

۱ بررسی فعالیت فتوسیستم II در دو ژنوتیپ بادام تحت تنش خشکی با کاوش در آزمون OJIP

۲ مسعود فتاحی - شیرین نصراله پور مقدم

۳ دانشکده کشاورزی شهرکرد

۴ چکیده:

۵ به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر روی دو رقم بادام، از فلور سانس کلروفیل به عنوان یک نشانگر زیستی برای
۶ ارزیابی فتوسیستم II و پاسخ رشدی استفاده شد. در این تحقیق واکنش دو رقم بادام ربیع و مامایی پیوند شده بر
۷ روی پایه GN15، به رژیم‌های آبیاری (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان شاهد و ۸۰ درصد، ۶۰ درصد و ۴۰
۸ درصد ظرفیت زراعی) در آزمایشی گلدانی و گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار
۹ مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد محدود کردن آب آبیاری باعث کاهش وزن تر و خشک کل گیاهان و
۱۰ همچنین غلظت کلروفیل a ، b و کل گردید. همچنین حداکثر فلورسانس (F_m)، حداکثر فلورسانس متغیر (F_v)،
۱۱ حداکثر عملکرد کوانتمی فتوسیستم II (F_v/F_m) و شاخص عملکرد (PI) در اثر تنش خشکی کاهش یافت. میزان
۱۲ کلروفیل a ، کل و کارتنوئیدها و همچنین وزن تر و خشک کل به ترتیب به میزان ۱۷، ۱۶، ۲۵، ۱۶ و ۱۴ درصد و
۱۳ شاخص‌های فلورسانس کلروفیل (F_m ، F_v و F_v/F_m) در رقم مامایی بیشتر از رقم ربیع بود. فلورسانس متغیر نسبی
۱۴ (V_j) در اثر تنش خشکی افزایش یافت و شدت فلورسانس کلروفیل (F_i و F_j) تحت تاثیر برهمکنش تنش خشکی و
۱۵ رقم قرار گرفت. در بررسی ماتریکس همبستگی رابطه قوی بین شاخص عملکرد (PI) و محتوای کلروفیل کل و وزن
۱۶ تر و خشک کل گیاه وجود داشت. به طور کلی تغییر در فلورسانس پایه مامایی نسبت به پایه ربیع کمتر بود و غلظت
۱۷ کلروفیل a و میزان وزن تر و خشک این رقم در این آزمایش بیشتر بود. طبق نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد رقم
۱۸ مامایی نسبت به ربیع دارای تحمل بیشتری در برابر محدودیت آبیاری می‌باشد.

۱۹ **کلمات کلیدی:** فلورسانس، کلروفیل، کم آبی، همبستگی

۲۰ مقدمه:

۲۱ بادام (*Prunus dulcis* Mill.) یکی از درختان میوه مقاوم به کم آبی است. انتخاب ارقام بادام مناسب در مناطق
۲۲ خشک و نیمه خشک مانند ایران به منظور تولید بهینه محصول اهمیت زیادی دارد و می‌تواند یکی از راه‌کارهای مهم
۲۳ و پایدار در حفظ و توسعه باغبانی باشد (Cirio, 1997). آنچه که واضح و مبرهن است تفاوت بین ژنوتیپ‌های مختلف
۲۴ بادام در برابر تنش‌های محیطی مانند خشکی است (Barzegar et al., 2012). بنابراین بررسی و مقایسه ارقام
۲۵ مختلف در مواجهه با تنش کم آبی به منظور یافتن بهترین رقم برای این شرایط ضروری می‌باشد.
۲۶ محدودیت آب یکی از مشکلات عمده در بخش کشاورزی است که باعث ایجاد محدودیت در گسترش کشت و کار

گیاهان شده است. علاوه بر این خشکی پدیده‌ای بحرانی و اجتناب ناپذیر است که همه ساله در بخش‌های مختلف دنیا به طور متفاوتی با توجه به دامنه و شدت آن به تولید محصولات مختلف از جمله بادام آسیب وارد می‌کند. واکنش گیاهان به محدودیت آب معمولاً از طریق شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی (Fathi *et al.*, 2017) رخ می‌دهد. از طرف دیگر کم‌آبی مانع از رشد و نمو گیاه شده و به طور مستقیم بر فرآیندهای فتوسنتزی تاثیر دارد که باعث محدودیت‌های فیزیولوژیکی و کاهش شدید در عملکرد گیاه می‌شود (Jimenez *et al.*, 2020).

فتوسنتز فرآیندی است که طی آن گیاهان و سایر موجودات فتوسنتزکننده انرژی تابشی را به شکل شیمیایی پایدار تبدیل می‌کنند. مسیر این انتقال انرژی پیچیده است و مکانیسم‌های فیزیکی و شیمیایی مختلفی را در بر می‌گیرد. بسیاری از اجزاء این فرایند، زمانی آغاز می‌شود که نور توسط مولکول‌های آنتن در غشاءهای فتوسنتزی جذب شود. انرژی جذب شده به عنوان انرژی محرک یا در مرکز واکنش به دام می‌افتد و یا برای انجام کارهای مفید شیمیایی استفاده می‌شود. در غیر اینصورت بیشتر این انرژی بصورت گرما و مقدار کمتری بصورت تشعشعات فلورسانس ساطع می‌گردد (Pstrasser *et al.*, 2001). غلظت کلروفیل تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و سرما کاهش پیدا می‌کند که علت آن تخریب اجزای پروتئینی و لیپیدی غشای تیلاکوئیدی (Hu *et al.*, 2006) یا کاهش عناصر غذایی جهت سنتز کلروفیل و یا افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده کلروفیل مانند کلروفیل‌لاز است (Hussain *et al.*, 2008; Parvaiz *et al.*, 2008). در این میان فتوسیستم II که نقش مهمی در فتوسنتز و واکنش‌های نوری گیاهان در شرایط تنش دارد اولین بخشی است که به تنش‌های محیطی واکنش می‌دهد (Baker, 1991) به همین دلیل آپوستولورا و همکاران (Apostolova *et al.*, 2008) بیان کردند که در زنجیره انتقال الکترون، فتوسیستم II نسبت به فتوسیستم I در برابر تنش‌های محیطی حساس‌تر است. یکی از دلایل حساسیت بیشتر فتوسیستم II وجود کمپلکس تجزیه کننده آب در این فتوسیستم می‌باشد. فلورسانس کلروفیل به عنوان بازتاب واکنش‌های ابتدایی فتوسنتز یک شاخص معتبر برای تشخیص تغییرات القایی در سیستم فتوسنتزی است که ارزیابی آن نیاز به آسیب به بافت و تخریب آن ندارد (Mehata *et al.*, 2010). استفاده از فلورسانس کلروفیل به منظور مطالعه شرایط فتوسنتزی در تنش‌های شوری و خشکی در گیاهان مختلف از جمله پسته انجام شده است (Yaman *et al.*, 2008; Zlatey, 2009; Shamshiri and Fattahi, 2016). در بررسی تکنیک‌های فلورسانس کلروفیل به منظور شناسایی ژنوتیپ‌ها متحمل برنج در برابر تنش سرمایی، نتایج نشان داد فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، فلورسانس حداکثر (Fo) و انتقال الکترون کاهش یافت. همچنین ارقام دارای تحمل بیشتر کمترین تغییرات را در پارامترهای فلورسانس نشان دادند (Hassani *et al.*, 2014). در مطالعه دیگر تاثیر تنش شوری بر فعالیت فتوسیستم II پایه‌های مختلف پسته بررسی گردید که نتایج نشان داد در اثر تنش شوری شاخص‌های وزن خشک کل، کلروفیل کل، Fm، Fv، Fv/Fm و PI کاهش یافت (Shamshiri and Fattahi, 2016). فتحی و همکاران (Fathi *et al.*, 2019) گزارش کردند که نهال‌های بادام روی پایه GN15 می‌توانند تنش ملایم را تحمل کنند اما تنش شدید در مدت زمان طولانی رشد نهال را تحت تاثیر

۱ قرار می‌دهد و پاسخ شدی در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود. همچنین اظهار داشتند که فلور سانس کلروفیل یک
 ۲ معیار مناسب برای تعیین اثر تنش خشکی در بادام می‌باشد. با توجه به اهمیت واکنش‌های نوری در گیاهان و تاثیر
 ۳ آن بر ماده خشک، همچنین اثرات مخرب تنش خشکی بر فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی، پژوهش حاضر باهدف
 ۴ بررسی تاثیر رژیم‌های مختلف آبیاری بر وضعیت فلور سانس کلروفیل، غلظت رنگدانه‌های گیاهی و ماده خشک ارقام
 ۵ بادام ربیع و مامایی در مرحله دانه‌الی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها:

۷ این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو عامل رقم بادام در دو سطح (رقم ربیع و مامایی)
 ۸ و تنش خشکی در چهار سطح (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به عنوان شاهد و ۸۰ درصد، ۶۰ درصد و ۴۰ درصد ظرفیت
 ۹ زراعی) با سه تکرار اجرا شد. از جنس پرونوس پایه GN15 دارای پیوندک ربیع و مامایی (تهیه شده از مرکز تولید
 ۱۰ نهال‌های رویشی درختان میوه شهرستان سامان، شهرکرد) هم‌سن (۲ ماهه) و یکنواخت از نظر ظاهری انتخاب و ۱۵
 ۱۱ عدد از هر کدام، در گلدان‌های ۷ لیتری پرشده با مخلوطی از خاک مزرعه و ماسه (دارای اسیدپته ۷/۴، هدایت
 ۱۲ الکتریکی ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر) به نسبت برابر کاشته (یک گیاه در هر گلدان و هر ۵ گیاه، یک تکرار در نظر گرفته
 ۱۳ شد) و برای سه ماه در شرایط گلخانه‌ای واقع در مرکز تولید نهال‌های رویشی درختان میوه در شهرستان سامان با
 ۱۴ دمای 28 ± 5 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی ۳۷/۷ درصد و شدت نور میانه روز 10 ± 43 کیلولوکس
 ۱۵ نگهداری و آبیاری شدند. تنش خشکی سه ماه پس از انتقال نهال‌ها به گلدان، به روش محدودیت در میزان آب
 ۱۶ آبیاری در سه سطح ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد از ظرفیت زراعی خاک به مدت ۴۰ روز در شرایط گلخانه اعمال شد و گیاهان
 ۱۷ شاهد با ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. فلور سانس کلروفیل ۴۰ روز بعد از اعمال تنش خشکی در برگ‌های
 ۱۸ کاملا توسعه یافته گیاه اندازه‌گیری شد. به این منظور از دستگاه برر سی کارایی فتوسنتز (Hansatech, United
 ۱۹ Kingdom) استفاده شد. برگ گیاه با استفاده از گیره‌های مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند بعد از
 ۲۰ سازگاری با تاریکی، سنسور دستگاه برای اندازه‌گیری روی برگ نصب شد. فلور سانس حداقل (Fo) با همهی مراکز
 ۲۱ واکنشی باز فتوسینتیم II، توسط نور با شدت پایین ($0.1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) و فلور سانس حداکثر (Fm) با تابش پالس
 ۲۲ اشباع نوری ($8000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) به مدت یک ثانیه در برگ‌های سازگار به تاریکی تعیین شد. فلور سانس گذرا با
 ۲۳ توجه به معادلات زیر تست JIP تجزیه و تحلیل شدند (Strasser et al., 2000; Pstrasser et al., 2001;
 ۲۴ Strasser et al., 2004). پارامترهای بیوفیزیکی توسط نرم‌افزار (Hansatech, United Kingdom) محاسبه
 ۲۵ شدند.

۲۶ F_0 (F50 μS)¹ رابطه ۱

¹ Minimal fluorescence, when all PSII RCs are open

- ۱ $F_v = F_m - F_0$ ² رابطه ۲
- ۲ $VJ = (FJ - F_0)/(F_m - F_0)$ ³ رابطه ۳
- ۳ $PI = (RC/ABS) [(TR_0/ABS)/(F_0/F_m)] [(ET_0/TR_0)/VJ]$ ⁴ رابطه ۴
- ۴ $QEO = ET_0/ABS = [1 - (F_0/F_m)]\psi_0$ ⁵ رابطه ۵
- ۵ به منظور بررسی وزن تر و میزان تولید ماده خشک، گیاهان هر تکرار برداشت و در سه قسمت برگ، ساقه و ریشه
- ۶ توزین و برای اندازه‌گیری وزن خشک، در پاکت‌های کاغذی بسته بندی و در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به
- ۷ مدت ۷۲ ساعت قرار گرفته و پس از خشک شدن وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان تنش برای اندازه‌گیری محتوای
- ۸ کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها به‌طور تصادفی از برگ‌های بالغ و جوان هر گیاه در سه تکرار نمونه‌برداری شد و میزان
- ۹ کلروفیل a، b و کلروفیل کل با استفاده از روش لیختنتالر (Lichtenthaler, 1987) از طریق عصاره‌گیری با استون
- ۱۰ اندازه‌گیری شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instruments, T80 UV/VIS) در طول
- ۱۱ موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و مقدار رنگیزه‌ها براساس معادلات زیر محاسبه گردید.

۱۲ $Chla (mg.g^{-1} fw) = \{12.25 (A_{663.2}) - 2.79 (A_{646.8})\} \times V/1000 \times W$

۱۳ $Chlb (mg.g^{-1} fw) = \{25.51 (A_{646.8}) - 5.10 (A_{663.2})\} \times V/1000 \times W$

۱۴ $ChT (mg.g^{-1} fw) = Chlb + Chla$

۱۵ $Car (mg.g^{-1} fw) = [(1000 (A_{470}) - 1.8 (chla) - 85.02 (chlb)) / 198]$

۱۶ تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS²⁵ و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

۱۷ در سطح ۵ درصد ($P < 0.05$) صورت گرفت.

۱۸ نتایج و بحث:

- ۱۹ مقایسه میانگین‌ها در این آزمایش نشان داد وزن تر و خشک کل گیاه تحت تاثیر رقم و تنش خشکی قرار گرفت
- ۲۰ (جدول ۱). وزن تر و خشک کل در گیاهان رقم مامایی (به ترتیب ۳۱/۷ و ۲۰/۴ گرم) نسبت به گیاهان رقم ربیع (به
- ۲۱ ترتیب ۲۶/۷ و ۱۷/۶ گرم) بیشتر بود و در اثر اعمال محدودیت آبیاری وزن تر و خشک کاهش یافت و کمترین وزن
- ۲۲ تر و خشک کل مربوط به تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب با میانگین ۱۷/۳ و ۱۱/۲ گرم بود. محتوای
- ۲۳ کلروفیل a و کل در رقم مامایی بیشتر از رقم ربیع بود و مقدار کلروفیل a، b و کل در اثر تنش خشکی در سطوح ۶۰ و
- ۲۴ ۴۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش یافت. در سطوح تنش خشکی ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی میزان کلروفیل a، به
- ۲۵ ترتیب با میانگین ۴/۲۵ و ۲/۸۲ و کلروفیل کل به ترتیب با میانگین ۵/۵۹ و ۳/۸۱ میلی گرم در گرم وزن خشک

^۲ Maximal variable fluorescence

^۳ Relative variable fluorescence at the J_step

^۴ Performance index for energy conservation from photons absorbed by PSII antenna, to the reduction of QB

^۵ Probability that an absorbed photon will move an electron into electron transport further than QA

۱ دارای تفاوت معنی‌دار بودند. کم‌ترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل در سطح ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده
 ۲ شد. غلظت کارتنوئیدها در رقم ربیع (۱/۹۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) نسبت به رقم مامایی (۲/۶۲ میلی‌گرم در
 ۳ گرم وزن خشک) کمتر بود و تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر محتوای کارتنوئیدهای برگ نداشت. از یافته‌های قبلی
 ۴ استنباط می‌شود که واکنش ژنوتیپ‌های مختلف در برابر تنش‌های محیطی متفاوت است که به ساختار ژنتیکی آن‌ها
 ۵ برمی‌گردد (Karimi et al., 2015). بنابراین تفاوت ارقام مامایی و ربیع در شاخص‌های مختلف نیز ممکن است به
 ۶ دلیل تفاوت در ساختار ژنتیکی آن‌ها باشد. از طرف دیگر پاسخ‌های رشدی نهال‌ها به تنش کم آبی بصورت تغییر در
 ۷ سطح برگ، طول و تراکم ریشه و وزن تر و خشک اندام‌ها می‌باشد که یکی از علت‌های آن بسته شدن روزنه‌ها و
 ۸ کاهش تبادلات گازی و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌باشد (Yadollahi et al., 2011). یکی از عکس‌العمل‌های
 ۹ مهم ارقام بادام در برابر تنش آبی به‌ویژه در سطوح شدید آن، ریزش برگ و کاهش سطح برگ می‌باشد که می‌تواند
 ۱۰ باعث کاهش وزن تر و خشک گیاهان تحت تیمار نسبت به گیاهان شاهد شود (Levitt, 1980; Bacelar et al.,
 ۱۱ 2006). نتایج این پژوهش در ارتباط با کاهش ماده خشک با مطالعات گذشته بر روی بادام مطابقت دارد (Ali et
 ۱۲ al., 2011; Rieger et al., 2003; Fathi et al., 2019). کاهش در محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل
 ۱۳ کاهش سنتز کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده کلروفیل (کلروفیلاز) و تخریب مولکولی کلروفیل به
 ۱۴ علت جدا شدن زنجیره فیتولی از حلقه پورفیرین در اثر تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. از طرفی ممکن است
 ۱۵ کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی به علت تخریب غشاء کلروپلاست و تیلاکوئیدها باشد (Parvaiz and Satyawat,
 ۱۶ 2008; Hussain et al., 2008; Hussain et al., 2009).
 ۱۷ شاخص‌های F_v/F_m و F_v ، F_m تحت تاثیر برهمکنش تیمارهای رقم و محدودیت در آبیاری قرار گرفتند (جدول ۲).
 ۱۸ در اثر تنش خشکی F_v/F_m و F_v ، F_m در هردو رقم ربیع و مامایی کاهش یافت و کمترین مقدار آن‌ها در سطح
 ۱۹ تنش شدید (۴۰٪ ظرفیت زراعی) مشاهده شد. نتایج نشان داد در اثر تنش خشکی و در هردو رقم ربیع و مامایی
 ۲۰ F_m کاهش یافت که با نتایج آزمایشات گذشته در برنج تحت تنش شوری (Yaman et al., 2008)، پسته تحت
 ۲۱ تنش شوری (Shamshiri and Fattahi, 2016) و برنج تحت تنش خشکی (Hassani et al., 2014) مطابقت
 ۲۲ دارد. علت کاهش F_m ممکن است به دلیل کاهش فعالیت کمپلکس آنزیم تجزیه‌کننده آب و همچنین چرخه انتقال
 ۲۳ الکترون در درون یا اطراف فتوسیستم II باشد (Zlatev, 2009; Yao et al., 2018). فلورسانس متغیر یا F_v که
 ۲۴ وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به پلاستوکوئینون (Q_A) را نشان می‌دهد (Xia et al., 2004) از
 ۲۵ اختلاف فلورسانس حداکثر (F_m) با فلورسانس حداقل (F_o) محاسبه می‌شود. کاهش در فلورسانس متغیر در اثر تنش
 ۲۶ خشکی ممکن است به دلیل کند شدن جریان الکترون از فتوسیستم II باشد. همچنین V_j در اثر اعمال تنش خشکی
 ۲۷ افزایش یافت که می‌تواند به علت کاهش Q_A کل و اکسیداسیون پایین Q_A^- (کاهش سرعت اکسیداسیون مجدد
 ۲۸ Q_A) در اثر تنش خشکی باشد (Strasser et al., 2004).

- ۱ در این آزمایش کاهش شاخص Fv/Fm که نشان‌دهنده حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II برای تبدیل انرژی نورانی به شیمیایی است، اتفاق افتاد که با نتایج آزمایشات دیگر بر روی برنج در اثر تنش خشکی (Hassani *et al.*, 2014) و پسته در اثر تنش شوری (Shamshiri and Fattahi, 2016) مطابقت دارد.
- ۲
- ۳

جدول ۱: مقایسه میانگین‌های اثرات ساده ارقام بادام و سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مطالعه شده

Table 1: Comparison of the mean effects of almond cultivars and different levels of drought stress on the studied traits

تیمارها	حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسنتز II Fv/Fm	حداکثر فلورسانس متغیر Fv	حداکثر فلورسانس Fm	کارتوتنید Car (mg.g ⁻¹ DW)	کلروفیل کل T Ch (mg.g ⁻¹ DW)	کلروفیل b Ch b (mg.g ⁻¹ DW)	کلروفیل a Ch a (mg.g ⁻¹ DW)	وزن خشک کل TDW (g)	وزن تر کل TFW (g)
رقم									
Cultivar									
ربیع Rabie	0.41 ^b	5744 ^b	11235 ^b	1.96 ^b	5.51 ^b	1.45 ^{ns}	4.06 ^b	17.6 ^b	26.7 ^b
مامایی Mamaei	0.60 ^a	9195 ^a	14044 ^a	2.62 ^a	6.60 ^a	1.68 ^{ns}	4.92 ^a	20.4 ^a	31.7 ^a
تنش خشکی									
Drought stress									
100% FC	0.77 ^a	12276 ^a	17781 ^a	2.46 ^{ns}	7.43 ^a	2.00 ^a	5.43 ^a	25.9 ^a	38.0 ^a
80% FC	0.60 ^b	7125 ^b	13559 ^b	2.34 ^{ns}	7.39 ^a	1.93 ^a	5.46 ^a	22.2 ^a	34.4 ^a
60% FC	0.45 ^c	7940 ^b	11850 ^b	2.38 ^{ns}	5.59 ^b	1.35 ^b	4.25 ^b	16.5 ^b	27.3 ^b
40% FC	0.18 ^d	2539 ^c	7369 ^c	1.99 ^{ns}	3.81 ^c	0.99 ^b	2.82 ^c	11.2 ^c	17.3 ^c

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using Duncan test

جدول ۲: مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ارقام بادام و سطوح مختلف تنش خشکی بر صفات مطالعه شده

Table 2: Comparison of the interaction effects of almond cultivars and different levels of drought stress on the studied traits

تیمارها	رقم × تنش خشکی	حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II Fv/Fm	حداکثر فلورسانس متغیر Fv	حداکثر فلورسانس Fm	کارتنوئید Car (mg.g ⁻¹ DW)	کلرفیل کل T Ch (mg.g ⁻¹ DW)	کلرفیل b Ch b (mg.g ⁻¹ DW)	کلرفیل a Ch a (mg.g ⁻¹ DW)	وزن خشک کل TDW (g)	وزن تر کل TFW (g)
Cultivar × Drought stress										
ربیع Rabie	100% FC	0.75 ^a	10781 ^b	17325 ^a	2.24 ^{ns}	7.08 ^{ns}	2.02 ^{ns}	5.05 ^{ns}	25.1 ^{ns}	35.6 ^{ns}
	80% FC	0.53 ^b	7149 ^c	15338 ^{ab}	2.21 ^{ns}	6.47 ^{ns}	1.67 ^{ns}	4.80 ^{ns}	19.1 ^{ns}	31.1 ^{ns}
	60% FC	0.21 ^c	3097 ^d	5426 ^d	2.21 ^{ns}	5.52 ^{ns}	1.42 ^{ns}	4.10 ^{ns}	16.1 ^{ns}	26.3 ^{ns}
	40% FC	0.14 ^c	1950 ^d	6852 ^d	1.19 ^{ns}	2.98 ^{ns}	0.68 ^{ns}	2.30 ^{ns}	9.9 ^{ns}	14.0 ^{ns}
مامایی Mamaei	100% FC	0.79 ^a	13770 ^a	18236 ^a	2.67 ^{ns}	7.79 ^{ns}	1.97 ^{ns}	5.81 ^{ns}	26.7 ^{ns}	40.4 ^{ns}
	80% FC	0.67 ^a	7101 ^c	11781 ^{bc}	2.47 ^{ns}	8.30 ^{ns}	2.18 ^{ns}	6.12 ^{ns}	25.4 ^{ns}	37.8 ^{ns}
	60% FC	0.70 ^a	12783 ^a	18273 ^a	2.56 ^{ns}	5.67 ^{ns}	1.27 ^{ns}	4.40 ^{ns}	16.9 ^{ns}	28.3 ^{ns}
	40% FC	0.23 ^c	3128 ^d	7887 ^{cd}	2.79 ^{ns}	4.63 ^{ns}	1.29 ^{ns}	3.34 ^{ns}	12.5 ^{ns}	20.5 ^{ns}

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using Duncan test

۱ شاخص F_v/F_m به‌طور گسترده برای ارزیابی اختلالات ناشی از تنش در مرکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری
 ۲ استفاده شده است (Baker and Rosenqvist, 2004; Li *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2008; Shamschiri and Fattahi, 2016).
 ۳ نتایج این پژوهش نشان داد F_v/F_m و F_v در رقم مامایی نسبت به رقم ربیع بیشتر بود. با کاهش
 ۴ سرعت فعالیت فتوسنتزی و تثبیت CO_2 در اثر تنش خشکی، میزان انرژی لازم نیز کاهش می‌یابد که منجر به
 ۵ کاهش سرعت انتقال الکترون در زنجیره می‌شود (Zlatev *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2017). بنابراین ارقامی که
 ۶ سرعت انتقال الکترون در آن‌ها بهتر است و در اثر تنش خشکی کمتر کاهش پیدا می‌کند سرعت فتوسنتز بیشتری
 ۷ دارند و شرایط کم‌آبی را بهتر تحمل می‌کنند. نتایج این آزمایش تا حد زیادی با نتایج به‌دست آمده از تجزیه به
 ۸ مولفه‌های اصلی (شکل ۱ و ۲) صفات رویشی و محتوای کلروفیل a ، b و کل همخوانی دارد.

۹ در بررسی شاخص عملکرد نتایج نشان داد، PI (شاخص عملکرد برای نگهداری انرژی از فتون‌های جذب شده توسط
 ۱۰ فتوسیستم II، جهت احیای Q_B) در پایه مامایی با میانگین $3/19$ به‌طور معنی‌داری نسبت به پایه ربیع با میانگین
 ۱۱ $1/35$ بیشتر بود (جدول ۳). شاخص عملکرد به شدت تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت و سطح شدید تنش باعث
 ۱۲ کاهش ۹۵ درصدی این شاخص نسبت به شاهد گردید. PI یک پارامتر مفید برای ارزیابی فعالیت دستگاه فتوسنتزی
 ۱۳ به‌شمار می‌رود و بیشتر بودن این شاخص، به بیشتر بودن محتوای کلروفیل نسبت داده‌شده است
 ۱۴ (Tsimilli_Michael *et al.*, 2000). F_v/F_0 در پایه ربیع کمتر از پایه مامایی بود و اختلاف آن‌ها از نظر آماری
 ۱۵ معنی‌دار بود. از طرف دیگر سطوح مختلف کم‌آبایی باعث کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به شاهد شد (جدول
 ۱۶ ۳). شاخص‌های F_i و F_j که برآوردهایی از فلور سانس را نشان می‌دهند تحت تاثیر اثرات متقابل تیمارها بودند و F_j
 ۱۷ در اثر تنش خشکی کاهش یافت و کمترین مقدار آن در در رقم ربیع تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی ثبت گردید.
 ۱۸ واکنش تجزیه آب که در فتوسیستم II انجام می‌شود به شاخص F_v/F_0 نسبت داده شده و به شدت تحت تاثیر تنش
 ۱۹ خشکی به ویژه در پایه ربیع قرار گرفت. حساس‌ترین جزء زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی کمپلکس تجزیه آب
 ۲۰ است که به شدت تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت و کاهش این نسبت می‌تواند ناشی از اختلال در انتقال الکترون
 ۲۱ فتوسنتزی باشد (Pereira *et al.*, 2000). فلور سانس متغیر نسبی (V_j) تنها تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفت و
 ۲۲ مقدار آن در اثر اعمال محدودیت آبیاری افزایش یافت (جدول ۴). شاخص‌های QE_0 در رقم مامایی بیشتر از ربیع بود
 ۲۳ و هر دو در اثر تنش خشکی نسبت به شاهد کاهش یافتند و بیشترین کاهش در سطح شدید تنش خشکی دیده شد.
 ۲۴ در شاخص RC/ABS اثر متقابل رقم و تنش خشکی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود و کم‌ترین میزان آن
 ۲۵ در تیمار ربیع و ۴۰ درصد تنش خشکی با میانگین $0/19$ مشاهده شد که با سطح ۶۰ درصد تنش خشکی در رقم ربیع
 ۲۶ و ۴۰ درصد تنش خشکی در رقم مامایی تفاوت معنی‌داری نداشت. QE_0 نشان‌دهنده انتقال الکترون به دلیل جذب
 ۲۷ یک فتون است که باعث انتقال الکترون از Q_A می‌شود و کاهش آن در اثر تنش خشکی نشان‌دهنده کاهش در انتقال
 ۲۸ الکترون فتوسنتزی است (Shamschiri and Fattahi, 2016). شار جذبی در هر مرکز واکنش RC/ABS در اثر
 ۲۹ تنش خشکی کاهش یافت که می‌تواند به دلیل آسیب به مراکز واکنش، به‌ویژه فتوسیستم II باشد.

جدول ۳: اثرات ساده تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس حاصل از داده‌های استخراج شده از دو رقم بادام، ۴۰ روز پس از شروع تنش خشکی

Table 2: Simple effect of drought stress on the fluorescence parameters derived from the extracted data of two almond cultivars 40 days after drought stress commencement

تیمارها	شار جذبی در هر مرکز وا کنش RC/ABS	QE0	فلورسانس متغیر نسبی Vj	فلورسانس در حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی ثانیه Fi	فلورسانس در ۲ میلی ثانیه Fj	نسبت متغیر های Fv/ F0	شاخص عملکرد PI
رقم							
Cultivar							
ربیع Rabie	0.84 ^b	0.28 ^b	0.52 ^{ns}	10684 ^{ns}	7267 ^{ns}	1.15 ^b	1.35 ^b
مامایی Mamaei	1.43 ^a	0.41 ^a	0.39 ^{ns}	11902 ^{ns}	7530 ^{ns}	2.05 ^a	3.19 ^a
تنش خشکی							
Drought stress							
100% FC	2.34 ^a	0.57 ^a	0.26 ^b	13177 ^{ns}	7598 ^{ns}	3.06 ^a	5.61 ^a
80% FC	1.08 ^b	0.37 ^b	0.35 ^b	11114 ^{ns}	8581 ^{ns}	1.49 ^b	2.00 ^b
60% FC	0.88 ^b	0.30 ^b	0.50 ^{ab}	10499 ^{ns}	7294 ^{ns}	1.44 ^b	1.17 ^c
40% FC	0.25 ^c	0.13 ^c	0.72 ^a	10383 ^{ns}	6120 ^{ns}	0.41 ^c	0.28 ^d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند
Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using Duncan test

جدول ۴: اثر متقابل تنش خشکی بر پارامترهای فلورسانس حاصل از داده‌های استخراج شده از دو رقم بادام، ۴۰ روز پس از شروع تنش خشکی

Table 4: Interaction effect of drought stress on the fluorescence parameters derived from the extracted data of two almond cultivars 40 days after drought stress commencement

تیمارها	شار جذبی در هر مرکز وا کنش RC/ABS	QE0	فلورسانس متغیر نسبی Vj	فلورسانس در حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی‌ثانیه Fi	فلورسانس در ۲ میلی ثانیه Fj	نسبت متغیر های Fv/ F0	شاخص عملکرد PI	
رقم × تنش خشکی								
Cultivar × Drought stress								
ربیع Rabie	100% FC	1.82 ^b	0.53 ^{ns}	0.28 ^{ns}	13918 ^a	8079 ^{ab}	2.39 ^b	3.93 ^b
	80% FC	1.03 ^c	0.33 ^{ns}	0.40 ^{ns}	12445 ^{ab}	10228 ^a	1.39 ^c	1.06 ^{de}
	60% FC	0.33 ^d	0.16 ^{ns}	0.64 ^{ns}	5491 ^b	4521 ^b	0.51 ^d	0.27 ^e
	40% FC	0.19 ^d	0.09 ^{ns}	0.77 ^{ns}	10882 ^{ab}	6240 ^b	0.29 ^d	0.13 ^e
مامایی Mamaei	100% FC	2.86 ^a	0.61 ^{ns}	0.23 ^{ns}	12435 ^{ab}	7118 ^{ab}	3.73 ^a	7.30 ^a
	80% FC	1.12 ^c	0.42 ^{ns}	0.30 ^{ns}	9782 ^{ab}	6934 ^{ab}	1.59 ^c	2.95 ^{bc}
	60% FC	1.44 ^{bc}	0.45 ^{ns}	0.36 ^{ns}	15507 ^a	10067 ^a	2.36 ^b	2.07 ^{cd}
	40% FC	0.32 ^d	0.18 ^{ns}	0.66 ^{ns}	9885 ^{ab}	6000 ^b	0.52 ^d	0.43 ^e

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در هر تیمار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at 5% probability level, using Duncan test

۱ ماتریس ضرایب همبستگی نشان داد همبستگی‌های زیاد و شدیدی بین فاکتورهای مختلف وجود دارد (جدول ۳).
 ۲ شاخص حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) با وزن تر و خشک به ترتیب همبستگی ۰/۷۷۶ و ۰/۷۵۱
 ۳ و با کلروفیل a، b و کل به ترتیب همبستگی ۰/۷۵۳، ۰/۶۸۴ و ۰/۷۵۴ نشان داد. بنابراین زمانی که میزان عملکرد
 ۴ کوانتومی فتوسیستم II کاهش یافته میزان شاخص‌های وزن تر و خشک و غلظت کلروفیل نیز کاهش یافته است و
 ۵ دارای رابطه همبستگی قوی می‌باشد. از طرف دیگر رابطه قوی بین شاخص عملکرد (PI) و شاخص‌های وزن تر با
 ۶ ضریب ۰/۶۸۵، وزن خشک با ضریب ۰/۶۹۵ و کلروفیل کل با ضریب ۰/۶۴۷ از نظر کاهش در شاخص‌ها ثبت گردید
 ۷ (جدول ۵).

۸ جدول ۵: ماتریس ضرایب همبستگی میان برخی صفات در شرایط تنش خشکی

۹ Table 3: Matrix of correlation coefficients between some characteristics under drought stress conditions

متغیرها	Fm	Fv	Fv/Fm	PI	QE0	Total Fw	Total Dw	Ch a	Ch b	Total Ch	Car
Fm	1.000										
Fv	0.904***	1.000									
Fv/Fm	0.866***	0.917***	1.000								
PI	0.689**	0.810**	0.797**	1.000							
QE0	0.827**	0.858***	0.901***	0.841***	1.000						
Total Fw	0.598*	0.661**	0.776**	0.685**	0.663**	1.000					
Total Dw	0.550	0.612**	0.751**	0.695**	0.661**	0.957***	1.000				
Ch a	0.532	0.590*	0.753**	0.645**	0.670**	0.848***	0.822**	1.000			
Ch b	0.453	0.481	0.684**	0.589*	0.591*	0.755**	0.764**	0.867***	1.000		
Total Ch	0.524	0.574	0.754**	0.647**	0.666**	0.845***	0.828**	0.989***	0.932***	1.000	
Car	0.359	0.369	0.382	0.364	0.534	0.377	0.304	0.501	0.517	0.520	1.000

۱۰ ****، *** و ** به ترتیب نشان‌دهنده شدت رابطه بسیار قوی، رابطه قوی و رابطه متوسط در همبستگی پیرسون است. Fm حداکثر فلورسانس، Fv حداکثر

۱۱ فلورسانس متغیر، Fv/Fm حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم II، PI شاخص عملکرد، Ch کلروفیل، Car کاروتنوئید می‌باشد.

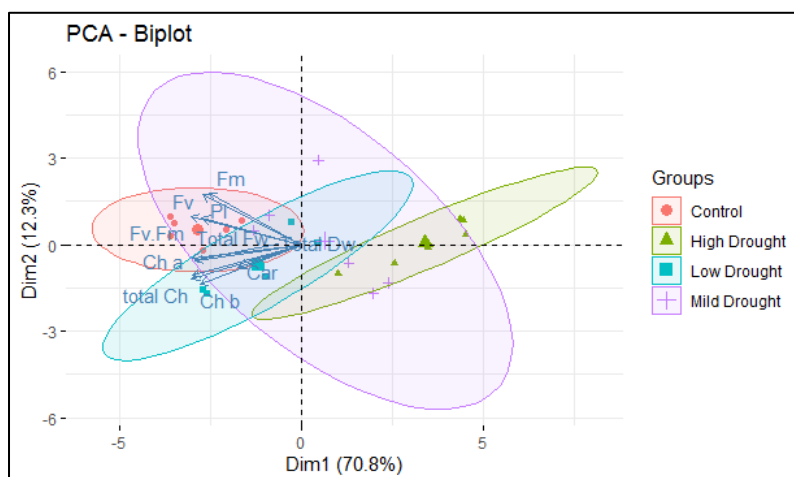
۱۲ تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد کم‌ترین محتوای کلروفیل a، b و کل و همچنین کم‌ترین میزان شاخص

۱۳ عملکرد و شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در تنش شدید خشکی وجود داشت و در مقایسه با شاهد دارای گروه

۱۴ جداگانه است اما سطح تنش خفیف و متوسط با شاهد همپوشانی دارد (شکل ۱). از طرفی تجزیه به مولفه‌ها برای هر

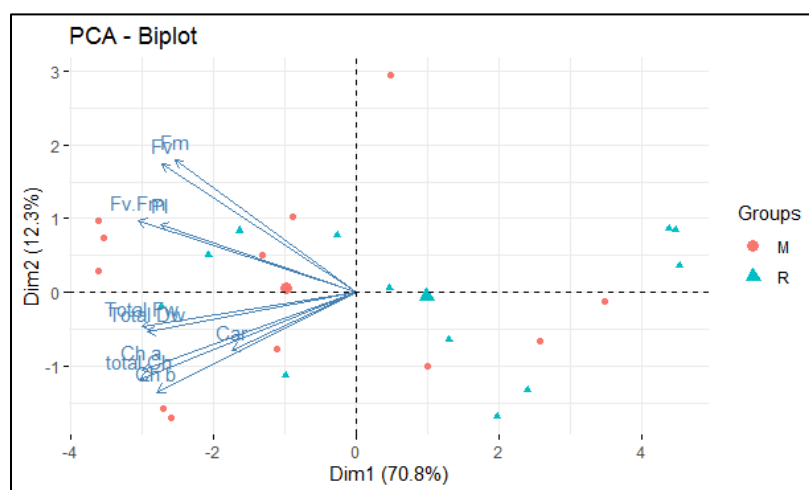
۱۵ دو رقم ربیع و مامایی نشان داد که تا حدودی رقم مامایی نسبت به رقم ربیع از نظر شاخص‌های کلروفیل فلورسانس

۱۶ ماند Fv، Fm، Fv/Fm، شاخص عملکرد (PI) و وزن تر و خشک در وضعیت بهتری قرار دارد (شکل ۲).



شکل ۱: تجزیه به مولفه‌های اصلی شاخص‌های مختلف در سطوح متفاوت تنش خشکی (شاهد، تنش کم، متوسط و شدید)

Figure 1. Principal component analysis (PCA) of different indicators at different levels of drought stress (control, Low, Mild and High)



شکل ۲: تجزیه به مولفه‌های اصلی برای صفات مختلف در دو رقم بادام (مامایی و ربیع) تحت تنش خشکی

Figure 2. Principal component analysis (PCA) for different indicators in two almond cultivars (M and R) under drought stress

نتیجه گیری

- در مجموع نتایج بیانگر حساسیت بیشتر پارامترهای فلورسانس کلروفیل برگی و شاخص ماده خشک دانه‌های ربیع نسبت به رقم مامایی بود. با توجه به این که رشد رویشی گیاه برآیندی از اسیمیلای سیون CO_2 و فتوسنتز است با افزایش شدت تنش خشکی رشد رویشی (وزن تر و خشک کل گیاه) بیشتر کاهش یافت. همچنین بیشترین میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل و همچنین شاخص PI در گیاهان شاهد وجود داشت که با افزایش شدت تنش خشکی

از مقدار آن‌ها کاسته شد (شکل ۱ و ۲). از میان دو ژنوتیپ مورد مطالعه، رقم مامایی کمترین تغییرات را در پارامترهای فلور سانس، در قبال اعمال تیمار خشکی نشان داد. حداکثر کارایی کوانتومی فتوشیمیایی فتوسینتیم II، حداکثر شاخص عملکرد و واکنش تجزیه آب در رقم مامایی نسبت به رقم ربیع بیشتر بود. بنابراین می‌توان رقم مامایی پیوند شده بر روی پایه GN15 را به عنوان ژنوتیپ متحمل‌تر نسبت به تنش خشکی در مقایسه با ربیع نام برد.

منابع:

1. Ali M.A., Jabran K., Awan S.I., Abbas A., Zulkiffal E.M., Acet T., Farooq J., and Rehman A. 2011. Morphophysiological diversity and its implications for improving drought tolerance in grain sorghum at different growth stages. *Australian Journal of Crop Science* 5:311-320.
2. Apostolova E.L., Dobrikova A.G., Ivanova P.I., and Petkanchin I.B. 2006. Relationship between the organization of the supercomplex and functions of the photosynthetic apparatus. *Journal Photochemistry Photobiology Biology* 83(2): 114-122.
3. Bacelar E.A., Santos D.L., Jose M.M.P., Goncalves B. C., Ferreira H. F., and Correia C.M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* 170: 596-605.
4. Baker N.R., and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55(403): 1607-1621.
5. Baker, N.R. 1991. A possible role for photosystem II in environmental perturbation of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 81: 563-570.
6. Barzegar K., Yadollahi A., Imani A., and Ahmadi N. 2012. Response to drought stress of almond cultivars and genotypes grown under field conditions. *International Journal of Agriculture Research and Review* 2: 205-210.
7. Cirio U. 1997. Agrochemicals and environmental impact in olives farming. *Olivea* 65:32-39.
8. Fathi H., Amiri M. E., Imani A., Hajilou J., and Nikbakht J. 2017. Response of almond genotypes/cultivars grafted on GN15 "Garnem" rootstock in deficitirrigation stress conditions. *Journal of Nuts* 8: 123-135. doi: 10.22034/jon.2017.536243.
9. Fathi H., Eimani A., Amiri E., Hajilo J., and Nikbakht J. 2019. Growth and biochemical responses of some GN15-Rootstock almond genotypes to low irrigation stress. *Plant Process and Function* 8: 29. In Persian
10. Hassani Z., Pirdashti H., Yaghoobian Y., and Nori M.Z. 2014. Application of chlorophyll fluorescence technique to evaluate the tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to cold temperature and water stresses. *Journal of Cell & Tissue (JCT) Original Article Summer* 5(2): 195-206. In Persian.
11. Hu W.H., Zhou Y.H., Du Y.S., Xia X.J., 2006. Differential response of photosynthesis in greenhouse and field ecotypes of tomato to long-term chilling under low light. *Journal Plant Physiology* 163: 1236- 1246.

12. Hussain M., Malik M.A., Farooq M., Ashraf M.Y., and Cheema A. 2008. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine and salicylic acid in sunflower. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194: 193–199.
13. Hussain M., Malik M.A., Ashraf M.Y., and Cheema A. 2009. Improving drought tolerance by exogenous application of glycinebetaine. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184: 173–179.
14. Jimenez S., Fattahi M., Bedis K., Nasrolahpour-moghadam S., Irigoyen J.J., and Gogorcena Y. 2020. Interactional effects of climate change factors on the water status, photosynthetic rate, and metabolic regulation in peach. *Frontier Plant Science* 11:43. doi: 10.3389/fpls.2020.00043
15. Karimi S., Yadollahi A., Arzani K., Imani A., and Aghaalikhani M. 2015. Gas-exchange response of almond genotypes to water stress. *Photosynthetica* 53: 29-34.
16. Levitt J. 1980. Responses of plants to environmental stresses, Volume II: Water, radiation, salt and other stresses. Academic Press, New York, 479 p.
17. Li G.M., Liu B.B., Wu Y., and Zou Z.R. 2008. Interactive effects of drought stresses and elevated CO₂ concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* 50(10): 1307-1317.
18. Li X.G., Duan W., Meng Q.W., and Zou Q. 2004. The function of chloroplastic NAD(P)H dehydrogenase in tobacco during chilling stress under low irradiance. *Plant Cell Physiology* 45(1): 103-108.
19. Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods Enzymol* vol. 148, pp. 350–382.
20. Mehata P., Jajoo A., Mathur S., and Bharti S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48(1): 16-20.
21. Parvaiz A., and Satyawati S. 2008. Salt stress and Phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environment* 54: 89-99.
22. Pereira W.E., Siqueira D.L., and Martínez C.A. 2000. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in four Citrus rootstocks under aluminium stress. *Plant Physiology* vol. 157, pp. 513–520.
23. Pstrasser R.J., Srivastava A., and Tsimilli-Michael M. 2001. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples, chapter 25. page 445.
24. Rieger M., Lo Bianco R., and Okie W.R. 2003. Response of *Prunus ferganensis*, *Prunus persica* and two interspecific hybrids to moderate drought stress. *Tree Physiology* 23:51-58.
25. Shamshiri M.H., and Fattahi M. 2016. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosystem II activity of three pistachio rootstocks under salt stress as probed by the OJIP_test. *Russ. Journal of Plant Physiology* 63 (1): 101–110.
26. Strasser R., Srivastava A., and Tsimilli-Michael M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples, in *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, Yunus, M. Pathre, U., and Mohanty, P., Eds., London, UK: Taylor and Francis pp. 445–483. 7.
27. Strasser R.J., Srivastava A., and Tsimilli-Michael M. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient, in *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*.

- Advances in Photosynthesis and Respiration, Papa_gorgiou, G.C. and Govindjee, B.K., Eds., Dordrecht: Springer_Verlag pp. 321–362.
28. Tsimilli_Michael M., Eggenberg P., and Biro B. 2000. Synergistic and antagonistic effects of arbuscular myc_ orrhizal fungi and Azospirillum and Rhizobium nitro_ gen_fixers on the photosynthetic activity of alfalfa, probed by the polyphasic chlorophyll a fluorescence transient OJIP, Appl. Soil Ecol., vol. 15, pp. 169–182.
29. Xia A., Li Y., and Zou D. 2004. Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* as probed by chlorophyll fluorescence measurements. *Aquatomy and Botany* 8: 129-137.
30. Yadollahi A., Arzani K., Ebadi A., Wirthensohn M. and Karimi, S. 2011. The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. *Scientia Horticulturae* 129: 403-413.
31. Yaman K., Kawasaki M., Taniguchi M., and Miyake H., 2008. Correlation between chloroplast ultrastructure and chlorophyll fluorescence characteristics in the leaves of rice (*Oryza sativa* L.) grown under salinity. *Plant Product Science* 11(1): 139 - 145.
32. Yao J., Sun D., Cen H., Xu H., Weng H., Yuan F., and He Y. 2018. Phenotyping of arabidopsis drought stress response using kinetic chlorophyll fluorescence and multicolor fluorescence imaging. *Frontiers in Plant Science*. 9: 603. doi: 10.3389/fpls.2018.00603
33. Zlatev Z. 2009. Drought-induced changes in chlorophyll fluorescence of young wheat plants. *Biotechnol.Biotechnol* 23(4): 438-441.
34. Zhou R., Yu X., Ottosen C.O., Rosenqvist E., Zhao L., and Wang Y. 2017. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology*. 17:24. doi: 10.1186/s12870-017-0974-x

Evaluation of Photosystem II Activity in two Almond Genotypes under Drought Stress by Exploring the OJIP Test

Introduction: Almond (*Prunus amygdalus*) is considered to be able to tolerate drought stress fairly well during all stages of growth. Water shortages are very frequent in many countries, and, together with the rising demand for the industry, the growth of the human population, climate change and specifically the trend towards irrigated agriculture, have led to widespread problems of water scarcity in most countries. Plant responses to water deprivation are usually monitored through selected morphological and physiological parameters which have been proven to be good indicators of drought in different studies. Chlorophyll a (Chl a) fluorescence, produced by the Chl a molecule after excitation by light, is a non-invasive and rapid biomarker for the assessment of stress (microbial and environmental) effects on PSII, as well as its structure and function. Fluorescence induction patterns and derived indices have been used as empirical diagnostic tools in stress physiology. The aim of this study was to investigate the effect of water stress on chlorophyll fluorescence parameters in two almond genotypes. It is known that the kinetics of fluorescence transients are polyphasic when plotted on a logarithmic time scale labeled as OJIP. This curve rises from an initial low-value F₀ (minimal fluorescence) to F_J (fluorescence value at 2 ms) and F_I (fluorescence value at about 20–30 ms) and a peak of fluorescence F_P (maximal fluorescence or F_m).

Materials and Methods: The Experiment was carried out under a completely randomized design with split arrangement having three replications. Chlorophyll and carotenoid contents were determined by the method of Lichtenthaler (1986). Fresh leaves (1 g) were triturated in 80% acetone. The absorbance of the extracts was measured at 645, 663, and 470 nm using a spectrophotometer. Chlorophyll fluorescence was measured 40 days

1 after the start of drought treatment. Full expanded leaves were selected from each plant for measurements. They
2 were measured with a portable photosynthetic efficiency analyzer model (Hansatech, United Kingdom).
3 Calculations were made with computer-assisted analysis using the SPSS 25 software.

4 **Results and Discussion:** The results showed that the maximum total fresh and dry mass was recorded in the
5 Mamaei cultivar. The drought stress caused a significant reduction in a, b, total chlorophyll and carotenoids in
6 Rabie (R) as well as Mamaei (M) cultivars but in general, M plants had higher content of pigments in
7 comparison with R plants under drought stress. In both of cultivars, the potential efficiency of PSII
8 photochemistry (Fv/Fm) was reduced with an increasing drought intensity. The reduction of Fv/Fm was
9 accompanied by a decline in Fv and Fm. The VJ, relative variable fluorescence at J step (2 ms), was increased
10 with increase in drought levels. Plants response to drought depends on PSII ability to respond to this stress. It
11 has been reported that water limitation reduces the quantum yield of PSII electron transport, the amount of light
12 energy that reaches the reaction centers, and PSII mediates oxygen evolution activity. We found a sign of
13 interaction between cultivar and drought treatment in the case of Fm, Fv, Fv/Fm and PI. On the other hand, the
14 results showed that, there was a strong correlation between Pi index and total Chl (0.647), fresh (0.685) and dry
15 (0.695) weight of plants. Our results indicated that the growth of cultivars on GN15 rootstock was decreased
16 by drought stress. This may be the outcome of the inhibition of water shortage on the photosynthetic apparatus.
17 The results discovered that carotenoids were higher in M cultivar than R cultivar, carotenoids protect the
18 photosynthetic apparatus from photooxidative damage. Protection is afforded by quenching of the triplet state
19 of chlorophyll, thereby preventing the formation of harmful oxidative species. We also found the performance
20 index is the parameter that better reflects the responses of the studied cultivars to progressive drought stress.

21 **Conclusions:** We applied chlorophyll fluorescence as a biomarker to assess the growth response and PSII
22 behavior and performance of two almond cultivars to different drought levels. In conclusion, Mamaei was less
23 affected by drought stress in terms of total Chl, Fv/Fm, PI, and total fresh and dry weight followed by Rabie.
24 Differences between cultivars under drought stress treatments were found concerning their ability to stimulate
25 PSII activity. Parameters derived from JIP test could describe the extent of drought stress response especially
26 PI as a multi-parametric expression that was very responsive to drought stress extent.

27 **Keywords:** chlorophyll, correlation, dehydration, fluorescence

28

29