Plant Prod., 2024, 46(4), 507-521
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2023.43029.2083
Received: 16 February 2023
Accepted: 09 August 2023

Plant Productions
Research Article

Effect of drought stress on the amount of proline, glycine betaine, carbohydrate, phenol and malondialdehyde content genotypes and interspecific hybrids pistachio (*Pistacia vera* L.)

Hassan Farhadi[1], Mohammad Mehdi Sharifani[2*], Mahdi Alizadeh[3], Hossein Hokmabadi[4], Sassan Aliniaeifard[5]

1. Ph.D. Department. of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2,3. Associate.Professor., Department. of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran.
4. Associate.Professor., Pistachio Research center, Agricultural Research Education and Extention Organization of Semnan Province, Dameghan center, Iran
5. Associate.Professor., Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran.

Citation: Farhadi, H., Sharifani, M.M. Alizadeh, M., Hokmabadi , H., & Aliniaeifard, S. (2024) Effect of Drought Stress on the Amount of Proline, Glycine Betaine, Carbohydrate, Phenol and Malondialdehyde Content Genotypes and Interspecific Hybrids Pistachio (*Pistacia vera* L.) *Plant Productions*, 46(4), 507- 521

Abstract

Introduction

Cross breeding processes including targeted crossings to increase drought tolerance, can be considered as a safe and permanent solution to reduce the harmful effects of drought stress on plants. Therefore, two issues of pistachio as a strategic crop in the country and location of Iran in arid and semi-arid region necessitated research in order to achieve rootstocks drought-tolerant hybrids are necessary.

Materials and methods

The experiment was conducted as factorial based on a Completely Randomized Design with four replications in the research greenhouse of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources during 2018-2019. The treatments were consisted of 10 pistachio genotypes Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkheh Hosseini, Garmeh, Fandoghi and interspecific hybrids (Ahmad Aghaei×Integerrima, Akbari×Integerrima, Sorkheh Hosseini× Integerrima, Garmeh×Iintegerrima

* **Corresponding Author:** Mohammad Mehdi Sharifani
E-mail: mmsharif2@ gmail.com

© 2024 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

and Fandoghi×Integerrima) and three levels of drought including control (field capacity), mild stress (65% of field capacity) and Severe stress (30% of field capacity) were applied on 3 months old the seedlings for 84 days.

Results and Discussion

According to the results, fandoghi genotype showed a higher malondialdehyde concentration in leaves (280.23 %), while the hybrid genotypes of Sorkheh Hosseini×Integerrima, Ahmad Aghaei-×Integerrima and Akbari× Integerrima showed a lower malondialdehyde concentration in leaves by 70.18, 76.70, 81.03 % respectively compared to the control. Several osmotic mechanisms are carried out by plants, especially pistachios, in stressful conditions to reduce the effects of drought stress. In fact, these mechanisms have enabled plants to withstand the damages caused by drought and have made plants able to recover their biochemical and physiological functions faster after removing the stress factor. For example, a general physiological mechanism adopted by plants to cope with abiotic stresses is the production of large amounts of low molecular weight, water-soluble, non-toxic organic compounds even in high amounts called osmolytes. One of the most important of them is proline. Therefore, the genotypes with higher amount of proline can be more tolerant to drought conditions. The next osmolyte is glycine betaine, which has a significant protective role in the stability of enzymes and the structure of plasma membranes when faced with drought stress. Therefore, glycine betaine plays a significant role in the resistance of plants to stress through the protection of enzymes, the photosynthetic apparatus, the elimination of free radicals, the preservation of membrane integrity, the protection of large molecules, and as a non-toxic compatible osmolyte. It has an environment. Carbohydrates also increase membrane stability in response to drought stress. Therefore, the accumulation of carbohydrates in the osmotic responses of plants is one of the factors that can prevent disorders in the cell membrane. In addition, phenols are also one of the antioxidant mechanisms of plants in drought stress conditions, because such compounds act as scavengers of reactive oxygen species and thus stabilize membrane, cells and prevent lipid peroxidation. Malondialdehyde is also a decomposition product of unsaturated fatty acids and hydroxides and is used as a suitable marker for lipid peroxide. Therefore, the amount of malondialdehyde obtained from the peroxidation of membrane lipids is used as an indicator for oxidative damage in most cases.

Conclusion

Based on the results of the present research, it seems that it is possible to use the hybrids of Sorkhe Hosseini × Integerrima, Ahmad Aghaei × Integerrima, and Akbari× Integerrima as drought-tolerant genotypes in dry areas. Therefore, based on the results of the present research, it seems that the plants in question can be used as drought tolerant genotypes in arid regions

Keywords: Compatible osmolytes, Controlled crosses, Drought tolerance, Field capacity.

تولیدات گیاهی، ۱٤۰۲، ٤٦(٤)، ۵۰۷-۵۲۱
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2023.43029.2083
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۸

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

اثر تنش خشکی بر میزان پرولین، گلایسین‌بتائین، کربوهیدرات ، فنل و میزان مالون-دی‌آلدهید ژنوتیپ‌ها و هیبریدهای بین‌گونه‌ای جنس پسته (*Pistacia vera* L.)

حسن فرهادی[۱] ، محمد مهدی شریفانی[۲*]، مهدی علیزاده[۳]، حسین حکم آبادی[٤]، ساسان علی نیائی فرد[۵]

۱- دانش آموخته دکتری علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
۲ و ۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
٤- دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان، ایران
۵- دانشیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان – دانشگاه تهران، ایران

چکیده

فرآیندهای بهنژادی از جمله تلاقی‌های هدفمند در جهت افزایش میزان تحمل، می‌تواند راهکاری مطمئن و دائمی برای کم‌کردن اثرات زیان بار تنش خشکی بر گیاهان در نظر گرفته شود. بنابراین با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به‌عنوان یک محصول استراتژیک و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، تحقیقات به‌منظور دستیابی به پایه‌های هیبرید متحمل به خشکی ضروری می‌باشد. آزمایش نخست به-صورت گلدانی و آزمایش دوم به‌منظور اندازه‌گیری اسمولیت‌های آلی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به ترتیب در گلخانه و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در طی سال‌های ۱۳۹۸- ۱۳۹۷ به اجرا در آمدند. تیمارهای آزمایش شامل ۱۰ ژنوتیپ پسته احمدآقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندقی و هیبرید بین‌گونه‌ای (احمدآقایی× اینتگریما، اکبری× اینتگریما، سرخه‌حسینی × اینتگریما، گرمه × اینتگریما و فندقی × اینتگریما) و سه سطح خشکی شامل شاهد (ظرفیت‌زراعی)، تنش‌ملایم (٦۵ درصد ظرفیت‌زراعی) و تنش‌شدید (۳۰ درصد ظرفیت‌زراعی) بودند که ۸٤ روز روی دانهال‌های سه ماهه پسته اعمال شدند. با افزایش سطوح خشکی، غلظت پرولین، گلایسین‌بتائین، کربوهیدارات‌های محلول کل (TSC)، فنل و مالون‌دی‌آلدهید (MDA) در برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش معنی‌داری یافتند. ژنوتیپ فندقی بیش‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید (۲۸۰/۲۳ درصد) و ژنوتیپ‌های هیبرید سرخه‌حسینی× اینتگریما، احمدآقایی × اینتگریما و اکبری× اینتگریما به ترتیب با میزان ۷۰/۱۸، ۷٦/۷۰، ۸۱/۰۳ درصد کم‌ترین افزایش را در خصوص غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ بین دانهال‌ها نسبت به شاهد نشان دادند. پایه‌های دانهالی واکنش‌های متفاوتی به تنش خشکی نشان دادند به‌طوری‌که متحمل‌ترین آن‌ها به ترتیب پایه‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریما، احمد آقایی × اینتگریما و اکبری × اینتگریما بود. بنابراین بر اساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بتوان از پایه‌های مورد نظر به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در مناطق خشک استفاده کرد.

* **نویسنده مسئول:** محمد مهدی شریفانی
رایانامه: mmsharif2@gmail.com

کلید واژه‌ها: تحمل به خشکی، تلاقی کنترل‌شده، ظرفیت زراعی، محلول‌های سازگار کننده.

مقدمه

صنعت کشاورزی ایران با محصول ارزشمند پسته (*Pistacia vera* L) در جهان معرفی شده است و این فرآورده از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین محصولات باغی ایران می‌باشد. بنابراین تلاش برای بهبود وضعیت عملکرد می‌تواند از اهداف اولیه در صنعت تولید پسته کشور باشد و باید برای پایداری موقعیت جهانی آن تلاش بیشتری به کار گرفته شود (Sedaghati *et al*., 2009). با توجه به بحران کم‌آبی در ایران افزایش سطح زیر کشت به‌منظور افزایش تولید نمی‌تواند گزینه قابل قبولی باشد. هر ساله تحقیقات فراوانی در راستای بهبود عملکرد کمی و کیفی میوه پسته انجام می‌شود. انتخاب ژنوتیپ مناسب و سازگار با رقم، شرایط آب و هوایی و خاک منطقه، یکی از مهم‌ترین گزینه‌های بهبود عملکرد کمی و کیفی محصول می‌باشد. به‌کارگیری روش انتخاب طبیعی در میان باغات فرسوده و سنتی، اجرای روش‌های گرده‌افشانی و تلاقی‌های کنترل‌شده و همچنین روش‌های به‌نژادی، بیوتکنولوژی و اصلاح نوین از راهکارهای اصلاح ارقام و ژنوتیپ است (Sedaghati *et al*., 2009). بنابراین با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به عنوان یک محصول راهبردی و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، تحقیقات به‌منظور دستیابی به ژنوتیپ‌های هیبرید متحمل به خشکی ضروری می‌باشد. از سوی دیگر به‌نژادی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی دارای اهمیت زیادی است که لازمه این فرآیند جستجو در میان توده‌های طبیعی و گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم و به کارگیری آنها در برنامه‌های به‌نژادی است (Araus *et al*., 2000).

از اثرات اصلی تنش خشکی بر گیاهان می‌توان به پراکسیداسیون چربی‌ها اشاره کرد که خسارات جبران‌ناپذیری به ساختار و عملکرد غشاء وارد می‌کند (Fu and Huang, 2001). به همین دلیل، پایداری غشای-سلولی و تجمع مالون‌دی‌آلدئید در سلول یک شاخص عمومی برای تحمل گیاه به تنش خشکی می‌باشد (Dias *et al*., 2018). از طرفی مکانیزم تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های تحمل به خشکی در گیاهان است که به واسطه کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تجمع املاح در سلول‌های گیاه حاصل می‌شود و با حفظ فشار آماس سلول‌ها به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Blum, 2017; Omena-Garcia et al., 2019). به عبارت دیگر، اگر تنظیم اسمزی در گیاهان رخ دهد آنها قادر به زنده‌مانی برای مدت زمان طولانی‌تر خواهند بود و همچنین فرآیندهای متابولیکی را در خاک خشک ادامه خواهند داد.

پژوهش‌های انجام شده تا کنون در جهت ارزیابی تنش خشکی ارقام و ژنوتیپ‌های پسته از طریق انتخاب بذور و یا گیاه مادری مستقیم بوده و تا کنون بین بذور احمدآقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، فندقی و گرمه حاصل از گرده‌آفشانی آزاد با دانه گرده گونه اهلی و بذور حاصل از تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه اینتگریما آزمایشی به منظور حصول به ژنوتیپ متحمل به خشکی همزمان با بهبود رشد رویشی انجام نشده است. به طور کلی تلاقی‌های کنترل شده و هدفمند در راستای افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهی مطمئن و دائمی برای کاهش اثرات زیان بار تنش خشکی بر گیاهان در نظر گرفته شود. گونه پسته اهلی (*Pistacia vera* L) گونه‌ای کند رشد و دیر بازده می‌باشد. از طرفی بر اساس گزارشات اودن (Uddin *et al*., 2011) سرعت رشد گونه اینتگریما (*P.integerrima* Stewart) از تمام گونه‌های جنس پسته بیشتر می‌باشد و گاهی ارتفاع آن به بیش از ۱۸ متر گزارش شده است. گونه اینتگریما از نظر

شرایط آب و هوایی، دامنه‌های خشک با خاک‌های کم-عمق را ترجیح داده و از خاک‌های اسیدی و گرما گریزان است. این گونه در برابر باد و موریانه مقاوم و از نظر تحمل به خشکی متوسط است. گونه اینتگریما نسبت به گونه آتلانتیکا رشد بیشتری داشته و زودتر به مرحله میوه‌دهی می‌رسد. عملیات پیوندزنی روی این پایه آسان و درختان یکنواختی تولید می‌شود. این گونه به دلیل مقاومت به قارچ ورتیسیلیوم در مناطق پسته خیز آمریکا شیوع یافته است اما مقاومت کمی به آرمیلاریا و فیتوفترا دارد (Sedaghati *et al*., 2009).

بنابراین هدف از این پژوهش، ارزیابی اثر تنش خشکی بر میزان برخی اسمولیت‌های آلی و میزان تجمع مالون‌دی‌آلدهید ژنوتیپ‌های پسته حاصل از گرده‌افشانی آزاد با دانه گرده گونه اهلی و تلاقی‌های کنترل‌شده با دانه گرده گونه اینتگریما به‌منظور دستیابی به متحمل‌ترین ژنوتیپ نسبت به خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: گرده‌افشانی کنترل شده و تولید بذور هیبرید

به‌منظور تولید بذور هیبرید، تلاقی کنترل شده در شرکت کشت و صنعت انابد (آستان قدس رضوی) (شهرستان بردسکن) واقع در ۲۹۷ کیلومتری شهر مشهد در سال زراعی ۹۷- ۱۳۹۶ بر روی درختان ۱۴ ساله ارقام احمدآقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندقی انجام شد. درختان پسته مورد آزمایش جهت رشد در فضای باغ به مختصات جغرافیایی "۴۸′۰۱ °۵۷/۸۰ طول شرقی- ، "۱۴′۲۱ °۳۵/۲۳ عرض شمالی و ارتفاع ۸۷۵ متر از سطح دریا قرار داشتند. هر تکرار شامل یک درخت بود و در هر درخت هفت شاخه که حداقل دارای سه تا چهار جوانه گل بود انتخاب شد و چهار شاخه از آنها برای گرده‌افشانی کنترل شده، دو شاخه جهت گرده‌افشانی آزاد و یک شاخه به منظور کنترل منفی (جهت جلوگیری از گرده‌افشانی ناخواسته با کیسه‌های ململ) در نظر گرفته شد (شکل ۱). قبل از باز شدن کامل خوشه-های گل، شاخه‌ها با اتانول ۷۰ درصد اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. به-منظور اطمینان از گرده‌افشانی کنترل شده، در مرحله تورم جوانه، شاخه‌ها به‌وسیله کیسه‌های دو لایه ململ به ابعاد ۴۵×۳۰ سانتی‌متر ایزوله گردید. برای انتخاب والد نر اینتگریما در منطقه ارزوئیه استان کرمان از درخت شماره ۱ دانه گرده جمع‌آوری شد و تا زمان آماده شدن والدهای ماده برای دریافت گرده، گرده‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از سرنگ ترکیب آرد گندم و گرده اینتگریما (نسبت ۱:۱ در هر مرحله) به‌منظور گرده‌افشانی در چهار مرحله با غلظت‌های مختلف به درون کیسه‌های عایق تزریق شد (جدول ۱). در زمان بستن کیسه‌های عایق‌بندی، با توجه به رشد طولی جوانه انتهایی، حدودا ۱۵سانتی‌متر از فضای انتهایی کیسه خالی در نظر گرفته شد. پس از گرده‌افشانی هنگامی که میوه‌ها به اندازه دانه ارزنی رسیدند کیسه‌های گرده‌افشانی از روی شاخه‌ها برداشته و با کیسه‌های توری بزرگ تعویض شدند تا از میوه‌های تشکیل شده مراقبت-های لازم در خصوص کنترل آفات و سایر موارد صورت پذیرد. در اواخر تابستان برداشت بذرهای هیبرید انجام شد و پس از خشک نمودن، در داخل یخچال با دمای ۴ + درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

مرحله دوم: آزمون تحمل به خشکی هیبریدهای بدست آمده از مرحله اول

این پژوهش در سال زراعی ۹۸- ۱۳۹۷ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با مختصات جغرافیایی "۲۳′۳۸ °۵۴ طول شرقی، "۵۰′۳۳ °۳۶ عرض شمالی و ارتفاع ۱۶۰ متر از سطح دریا روی ۱۰ ژنوتیپ پسته احمدآقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندقی و هیبریدهای بین‌گونه‌ای (احمدآقایی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، سرخه-

حسینی × اینتگریما، گرمه × اینتگریما و فندقی × اینتگریما) انجام شد. بذور حاصل از گرده‌افشانی آزاد و کنترل شده در ۱۷ فروردین ۱۳۹۸ در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۳۳ و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر کشت شدند. بذرها قبل از کاشت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل خیس شدند و در ادامه به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد و به مدت ۳۰ دقیقه با قارچکش کاپتان ۲ در هزار به‌منظور ضدعفونی خیسانده و سپس جهت زدودن بقایای مواد شوینده از آنها با آب مقطر سه مرتبه شستشو داده شدند (Fahimi Khoyerdi *et al*., 2016). در هر یک از واحدهای آزمایشی (گلدان‌ها) سه عدد بذر کاشته شد و پس از سبز شدن و اطمینان از استقرار، تعداد گیاهان داخل گلدان به سطح نهایی یک عدد در هر گلدان کاهش یافت. هر تکرار شامل چهار واحد آزمایشی یا چهار گلدان و هر گلدان شامل یک گیاه بود. دمای متوسط روزانه گلخانه ۳۷–۲۵، دمای متوسط شبانه ۲۲–۱۸ و رطوبت نسبی ۱۲ ± ۴۵ درصد بود. پنج هفته پس از کاشت تغذیه دانهال‌ها هر ۱۲ روز یک بار به مدت ۶۵ روز با کود بیومین (446-sp) با غلظت ۲ گرم در لیتر و در مجموع ۶۰۰ گرم و استفاده از کود هیومکس ۹۵ (HUMAX 95- WSG) با غلظت ۷ گرم در لیتر و در مجموع ۲۱۰۰ گرم انجام شد. پس از رشد و مراقبت‌های لازم از گیاهان، تیمارهای خشکی برای مدت ۸۴ روز (از ۲۳ تیر تا ۱۵ مهر ۱۳۹۸) روی دانهال‌های ۱۰۰ روزه اعمال شد. اعمال تیمار خشکی به روش وزنی صورت گرفت. جهت شناسایی ترکیب خاک، در ابتدا آزمایشات مقدماتی با استفاده از محاسبات تعیین میزان آب در خاک خشک نسبت به ظرفیت مزرعه صورت پذیرفت. برای تعیین تیمارهای مقادیر آب در هر گلدان، ابتدا مقداری خاک درون آون قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت مجدد وزن شده و میزان آب در خاک مشخص گردید. سپس خاک خشک را در گلدان ریخته و به آرامی و تا حد اشباع، آب به آن اضافه شد و تا روز بعد رها گردید (Shibairo *et al*., 1998). پس از خارج شدن کامل آب ثقلی، گلدان توزین شد و پس از کسر وزن گلدان و خاک خشک، مقدار آب نگهداری شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این اساس محاسبه شدند. بر اساس محاسبات یاد شده، وزن هر گلدان برای هر سه تیمار ۱- شاهد (ظرفیت زراعی)، ۲- تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و ۳- تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) محاسبه گردید. طبق محاسبه‌های انجام شده با توجه به اینکه ظرفیت زراعی در نمونه خاک ۱۹ درصد محاسبه شد، معیار آبیاری هر گلدان، وزن روزانه آنها در ساعت ۱۰ صبح بود و آب لازم برای رسیدن به هر سطح محاسبه و در صورت کمبود، روزانه اضافه می‌شد. همچنین در این آزمایش برای تعیین وزن گیاه از گلدان‌های بدون گیاه هم استفاده شد تا برابر وزن گیاه به گلدان‌ها آب اضافه شود تا وزن گیاه در ظرفیت‌های زراعی مدنظر اختلالی ایجاد نکند. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک استفاده شده برای دانهال‌ها در جدول ۲ آورده شده است.

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

سنجش پرولین

برای استخراج و سنجش پرولین از بافت تر برگ با استفاده از معرف نین‌هیدرین، طول موج ۵۱۵ نانومتر استفاده شد. استاندارهای پرولین نیز با استفاده از ال-پرولین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ (میلی‌گرم در لیتر) تهیه و ترسیم شد. نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن‌تر گزارش گردید (Paquin and Lechasseur, 1979).

Figure 1. How to insulate (a), negative control (b), replacing tinted bags with lace bags (c) in pistachio trees in controlled pollination stage

Table 1. Flour and pollen treatments used in controlled pollination of pistachio trees.

Pollination stages	Date of pollination	The amount of integerrima flour and pollen
First stage	25 March	0.25 (g) flour + 0.25 (g) pollen of integerrima
Second stage	27 March	0.375 (g) flour + 0.375 (g) pollen of integerrima
Third stage	30 March	0.375 (g) flour + 0.375 (g) pollen of integerrima
Fourth stage	3 April	0.25 (g) flour + 0.25 (g) pollen of integerrima

Table 2. Some physical and chemical properties of soil mixture used for pistachio genotypes

Soil texture	(PH)	(EC)	Clay	Sand	Silt	$CaCo_3$	N	OM	K	P	Fe	Zn	Mn	Br	Cu
		dsm^{-1}		%					PPM						
Clay loam	7.47	0.91	40	23	37	5.53	0.07	1.4	611	19	4.73	4.03	6.45	1.7	0.66

سنجش گلایسین‌بتائین

جهت اندازه‌گیری میزان گلایسین‌بتائین به روش Arakawa *et al.* (1990) با استفاده از ۰/۵ گرم از ماده خشک گیاهی و اسید سولفوریک ۲ نرمال دی‌کلرو اتان و معرف یدید پتاسیم با استفاده از منحنی استاندارد و جذب آن در طول موج ۳۶۵ نانومتر صورت گرفت. اسید سولفوریک به‌عنوان بلانک استفاده گردید. با استفاده از گلایسین‌بتائین، استانداردهای گلایسین‌بتائین نیز در غلظت‌های صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰، ۲۰۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم در گرم تهیه و بر حسب میکرو گرم بر گرم وزن خشک اندازه‌گیری گردید.

سنجش قندهای محلول

جهت تعیین میزان کل قندهای محلول از معرف آنترون، طول موج ۶۲۵ نانومتر و رسم منحنی استاندارد استفاده شد (Irrigoyen *et al.*, 1992). با استفاده از دی‌گلوگزخالص، منحنی استاندارد رسم شد. غلظت‌های ۰، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر (ppm) تهیه گردیدند. ۱۰۰ میکرولیتر از استانداردها برداشته و همانند نمونه‌های اصلی عملیات ممکنه روی آنها انجام شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میلی گرم در گرم وزن‌تر محاسبه و گزارش گردید.

سنجش مالون‌دی‌آلدهید

غلظت پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌آلدهید با تیوباربیتوریک اسید (TBA) سنجش شد و غلظت مالون‌دی‌آلدهید به روش Zhao *et al.* (۲۰۰۹) با استفاده از فرمول ۱ در طول موج‌های۴۵۰، ۵۳۲، ۶۰۰ نانومتر بر حسب میکرومول بر گرم وزن‌تر با استفاده از فرمول ۱ اندازه گیری شد.

فرمول ۱

$$MDA\ (\mu mol\ g^{-1}FW) = 6.45\ (OD_{532}-OD_{600})\ OD_{450} - 0.56$$

OD = عدد قرائت شده در طول موج مورد نظر

سنجش مواد فنلی

اندازه‌گیری مواد فنلی با روش معرف فولین سیوکالته و استفاده از کربنات کلسیم ۵ درصد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر قرائت شد (Isfendiyaroglu and Zeker, 2002). با استفاده از اسید گالیک استانداردهای ترکیبات فنلی نیز در غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و اندازه‌گیری گردید. سپس با استفاده از رسم منحنی استاندار غلظت ترکیبات فنلی بر حسب میکروگرم بر گرم وزن‌تر برگ با استفاده از فرمول ۲ محاسبه شد.

فرمول ۲

فنل = (عدد دستگاه × ۱۰۴/۹۸۴) + ۳/۶

تجزیه و تحلیل آماری نتایج آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و با آزمون LSD انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

اثر تنش خشکی بر غلظت پرولین برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف ژنوتیپ، خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر تجمع غلظت پرولین برگ معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۱) (جدول ۳). بر اساس نتایج بیش‌ترین و کم‌ترین غلظت پرولین برگ به ترتیب مربوط به بالاترین سطح خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) و شاهد (ظرفیت زراعی) در هر ۱۰ ژنوتیپ بود به‌طوری‌که در بین دانهال‌ها، ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریما و فندقی به ترتیب با میانگین ۷۳۱/۹ و ۴۶۳/۴ میکرومول در گرم وزن‌تر از بیش‌ترین و کم‌ترین افزایش غلظت این صفت در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد برخوردار بودند. در ارتباط با غلظت پرولین برگ ژنوتیپ‌های اکبری × اینتگریما، احمدآقایی × اینتگریما، احمدآقایی، گرمه × اینتگریما، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه و فندقی × اینتگریما به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند به‌طوری‌که در سطح آخر خشکی از افزایش بیشتری از غلظت این صفت نسبت به شاهد برخوردار بودند (شکل ۲).

یک مکانیسم فیزیولوژیک عمومی اتخاذ شده توسط گیاه برای مقابله با تنش‌های غیر زنده، ساخت مقادیر زیادی از ترکیبات آلی با وزن مولکولی پایین، محلول در آب و غیر سمی حتی در مقادیر بالا به نام اسمولیت‌ها می‌باشد که یکی از مهم‌ترین آن‌ها پرولین است (Verslues and Sharma, 2010). افزایش مقاومت به خشکی با ظرفیت انباشت ترکیبات محافظ شامل آمینو اسیدها به‌ویژه پرولین در برخی گیاهان همراه است (Metwally *et al*., 2013). از طرفی افزایش پرولین تحت تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی با میزان تحمل آنها به تنش همبستگی دارد و به‌طور کلی محتوی پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس می‌باشد (Ashraf and Foolad, 2007). بنابراین ژنوتیپ‌های با میزان بیشتر پرولین می‌توانند به شرایط خشکی متحمل‌تر باشند. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط دیگر پژوهشگران مطابقت دارد (Abid *et al*., 2018; Goodarzian Ghahfarokhi *et al*., 2015). به علاوه گزارش شده است که پرولین باعث بهبود آماس سلولی، حفظ تنظیم اسمزی و محافظ از سلول در هنگام تنش خشکی می‌شود (Chegah *et al*., 2013). بنابراین در شرایط تنش خشکی، پرولین در حذف رادیکال‌های آزاد و گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن، حفظ پتانسیل اسمزی، حفاظت ماکرومولکول‌ها از تغییر طبیعی شدن (Denature) شدن و تنظیم pH سلولی نقش به‌سزایی دارد. همچنین پرولین به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل کرده و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش می‌شود (Amini *et al*., 2015).

اثر تنش خشکی بر غلظت گلایسین‌بتائین برگ

نتایج تجزیه واریانس گلایسین‌بتائین برگ نشان دهنده تأثیر معنی‌دار نوع ژنوتیپ و خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی در سطح احتمال یک درصد ($P\leq$۰/۰۱) در این صفت دارد (جدول ۳). طبق نتایج در ارتباط با غلظت گلایسین‌بتائین برگ بین تیمار خشکی در سطح ۳۰ و ۶۵ درصد ظرفیت زراعی با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری در تمامی ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. طبق نتایج ژنوتیپ هیبرید

سرخه‌حسینی × اینتگریما با افزایش ۱۳۶/۰۹درصد گلایسین‌بتائین برگ در تنش خشکی شدید نسبت به شاهد بیش‌ترین میزان افزایش را بین ژنوتیپ‌ها نشان داد و ژنوتیپ فندقی × اینتگریما با افزایش ۴۷/۸۱ درصد کم‌ترین میزان از لحاظ این صفت را در اختیار داشت. بین سایر ژنوتیپ‌ها نیز اختلاف معنی‌داری از لحاظ غلظت گلایسین‌بتائین برگ مشاهده شد به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های احمدآقایی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمدآقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریما، گرمه، فندقی و اکبری در تنش شدید خشکی نسبت به شاهد به ترتیب ۱۰۰/۵۳، ۹۰/۷۱، ۸۶/۱۹، ۷۰/۸۰، ۶۶/۰۹، ۶۰/۹۶، ۵۵/۸۹، ۵۲/۶۷ درصد افزایش نشان دادند (شکل ۳).

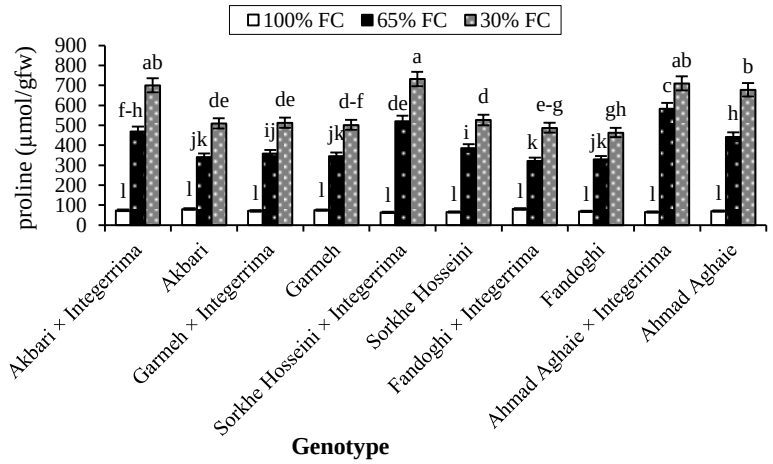

Figure 2. Interaction of genotype and drought on leaf proline concentration of pistachio seedlings

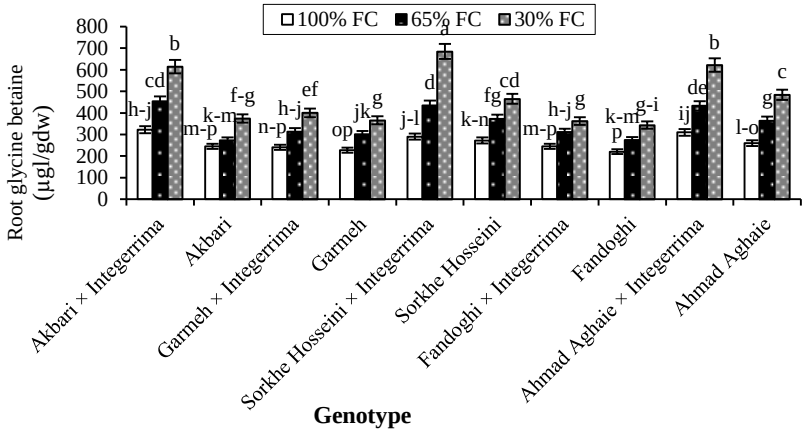

Figure 3. Interaction of genotype and drought on leaf glycine betaine concentration of pistachio

Table 3. Results of analysis of variance and significance level of mean squares of studied traits in pistachio genotypes

S.O.V	df	Average of squares				
		Proline leaves	Glycine betaine leaf	Soluble leaf carbohydrates	Malondialdehyde leaves	Leaf phenol
(A)	9	48845.09**	71000.30**	5012.36**	0.225**	9864.37**
(B)	2	2703625.22**	378474.77**	69520.07**	1.35**	۱۸۰۹۶۴/۰۸**
A×B	18	15163.56**	15406.66**	1466.82**	0.06**	1070.36**
Error	90	672.21	554.96	105.21	0.00073	136.94
C.V (%)		7.31	6.52	7.99	7.14	5

**, * and ^{ns} are significant at α=0.01, 0.05 and non-significant.

گلایسین‌بتائین معمول‌ترین محلول آلی سازگار کننده است که در گیاهان آلی، حیوانات و میکروارگانیسم‌های مختلف وجود دارد و بیش‌ترین و فراوان‌ترین ترکیب در پاسخ به تنش‌های اسمزی در گیاهان گزارش شده است (Yang and Lu, 2005). گلایسین‌بتائین به‌عنوان یک اسمولیت، در پایداری عملکرد آنزیم‌ها و ساختار غشاءهای پلاسمایی در هنگام مواجهه با تنش‌های خشکی نقش حفاظتی به‌سزایی دارد (Ashraf and Foolad, 2007). بنابراین گلایسین بتائین به‌واسطه حفاظت از آنزیم‌ها، دستگاه فتوسنتزی، دفع رادیکال‌های آزاد، حفظ یکپارچگی غشاء، حفاظت از بزرگ مولکول‌ها و به عنوان یک اسمولیت سازگار غیر سمی نقش به‌سزایی در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی دارد (Giri, 2011). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تفاوت‌هایی از نظر میزان گلایسین‌بتائین در گیاهان وجود دارد که ممکن است به دلیل متفاوت بودن درجه تحمل این دانهال‌ها در برابر تنش خشکی باشد.

اثر تنش خشکی بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول کل برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارهای مختلف ژنوتیپ، خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر تجمع غلظت کربوهیدرات‌های محلول کل برگ معنی‌دار بود (P≤۰/۰۱) (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین همگام با افزایش شدت خشکی تجمع غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها در تنش شدید نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها افزایش نشان داد. بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی (شکل ۴) نشان داد که ژنوتیپ‌های احمدآقایی × اینتگریما و فندقی به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین غلظت کربوهیدارات‌های محلول برگ را در تمامی سطوح تنش در بین ژنوتیپ‌ها دارند. در ضمن ژنوتیپ‌های پسته اکبری × اینتگریما، سرخه‌حسینی × اینتگریما، سرخه-حسینی، احمدآقایی، گرمه × اینتگریما، اکبری، گرمه و فندقی × اینتگریما در تنش شدید نسبت به شاهد به ترتیب ۱۵۲/۳۵، ۱۳۶/۴۴، ۱۱۴/۴۱، ۹۳/۰۷، ۷۹/۹۸، ۷۶/۰۰، ۵۳/۱۱، ۵۶/۱۵ درصد افزایش غلظت کربوهیدرات محلول برگ را نشان دادند. به وضوح مشخص شده است که افزایش کربوهیدرات‌های محلول یکی از مکانیسم‌های سازگاری در مقابله با تنش خشکی است (Gupta *et al.*, 2018). همچنین کربوهیدرات‌ها پایداری غشاء را در پاسخ به تنش‌های خشکی افزایش می‌دهند (Lei *et al.*, 2014) و همچنین پیشنهاد شده است که در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو نیز مؤثر می-باشند (Keunen *et al.*, 2013). بنابراین تجمع کربوهیدرات در پاسخ‌های اسمزی گیاهان از عواملی است که قادر به جلوگیری از اختلالات در غشای سلولی می‌باشد.

اثر تنش خشکی بر غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ ژنوتیپ‌های پسته تحت تأثیر ژنوتیپ، تنش خشکی و بر همکنش ژنوتیپ و خشکی

در سطح یک درصد معنی‌دار شد (P≤۰/۰۱) (جدول ۴). در بین سطوح تنش، غلظت مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخصی از پراکسیداسیون چربی‌ها، در بین ژنوتیپ‌ها افزایش نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در تیمار شاهد (ظرفیت زراعی) در هر ۱۰ ژنوتیپ کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ تولید شد و با افزایش سطوح تنش خشکی غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ افزایش یافت به‌طوری‌که بیش‌ترین غلظت مالون-دی‌آلدهید برگ با میانگین ۰/۹۶۲ میکرومول بر گرم وزن‌تر مربوط به سطح خشکی ۳۰ درصد ظرفیت زراعی در ژنوتیپ فندقی مشاهده شد. در این سطح از تنش خشکی کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ (۰/۲۷۴ میکرومول بر گرم وزن تر) مربوط به ژنوتیپ هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما بود که از لحاظ آماری با سایر ژنوتیپ‌ها از اختلاف معنی‌داری برخوردار بود. در ضمن ژنوتیپ‌های پسته احمدآقایی × اینتگریما، اکبری × اینتگریما، احمدآقایی، سرخه‌حسینی، گرمه × اینتگریما، گرمه، اکبری و فندقی × اینتگریما از لحاظ افزایش کمتر غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ در رده‌های بعدی قرار گرفتند به‌طوری‌که در تنش شدید خشکی از افزایش کمتری از غلظت مالون‌دی‌آلدهید برگ نسبت به شاهد برخوردار بودند (شکل ۵). در شرایط تنش خشکی، الکترون‌های حاصل از تجزیه آب (واکنش هیل) که از فتوسیستم II به فتوسیستم I منتقل می‌گردند از مسیر متابولیک مخصوص خود خارج گشته و ضمن واکنش با مولکول اکسیژن، رادیکال‌های آزاد را ایجاد می‌نمایند. سوپراکسید (O_2) و هیدروکسیل (OH) رادیکال‌های آزادی می‌باشند که در نتیجه چنین واکنش‌هایی به وجود می‌آیند (Khan and Panda, 2002). زمانی که در گیاهان مهار رادیکال‌های آزاد مسیر نباشد پراکسیداسیون لیپیدها و چربی‌های غشاء افزایش پیدا کرده و در نتیجه برخی تغییرات فیزیولوژیکی در فرآیندهای سلولی اتفاق افتاده و ترکیباتی مانند مالون‌دی‌آلدهید و غیره تولید می-گردند. مالون‌دی‌آلدهید فرآورده تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع و هیدرواکسیدها است (Mayne, 2013) و به‌عنوان یک نشانگر مناسب برای پراکسید لیپیدی استفاده می‌گردد. بنابراین میزان مالون‌دی‌آلدهید به دست آمده از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، در بیشتر موارد به-عنوان یک شاخص برای آسیب اکسیداتیو استفاده می-شود (Antoniou *et al.*, 2017).

اثر تنش خشکی بر غلظت فنل برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای اصلی و متقابل در مورد صفت فنل برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار (P≤۰/۰۱) شد (جدول ۴). بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی (شکل ۶) نشان داد که با افزایش سطوح خشکی غلظت فنل برگ در همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی از یک روند افزایشی برخوردار بود. در گیاهان شاهد غلظت فنل برگ کم‌ترین میزان بود درحالی‌که در سطح آخر خشکی بیش‌ترین غلظت فنل برگ نسبت به شاهد مشاهده شد به‌طوری‌که در تنش شدید ژنوتیپ هیبرید احمدآقایی × اینتگریما با میانگین ۳۷۸/۱ میکروگرم بر گرم وزن‌تر و ژنوتیپ فندقی با میانگین ۲۳۷ میکروگرم بر گرم وزن‌تر به ترتیب بیش-ترین و کم‌ترین غلظت فنل برگ را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. برای این صفت در تنش شدید، ژنوتیپ هیبرید احمدآقایی × اینتگریما و فندقی با میانگین ۱۰۰/۴۵ و ۵۷/۹۳ درصد به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان افزایش غلظت فنل برگ را نسبت به تیمار شاهد در بین سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. در ضمن ژنوتیپ‌های پسته اکبری × اینتگریما، سرخه‌حسینی × اینتگریما، سرخه‌حسینی، احمدآقایی، گرمه × اینتگریما، اکبری، گرمه و فندقی × اینتگریما از لحاظ افزایش غلظت این صفت نسبت به شاهد در رده‌های بعدی قرار گرفتند (شکل ۶). یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های دفاعی گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی افزایش تولید چندین متابولیت ثانویه مثل فنل‌ها، مولکول‌هایی با وزن مولکولی پایین است. احتمالاً افزایش تجمع غلظت فنل‌ها به دلیل فعالیت مسیر استات و مسیر هگزوز مونوفسفات و نقش

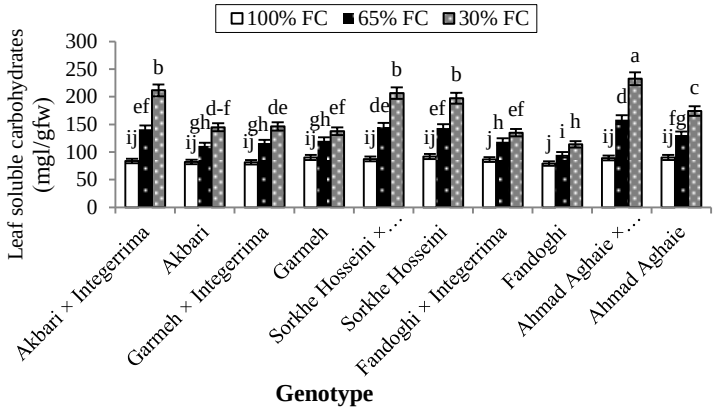

Figure 4. Interaction of genotype and drought on leaf soluble carbohydrates concentration of pistachio seedlings

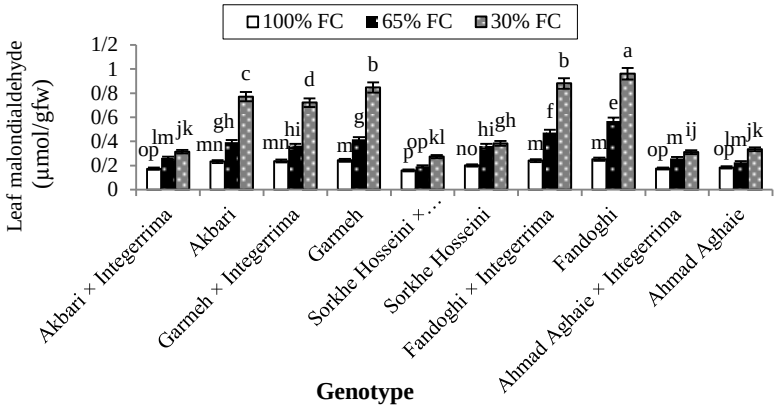

Figure 5. Interaction of genotype and drought on leaf malondialdehyde concentration of pistachio seedlings

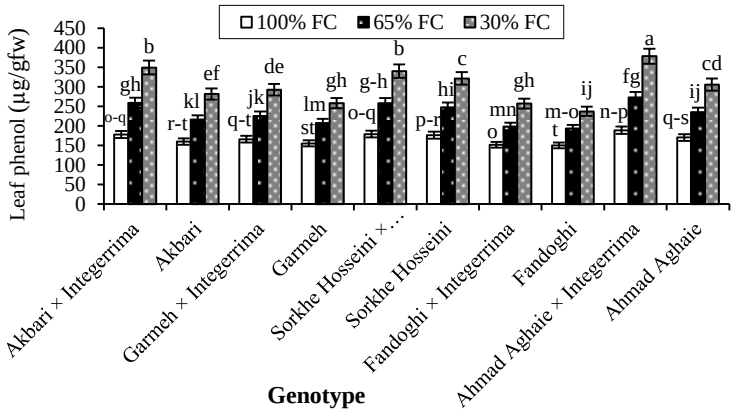

Figure 6. Interaction of genotype and drought on leaf phenol concentration of pistachio seedlings

آنزیم‌های هیدرولیز کننده در رها شدن فنل‌ها می‌باشد (Shehab *et al.*, 2010). پژوهش‌های Sakihamaet al. (۲۰۰۲) نشان داده است که ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های نوع پراکسیداز و سم‌زدایی گونه-های واکنش‌گر اکسیژن تولید شده می‌توانند به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در سلول عمل نمایند. پس گیاهان برای دفع رادیکال‌های آزاد علاوه بر به کارگیری سیستم آنزیمی از سیستم غیرآنزیمی مانند ترکیبات فنلی و کاروتنوئیدی نیز استفاده می‌کنند (Smirnoff, 2008). لذا در شرایط تنش خشکی یکی از مکانیسم‌های آنتی-اکسیدانی گیاهان افزایش سطوح ترکیبات فنلی می‌باشد، چرا که این گونه ترکیبات به‌عنوان پاک کننده‌های گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن عمل نموده و در نتیجه باعث ثبات غشاهای سلولی و مانع پراکسیداسیون لیپید می‌گردند (Chang *et al.*, 2002). بنابراین نتایج آزمایش ما در این پژوهش نشان داد که با افزایش سطوح خشکی غلظت ترکیبات فنلی برگ دانهال‌های پسته مورد استفاده در این آزمایش افزایش یافت و بین ژنوتیپ‌ها نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید و بیش‌ترین غلظت ترکیبات فنلی مربوط به ژنوتیپ‌های هیبرید احمدآقایی × اینتگریما ، اکبری × اینتگریما و سرخه‌حسینی × اینتگریما در سطح خشکی شدید مشاهده شد. از طرفی کم‌ترین غلظت ترکیبات فنلی مربوط به ژنوتیپ فندقی در بین ژنوتیپ‌ها بود.

نتیجه‌گیری

مکانیسم‌های متعدد اسمزی به‌وسیله گیاهان به‌ویژه پسته در شرایط تنشی برای کاهش اثرات تنش خشکی صورت می‌گیرد. در واقع این مکانیسم‌ها گیاهان را قادر به تحمل در برابر آسیب‌های ناشی از خشکسالی کرده و باعث شده گیاهان بتوانند بعد از رفع عامل تنش‌زا، عملکردهای بیوشیمایی و فیزیولوژیکی خود را سریع‌تر بازیابی کنند. البته میزان بازگشت به حالت قبل از وقوع تنش به نوع ژنوتیپ و شدت و مدت تنش نیز بستگی دارد. نتایج کلی به دست آمده در این پژوهش نشان داد که ژنوتیپ‌های حساس به خشکی به‌ویژه ژنوتیپ فندقی به دلیل کاهش غلظت اسمولیت‌های آلی مانند پرولین، گلایسین‌بتائین، کربوهیدارات‌های محلول کل، فنل و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدهید از توانایی کم‌تری در مقابله با سطوح خشکی برخوردار بودند. از طرفی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی به‌ویژه ژنوتیپ هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما به دلیل این که قابلیت بیش‌تری در تجمع اسمولیت‌های آلی مانند پرولین، گلایسین-بتائین، کربوهیدرات و فنل در مواجهه با خشکی داشتند، بنابراین در حفظ یکپارچگی غشاءهای پلاسمایی از توانایی بیش‌تری برخوردار بودند. به عنوان یک نتیجه-گیری کلی، به نظر می‌رسد بتوان از ژنوتیپ‌های هیبرید سرخه‌حسینی × اینتگریما، هیبرید احمدآقایی × اینتگریما و هیبرید اکبری × اینتگریما به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در مناطق خشک استفاده کرد. البته لازم است در آینده مقاومت ژنوتیپ‌های مذکور در مزرعه نیز مورد بررسی قرار گرفته و پیوند ارقام مختلف روی این ژنوتیپ‌ها انجام و رفتار پیوندک نسبت به سطوح مختلف خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از همکاری بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به‌ویژه آقای دکتر مجید عزیزی ارانی جهت در اختیار قرار دادن فضا و امکانات آزمایشگاهی برای انجام این پژوهش تشکر و قدر دانی می‌گردد.

References

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.), *Journal of Scientific Reports*. 8 (1), 1–15.

Amini, S., Ghobadi, C., & Yamchi, A. (2015). Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants, *Journal of Plant Molecular Breeding*. 3(2), 44-55. [In Persian].

Antoniou, C., Chatzimichail, G., Xenofontos, R., Pavlou, J., Panagiotou, E., Christou, A., & Fotopoulos, V. (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism, *Journal of Pineal Research*. 62 (4), e12401.

Arakawa, K., Katayama, M., & Takabe, T. (1990). Levels of betaine and betaine aldehyde dehydrogenase activity in the green leaves, and etiolated leaves and roots of barley, *Journal of Plant and Cell Physiology*. 31 (6), 797–803.

Araus, J. L., Casadesus, J., Bort, J., Nachit, M. M., Villegas, D., Aparicio, N., & Royo, C. (2000). Some remarks on ecophysiological traits for breeding, *Journal of Ciheam -Options Mediterranneenes*. 40, 57-62.

Ashraf, M. V., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Journal of Environmental & Experimental Botany*. 59, 206–216.

Barrs, H. D., & Weaterley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity techniques for the estimating water deficit in leaves, *Australian Journal of Biological Sciences*. 15, 413-428.

Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production, *Journal of Plant Cell and Environment*. 40 (1), 4–10.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, *Journal of Food & Drug Analysis*. 10, 178-182.

Chegah, S., Chehrazi, M., & Albaji, M. (2013). Effects of drought stress on growth and development frankinia plant (*Frankinia leavis*). Bulgar, *Journal of Agricultural Science*. 19, 659–665.

Dias, M. C., Correia, S., Serodio, J., Silva, S., Freitas, H., & Santos, C. (2018). Chlorophyll fluorescence and oxidative stress endpoints to discriminate olive cultivars tolerance to drought & heat episodes, *Journal of Horticultural Science*. 231, 31–35.

Fahimi Khoyerdi, F., Shamshiri, M. H., & Estaji, A. (2016). Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress, *Journal of Scientia Horticulturae*. 198, 44- 51.

Fattahi, M., Mohammadkhani, A., Shiran, B., Baninasab, B., & Ravash, R. (2022). Investigation of phosphorus use efficiency and drought and salinity stress resistance index in pistachio rootctocks coexisted with mycorrhiza, *Journal of Plant Productions*. 44(4), 587-600. [In Persian].

Fu, J., & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress, *Journal of Environmental & Experimental Botany*. 45 (2), 105–114.

Giri, J. (2011). Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants, *Journal of Plant Signal & Behavior*. 6, 1746-1751.

Goodarzian Ghahfarokhi, M., Mansurifar, S., Taghizadeh-Mehrjardi, R., Saeidi, M., Jamshidi, A. M., & Ghasemi, E. (2015). Effects of drought stress and rewatering on an tioxidant systems & relative water content in different growth stages of maize *(Zea mays* L.) hybrids, *Journal of Archives of Agronomy and Soil Science*. 61 (4), 493–506. [In Persian].

Gupta, S. D., Singh, M. A., Singh, P., & Kewat, R. N. (2018). Effect of drought stress on carbohydrate content in drought tolerant & susceptible chickpea genotypes, *International Journal of Chemistry Studies*. 6 (2), 1674–1676.

Irrigoyen, J. H., Emerich, D. W., & Sanchez Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants, *Journal of Plant Physiology*. 84, 55-66.

Isfendiyaroglu, M., & Zeker, E. (2002). The relation between phenolic compound and seed dormancy in pistachios and almond, *Journal of Chieres Optins Mediterrsneenes*. 232-277.

Keunen, E., Peshev, D., Vangronseld, J., Van Den Ende, W., & Cuypers, A. (2013). Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept, *Journal of Plant Cell and Physiology*. 36, 1242–1255.

Khan, M., & Panda, S. (2002). Induction of oxidative stress in roots of *Oryza sativa* L. in response to salt stress, *Journal of Biologia Plantarum*. 45, 625-627.

Lei, S., Zeng, B., Yuan, Z., & Su, X. (2014). Changes in carbohydrate content and membrane stability of two ecotypes of *Calamagrostis arundinacea* growing at different elevations in the drawdown zone of the three Gorges Reservoir, *Journal of Plos One*. 9 (3), 1–6.

Mayne, S. T. (2013). Oxidative stress, dietary antioxidant supplements, and health: Is the Glass Half Full or Half Empty? *Journal of Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 22, 2145-2147.

Metwally, A. S., Khalid, A. K., & Abou-Leila, B. H. (2013). Effect of water regime on the growth, flower yield, essential oil and proline contents of *Calendula officinalis*, *Journal of Science and Technology*. 5, 65–69.

Omena-Garcia, R. P., Martins, A. O., Medeiros, D. B., Vallarino, J. G., Ribeiro, D. M., Fernie, A. R. L., Araujo, W., & Nunes-Nesi, A. (2019). Growth and metabolic adjustments in response to gibberellin deficiency in drought stressed tomato plants, *Journal of Environmental & Experimental Botany*. 159, 95–107.

Paquin, R., & Lechasseur, P. (1979). Observation ssurune methode de dosage dela proline libre dans les extraits de plantes, *Canadian Journal of Botany*. 57, 1851-1854.

Shamili, M., Fattahi Moghaddam, M. R., & Talaei, A. R. (2013). Investigating the effect of pollen grains on fruit formation and its quality in mango (*Mangifera indica*). *Journal of Plant Productions*, 36(2), 1-12. [In Persian].

Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., & Yamasaki, H. (2002). Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants, *Journal of Tixicology*. 177, 67-80.

Sedaghati, N., Sheibani Tazarji, Z., Tajabadi, A., Hokmabadi, H., Haq Del, M., & Abdollahi Ezzatabadi, M. (2009). Guide to pistachio production (planting, holding and harvesting). Second Edition, *Agricultural Education and Extension Publications, Tehran*. 563 p. [In Persian].

Shehab, G. G., Ahmad, O. K., & EL- Beltagi, H. S. (2010). Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants, *Journal of Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 38(1), 130-148.

Shibairo, S. I., Upadhyaya, M. K., & Toivonen, P. M. A. (1998). Influence of preharvest water stress on postharvest moisture loss of carrot (*Daucus carota* L.), *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 73, 347- 352.

Smirnoff, N. (2008). Antioxidants and reactive oxygen species in plants, *Journal of Plant Biochemistry*. 1-320.

Verslues, P. E., & Sharma, S. (2010). Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction, *The Arabidopsis Book*. 8, 1-23.

Yang, X., & Lu, C. (2005). Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt- stressed maize plants, *Journal of Physiologia Plantarum*. 124, 343-352.

Zhao, D. Y., Shen, L., Fan, B., Liu, K. L., Yu, M. M., Zheng, Y., Ding, Y., & Sheng, J. P. (2009). Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling toleranceat cold storage, *Journal of Food Science*. 74, 348–352.

Uddin, G., Rauf, A., Rehman, T., & Qaisar, M. (2011). "Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. integerrima", *Middle-East Journal of Scientific Research*. 5, 707-711.