دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و یکم، شماره سوم، ۱۳۹۳
http://jopp.gau.ac.ir

بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانهال گردوی ایرانی

***پریسا پروین[۱]، مسعود خضری[۲] و ایرج توسلیان[۲]**
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، [۲]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۵

چکیده

کشور ایران در زمره کشورهای خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی مؤثر بر درختان میوه است و می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی منجر به کاهش عملکرد شود. گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات خشک‌باری ایران می‌باشد که برای رشد مطلوب و بهره‌وری، به آب کافی نیاز دارد. به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گردوی ایرانی و تعیین حد تحمل دانهال‌ها به این تنش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۲۰ تکرار در یک گلخانه کاملاً کنترل شده اجرا گردید. در این پژوهش، ۳ سطح تنش خشکی شامل تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شدند و اندازه‌گیری‌ها در ۳ مرحله زمانی انجام شد. نتایج مربوط به شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نشان داد که این شاخص‌ها تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی واقع شدند و مشخص گردید که دانهال‌های گردو قادر به تحمل تنش خشکی متوسط در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نیز نمی‌باشند. بنابراین عدم تحمل دانهال‌های گردوی ایرانی به سطوح متوسط و شدید تنش خشکی را می‌توان به افزایش نشت یونی، کاهش محتوای نسبی آب برگ، افزایش تخریب کلروفیل، کاهش میزان قندهای احیا، پروتئین، افزایش پرولین و پراکسید هیدروژن و همچنین عدم وجود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کارا برای مقابله با تنش‌های خشکی مرتبط دانست.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تنش خشکی، ظرفیت زراعی، گردوی ایرانی

---

* مسئول مکاتبه: parisa.parvin35@yahoo.com

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی مؤثر بر تولیدهای کشاورزی در سراسر جهان است که می‌تواند به‌طور قابل‌توجهی منجر به کاهش عملکرد شده (فراهانی و همکاران، ۲۰۰۹) و بر استقرار، بقا، رشد و عملکرد درختان و درختچه‌ها تأثیرگذار باشد (فرناندز و همکاران، ۲۰۰٦). گردو با نام علمی (*Juglans regia* L.) از خانواده ژوگلانداسه[1] یکی از مهم‌ترین محصولات خشک‌باری ایران می‌باشد که در کشورهای مختلف کشت می‌شود. ایران از نظر سطح زیر کشت گردو (٦٤ هزار هکتار) در جهان مقام چهارم و از نظر تولید بعد از چین، مقام دوم را داراست. متوسط عملکرد گردو در ایران حدود ۷ تن در هکتار است و تولید کل گردو در ایران ٤۸۵ هزار تن می‌باشد (فائو، ۲۰۱۲).

درختان گردو برای رشد مطلوب و بهره‌وری، مقادیر زیادی آب نیاز دارند و از گیاهان حساس به تنش‌های غیرزیستی به‌ویژه تنش خشکی و تنش شوری، محسوب می‌شوند (فولتون و باچنر، ۲۰۰٦؛ وحدتی و لسلی، ۲۰۱۳). زمانی‌که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، همه فرایندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه تحت‌تأثیر قرار گرفته که باعث کاهش شاخص‌های رشدی، عملکرد و کیفیت محصول و در صورت تداوم تنش، موجب مرگ گیاه می‌شود (کافی و همکاران، ۲۰۱۰). در این زمینه گزارش‌هایی مبنی بر تأثیر تنش خشکی و شوری بر شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی برخی درختان میوه نیز وجود دارد (نتالی و همکاران، ۱۹۹۱؛ رستمی‌شاهرجی و همکاران، ۲۰۱۰؛ امری و شهسوار، ۲۰۱۰؛ کامیاب و همکاران، ۲۰۱۳). دانهال‌های گردو در برابر تنش خشکی مقاومت کم‌تری نسبت به تنش شوری دارد و در شرایط تنش خشکی صفاتی مانند وزن تر و وزن خشک بافت، آب بافت و ضخامت می‌تواند از صفات مهم، برای بررسی مقاومت به تنش خشکی باشند (وحدتی و همکاران، ۲۰۰۹؛ لطفی و همکاران، ۲۰۰۹). گیاهان تحت تنش در برابر اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌وسیله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز) محافظت می‌شوند و در واقع این سامانه آنتی‌اکسیدانی باعث تحمل گیاهان به تنش می‌شود (فو و هوانگ، ۲۰۰۱؛ پن و همکاران، ۲۰۰٦). ایجاد تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی و شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند موز (چای و همکاران، ۲۰۰۵)، دانهال‌های پسته (کامیاب و همکاران، ۲۰۱۳)، لیمو (امری و همکاران، ۲۰۱۱) و انار (امری و شهسوار، ۲۰۱۰) گزارش شده است. همچنین پژوهش‌ها نشان داده که برخی صفات بیوشیمیایی و همچنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گردو نیز در شرایط تنش خشکی تحت‌تأثیر قرار خواهند گرفت (لطفی و همکاران، ۲۰۱۰a؛ لطفی و همکاران، ۲۰۱۰b).

1- Juglandaceae

بر خلاف محدودیت منابع آب و توزیع مکانی نامناسب آن در پهنه جغرافیایی ایران، متأسفانه بهره‌وری و کارآیی استفاده از این منابع بسیار پایین است (کافی و همکاران، ۲۰۱۰). این‌که گردوی ایرانی یک گیاه حساس به تنش خشکی است، مشخص شده ولی این‌که حد تحمل آن به تنش خشکی به‌ویژه در مرحله نونهالی چقدر است، هنوز مشخص نیست. از طرفی راهبردهایی که در عدم مقاومت دانهال‌های گردو به تنش خشکی نقش دارند، هنوز به خوبی تعیین نشده‌اند. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گردوی ایرانی به‌منظور تعیین حد تحمل دانهال‌ها به این تنش و بررسی راهبردهای احتمالی مؤثر در نبود تحمل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: برای تهیه دانهال‌ها، ابتدا بذرهای گردوی ژنوتیپ پوست کاغذی از یک درخت بالغ ۲۰ ساله و از یک باغ تجاری در شهرستان بافت واقع در استان کرمان انتخاب و به‌مدت ۷ روز در آب خیسانده شدند و سپس به‌منظور برطرف شدن نیاز سرمایی، به‌مدت ۸ هفته در سردخانه در دمای بین ۸-٤ درجه سانتی‌گراد در معرض سرمای مرطوب قرار گرفتند. پس از طی دوره چینه سرمایی، بذرها در گلدان‌های پلاستیکی ۲ کیلوگرمی، در عمق ۱۰-۵ سانتی‌متری و در یک گلخانه کاملاً کنترل شده کشت شدند. دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز، ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت نسبی هوا به‌طور میانگین ٦۵ درصد بود. این پژوهش به‌صورت فاکتوریل (عامل تنش خشکی و عامل مرحله نمونه‌برداری) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۲۰ تکرار اجرا گردید. اندازه‌گیری صفات مربوط به ریشه فقط در مرحله سوم نمونه‌برداری انجام گرفت. تیمارهای تنش پس از رسیدن گیاهان به طول حدود ۱۵ سانتی‌متر و به روش وزنی انجام شد. ۳ سطح تیمار تنش خشکی شامل شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) اعمال گردید. اندازه‌گیری شاخص‌ها در ۳ مرحله دوره ابتدایی تنش (۱۵ روز بعد از اعمال تنش)، دوره میانی تنش (۳۰ روز بعد از اعمال تنش) و دوره پایانی تنش (٤۵ روز بعد از اعمال تنش) انجام گرفت. بعد از پایان آزمایش شاخص‌های زیر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی

طول ساقه، طول ریشه و قطر ساقه: طول ساقه و ریشه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری و قطر ساقه با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشدی ریشه در پایان آزمایش و پس از خارج کردن گیاه از گلدان (مرحله سوم) اندازه‌گیری شدند.

سطح برگ: سطح برگ با استفاده از تعداد برگ و بزرگ‌ترین طول برگ طبق رابطه زیر محاسبه شد و برحسب سانتی‌مترمربع در نتایج ارایه گردید (اسپن و هرما، ۲۰۱۰).

$$Y=۰/۹۳۹۷X-۲/۰۲۸ \quad (۱)$$

سطح برگ =Y بزرگ‌ترین طول برگ × تعداد برگ =X

حجم ریشه و سطح ریشه: از طریق قرار دادن ریشه در یک سیلندر آب با حجم مشخص و محاسبه میزان افزایش حجم نشان داده شده در سیلندر تعیین شد. سطح ریشه‌ها با روش موسوم به اتکینسون که رابطه آن در زیر آمده است محاسبه شد و بر حسب سانتی‌مترمربع در نتایج ارایه گردید (اتکینسون، ۱۹۸۰).

$$\text{سطح ریشه‌ها}: \{۲\ (\text{طول ریشه‌ها}) \times (\text{حجم ریشه‌ها})\}^{۰/۵} \quad (۲)$$

محتوای نسبی آب برگ[1]: برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها، از هر برگ ۱۰ دیسک مشابه با قطر ۱ سانتی‌متر تهیه شد و با ترازوی دقیق آزمایشگاهی مدل AX204 با دقت ۰/۰۰۰۱ وزن گردیدند تا وزن تر (FW) به‌دست آید. سپس دیسک‌ها در ظروف پتری شامل آب مقطر برای مدت ۵-٤ ساعت غوطه‌ور گردیدند. در طول این مدت ظروف پتری در تاریکی قرار داشتند. دیسک‌ها پس از این مدت از پتری خارج شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک گردیدند، دوباره وزن شدند تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به‌دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW) دیسک‌ها درون فویل آلومینیوم پیچیده شدند و به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آون قرار داده شدند و سپس وزن گردیدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (ووترلی، ۱۹۵۰).

$$RWC=\frac{Fw-Dw}{Tw-Dw}\times ۱۰۰ \quad (۳)$$

1- Leaf Relative Water Content

نشت یونی: برای سنجش میزان آسیب به غشا، میزان نشت یونی به روش کومر استفاده گردید (کومر، ۲۰۱۱). به این منظور ۰/۱ گرم از بافت برگی تازه گیاه را پس از شستشو (برای شستشوی یون‌های احتمالی از سطح برگ) درون لوله‌های آزمایش درپیچ‌دار قرار داده و ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه گردید. بعد از ۲٤ ساعت میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها ($EC_۱$) با استفاده از EC متر مدل Metrhom (ساخت کشور سوئیس) قرائت شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در فریزر قرار داده و بعد از آن، نمونه‌ها در دمای معمولی آزمایشگاه قرار داده شد میزان هدایت الکتریکی ($EC_۲$) دوباره اندازه‌گیری گردید و درصد نشت یونی را از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد نشت یونی} = (EC_۱ / EC_۲) \times ۱۰۰ \qquad (٤)$$

وزن تر ساقه و ریشه: وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان در تیماری مختلف اندازه‌گیری و بر حس گرم گزارش شد.

وزن خشک ساقه، ریشه و شاخص کلروفیل: پس از توزین به‌مدت ٤۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه قرار داده شد و پس از خشک شدن دوباره با ترازوی دیجیتالی توزین گردید و بر حس گرم گزارش شد. برای میزان شاخص کلروفیل از دستگاه کلروفیل‌سنج (مدل SPAD-502, Konica Minolta) ساخت کشور ژاپن، استفاده شد که این دستگاه امکان اندازه‌گیری کلروفیل بدون تخریب برگ را میسر می‌کند.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید: اندازه‌گیری رنگیزه‌ها به روش لیچتندر انجام شد، به این صورت که ۰/۲ گرم از برگ‌های فریز شده با ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شده و سپس عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۲۷۰۰ قرار داده شده و سپس ۳ میلی‌لیتر از عصاره بالایی برداشته و جذب آن‌ها در طول موج ٤۷۰، ٦٦۳ و ٦٤۷ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتری UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا خوانده شده و با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (لیچتندر، ۱۹۸۷).

$$Chl.a = (۱۲/۲۵A٦٦۳/۲ - ۲/۷۹A٦٤٦/۸) \qquad (۵)$$

$$Chl.b = (۲۱/۲۱A٦٤٦/۸ - ۵/۱A٦٦۳/۲) \qquad (٦)$$

$$Chl.T = Chl.a + Chl.b \qquad (۷)$$

$$Car = \left[(۱۰۰۰A٤۷۰ - ۱/۸Chl.a - ۸۵/۰۲Chl.b)/۱۹۸\right] \qquad (۸)$$

که در آن‌ها، Chl.a، Chl.b، Chl.T و Car به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن و گرانتوفیل) می‌باشد. غلظت بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین گردید. نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب گرم وزن خشک محاسبه و ارایه گردید.

قند احیا: قند احیا به روش سوموگی با کمی تغییرات اندازه‌گیری شد (سوموگی، ۱۹۵۲). به این صورت که در این روش ۰/۰۲ گرم از اندام هوایی با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده شده و سپس محتوای هاون به بشر کوچکی منتقل و روی هیتر قرار داده شد تا حرارت ببینند. به محض این‌که به نقطه جوش رسید، حرارت قطع گردید و محتوای بشر به کمک کاغذ صافی، صاف شد و عصاره گیاهی حاصل گردید. مقدار ۲ میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده به لوله آزمایش منتقل و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول سولفات مس به آن‌ها، به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سرد شدن لوله‌ها ۲ میلی‌لیتر محلول فسفومولیبدیک اسید به آن‌ها اضافه شد و با دستگاه شیکر تکان داده شدند. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ٦۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاکننده محاسبه گردید. نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارایه گردید.

سنجش مقدار پروتئین کل: برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده شد و سپس ورتکس گردید. پس از ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (برادفورد، ۱۹۷٦).

اندازه‌گیری پرولین: برای اندازه‌گیری میزان پرولین ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی به‌دست آمده از سانتریفوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب‌گرم قرار گرفت. بعد از این مدت برای قطع انجام همه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده شدند. سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی ورتکس شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به‌مدت ۲۰-۱۵ دقیقه، دو لایه مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از فاز رنگی فوقانی که شامل تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری

غلظت پرولین استفاده گردید. جذب این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب گرم وزن خشک محاسبه و ارایه شد (بیتس و همکاران، ۱۹۷۳).

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن[1]: مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش پراکسید هیدروژن با پتاسیم یدید و با روش آلکسیوا انجام شد (آلکسیوا و همکاران، ۲۰۰۱). در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در اسید تری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد سرد سائیده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰×g با استفاده از سانتریفیوژ Herolab (مدل ۲۰۲۸) ساخت کشور آلمان، سانتریفوژ گردید. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و ۲ میلی‌لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به‌مدت ۱ ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد و سپس جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه غلظت پراکسیدهیدروژن از منحنی استاندارد استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها و تهیه عصاره پروتئینی: برای تهیه عصاره پروتئینی ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) که شامل پلی‌وینیل پیرولیدین[2] ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، سائیده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰×g و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با استفاده از سانتریفیوژ Herolab (مدل ۲۰۲۸) ساخت کشور آلمان، سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز[3]: سنجش فعالیت کاتالاز براساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲٤۰ نانومتر صورت گرفت (دهینسی و همکاران، ۱۹۸۱). براساس این روش مخلوط واکنش (۳ میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲٤۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی، مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول آب اکسیژنه را در مدت ۱ دقیقه تجزیه کند. چون میزان فعالیت آنزیم براساس غلظت

1- H_2O_2
2- PVP
3- CAT

آب اکسیژنه تجزیه شده محاسبه شد، غلظت آب اکسیژنه مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل Cm^{-1} mM^{-1} ٤٠ محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز[1]: فعالیت این آنزیم براساس روش ناکانو و آسادا اندازه‌گیری شد (ناکانو و آسادا، ۱۹۸۱). در این روش مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات براساس اکسیداسیون اسید آسکوربیک و کاهش در جذب به‌مدت ۲ دقیقه، در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری UV-VIS مدل (Cary-50) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه یک واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل Cm^{-1} mM^{-1} ۲/۸ استفاده شد. یک واحد آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که ۱ میلی‌مول اسید آسکوربیک را در مدت ۱ دقیقه اکسید کند.

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز[2]: فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ٤ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به‌دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ٤٧٠ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. یک واحد آنزیمی به‌صورت ۰/۰۱ تغییر در جذب در مدت ۱ دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۵).

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به شاخص‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دانهال‌های گردو نشان داد که علاوه‌بر معنی‌دار بودن تاثیر هر یک از عامل‌ها (تنش خشکی و مرحله نمونه‌برداری) و اثرات متقابل این دو عامل نیز برای شاخص‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار گردید (جدول‌های ۱ و ۲). بنابراین مقایسه میانگین اثرات متقابل این دو عامل برای شاخص‌های موردنظر در نتایج آمده است.

1- APX
2- GPX

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و مرحله نمونه‌برداری بر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.).

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		طول ساقه	قطر ساقه	تعداد برگ	سطح برگ	نشت یونی	محتوای نسبی آب برگ	شاخص کلروفیل
تنش خشکی	۲	۸٤٦/٤۲**	۲۳/۱۱**	۳٦۹/۸۲**	۱۳۷٦۷٦/۳۷**	٦۱۳/۱۸**	٦٦۰/۸۷**	٤۸۱/٤٦**
مرحله نمونه برداری	۲	۵۱/۸۷**	۱۱/۰۱**	۵۰۳/۲۲**	٤۵۱۸۸/٦۲**	۹۹۱/۷٦**	۷۷٦/۱۳**	۲۳۷/۲۷**
تنش خشکی × مرحله نمونه‌برداری	٤	۱۵/٤۷**	۱/٦۵**	۵۳/۹۸*	۱۲۱۵۱/۹۷**	۷/۹۳**	۱۷/۸۲*	۳۲/٤۳**
خطا	۹۹	۳/۸۷	۰/۲۹	۲۰/٦۱	۲۵٤۷/۷۷	۱/۸۱	٤/۳۸	٦/۱۳

*معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، **معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و زمان نمونه‌برداری بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.).

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید	قندهای احیا	پروتئین
تنش خشکی	۲	٤٥/٧١**	١٠/٢٦**	١٣/٠٤**	١/١٢ns	٠/٧١**	٦/٠٣**
مرحله نمونه‌برداری	۲	١٨/٨٦**	١٢/٥٨**	١/٩٦**	١٤/٦٨**	٠/٦٣**	٥/١٥**
تنش خشکی × مرحله نمونه‌برداری	٤	١٢/٣٤**	٩/٣٤**	١/٥١**	٦/٥٩**	٠/٤٣**	١/٠٣**
خطا	٩٩	١/٥٣	٠/٩٩	٠/١٦	٠/٤٥	٠/٠٣	٠/٠٧

		پرولین	پراکسید هیدروژن	کاتلاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
تنش خشکی	۲	٤٦٥٣/٤٤*	٢٠١٥٢/٣٧**	٣/٠٣**	١/٤١ns	٧٤/٨٢**
مرحله نمونه‌برداری	۲	١١٧١٦١/٤٥**	١١٨١٥٦/٤٦**	٥١/٣٠**	١٠/٥٢**	٣٥٨/٥٠**
تنش خشکی × مرحله نمونه‌برداری	٤	١٠٩٨٣/٤٠**	٨٩٨٥٧/٣١**	٦/٠٥**	١/٧٧*	١١٠/٥٣**
خطا	٩٩	١١١٤/٩١	٣٧٦٤/٦٣	٠/٤٨	٠/٥٣	١/٢٣

*معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد، **معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و ns غیرمعنی‌دار.

شاخص‌های ریخت‌شناسی اندام هوایی و ریشه: نتایج حاصل نشان داد که شاخص‌های ریخت‌شناسی اندام هوایی تحت‌تأثیر سطوح متفاوت تنش واقع شدند. تنش شدید در هر سه مرحله بر طول و قطر ساقه تأثیرگذار بوده و سبب کاهش میزان آن شده است. بیش‌ترین میزان طول ساقه و قطر ساقه مربوط به تیمار شاهد در مرحله سوم (۳۰/٤۷ سانتی‌متر و ٦/۹۳ میلی‌متر) بود (جدول ۳). به‌طور کلی تنش خشکی سبب کاهش شاخص‌های رشدی دانهال‌های گردو شد که پیش از این در برخی آزمایش‌های انجام شده روی گردو در شرایط تنش خشکی و شوری نیز گزارش شده بود (وحدتی و همکاران، ۲۰۰۹؛ لطفی و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج این پژوهش با نتایج دیگر پژوهش‌ها که بیان کردند شاخص‌های رشدی تحت‌تأثیر تنش خشکی واقع می‌شوند، مطابقت داشت (چاوس و همکاران، ۲۰۰۹). از آن‌جا که پدیده رشد حاصل فعالیت‌های حیاتی در شرایطی است که گیاه باید آب کافی در اختیار داشته باشد، در صورت عدم تامین آب مورد نیاز به‌دلیل کاهش فشار تورژسانس سلول‌های در حال رشد و اثر بر طول سلول‌ها، رشد گیاه کم می‌شود (احمدی و باکر، ۲۰۰۰).

همچنین نتایج پژوهش نشان داد که با افزایش سطح تنش تعداد برگ و سطح برگ کاهش یافت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان سطح برگ به‌ترتیب در تیمار شاهد مرحله اول (۲۹۷سانتی‌مترمربع) و تنش شدید مرحله سوم (٤۳/٤٦ سانتی‌مترمربع) بود (جدول ۳). اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی بر طول ریشه، سطح ریشه و حجم ریشه نیز معنی‌دار بود (جدول ٤). نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش، تعداد برگ و سطح برگ کاهش می‌یابد که با نتایج مطالعات انجام شده روی هلو هم‌خوانی دارد (رایگر و همکاران، ۲۰۰۳). از نظر تئوری کاهش سطح برگ یک سازگاری مهم به‌شمار می‌رود، زیرا کاهش سطح برگ اولین راهبردی است که گیاه در مواجه با محدودیت آب انتخاب می‌کند (باسلار و همکاران، ۲۰۰٦). به‌طورکلی کمبود آب سبب مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیک گیاهان شده و در نهایت منجر به تغییرات ریخت‌شناسی در گیاه می‌گردد. به‌طورکلی با حضور تنش خشکی کاهش رشد در بیش‌تر اندام‌های گیاه مشاهده می‌شود (کافی و همکاران، ۲۰۱۰).

شاخص‌های ریخت‌شناسی

شاخص کلروفیل: نتایج بررسی نشان داد که با گذشت زمان و افزایش سطوح تنش میزان شاخص کلروفیل کاهش یافت. بیش‌ترین میزان شاخص کلروفیل مربوط به تیمار شاهد در مرحله اول (۳٤/۹۰) و کم‌ترین آن مربوط برهم‌کنش تنش شدید در مرحله سوم (۱۷/۳۳) بود (جدول ۳).

محتوای نسبی آب برگ: تنش خشکی سبب کاهش میزان محتوای نسبی آب در هر ۳ مرحله اندازه‌گیری شده و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان محتوای نسبی آب برگ به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد در مرحله اول (۷۱ درصد) و تنش شدید در مرحله سوم (۳۸/۹۵ درصد) بود (جدول ۳). در این بررسی شاخص محتوای نسبی آب برگ نیز تحت‌تأثیر تنش خشکی کاهش یافت. این نتایج با گزارش مطالعاتی بر روی پسته و زیتون مطابقت دارد (نتالی و همکاران، ۱۹۹۱؛ رستمی‌شاهرجی و همکاران، ۲۰۱۰). آن‌ها گزارش کردند که با افزایش تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد و این میزان کاهش بسته به نوع ژنوتیپ متفاوت است. گزارش شده است که وقتی گیاهان در معرض کم‌آبی قرار می‌گیرند، روزنه‌های برگ بسته می‌شود. بنابراین گیاهانی که قادر به بستن روزنه خود باشند، می‌توانند محتوی آب برگ خود را در مقادیر بالاتری حفظ کنند (کافی و همکاران، ۲۰۱۰).

نشت یونی (EC): اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی بر شاخص نشت یونی برگ معنی‌دار بود، به‌طوری‌که مطابق نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین میزان نشت یونی مربوط به تنش شدید در مرحله سوم (۷۰/۲۷ درصد) و کم‌ترین مربوط به تیمار شاهد در مرحله اول (۳٦/۵۷ درصد) بود (جدول ۳). نتایج این پژوهش نشان داد که گردوی ایرانی تحت تنش خشکی تا حدودی پایداری غشا خود را از دست می‌دهد و میزان نشت یونی در آن افزایش می‌یابد. یکی از آسیب‌های جدی گزارش شده تنش خشکی خسارت به غشا و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین‌سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید، نفوذپذیری غشا و خسارت به سلول می‌شود (سایرام و همکاران، ۲۰۰۲).

وزن تر کل، اندام هوایی و ریشه: افزایش سطوح تنش خشکی، سبب کاهش وزن تر کل، وزن تر اندام هوایی و ریشه شده و بیش‌ترین و کم‌ترین میزان وزن تر کل، وزن تر اندام هوایی و ریشه به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد (۳۳/٦، ۷/٤ و ۲٦/۱ گرم) و تیمار تنش شدید (۱۸/٤، ۲/۲ و ۱٦/۱ گرم) می‌باشد (جدول ۵).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه و نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه: افزایش سطوح تنش خشکی با گذشت زمان سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک گیاه و افزایش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه شد. تیمار شاهد بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی (۵/٤ گرم) و بیش‌ترین وزن خشک ریشه (۱۲/۰٦ گرم) را داشت (جدول ۵).

نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش، وزن تر و وزن خشک کاهش یافت که با نتایج برخی آزمایش‌ها بر روی دانهال‌های گردو هم‌راستا می‌باشد (وحدتی و همکاران، ۲۰۰۹؛ لطفی و همکاران، ۲۰۰۹). در پژوهش‌های انجام شده بر روی انواع گیاهان روند نزولی وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی طی پتانسیل‌های منفی‌تر گزارش شده است (صدرزاده و معلمی، ۲۰۰٦؛ ساکسنا و همکاران، ۱۹۹۳). زمانی که در شرایط تنش خشکی، ارتفاع گیاه و تعداد برگ کاهش می‌یابد، در نتیجه به‌دنبال آن وزن تر و وزن خشک اندام هوایی کم می‌شود. کاهش وزن تر و وزن خشک اندام هوایی و ریشه گردوی ایرانی تحت تنش خشکی را می‌توان حساس بودن این گونه به تنش خشکی نسبت داد. نتایج نشان داد که نسبت وزن خشک ریشه به ساقه تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش افزایش می‌یابد، در این رابطه افزایش نسبت وزن خشک ریشه به ساقه با افزایش تنش خشکی نیز گزارش شده است (مارچنر، ۱۹۹۵). کمبود ملایم آب باعث توسعه ریشه به بخش‌های عمیق‌تر و مرطوب‌تر خاک می‌شود و فرایند توسعه برگ را به سرعت تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، اما فعالیت فتوسنتزی به مقدار کم‌تری تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد. جلوگیری از توسعه برگ میزان مصرف کربن و انرژی را در اندام هوایی کاهش می‌دهد و سهم بیش‌تری از مواد کربوهیدراته گیاه در ریشه توزیع می‌گردد که در آن‌جا ریشه توانایی جذب آب و مواد معدنی بیش‌تری را می‌یابد. در نتیجه افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی حاصل می‌شود (کافی و همکاران، ۲۰۱۰).

جدول ۳- اثرات متقابل تأثیر تنش خشکی و مرحله نمونه‌برداری بر برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک اندام هوایی دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.).

	تیمار	طول ساقه (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	تعداد برگ	سطح برگ (سانتی‌مترمربع)	نشت یونی (درصد)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	شاخص کلروفیل
مرحله اول†	شاهد**	۲۵/۶۱±۰/۴[c*]	۵/۰۰±۰/۱[cd]	۲۲/۵۸±۱/۴[a]	۲۹۷/۰±۱۶/۱[a]	۳۶/۵۷±۰/۳[g]	۷۱/۰۰±۱/۵[a]	۳۴/۹۰±۰/۷[a]
	تنش متوسط	۲۱/۶۵±۰/۵[d]	۴/۶۸±۰/۱[de]	۲۰/۷۵±۱/۴[ab]	۱۴۳/۳±۱۴/۸[d]	۴۴/۸۳±۰/۲[f]	۶۵/۰۵±۱/۹[b]	۲۷/۰۷±۰/۹[bc]
	تنش شدید	۱۷/۶۵±۰/۶[e]	۳/۹۷±۰/۰۹[f]	۱۷/۴۱±۱/۵[b]	۱۴۹/۵±۱۱/۱[d]	۵۳/۹۲±۰/۷۱[e]	۵۲/۲۳±۰/۶[d]	۲۴/۵۵±۰/۷[d]
مرحله دوم	شاهد	۲۷/۲۱±۰/۴[b]	۶/۰۱±۰/۲[b]	۱۷/۵۸±۰/۸[b]	۲۳۸/۰±۱۶/۱[b]	۴۶/۷۳±۰/۲[f]	۶۶/۱۶±۱/۵[b]	۲۸/۸۰±۰/۶[b]
	تنش متوسط	۲۲/۶۵±۰/۵[d]	۵/۲۵±۰/۱[c]	۱۷/۰۰±۱/۹[b]	۲۰۴/۹±۱۹/۱[bc]	۵۶/۳۹±۰/۴[d]	۵۵/۴۲±۰/۷[c]	۲۵/۱۸±۰/۵[cd]
	تنش شدید	۱۸/۱۵±۰/۶[e]	۴/۵۲±۰/۱[e]	۱۰/۸۵±۱/۸[c]	۸۹/۸۴±۱۳/۳[e]	۶۴/۱۴±۰/۷[c]	۴۸/۰۲±۰/۶[e]	۲۱/۱۲±۱/۳[e]
مرحله سوم	شاهد	۳۰/۴۷±۰/۳[a]	۶/۹۳±۰/۲[a]	۱۸/۶۶±۰/۷[b]	۱۸۹/۰±۱۶/۱[cd]	۵۸/۰۳±۰/۸[d]	۵۱/۱۲±۰/۵[d]	۲۶/۵۴±۰/۷[cd]
	تنش متوسط	۲۳/۱۹±۰/۴[d]	۵/۳۳±۰/۱[c]	۹۰/۶۲±۱/۴[cd]	۹۵/۹۲±۱۹/۲[e]	۶۶/۵۹±۱/۱[b]	۴۵/۲۰±۰/۸[e]	۲۴/۹۲±۰/۴[cd]
	تنش شدید	۱۸/۴۳±۰/۵[e]	۴/۶۶±۰/۱[de]	۶/۰۰±۰/۵[d]	۴۳/۴۶±۵/۶[f]	۷۰/۲۷±۰/۶[a]	۳۸/۹۵±۰/۸[f]	۱۷/۳۳±۰/۵[f]

* اعداد به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند، در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارد.

** تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد.

† مرحله اول (۱۵ روز بعد از اعمال تنش)، مرحله دوم (۳۰ روز بعد از اعمال تنش) و مرحله سوم (۴۵ روز بعد از اعمال تنش) می‌باشد.

جدول ٤- تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های ریخت‌شناسی ریشه دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) در مرحله سوم نمونه‌برداری (٤٥ روز بعد از اعمال تنش).

تیمار	طول ریشه (سانتی‌متر)	حجم ریشه (سانتی‌مترمکعب)	سطح ریشه (سانتی‌مترمربع)
شاهد**	٢٧/٧٥±١/٤ a*	٢٣/٧٥±١/٩ a	٣٢/٣٤±١/٣ a
تنش متوسط	٢٠/٤٢±٠/٨ b	٢٢/٦٦±١/٨ a	٢٩/٠٣±١/٠٥ b
تنش شدید	١٥/٠٥±٠/٧ c	١٥/٥٨±١/١ b	٢٠/٤٨±٠/٩ c

* اعداد به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند، در سطح ٥ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارد.

** تیمار شاهد (٨٠ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (٥٠ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (٢٠ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد.

جدول ٥- تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) در مرحله سوم.

تیمار	وزن تر کل (گرم)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه
شاهد**	٣٣/٦١±٢/٧ a*	٧/٤٨±٠/٨ a	٢٦/١٢±٢/٠ a	٥/٤٧±١/٦ a	١٢/٠٦±٠/٤ a	٤/٨٦±٠/٤ b
تنش متوسط	٢٧/٨٩±١/٤ b	٤/٩٨±٠/٦ b	٢٢/٩٠±١/٠ a	١/٤٩±٠/٢ b	٩/١٨±٠/٥ b	٨/٩٤±٠/٧ a
تنش شدید	١٨/٤٣±١/٢ c	٢/٢٨±٠/٣ c	١٦/١٥±١/١ b	٠/٧٧±٠/١ b	٥/٩٨±٠/٤ c	٨/٩١±٠/٩ a

* اعداد به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند، در سطح ٥ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارد.

** تیمار شاهد (٨٠ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (٥٠ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (٢٠ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد.

شاخص‌های بیوشیمیایی

کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید: تأثیر سطوح مختلف تنش بر میزان کلروفیل معنی‌دار بود. بیش‌ترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار شاهد مرحله اول (١٤/٣٢ میلی‌گرم بر گرم) بود و کم‌ترین میزان کلروفیل کل مربوط به تنش شدید در هر سه مرحله بود که با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ٦). همچنین بیش‌ترین و کم‌ترین میزان کلروفیل a و b به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد در مرحله اول

(۷۱ و ۵/۲۲ میلی‌گرم برگرم) و تنش شدید در هر مرحله سوم (۳۸/۹۵ و ۱/۰۳ میلی‌گرم بر گرم) بود. بررسی‌ها نشان داد که میزان کارتنوئید نیز تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش واقع شد و بیش‌ترین میزان کارتنوئید در تنش متوسط در مرحله سوم (۶/۷۸ میلی‌گرم بر گرم) و تنش شدید در مرحله اول (۷/۶۲ میلی‌گرم بر گرم) بود (جدول ٦). پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که تنش خشکی در گردو میزان کلروفیل (کل، a و b) را کاهش می‌دهد (وحدتی و لسلی، ۲۰۱۳) که با نتایج این پژوهش مطابق می‌باشد.

همچنین گزارش‌های مشابهی مبنی بر کاهش کلروفیل در تنش کم‌آبی در گیاهان زیتون و گندم وجود دارد (سوفو و همکاران، ۲۰۰٤؛ لاگینی و همکاران، ۱۹۹۹). تنش کم‌آبی موجب تخریب رنگدانه‌های فتوسنتزی، کاهش مقدار کلروفیل برگ و تخریب تشکیلات فتوسنتزی می‌گردد (آنجوم و همکاران، ۲۰۱۱). کاتابولیسم کلروفیل در شرایط کم‌آبی افزایش می‌یابد، که علت عمده آن علاوه‌بر موارد ذکر شده می‌تواند به‌دلیل پیری زودرس برگ‌ها در اثر اختلال هورمونی ناشی از تنش کم‌آبی باشد (کافی و مهدوی‌دامغانی، ۲۰۰۳). کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل در این پژوهش می‌تواند به‌دلیل کم بودن محتوای نسبی آب برگ و در نتیجه کاهش عوامل لازم برای ساخت کلروفیل و تخریب ساختمان آن باشد. در این پژوهش میزان کارتنوئید در تیمار شاهد در هر ۳ مرحله تفاوت معنی‌داری نداشت، اما در تنش متوسط افزایش معنی‌داری نشان داد. کارتنوئیدها در بافت‌های فتوسنتزی به‌عنوان رنگیزه کمکی عمل می‌کنند اما دارای نقش آنتی‌اکسیدانی و جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نیز می‌باشد (ایگرت و توینی، ۲۰۰۲). به احتمال زیاد کاهش میزان کارتنوئید در تنش شدید به‌علت نداشتن مقاومت دانهال‌ها به این سطح تنش می‌باشد.

قندهای احیا برگ: نتایج این پژوهش نشان داد که میزان قندهای احیا برگ تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش معنی‌دار بود، به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان آن در تنش شدید در مرحله اول (۲/٥٤ میلی‌گرم بر گرم) بود ولی دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (جدول ٦). در این آزمایش میزان قندهای احیا در گیاهان تحت تنش شدید در مرحله اول تنش افزایش پیدا کرد، در حالی‌که در مراحل بعد کاهش معنی‌داری یافت. مشخص شده است که گیاهان در مقابله با تنش خشکی راهبردهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین، قندهای احیا، راهبردهای آنزیمی و غیرآنزیمی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی اشاره کرد (لطفی و همکاران،

a۲۰۱۰؛ لطفی و همکاران، b۲۰۱۰؛ نصیبی و همکاران، ۲۰۱۱). تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهم ایفا نموده و کمک می‌کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیش‌تری برای حفظ تورژسانس تحت تنش کم‌آبی داخل سلول باقی بماند (ساتو و همکاران، ۲۰۰٤). به احتمال زیاد عدم افزایش میزان قندهای احیا تحت تنش به‌دلیل حساسیت گردوی ایرانی به تنش خشکی می‌باشد.

پروتئین: نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی واقع شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان پروتئین به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد در مرحله اول (۵/٤۷ میلی‌گرم بر گرم) و تنش متوسط و تنش شدید مرحله سوم (۲/۷۱ و ۲/٤۳ میلی‌گرم بر گرم) بود (جدول ٦). با گذشت زمان و افزایش سطح تنش میزان پروتئین کاهش یافت. این داده‌ها با نتایج برخی مطالعات که گزارش کردند، با افزایش دور آبیاری میزان پروتئین برگ به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، هم‌خوانی دارد (کافی و مهدوی‌دامغانی، ۲۰۰۳).

پرولین: نتایج مربوط به‌میزان پرولین نشان داد که تأثیر تنش خشکی با گذشت زمان سبب افزایش میزان پرولین شده است. در مرحله سوم تیمار تنش شدید بیش‌ترین میزان پرولین (۳۰۳/٤ میکرومولار بر گرم) را نشان داد (جدول ٦). بیش‌ترین میزان پرولین مربوط به مرحله سوم بود. نتایج این پژوهش با دیگر نتایج مبنی بر افزایش پرولین با افزایش تنش خشکی هم‌راستا می‌باشد (مارالیان و همکاران، ۲۰۱۰؛ جوهری، ۲۰۱۰). افزایش پرولین با کاهش پتانسیل آب برگ آغاز می‌شود، که این افزایش منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشا در گیاهان می‌شود. به این ترتیب با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش کم‌آبی افزایش می‌یابد (راهداری و حسینی، ۲۰۱۲).

پراکسید هیدروژن: نتایج پژوهش نشان داد که میزان پراکسید هیدروژن تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش واقع شد. تنش خشکی سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن شده است. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان پراکسید هیدروژن مربوط به تنش شدید در مرحله سوم (۵۸۷/۳ میکرومولار بر گرم) و کم‌ترین آن تیمار شاهد در مرحله اول (۷۹/۱۸ میکرومولار بر گرم) بود (جدول ٦). در این مطالعه سطوح مختلف تنش سبب افزایش میزان پراکسید هیدروژن می‌گردد. ایجاد تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند شیرین‌بیان (پن و همکاران، ۲۰۰٦) و موز (چای و همکاران، ۲۰۰۵) گزارش شده است.

جدول ٦- اثرات متقابل تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی اندام هوایی دانهال‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.).

	تیمار	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم)	کارتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	قند احیا (میلی‌گرم بر گرم)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم)	پرولین (میکرومولار بر گرم)	پراکسید هیدروژن (میکرو مولار بر گرم)
	شاهد**	١٤/٣٢±٠/٩^{a*}	٧١/٠٠±٠/٨^{a}	٥/٢٢±٠/١^{a}	٤/٥٤±٠/٤^{bc}	١/١٥±٠/٠٣^{de}	٥/٤٧±٠/١^{a}	٥٧/٦٩±٦/١^{i}	٧٩/١٨±٤٢/٣^{e}
مرحله اول†	تنش متوسط	٩/٢٤±٠/٦^{b}	٦٥/٠٥±٠/٤^{b}	٣/٨٤±٠/٢^{b}	٥/٤٠±٠/٤^{b}	١/٦٢±٠/٠٤^{bc}	٤/٣٧±٠/١^{c}	٦٨/٩٣±٧/٦^{h}	٣١٠/٣±٧/٢^{c}
	تنش شدید	٧/٠٤±٠/٣^{cd}	٥٢/٢٦±٠/٣^{d}	١/٨٧±٠/١^{de}	٧/٦٢±٠/١^{a}	٢/٥٤±٠/١^{a}	٣/٣٧±٠/١^{de}	١٩٧/٦±٢٦/٤^{d}	٤٨٦/٣±٥٢/٥^{b}
مرحله دوم	شاهد	٩/٢٣±٠/٤^{b}	٦٦/١٦±٠/٢^{b}	٣/٧٠±٠/٢^{b}	٤/٢١±٠/٢^{c}	١/٠٧±٠/٠٢^{e}	٥/٠٢±٠/٠٩^{b}	٧٦/٢١±٢/٣^{g}	٢٢٢/٥±١٣/١^{d}
	تنش متوسط	٧/١٤±٠/٥^{c}	٥٥/٤٢±٠/٤^{c}	٢/٤٦±٠/١^{d}	٢/٧٢±٠/١^{d}	١/٢٣±٠/٠٦^{de}	٣/٧٨±٠/١^{d}	١٣٢/٤١±١/٣^{e}	٤٨١/٤±٢٦/٤^{b}
	تنش شدید	٥/٤١±٠/٤^{d}	٤٨/٠٢±٠/٣^{e}	١/٦٩±٠/١^{e}	٤/١١±٠/١^{c}	١/٧٤±٠/١^{b}	٣/١٧±٠/١٠^{e}	٢١٧/٤٩±١/٩^{c}	٥٤٣/٦±٢٢/٣^{ab}
مرحله سوم	شاهد	٩/٠٨±٠/٩^{b}	٥١/١٢±٠/٦^{d}	٣/١١±٠/٣^{e}	٤/٨٩±٠/٤^{bc}	١/٤١±٠/٠٤^{cd}	٣/٢٩±٠/٢^{e}	٩٨/١±٢٥/٠٣^{f}	٣٦٥/٣±١٠/٤^{c}
	تنش متوسط	١٠/٢٤±٠/١^{b}	٤٥/٢٠±٠/١^{e}	١/٩٢±٠/٢^{de}	٦/٧٨±٠/٣^{a}	١/٥٩±٠/١^{bc}	٢/٧١±٠/١^{f}	٢٨٥/٤±٢١/٢^{b}	٥٠٨/٤±٢١/٥^{b}
	تنش شدید	٥/٩٤±٠/٣^{cd}	٣٨/٩٥±٠/١^{f}	١/٠٣±٠/١^{f}	٤/٠٤±٠/١^{c}	١/١٢±٠/٠٢^{e}	٢/٤٣±٠/٠٨^{f}	٣٠٣/٤±٢٠/٠٩^{a}	٥٨٧/٣±٣١/٨^{a}

* اعداد به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند، در سطح ٥ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارد.

** تیمار شاهد (٨٠ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (٥٠ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (٢٠ درصد ظرفیت زراعی) می‌باشد.

† مرحله اول (١٥ روز بعد از اعمال تنش)، مرحله دوم (٣٠ روز بعد از اعمال تنش) و مرحله سوم (٤٥ روز بعد از اعمال تنش) می‌باشد.

سامانه آنزیمی آنتی‌اکسیدانی: نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در هر سه تیمار شاهد، تنش متوسط و شدید در مرحله اول کم‌ترین میزان آنزیم کاتالاز (۳۵/۱، ۰/۴۲ و ۰/۵۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) مشاهده گردید و تنش خشکی سبب افزایش این آنزیم در مراحل بعدی شد (جدول ۷). بررسی‌ها نشان داد که در این پژوهش میزان آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت‌تأثیر تنش خشکی و مراحل مختلف معنی‌دار بوده و افزایش یافت (جدول ۷). نتایج نشان داد که میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت‌تأثیر تنش خشکی افزایش یافت اما میزان آن در مرحله سوم تحت تنش شدید کاهش یافت (جدول ۷).

مشخص شده است که تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه پراکسیدازها را در دانهال‌های گردو افزایش می‌دهد (لطفی و همکاران، ۲۰۱۰b). در این پژوهش میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش و میزان آنزیم کاتالاز افزایش یافت ولی میزان آنزیم گایاکول پر اکسیداز تغییر چشم‌گیری نشان نداد. نتایج این پژوهش با نتایج ژانگ و همکاران (۲۰۰۵) هم‌خوانی دارد. آن‌ها پیشنهاد کردند که تنش خشکی ابتدا باعث تولید اسید آبسزیک می‌شود که این هورمون تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر[1] را افزایش می‌دهد و باعث بیان سامانه آنتی‌اکسیدانی می‌شود. آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های تجزیه‌کننده پراکسید هیدروژن هستند. از آن‌جایی‌که گردوی ایرانی قادر به مقابله با تنش در سطح متوسط و شدید نبود، بنابراین به‌نظر نمی‌رسد در این شرایط آنزیم کاتالاز نقش مهمی در حذف پراکسید هیدروژن داشته باشد. آنزیم کاتالاز فقط در پراکسیزوم واقع شده و به نور بسیار حساس است. از این‌رو دامنه فعالیت آن برای سم‌زدایی پراکسید هیدروژن محدود است، بنابراین آنزیم‌های دیگری نیز باید در این سم‌زدایی سهیم باشند (بولر و همکاران، ۱۹۹٤).

1- Reactive Oxygen Species

جدول ۷- اثرات متقابل تأثیر تنش خشکی بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی اندام هوایی دانهال‌های گـردوی ایرانـی (*Juglans regia* L.).

	تیمار	کاتالاز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	گایاکول پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)	آسکوربات پراکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین)
	شاهد**	۱/۳۵±۰/۱^{d*}	۰/۵۱±۰/۰۲^{c}	۰/۳۹±۰/۰۲^{c}
مرحله اول†	تنش متوسط	۰/۴۲±۰/۰۸^{d}	۱/۲۱±۰/۰۷^{bc}	۴/۰۱±۰/۹^{ab}
	تنش شدید	۰/۵۳±۰/۰۶^{d}	۲/۱۱±۰/۶^{b}	۳/۰۸±۰/۲^{ab}
	شاهد	۳/۸۳±۰/۴^{b}	۲/۲۵±۰/۵^{b}	۲/۳۱±۰/۹^{b}
مرحله دوم	تنش متوسط	۴/۴۷±۰/۹^{b}	۳/۹۱±۰/۱^{a}	۴/۵۱±۰/۴^{a}
	تنش شدید	۵/۹۱±۰/۴^{a}	۳/۹۵±۰/۴^{a}	۳/۶۶±۰/۳^{ab}
	شاهد	۶/۴۵±۰/۲^{a}	۲/۲۴±۰/۵^{b}	۲/۹۱±۰/۲^{ab}
مرحله سوم	تنش متوسط	۳/۸۴±۰/۲^{b}	۳/۹۲±۰/۱^{a}	۳/۴۵±۰/۴^{ab}
	تنش شدید	۲/۶۵±۰/۱^{c}	۳/۹۶±۰/۳^{a}	۲/۵۲±۰/۱^{b}

* اعداد به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند، در سطح ۵ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارد.

** تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شـدید (۲۰ درصـد ظرفیـت زراعی) می‌باشد.

† مرحله اول (۱۵ روز بعد از اعمال تنش)، مرحله دوم (۳۰ روز بعد از اعمال تنش) و مرحله سوم (۴۵ روز بعد از اعمال تنش) می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه نشان داده شد که شاخص‌های ریخـت‌شناسـی، فیزیولوژیـک و بیوشـیمیایی مـورد مطالعه تحت‌تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی واقع شدند. همچنین نتایج نشان داد که علاوه‌بـر تـنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) نیز تأثیر کاملاً معنـی‌داری بر ویژگی‌های فیزیولوژیک دارد به‌طوری‌که سبب کاهش رشد اندام‌هـای مختلـف دانهـال‌هـای گـردو می‌گردد. با توجه به مجموعه نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان بیان کرد که کمبود آب سبب مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دانهال‌های گردو شده و در نهایت منجر به تغییـرات ریخت‌شناسی در این گیاه می‌گردد. در این بررسی میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، قندهای احیا، پروتئین و تحت تنش خشکی کاهش یافته، میزان پرولین، پراکسید هیدروژن، آنزیم کاتالاز، آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش پیدا کرد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش پیدا کـرد ولـی در تـنش

شدید مرحله سوم میزان آن کاهش یافت. با انجام این پژوهش مشخص گردید که عدم تحمل دانهال‌های گردوی ایرانی به تنش خشکی متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی)، به احتمال زیاد به‌دلیل افزایش نشت یونی، کاهش محتوای نسبی آب برگ، تخریب کلروفیل، کاهش میزان قندهای احیا، کاهش پروتئین، افزایش پراکسید هیدروژن، افزایش ناکافی میزان پرولین و عدم وجود سامانه آنتی‌اکسیدانی قوی صورت گرفته است که در نتیجه این تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی باعث حساسیت این گونه به تنش خشکی شده است.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آقای مهندس حبیب حسینی که در اجرای این پژوهش همکاری نموده‌اند، سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1.Ahmadi, A., and Baker, D.A. 2000. Stomatal and non-stomatal limitation of photosynthesis under drought stress conditions in wheat plant. J. Agric. Sci. 31: 4. 825-813. (In Persian)

2.Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environ. 24: 1337-1344.

3.Amri, E., and Shahsavar, A.R. 2010. Response of lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress. Aust. J. Basic Appl. Sci. 4: 9. 4483-4489.

4.Amri, E., Mirzaei, M., Moradi, M., and Zare, K. 2011. The effect of spermidin and putrescine polyamine on growth of pomegranate (*Punica granatum*) in salinity circumstance. Inter. J. Plant Physiol. Biochem. 3: 43-49.

5.Anjum, S., Xie, X., Wang, L., Saleem, M., Man, C., and Lei, W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. Afri. J. Agric. Res. 6: 9. 2026-2032.

6.Atkinson, D. 1980. The distribution and effectiveness of the roots of tree crops. Hort. Review. 2: 424-490.

7.Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., 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 Sci. 170: 596-605.

8.Bates, L.S., Waldran, R.P., and Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water studies. Plant Siol. 39: 205-208.
9.Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M., and Inze, D. 1994. Super oxide dismutase in plants. Cri. Rev. Plant Sci. 13: 199-218.
10.Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analyt Biochem. 72: 248-254.
11.Chai, T.T., Fadzillah, N.M., Kusnan, M., and Mahmood, M. 2005. Water stress induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plants. Biol. Plant. J. 49: 153-156.
12.Chaves, M.M., Flexas, J., and Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals Bot. 103: 551-560.
13.Dhindsa, R.S., Dhindsa, P., and Thorpe, A.T. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. J. Exp. Bot. 32: 93-101.
14.Egert, M., and Tevini, M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environ. Exp. Bot. 48: 43-49.
15.F.A.O. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations Database (walnut crop). *Available At: http://faostat.fao.org. Access Date: 2014*.
16.Farahani, H., Valadabadi, A., Daneshian, J., and Khalvati, M. 2009. Medicinal and aromatic plants farming under drought conditions. J. Hort. Forest. 1: 6. 86-92.
17.Fernandez, J.A., Balenzategui, L., Ba˜n′n, S., and Franco, J.A. 2006. Induction of drought tolerance by paclobutrazol and irrigation deficit in (*Phillyrea angustifolia)* during the nursery period. Hort. Sci. 107: 277-283.
18.Fu, J., and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. Environ. Exp. Bot. 45: 105-114.
19.Fulton, A., and Buchner, R. 2006. The effect of water stress on walnut tree growth, productivity and economics. University of California Press. 15p.
20.Johari-Pireivatlou, M. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. Afr. J. Biotech. 9: 36-40.
21.Kafi, M.A., and Mahdavi Damghani, M. 2003. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants. Ferdwsi University of Mashhad Press, Iran, 467p. (Translated In Persian).
22.Kafi, M., Borzooyi, B., Salehi, M., Kamandi, A., Massumi, A., and Nabati, J. 2010. Environmental Stress in Plant Physiology. JDM Press, 502p. (In Persian)
23.Kamiab, F., Talaie, A.R., Khezri, M., and Javanshah, A. 2013. Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. Plant Growth Reg. DOI 10.1007/s10725-013-9857-9.

24.Kumar, S.P. 2011. Effect of different mulches and irrigation method on root growth nutrient uptake, water-use efficiency and yield of strawberry. Hort. Sci. 127: 318-324.
25.Lichtenthder, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomemberanes. Methods Enzymol. 148: 350-382.
26.Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E., and Navari-Izzo, F. 1999. Antioxidative defense system pigment composition and photosynthetic effiency in two wheat cultivars subjected to Drought. Plant Physiol. 119: 1091-1100.
27.Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B., and Najafian Ashrafi, E. 2009. Germination, mineral composition and ion uptake in walnut under salinity conditions. Hor. Sci. 44: 5. 1352-1357.
28.Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B., and Amiri, R. 2010a. Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. J. Fruits. 65: 97-112.
29.Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B., Hassani, D., and Amiri, R. 2010b. Peroxidase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activity accumulation in leaves and roots of walnut trees in response to drought stress. Acta Hort. 861: 309-316.
30.Maralian, H., Ebadi, A., Didar, R.T., and Haji-Eghrari, B. 2010. Influence of water deficit stress on wheat grain yield and proline accumulation rate. Afri. J. Agric. Res. 5: 286-289.
31.Marchner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press. Pp: 6-73.
32.Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
33.Nasibi, F., Manouchehri Kalantari, Kh., and Yaghoobi, M.M. 2011. Comparison the effects of sodium nitroprusside and arginine pretreatment on some physiological responses of tomato plant (*Lycopersicun esculentum*) under water stress. Iran. J. Biol. 24: 6. 833-847. (In Persian)
34.Natali, S., Begnami, C., and Fusari, A. 1991. Water consumption, photosynthesis transpiration and leaf water potential in *Olea europaea* L. cv. ‘Frantoio’ at different levels of available water. Acquires Global Agri-Med Tech. 121: 3. 205-212.
35.Pan, Y., Wu, L., and Yu, Z. 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activites and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrriza uralensis* Fisch). Plant Growth Reg. 301: 564-571.
36.Rahdari, P., and Hoseini, S.M. 2012. Drought Stress: A Review. Inter. J. Agron. Plant Prod. 3: 10. 443-446.
37.Rieger, M., Lobianco, R., and Okie, W.R. 2003. Responses of *Prunus ferganensis*, *Prunus persica* and two interspecific hybrids to moderate drought stress. Tree Physiol. 23: 51-58.

38.Rostami Shahraji, T., Hajimerzai, A., and Shabaian, N. 2010. Physiological responses of *Pistacia khinjuck* (stocks) seedling to water stress. Ind. J. Biol. Tech. 1: 44-49.
39.Sadrzadeh, M., and Moalemi, N. 2006. Effects of drought stress and potasium in vegitative intimacy olive seedling cultivars 'Zard and Baghmalek'. Plant, Soil Water Agri. Res. 6: 4. 139-148. (In Persian)
40.Sairam, R.K., Rao, K.V., and Srivastava, G.C. 2002. Diferential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyt concentration. Plant Sci. 163: 1037-1046.
41.Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., and Tokuda, S. 2004. Physiologycal responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temprature storage in darkness. Hort. Sci. 101: 349-357.
42.Saxena, N.P., Krishnamurthy, L., and Johansen, C. 1993. Registration of a drought resistance chickpea gerplasm. Crop Sci. 33: 1424.
43.Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., and Masia, A. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. Plant Sci. 166: 293-30.
44.Somogy, M. 1952. Note on sugar determitation. J. Biochem. 195: 19-29.
45.Spann, T.M., and Heerema, R.J. 2010. A simple method for non-destructive estimation of total shoot leaf area in tree fruit crops. Hort. Sci. 125: 528-533.
46.Vahdati, K., and Leslie, C.A. 2013. Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture. 410p.
47.Vahdati, K., Lotfi, N., Kholdebarin, B., Hasani, D., and Amiri, R. 2009. Screening for drought tolerant genotypes of Persian walnuts (*Juglans regia* L.) during seed germination. Hort. Sci. 44: 7. 1815-1819.
48.Wheutherley, P.E. 1950. Studies in water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. New Phyto. 49: 81-87.
49.Zhang, Z., Pang, X., Duan, X., Jl, Z.L., and Jiang, Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanine degradation in litchi fruit pericarp. Food Chem. 90: 47-52.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 21 (3), 2014
http://jopp.gau.ac.ir

Effects of drought stress on some morphological, physiological and biochemical parameters of Persian walnut seedling

***P. Parvin[1], M. Khezri[2] and I. Tavasoliyan[2]**
[1]M.Sc. Student, Dept. Horticultural Science, Shahid Bahonar University of Kerman,
[2]Assistant Prof., Dept. Horticultural Science, Shahid Bahonar University of Kerman
Received: 11/19/2013; Accepted: 07/27/2014

Abstract

Iran is among the world's arid and semi-arid countries. Drought stress is one of the most important environmental stresses affecting fruit trees and considerably can cause yield reduction. Persian walnut (*Juglans regia* L.) with significant area under cultivation is one the most important nuts in Iran, which require sufficient amounts of water for optimal growth and efficiency. In order to study the effect of different levels of water stress on some morphological and physiological parameters of Persian walnut and to determinate the tolerance of the seedlings to drought stress, the experiment has been carried out as factorial based on completely randomized design in a controlled greenhouse with nine treatments and 20 replications. In this study, stress levels including control (80% of field capacity), moderate drought stress (50% field capacity) and severe drought stress (20% field capacity) were applied and measurements were carried out through three stages. The results of morphological, physiological and biochemical parameters showed that these parameters have been affected by the stress levels. It was found that the walnut seedlings could not able to tolerate the moderate drought stress even at 50% of field capacity. Therefore, the intolerance of walnut seedlings to moderate and severe levels of drought stress was accounted to the increased ion leakage, reduced leaf relative water content, chlorophyll degradation, decreasing the amount of reduced sugars, proteins and increase in proline and hydrogen peroxide as well as an inefficient antioxidant enzymes for stress tolerance.

Keywords: Antioxidant enzymes, Drought stress, Field capacity, Persian walnut

* Corresponding Author; Email: parisa.parvin35@yahoo.com