



عملکرد رشد و پاسخ دفاعی نهال‌های گونه ون به تنش خشکی

مکرم روان‌بخش^{۱*}، بابک باباخانی^۲ و محمود قاسم‌نژاد^۳

^۱مری پژوهشی، گروه پژوهشی محیط زیست طبیعی، پژوهشکده محیط زیست جهاد دانشگاهی، رشت، ایران؛ دانش‌آموخته دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن
^۲استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران
^۳استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۸/۲۳)

چکیده

مطابق پیش‌بینی‌ها، خشکی در دهه‌های آینده احتمالاً به شدت افزایش خواهد یافت، بنابراین درک پاسخ‌های سازشی گونه‌های درختی که با این شرایط روبه‌رو می‌شوند اهمیت ویژه‌ای دارد. در این تحقیق تأثیر تنش خشکی بر پارامترهای ریخت‌شناسی، فیزیولوژی و بیوشیمیایی گونه جنگلی ون (*Fraxinus excelsior* L.) از گونه‌های بومی هیرکانی ارزیابی شده است. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی روی نهال‌های یکساله و چهار سطح تنش خشکی ۲۵ درصد (تنش شدید)، ۵۰ درصد (تنش متوسط)، ۷۵ درصد (تنش خفیف) و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون تنش) انجام گرفت. نتایج نشان داد که خشکی، رشد و زی‌توده نهال‌ها را کاهش داد. میزان افت در تیمار تنش شدید نسبت به تیمار شاهد در صفت ارتفاع نهال‌ها، زی‌توده کل، سطح برگ و شاخص سطح ویژه برگ به ترتیب ۴۷/۶، ۴۳/۲، ۷۷/۱ و ۳۸/۱ درصد بود، ولی نسبت ریشه به اندام هوایی ۴۴/۸ درصد افزایش نشان داد. با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و میزان کاروتنوئید کاهش جزئی و غیرمعنی‌داری نشان داد. محتوای نسبی آب نهال‌ها، افت ۳۴/۲۰ و ۲۳/۱۸ درصدی در تنش شدید و متوسط نسبت به تیمار شاهد داشتند. افزایش پرولین و مالون دی‌آلدئید در تیمار تنش شدید نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۹۳/۸ و ۱۶۵/۰۶ درصد بود. در تیمار تنش خفیف و متوسط افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۵ درصد و فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب ۲۷۳ و ۲۴۰ درصد مشاهده شد. داده‌های این تحقیق نشان می‌دهد که نهال‌های ون به کمک راهبرد اجتناب و تحمل خشکی مانند کاهش رشد و زی‌توده، افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی، حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت‌های آنزیمی تا سطح تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی توانایی سازش با شرایط کمبود آب را دارند و استفاده از این گونه برای جنگلکاری و احیای جنگل‌ها در مناطق در معرض خشکی توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، شاخص سطح ویژه برگ، ظرفیت زراعی، کم‌آبی، ون.

مقدمه

درختی که با این شرایط روبه‌رو می‌شوند اهمیت ویژه‌ای دارد (Ying et al., 2015). در نیم قرن گذشته، اقلیم جنگل‌های منطقه خزری گرم‌تر شده است. همچنین مطابق خروجی مدل‌های پیش‌بینی اقلیمی، تا سال ۲۰۵۰ دمای هوای ایران ۲/۷ درجه سانتی‌گراد افزایش خواهد یافت که افزایش نیاز آبی گیاهان را در

تغییرات اقلیم ممکن است سبب افزایش شدت خشکی همزمان با افزایش پیش‌بینی‌شده در دمای هوای جهانی شود (Wang et al., 2016). مطابق با پیش‌بینی‌ها، خشکی در دهه‌های آینده به شدت افزایش خواهد یافت؛ بنابراین درک پاسخ‌های سازشی گونه‌های

جلوگیری از بیوسنتز رنگیزه‌های سبز یا تخریب کلروفیل از دست می‌دهند. کمبود آب سبب شکستن ساختارهای کلروفیل می‌شود و کاهش احتمالی آن در اثر تنش اکسیداتیو نیز اتفاق می‌افتد (Ghaffari et al., 2019). همچنین بسیاری از گیاهان، ترکیبات آلی محلول (ترکیبات محلول سازگار) تحت عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی را تجمع می‌دهند که از مهم‌ترین سازوکارهای حفظ فشار تورژسانس در پاسخ به خشکی و تغییرات شایان توجه بر رشد به‌شمار می‌روند (Medeiros et al., 2012). پرولین مؤلفه اصلی تنظیم اسمزی تلقی می‌شود و تأثیر مهمی در کاهش آسیب اکسیداتیو و پایداری غشای سلولی دارد (Abid et al., 2018). از طرف دیگر کاهش جذب کربن تحت تنش خشکی موجب تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، اغلب سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. این گونه‌های فعال اکسیژن به غشای سلولی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رسانند و سبب تنش اکسیداتیو می‌شوند (Abid et al., 2018). غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) که محصول تجزیه پراکسیداسیون لیپیدی است، به‌عنوان شاخص آسیب اکسیداتیو اندازه‌گیری شده است (Ge et al., 2014; Abid et al., 2018). گیاهان سازوکارهایی را برای جلوگیری از تأثیرات انرژی مضر به کمک اتلاف انرژی اضافی و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، توسط سازوکارهای پیچیده آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی به‌کار می‌برند (Moustaka et al., 2018; Sarker & Oba, 2018). پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) گونه‌های فعال اکسیژن را متلاشی کرده و بنابراین گیاهان را از تنش خشکی محافظت می‌کنند (Geng et al., 2019).

تنش خشکی موجب کاهش تغییرات فیزیولوژیک از جمله کاهش مقدار کلروفیل b، محتوای نسبی آب برگ و افزایش نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم پراکسیداز در نهال‌های گونه افرا شیردار (Acer

پی خواهد داشت (Jafari, 2008; Attarod et al., 2017). با توجه به تغییرات اقلیمی پیش رو، گونه با تحمل خشکی می‌تواند به‌عنوان گونه با توان بالقوه برای کمک به حفظ اکوسیستم جنگلی پایدار مورد توجه قرار گیرد (Bhusal et al., 2020). تحقیق در مورد واکنش گیاهان به کمبود آب و مشخص شدن نوع عملکرد آنها در مواجهه با تنش خشکی می‌تواند به بهبود مدیریت تولید نهال در نهالستان‌ها و نیز موفقیت جنگلکاری‌ها کمک کند (Norouzi Haroni et al., 2015; Ahani et al., 2018; Abdolahi et al., 2017). تنش‌های آبی عامل اصلی کاهش‌دهنده زنده‌مانی نونهال‌ها در مرحله استقرار جنگلکاری به‌شمار می‌آیند. آگاهی از پاسخ نونهال‌ها به تنش‌های آبی، مسئله اساسی در موفقیت جنگلکاری محسوب می‌شود (Jahanbazy Goujani et al., 2013).

تنش خشکی با ایجاد تغییرات ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در اندام‌های گیاه، رشد گیاه را کاهش می‌دهد. کاهش رشد، اثر اولیه و اساسی خشکی بر گیاهان است (Silva et al., 2010). پاسخ ریخت‌شناسی اولیه به تنش خشکی سازوکار اجتناب از طریق تنظیم رشد گیاه مانند کاهش اندام هوایی (ارتفاع، قطر یقه) و زی‌توده است (Lei et al., 2006; Guo et al., 2019). توانایی حفظ پتانسیل آب بیشتر یکی از اصلی‌ترین چالش‌های گونه‌های گیاهی خشکی‌زی است (Medeiros et al., 2013). رطوبت نسبی آب برگ شاخص مهم درجه هیدراته شدن سلول و بافت است که برای عملکردهای فیزیولوژیک بهینه و فرایندهای رشد حیاتی است. در بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده شده که حفظ رطوبت نسبی به‌نسبت زیاد در تنش خشکی شاخص تحمل خشکی است (Ying et al., 2015; Toscano et al., 2016).

کلروفیل از مهم‌ترین اجزای فتوسنتزی کلروپلاست است و مقدار نسبی کلروفیل رابطه مثبتی با نرخ فتوسنتز دارد (Toscano et al., 2016). برگ‌ها احتمالاً تحت تنش خشکی سبزینگی خود را به‌علت

خشکی هوا در برنامه‌های جنگلکاری استفاده شده است (Espahbodi et al., 2003; Mosayeb Nezhad et al., 2008). در حال حاضر، گونه‌ی ون در بیشتر جنگل‌های میان‌بند هیرکانی از بین رفته است و فقط در ارتفاعات و دره‌های البرز در ابعاد کوچک حضور دارد (Fallahchai, 2011).

در این تحقیق با توجه به چالش‌های پیش رو برای اکوسیستم‌های جنگلی از جمله تغییرات اقلیمی، تنش خشکی احتمالی در آینده و تحت تأثیر فرارگیری نهال گیاهان چوبی به تنش کمبود آب، اثر تنش خشکی بر نهال‌های یکساله گونه ون بررسی شده است. نتایج این تحقیق اطلاعات ارزشمندی در مورد سازوکارهای پاسخ گونه و سطح سازش گونه به تنش خشکی فراهم می‌کند.

مواد و روش‌ها

منطقه پژوهش

نهال‌ها از محدوده جنگلی ناواسالم، بخش پایین بند با ارتفاع ۳۰۰ متر و در محدوده روستای لاک‌تاشون خرجگیل جمع‌آوری شده است.

شیوه اجرای پژوهش

مواد گیاهی و اعمال تیمارهای تنش

این تحقیق به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و نه تکرار اجرا شد. نهال‌های یکساله (میانگین ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و قطر یقه ۶ میلی‌متر) از مرکز تهیه نهال ایستگاه پیلمبرا در شهرستان رضوان‌شهر تهیه شد. نهال‌ها به گلدان‌های پلی‌اتیلنی ۹ لیتری حاوی بستر کشت رس، سیلت، شن (جدول ۱) انتقال یافتند و تا زمان اعمال تنش خشکی به مقدار مناسب آبیاری شدند. تیمار تنش از تیر تا مهر ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان انجام گرفت. برای تعیین میزان چهار سطح تنش خشکی ۲۵ درصد (تنش شدید)، ۵۰ درصد (تنش متوسط)، ۷۵ درصد (تنش شدید) و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (بدون تنش)، ابتدا برخی پارامترهای خاک از جمله بافت، وزن مخصوص و رطوبت در

cappadocicum Gled.) تحت تنش خشکی شد (Asgharpour et al., 2017). به عقیده (Boor et al. 2021). تلفیح با قارچ میکوریز ریزوفگوس ایریگولاریس (*Rhizophagus irregularis*) ضمن بهبود مشخصه‌های ریختی موجب افزایش صفات فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای تنش در گونه‌ی توسکای بیلاقی (C.A.Mey) *Alnus subcordata*) شد. مطابق پژوهش (Saeidi et al. 2021) تنش خشکی موجب تغییرات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله کاهش ارتفاع، سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ، افزایش نشت الکترولیت، مقدار مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در نهال‌های ارغوان (*Cercis siliquastrum* L.) به‌ویژه در تیمار تنش شدید شد و این سطح از تنش موجب اختلال شدید در رشد و عملکردهای نهال‌ها شد.

زبان گنجشک معمولی یا اروپایی (ون) با نام علمی (*Fraxinus excelsior* L.) از تیره Oleaceae در سراسر اروپا، مناطق قفقاز و در ایران در ناحیه‌ی رویشی هیرکانی و بنابر گزارش‌هایی در شمال آفریقا به‌طور بومی حضور دارد. ایران شرقی‌ترین حد پراکنش این گونه است. استفاده از این گونه برای جنگلکاری در جنگل‌های اروپا بسیار مورد توجه قرار گرفته است. این در حالی است که در ایران برای احیای جنگل‌های مخروطی شمال کشور بیشتر از پلت، توسکا و بلوط استفاده شده و کمتر توجهی به این گونه ارزشمند می‌شود. از ویژگی‌هایی مورد توجه برای کاشت گونه در اروپا می‌توان به سرعت رشد زیاد، تحمل تنش آبی، سهولت استقرار نونهال و نهال، زنده‌مانی زیاد در مراحل اولیه استقرار، خواص ویژه چوب و ارزش تجاری چوب آن اشاره کرد (Sadeghipour & Kartoolinejad, 2017). ون یکی از گونه‌های اصلی جنگل‌های هیرکانی است که به دلیل رشد و تولید مناسب، مقاومت نسبی در برابر سرمای نابهنگام و

وزن مرجع مشخص شد و آبیاری نهال‌ها در هر چهار تیمار پس از توزین گلدان با توجه به این وزن انجام گرفت (Ahani et al., 2018; Saxton et al., 1986).

آزمایشگاه خاک براساس جدول ۱ تعیین شد. با توجه به ظرفیت زراعی، نقطه پژمردگی و وزن نهال و گلدان و وزن خاک خشک و رطوبت خاک در نقاط یادشده،

جدول ۱- پارامترهای خاک

Table 1. Soil properties

| وزن مخصوص ظاهری Bulk density | بافت خاک (%) Soil texture | | رطوبت وزنی خاک (%) Soil water content (%) | | |
|---------------------------------|------------------------------|------------|---|------------------------------------|----|
| شن Sand | سیلت Silt | رس Clay | نقطه پژمردگی Permanent Wilting Point (PWP) (| ظرفیت زراعی Field Capacity (FC) | |
| 1.45 | 60 | 27.5 | 12.5 | 9 | 21 |

محتوای نسبی آب برگ

ابتدا نمونه‌های برگ با آب مقطر شسته و با کاغذ صافی خشک شدند. ده دیسک برگ‌گی به قطر ۱ 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 سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس با کاغذ صافی خشک شده و با ترازوی دیجیتالی با دقت ده‌هزارم وزن شدند. وزن آماس یادداشت شده 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).

رنگی‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری غلظت رنگی‌های فتوسنتزی، ۲۰۰ میلی‌گرم برگ ساییده‌شده 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 با اسپکترومتر مدل (PG Instruments Ltd UV/ VIS (T80+, Lichtenthaler) قرائت شد (Lichtenthaler, 1987; Arnon, 1949).

پرولین

مقدار پرولین به روش Bates و همکاران (1973) تعیین شد. در این روش به نمونه برگ منجمد

پارامترهای رشد (ارتفاع، قطر یقه، زی توده، نسبت ریشه به شاخه، سطح برگ و سطح ویژه برگ)

در انتهای دوره آزمایش، قطر یقه با استفاده از کولیس دیجیتالی (با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر) و ارتفاع نهال‌ها با استفاده از خط کش مدرج با دقت (۰/۱ متر) اندازه‌گیری شد. برای تعیین زی توده اندام‌ها سه نهال از هر تیمار از خاک خارج و پس از شست‌وشوی خاک اطراف ریشه، سه قسمت ریشه، ساقه و برگ جدا شد. قبل از قرار دادن در آون، وزن تر آنها اندازه‌گیری شد و سپس با قرار دادن در آون (دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۰۱) توزین و زی توده‌های ریشه، ساقه و برگ تعیین شد. نسبت ریشه به شاخه (اندام هوایی) (Root: Shoot Ratio (RSR) براساس نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (مجموع وزن برگ و ساقه) محاسبه شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ از هر تیمار سه پایه و از هر پایه سه برگ (پنجمین یا ششمین برگ از نوک گیاه) (Guo et al., 2013; Guo et al., 2019) به صورت تصادفی انتخاب شده و با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج مدل Buble GCL Etch Tank ساخت آلمان اندازه‌گیری شد. از نسبت بین کل سطح برگ هر گیاه و کل وزن خشک برگ در هر گیاه، سطح ویژه برگ (Speciephic Leaf Area) تعیین شد.

روش گایاکول سنجیده شد. 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).

روش تحلیل

داده‌های به دست آمده در محیط نرم‌افزار اکسل سازماندهی و نمودارهای مربوط ترسیم شد. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام گرفت. از تجزیهٔ واریانس یکطرفه، اثر تنش خشکی بر هر یک از صفات استفاده شد و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون دانکن (در سطح احتمال ۵ درصد) انجام گرفت. پیش از آزمون، نرمال بودن داده‌ها به کمک آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس بین گروه‌ها با آزمون لون بررسی شد.

نتایج

جدول ۲ آنالیز واریانس تفاوت صفات رشد و ریخت‌شناسی را در تیمارهای تنش در گونهٔ ون نشان می‌دهد. از بین صفات تحت بررسی، صفت قطر یقه و زی‌تودهٔ ساقه تغییر معنی‌داری بین تیمارهای تنش نشان نداد. صفات ارتفاع، زی‌تودهٔ ریشه، زی‌تودهٔ برگ، زی‌تودهٔ کل، سطح برگ و سطح ویژهٔ برگ تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد و نسبت ریشه به اندام هوایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد نشان دادند. تفاوت میانگین تیمارها در جدول ۳ و شکل ۱ آمده است. همچنان که اشاره شد، دو پارامتر قطر یقه و زی‌تودهٔ ساقه که تفاوت غیرمعنی‌داری بین تیمارها داشتند، افت جزئی در تیمارهای تنش نسبت به شاهد را نشان دادند. میزان افت در تیمار تنش شدید نسبت به تیمار شاهد در صفت‌های ارتفاع نهال‌ها ۴۷/۶ درصد، زی‌تودهٔ کل ۴۳/۲ درصد، زی‌تودهٔ برگ ۳۵/۴ درصد، زی‌تودهٔ ریشه ۳۶ درصد، سطح برگ ۷۷/۱ درصد و در شاخص سطح ویژهٔ برگ ۳۸/۱ درصد بود. نسبت ریشه به اندام هوایی نهال‌های ون ۴۴/۸ درصد افزایش نشان داد.

آسیاب‌شده با نیتروژن مایع سولفوسالیسیلیک اسید اضافه شد. این مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول رویی و صاف‌شده به معرف ناین هیدرین و استیک اسید اضافه شد و سپس از حمام آب گرم، واکنش در حضور یخ متوقف و تولوئن به مخلوط افزوده 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 و برحسب میکرومول در گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

مالون دی‌آلدئید (MDA)

مقدار پراکسیداسیون لیپیدها براساس مقدار مالون دی‌آلدئید (MDA) ارزیابی شد. ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ در ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد (W/V) مخلوط شده و در ۱۲۰۰۰ گرم به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر فاز بالایی با ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد (وزنی/حجمی) حاوی ۰/۵ درصد تیوبار بی‌توریک اسید (TBA) مخلوط و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد گرم شد و به سرعت در حمام یخ خنک شد. سپس مخلوط در ۱۰۰۰۰ گرم به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت شد. غلظت مالون دی‌آلدئید با ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شده و به صورت nmol/g نشان داده شد (Chakhchar et al., 2015).

فعالیت‌های آنزیمی

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (EC) (SOD) 1.15.1.1 از طریق توانایی مهار کاهش فتوشیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) به فومازان توسط رادیکال‌های سوپراکسید ارزیابی شد. یک واحد SOD به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای ایجاد مهار ۵۰ درصدی کاهش فتوشیمیایی NBT در ۵۶۰ نانومتر در نظر گرفته شد (Giannopolitis et al., 1977). فعالیت پراکسیداز گایاکول (EC 1.11.1.7) (GPX) براساس

جدول ۲- آنالیز واریانس صفات رشد و ریخت‌شناسی نهال‌های گونه ون در تیمارهای تنش خشکی

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) of growth and morphological traits of *F. excelsior* under drought stress

| سطح معنی‌داری Sig. | آماره F | میانگین مربعات Mean Square | درجه آزادی Degree of freedom | صفات Traits |
|-----------------------|---------|-------------------------------|---------------------------------|--|
| 0.000** | 13.87 | 223.229 | 3 | ارتفاع Plant Height |
| 0.110 ns | 2.495 | 2.972 | 3 | قطر یقه Basal diameter |
| 0.001** | 17.018 | 15.301 | 3 | زی‌توده ریشه Root biomass |
| 0.051 ns | 4.046 | 1.461 | 3 | زی‌توده ساقه Stem biomass |
| 0.002** | 13.44 | 5.128 | 3 | زی‌توده برگ Leaf biomass |
| 0.001** | 17.490 | 52.575 | 3 | زی‌توده کل Total biomass |
| 0.012 * | 7.215 | 0.32 | 3 | نسبت ریشه به اندام هوایی Root to shoot |
| 0.000** | 147.96 | 911.336 | 3 | سطح برگ Leaf area |
| 0.000** | 22.568 | 3053.403 | 3 | سطح ویژه برگ Special leaf area |

** : اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد؛ * : اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد؛ ns : نبود اختلاف معنی‌دار.

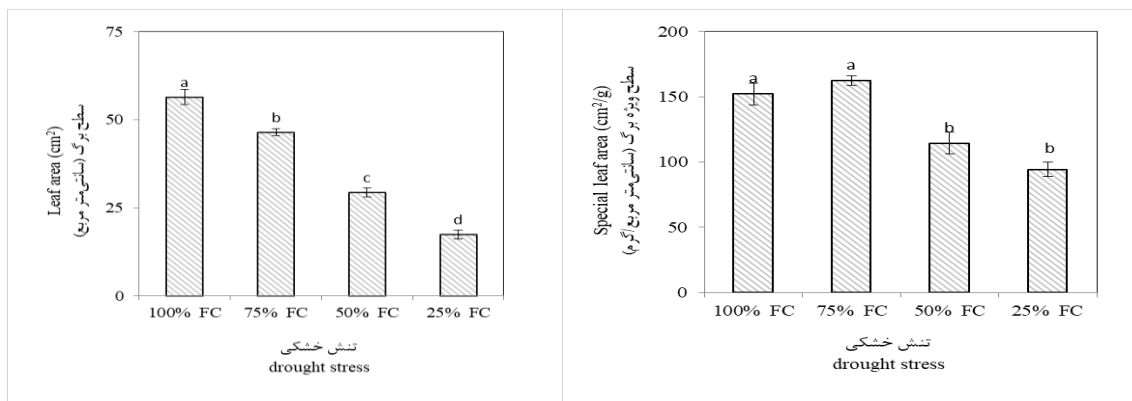
*, ** and ns indicate $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ and $P > 0.05$, respectively

جدول ۳- میانگین و انحراف از میانگین صفات رشد و ریخت‌شناسی نهال‌های ون در تیمارهای تنش خشکی

Table 2. The mean comparison of growth and morphological traits of *F. excelsior* under drought stress

| تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی 25% FC | تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی 50% FC | تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی 75% FC | تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC | صفات Traits |
|--|--|--|--|--|
| 20.6±1.41 ^b | 26±1.77 ^b | 26.5±2.9 ^b | 38.2±1.79 ^a | ارتفاع (سانتی‌متر) Plant Height (cm) |
| 7.93±0.7 ^a | 8.04±0.7 ^a | 8.25±0.37 ^a | 9.78±0.20 ^a | قطر یقه (میلی‌متر) Basal diameter (mm) |
| 2.13±0.47 ^a | 2.25±0.32 ^a | 2.66±0.33 ^a | 3.66±0.33 ^a | زی‌توده ساقه (گرم) Stem biomass (g) |
| 8.6±0.6 ^b | 8.53±0.43 ^b | 9.66±0.33 ^b | 13.3±0.9 ^a | زی‌توده ریشه (گرم) Root biomass (g) |
| 1.9±0.25 ^c | 2.98 ±0.16 ^{bc} | 3.5±0.29 ^b | 5±0.75 ^a | زی‌توده برگ (گرم) Leaf biomass (g) |
| 12.5±0.95 ^b | 13.8±0.15 ^b | 15.8±0.69 ^b | 22±1.5 ^a | زی‌توده کل (گرم) Total biomass (g) |
| 2.23±0.2 ^a | 1.62±0.06 ^b | 1.57±0.07 ^b | 1.54±0.04 ^b | نسبت ریشه به اندام هوایی Root to shoot ratio |

Different letters indicate significant differences between treatments ($P \leq 0.05$)



شکل ۱- سطح برگ و سطح ویژه برگ در تیمارهای تنش خشکی نهال‌های ون

Figure 1. Leaf area (LA) and specific leaf area (SLA) of *F. excelsior* under drought stress

نشان داد. میزان کاهش کلروفیل کل ۶/۵۷ درصد، کلروفیل a ۷/۲ درصد و کلروفیل b، ۹/۵ درصد در تیمار تنش شدید نسبت به تیمار شاهد بود. مقدار کاروتنوئید نیز با افزایش شدت تنش تغییرات معنی‌داری نشان نداد. مقدار رطوبت برگ از حدود ۶۶/۳۸ درصد در تیمار شاهد به ۴۴/۹۹ درصد در تیمار تنش شدید کاهش نشان داد. همچنین محتوای نسبی آب نهال‌ها، افت ۳۴/۲۰ درصدی در تنش شدید و ۲۳/۱۸ درصدی در تیمار تنش متوسط نسبت به تیمار شاهد نشان دادند.

جدول ۴ آنالیز واریانس تفاوت صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در تیمارهای تنش در گونه‌ی ون نشان می‌دهد. از بین صفات تحت بررسی، رنگیزه‌های فتوسنتزی تغییر معنی‌داری بین تیمارهای تنش نداشتند و بقیه صفات تفاوت معنی‌داری در سطح ۹۹ درصد نشان دادند. تفاوت میانگین تیمارها در جدول ۵ و شکل‌های ۲ و ۳ آمده است. با افزایش شدت تنش، میزان کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b کاهش جزئی و غیرمعنی‌داری

جدول ۴- آنالیز واریانس تغییرات صفات فیزیولوژیک- بیوشیمیایی گونه‌ی ون در تیمارهای تنش خشکی

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) of physiological-biochemical traits of *F. excelsior* under drought stress

| صفحات معنی‌داری Sig. | آماره F | میانگین مربعات Mean Square | درجه آزادی Degree of freedom | صفات Traits |
|-------------------------|-----------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 0.764 ^{ns} | 0.390 | 0.013 | 3 | کلروفیل a (Chlorophyll a) |
| 0.837 ^{ns} | 0.282 | 0.001 | 3 | کلروفیل b (Chlorophyll b) |
| 0.780 ^{ns} | 0.274 | 0.001 | 3 | کلروفیل کل (Total chlorophyll) |
| 0.843 ^{ns} | 0.274 | 0.001 | 3 | کاروتنوئید (Total Carotenoids) |
| 0.001 ^{**} | 19.295 | 308.291 | 3 | محتوای نسبی آب برگ RWC |
| 0.000 ^{**} | 21.421 | 0.955 | 3 | پرولین Proline |
| 0.003 ^{**} | 11.974 | 115733.501 | 3 | آنزیم پراکسیداز POD |
| 0.045 ^{**} | 4.251 | 162.802 | 3 | آنزیم سوپراکسید دیسموتاز SOD |
| 0.001 ^{**} | ۱۴14.202/ | 84.302 | 3 | مالون دی‌آلدئید MDA |

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد؛ * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد؛ ns نبود اختلاف معنی‌دار.

*, ** and ns indicate $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$ and $P > 0.05$, respectively

جدول ۵- میانگین و انحراف از میانگین صفات فیزیولوژیک- بیوشیمیایی گونه‌ی ون در تیمارهای تنش خشکی

Table 5. The mean comparison of physiological-biochemical traits of *F. excelsior* under drought stress

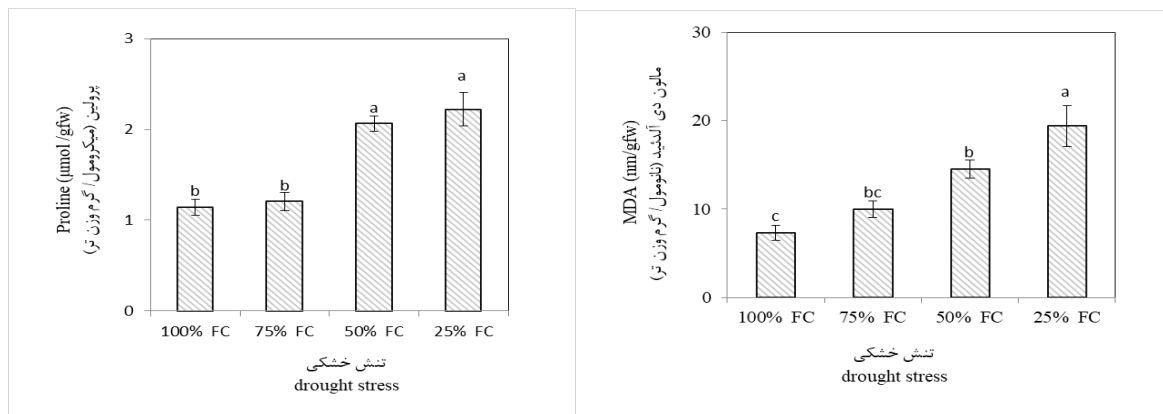
| تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی 25% FC | تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی 50% FC | تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی 75% FC | تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی 100% FC | صفات Traits |
|--|--|--|--|--|
| 0.51±0.09 ^a | 0.59±0.09 ^a | 0.66±0.15 ^a | 0.55±0.6 ^a | کلروفیل a (میلی‌گرم/ گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg/g fw) |
| 0.19±0.03 ^a | 0.22±0.03 ^a | 0.24±0.05 ^a | 0.2±0.02 ^a | کلروفیل b (میلی‌گرم/ گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg/g fw) |
| 0.71±0.12 ^a | 0.82±0.13 ^a | 0.91±0.2 ^a | 0.76±0.08 ^a | کلروفیل کل (میلی‌گرم/ گرم وزن تر) Total Chlorophyll (mg/g fw) |
| 0.14±0.02 ^a | 0.15±0.02 ^a | 0.17±0.03 ^a | 0.14±0.04 ^a | کاروتنوئید (میلی‌گرم/ گرم وزن تر) Total Carotenoids (mg/g fw) |
| 44.99±0.77 ^d | 52.53±3.88 ^c | 60.85±1.59 ^b | 68.3±1.74 ^a | محتوای نسبی آب برگ (درصد) RWC |

فزونی یافت و در تنش شدید و متوسط در مقایسه با تیمار شاهد ۱۶۵/۰۶ و ۱۴۲/۷۲ درصد افزایش نشان داد. افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید

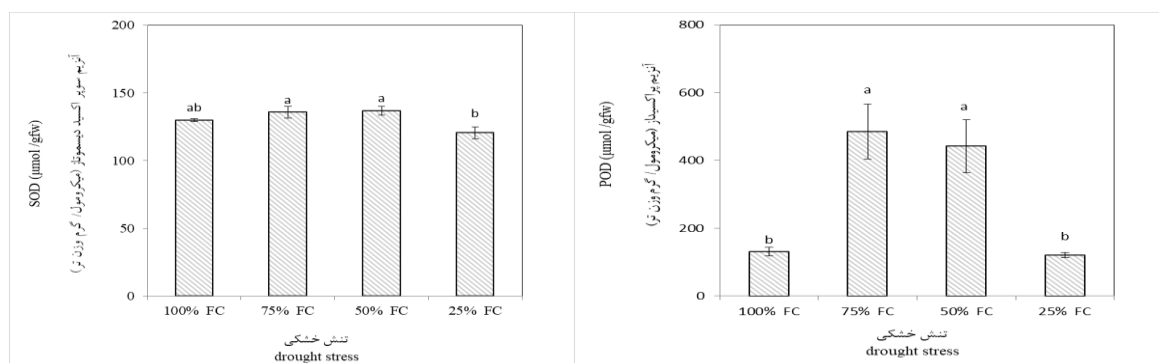
افزایش پرولین در تیمار تنش شدید ۹۳/۸ درصد و متوسط ۸۰/۷ درصد نسبت به تیمار شاهد بود. مقدار مالون دی‌آلدئید با افزایش شدت تنش

تیمارهای تنش نسبت به تیمار کنترل در تیمار تنش خفیف و متوسط با تغییر ۲۷۳ و ۲۴۰ درصد مشاهده شد.

دیسموتاز در تیمارهای تنش نسبت به تیمار کنترل در تیمار تنش خفیف و متوسط با تغییر ۵ درصد مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در



شکل ۲- مقدار پرولین و مالون دی آلدئید در تیمارهای تنش خشکی نهال‌های ون
Figure 2. Proline and malondialdehyde (MDA) of *F. excelsior* under drought stress



شکل ۳- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در تیمارهای تنش خشکی نهال‌های ون
Figure 3. Superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) of *F. excelsior* under drought stress

خشکی افرای شیردار (*Acer cappadocicum* Gled.) (Asgharpour et al., 2017)، افاقیا (*Robinia pseudoacacia* L.) (Norouzi haroni et al., 2015) و سنجد تلخ (*Elaeagnus rhamnoides* L.) (Ahani et al., 2018) گزارش شده است. بنابر پژوهش Panahi et al. (2013) سطح ویژه برگ گونه برودا (*Quercus branti* Lindl.) از دو گونه مازودار (*Q. infectoria* Oliv.) و ویول (*Q. libani* G.Olivier) کمتر است و در نتیجه برگ برودا ضخیم‌تر است و مقدار ماده خشک در واحد سطح بیشتری از دو گونه دیگر دارد. کاهش سطح ویژه برگ، تغییرات سازشی تحت تنش خشکی تلقی شده است، زیرا برگ

بحث

مانند بسیاری از پژوهش‌های گذشته، خشکی رشد نهال‌های ون را کاهش داد. این کاهش رشد در صفات اندازه‌گیری شده ارتفاع، زی‌توده و صفات برگ (سطح برگ و سطح ویژه برگ) نمایان شد. خشکی به علت ایجاد اختلال در فرایندهای تقسیم و توسعه سلولی در نهایت موجب افت فشار تورژسانس شده و عامل کاهش نرخ رشد، ارتفاع و سطح برگ خواهد شد (Bangar et al., 2019). تنش خشکی موجب کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش چشمگیر تعرق در گونه *Acer davidi* Franch. شد (Guo et al., 2019). کاهش سطح ویژه برگ در گونه‌های تحت تنش

Díaz-López et al. (2012) با توجه به حفظ سطح رطوبت برگ در تیمارهای تنش خفیف تا تنش شدید گونه‌ی *Jatropha curcas* و عدم سوختگی و ریزش برگ، این گونه را گونه‌ی با تحمل خشکی خواندند. از نظر آنان، در طی تنش در بسیاری از گونه‌های چوبی و بوته‌ای درصد رطوبت برگ بین ۴۰ تا ۵۰ درصد و به‌ندرت به زیر ۲۰ درصد (پیری برگ) کاهش می‌یابد (2016) Zarafshar et al.. در بررسی مقاومت به تنش خشکی نهال‌های گل‌ابی وحشی افت ۵۷ درصدی و سطح رطوبت حدود ۳۵ تا ۴۰ درصدی در تیمار تنش در مقایسه با تیمار شاهد را گزارش کردند و با اشاره به قرارگیری این مقدار رطوبت در دامنه‌ی بین ۳۵ تا ۷۰ درصد رطوبت (گروه گیاهان به‌کندی برگ‌گشت‌پذیر) اذعان داشتند که نهال‌ها می‌توانند خود را بازیابی کنند. با توجه به میزان افت محتوای آب برگ نهال‌های ون در تنش شدید و عدم ریزش برگ (با توجه به مشاهدات عینی در طی تیمار تنش) گونه توانایی تحمل خشکی را داشته و توان بازیابی نهال‌ها وجود دارد.

کلروفیل رنگیژه فتوسنتزی اولیه گیاهی است که غلظت آن بازگوکننده توانایی سنتز مواد آلی است (Li et al., 2015). کلروفیل دارای اهمیت مرکزی در سیستم فتوسنتزی گیاهی است که اجازه تولید انرژی از طریق واکنش‌های پیچیده را دارند (Ghaffari et al., 2019). کاهش کلروفیل کل در تنش خشکی به دلیل افت ظرفیت برداشت نوری است. علت آن دفرمه شدن فراساختار پلاستیدها شامل غشاهای پروتئینی تشکیل دهنده تیلاکوئیدها است. این کاهش همچنین ممکن است به دلیل نقصان در مسیرهای بیوسنتز یا تخریب رنگیژه‌ها باشد (Batra et al., 2014). در گونه تحت بررسی با افزایش شدت تنش میزان کلروفیل کل، کلروفیل a و کلروفیل b کاهش جزئی و غیرمعنی‌داری نشان داد. همچنین مقدار کاروتنوئید با افزایش شدت تنش تغییرات معنی‌داری نشان نداد. کاهش یا تغییر نکردن مقدار کلروفیل تحت تنش خشکی در بسیاری از گونه‌ها گزارش شده

ضخیم‌تر کارایی مصرف آب را بهبود می‌بخشد و برای اجتناب از هدر رفت آب سودمند است (Du et al., 2010). مطابق نظر (Du et al., 2010) و (Du et al., 2019) کاهش سطح ویژه برگ نشانه کاهش سطح برگ در واحد سطح زی‌توده است. به موازات کاهش SLA برگ ضخیم‌تر و بافت آن متراکم می‌شود (Fang et al., 2012; Du et al., 2019).

تحت تنش خشکی بسیاری از گونه‌ها جذب آب را از طریق دادن سهم بیشتر به زی‌توده ریشه افزایش می‌دهند (Wu et al., 2017). نسبت ریشه به اندام هوایی نهال‌های ون افزایش نشان داد. افزایش این شاخص در گونه *Coriaria nepalensis* Wall. (Bargali et al., 2004) و در گونه *Acer davidii* (Guo et al., 2019) نیز گزارش شده است به عقیده (Du et al., 2010) افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی در تنش متوسط و خفیف در نهال‌های *vitex negundo* L. به دلیل کاهش مصرف و افزایش جذب آب است. اضافه شدن نسبت ریشه به اندام هوایی در نهال‌های *Jatropha curcas* L. به دلیل بیشتر بودن افت زی‌توده برگ‌ها از ریشه‌ها و انتقال محصولات فتوسنتزی به ریشه به جای اندام هوایی به‌عنوان سازوکار سازشی کاهش سطح تبخیر عنوان شد (Díaz-López et al., 2012). تغییر نکردن شاخص در گونه مقاوم به خشکی *Quercus cerris* L. و افزایش معنی‌دار در گونه *Quercus rober* L. تحت تنش خشکی، سازوکار اجتناب در مقابل خشکی برشمرده شد (Deligoz et al., 2018).

رطوبت نسبی آب برگ شاخص مؤثر و قابل اعتماد و منعکس‌کننده محتوای آب نسبت به حداکثر محتوای آب است. در بسیاری از پژوهش‌ها، حفظ رطوبت نسبی به نسبت زیاد در تنش خشکی شاخص تحمل خشکی بیان شده است (Toscano et al., 2016; Tariq et al., 2018). در پژوهش حاضر، محتوای نسبی آب نهال‌ها، افت ۳۴/۲۰ درصدی در تنش شدید و ۲۳/۱۸ درصدی در تیمار تنش متوسط نسبت به تیمار شاهد نشان داد.

چربی‌ها و شاخص آسیب اکسیداتیو است و به‌طور معمول یکی از بهترین مؤلفه‌های تحمل خشکی در گیاهان در نظر گرفته می‌شود. مقدار کم مالون دی‌آلدئید همراه با مقاومت به تنش خشکی و سایر تنش‌های زیست‌محیطی است (Toscano et al., 2016). در تحقیق حاضر مقدار مالون دی‌آلدئید در گونه تحت بررسی با افزایش شدت تنش افزایش نشان داد و در تنش شدید و متوسط نیز افزایش یافت. افزایش مالون دی‌آلدئید در تیمارهای تنش نسبت به کنترل در بسیاری از گونه‌ها از جمله *Adonis Amurensis pseudoamurensis* (Gao et al., 2020) گزارش شده است. در گونه *Quercus variabilis* افزایش کمتر مالون دی‌آلدئید در تیمار ۶۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به دو تیمار ۴۰ و ۲۰ درصد بیانگر حفاظت بهتر در برابر آسیب پراکسیداسیون چربی در این تیمار تنش معرفی شد (Wu et al., 2013). افزایش ۱۵۰ تا ۲۲۰ درصدی مالون دی‌آلدئید در تیمارهای تنش خشکی در برگ‌ها و ریشه‌های نهال‌های *Lycium ruthenicum* Murr. در مقایسه با تیمار شاهد پس از ۲۸ روز گزارش شد (Guo et al., 2018).

گرچه افزایش فعالیت هر دو آنزیم تحت تنش متوسط و خفیف مشاهده شد، مقدار پراکسیداز در مقایسه با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش چشمگیری نشان داد. بنابر پژوهش (Wu et al., 2013) افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تیمارهای تنش کم تا متوسط به‌موازات شیب تنش خشکی در گونه *Quercus variabilis* بیانگر آن است که این تیمارها توانسته‌اند کارایی بیشتری در کاهش آسیب اکسیداتیو و سمیت سلولی ایجاد کنند. (Ge et al., 2014) در پاسخ به تنش خشکی گونه *Phoebe bournei* (Hemsley) Yang دریافتند که مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در تیمارهای تنش خشکی خفیف و متوسط افزایش یافت که بازتاب افزایش ظرفیت جاروکنندگی گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه

است (Liu et al., 2019). (Sapeta et al., 2013) در گونه *Jatropha curcas* و (Dias et al., 2014) در گونه *Melia azedarach* L. تغییر نکردن مقدار کلروفیل تحت تنش کم‌آبی را گزارش کردند. بنابر نظر (Medeiros et al., 2013) همراه نبودن کاهش کلروفیل با کاهش کاروتنوئیدها دال بر تلاش احتمالی برای به حداقل رساندن آسیب‌های سیستم‌های فتوسنتزی ناشی از تنش وارد شده است. (Ying et al., 2015) در مقایسه دو جمعیت خشک و مرطوب از گونه *Camptotheca acuminata* Decne. دریافتند که در هر دو جمعیت با افزایش شدت تنش، مقدار کلروفیل کاهش یافت، اما نهال‌های جمعیت خشک غلظت کلروفیل بیشتری از جمعیت مرطوب نشان دادند. بر این اساس، نویسندگان اذعان داشتند که جمعیت منطقه خشک از طریق حفظ کلروفیل در مقابل تخریب ناشی از تنش توانست به‌خوبی با خشکی سازگار شود. افت جزئی کلروفیل و تغییر نکردن مقدار کاروتنوئید، می‌تواند نشانه توانایی نسبی گونه تحت بررسی به تنش خشکی باشد.

گیاهان مقاومت به تنش را به‌وسیله تجمع مقادیر زیاد از پرولین آزاد، پروتئین محلول و قند محلول افزایش می‌دهند تا غلظت شیرۀ سلولی را بهبود بخشند که این وضعیت تورژسانس سلولی را حفظ و از هدررفت بیش از حد پلاسما جلوگیری می‌کند (Guo et al., 2018). در پژوهش حاضر، افزایش پرولین در تیمار تنش شدید و متوسط شایان توجه بود. افزایش پرولین به‌موازات افزایش شدت تنش در دو گونه *Adonis amurensis* Regel & Radde و *Adonis pseudoamurensis* W.T.Wang مشاهده شد و پس از سی روز از اعمال تنش به حداکثر سطح رسید (Gao et al., 2020). (Wu et al., 2013) بیشترین سطح افزایش پرولین را پس از گذشت ۶۰ روز از دوره تنش در نهال‌های *Quercus variabilis* Blume و در تیمار تنش شدید گزارش کردند. مالون دی‌آلدئید محصول نهایی پراکسیداسیون

نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر تنش خشکی فصلی بر برخی از ویژگی‌های رشد و پاسخ دفاعی نهال‌های گونه‌ی ون به تنش خشکی بررسی شد. نتایج نشان داد که گونه‌ی ون بیشتر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خود را در پاسخ به تنش خشکی تغییر داده است. تنش خشکی موجب کاهش ارتفاع، زی‌توده‌ی اندام‌ها و زی‌توده‌ی کل، سطح برگ، سطح ویژه‌ی برگ و محتوای نسبی آب برگ نهال‌ها شد. صفات قطر یقه و رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تیمار تنش تغییرات معنی‌داری نشان ندادند. نسبت ریشه به اندام هوایی، مقدار پرولین، مالون دی‌آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان اذعان کرد که نهال‌های ون تا سطح تیمار ۵۰ درصد ظرفیت زراعی توانایی سازش با شرایط کمبود آب را دارند و استفاده از این گونه برای جنگلکاری و احیای جنگل‌ها در مناطق در معرض خشکی توصیه می‌شود.

کاهش آسیب لیپید غشایی در این گونه است. به عقیده‌ی نویسندگان، کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش شدید در گونه‌ی تحت بررسی ممکن است به دلیل افزایش محتوای مالون دی‌آلدئید که به‌عنوان سازوکار بازخوردی برای مهار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل می‌کند، اتفاق بیفتد که در نتیجه آسیب احتمالی بیشتر غشایی رخ می‌دهد. در این شرایط سنتز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای جبران آسیب تنش آبی و جارو کردن کافی گونه‌های فعال اکسیژن کافی نیست. Ying et al. (2015) در مقایسه‌ی دو جمعیت جغرافیایی خشک و مرطوب از گونه‌ی *Camptotheca acuminata* دریافتند که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ابتدا افزایش و سپس با ادامه‌ی تنش کاهش نشان داد. به عقیده‌ی نویسندگان، این موضوع بیانگر آن است که این آنزیم، دفاع آنتی‌اکسیدانی اصلی در برابر تنش در این گونه نیست، در حالی که مقدار پراکسیداز در تنش متوسط افزایش داشت و در تنش شدید کاهش مقدار آنزیم مشاهده شد و این آنزیم سازوکار اصلی تحمل خشکی گونه معرفی شد. نتیجه‌ی یادشده با پژوهش حاضر همخوانی دارد.

References

- Abdolahi, A., Arab, A.A.R., Parhizkar, P., & Pourmalekshah, A.A.M.A. (2017). Effect Of Gap Size and Position With in Gaps On Growth Characters and Survival of Chestnut-Leaved Oak (*Quercus Castaneifolia* C. A. Mey.), Cappadocian Maple (*Acer Cappadocicum* Gled.) And Caucasian Alder (*Alnus Subcordata* C. A. Mey.). *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 25(2), 275 – 285. (In Persian)
- 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*, 8, 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21441-7>.
- Ahani, H., Jalilvand, H., Vaezi, J., & Sadati, S.E. (2018). Drought stress on *Elaeagnus rhamnoides* L.) A. Nelson seedlings morphology. *Journal of Plant Ecosystem Conservation*, 5(11), 191-204. (In Persian)
- Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Asgharpour, E., Azadfar, D., & Saeedi, Z. (2017) Evaluation of *Acer cappadocicum* Gled. seedlings to drought stress, *Journal of Plant Research*, 30(1), 199 – 214. (In Persian)
- Attarod, P., Kheirkhah, F., Khalighi Sigaroodi, S., Sadeghi, M., & Bayramzadeh, V. (2017). Trend analysis of meteorological parameters and reference evapotranspiration in the Caspian region. *Iranian Journal of Forest*, 17(2), 171-185. (In Persian)
- Bangar, P., Chaudhury, A., Tiwari, B., Kumar, S., Kumari, R., & Bhat, K.V. (2019). Morphophysiological and biochemical response of mungbean (*Vigna radiata* (L.)) Wilczek] varieties

- at different developmental stages under drought stress. *Turkish Journal of Biology*, 43(1), 58-69. <https://doi.org/10.3906/biy-1801-64>
- Bargali, K., & Tewari, A. (2004). Growth and water relation parameters in drought-stressed *Coriaria nepalensis* seedlings. *Journal of Arid Environments*, 58(4), 505-512. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2004.01.002>
- Bates, L.S., Waldran R.P., & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil*, 39, 205–208. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Batra, N.G., Sharma, V., & Kumari, N. (2014). Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, and thylakoid membrane proteins of *Vigna radiata*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 712-721. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.905801>
- Bhusal, N., Lee, M., Han, A.R., Han, A., & Kim, H.S. (2020). Responses to drought stress in *Prunus sargentii* and *Larix kaempferi* seedlings using morphological and physiological parameters. *Forest Ecology and Management*, 465, 118099. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118099>
- Boor, Z., Parad, G.A., Hosseini, S.M., & Ghanbary, E. (2021) Morphological, physiological, and enzymatic responses of Caucasian alder (*Alnus subcordata* C. A. Mey) seedlings to water deficit conditions by inoculation of *Rhizopagus irregularis*, *Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research*, 16(61), 80-93. (In Persian)
- Chakhchar, A., Wahbi, S., Lamaoui, M., Ferradous, A., El Mousadik, A., Ibsouda-Koraichi, S., Filali-Maltouf, A., & El Modafar, C. (2015). Physiological and biochemical traits of drought tolerance in *Argania spinosa*. *Journal of plant interactions*, 10(1), 252-261. <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1068386>
- Deligoz, A., & Bayar, E. (2018). Drought stress responses of seedlings of two oak species (*Quercus cerris* and *Quercus robur*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(2), 114-123. <https://doi.org/10.3906/tar-1709-29>
- Dias, M.C., Azevedo, C., Costa, M., Pinto, G., & Santos, C. (2014). *Melia azedarach* plants show tolerance properties to water shortage treatment: an ecophysiological study. *Plant physiology and biochemistry*, 75, 123-127. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.12.014>
- 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(3), 48-56. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2012.01.001>
- Du L., Liu H, Guan, W, Li J. and Li J. (2019) Drought affects the coordination of belowground and aboveground resource-related traits in *Solidago canadensis* in China. *Ecology and evolution*, 9: 9948-9960. <https://doi.org/10.1002/ece3.5536>
- 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(5), 839-848. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0468-z>
- Espahbodi, K., Mohammadnejad Kiasari, S., Barimani H., & Ghobadian, H. (2003). Investigation on the suitable spacing and combination of ash (*Fraxinus excelsior* L.) and maple (*Acer velutinum* Boiss) in plantations. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 11(1), 19-34. (In Persian)
- Fallahchai, M.M. (2011). The quantitative and qualitative study of *Alnus Subcordata*, *Acer Velutinum*, *Fraxinus Excelsior* afforested species in syahkal forest (case study in Series 1 of toutki forest). *Natural Ecosystems of Iran*, 1(3), 55 - 63. (In Persian)
- Fang, J., Wu, F., Yang, W., Zhang, J., & Cai, H. (2012) Effects of drought on the growth and resource use efficiency of two endemic species in an arid ecotone. *Acta Ecologica Sinica*, 32, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2012.05.001>

- Gao, S., Wang, Y., Yu, S., Huang, Y., Liu, H., Chen, W., & He, X. (2020). Effects of drought stress on growth, physiology and secondary metabolites of Two Adonis species in Northeast China. *Scientia Horticulturae*, 259, 108795. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108795>
- Ge, Y., He, X., Wang, J., Jiang, B., Ye, R., & Lin, X. (2014). Physiological and biochemical responses of *Phoebe bournei* seedlings to water stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 1241-1250. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1502-3>.
- Geng, D.L., Lu, L.Y., Yan, M.J., Shen, X.X., Jiang, L.J., Li, H.Y., Wang, L.P., Yan, Y., Xu, J.D., Li, C.Y., & Yu, J.T. (2019). Physiological and transcriptomic analyses of roots from *Malus sieversii* under drought stress. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), 1280-1294. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62571-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62571-2).
- Ghaffari, H., Tadayon, M.R., Nadeem, M., Cheema, M., & Razmjoo, J. (2019). Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. *Acta physiologiae plantarum*, 41(2), 22-35. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2815-z>
- Giannopolitis, C.N., & Ries, S.K. (1977). Superoxide dismutases: II. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. *Plant physiology*, 59(2), 315-8. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.315>
- Guo, X., Guo, W., Luo, Y., Tan, X., Du, N., & Wang, R. (2013). Morphological and biomass characteristic acclimation of trident maple (*Acer buergerianum* Miq.) in response to light and water stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1149–1159 <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1154-0>.
- Guo, X., Luo, Y.J., Xu, Z.W., Li, M.Y., & Guo, W.H. (2019). Response strategies of *Acer davidii* to varying light regimes under different water conditions. *Flora*, 257(8), 151423. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151423>.
- Guo, Y.Y., Yu, H.Y., Yang, M.M., Kong, D.S., & Zhang, J. (2018). Effect of drought stress on lipid peroxidation, osmotic adjustment and antioxidant enzyme activity of leaves and roots of *Lycium ruthenicum* Murr. seedling. *Russian Journal of Plant Physiology*, 65(2), 244-250. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151423>.
- Haider, M.S., Kurjogi, M.M., Khalil-ur-Rehman, M., Pervez, T., Songtao, J., Fiaz, M., & Fang, J. (2018). Drought stress revealed physiological, biochemical and gene-expressional variations in 'Yoshihime' peach (*Prunus Persica* L) cultivar. *Journal of Plant Interactions*, 13(1), 83-90. <https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1432772>
- Jafari, M. (2008). Investigation and analysis of climate change factors in Caspian Zone forests for last fifty years. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 16(2), 326-314. (In Persian)
- Jahanbazy Goujani, H., Hosseini Nasr, S.M., Sagheb-Talebi, K., & Hojjati, S.M. (2013) Effect of drought stress induced by altitude, on four wild almond species. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 21(2), 373- 86. (In Persian)
- 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(2), 182-191. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00638.x>.
- Li, L., Liu, Y., Liu, Y., He B., Wang, M., Yu, C., & Weng, M. (2015). Physiological response and resistance of three cultivars of *Acer rubrum* L. to continuous drought stress. *Acta Ecologica Sinica*, 35(6), 196-202. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2015.09.006>
- Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350–382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.056>.
- Medeiros, D.B., Silva, E.C.D., 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(3), 213-222. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

Medeiros, D.B., Silva, E.C.D., Santos, H.R.B., Pacheco, C.M., Musser, R.D.S., & Nogueira, R.J.M.C., (2012). Physiological and biochemical responses to drought stress in Barbados cherry. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24(3), 181-192. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202012000300005>

Mosayeb Nezhad, I., Rostami Shahraji, T., Kahneh, E., & Pourbabaei, H. (2008). Evaluation of native broadleaved forest plantations in east of guilan province. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*. 15(4), 311-319. (In Persian)

Moustaka, J., Ouzounidou, G., Sperdouli, I., & Moustakas, M. (2018). Photosystem II is more sensitive than photosystem I to Al³⁺ induced phytotoxicity. *Materials*, 11(9), 1772. <https://doi.org/10.3390/ma11091772>

Norouzi haroni, N., & Tabari koochksaraee, M. (2015). Morpho-Physiological Responses of Black Locust (*Robinia pseudoacacia* L.) Seedlings to Drought Stress. *Iranian Journal of Forest and wood product*, 68(3), 715-727. (In Persian)

Panahi, P., Pourhashemi, M., & Hasaninejad, M. (2013). Comparison of Specific Leaf Area in Three Native Oaks of Zagros in National Botanical Garden of Iran, *Ecology of Iranian Forest*, 1(2), 12-26. (In Persian)

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. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 247(1), 57-64. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(91\)90033-K](https://doi.org/10.1016/0027-5107(91)90033-K)

Sadeghipour, A., & Kartoolinejad, D. (2017). Carbon uptake and leaf gas exchange of ash tree (*Fraxinus excelsior*) affected by different intensities of photosynthetically active radiation (case study: central Europe forests). *Iranian Journal of Natural Resources*, 70(2), 373 – 384. (In Persian)

Saeidi Abueshaghi, Z., Pilehvar, B., & Sayedena, S.V. (2021) Effect of drought stress on morphophysiological and biochemical traits of purple (*Cercis siliquastrum* L.) seedlings. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 29 (1), 91 – 100. (In Persian)

Sapeta, H., Costa, J.M., Lourenco, T., Maroco, J., & Van der Linde, P., & Oliveira, M. M. (2013). Drought stress response in *Jatropha curcas*: growth and physiology. *Environmental and Experimental Botany*, 85, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.08.012>

Sarker, U., & Oba, S. (2018). Catalase, superoxide dismutase and ascorbate-glutathione cycle enzymes confer drought tolerance of *Amaranthus tricolor*. *Scientific reports*, 8(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34944-0>

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(4), 1031-1036. <https://doi.org/10.2136/sssaj1986.03615995005000040039x>

Silva, E.C.D., Silva, M.F., Nogueira, R.J., & Albuquerque, M.B. (2010). Growth evaluation and water relations of *Erythrina velutina* seedlings in response to drought stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22, 225-233.

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. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00645>

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(10), 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.035>

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), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2380-2>.

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(5), 681-692. <https://doi.org/10.1134/S1021443713030151>.

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, 361. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00361>.

Zarafshar, M., Akbarinia, M., Hosseini, S.M., & Rahaie, M. (2016) Drought resistance of wild pear (*Pyrus Boissieriana* Buhse.). *Journal of forest and wood products*, 69(1), 97-110. (In Persian)



Research Article

Growth performance and defense response of *Fraxinus excelsior* L. seedlings to drought stress

M. Ravanbakhsh^{1*}, B. Babakhani², and M. Ghasemnezhad³

¹Instructor, Environmental Research Institute, Academic Center for Education, Cultural Research (ACECR), Guilan, Rasht, Iran Ph.D. Graduated, Dept. of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

²Assistant prof., Dept. of Biology, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran

³prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: 13 May 2022; Accepted: 14 October 2022)

Abstract

Drought is predicted to increase drastically in the coming decades, making it crucial to understand the adaptive responses of tree species to such conditions. This study evaluates the effect of drought stress on the morphological, physiological, and biochemical parameters of *Fraxinus excelsior*, a native species from the Hyrcanian forest. The experiment was conducted using a completely randomized design, where one-year-old seedlings were subjected to four water stress conditions: 25% (severe stress), 50% (moderate stress), 75% (mild stress), and 100% field capacity (no stress). Results showed that drought reduced the growth rate and biomass of seedlings. Compared to the control treatment, the rate of decline in seedling height, biomass, leaf area, and specific leaf area index was 47.6%, 43.2%, 77.1%, and 38.1%, respectively, in the severe stress treatment. The root-to-shoot ratio increased by 44.8%. As water stress increased, the content of chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids showed a slight and insignificant decrease. The relative water content of seedlings decreased by 34.20% and 23.18% in severe and moderate stress treatments compared to the control treatment. Proline and malondialdehyde increased by 93.8% and 165.06%, respectively, in the severe stress treatment. Superoxide dismutase enzyme activity increased by 5%, while peroxidase enzyme activity increased by 273% and 240% in mild and moderate stress treatments, respectively. The data from this study suggests that *F. excelsior* seedlings cope with drought through avoidance and tolerance strategies such as reducing growth and biomass, increasing root-to-shoot ratio, retaining photosynthetic pigments and osmotic potential, and increasing enzymatic activities up to 50% FC. This species is recommended for afforestation and reforestation in drought-prone areas.

Keywords: Antioxidant Enzyme, Field Capacity, *Fraxinus excelsior* L. Specific Leaf Area Index, Water Defici.