

بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تعدادی رقم‌های فندق تحت شرایط تنفس خشکی و آبیاری مجدد

علی شاهی قره‌لر^۱، محمدرضا فتاحی‌مقدم^{*}، ذبیح‌اله زمانی^۲ و رضا معالی‌امیری^۲
 ۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۳)

چکیده

به خاطر کاهش نزولات آسمانی و منابع آبی زیرزمینی و افزایش احتمال بروز تنفس خشکی، گزینش ارقام یا ژنوتیپ‌های مقاوم یا متتحمل تنفس خشکی ضروری می‌باشد. فندق یکی از مهمترین درختان میوه خشکباری است. به منظور مطالعه واکنش شش رقم فندق (فرتیل، روند، لانگ، سفوروپ، مروبل و گرد) به تنفس خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوك های کامل تصادفی روی نهال‌های سه ساله گلستانی اجرا شد. تیمارهای آبیاری شامل شاهد (آبیاری منظم) و تنفس خشکی (قطع کامل آبیاری) بودند که پس از اعمال تیمار تنفس خشکی، آبیاری مجدد انجام و به منظور بررسی قابلیت برگشت پذیری ارقام یک روز و یک هفته بعد از آبیاری مجدد نمونه برداشی انجام شد. نتایج تجزیه واریانس اختلافات معنی‌دار بین تیمارهای آبیاری و همچنین ارقام نشان داد. رنگیزه‌های فتوستزی و کارآبی کوآنتمی تحت تیمار تنفس خشکی کاهش یافتد. در حالی که مقدار مالون‌دی‌آلدهید و پرولین افزایش نشان دادند. حداقل کارآبی کوآنتمی فتوسیستم II در تیمار شاهد (۰/۷۳۱) و حداقل آن در تیمار تنفس قبل از انجام آبیاری (۰/۶۷۲) مشاهده شد، اما یک هفته بعد از آبیاری مجدد به میزان شاهد برگشت. در بین ارقام مورد بررسی رقم گرد با دارا بودن بیشترین مقادیر رنگیزه‌های فتوستزی، دارای تولید بالای ترکیبات آنتی اکسیدانی (ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها) نیز بود. محتوای پرولین با اکثر ویژگی‌های مورد بررسی بجز مالون‌دی‌آلدهید همبستگی منفی نشان داد. تحت تنفس خشکی برگ‌های رقم لانگ کمترین و رقم روند بیشترین خسارت (درصد نکروزگی) را متتحمل شدند. ارقام لانگ، فرتیل و گرد در برابر خشکی تحمل نسبی بیشتری نسبت به ارقام دیگر داشتند.

واژه‌های کلیدی: رنگیزه‌های فتوستزی، پرولین، فتوستز، ترکیبات فنولی، مالون‌دی‌آلدهید.

Study of physiological and biochemical responses of some hazelnut cultivars under drought stress and re-watering conditions

Ali Shahi¹, Mohammad Reza Fatahi^{2*}, Zabihollah Zamani² and Reza Maali-Amiri²

1, 2. Ph.D. Candidate and Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Nov. 13, 2016 - Accepted: Aug. 25, 2018)

ABSTRACT

Due to decreasing in precipitation and under-ground water resources and increasing the chance of drought stress, it is necessary to select drought resistant or tolerant cultivars and genotypes. Hazelnut is one of the most important nut trees. In order to study responses of six hazelnut cultivars ('Fertile', 'Ronde', 'Longue', 'Segorbe', 'Gerd' and 'Merville') to drought stress, a RCBD based factorial experiment was carried out on three-year-old outdoor potted saplings. Irrigation treatments included control (regular watering), and drought stress (withdraw watering). Rewatering after drought stress period was performed and recovery of plants after one day and after one week were studied. Results of variance analysis showed significant differences between irrigation treatments as well as the cultivars. Photosynthetic pigments and the quantum efficiency decreased under drought stress, whereas, MDA and proline contents increased. The highest quantum efficiency of photosystem II was observed in control treatment (0.731) and the lowest was in stress treatment before rewetting, but one week after rewetting it returned to the control level. Gerd cultivar with highest amount of photosynthetic pigments had also the highest amounts of antioxidant compounds (phenolic compounds and flavonoids). Proline content had negative correlations with most of the studied characters except MDA. Under drought stress, 'Longue' and 'Ronde' expressed the lowest and the highest leaf injury (necrosis %), respectively. 'Longue', 'Fertile' and 'Gerd' cultivars were more tolerant to drought than other cultivars.

Keywords: MDA, phenolic compounds, photosynthesis, photosynthetic pigments, proline.

* Corresponding author E-mail: fattahi@ut.ac.ir

خشکی موجب کاهش عملکرد سیستم فتوسنتزی در استفاده از فوتون‌ها شده و سبب بروز بازدارندگی نوری فتوسنتز می‌شود. بازدارندگی نوری فتوسنتز با تقلیل در کارآیی کوآنتموم فتوشیمی (فتوسیستم II) و کاهش در فلورسننس کلروفیل مشخص می‌شود. ارزیابی فلورسننس کلروفیل روشنی غیر تخریبی است که به طور وسیعی برای مطالعه تغییرات در عملکرد فتوسنتز در اندامکها و بافت‌های فتوسنتزی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Weng *et al.*, 2006). فلورسننس کلروفیل اطلاعات ارزشمندی از عملکرد فتوسنتزی برگ اکثر گیاهان تحت تنش خشکی فراهم می‌کند (Baker & Baker, 2004; Rosenqvist, 2004). در بررسی واکنش رقه‌های سیب نسبت به تنفس خشکی مشخص شد که رقم‌ها از نظر حداکثر کارآیی کوآنتمومی فتوسیستم II (F_v/F_m) متفاوت عمل می‌کنند و نتایج نشان داد رقم پینک لیدی (Pink Lady) بهدلیل کاهش شدید F_v/F_m در شرایط تنفس خشکی نسبت به رقم کینگوان (Qinguan)، به خشکی حساس‌تر است (Sun *et al.*, 2013).

گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) در سلول‌های گیاهی در شرایط عادی و تنفس وجود دارند که شامل اصلی خسارت سلولی افزایش تولید ROS تحت شرایط تنفس می‌باشد (Van Breusegem *et al.*, 2001). از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها برای پاکسازی ROS می‌توان به توکوفرول‌ها، کاروتونوئیدها، ترکیبات فنولی و همچنین پرولین و گلایسین بتائین اشاره کرد. اسمولیت‌ها ROS تولید شده در شرایط تنفس را خنثی کرده و همچنین تنظیم ساختارهای پروتئینی را کنترل می‌کنند. پرولین یکی از اسمولیت‌های موجود بسیار معمول در گیاهان تنفس دیده می‌باشد (Ashraf & Foolad, 2007). پرولین علاوه بر این که یک مولکول مهم در سیگنال‌دهی ردکس می‌باشد، همچنین یک پاک‌کننده مؤثر رادیکال هیدروکسیل می‌باشد. پرولین از غشاء‌های سلولی در برابر اثرات منفی ROS محافظت می‌کند (Miller *et al.*, 2010). وظیفه حفاظتی تجمع پرولین در شرایط تنفس خشکی در گیاهان گزارش شده است (Esmaeilpour *et al.*, 2015; Miller *et al.*, 2015; Esmaeilpour *et al.*, 2015; Arabzadeh *et al.*, 2017).

مقدمه

فندق از تیره *Betulaceae* با نام علمی *Corylus avellana* می‌باشد. فندق دارای ارزش اقتصادی و صادراتی بالایی بوده و پنجمین محصول خشکبار جهان را بعد از بادام هندی، بادام، گردو و بلوط به خود اختصاص داده است. در سال ۲۰۱۸ ایران با تولید ۱۵۸۳۹ تن فندق، هفتمین کشور تولیدکننده این محصول بوده است (FAO, 2018). علاوه بر ارزش غذایی، دارویی و اقتصادی فندق، می‌توان از آن در احیای جنگل‌ها در مناطق با بارندگی مناسب (بالای ۵۵۰ میلی‌متر) و حتی تابستان خشک نیز استفاده نمود (Mingeau *et al.*, 1994). فندق به خاطر سیستم ریشه‌ای خاص آن نقش مهمی در حفظ و نگهداری خاک و آب دارد (Liu, 2010).

تقریباً ۴۰ درصد سطح کره زمین را مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می‌دهد و در این مناطق تنفس خشکی یک عامل محدودکننده اصلی کشاورزی به‌شمار می‌رود (Gamo, 1999). بیش از ۶۵٪ مساحت ایران در نواحی خشک یا نیمه‌خشک قرار دارد که دارای بارندگی نامتوازن کمتر از ۳۰۰ میلی‌متر در سال می‌باشد (Ehdaei, 1993). تحت تأثیر تنفس خشکی رشد و عملکرد گیاهان کاهش می‌یابد که می‌تواند ناشی از کاهش هدایت روزنها، کاهش میزان آسیمیلاسیون CO_2 ، کاهش رنگیزهای فتوسنتزی، کاهش اندازه و رشد برگ و ساقه، ایجاد نکروزگی در برگ، اختلال در روابط آبی گیاه، کاهش کارآیی مصرف آب، کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در سنتز ساکارز و نشاسته و دیگر اختلالات باشد (Lilley & Ludlow, 1996; Hussain & Ali, 2015).

مقدار کلروفیل یکی از فاکتورهای مؤثر در ظرفیت فتوسنتزی است. کاهش یا ثبات مقدار کلروفیل موجود در گیاهان تحت شرایط تنفس خشکی بر اساس گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت بوده و به میزان و مدت تنفس بستگی دارد (Jagtap *et al.*, 1998). در گیاهان انجیر، پسته و پرتقال تغییرات و کاهش در میزان کلروفیل a و b تحت تنفس خشکی گزارش شده است (Gholami *et al.*, 2012; Esmaeilpour *et al.*, 2012). علاوه بر آن تنفس

و متابولیسمی آراییدوپسیس نشان داده است تجمع فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی سبب افزایش تحمل گیاه به خشکی می‌شود (Nakabayashi *et al.*, 2014).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی تحت شرایط تنش در اثر ROS اتفاق می‌افتد که برای ارزیابی آن مقدار مالوندی‌آلدهید (MDA) تولیدشده در گیاه اندازه‌گیری می‌شود و معمولاً به عنوان نشانگر زیستی تنش در گیاهان کاربرد دارد. مالوندی‌آلدهید، یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی است که از آن به عنوان نشانگری عالی برای ارزیابی تنش اکسیدانیوی یاد شده است و معمولاً برای ارزیابی خسارت اکسیداتیو وارد شده توسط انواع مختلف تنش‌ها کاربرد دارد (Del Rio *et al.*, 2005). در نهال‌های انگور میزان افزایش MDA تحت شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد نشان‌دهنده کاهش شاخص پایداری غشای سلولی می‌باشد (Karami *et al.*, 2017).

ایران یکی از مناطق مهم پراکنش فندق بوده و دارای ذخایر ژنتیکی ارزشمندی برای این گونه می‌باشد (Mohammadzadeh *et al.*, 2014). گزارش شده است که دورگ‌های مختلف فندق استراتژی‌های متفاوتی برای فائق آمدن بر تنش خشکی از خود نشان می‌دهند (Awada & Josiah, 2007). بنابراین با توجه به اهمیت فندق در ایران و افزایش خشکسالی‌ها به خصوص در سال‌های اخیر و نبود اطلاعات کافی از واکنش گیاه فندق به تنش خشکی، این مطالعه با هدف بررسی پاسخ تعدادی رقم‌های مهم فندق موجود در کشور به تنش خشکی (تغییرات مقدار کلروفیل‌ها و کاروتونئید، کارآیی فتوسیستم II، تجمع اسمولیت‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیمی و پراکسیداسیون لیپیدها) صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط رشد

پاجوش‌های شش رقم فندق شامل رقم‌های فرتیل، روند، لاتگ، سقورب و مروبل از باغ تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران واقع در کرج و رقم گرد از مرکز تحقیقات فندق کشور واقع در روتس در اواخر زمستان سال ۱۳۹۲ تهیه شد. پاجوش‌های هماندازه و

گونه‌های مرکبات در شرایط تنش خشکی متفاوت بوده و مشخص شده که کلثوپاترا حدود دو برابر کاربزو پرولین تولید کرده است (Zandalinas *et al.*, 2017). گزارش شده است که علاوه بر پرولین مقدار کربوهیدرات‌ها در گیاهان پسته در شرایط تنش خشکی افزایش یافته است (Abbaspour *et al.*, 2012). تجمع کربوهیدرات‌ها از این نظر حائز اهمیت است که سبب تنظیم فشار اسمزی گیاه شده و از دست دادن آب سلول را کاهش می‌دهد (Hare *et al.*, 1998). جمعیت‌های نهال‌های کاج نروزی بر اساس مقدار تولید کربوهیدرات تحت تنش خشکی در دو گروه قرار گرفتند (Schiop *et al.*, 2017).

در پاسخ به تنش، گیاهان سیستم‌های قوی آنتی‌اکسیدانی را فعال می‌کنند که شامل سیستم‌های آنزیمی (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، چندین آنزیم پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (وبتامین C و E، کاروتونئیدها، فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی) می‌باشد (Apel & Hirt, 2004). کاروتونئیدها رنگیزه‌هایی هستند با چندین وظیفه در گیاهان، به طوری که علاوه بر نقش مستقیمی که در فتوسنترز دارند، در مکانیسم‌های تحمل تنش‌های اکسیداتیوی نیز دخیل هستند (Gill & Tuteja, 2010). ترکیبات فنولی نیز نقش چندگانه در گیاهان ایفا می‌کنند. در ترکیبات ساختاری دیواره‌های سلولی، در تنظیم فرآیندهای رشد و نمو و در مکانیسم‌های دفاعی در برابر پاتوژن‌ها و آفات دخالت دارند. به علاوه در واکنش گیاهان به انواع مختلف تنش‌های غیرزنده نیز دخیل هستند (Cheynier *et al.*, 2013). فلاونوئیدها اصلی‌ترین و پیچیده‌ترین زیرگروه پلی‌فنول‌ها می‌باشند که شامل بیش از ۹۰۰۰ ترکیبات متفاوت با وظایف بیولوژیکی متنوع و گسترده می‌باشند (Di Ferdinando *et al.*, 2012). در شرایط تنش خشکی مقدار تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها بسته به رقم و نوع گیاه متفاوت است. به عنوان مثال در مطالعه‌ای که روی هفت جمعیت کاج نروزی انجام شد، یکی از جمعیت‌ها بیشترین مقدار تولید ترکیبات فنولی و فلاونوئیدها را داشت و بقیه جمعیت‌ها تفاوتی نشان ندادند (Schiop *et al.*, 2017). مطالعات ترنسکریتومی

آبیاری صورت گیرد. آبیاری به مقداری انجام می‌گرفت که تمام خاک گلدان اشباع شود و آب اضافی از طریق زهکش گلدان خارج می‌شد. برای انجام تیمارها، ۲۴ گلدان از هر رقم انتخاب و به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول به عنوان شاهد (آبیاری منظم) و دسته دوم تیمار تنفس خشکی (قطع آبیاری) بود. قطع آبیاری تا زمانی ادامه داشت که تورژسانس برگ‌ها بهشت کاهش یافته و پژمرده و کمرنگ به نظر برسند (Hashimoto *et al.*, 1990; Gholami *et al.*, 2012). این زمان برای رقم‌های فندق مورد مطالعه ۹ روز بود و قبل از آبیاری مجدد نمونه‌برداری از برگ‌ها صورت گرفت. سطح گلدان‌ها با یک لایه پلاستیک پوشانده شده بود تا تبخیر از سطح خاک گلدان‌ها کاهش یابد و بروز تنفس در آنها به آهستگی صورت گیرد. برای تست وضعیت آبی خاک در دوره آزمایش از دستگاه رطوبت‌سنج خاک (Spectrum, FieldScout TDR 100) استفاده شد. هنگام پژمرده‌گی رقم‌های فندق مورد مطالعه، رطوبت خاک گلدان‌ها تقریباً 12 ± 2 درصد بود و پس از آن گلدان‌ها آبیاری مجدد شدند تا احیا و قابلیت برگشت‌پذیری رقم‌ها مورد بررسی قرار گیرد. بعد از آبیاری مجدد از گیاهان تحت تنفس دو بار نمونه‌برداری انجام شد. بار اول در روز بعد از آبیاری (بعد از ۲۰-۲۴ ساعت) و بار دوم یک هفته بعد از آبیاری مجدد انجام شد. بنابراین از گیاهان تحت تنفس سه بار نمونه‌برداری انجام شد که شامل پایان دوره تنفس و قبل از آبیاری، یک روز بعد از آبیاری مجدد و یک هفته بعد از اتمام دوره تنفس بود. از گیاهان شاهد نیز همزمان با گیاهان تنفس دیده نمونه‌برداری شد و به این ترتیب به صورت ۴ تیمار مورد تجزیه آماری قرار گرفت تا تغییرات و قابلیت برگشت‌پذیری رقم‌های فندق مورد مقایسه قرار گیرند. لازم به ذکر است که بعد از آبیاری مجدد، آبیاری گلدان‌ها به طور مرتبت همانند تیمار شاهد انجام گرفت.

یکدست از نظر طول ریشه و ارتفاع گیاه و همچنین قطر تنه انتخاب و پس از تهیه خاک مناسب که مخلوطی از خاک برگ، ماسه و خاک باگ به شرح ذکر شده در جدول ۱ بود در گلدان‌های پلاستیکی ۱۲ لیتری کشت شدند. مقدار رطوبت مخلوط خاک در ظرفیت زراعی (FC) و نقطه پژمرده‌گی دائم (PWP) با دستگاه صفحات فشاری تعیین شد که به همراه ویژگی‌های مخلوط خاک در جدول ۱ آمده است. در کف گلدان‌ها یک لایه شن ریخته شد تا زهکشی مناسب داشته باشند. مخلوط خاکی برای تمامی گلدان‌ها به یک اندازه ریخته شد. تمامی گلدان‌ها روی سطح غیر قابل نفوذ ریشه قرار داده شدند تا از نفوذ و رشد ریشه در خاک زیرین گلدان‌ها جلوگیری به عمل آید.

گلدان‌ها پس از کاشت به طور مرتب به صورت دستی آبیاری شدند. تغذیه گیاهان به صورت دو هفته یکبار با کود کامل فوسامکو با غلظت ۵ در هزار صورت گرفت. برای کاهش شدت نور و جلوگیری از آفات‌سوزی در تابستان گلدان‌ها زیر سایبان (کاهش ۲۰-۲۵ درصد نفوذ نور) قرار داده شدند. نهال‌ها به مدت یکسال در شرایط مطلوب رسیدگی شدند تا استقرار یافته و به اندازه کافی ریشه تولید نموده و به رشد مناسب اعمال تیمار برسند. در سال دوم نهال‌های یکدست و هماندازه انتخاب شده و برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در محوطه گلخانه‌های گروه مهندسی علوم باگبانی و فضای سبز در کرج انجام گرفت.

اعمال تنفس خشکی و آبیاری مجدد

تا قبل از اعمال تنفس، کلیه گیاهان به طور مرتب آبیاری شدند. دور آبیاری بر اساس میزان دما، شدت نور و وجود باد و طول روز متفاوت بود و عموماً به طور مرتب بازدید صورت می‌گرفت تا به محض نیاز،

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مخلوط خاک

Table 1. Physical and chemical characteristics of the soil

Soil mixture	Texture	pH	EC	Water percentage in FC	Water percentage in PWP
Leaf composts (15%), sand (25%), and garden soil (60%)	Sandy loam	7.9	1.6	24.74%	7.43%

ارزیابی شد. تولوئن به عنوان بلانک استفاده شد. غلظت پرولین به صورت میکرومول بر گرم وزن خشک بیان گردید. برای رسم منحنی استاندارد پرولین و محاسبه مقدار پرولین موجود در نمونه‌ها از پرولین خالص (L-proline, Sigma-Aldrich) ۲ میلی مولار در مقدادیر مختلف (۰، ۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۳۷/۵، ۵۰ و ۷۵ میکرولیتر) استفاده شد.

کربوهیدرات‌های کل محلول (TSC)

مقدار کربوهیدرات محلول کل بر اساس روش Dubois et al. (1956) ارزیابی شد. ۵۰ میلی گرم برگ خشک پودر شده وزن شد و به آن ۲ میلی لیتر متانول٪۸۰ اضافه شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد. پس از اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر فنول٪۵ و ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد برای کربوهیدرات‌ها و محاسبه مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل موجود در نمونه‌ها از گلوکز خالص (Sigma-Aldrich) در مقدادیر مختلف استفاده شد. مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل به صورت میلی گرم اکی والان گلوکز در گرم وزن خشک بیان شد.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی و آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی

مقدار مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، ترکیبات فنولی کل (TPC) و فلاونوئیدهای آنتی اکسیدان کل (TF) با استفاده از ۵۰ میلی گرم برگ خشک پودر شده و کاربرد ۲ میلی لیتر متانول٪۸۰ مشخص شد. مقدار مالون‌دی‌آلدهید به روش تیوباربیتیوریک اسید و در Hodges طول موج ۵۴۰ و ۶۰۰ نانومتر ارزیابی شد (et al., 1999) و میزان آن به صورت نانومول در گرم وزن خشک ارایه شد. ترکیبات فنولی کل به وسیله واکنش با معرف فولین- سیوکالتو ارزیابی شد (Blainski et al., 2013). مقدار جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج به صورت میلی گرم اکی والان گالیک اسید در گرم وزن خشک نشان داده شد. مقدار فلاونوئیدهای کل به روش Zhishen et

صفات مورد ارزیابی

اندازه‌گیری رنگیزهای فتوسنتزی و حداکثر کارآبی کوآنتومی فتوسیستم II

برای ارزیابی محتویات کلروفیل از روش Ben Ghnaya et al. (2007) استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه پودر شده وزن شد و سپس یک میلی لیتر استون٪۸۰ به آن اضافه شد و در دور ۸۰۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس از عصاره تیره رنگ رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و در تیوب‌های حاوی ۹۰۰ میکرولیتر استون٪۸۰ اضافه شد. میزان ۴۷۰ جذب عصاره در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد و برای محاسبه مقدار کلروفیل a, b، کل و کاروتونوئید از روش Lichtenthaler (1987) استفاده شد.

حداکثر کارآبی کوآنتومی فتوسیستم II (F_v/F_m) با استفاده از دستگاه کلروفیل فلئورومتر (Hansatech Instruments, Handy PEA, Norfolk, UK) اندازه‌گیری شد. دوره سازش تاریکی برای همه نمونه‌ها ۲۰ دقیقه بود که با استفاده از گیره‌های مخصوص که روی برگ گیاه نصب می‌شند انجام شد. سطح نور استفاده شده بر اساس دستورالعمل کارخانه سازنده به کار برده شد.

اندازه‌گیری اسمولیت‌ها

پرولین (Proline)

میزان پرولین با استفاده از ۱۰۰ میلی گرم برگ تازه، با روش ناین هیدرین اسیدیک اسید (Bates et al., 1973) تعیین شد. پس از پودر کردن برگ، با اضافه کردن ۲ میلی لیتر محلول٪۳ اسید سولفوسالیسیلیک، عصاره استخراج شد. پس از سانتریفیوژ در دور ۱۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از مایع رویی برداشته شد و به تیوب‌های جدید انتقال داده شد. عصاره استخراج شده با ۵۰۰ میکرولیتر محلول اسید ناین هیدرین و ۵۰۰ میکرولیتر اسید اسیدیک گلاسیال مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد انکوبه شد، سپس با قرار دهی در حمام یخ سرد شد (تا واکنش متوقف گردد) و با اضافه کردن یک میلی لیتر تولوئن استخراج شد. جذب فاز آبی در طول موج ۵۲۰ نانومتر

قرار گرفت. کاهش میزان کلروفیل و کاروتونئید در رقم‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). بیشترین مقدار کلروفیل a، b، کل و کاروتونئید در رقم گرد مشاهده شد. کمترین میزان کلروفیل a و کل در رقم لانگ و کمترین میزان کاروتونئید در رقم مرویل مشاهده شد.

تفاوت‌های معنی‌داری در مقدار حداکثر کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II بین تیمارها و رقم‌ها مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین میزان کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II در تیمار شاهد و همچنین در تیمار تنفس یک هفته پس از آبیاری مجدد به دست آمد و ۲۴ کمترین میزان در نمونه‌های تحت تنفس خشکی و ساعت پس از آبیاری مجدد دیده شد (جدول ۳). میزان کاهش کارآیی کوانتمومی در تنفس خشکی نسبت به شاهد حدود ۸٪ بود. بیشترین کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II در رقم‌های لانگ، فرتیل و سپس گرد و کمترین تفاوت آماری داشتند. در درختان زیتون مقدار حداکثر کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II (Fv/Fm) تحت شرایط تنفس خشکی کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (Khaleghi *et al.*, 2012). به عنوان شاخصی حساس برای تنفس‌های محیطی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کاهش در مقدار Fv/Fm زمانی اتفاق می‌افتد که بازدارندگی نوری در گیاه به وجود می‌آید. همچنین این کاهش می‌تواند به احتمال زیاد به دلیل افزایش اتریزی نوری در فتوسیستم II باشد (Martins *et al.*, 2015).

کاروتونئیدها از آنتی‌اکسیدان‌های مهم گیاهی هستند و کاهش آنها در تنفس خشکی باعث حساس‌تر شدن به خشکی می‌شود. بنابراین کمترین دادن این آنتی‌اکسیدان در رقم مرویل در مقایسه با رقم‌های دیگر این آزمایش می‌تواند نشان‌دهنده حساسیت بیشتر این رقم به تنفس خشکی بوده و دلیلی بر کاهش کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II در این رقم نسبت به رقم‌های دیگر باشد. زیرا کاروتونئید می‌تواند به عنوان کاهش‌دهنده رادیکال‌های آزاد حاصل از تنفس خشکی عمل کند (Munne-Bosch & Penuelas, 2003).

همبستگی مشتبی بین میزان کارآیی فتوسیستم II

al. (1999) ارزیابی شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر انجام شد و مقدار فلاونوئیدها به صورت میلی گرم اکی والان کاتکین در گرم وزن خشک (Biochrom) بیان شد. برای بررسی مقدار جذب نمونه‌ها برای تمامی طول موج‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (WPA Biowave II) استفاده شد.

خسارت تنفس خشکی به برگ‌ها

سه روز پس از اتمام دوره تنفس خشکی در صد خشکیدگی و نکروزه شدن برگ‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Moradi *et al.*, 2016). به دلیل این‌که این صفت پس از آبیاری مجدد قابل اندازه‌گیری نبود و همچنین در تمامی رقم‌های تحت تنفس خشکی خسارت مشاهده شد، بنابراین آنالیز داده‌های به دست‌آمده از رقم‌های فندق فقط در شرایط تنفس خشکی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تجزیه داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار آماری SAS و بررسی همبستگی صفات از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. برای مقایسه میانگین‌های روابط متقابل از نرم‌افزار آماری MSTAT-C استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office 2013 Excel (رسم شد).

نتایج و بحث

رنگیزه‌های فتوسنتزی و حداکثر کارآیی کوانتمومی فتوسیستم II

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر خشکی و اثر رقم روی مقدار کلروفیل‌های a، b، کل و همچنین کاروتونئید معنی‌دار بود. مقدار کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتونئید در تنفس خشکی نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳)، به طوری که مقدار آنها به ترتیب ۱۳/۲۸٪، ۱۰/۵۸٪، ۱۲/۷۲٪ و ۱۴/۷۳٪ نسبت به شاهد کاهش یافتند. گزارش شده است میزان کلروفیل کل و کاروتونئید تحت شرایط تنفس خشکی کاهش می‌یابد (El-Tayeb, 2006). بعد از آبیاری مجدد مقدار این رنگیزه‌ها در گیاهان تنفس دیده افزایش یافت، هرچند بعد از ۲۴ ساعت تفاوت معنی‌داری نداشتند، اما پس از یک هفته آبیاری مقدار آنها با شاهد در یک گروه آماری

نشان داد در تنش خشکی مقدار کارآیی کوانتوسی فتوسیستم II کاهش می‌یابد. Yuan *et al.* (2016) نیز گزارش کردند که میزان Fv/Fm در گیاه گوجه‌فرنگی تحت شرایط تنش خشکی بهشت کاهش می‌یابد.

اسمولیت‌ها (پرولین و کربوهیدرات‌های کل محلول) اثر تنش آبی و رقم و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر مقدار پرولین و کربوهیدرات‌های کل محلول معنی‌دار بود (جدول ۲). در هنگام مواجه شدن گیاهان با تنش‌های غیرزنده، در میان اسیدهای آمینه، اکثراً تجمع پرولین گزارش شده است (Hare *et al.*, 1998). در تمامی رقم‌های فندق با مواجه شدن آنها با تنش خشکی مقدار پرولین به شدت افزایش یافت (شکل ۱)، به طوری که مقدار پرولین تولید شده توسط رقم‌های مختلف در اثر تنش کم آبی نسبت به شاهد از ۱۶۳٪ (در رقم فرتیل) تا ۳۷۱٪ (در رقم مرویل) افزایش نشان داد. هرچند افزایش سریع میزان پرولین در گیاه هنگام مواجه شدن با تنش کاملاً مشخص نیست که مربوط به مقاومت گیاه باشد، ولی در کل از آن به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی یاد می‌شود (Delauney & Verma, 1993).

(Fv/Fm) و کاروتونوئید مشاهده شد (جدول ۴). احتمالاً به همین دلیل است که رقم‌های فرتیل و لانگ با وجود داشتن کلروفیل کل کمتر نسبت به دیگر رقم‌ها از کارآیی فتوسیستم II بالایی برخوردار بودند. همچنین رقم گرد که رقمی ایرانی است از کارآیی کوانتوسی بالایی برخوردار بود. به علاوه، رقم گرد میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بالایی نیز نشان داد. رنگیزه‌های فتوسنتزی نقش مهمی در سازگاری و بقای گیاهان تحت تنش خشکی دارند، زیرا کنترل کننده جذب انرژی نورانی می‌باشد (Baquedano & Castillo, 2006).

در تحقیق حاضر، تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کاروتونوئید) در تمامی رقم‌های فندق تحت تنش خشکی کاهش یافته‌اند. برخی پژوهشگران پیشنهاد می‌کنند که کاهش مقدار رنگیزه‌ها در گیاهان تنش دیده می‌تواند به اکسیداسیون نوری مربوط شود، زیرا تمام انرژی نوری دریافت شده در فرآیند فتوسنتز مصرف نمی‌شود (Krause, 1988). اما برخی دیگر عقیده دارند که این واکنش می‌تواند مکانیسمی برای سازگاری بهمنظور کاهش جذب انرژی زیاد باشد (Elvira *et al.*, 1998).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش آبی و رقم بر صفات مورد مطالعه فندق

Table 2. Results of variance analysis of water stress effect and cultivar on studied characteristics of hazelnut

Source of variations	df	Mean Squares				
		Chl a	Chl b	Total Chl	Carotenoids	Fv/Fm
Block	2	0.19 ns	0.02 ns	0.33 ns	0.07 ns	0.003 ns
Water stress (WS)	3	3.37**	0.29**	5.43 **	0.43**	0.02 **
Cultivar (C)	5	4.29**	0.69**	9.00**	0.23**	0.008*
WS×C	15	0.39ns	0.02ns	0.61ns	0.14*	0.002 ns
Error	46	0.73	0.07	1.46	0.06	0.003
CV%	-	12.82	7.94	12.10	7.25	8.23

ns، * و **: به ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد (Chl، کلروفیل؛ Fv/Fm، حداکثر کارآیی کوانتوسی فتوسیستم II). ns, *, **: non-significant, significant at 5% and 1% level, respectively. Chl, chlorophyll; Fv/Fm, maximum quantum efficiency of photosystem II

ادامه جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش آبی و رقم بر صفات مورد مطالعه فندق

Continued table 2. Results of variance analysis of water stress effect and cultivar on studied characteristics of hazelnut

Source of Variations	df	Mean Squares				
		TSC	Proline	MDA	TPC	TF
Block	2	223.97 ns	0.28 ns	62.16 ns	0.12 ns	0.46 ns
Water stress (WS)	3	480.21 *	108.9 **	3969.98 **	0.47 **	7.51 **
Cultivar (C)	5	567.83 **	3.92 **	1424.48 **	8.7 **	76.96 **
WS×C	15	388.55 **	2.45 **	467.89 **	1.20 **	4.85 **
Error	46	148.64	0.46	85.58	0.09	0.45
CV%	-	7.64	18.06	7.49	7.97	9.40

ns، * و **: به ترتیب نبود تفاوت معنی‌دار، تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد (TSC، کربوهیدرات‌های کل محلول؛ MDA، مالون‌دی‌آلدهید؛ TPC، ترکیبات فلاؤنونوئیدهای کل) (TFC، مجموع دی‌فلافونوئیدات)

ns, *, **: non-significant, significant at 5% and 1% level, respectively (TSC, total soluble carbohydrates; MDA, malondialdehyde; TPC, total phenolic compounds; and TF, total flavonoids)

جدول ۳. مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی و حداکثر کارآبی کواتومی فتوسیستم II در رقم‌های فندق تحت تأثیر تنش آبی

Table 3. Means comparison of photosynthetic pigments and maximum quantum yield of photosystem II in hazelnut cultivars under water stress conditions

Treatments*	Chl a ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Chl b ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Total Chl ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Carotenoids ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW)	Fv/Fm
Water treatments					
Control	7.08a	2.74a	9.83a	2.24a	0.731a
WS	6.14c	2.45c	8.58b	1.91b	0.672b
RW1	6.46bc	2.54bc	9.09ab	2.00b	0.681b
RW2	6.92ab	2.65ab	9.57a	2.19a	0.732a
Cultivars					
Fertile	6.31bc	2.43b	8.73bc	2.02bc	0.735a
Ronde	7.02ab	2.66b	9.69b	2.08bc	0.706ab
Longue	5.86c	2.45b	8.31c	2.16ab	0.722a
Segorbe	6.37bc	2.43b	8.81bc	1.98bc	0.685ab
Gerd	7.55a	3.05a	10.73a	2.04a	0.713ab
Merville	6.78b	2.55b	9.33b	1.94c	0.663b

* حروف مشابه در هر ستون مربوط نشان‌دهنده نبود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانک است. مخفف صفات به (Fv/Fm، کلروفیل؛ Chl، کراتومی فتوسیستم II)

* Similar letters in each column representing no significant differences at 5% according to Duncan's Multiple Range Test (Chl, chlorophyll; Fv/Fm, maximum quantum efficiency of photosystem II)

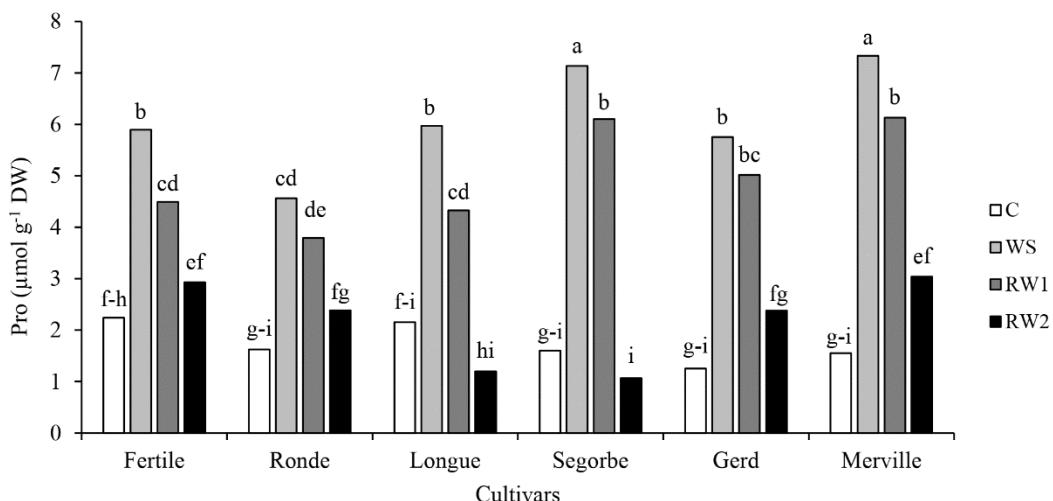
بیش از اسیدآمینه‌های دیگر افزایش می‌یابد. بنابراین در برخی گیاهان می‌توان از این اسیدآمینه به عنوان یک نشانگر زیستی برای انتخاب رقم‌ها و دورگ‌هایی که به شرایط تنش مقاوم هستند، استفاده نمود که به شرایط تنش مقاوم هستند، استفاده نمود (Bates *et al.*, 1973). تجمع پرولین در گیاهان از دو مسیر وابسته به اورنیتین و وابسته به گلوتامات صورت می‌گیرد. تحت شرایط تنش غالباً مسیر وابسته به گلوتامات فعال می‌شود (Bartels & Sunkar, 2005). در رقم‌های مختلف فندق نیز تولید این اسید آمینه بسیار بالا بود و تفاوت‌های معنی‌داری بین رقم‌ها مشاهده شد، بنابراین می‌توان از آن به عنوان نشانگر بیوشیمیایی ارزشمند در اصلاح فندق برای تنش خشکی استفاده نمود.

حفظ پتانسیل آبی برای گیاهان تحت تنش آبی به منظور ادامه رشدشان اهمیت زیادی دارد. این عمل می‌تواند با تجمع محلول‌های سازگار سیتوپلاسمی مانند قندها، پرولین، اسیدهای آلی و گلایسین بتائین تحقق یابد (Hare *et al.*, 1998). از واکنش‌های بسیار مهم گیاهان در مواجهه با تنش خشکی و دیگر تنش‌های غیرزنده افزایش تولید انواع مختلف متابولیت‌ها و محلول‌ها است (Ashraf & Foolad, 2007). در آزمایش حاضر در رقم‌های فندق تحت تنش خشکی مقدار کربوهیدرات‌های محلول بسته به رقم کاهش یا افزایش نشان داد (شکل ۲). به طوری که در رقم‌های فرتیل، گرد و مرویل کاهش و در دیگر رقم‌ها، به صورت

بیشترین پرولین تولید شده تحت تیمار تنش خشکی در رقم‌های مرویل و سقورب مشاهده شد و رقم روند از نظر آماری کمترین مقدار پرولین را در شرایط تنش تولید کرد. بقیه رقم‌ها (فرتیل، لانگ و گرد) در یک گروه آماری قرار گرفتند. پرولین بخش بسیار مهمی در بیوسنتز پروتئین‌های ماتریکس دیواره سلولی است، به همین خاطر در مورفولوژی سلول نقش مهمی دارد و برای سلول تحت شرایط تنش حفاظت مکانیکی فراهم می‌کند (Nanjo *et al.*, 1999). حدود ۲۴ ساعت بعد از آبیاری مجدد میزان پرولین در تمامی رقم‌ها کاهش نشان داد. گزارش شده است میزان پرولین پس از مرحله تنش و با آبیاری مجدد رو به کاهش می‌رود (Goodarzian *et al.*, 2015). پرولین قابلیت حذف و یا کاهش تولید اکسیژن فعال در اندام‌ها را دارد می‌باشد (Reddy *et al.*, 2004). تولید و تجمع این اسیدآمینه در میان رقم‌های مختلف از یک گونه Goodarzian Ghahfarokhi *et al.*, 2015) متغیر است. یک هفته بعد از آبیاری مجدد مقدار پرولین در رقم‌های فندق نسبت به هنگام تنش خشکی بهشت کاهش یافت. با اینحال مقدار کاهش در رقم‌های مختلف متفاوت بود و اکثرًا بالاتر از میزان آن در شاهد بود. بیشترین کاهش پرولین در رقم لانگ و سپس سقورب مشاهده شد که کمتر از میزان شاهد شده بودند. در گیاهان تحت تنش خشکی، مقدار پرولین

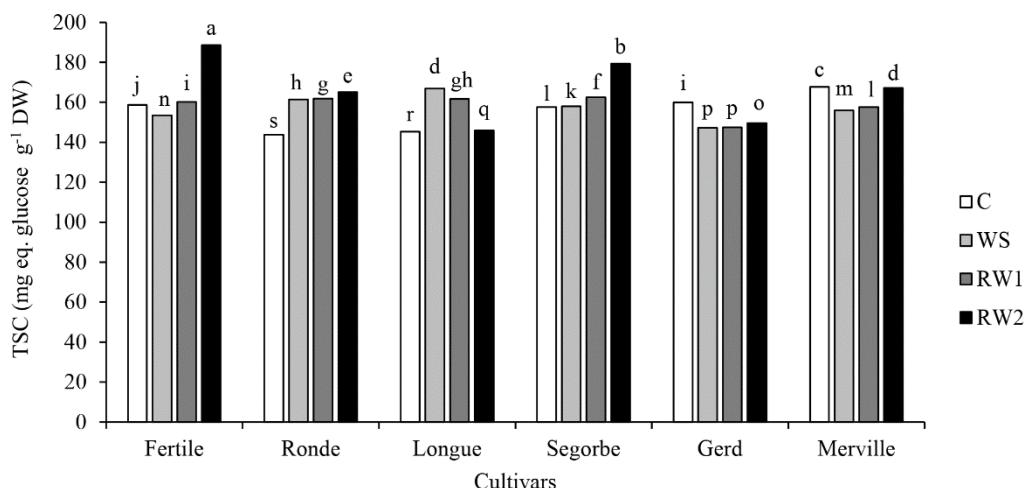
پروولین و کربوهیدرات‌های محلول بیشتر در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی به تنظیم پتانسیل اسمزی سلول و همکاری برای حفظ آب سلول مفید و مؤثر است (Hare *et al.*, 1998). افزایش سریع در میزان کربوهیدرات‌های محلول احتمالاً در نتیجه تجزیه ناشسته می‌باشد (Fischer & Höll, 1991).

افزایشی بود. تحت تیمار تنش خشکی بیشترین میزان تولید کربوهیدرات‌های محلول در رقم‌های لانگ و روند مشاهده شد و به ترتیب ۱۱٪ و ۱۲٪ نسبت به شاهد افزایش تولید داشتند. بیشترین میزان کاهش هم در رقم‌های گرد و مروبل به ترتیب تقریباً ۸٪ و ۶٪ نسبت به شاهد بود. فرض بر این است که تولید



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم‌های فندق و تنش خشکی بر مقدار پروولین (شرایط آبیاری: C، شاهد؛ WS، تنش خشکی؛ RW1، نمونهبرداری یک روز پس از آبیاری مجدد؛ RW2، نمونهبرداری یک هفته بعد از آبیاری مجدد)

Figure 1. Means comparison of interaction effect of hazelnut cultivars and drought stress on proline content (Watering conditions: C, control; WS, water stress; RW1, sampling one day after re-watering; RW2, sampling one week after re-watering)



شکل ۲. مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم فندق × تنش خشکی برای صفت مقدار کربوهیدرات‌های محلول کل؛ حروف همسان روی ستون‌های مختلف نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵. آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد. شرایط آبیاری: C، شاهد؛ WS، تنش خشکی؛ RW1، نمونهبرداری یک روز پس از آبیاری مجدد؛ RW2، نمونهبرداری یک هفته بعد از آبیاری مجدد.

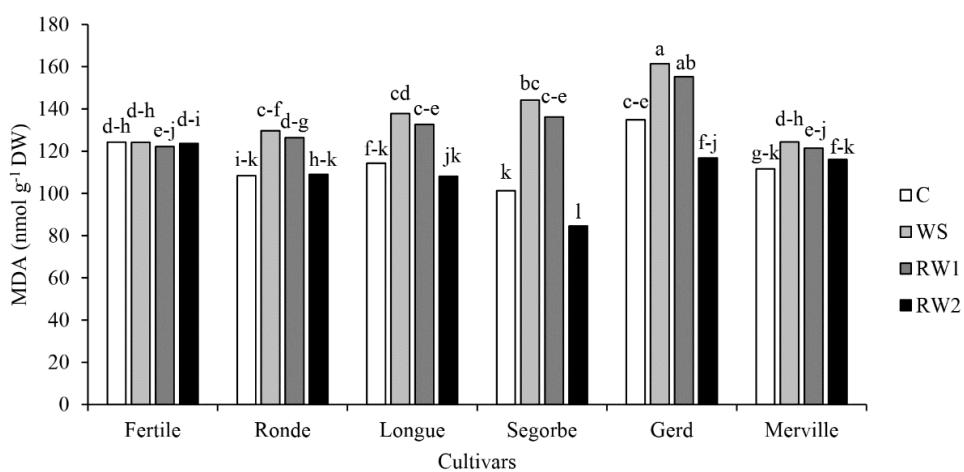
Figure 2. Means comparison of interaction effects of hazelnut cultivar × drought stress for total soluble carbohydrates content; similar letters on each column representing no significant differences at probability level of 5% according to Duncan's Multiple Range Test. Watering conditions: C, control; WS, water stress; RW1, sampling one day after re-watering; RW2, sampling one week after re-watering.

به طوری که در این رقم میزان مالون‌دی‌آلدهید تفاوت چندانی در مقدار تولید بین تنش و بدون تنش دیده نشد. بعد از آن رقم مرولیل تولید کمتری (حدود ۱۱٪) بیشتر از تیمار شاهد) داشت. بقیه رقم‌ها افزایش نسبی یکسانی (حدود ۱۹-۲۰٪) داشتند. بعد از آبیاری مجدد مقدار مالون‌دی‌آلدهید در تمامی رقم‌ها کاهش نشان داد، به طوری که یک هفته پس از آبیاری مجدد مقدار آن در برخی رقم‌ها به کمتر از شاهد رسید، اما تغییرات آن در رقم فرتیل قابل ملاحظه نبود. یکی از علائم خسارت اکسیداتیو تجزیه غشاء سلولی است. بنابراین مالون‌دی‌آلدهید، به عنوان محصولی از پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی، نشانگری عالی برای تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (Del Rio *et al.*, 2005).

Petridis *et al.* (2012) گزارش کردند که پراکسیداسیون لیپیدها در درختان زیتون تحت شرایط تنش خشکی با افزایش زمان خشکی افزایش یافت و مقدار آن در رقم‌های مختلف متفاوت بود، به طوری که در شاهد تقریباً ۲۰۰۰ قسمت در میلیارد (ppb) بود و در تنش خشکی در برخی رقم‌ها به بیش از ۳۵۰۰ ppb رسید.

مقدار مالون‌دی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر تنش آبی و رقم و همچنین اثر متقابل آنها بر مقدار مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار بود. معمولاً مالون‌دی‌آلدهید به عنوان نشانگر مناسبی برای ارزیابی خسارت پراکسیداسیون غشا به شمار می‌آید (Baily *et al.*, 1996). اثر متقابل تنش آبی و رقم بر میزان مالون‌دی‌آلدهید در شکل ۳ نشان داده شده است. به جز رقم فرتیل، بقیه رقم‌های فندق در میزان مالون‌دی‌آلدهید در اثر تنش آبی افزایش نشان دادند. بیشترین تولید مالون‌دی‌آلدهید در اثر تنش آبی در رقم گرد مشاهده شد. این رقم همچنین در شرایط بدون تنش (شاهد) نیز بیشترین میزان این ماده را در مقایسه با سایر رقم‌های فندق نشان داد. البته در بین رقم‌های مورد مطالعه افزایش در مقدار مالون‌دی‌آلدهید در تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد در رقم سقورب مشاهده شد که حدود ۴۲٪ نسبت به شاهد افزایش تولید نشان داد. در درخت کاراپا (*Carapa guianensis*) مقدار مالون‌دی‌آلدهید در شرایط شاهد (آبیاری منظم) تا حدود ۴۰۰ نانومول بر گرم وزن خشک بوده است که این مقدار در شرایط تنش خشکی تا ۵۵۰ نانومول بر گرم وزن خشک رسیده است (Costa *et al.*, 2010). همچنین کمترین تولید در اثر تنش در رقم فرتیل مشاهده شد.



شکل ۳. مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم فندق × تنش خشکی برای صفت مقدار مالون‌دی‌آلدهید؛ حروف همسان روی ستون‌های مختلف نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد. شرایط آبیاری: C، شاهد؛ WS، تنش خشکی؛ RW1، نمونه برداری یک روز پس از آبیاری مجدد؛ RW2، نمونه برداری یک هفته بعد از آبیاری مجدد.

Figure 3. Means comparison of interaction effects of hazelnut cultivar × drought stress for MDA content; similar letters on each column representing no significant differences at the probability level of 5% according to Duncan's Multiple Range Test. Watering conditions: C, control; WS, water stress; RW1, sampling one day after re-watering; RW2, sampling one week after re-watering.

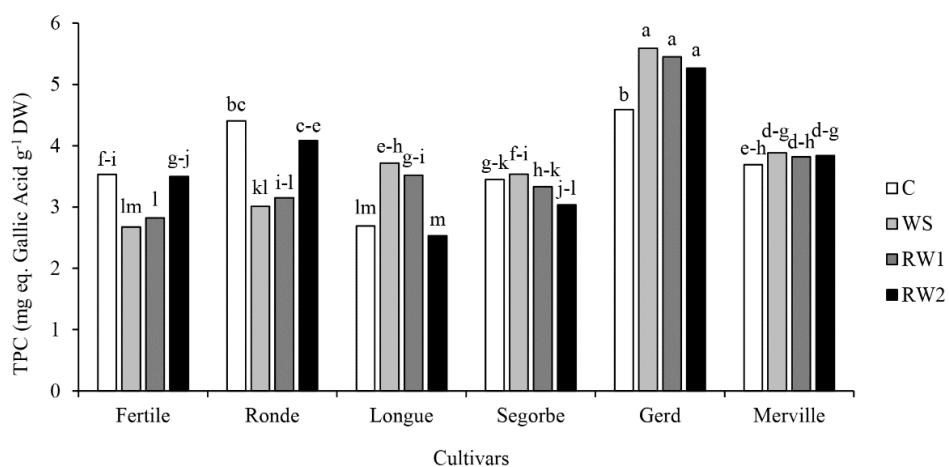
Mungkin است تولید آنها زیاد شود (Van Breusegem & Dat, 2006). در تحقیق حاضر، تمامی رقم‌ها، به‌غیر از رقم‌های روند و فرتیل، در اثر تنش خشکی نسبت به شاهد وضعیت افزایشی در مقدار ترکیبات فنولی کل نشان دادند (شکل ۴). تحت تنش خشکی بیشترین افزایش تولید ترکیبات فنولی نسبت به شاهد در رقم لانگ مشاهده شد که حدود ۳۸٪ بیشتر از شاهد بود و بعد از آن در رقم گرد بود که حدود ۲۱٪ بیشتر از شاهد تولید ترکیبات فنولی داشت. رقم‌های روند و فرتیل برخلاف دیگر رقم‌های مورد آزمایش کاهش شدیدی در ترکیبات فنولی داشتند. به‌طوری‌که مقدار تولید ترکیبات فنولی در اثر تنش خشکی نسبت به شاهد در این رقم‌ها به ترتیب حدود ۳۱٪ و ۲۴٪ کاهش داشت.

میزان تولید فلاونوئیدهای کل نیز در رقم‌ها متفاوت بود (شکل ۵)، به‌طوری‌که بیشترین مقدار تولید فلاونوئیدها در رقم گرد مشاهده شد. تفاوت‌ها در تولید فلاونوئیدها در رقم‌های مرویل و سقورب در شرایط مختلف تنش ناچیز بود. فلاونوئیدها، به‌عنوان گروهی از ترکیبات فنولی از ترکیبات ثانویه متابولیتی هستند که در مکانیسم‌های سازگاری به تنش‌های غیرزنده اهمیت دارند (Di Ferdinando *et al.*, 2014).

در تحقیق حاضر، افزایش مalononedi‌آلدهید در اثر تنش خشکی و کاهش آن پس از برگشت به شرایط (2012) Petridis *et al.*، با نتایج مطابقت می‌نماید. گزارش شده است رقم‌های مقاوم ذرت به تنش معمولاً مalononedi‌آلدهید کمتری در شرایط تنش تولید می‌کنند، زیرا پراکسیداسیون لیپیدها در رقم‌های مقاوم کمتر رخ می‌دهد (Hussain *et al.*, 2013).

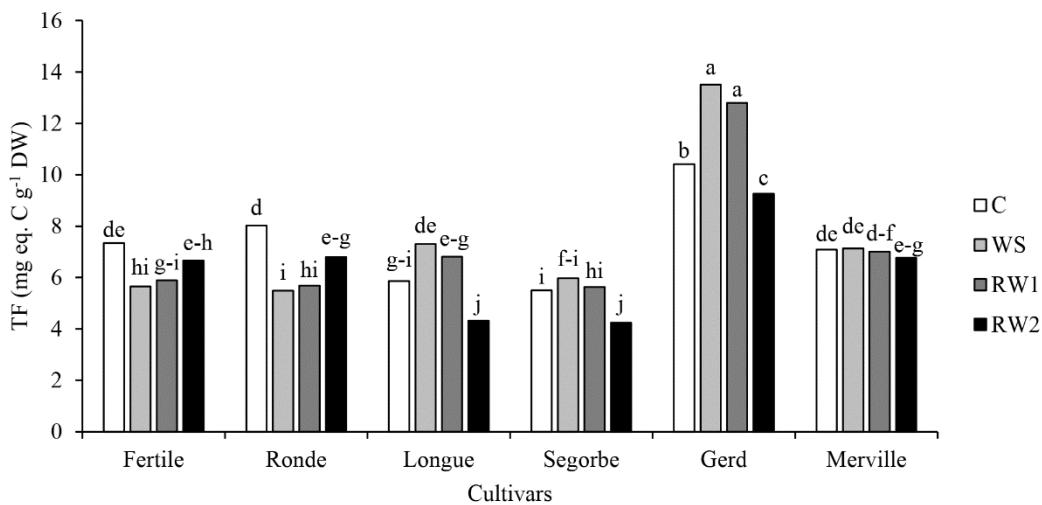
آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر تنش آبی و رقم و اثر متقابل آنها بر تولید متابولیت‌های ثانویه (ترکیبات فنولی کل و فلاونوئیدهای کل) معنی‌دار بود. تنش خشکی همانند سایر تنش‌های غیرزنده (شوری، دمای بالا، سرما و ...) سبب تولید گونه‌های مختلف اکسیژن فعال (ROS) می‌شود. یکی از واکنش‌های معمول گیاهان به تنش‌های غیرزنده بر اساس فعال کردن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی است. از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی می‌توان به فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی اشاره کرد (Apel & Hirt, 2004). در نتیجه، متابولیت‌های ثانویه که در گیاهان تولید می‌شود، در شرایط محیطی تنشی



شکل ۴. مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم فندق × تنش خشکی برای صفت مقدار ترکیبات فنولی کل (TPC): حروف همسان روی ستون‌های مختلف نشان‌دهنده عدم معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵. آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد. شرایط آبیاری: C، شاهد؛ WS، تنش خشکی؛ RW1، نمونه‌برداری یک روز پس از آبیاری مجدد؛ RW2، نمونه‌برداری یک هفته بعد از آبیاری مجدد.

Figure 4. Means comparison of interaction effects of hazelnut cultivar × drought stress for total phenolic compounds contents; similar letters on each column representing no significant differences at the probability level of 5% according to Duncan's Multiple Range Test. Watering conditions: C, control; WS, water stress; RW1, sampling one day after re-watering; RW2, sampling one week after re-watering.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم فندق × تنش خشکی برای صفت مقدار فلاونوئیدهای کل (TF); حروف همسان روی ستون‌های مختلف نشان‌دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد. شرایط آبیاری: C، شاهد؛ WS، تنش خشکی؛ RW1، نمونه‌برداری یک روز پس از آبیاری مجدد؛ RW2، نمونه‌برداری یک هفته بعد از آبیاری مجدد.

Figure 5. Means comparison of interaction effects of hazelnut cultivar × drought stress for total flavonoids contents; similar letters on each column representing no significant differences at the probability level of 5% according to Duncan's Multiple Range Test. Watering conditions: C, control; WS, water stress; RW1, sampling one day after re-watering; RW2, sampling one week after re-watering.

جمعیت‌های مختلف کاج (*Picea abies*) نیز گزارش شده است (Schiop *et al.*, 2017).

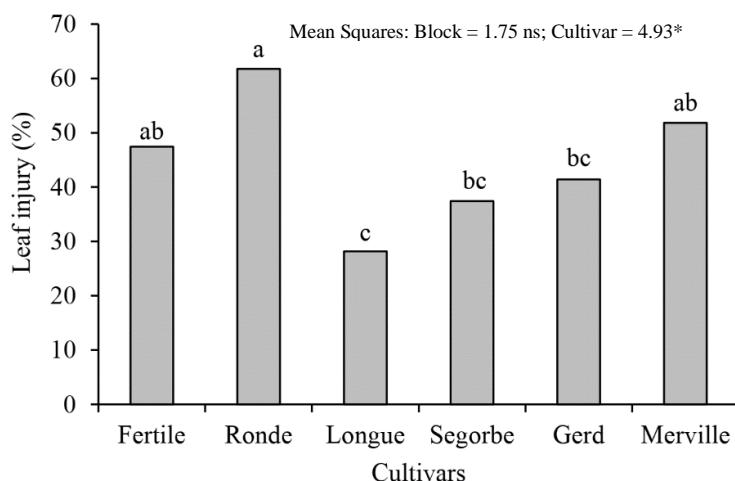
خسارت تنش خشکی به برگ‌ها (% نکروزگی) نتایج نشان داد خسارت تنش خشکی به برگ‌ها (درصد نکروزگی) در رقم‌های فندق در سطح احتمال ۰/۵ آماری معنی دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد تنش خشکی بیشترین خسارت را در برگ‌های رقم روند و کمترین خسارت را در برگ‌های رقم لانگ سبب شده است (شکل ۶). معمولاً برگ‌ها اولین قسمت از گیاه هستند که اثرات تنش آبی را در خود نشان می‌دهند. تنش خشکی تعادل هورمونی برگ‌ها را بهم می‌زند و موجب کاهش رشد سلولی، القای بسته‌شدن روزنه‌ها، کاهش مقدار کلروفیل، نکروزهشدن برگ‌ها، بدشکلی، پژمردگی و نیز خسارت دیدن غشای سلولی آنها می‌شود (Hussain & Ali, 2015). بر این اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد رقم‌های فندق با درصد نکروزگی کمتر در شرایط تنش خشکی می‌توانند مقاومت بیشتری نسبت به تحمل کم‌آبی داشته باشند. در مطالعه حاضر رقم لانگ نسبت به بقیه رقم‌ها درصد نکروزگی کمتری نشان داد.

فلاونوئیدها به عنوان سیستم حذف کننده ثانویه ROS به شمار می‌روند که در گیاهان تحت تنش شدید در نتیجه کاهش سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی اولیه فعال می‌شوند. بنابراین بیوسنتر فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش شدید ممکن است چند برابر شود، بهخصوص زمانی که فعالیت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی در برابر ROS تقلیل یابد (Fini *et al.*, 2011). در تحقیق حاضر، یک روز پس از آبیاری بین رقم‌های فندق در مقدار فلاونوئیدها تفاوت چندانی با حالت تنش مشاهده نشد، ولی یک هفته پس از آبیاری تفاوت‌های معنی دار مشاهده شد. یک هفته پس از آبیاری، در تمامی رقم‌های مورد مطالعه فلاونوئیدهای کل نسبت به حالت تنش و یک روز بعد از آبیاری مجدد کاهش یافت. در برخی رقم‌های فندق ترکیبات فنولی کل و فلاونوئیدهای آنتی‌اکسیدانی به طور معنی داری در تنش خشکی افزایش یافتد، این حالت در گونه‌های گیاهی دیگر نیز گزارش شده اند (Bautista *et al.*, 2016; Hernandez *et al.*, 2004). اگرچه این حالت در برخی از رقم‌های فندق (فرتیل و روند) صادق نبود و می‌تواند نشان‌دهنده تحمل بیشتر آنها نسبت به تنش خشکی باشد. این رویه در

و با میزان کاروتونوئیدها مشاهده شد. همچنین میزان کلروفیل b با مقدار ترکیبات فنولی کل و فلاونوئیدها همبستگی مثبت و معنی دار قابل ملاحظه ای نشان داد. پرولین با اکثر شاخص ها همبستگی منفی نشان داد، در حالی که با مالون دی آلدید همبستگی مثبت (+۰/۶۶ درصد) نشان داد. ترکیبات فنولی کل با فلاونوئیدها کل همبستگی مثبت بالای نشان دادند. چرا که فلاونوئیدها به عنوان زیرگروهی اصلی از ترکیبات فنولی به شمار می روند. مالون دی آلدید نیز با فلاونوئیدها همبستگی مثبت بالای (+۰/۶۶ درصد) نشان داد که نشان دهنده افزایش تولید این مواد در شرایط تنش بوده است.

ضرایب همبستگی بین صفات

مطالعه دو به دو همبستگی بین صفات به منظور بررسی روابط ژنتیکی و فوتیپی صفات مورد استفاده قرار می گیرد (Chen *et al.*, 2014). همبستگی بین صفات به صورت دو به دو محاسبه شد و ضرایب همبستگی معنی دار بین برخی صفات مشاهده شد (جدول ۴). همبستگی منفی (-۰/۶۴ درصد) بین حداکثر کارآبی کوانتموئی فتوسیستم II (Fv/Fm) و مقدار پرولین (Pro) مشاهده شد. این همبستگی منفی به دلیل افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش، اما کاهش حداکثر کارآبی فتوسیستم II در این شرایط بوده است. همبستگی های مثبت و معنی داری بین رنگیزهای فتوسنتزی با یکدیگر



شکل ۶. مقایسه میانگین ارقام فندق در شرایط تنش خشکی برای صفت درصد خسارت برگها (% نکروزگی)؛ حروف همسان روی ستون های مختلف نشان دهنده عدم معنی داری در سطح احتمال ۰/۰۵ آزمون چند دامنه ای دانکن می باشد.

Figure 6. Means comparison of hazelnut cultivars under drought stress conditions for leaf injury percentage (necrosis %); similar letters on each column representing no significant differences at the probability level of 5% according to Duncan's Multiple Range Test.

جدول ۴. ضرایب همبستگی پیرسون بین ۱۰ صفت مختلف رسمی ایاری تحت شرایط مختلف آبیاری

Table 4. Pearson's correlation coefficients between 10 different traits of hazelnut cultivars under different irrigation treatments

Traits	Fv/Fm	Chl a	Chl b	T Chl	Caro	TSC	Pro	MDA	TPC	TF
Fv/Fm	1									
Chl a	0.24	1								
Chl b	0.32	0.92**	1							
T Chl	0.26	0.99**	0.95**	1						
Caro	0.47*	0.69**	0.79**	0.73**	1					
TSS	0.01	-0.00	-0.20	-0.05	0.04	1				
Pro	-0.64**	-0.51*	-0.52**	-0.52**	-0.56**	-0.07	1			
MDA	-0.31	-0.16	0.00	-0.12	-0.07	-0.25	0.66**	1		
TPC	0.08	0.54**	0.67**	0.58**	0.36	-0.30	0.07	0.48*	1	
TF	0.06	0.41	0.6	0.47*	0.38	-0.37	0.15	0.66**	0.91**	1

* و **: به ترتیب تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد (Fv/Fm، حداکثر کارآبی کوانتموئی فتوسیستم II، Chl، کلروفیل، TSC، کربوهیدرات های کل محلول، MDA، مالون دی آلدید، TPC، ترکیبات فنولی کل و فلاونوئیدها) (L).

*، **: Significant difference at 5%, and 1% level, respectively (Fv/Fm, maximum quantum efficiency of photosystem II; Chl, chlorophyll; TSC, total soluble carbohydrates; MDA, malondialdehyde; TPC, total phenolic compounds; and TF, total flavonoids)

فتوصیستم II کمتر از بقیه تحت تأثیر شرایط تنفس قرار گرفتند که نشان‌دهنده حفظ وضعیت راندمان فتوسنتزی تحت شرایط تنفس می‌باشد. بنابراین رقم‌های فرتیل، لانگ و گرد نسبت به بقیه از ویژگی‌های بهتری در مقابل تنفس خشکی برخوردار بودند.

سپاسگزاری

بخشی از کارهای مربوط به تحقیق حاضر در دانشگاه تهران و بخشی دیگر در آزمایشگاه پروفسور اسکار ویسنته (دانشگاه پلی تکنیک والنسیا، اسپانیا) انجام شده است. از ایشان به خاطر فراهم‌آوردن امکانات برای تکمیل تحقیق حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Abbaspour, H., Afshari, H. & Abdel-Wahhab, A. (2012). Influence of salt stress on growth, pigments, soluble sugars and ion accumulation in three pistachio cultivars. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 2468-2473.
2. Apel, K. & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *The Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
3. Arabzadeh, E., Fotouhi Ghazviny, R., Rahmani, M. & Saadatian, M. (2017). Effects of irrigation period on biochemical changes of some citrus species. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 82, 33-38.
4. Ashraf, M. & Foolad, M. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
5. Awada, T. & Josiah, S. (2007). Physiological responses of four hazelnut hybrids to water availability in Nebraska. *Great Plains Research*, 17, 193-202.
6. Baily, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Dôme, D. (1996). Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seed as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97, 104-110.
7. Baker, N. R. & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: An examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55, 1607-1621.
8. Baquedano, F. J. & Castillo, F. J. (2006). Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water saver *Pinus halepensis* and water-spenders *Quercus coccifera* and *Quercus ilex*. *Trees*, 20, 689-700.
9. Bartels, D. & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 23-58.
10. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant & Soil*, 39, 205-207.
11. Bautista, I., Boscaiu, M., Lidon, A., Llinares, J. V., Lull, C., Donat, M. P., Mayoral, O. & Vicente, O. (2016). Environmentally induced changes in antioxidant phenolic compounds levels in wild plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(1), 9.
12. Ben Ghnaya, A., Charles, G., Hourmant, A., Ben Hamida, J. & Branchard, M. (2007). Morphological and physiological characteristics of rapeseed plants regenerated in vitro from thin layers in the presence of zinc. *Plant Biology and Pathology*, 330, 728-734.
13. Blainski, A., Lopes, G. C. & de Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18, 6852-6865.
14. Chen, D., Neumann, K., Friedel, S., Kilian, B., Chen, M., Altmann, T. & Klukas, C. (2014). Dissecting the phenotypic components of crop plant growth and drought responses based on high-throughput image analysis. *Plant Cell*, 26, 4636-4655.
15. Cheynier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V. & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72, 1-20.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد رقم‌های مختلف فندق واکنش‌های متفاوتی در برابر تنفس خشکی و احیا پس از آبیاری نشان دادند. حداکثر کارآیی فتوسیستم II رقم‌های فرتیل و لانگ بالاتر از بقیه و رقم مرویل پایین‌تر از رقم‌های دیگر بود. همچنین رقم گرد که رقمی بومی محسوب می‌شود واکنش‌های متفاوتی نسبت به بقیه رقم‌ها به تنفس خشکی نشان داد. پرولین با سایر ویژگی‌ها، به جز مالون‌دی‌آلدهید، همبستگی منفی نشان داد که می‌تواند به عنوان یک نشانگر مبنی بر حساسیت بیشتر در مقابل تنفس خشکی در فندق باشد. در مجموع به نظر می‌رسد که رقم‌هایی با بالاترین کارآیی کوآنتموی

16. Costa, M. A., Pinheiro, H. A., Shimizu, E. S. C., Fonseca, F. T., Filho, B. G. S., Moraes, F. K. C. & Figueiredo, D. M. (2010). Lipid peroxidation, chloroplastic pigments and antioxidant strategies in *Carapa guianensis* (Aubl.) subjected to water-deficit and short-term rewetting. *Trees*, 24, 275-283.
17. Del Rio, D., Stewart, A. J. & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 15, 316-328.
18. Delauney, A. J. & Verma, D. P. S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal*, 4, 215-223.
19. Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Agati, G. & Tattini, M. (2014). Multiple functions of polyphenols in plants inhabiting unfavourable Mediterranean areas. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 107-116.
20. Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A. & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. In: Ahmad P, Prasad MNV (Ed), *Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability*. (pp. 159-179). Springer Science.
21. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Reberd, P. A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28, 350-356.
22. Ehdaei, B. (1993). Selection for resistance to drought in wheat. In *First Iranian Congress on Crop Production and Plant Breeding* (pp. 43-62). Karaj, Iran. (in Farsi)
23. El-Tayeb, M. A. (2006). Differential response of two *Vicia faba* cultivars to drought: Growth, pigments, lipid peroxidase, organic solutes, catalase and peroxidase acticity. *Acta Agronomica Hungarica*, 54, 25-37
24. Elvira, S., Alonso, R., Castillo, F. & Gimeno, B. S. (1998). On the response of pigments and antioxidants of *Pinus halepensis* seedlings to Mediterranean climatic factors and long-term ozone exposure. *New Phytologist*, 138, 419-432.
25. Esmaeilpour, A., Van Labeke, M., Samson, R. & Van Damme, P. (2015). Osmotic stress affects physiological responses and growth characteristics of three pistachio cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1-14.
26. Fini, A., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Ferrini, F. & Tattini, M. (2011). Stress-induced flavonoid biosynthesis and the antioxidant machinery of plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6, 709-711.
27. Fischer, C. & Höll, W. (1991). Food reserves in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). I. Seasonal changes in the carbohydrate and fat reserves of pine needles. *Trees*, 5, 187-195.
28. Food and Agriculture Organization. (2018). from <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
29. Gamo, M. (1999). Classification of arid regions by climate and vegetation. *Journal of Arid Land*, 1, 9-17.
30. Gholami, M., Rahemi, M., Kholdebarin, B. & Rastegar, S. (2012). Biochemical responses in leaves of four fig cultivars subjected to water stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 148, 109-117.
31. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
32. Goodarzian Ghahfarokhi, M., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M. & Ghasemi, E. (2015). Effects of drought stress and rewetting on antioxidant systems and relative water content in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 61, 493-506.
33. Hare, P. D., Cress, W. A. & Van Staden, J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant Cell Environment*, 21, 535-553.
34. Hashimoto, Y., Kramer, P. F., Nonami, H. & Strain, B. R. (1990). *Measurement Techniques in Plant Science*. Academic Press, Inc.
35. Hernandez, Y., Alegre, L. & Munne-Bosch, S. (2004). Drought-induced changes in flavonoids and other low molecular weight antioxidants in *Cistus clusii* grown under Mediterranean field conditions. *Tree Physiology*, 24, 1303-1311.
36. Hodges, D. M., De Long, J. M., Forney, C. F., Robert, K. & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
37. Hussain, B. & Ali, B. (2015). Leaf longevity in plants under water stress—A review. *Indian Journal of Plant Sciences*, 4, 127-133.
38. Hussain, I., Ashraf, M. A., Anwar, F., Rasheed, R., Niaz, M. & Wahid A. (2013). Biochemical characterization of maize (*Zea mays* L.) for salt tolerance. *Plant Biosystems*, 148, 1016-1026.
39. Jagtap, V., Bhargava, S., Sterb, P. & Feierabend, J. (1998). Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Journal of Experimental Botany*, 49, 1715-1721.
40. Karami, L., Ghaderi, N. & Javadi, T. (2017). Morphological and physiological responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to drought stress and dust pollution. *Folia Horticulturae*, 29, 231-240.

41. Khaleghi, E., Arzani, K., Moallemi, N. & Barzegar, M. (2012). Evaluation of chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters and relationships between chlorophyll a, b and chlorophyll content index under water stress in *Olea europaea* cv. Dezful. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 6, 2108-2111.
42. Krause, G. H. (1988). Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum*, 74, 566-574.
43. Lichtenhaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
44. Lilley, J. M. & Ludlow, M. M. (1996). Expression of osmotic adjustment and dehydration tolerance in diverse rice lines. *Field Crop Research*, 48, 185-197.
45. Liu, H. (2010). Exploring the utilization of *Corylus*. *Farm Production Proceeding*, 1, 24-25.
46. Martins, J. P. R., Schimildt, E. R., Alexandre, R. S., Falqueto, A. R. & Otoni, W. C. (2015). Chlorophyll a fluorescence and growth of *Neoregelia concentrica* (Bromeliaceae) during acclimatization in response to light levels. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 51, 471-481.
47. Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. & Mittler, R. (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environment*, 33, 453-467.
48. Mingeau, M., Ameglio, T., Pons, B. & Rousseau, P. (1994). Effects of water stress on development, growth and yield of hazelnut trees. *Acta Horticulturae*, 351, 305-314.
49. Mohammadzadeh, M., Fattahi, R., Zamani, Z. & Khadivi-Khub, A. (2014). Genetic identity and relationships of hazelnut (*Corylus avellana* L.) landraces as revealed by morphological characteristics and molecular markers. *Scientia Horticulturae*, 167, 17-26.
50. Moradi, S., Baninasab, B., Gholami, M. & Ghobadi, C. (2016). Paclobutrazol application enhances antioxidant enzyme activities in pomegranate plants affected by cold stress. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 92, 65-71.
51. Munne-Bosch, S. & Penuelas, J. (2003). Photo and antioxidative protection during summer leaf senescence in *Pistacia lentiscus* L. grown under Mediterranean field conditions. *Annals of Botany*, 92, 385-391.
52. Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T., Matsuda, F., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K., Michael, A. J., Tohge, T., Yamazaki, M. & Saito, K. (2014). Enhancement of oxidative and drought tolerance in *Arabidopsis* by overaccumulation of antioxidant flavonoids. *Plant Journal*, 77, 367-379.
53. Nanjo, T., Kobayashi, K., Yoshioka, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K. (1999). Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 18, 1 85-1 93.
54. Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. & Giannakoul, A. (2012). Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 1-11.
55. Reddy, A., Chaitanya, K. V. & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1189-1202.
56. Schiop, S. T., Al Hassan, M., Sestrás, A. F., Boscaiu, M., Sestrás, R. E. & Vicente, O. (2017). Biochemical responses to drought, at the seedling stage, of several Romanian Carpathian populations of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.). *Trees*, 31, 1479-1490.
57. Sun, X. P., Yan, H. L., Kang, X. Y. & Ma, F. W. (2013). Growth, gas exchange, and water-use efficiency response of two young apple cultivars to drought stress in two scion-one rootstock grafting system. *Photosynthetica*, 51, 404-410.
58. Van Breusegem, F. & Dat, J. F. (2006). Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiology*, 141, 384-390.
59. Van Breusegem, F., Vranova, E., Dat, J. F. & Inze, D. (2001). The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science*, 161, 405-14.
60. Weng, J. H., Liao, T. S., Hwang, M. Y., Chung, C-C., Lin, C-P. & Chu, C-H. (2006). Seasonal variation in photosystem II efficiency and photochemical reflectance index of evergreen trees and perennial grasses growing at low and high elevations in subtropical Taiwan. *Tree Physiology*, 26, 1097-1104.
61. Yuan, X. K., Yang, Z. Q., Li, Q. & Liu W. H. (2016). Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato. *Photosynthetica*, 54, 28-39.
62. Zandalinas, S. I., Balfagon, D., Arbona, V. & Gomez-Cadenas, A. (2017). Modulation of antioxidant defense system is associated with combined drought and heat stress tolerance in citrus. *Frontiers in Plant Science*, 8, 953.
63. Zhishen, J., Mengcheng, T. & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559.