

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانه‌های پسته گونه اهلی در تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه اینتگریمما به منظور دسترسی به ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی

حسن فرهادی^۱ - محمد مهدی شریفانی^{۲*} - مهدی علیزاده^۳ - حسین حکم آبادی^۴ - ساسان علی نیائی فرد^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰

چکیده

پسته یکی از مهمترین محصولات باغی ایران است که بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک کشت می‌شود. به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی صفات رویشی و فیزیولوژیکی دانه‌های پسته و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه، فندق و (دورگ‌های بین اینتگریمما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ‌های احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندق به عنوان والد مادری) و سه سطح خشکی شامل شاهد (ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند که ۸۴ روز روی دانه‌های سه ماهه پسته اعمال شدند. نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که تنش خشکی اثر معنی‌داری بر تعداد برگ، طول ساقه، طول ریشه، محتوی نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، پرولین برگ و ریشه داشت. با افزایش سطوح خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین در گیاهان مورد مطالعه نسبت به شاهد کاهش یافت. در بین دانه‌ها، در اکثر صفات به ترتیب ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما کمتر و ژنوتیپ‌های فندق و فندق × اینتگریمما بیشتر تحت تأثیر خشکی قرار گرفتند. بر اساس نتایج پژوهش حاضر به نظر می‌رسد بتوان از دورگه‌های پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما به عنوان ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح ارقام در مناطق خشک استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت

مقدمه

نیز به عنوان یکی از بحرانی‌ترین کشورهای درگیر کمبود آب در آینده نام برده شده است (۳). بنابراین با توجه به گسترش روزافزون کم‌آبی و نیز پایین رفتن سطح آب زیرزمینی و کمبود بارش به ویژه در مناطق اصلی پسته کاری ایران، لزوم توجه به مسئله کم‌آبی و خسارت‌های فیزیولوژیکی ناشی از آن بیش از پیش بارزتر و مهم‌تر به نظر می‌رسد. تنش خشکی یکی از عمده‌ترین مشکلات محدود کننده رشد و عملکرد گیاهی بوده و زمانی رخ می‌دهد که میزان تعرق بیشتر از میزان جذب آب باشد. در این شرایط، تنش خشکی کلیه فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و باعث کاهش رشد، عملکرد و کیفیت محصول و بالاخره در تداوم تنش مرگ گیاه را به دنبال دارد (۳۸).

کشاورزی ایران با محصول پسته (*Pistacia vera* L.) در جهان شناخته شده و این محصول، جزو مهمترین بخش صادرات غیر نفتی می‌باشد. متوسط صادرات سالانه پسته کشور بالغ بر ۱۰۰ هزار تن

ایران با قرار گرفتن بین عرض‌های جغرافیایی ۲۵ تا ۳۷ درجه از خط استوا در نیمکره شمالی قرار گرفته است و جزو مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود (۲۴). طبق یافته‌های سازمان ملل متحد در آینده‌ای نه چندان دور ۳۱ کشور جهان با بحران خشکسالی مواجه خواهند شد به طوری که تا سال ۲۰۳۰ به دلیل تغییرات جوی، ۱/۲ میلیارد نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و از ایران

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*) نویسنده مسئول: Email: mmsharif2@gmail.com

۴- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شاهرود)، ایستگاه تحقیقات پسته دامغان

۵- استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

خاک‌های کم عمق را ترجیح می‌دهد و از نظر تحمل به خشکی متوسط است. در پژوهشی که اخیراً توسط ماریانا و همکاران (۲۶) در اسپانیا انجام شد تأثیر تنش خشکی بر پیوندک دو ساله رقم کرمان روی سه پایه تربیتوس، آتلانتیکا و یو سی بی-۱ که حاصل تلاقی بین گونه‌ای اینتگریمما (به عنوان والد پدری) و آتلانتیکا (به عنوان والد مادری) است مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ایشان نشان داد که بیشترین میزان رشد رویشی رقم کرمان در شرایط خشکی روی پایه یو سی بی-۱ بود. در پژوهشی دیگر گبجون و همکاران (۱۶) نشان دادند که گونه تربیتوس و دورگه حاصل از تلاقی آتلانتیکا × اهلی به طور چشم‌گیری حساسیت روزنه‌ای و قدرت زنده‌مانی در شرایط تنش خشکی را در پیوندک رقم کرمان بهبود بخشیدند و این در حالی بود که گونه آتلانتیکا با بیشترین کاهش سطح برگ، رشد و قدرت زنده مانی به عنوان حساس‌ترین پایه در این بین شناسایی گردید.

تحقیقات صورت گرفته تاکنون در راستای بررسی تنش خشکی دانه‌ها و ژنوتیپ‌های پسته از طریق انتخاب بذور و یا گیاه مادری مستقیم بوده و تاکنون بین بذور حاصل از تلاقی‌های کنترل شده بوسيله دانه گرده گونه اینتگریمما با گونه اهلی پژوهشی به منظور گزینش ژنوتیپ متحمل به خشکی همزمان با بهبود رشد رویشی صورت نگرفته است. به طور کلی تلاقی‌های هدفمند در جهت افزایش میزان مقاومت، می‌تواند راهی مطمئن و دائمی برای به حداقل رساندن اثرات زیان‌بار تنش خشکی بر گیاهان به شمار رود. گونه ورا (*Pistacia vera* L.) که عمده‌ترین پایه مورد استفاده در کشور است گونه‌ای کند رشد و دیر بازده می‌باشد. در عوض پسته گونه اینتگریمما (*P. integerrima* S.) یکی از گونه‌های پر رشد، مقاوم به ورتیسیلیوم و بسیاری از خصوصیات خوب دیگر است.

بنابراین هدف از این پژوهش، مقایسه تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های مختلف پسته حاصل از گرده‌افشانی آزاد با دانه گرده گونه‌های ورا و تلاقی‌های کنترل شده با استفاده از دانه گرده اینتگریمما به منظور یافتن متحمل‌ترین ژنوتیپ نسبت به خشکی با بررسی برخی صفات رویشی و فیزیولوژیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مرحله اول: گرده‌افشانی کنترل شده و تولید بذور دورگه

به منظور تولید بذور دورگه، تلاقی کنترل شده در مؤسسه تحقیقات پسته استان قدس رضوی (شهرستان بردسکن - شهر انابد) واقع در ۲۹۷ کیلومتری شهر مشهد در سال باغی ۹۷-۱۳۹۶ بر روی درختان ۱۴ ساله ارقام احمد آقایی، اکبری، سرخه‌حسینی، گرمه و فندق انجام شد. درختان پسته مورد آزمایش در فضای باغ به

گزارش شده است که درآمدی در حدود ۱۰۰ میلیارد دلار برای کشور به دنبال دارد (۲۷). به همین منظور تلاش برای بهبود وضعیت عملکرد می‌تواند از اهداف اولیه در صنعت تولید پسته کشور باشد؛ با توجه به مشکل کم آبی در ایران افزایش سطح زیر کشت به منظور افزایش تولید نمی‌تواند گزینه مناسبی باشد. سالانه تحقیقات زیادی به منظور بهبود عملکرد کمی و کیفی میوه پسته صورت می‌گیرد. یکی از گزینه‌های بهبود عملکرد کمی و کیفی محصول، انتخاب ژنوتیپ مناسب و سازگار با رقم، شرایط آب و هوایی و خاک منطقه است. انتخاب طبیعی در بین باغات قدیمی و سنتی، انجام گرده‌افشانی و تلاقی‌های کنترل شده و روش‌های به نژادی، زیست فناوری و اصلاح نوین از راه‌های اصلاح ارقام و ژنوتیپ است (۳۳). انتخاب ارقام مقاوم یکی از ساده‌ترین راه‌های ممکن و پیش رو می‌باشد که در همین راستا می‌توان بین ژنوتیپ‌ها و ارقام مدنظر تلاقی‌هایی انجام داد. با توجه به اهمیت محصول پسته در کشور به عنوان یک محصول استراتژیک و همچنین قرار گرفتن ایران در شرایط خشک و نیمه خشک، تحقیقات به منظور یافتن ژنوتیپ‌های دورگه متحمل به خشکی ضروری می‌باشد. بنابراین به نژادی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی دارای اهمیت است. لازمه این فرآیند جستجو بین توده‌های طبیعی و گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم و استفاده از آنها در برنامه‌های به نژادی می‌باشد (۷).

در پژوهشی باقری (۱۰) روی دو رقم پسته بادامی و قزوینی با چهار سطح خشکی (۱۰۰، ۷۵، ۵۰، ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) نشان داد که در بین دو رقم، رقم بادامی ریز نسبت به رقم قزوینی از رشد بهتری در شرایط خشکی برخوردار بوده و ماده خشک بالاتری تولید نموده است. همچنین رقم بادامی ریز با توجه به تولید ماده خشک بیشتر، حفظ میزان کلروفیل و محتوی نسبی آب برگ بالاتر نسبت به رقم قزوینی در شرایط تنش خشکی مقاوم‌تر است. در پژوهشی مشابه قاسمی (۱۴) اثر تنش خشکی را روی چهار رقم پسته مورد بررسی قرار داد و گزارش کرد که ارقام بادامی و بنه که به عنوان ارقام مقاوم به تنش خشکی شناخته شدند، دارای محتوی نسبی آب برگ بالاتری نسبت به ارقام حساس به خشکی قزوینی و سرخس می‌باشند. بر اساس یافته‌های تایز و زایگر (۳۵) گیاهانی که بتوانند در شرایط تنش میزان کلروفیل خود را در سطح بالایی حفظ کنند از کارایی فتوسنتزی بالاتری برخوردار خواهند بود و دلیل این مسئله این است که کلروفیل رنگیزه اصلی جذب کننده نور می‌باشد و حضور آن برای راه اندازی فرآیندهای فتوشیمیایی ضروری است. بن حامد و همکاران (۱۲) نیز در پژوهشی سطوح مختلف تنش خشکی را بر روی بذور ژنوتیپ‌های آتلانتیکا، ورا و دانه‌های حاصل از بذور تلاقی بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا اعمال نمودند و مشاهده کردند که بذور دورگه میزان مقاومت بیشتری نسبت به بذور آتلانتیکا و ورا داشتند. بر اساس گزارشات آدن (۳۶) گونه اینتگریمما از نظر شرایط آب و هوایی دامنه‌های خشک با

گندم و گرده اینتگریمما (نسبت ۱:۱ در هر مرحله) در چهار مرحله با غلظت‌های مختلف به داخل کیسه‌های عایق تزریق و عمل گرده افشانی صورت گرفت (جدول ۱). این اقدام برای هر خوشه چهار مرتبه تکرار گردید. در زمان بستن کیسه‌های عایق بندی، با توجه به رشد طولی جوانه انتهایی، حدوداً ۱۵ سانتی‌متر از فضای انتهایی کیسه خالی در نظر گرفته شد. پس از گرده‌افشانی هنگامی که کلاله گل‌ها، قهوه‌ای رنگ شد و میوه‌ها به صورت دانه ارزنی رسیدند کیسه‌های ململ از روی شاخه‌ها برداشته و با کیسه‌های توری بزرگ تعویض شدند تا از میوه‌های تشکیل شده مراقبت‌های لازم در خصوص کنترل آفات و سایر موارد صورت پذیرد. در اواخر تابستان برداشت بذرها دورگه انجام شد و پس از خشک نمودن، در داخل یخچال با دمای ۴ + درجه سانتی‌گراد جهت مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

مختصات جغرافیایی طول ۵۷/۸۰، عرض ۳۵/۲۴ و ارتفاع ۸۷۵/۰۰ متر از سطح دریا قرار داشتند. هر تکرار یک درخت داشت و از هر درخت هفت شاخه که حداقل دارای سه تا چهار جوانه گل می‌باشد، انتخاب شد و چهار شاخه از آن‌ها برای گرده‌افشانی کنترل شده، دو شاخه جهت گرده افشانی آزاد و یک شاخه به منظور کنترل منفی در نظر گرفته شد (شکل ۱). قبل از باز شدن کامل خوشه‌های گل، روی شاخه‌ها با الکل ۷۰ درصد اسپری شد تا از احتمال وجود گرده‌های ناخواسته جلوگیری گردد. به منظور اطمینان از گرده‌افشانی کنترل شده، در مرحله تورم جوانه، شاخه‌ها به وسیله کیسه‌های دو لایه ململ به ابعاد ۳۰×۴۵ سانتی‌متر ایزوله گردید. برای انتخاب والد نر اینتگریمما در منطقه ارزوئیه استان کرمان از درخت شماره ۱ دانه گرده جمع‌آوری شد و تا زمان آماده بودن والد‌های ماده، گرده‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از سرنگ ترکیب آرد

جدول ۱- تیمارهای آرد و گرده مورد استفاده در گرده‌افشانی کنترل شده درختان پسته

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

مراحل گرده‌افشانی Pollination steps	تاریخ گرده‌افشانی Pollination date	میزان آرد و گرده اینتگریمما Integerrima flour and pollen levels
مرحله اول First stage	۵ فروردین ماه 25 March	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۲۵ گرم) 0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)
مرحله دوم Second stage	۷ فروردین ماه 27 March	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۳۷۵ گرم) 0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله سوم Third stage	۱۰ فروردین ماه 30 March	۰/۷۵ سی‌سی آرد (۰/۳۷۵ گرم) + ۰/۷۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۳۷۵ گرم) 0.75 cc flour (0.375 g) + 0.75 cc integerrima pollen (0.375 g)
مرحله چهارم Fourth stage	۱۴ فروردین ماه 3 April	۰/۵ سی‌سی آرد (۰/۲۵ گرم) + ۰/۵ سی‌سی گرده اینتگریمما (۰/۲۵ گرم) 0.5 cc flour (0.25 g) + 0.5 cc integerrima pollen (0.25 g)



شکل ۱- نحوه عایق‌سازی (a)، کنترل منفی (b) و تعویض کیسه‌های ململ با کیسه‌های توری (c) در شاخه‌های پسته

Figure 1- Insulation (a), negative control (b) and replacement of jaconet bags to lace bags (c) in the pistachio branches.

طبیعی گرگان روی ۱۰ ژنوتیپ پسته احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه، فندق و (دورگه‌های بین اینتگریمما به عنوان والد پدری و ژنوتیپ‌های احمد آقایی، اکبری، سرخه حسینی، گرمه و فندق به عنوان والد مادری) 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

مرحله دوم: آزمون مقاومت به خشکی دورگه‌های بدست آمده از مرحله اول

این پژوهش در سال باغی ۹۸-۱۳۹۷ به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

و ریشه و بخش هوایی با استفاده از یک تیغ از محل طوقه از هم جدا شدند. در نهایت طول ریشه و ساقه گیاهان در این آزمایش با استفاده از متر نواری اندازه‌گیری شد.

جهت اندازه‌گیری محتوی نسبی آب برگ از روش بارس و ویتزلی (۱۱) که شامل اندازه‌گیری وزن تر (FW)، وزن آماس (TW) و سپس وزن خشک (DW) و قرار دادن آن‌ها در رابطه زیر است، استفاده گردید. ابتدا سه برگ کاملاً پهن و گسترده را از نمونه‌ها جدا نموده و بلافاصله وزن تر اندازه‌گیری شد. سپس این برگ‌ها برای اندازه‌گیری وزن آماس، به مدت ۱۲ ساعت در حالت کاملاً غوطه‌ور در آب مقطر قرار گرفته و دوباره توزین شدند. در نهایت برای به دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد آون قرار داده شدند. اندازه‌گیری‌ها در هر تکرار و هر تیمار روی سه گیاه انجام و متوسط آنها ثبت گردید.

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100$$

برای بررسی میزان نشت الکترولیت و میزان آسیب به غشاء در اثر تنش خشکی، در پایان آزمایش اقدام به تهیه نمونه‌های برگ‌های گیاهان مورد بررسی شد. پس از پنج بار شستوی برگ‌ها با آب دو بار تقطیر، ۴ دیسک ۶ میلی‌متر مربعی از برگ‌های تازه تهیه شده و به لوله‌های پروپیلنی دارای ۱۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر انتقال داده شد. لوله‌های دارای نمونه برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با EC متر اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی اولیه). بعد از اندازه‌گیری هدایت الکتریکی اولیه، نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و با فشار ۱۵ اتمسفر اتوکلاو شدند تا تمام محتویات سلول خارج شد. سپس دوباره میزان هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد (هدایت الکتریکی ثانویه) و درصد نشت‌یونی از رابطه زیر محاسبه گردید (۲۲).

$$= \frac{\text{هدایت الکتریکی اولیه}}{\text{هدایت الکتریکی ثانویه}} \times 100$$

درصد نشت یونی

اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌های a، b و کل در پایان دوره تنش صورت گرفت. در پایان آزمایش به منظور تعیین میزان کلروفیل برگ، ۰/۵ گرم برگ تازه در هاون چینی له و به وسیله ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و جذب نوری رو شناورها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ با دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Bio Quest, CE 2502, UK) قرائت شد. برای محاسبه مقادیر کلروفیل و کارتنوئید (میلی‌گرم در هر گرم برگ تازه) از معادلات زیر استفاده شد (۲۰).

(۱)

$$a(\text{mg/g}) = (w \times 1000 / (v \times 645)) \times 8663 - 2/69 (A) \quad (12/7)$$

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 به منظور ضدعفونی خیسانده و سپس جهت زدودن بقایای مواد شوینده از آن‌ها با آب مقطر سه مرتبه شستشو داده شدند. 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 درجه سانتی‌گراد، دمای متوسط شبانه ۲۲-۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۲ ± ۴۵ درصد بود. بعد از ۳۵ روز از شروع کاشت به مدت ۶۵ روز، تغذیه دانه‌ها هر ۱۲ روز یک بار 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، سطوح خشکی برای مدت ۸۴ روز (از ۲۳ تیر تا ۱۵ مهر ۱۳۹۸) روی دانه‌ها 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 (۳۴). پس از خارج شدن کامل آب ثقی، 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 (۱۰۰ درصد 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 اضافه شد. 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.

اندازه‌گیری صفات مورد ارزیابی

برای سنجش طول ریشه و ساقه، ابتدا گیاهان مورد بررسی از درون گلدان‌ها خارج و ریشه‌ها به خوبی شست و شو گردیدند. سپس این گیاهان در بسته‌بندی‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردیدند

استیک گلاسیال به آن اضافه کرده، سپس این محلول به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. پس از خارج کردن نمونه‌ها از حمام آب گرم و خنک کردن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آن‌ها اضافه شد و با همزن مکانیکی مخلوط شدند تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شده، سپس میزان جذب نوری با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. استانداردهای پرولین نیز با استفاده از ال‌پرولین در غلظت‌های ۰، ۳۱/۲۵، ۶۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه و جذب آن‌ها اندازه‌گیری شد (۲۹).

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

نتایج و بحث

تعداد برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، تمامی اثرهای ساده و متقابل در مورد صفت تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد (جدول ۲).

$$(2) \quad \text{Carotenoid (mg/g)} = \frac{A \times 1000}{V} - \frac{A \times 1000}{V} \times \frac{b}{a} \quad (2)$$

$$(3) \quad \text{Carotenoid (mg/g)} = \frac{A \times 1000}{V} - \frac{A \times 1000}{V} \times \frac{b}{a} \quad (3)$$

$$(4) \quad \text{Carotenoid (mg/g)} = \frac{A \times 1000}{V} - \frac{A \times 1000}{V} \times \frac{b}{a} \quad (4)$$

کارتنوئید (mg/g) = $\frac{A \times 1000}{V} - \frac{A \times 1000}{V} \times \frac{b}{a}$ (کلروفیل a) در اینجا A، میزان جذب نوری در طول موج مورد نظر می‌باشد، V حجم عصاره کلروفیل می‌باشد (۱۰ میلی‌لیتر) و w وزن برگ مورد استفاده (۰/۵ گرم) می‌باشد.

برای استخراج و سنجش پرولین ۰/۵ گرم برگ بالغ را با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده سپس محلول حاصل را در لوله فالکون ریخته و عمل استخراج دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار گردید. محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی فاز مایع از جامد، قسمت مایع برای استخراج پرولین مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین غلظت پرولین یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی فوق را با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده و ۵ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین (مخلوط ۱/۲۵ گرم ناین هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) و ۵ میلی‌لیتر اسید

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی
Table 2- ANOVA for (mean of squares) studied morphological traits in some pistachio genotypes under drought stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد برگ Number of leaves	طول ساقه Stem length	طول ریشه Root length	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	نشست الکترولیت Electrolyte leakage
ژنوتیپ Genotype	9	406.25**	762.20**	2966.25**	289.25**	389.29**
خشکی Drought	2	2400.90**	388.12**	11418.71**	941.72**	3861.31**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	10.48**	41.16 ^{ns}	523.79**	1.13 ^{ns}	110.05**
خطا Error	30	2.78	26.95	40.07	23.34	7.02
ضریب تغییرات C.V (%)		6.76	6.85	7.78	7.25	6.19

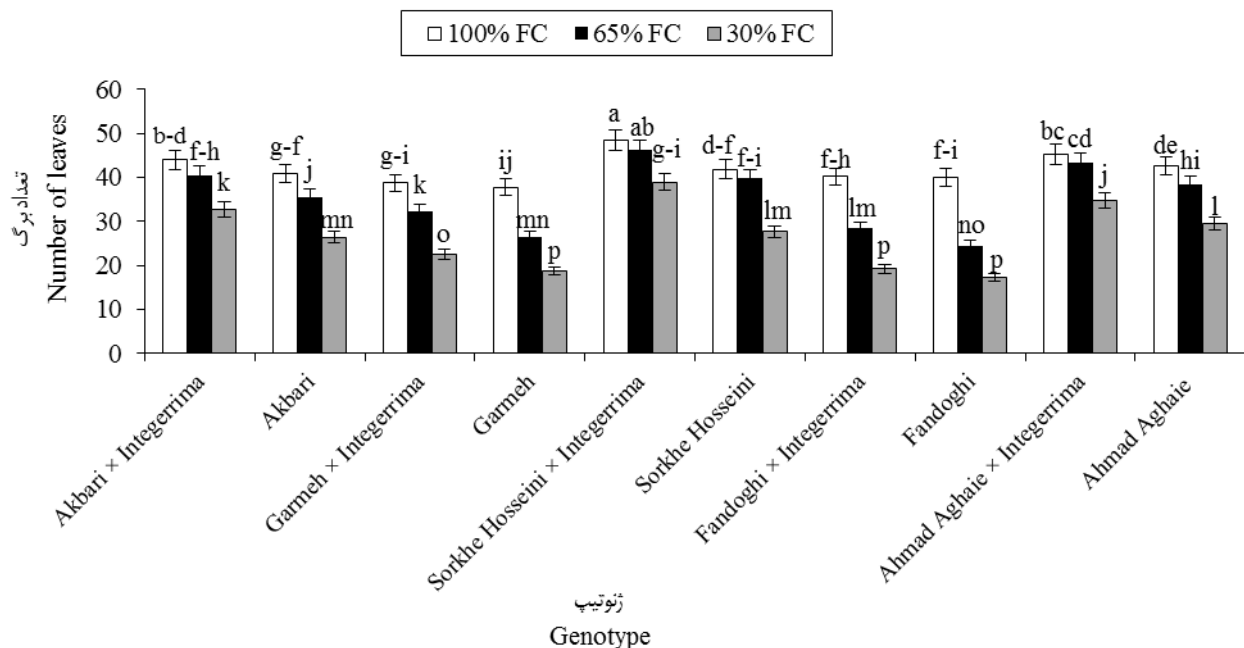
** و *؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.
*، **؛ Significant at 1% and 5% of probability level and ^{ns} no significant, respectively

بیشترین تعداد برگ را در تمامی سطوح تنش نشان داد به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد با میانگین ۱۹/۵۵ درصد کمترین کاهش از لحاظ این صفت را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. برای این صفت در تنش شدید، نسبت به تیمار شاهد ژنوتیپ

بررسی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی (شکل ۲) نشان داد که در بین دانه‌ها، ۸۴ روز پس از شروع تیمارهای تنش، ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریمما در تیمار شاهد با میانگین ۴۸/۵۴ عدد برگ، در تنش متوسط با میانگین ۴۶/۲۲ و در تنش شدید با میانگین ۳۸/۹۸

دارد. البته بذور احمد آقایی، سرخه‌حسینی و اکبری که از گرده‌افشانی آزاد بدست آمده بودند نیز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در پایان تنش تحمل بیشتری نشان دادند که این عکس العمل به مقدار زیادی به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد که با نتایج فهیمی خویردی (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که سبب بسته شدن روزنه‌ها در اثر سنتز اسید آسبیزیک و در پی آن کاهش ساخت و انتقال مواد فتوسنتزی می‌شود که به صورت کاهش رشد گیاهان نمایان می‌شود و با تشدید تنش، مرگ گیاه را در پی دارد (۴). وقتی گیاهان در شرایط تنش خشکی قرار می‌گیرند به دلیل کاهش پتانسیل آب بافت‌های مرستمی، فشار تورژانس مورد نیاز برای بزرگ شدن سلول کافی نبوده که این مسئله می‌تواند باعث کاهش انعطاف پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد شده و به کاهش رشد دیواره سلولی و بزرگ نشدن سلول‌ها منجر گردد که در نهایت باعث کاهش تعداد برگ می‌شود (۲۱).

فندق با میانگین ۵۶/۵۶ درصد بیشترین کاهش را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان داد. از نظر تعداد برگ، ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریمما، گرمه، فندق × اینتگریمما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در سطح آخر خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) به ترتیب ۲۳/۴۹، ۲۵/۶۱، ۳۱/۰۴، ۳۳/۹۶، ۳۵/۴۹، ۴۱/۹۵، ۵۰/۳۳، ۵۲/۲۸ درصد کاهش نشان دادند. با توجه به اینکه گونه اینتگریمما یک پایه پر رشد است بنابراین می‌توان رشد بیشتر ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری در ارتباط با این صفت را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی کوهبانی و کریمی (۲۳) روی پسته مطابقت داشت. محققان مذکور گزارش کردند که بذور دورگه بدست آمده از تلاقی‌های کنترل شده با دانه گرده گونه آتلانتیکا نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در ارتباط با صفت تعداد برگ تحمل بیشتری به خشکی دارند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت



شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر تعداد برگ دانه‌های برخی ژنوتیپ پسته

Figure 2- Interaction effect of genotype × drought on leaf number of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

مشاهده نشد (جدول ۲). در این بررسی طول ساقه اختلاف معنی‌دار در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد به طوری که ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندق با ۹۱/۰۵ و ۶۵/۴۱ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین این صفت را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

طول ساقه

طبق نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، اثر ژنوتیپ و اثر خشکی بر صفت طول ساقه معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد ولی در مورد اثر متقابل ژنوتیپ در خشکی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ($p \geq 0.05$)

های حساس کاهش بیشتری در ارتباط با این صفت نشان دادند. از طرفی نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های حسنی گرده گوهی (۱۶) روی پسته مطابقت دارد. طبق نتایج این محققان هر چه طول دوره خشکی طولانی‌تر باشد طول ریشه گیاه به منظور جذب آب از لایه‌های عمیق‌تر خاک، افزایش می‌یابد. گیاهان متحمل به خشکی جهت استفاده بهینه از آب موجود در خاک خشک طول ریشه خود را به میزان بیشتری افزایش می‌دهند و این افزایش ریشه همراه با کاهش قطر ریشه می‌باشد. تنش خشکی سبب فعال شدن ژن‌های تولید کننده پروتئین اکسپانزین در ریشه می‌شود که این پروتئین با سست کردن پیوندهای دیگلوکان بین رشته‌های سلولزی در دیواره سلولی، جذب آب را بیشتر کرده که با افزایش تورژانس سلولی طول ریشه را افزایش می‌دهد (۳۷).

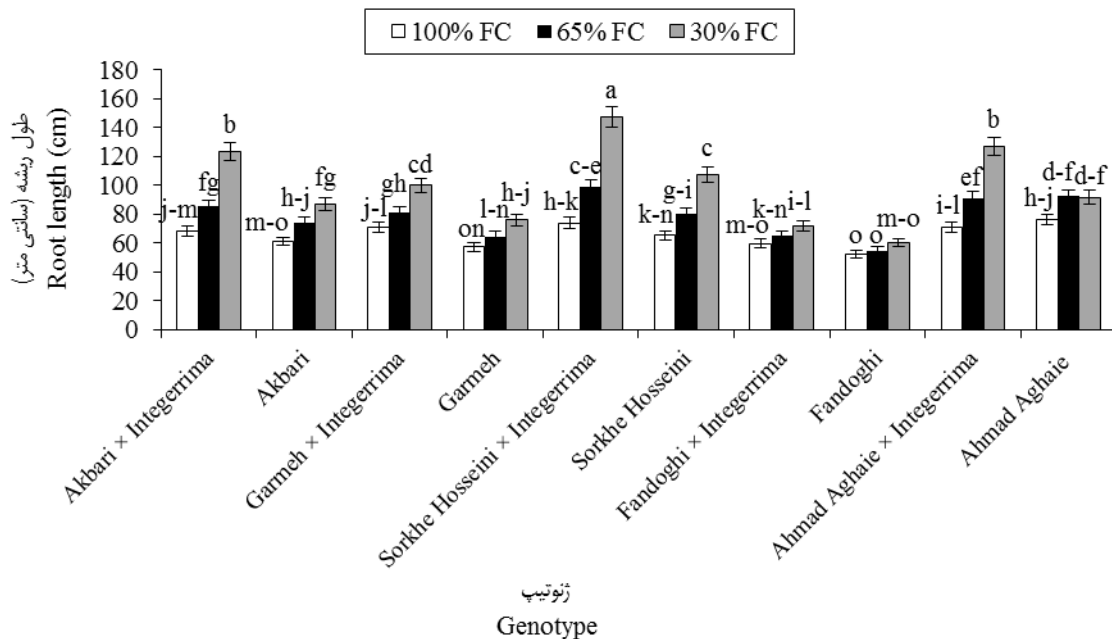
محتوای نسبی آب برگ

در این پژوهش، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر محتوای نسبی آب برگ ($p \leq 0.01$) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی روی این صفت معنی‌دار ($p \leq 0.05$) نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها، دورگه احمد آقایی × اینتگریمما با ۷۱/۳۳ درصد و فندق‌ی با ۵۵/۴۷ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای رطوبت نسبی را دارا بودند. البته بین ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما و سرخه حسینی × اینتگریمما از لحاظ این صفت اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). مقایسه میانگین سطوح مختلف خشکی نشان داد، تیمار شاهد نسبت به سایر سطوح بیشترین محتوای نسبی آب را دارد و اختلاف معنی‌داری با سایر سطوح نشان داد. در بین دو سطح خشکی بعد از تیمار شاهد بیشترین مقدار از لحاظ این صفت با میانگین ۶۶/۲۰ درصد متعلق به تیمار تنش ملایم و کمترین میزان این صفت با میانگین ۵۵/۹۸ درصد به تیمار تنش شدید اختصاص داشت (جدول ۵). شایان ذکر است که یکی از ساز و کارهای تحمل به تنش خشکی در دانه‌های پسته کارایی بالاتر برای جذب آب از محیط ریشه است. ژنوتیپ‌هایی که بتوانند در شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ بیشتری را ذخیره کنند از مقاومت بیشتری در مقابل از دست دادن آب برخوردار خواهند بود (۳۰). بنابراین شاخص محتوای نسبی آب برگ شاخص فیزیولوژیکی مهمی در بررسی و ارزیابی درجه مقاومت به تنش خشکی و غربال‌گری ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی است (۱۸).

نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر طول ساقه نشان داد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهش از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به شاهد (ظرفیت زراعی) ۱۴/۲۴ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). با توجه به پر رشدی گونه اینتگریمما می‌توان طول ساقه بیشتر ژنوتیپ دورگه سرخه حسینی × اینتگریمما را به تأثیر ژنوتیپ حاصل از تلاقی نسبت داد. نتایج پژوهش حاضر با نتایج مالکی و کریمی (۲۳) در ارتباط با مقاومت به خشکی ارقام پسته مطابقت دارد. طبق نتایج محققان مذکور رقم دورگه بین گونه‌ای آتلانتیکا × ورا در سطوح مختلف خشکی نسبت به ارقام قزوینی و بادامی ریز زرد ارتفاع ساقه بیشتری نشان داد و به عنوان متحمل‌ترین پایه از لحاظ این صفت ارزیابی شد. رشد سلول یکی از حساس‌ترین فرآیندهای فیزیولوژیکی است که به کمبود آب حساس است. تقسیم سلولی، بزرگ شدن و تمایزهای فرآیندهای اصلی هستند که کمیت و کیفیت رشد گیاه را تعیین می‌کنند و تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی مختلف هستند که تنش خشکی یکی از این عوامل است. در شرایط کمبود آب، تولید شدن سلول‌ها به دلیل قطع جریان آب از آوند چوب به سلول‌های در حال تولید شدن متوقف می‌شود در نتیجه تنش خشکی باعث کاهش رشد می‌گردد و بر همین اساس طول ساقه کاهش می‌یابد (۵).

طول ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به طول ریشه (جدول ۲) نشان داد که اثر ژنوتیپ، تنش خشکی و برهمکنش ژنوتیپ و خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شد. در تمامی ژنوتیپ‌ها با افزایش سطوح خشکی افزایش طول ریشه در تنش ملایم و شدید مشاهده شد به طوری که در بین دانه‌ها، ژنوتیپ سرخه حسینی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، سرخه حسینی، اکبری، گرمه × اینتگریمما، گرمه، احمد آقایی، فندق × اینتگریمما و فندق در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۴۹/۶۶، ۴۴/۴۵، ۴۳/۹۳، ۳۹/۱۴، ۲۹/۸۵، ۲۸/۸۸، ۲۴/۵۵، ۱۷/۲۱، ۱۶/۷۸، ۱۳/۳۵ درصد افزایش نشان دادند. طبق نتایج با افزایش تنش خشکی در تمامی سطوح ژنوتیپ سرخه حسینی × اینتگریمما و فندق به ترتیب بیشترین و کمترین افزایش طول ریشه را نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. بنابراین ژنوتیپ پر رشد سرخه حسینی × اینتگریمما نسبت به سایر دانه‌های تحت تنش متحمل‌ترین ژنوتیپ در برابر خشکی از نظر طول ریشه می‌باشد (شکل ۳). نتایج این پژوهش با نتایج آزمایشات قاسمی (۱۴) روی پسته مطابقت نداشت. محققان مذکور گزارش کردند با افزایش تنش خشکی طول ریشه در تمامی دانه‌ها کاهش یافت و ژنوتیپ



شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر طول ریشه دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 3- Interaction effect of genotype × drought on root length of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

میزان نشت الکترولیت در پسته افزایش می‌یابد. در شرایط وجود تنش های مختلف و به ویژه خشکی، پایداری غشای سلولی از بین رفته و در شرایطی که برگ در یک محیط آبی قرار بگیرد، مواد محلول از سلول های آن تراوش می‌کند، لذا پایداری غشاء به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن مشخص می‌گردد (۹). بنابراین نشت الکترولیتی کم، یک شاخص از ثبات غشای سلول و تحمل به تنش خشکی می‌باشد (۲۸).

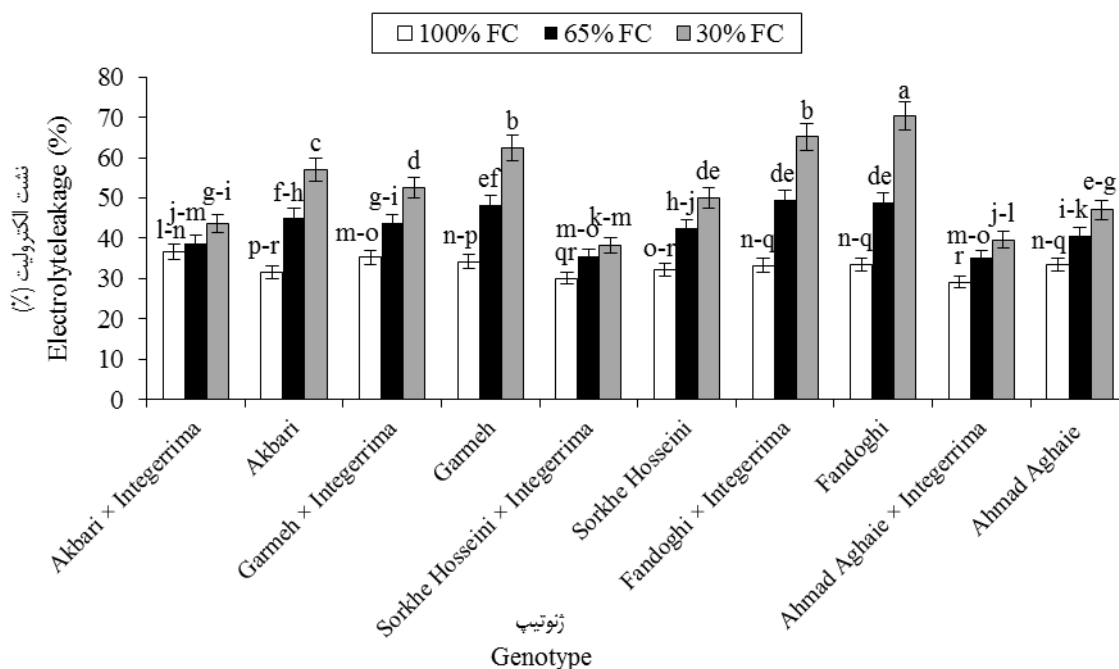
رنگیزه‌های گیاهی

کلروفیل a, b و کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a و کل نشان داد که این صفات فقط تحت تأثیر ژنوتیپ و خشکی واقع شدند ($p \leq 0.01$) ولی داده‌های مربوط به کلروفیل b نشان داد که علاوه بر اثرات ساده ژنوتیپ و خشکی، بر همکنش ژنوتیپ و خشکی نیز بر روی این صفت در سطح یک درصد معنی‌دار شد ($p \leq 0.01$) (جدول ۳).

نشت الکترولیت

اثرات ساده و متقابل عوامل آزمایشی از نظر میزان نشت الکترولیت اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($p \leq 0.01$) نشان داد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان نشت الکترولیت در همه ژنوتیپ‌ها افزایش یافت (شکل ۴). بیشترین و کمترین میزان این صفت به ترتیب مربوط به بالاترین سطح خشکی و شاهد در هر ۱۰ ژنوتیپ بود به طوری که در بین دانه‌ها، ژنوتیپ پر رشد سرخه‌حسینی × اینتگریمما و فندقی با میانگین ۲۱/۱۳ و ۵۲/۲۹ درصد به ترتیب از کمترین و بیشترین میزان نشت الکترولیت در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد برخوردار بودند. در ارتباط با این صفت ژنوتیپ‌های دورگه اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، گرمه × اینتگریمما، سرخه‌حسینی، اکبری، گرمه و دورگه فندقی × اینتگریمما در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در سطح آخر خشکی نسبت به شاهد به ترتیب ۱۶/۱۲، ۲۶/۲۵، ۲۸/۷۵، ۳۲/۷۷، ۳۵/۷۱، ۴۴/۷۲، ۴۵/۱۲، ۴۸/۹۵ درصد افزایش مشاهده شد. نتایج تحقیقات متعددی نشان داده است که با افزایش میزان خشکی،



شکل ۴- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر نشت الکترولیت دانهالی برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 4- Interaction effect of genotype × drought on electrolyte leakage of some pistachio genotype seedlings (LSD, $p \leq 0.05$)

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته تحت شرایط تنش خشکی

Table 3- ANOVA (mean of squares) for studied biochemical traits in some pistachio genotypes under drought stress

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll l a	کلروفیل b Chlorophyll l b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتونوئید Carotenoids	پرولین برگ Leaf Proline	پرولین ریشه Root Proline
ژنوتیپ Genotype	9	0.084**	0.130**	0.419**	0.1194**	48845.09**	64779.70**
خشکی Drought	2	0.178**	0.075**	0.470**	0.1933**	2703625.22**	967875.68**
خشکی × ژنوتیپ Genotype × Drought	18	0.0003 ^{ns}	0.0005**	0.0013 ^{ns}	0.00097 ^{ns}	15163.56**	19868.45**
خطا Error	30	0.001	0.00005	0.0046	0.0017	672.21	392.78
ضریب تغییرات C.V (%)		6.09	3.07	8.15	5.52	7.31	9.91

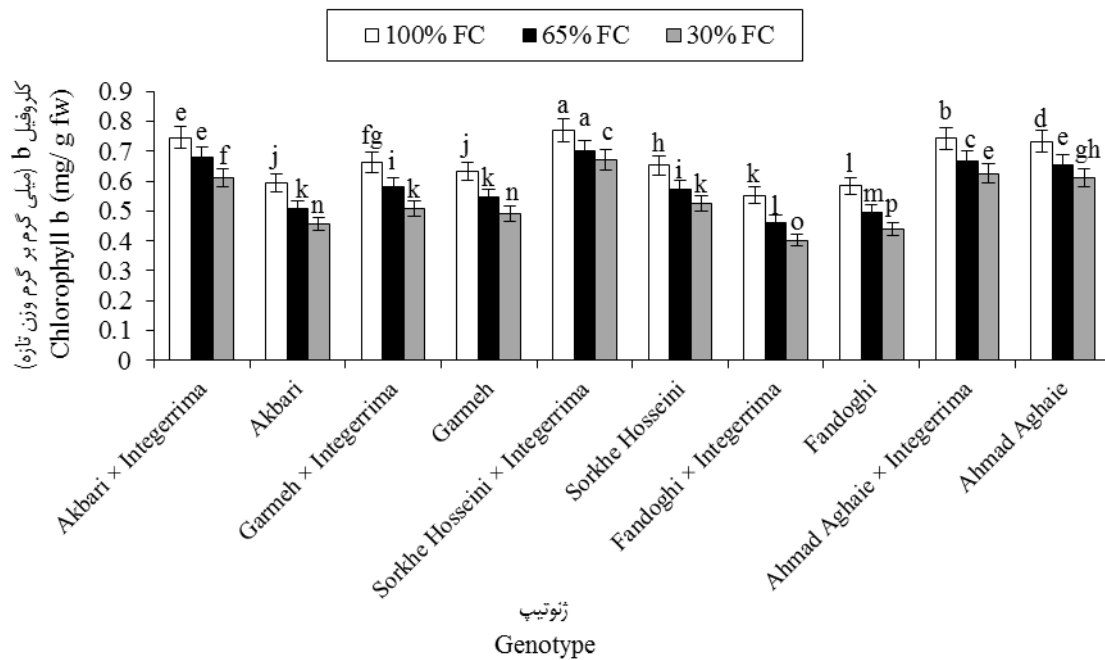
** و *؛ به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد و ns عدم معنی‌داری را نشان می‌دهد.
* , ** : Significant at 1% and 5% of probability level and ^{ns} no significant, respectively

(۵) با افزایش تنش خشکی از میزان این صفت در تمامی دانهال‌ها کاسته شد. در تمامی سطوح خشکی ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها میزان کلروفیل b بیشتری نشان داد و از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار بود. با افزایش سطوح خشکی و در تنش شدید از میزان کلروفیل b در همه دانهال‌ها کاسته شد ولی دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما با کاهش ۱۲/۹۲ درصد نسبت به شاهد در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در این سطح از تنش

مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میزان کلروفیل a نشان داد که بیشترین میزان این صفت در دورگه اکبری × اینتگریمما و کمترین میزان آن در دورگه فندقی × اینتگریمما مشاهده شد (جدول ۴). نتایج مربوط به تأثیر خشکی بر کلروفیل a نشان داد که با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهش از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد ۱۹/۹۲ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). در ارتباط با صفت کلروفیل b (شکل

گره، اکبری، گرهه × اینتگریمما و فندقی در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند به طوری که در آخرین سطح تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۲۴/۹۳، ۲۳/۱۸، ۲۳/۰۴، ۲۲/۴۵، ۱۹/۵۹، ۱۸/۰۲، ۱۶/۷۰، ۱۵/۷۷ درصد کاهش نشان دادند.

میزان کلروفیل b بیشتری نشان داد و از لحاظ آماری نیز اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت. بیشترین میزان کاهش این صفت در بین دانه‌ها در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریمما با کاهش ۲۷/۱۴ درصد مشاهده شد. در ارتباط با این صفت ژنوتیپ‌های احمد آقایی × اینتگریمما، احمد آقایی، اکبری × اینتگریمما، سرخه‌حسینی،



شکل ۵- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان کلروفیل b دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 5- Interaction effect of genotype × drought on Chlorophyll b content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

خشکی می‌تواند منجر به کاهش کارایی فتوسنتزی گیاهان گردد و گیاهانی که بتوانند سبزینه خود را در حد بالایی حفظ کنند از فتوسنتز بالاتری برخوردار خواهند بود (۳۲). بنابراین تنش خشکی باعث کاهش میزان سبزینه برگ به دلیل شکسته شدن کلروپلاست‌ها، پیری زودرس گیاهان و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین تشکیل پروتوکلروفیل در شرایط تنش متوقف می‌شود (۳۲). طبق نتایج ما در شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما تجزیه کلروفیل کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند و از تحمل بیشتری در شرایط تنش برخوردار بودند. نتایج پژوهش حاضر با نتایج قاسمی و همکاران (۱۴) و فهیمی خویردی و همکاران (۱۳) روی پسته مبنی بر کاهش بیشتر میزان کلروفیل (a، b و کل) در ژنوتیپ‌های حساس در شرایط تنش خشکی همخوانی داشت.

مقایسه میانگین حاصل از اثر نوع ژنوتیپ بر میزان کلروفیل کل روندی تقریباً مشابه کلروفیل a نشان داد به طوری که بیشترین میزان این صفت در ژنوتیپ دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و کمترین میزان آن در ژنوتیپ دورگه فندقی × اینتگریمما مشاهده شد (جدول ۴). همچنین با افزایش سطوح خشکی یک روند کاهشی از نظر این صفت وجود داشت به طوری که در آخرین سطح خشکی نسبت به شاهد ۲۲/۹۶ درصد کاهش مشاهده شد (جدول ۵). طبق نتایج بیشترین میزان کلروفیل برگ متعلق به ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما و کمترین میزان این صفت مربوط به ژنوتیپ‌های فندقی و دورگه فندقی × اینتگریمما بود. بر اساس برخی مشاهدات ظاهری در زمان تنش خشکی در پژوهش حاضر، شدت رنگ سبزینه‌ای در ژنوتیپ‌های حساس به تنش به میزان بیشتری کاهش نشان داد. کاهش در میزان سبزینه برگ در شرایط تنش

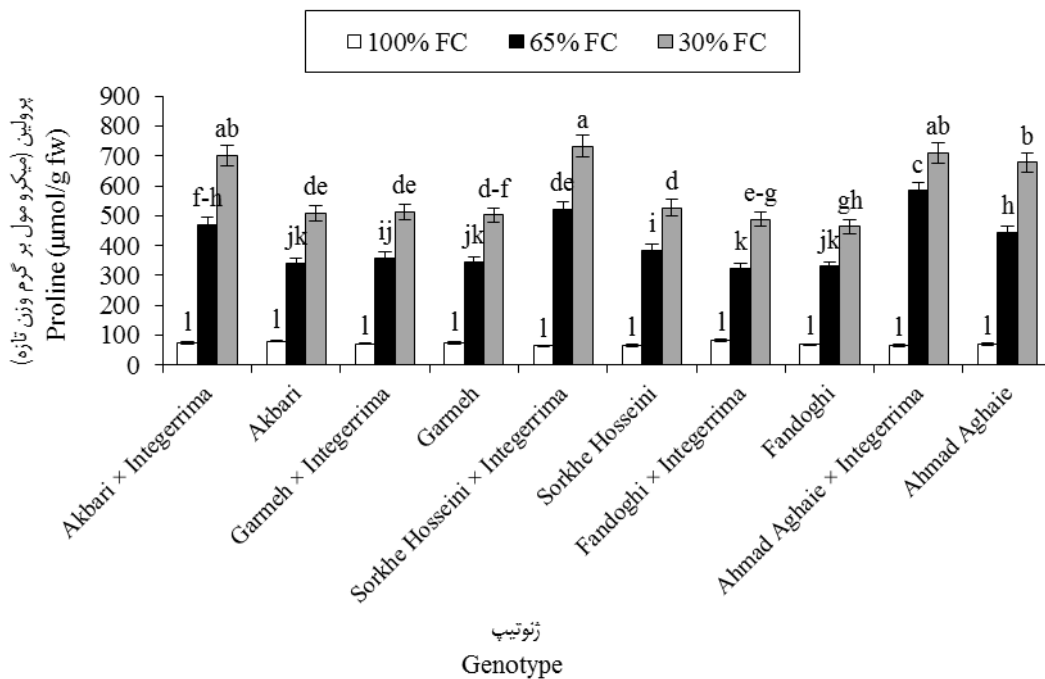
کارتونوئید

طبق جدول تجزیه واریانس، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح مختلف خشکی از نظر میزان کارتونوئید ($P \leq 0/01$) معنی‌دار بود ولی اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر روی این صفت اثر معنی‌داری ($P \geq 0/05$) نشان نداد (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثرات ساده (جدول ۴) نشان داد که میزان کارتونوئید در ژنوتیپ‌های مورد بررسی از ۰/۹۳۶ الی ۰/۶۲۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های دورگه احمد آقایی × اینتگریمما و فندق‌ی متغیر بوده است. در ضمن ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، اکبری × اینتگریمما، احمد آقایی، سرخه‌حسینی، فندق‌ی × اینتگریمما، گرمه × اینتگریمما، اکبری و گرمه در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳). در مقایسه بین سطوح مختلف خشکی از لحاظ این صفت، تیمار شاهد با میانگین ۰/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین میانگین کارتونوئید را به خود اختصاص داد. میزان کارتونوئید در سطوح خشکی ملایم و شدید به ترتیب به میزان ۶/۹۸ و ۱۶/۶۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد (جدول ۵). کارتونوئیدها نقش بسیار مهمی در حفاظت نوری گیاهان در مقابل تنش خشکی دارند. کارتونوئیدها گروهی از مولکول‌های بزرگ ایزوپرونتیدی هستند که رنگیزه‌های جمع‌کننده انرژی نورانی می‌باشند و به هیدروکربن‌های کارتن مانند لیکوپن و گزانتوفیل‌ها تقسیم می‌شوند. کارتونوئیدها از عوامل اصلی اتلاف انرژی

اضافی از طریق گرما هستند و نقش محافظت‌کننده دارند (۱۹). در واقع کارتونوئیدها به عنوان رنگدانه‌های کمکی عمل می‌نمایند و به عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر در حفاظت از فرآیندهای فیتوشیمیایی و پایداری آنها نقش دارند. بنابراین بالاتر بودن کارتونوئیدها در یک ژنوتیپ امکان مقاومت به شرایط تنش را فراهم می‌کند (۱).

پرولین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ، خشکی و اثر متقابل ژنوتیپ و خشکی بر میزان تجمع پرولین برگ و ریشه معنی‌دار بود ($P \leq 0/01$) (جدول ۳). طبق نتایج مقایسه میانگین همگام با افزایش شدت خشکی میزان تجمع پرولین در برگ‌ها نسبت به شاهد افزایش داشت و اختلافات بسیار معنی‌دار بود. از نظر میزان پرولین، گیاهانی که در تیمار شاهد قرار گرفتند، با میانگین ۷۱/۳۷ میکرومول در گرم وزن تر، کمترین مقدار پرولین را داشتند، در حالی که گیاهان در تیمار تنش ملایم و شدید به ترتیب با میانگین ۴۱۰/۱۹ و ۵۸۵/۳۶ میکرومول در گرم وزن تر مقدار پرولین بیشتری را نشان دادند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به ترتیب ژنوتیپ‌های دورگه سرخه حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما میزان تجمع پرولین بیشتری در برگ داشتند و اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها و باهم نشان دادند (شکل ۶).

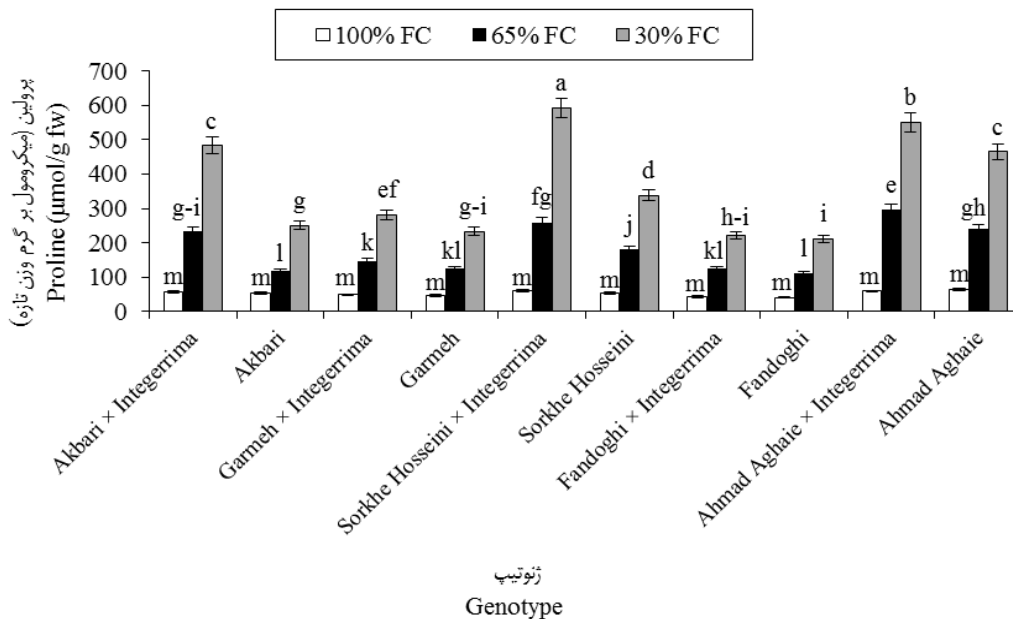


شکل ۶- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین برگ دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 6- Interaction effect of genotype × drought on leaf proline content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

خشکی نشان دادند. البته بر اساس نتایج این پژوهش و بر مبنای مطالعات قبلی پرولین می‌تواند به عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی در سطوح مختلف خشکی در پسته در نظر گرفته شود (۱۳ و ۱۵). در حقیقت این طور می‌توان بیان کرد که افزایش پرولین تحت تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی با میزان تحمل آنها به تنش همبستگی دارد و به طور کلی محتوی پرولین در گیاهان متحمل به تنش بیشتر از گیاهان حساس می‌باشد (۸). در پژوهشی عباس پور و همکاران (۲) گزارش کردند که تنش خشکی منجر به افزایش بیشتر غلظت پرولین برگ و ریشه در دانه‌های پسته رقم اکبری نسبت به سایر دانه‌ها گردید و باعث افزایش مقاومت به تنش شد. بر اساس یافته‌های ارانجیلو و همکاران (۶) گیاهانی که در شرایط خشکی قرار می‌گیرند مقدار زیادی از منابع کربن و نیتروژن خود را صرف سنتز تنظیم کننده‌های اسمزی از قبیل پرولین می‌کنند تا بتوانند در شرایط تنش فشار تورژانس سلول‌های خود را حفظ نمایند. بنابراین ژنوتیپ‌های با مقدار بیشتر پرولین می‌توانند به شرایط خشکی متحمل‌تر باشند.

پرولین ریشه گیاهان نیز مانند پرولین برگ تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفت و در ارتباط با این صفت نیز ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها مقادیر بالاتری را با افزایش سطوح خشکی نشان دادند (شکل ۷). البته میزان افزایش پرولین برگ نسبت به ریشه بیشتر بود که با نتایج فهمی خوریدی و همکاران (۱۳) روی پسته مطابقت دارد. محمد خانی و حیدری (۲۵) دلیل کمتر بودن میزان پرولین ریشه را انتقال آن به قسمت‌های هوایی برگ به منظور تعدیل پتانسیل اسمزی و جلوگیری از هدررفت آب تحت شرایط خشکی گزارش کردند. محقق مذکور گزارش کرد تجمع بیشتر پرولین برگ تحت شرایط خشکی احتمالاً به دلیل بیوستنز پرولین در کلروپلاست می‌باشد. البته نتایج آزمایش ما با نتایج آزمایش قاسمی (۱۴) و روزبان (۳۱) روی پسته مطابقت نداشت. طبق نتایج محققان مذکور پرولین نمی‌تواند شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های پسته باشد چرا که برخی ژنوتیپ‌ها که به عنوان ژنوتیپ حساس ارزیابی شدند تجمع پرولین بیشتری با افزایش تنش



شکل ۷- اثر متقابل ژنوتیپ × خشکی بر میزان پرولین ریشه دانه‌های برخی از ژنوتیپ‌های پسته

Figure 7- Interaction effect of genotype × drought on root proline content of some pistachio genotypes seedlings. (LSD, $p \leq 0.05$)

بین صفات اندازه‌گیری شده مربوط به این ۱۰ ژنوتیپ، ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما بواسطه مقادیر بالای در اکثر صفات به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و ژنوتیپ‌های دورگه فندق × اینتگریمما و فندق به دلیل مقادیر پایین در اکثر صفات به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها ارزیابی شدند. همچنین طول ریشه بیشتر در تمامی سطوح خشکی

نتیجه‌گیری

بر اساس پژوهش فوق تمامی پارامترهای مورد اندازه‌گیری تحت تأثیر تیمار خشکی واقع شدند و سطوح مختلف خشکی آثار معنی‌داری بر تمامی صفات داشت به طوری که با افزایش تنش خشکی تمامی صفات به جز طول ریشه، نشت الکترولیت و پرولین کاهش یافتند. در

ژنوتیپ‌های حاوی ژن‌های متحمل به خشکی برای اصلاح در مناطق خشک استفاده کرد و لازم است در آینده پیوند ارقام مختلف روی این ژنوتیپ‌ها انجام و مقاومت پایه‌های پیوندی و رفتار پیوندک نسبت به سطوح مختلف خشکی مورد ارزیابی قرار گیرد.

اعمال شده در ژنوتیپ‌های پر رشد دورگه سرخه‌حسینی، احمد آقایی و اکبری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دهنده کارایی بهتر این ژنوتیپ‌ها در جذب آب و مواد غذایی می‌باشد. به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی، به نظر می‌رسد بتوان از ژنوتیپ‌های دورگه سرخه‌حسینی × اینتگریمما، احمد آقایی × اینتگریمما و اکبری × اینتگریمما به عنوان

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های پسته در شرایط تنش خشکی

Table 4- Mean comparison of sometrains measured in pistachio genotypes under drought stress

ژنوتیپ Genotype	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتونوئید Carotenoids (mg/g fw)
احمد آقایی Ahmad Aghaie	76.04 ^{bc}	70.33 ^{ab}	0.665 ^b	0.985 ^c	0.810 ^c
احمد آقایی × اینتگریمما Ahmad Aghaei × Integerrima	76.95 ^b	71.33 ^a	0.678 ^b	1.04 ^b	0.936 ^a
فندق Fandoghi	65.41 ^f	55.47 ^e	0.505 ^d	0.612 ^f	0.624 ^f
فندق × اینتگریمما Fandoghi × Integerrima	73.86 ^{b-d}	67.50 ^{a-c}	0.472 ^e	0.603 ^f	0.735 ^d
سرخه حسینی Sorkhe Hosseini	87.59 ^a	68.81 ^{ab}	0.583 ^c	0.809 ^d	0.745 ^d
سرخه حسینی × اینتگریمما Sorkhe Hosseini × Integerrima	91.05 ^a	71.03 ^a	0.679 ^b	1.12 ^a	0.879 ^b
گرمه Garmeh	69.18 ^{ef}	66.62 ^{bc}	0.555 ^c	0.715 ^e	0.661 ^e
گرمه × اینتگریمما Garmeh × Integerrima	70.69 ^{de}	69.14 ^{ab}	0.583 ^c	0.819 ^d	0.729 ^d
اکبری Akbari	72.07 ^{c-e}	63.90 ^{cd}	0.520 ^d	0.683 ^e	0.685 ^e
اکبری × اینتگریمما Akbari × Integerrima	73.99 ^{b-d}	68.91 ^{ab}	0.714 ^a	0.988 ^c	0.840 ^c

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.
Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

جدول ۵- اثر سطوح مختلف خشکی بر میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های پسته

Table 5 - Effect of different levels of drought on traits studied in pistachio genotypes

سطوح خشکی Drought levels	طول ساقه Stem length (cm)	محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content (%)	کلروفیل a Chlorophyll a (mg/g fw)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg/g fw)	کارتونوئید Carotenoids (mg/g fw)
شاهد (ظرفیت زراعی) Control (Field capacity)	80.67 ^a	71.65 ^a	0.666 ^a	0.945 ^a	0.830 ^a
تنش ملایم (۶۵ درصد ظرفیت زراعی) Moderate stress (65% of field capacity)	77.19 ^b	66.20 ^b	0.587 ^b	0.842 ^b	0.772 ^b
تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) Severe stress (30% of field capacity)	69.18 ^c	55.98 ^c	0.533 ^c	0.728 ^c	0.692 ^c

بر مبنای آزمون LSD، در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.
Means in each column, followed by the same letter are not significantly different based on LSD ($p \leq 0.05$).

منابع

- 1- Abbasi A., Sarvestani R., Mohammadi B., and Baghery A. 2014. Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes, *Journal of Agricultural Science and Technology* 16: 505-516.
- 2- Abbaspour H., Saeidi-Sar S., Afshari H., and Abdol-Wahhab M. 2012. Tolerance of mycorrhiza infected pistachio (*Pistacia vera* L.) seedling to drought stress under glasshouse conditions, *Journal of Plant Physiology* 169: 704-709.
- 3- Ali A., Ali Z., Quraishi U.M., Kazi A.G., Malik R.N., Sher H., and Mujeeb-Kazi A. 2014. Integrating physiological and genetic approaches for improving drought tolerance in crops, *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance* 2: 315-345.
- 4- Amrijit K.N., Kumari S., and Sharma D.R. 2005. In vitro selection and characterization of water stress tolerance culture of bell pepper. *Journal of Plant Physiology* 10: 14-19.j13
- 5- Anjum S.A., Xie X.Y., Wang L., Saleem M.F., Man C., and Lei W. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, *African Journal of Agricultural Research* 6: 2026-2032.
- 6- Aranjuelo L., Molero G., Erice G., Christophe Avice J., and Nogues S. 2011. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.), *Journal of Experimental Botany* 62: 111-123.
- 7- Araus J.L., Casadesus J., Bort J., Nachit M.M., Villegas D., Aparicio N., and Royo C. 2015. Some remarks on ecophysiological traits for breeding, *Journal of Ciheam-Options Mediterraneees* 40: 57-62.
- 8- Ashraf M., and Foolad M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Journal of Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- 9- Atarodi H., Irannejad H., Shirani A., Amiri R., and Akbari Gh. 2012. Effects of drought stress and planting date on native plant, on the electrical conductivity of the resulting seeds. *Iranian Journal of Agricultural Research* 9(2): 242- 247. (In Persian)
- 10- Baghari V. 2010. Effects of arbuscular mycorrhizal (*Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) fungi on drought tolerance of pistachio seedlings. M. Sc. Thesis, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Vali-e-Asr, Rafsanjan. (In Persian)
- 11- Barrs H.D., and 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.
- 12- Ben Hamed S., Lefi E., and Chaieb M. 2016. Physiological responses of *Pistacia vera* L. versus *Pistacia atlantica* Desf. To water stress conditions under arid bioclimate in Tunisia, *Journal of Scientia Horticulturae* 203: 224- 230.
- 13- Fahimi Khoyerd F., Shamshiri M.H., and Estaji A. 2016. Changes in some physiological and osmotic parameters of several pistachio genotypes under drought stress, *Journal of Scientia Horticulturae* 198: 44-51.
- 14- Ghasemi M., Arzani K., Yadollahi A., and Hokmabadi H. 2013. Drought stress and carbon isotope discrimination in some pistachio seedlings. Ph.D. Thesis. Tarbiat Modares University. Tehran.
- 15- Gholipour Y., and Zamani Z. 2001. Amino acid proline fluctuations in some drought-stressed pistachio rootstocks. *FAO-CIHEAM, NUCIS Newsletter* 10: 31-33.
- 16- Gijon M. C., Gimenez C., Perez-Lopez D., Guerrero J., Couceiro J. F., and Moriana A. 2010. Rootstock influences the response of pistachio (*Pistacia vera*. cv Kerman) to water stress and rehydrations, *Journal of Scientia Horticulturae* 125(4): 666-671.
- 17- Hasaani Gardekuhi M.R. 2011. Evaluation of the combined effects of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) and Salicylic Acid on drought resistance of pistachio seedlings of Abarqi cultivar. MSc. Thesis, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Rafsanjan. (In Persian)
- 18- Hasheminasab H., Aliakbari A., and Baniasadi R. 2014. Optimizing the relative water protection (RWP) as novel approach for monitoring drought tolerance in Iranian pistachio cultivars using graphical analysis, *International Journal of Biosciences* 4: 194-203.
- 19- Jahns P., and Holzwarth A.R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in Photoprotection of photosystem II. *Journal of Biochimica et Biophysica Acta* 1817: 182-193.
- 20- Kizhedath A., and Suneetha V. 2011. Estimation of chlorophyll content in common household medicinal medicinal leaves and their utilization to avail health benefits of chlorophyll, *Journal of Pharmacy Research* 4(5): 1412-1413.
- 21- Kuchaki A., and Srmdnya G.h. 2005. *Journal of Crop Physiology*. Jahad University Publications, Ferdowsi University of Mashhad. Iran.
- 22- Lutts S., Kinet J.M., and Bouharmont J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of Annals of Botany* 78(3): 389- 398.
- 23- Maleki kuhbani A., and Karimi H.M. 2013. Evaluation of pistachio and hybrids rootstocks (*P.vera* × *P. atlantica*) to drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science* 44 (1): 81-93. (In Persian)
- 24- Modarres R., and de Paulo Rodrigues da Silva V. 2007. Rainfall trends in arid and semi-arid regions of Iran, *Journal of Arid Environments* 70: 344-355.

- 25- Mohammadkhani N., and Heidari R. 2008. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. World Appl. Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran. (In Persian)
- 26- Moriana A., Memmib H, Centeno A., Martin-Palomo M. J., Corell M., Torrecillas A., and Perez-Lopez D. 2018. Influence of root stock on pistachio (*Pistachio vera* L cv Kerman) water relations, Journal of Agricultural Water Management 1-194.
- 27- Office of Statistics and Information Technology. 2008. Agricultural Statistics. Assistance of Planning and Economic of Ministry of Agriculture Jihad, Tehran Iran.
- 28- Ortiz N., Armada E., Duque E., Roldan A., and Azcon R. 2015. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: Effectiveness of autochthonous or allochthonous strains, Journal of Plant Physiology 174: 87-96.
- 29- Paquin R., and Lechasseur P. 1979. Observationssur une methode de dosage dela praline libre dans les extraits de plantes. Canadian Journal of Botany 57: 1851-1854.
- 30- Rai K., Kalia R.K., Singh R., Gangola P., and Dhawan A. 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection an overview of the recent progress, Journal of Environmental and Experimental Botany 71: 89-98.
- 31- Rozban M.R. 2009. Investigation of physiological mechanisms of drought tolerance in three of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings .Ph.D. Thesis, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University. (In Persian)
- 32- Salisbury F. B., and Ross C. W. 1992. Journal of Plant Physiology, Belmont, Wadsworth, USA. 682 pp.
- 33- Sedaghati N., sheybani Tadriji Z., Tahabadipur A., Hokmabadi H., Haghdel M., and Abdollahi M. 2009. Pistachio Production Guide, Third edition, Sarv Publications in collaboration with Research, Agricultural education and natural resources. Tehran. 563 p.
- 34- Shibairo S. I., Upadhyaya M. K., and 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.
- 35- Taiz L., and Zeiger E. 2002. Sinauer associates, Inc. Journal of Plant Physiology 690p.
- 36- Uddin G., Rauf A., Rehman T., and Qaisar M. 2011. "Phytochemical Screening of *Pistacia chinensis* var. *integerrima*", Middle-East Journal of Scientific Research 5: 707-711.
- 37- Xing H.L., Tan L., An L., Zhao Z., Wang S., and Zhang C. 2004. Evidence for the involvement of nitric oxide and reactive oxygen species in osmotic stress tolerance of wheat seedlings: inverse correlation between leaf abscisic acid accumulation and leaf water loss, Journal of Plant Growth Regulation 42: 61-68.
- 38- Zeinoddini A., Amirpure M., and Farazmand, M. 2007. Evaluation of irrigation quality on soils mutation and pistachio yield in Anar zone. 10th Congress of Iranian Soil Science, Karaj, 355-356. (In Persian)



Evaluation of some Vegetative and Physiological Traits of Domestic Pistachio Seedlings in Controlled Crosses with Integerrima Pollen Grains in Order to Access Drought Tolerant Genotypes

H. Farhadi¹- M. Sharifani^{2*}- M. Alizadeh³- H. Hokmabadi⁴- S. Aliniaiefard⁵

Received: 15-04-2020

Accepted: 27-05-2020

Introduction: Agriculture of Iran is known worldwide for its pistachio (*Pistacia vera* L.) and is one of the most important non-oil exports. Therefore, attempts to improve the yield can be one of the primary goals in the pistachio industry in Iran. Due to the drought problem in Iran, increasing the cultivation area to increase production may not be a good option. Therefore, the purpose of this study was to compare the drought tolerance of different pistachio seedlings from open pollination and pollinated with domestic species pollen and controlled crosses using integerrima pollen in order to find the most tolerant genotypes.

Materials and Methods:

The first step: Controlled pollination and hybrid seed production In order to produce hybrid seeds, a controlled pollination using integerrima pollen grains at Razavi Pistachio Research Institute was conducted for five cultivars; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkkeh Hosseini, Garmeh and Fandoghi. Each replication had a tree and from each tree, seven branches were selected that had at least three to four flower buds and four branches from it for controlled pollination, two branches for open pollination and a branch was considered for negative control. Before the flower clusters were fully opened, 70% alcohol was sprayed on the branches to prevent the possibility of unwanted pollen. In order to ensure controlled pollination, in the bud swelling stage, the branches were isolated by double-layered bags measuring 30 × 45 cm. Pollen was collected from the Arzooieh area of Kerman province to select the male parent of integerrima. Then, a combination of flour and integerrima pollen (1:1 ratio) was injected into the insulating bags and pollination was performed. In late summer, hybrid seeds were harvested.

The second stage: Drought resistance test of hybrids obtained from first step The experiment was conducted as factorial based on a Completely Randomized Design with four replications at the research greenhouse located in Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources during 2019-2020. The treatments were consisted of ten pistachio genotypes; Ahmad Aghaei, Akbari, Sorkkeh Hosseini, Garmeh, Fandoghi and (hybrids between integerrima as the pollinizer and genotypes of Ahmad Aghaie, Akbari, Sorkkeh Hosseini, Garmeh and Fandoghi were applied as the maternal parent 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 seedlings for 84 days. Seeds obtained from free and controlled pollination were planted in pots with a diameter of 33 cm and a height of 35 cm on April 6, 2017. Three seeds were planted in each experimental unit, and after planting and ensuring establishment, the number of plants in the pot was reduced to the final level of one in each pot. Each replication was consisted of four experimental units or four pots, and each pot was contained a plant. At the end of the experiment, growth and physiological parameters were measured. Statistical analysis of the results was performed using SAS 9.1 software.

Results and Discussion: Results of statistical analysis showed drought stress had a significant effect on leaf number, stem length, root length, leaf relative water content, electrolyte leakage, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, and leaf and root proline content. With increasing drought levels, all traits except root length, electrolyte leakage and proline content were reduced in comparison with control. Sorkkeh Hosseini × integerrima, Ahmad Aghaei × integerrima, Akbari × integerrima interactions and genotypes of fandoghi and

1, 2 and 3- Ph.D. Student and Assistant Professors, Department of Horticultural Science, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, respectively.

(*- Corresponding Author Email: mmsharif2@gmail.com)

4- Assistant Professor, Pistachio Research center, Agricultural Research Education and Extension Organization of Semnan Province, Dameghan Center, Iran

5- Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Tehran, Iran

fandoghi × integerrima interaction were superior in the most of traits by drought, respectively. Based on the results it seems hybrids of Sorkhe Hosseini × integerrima, Ahmad Aghaei × integerrima and Akbari × integerrima crosses will be used as genotypes with dry-tolerant genes to modify cultivars in arid regions.

Keywords: Drought stress, Electrolyte leakage, Leaf relative water content, Proline