum* seedlings have relative drought resistance. They used drought avoidance and tolerance mechanisms through changes in morpho-physiological characteristics. The results of this research briefly showed the mechanisms of drought tolerance in *A. velutinum* and will provide essential information for more research in the future.

Keywords: Drought stress; Oxidative stress, Osmotic adjustment; Velvet maple

*Corresponding author: Ravanbakhsh@acecr.ir