The University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

The study of defensive responses to drought stress in some grape cultivars (*Vitis vinifera* L.)

Farzaneh Razavi

Horticultural Science Research Institute (HSRI), Agricultural Research, Education and Extention Organization (AREEO), Shahrekord, Iran. E-mail: farzanehrazavi2003@yahoo.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 28 May 2022

Received in revised form: 22 November 2023

Accepted: 9 December 2023

Published online: Winter 2024

Keywords:

Defensive mechanism,

Drought signalling,

Drought tolerance,

Grapevine,

Water shortage.

ABSTRACT

This study, aimed to investigate the defensive mechanisms of grape tress under water stress in 7 Iranian grape cultivars, including: 'Rajabi', 'Chafteh', 'Sabzangoor', 'Siahangoor' ('Sorkhak'), 'Asgari', 'Ghalati', 'Kajangor' and one foreign cultivar named 'Superior'. A pot experiment was performed based on a complete randomized design with two level of irrigation, including control and drought, in tree replication, and data were analyzed by t- test**.** In a preliminary experiment, both sudden and gradual droughts were applied on 'asgari', a local prominent cultivar. The gradual drought caused a decrease in leaf relative water content, starch and water potential content and an increase in the contents of sucrose, fructose, proline and total antioxidants, so that proline content increased significantly from 16 to 34 µmolg100^{-1}gFWand and sucrose content from 18 to 70 µmolg100^{-1}gFW. Based on these results the experiment was continued by gradual drought method. Cultivars, in response to drought stress, showed variation in proline content and the ratio of soluble carbohydrat to starch content. A great difference was observed in proline content between control and drought treatments in 'Siahangoor', 'Sabzangoor', 'Kajangoor', and 'Ghalati' cultivars, so that in 'Siahangoor' the proline content was significantly increased from 15 to 50 µmolg100^{-1}gFW. Chafteh as a drought-tolerant cultivar, showed a significant increase in the soluble sugar/starch content, along with an increase in the expression level of *SPS* (*Sucrose Phosphate Synthesis*) gene, under drought stress. These results verify the role of antioxidants, proline and sucros metabolisms especially the genetic role of the later in defensive responses of grape under drought stress, which likely act stronger in drough -tolerant grape cultivars.

In overall, 'Siahangoor', 'Sabzangoor', 'Kajangoor', 'Ghalati' and 'Chafteh' showed relatively higher tolerance to dronught compared to other cultivars.

Cite this article: Razavi, F. (2024). The study of defensive responses to drought stress in some grape cultivars (*Vitis vinifera L.*). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55 (4), 613-637. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.352980.2078

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.352980.2078

Extended Abstract

Introduction

Recently, global climate changes accompanied by water shortage are prominent challenges in agricultural sectors in worldwide and Iran. food is mostly produced in areas with limited rainfall during growing season or in lands with limited stored moisture soils. The identification, selection and development of drought tolerant lines and cultivars are crucial steps to prevent negative drought effects on production of fruits like grape (*Vitis vinifera* L.). So, fruit trees breeding programs should be focused on release of genotypes with the potential of drought tolerance and rain-fed products. To attain this point, biological mechanisms in response to drought stress should be understood. This study presented useful and informative tools for identifying drought-tolerant grape lines and cultivars.

Material and Methods

A pot experiment was performed based on a completely randomized design (CRD) to investigate and compare the effect of drought stress on 8 selected grape cultivars, including

'Rajabi', 'Chafteh', 'Sabzangoor', 'Siahangoor', 'Sorkhak', 'Asgari', 'Ghalati', 'Kajangor' and 'Superior'. Two levels of irrigation, including control (100% FC) and drought (20% FC), were applied, in three replications, and data were analyzed by t- test for each cultivar. In a preliminary experiment, both sudden and gradual droughts were applied on 'asgari', a prominent local cultivar, and based on the results, the experiment was continued by gradual method.

Results and Discussion

'Asgari', as an index cultivar showed that under gradual drought stress, from 10th to 30th days after water stress settlement, leaf water potential was significantly decreased. There was also a significant difference in starch, fructose, sucrose and proline content between the control and drought-stressed plants. Drought stress resulted in a decrease in leaf water potential and starch content, whereas an increase in sucrose and proline content and total antioxidant capacity were observed. A significant increase was also occurred in leaf sucrose content under drought stress compared to control. Under severe water shortage *i.e.*, 30 days after drought settlement (the end point of the gradual drought period), a significant increase was occurred in total antioxidant content in 'Asgari'. Besides, a great difference in proline content was observed between control and drought in 'Siahangoor', 'Sabzangoor', 'Kajangoor', and 'Ghalati'. Likewise, the ratio of soluble sugar to stored sugar (starch) was variable between different grape cultivars under the drought stress. Gene expression analysis of *SPS* (*Sucrose Phosphate Synthesis*) under drought stress showed an increase in 'Chafteh', as a drought-tolerant cultivar.

Conclusion

Taking together, grape response to drought stress can be considered as a genetic-dependent phenotype that is different among cultivars. Results also indicate proline and sugar metabolisms are critically involved in key grape's defensive responses to drought stress. It can be concluded that drought-tolerant cultivars might have stronger and faster sugar and proline responses under drought stress compared to the sensitive ones, or such strong defensive mechanisms may not exist in sensitive grape cultivars.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۵، شماره ۴

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

مطالعه واکنش دفاعی برخی از ارقام انگور (*Vitis vinifera* L.) به تنش خشکی

فرزانه رضوی ✉

نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج، شهرکرد، ایران. رایانامه: farzanehrazavi2003@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۸

تاریخ انتشار: زمستان ۱۴۰۳

کلیدواژه‌ها:

تاک، سیگنالینگ خشکی، کم آبی، مقاومت به خشکی، مکانیسم دفاعی.

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی برخی مکانیسم‌های تدافعی انگور تحت تنش خشکی، در ۷ رقم ایرانی، شامل چفته، سبز انگور، سیاه انگور، عسگری، قلاتی، کج انگور و یک رقم خارجی سوپریور با درجات متفاوت تحمل به خشکی، اجرا شد. آزمایش بصورت گلدانی و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دوسطح آبیاری خشکی و شاهد در سه تکرار برای هر رقم انجام شد و نتایج با آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ابتدا در یک آزمایش مقدماتی خشکی تدریجی و خشکی یکباره روی رقم عسگری (رقم شاخص منطقه) مورد بررسی قرارگرفت. نتایج نشان داد که خشکی تدریجی باعث کاهش محتوای نشاسته، محتوای نسبی آب و پتانسیل آب (Ψ_w) برگ شده، در حالی‌که محتوای ساکاروز، فروکتوز، پرولین و آنتی‌اکسیدانت کل را افزایش می‌دهد، به‌طوری‌که محتوای پرولین برگ از ۱۶ به ۳۴ و محتوای ساکاروز برگ از ۱۸ به ۷۰ میکرو مول بر گرم وزن تر افزایش معنی‌دار داشتند. با توجه به نتایج، آزمایش بصورت تنش تدریجی روی ارقام مورد مطالعه انجام شد. ارقام مختلف، تحت تنش خشکی الگوی متنوعی از تغییرات پرولین و نسبت قند محلول به نشاسته نشان دادند، در ارقام "سبز انگور"، کج انگور، قلاتی و سیاه انگور تفاوت معنی‌داری در محتوای پرولین بین شاهد و خشکی مشاهده گردید، در سیاه انگور، محتوای پرولین از ۱۵ به حدود ۵۰ میکرو مول بر گرم وزن تر افزایش معنی‌دار داشت. در رقم چفته همزمان با افزایش نسبت قند محلول به نشاسته، بیان ژن ساکاروز فسفات سنتتاز (ژن کلیدی بیوسنتز ساکاروز) نیز افزایش یافت. این نتایج نقش متابولیسم آنتی‌اکسیدانت‌ها، پرولین و قندهای محلول خصوصاً ساکاروز و کنترل ژنتیکی آن را در واکنش دفاعی انگور به خشکی اثبات می‌کند که احتمالاً در ارقام انگور متحمل به خشکی قوی‌تر عمل می‌کنند. ارقام چفته، سیاه انگور، سبز انگور، ، قلاتی و کج انگور تحمل نسبتاً بالاتری به خشکی نشان دادند.

استناد: رضوی، فرزانه (۱۴۰۳). مطالعه واکنش دفاعی برخی از ارقام انگور (*Vitis vinifera L.*) به تنش خشکی. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۵ (۴)، ۶۳۷-۶۱۳. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.352980.2078

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.352980.2078

مقدمه

انگور یا تاک گیاهی است از تیره تاک‌سانان[1] با رشد بوته‌ای و رونده، گل‌آذین خوشه مرکب با گل‌های کوچک و کامل (ارقام اروپایی). هر خوشه انگور از تعداد زیادی حبه به عنوان بخش خوراکی میوه تشکیل شده است. انگور دارای برگ‌های متناوب با پنج لوب دندانه‌دار و دمبرگ دراز است و در مقابل برخی از برگ‌ها ساقه ای پیچنده وجود دارد. سطح فوقانی برگ انگور به رنگ سبز تیره بوده و سطح تحتانی پهنک کرکدار و در برخی ارقام سبز مایل به سفید می‌باشد. تاک از درختان میوه معتدله گرم بوده، به عنوان گیاهی متحمل به خشکی، نیمه مقاوم به شوری و مقاوم به خاک‌های آهکی شناخته می‌شود و برای رسیدن میوه به فصل رشد گرم و طولانی نیازمند می‌باشد. نیاز آبی انگور بر حسب منطقه و رقم، حدود ۷–۵ هزار مترمکعب برای هر هکتار در سال می‌باشد که این میزان در آبیاری قطره‌ای حدود ۵–۴ هزار مترمکعب برای هر هکتار در سال می‌باشد (Gambetta *et al*., 2020). تاک دارای ریشه‌های عمیق بوده و در برابر کم‌آبی مقاوم است، بنابراین در مناطقی با بارندگی بیش از ۳۰۰ میلی‌متر، می‌تواند به صورت دیم پرورش یابد. انگور از نظر میزان تولید و اهمیت جزو پنج محصول برتر باغی در ایران محسوب می‌شود، به‌طوری‌که ایران یکی از مراکز عمده تولید انگور در آسیا به‌شمار می‌رود (Statistics of the Ministry of Agricultural Jihad, 2018). تغییرات اقلیمی شدید و کاهش بارندگی‌ها در سرتاسر دنیا موجب بروز خشکسالی و محدودیت منابع آبی شده و تولیدات باغی از جمله تولیدات تاکستان‌ها را تحت تأثیر قرار داده است. در سالیان متمادی، تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل کاهش محصولات باغی در مناطق خشک و نیمه خشک ایران بوده است. در اکثر مناطق موکاری کشور، بوته‌های مو در شرایط بهار و تابستان که عمده رشد رویشی و زایشی خود را انجام می‌دهند، شدیداً با تبخیر و تعرق بالا و کاهش آب درون گیاه و نهایتاً تنش خشکی روبرو است که باعث کوتاه شدن دوره رشد، کاهش گل‌انگیزی و پیری فیزیولوژیک بوته انگور شده که خود سبب کاهش رشد بوته، کاهش گل‌انگیزی سال بعد و نهایتاً کاهش عملکرد کمی و کیفی محصول انگور می‌گردد (Gambetta *et al*., 2020; Ghaderi *et al*., 2011). طبق آمار زراعی باغی سال ۱۳۹۸، پرورش انگور در برخی تاکستان‌های ایران تحت شرایط نیمه خشک با بارندگی‌های محدود، پراکنش نامنظم بارش‌ها و پتانسیل تبخیر بالا، با کاهش تولید بالقوه و عملکرد کمی و کیفی، گاهی تا ۹۰–۸۰ درصد محصول، روبرو شده است (Statistics of the Ministry of Agricultural Jihad, 2018). به منظور جلوگیری از خسارات خشکسالی و بهره‌وری بهینه از نزولات آسمانی و افزایش تولید، تولیدات باغی ملزم به استفاده از ارقام یا پایه‌های متحمل به خشکی با عملکرد کمی و کیفی بالا جهت پرورش در مناطق خشک و همزمان کاربرد سیستم‌های کم آبیاری، آبیاری‌های کنترل شده یا دیم کامل هستند (Gambetta *et al*., 2020; Acevedo-Opazo *et al*., 2010). بر همین اساس، مرحله ضروری در پژوهش‌های به‌نژادی، به‌گزینی و معرفی ارقام انگور متحمل به خشکی، بررسی و شناسایی تأثیرات خشکی بر گیاه و ساز وکار دفاعی گیاه در مقابل تنش خشکی می‌باشد.

گیاهان در برابر تنش خشکی مکانیسم‌های مختلف دفاعی داشته، بسته به پتانسیل ژنتیکی آن‌ها، واکنش‌های متفاوت مقاومت یا حساسیت به خشکی نشان می‌دهند. این واکنش‌ها شامل مکانیسم‌های مختلف فیزیولوژیکی، متابولیکی و ملکولی بوده که عمدتاً تحت کنترل هورمون آبسیزیک اسید می‌باشد. کاهش تورژسانس سلّول‌ها تحت تنش خشکی سبب تولید آبسیزیک اسید و متعاقباً تأثیر در تجلی ژن‌های گوناگون عملکردی شده که به زنجیره پیام رسانی آبسیزیک اسید (ABA signaling pathway) معروف است (Razavi, 2012). در این شرایط گیاه دچار کم‌آبی و تنش اکسیداسیون شده، میزان فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای کاهش یافته، رشد گیاه، سطح و تعداد برگ‌ها کاهش می‌یابد. منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی در گیاه موجب تجمع ترکیبات اسمزی مانند کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و همچنین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی اکسیدانت‌ها شده، تجمع این مواد علاوه بر منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی و ایجاد پایداری غشاء و پروتئین‌ها، محرک

1. *Vitis vinifera* L.
2. Vitaceae
3. ABA

سیگنالینگ قندها و گونه‌های اکسیژن فعال بوده که همراه با سیگنالینگ اسید آبسیزیک، واکنش دفاعی گیاه به خشکی را هدایت می‌کنند (Jiang, *et al*. 2011; Tiaz & Zeiger, 2006).

واکنش گیاه انگور به خشکی و شرایط آبیاری، بسته به نوع ژنوتیپ و نوع پایه (در صورت استفاده از پایه در موکاری) متفاوت بوده، به خصوصیات فیزیولوژیکی، فنولوژیکی و حتی مورفولوژیکی گیاه وابسته است. از جمله این خصوصیات قدرت رشد گیاه (رشد تاج و ریشه)، مورفولوژی گیاه (خصوصیات تاج، برگ، شاخه و ریشه)، فنولوژی و الگوی رشد و نمو گیاه (مراحل گلدهی، تشکیل میوه، رسیدن حبه‌ها و غیره)، سیستم فتوسنتز و روزنه‌ها و حساسیت روزنه‌ای به انتقال پیام، سرعت تعرق و کارایی مصرف آب، توان آوندهای چوبی در انتقال آبسیزیک اسید و آوندهای آبکش در توزیع مواد فتوسنتزی و آسیمیلاسیون و نیز عملکرد ملکولی و متابولیکی گیاه در سطح سلول گیاهی تحت تنش خشکی شامل مسیرهای سیگنالینگ و انتقال پیام خشکی، کنترل ژن‌های دخیل در عکس‌العمل گیاه به خشکی، ایجاد تعادل متابولیکی و غیره می‌باشند (Razavi, 2012; Razavi *et al*., 2011; Lovisolo *et al*., 2010). خصوصیات ریشه انگور از جمله سیستم معماری و نحوه رشد و نمو ریشه و نیز قدرت هدایت هیدرولیکی آن نیز نقش مهمی در تأمین آب مورد نیاز گیاه بر اساس میزان مصرف و تعرق در اندام‌های هوایی گیاه داشته و میزان مقاومت به خشکی در انگور تحت شرایط کم‌آبیاری یا کشت دیم را تعیین می‌کند. این خصوصیات ریشه بسته به نوع ژنوتیپ متفاوت بوده، به طوری‌که بر اساس برخی گزارشات، در فصول خشک، قدرت رشد ریشه، میزان نفوذ و پرآوری آن در عمق خاک و نیز هدایت آب از ریشه به ساقه معمولاً در ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی قوی‌تر بوده که این نشان‌دهنده نقش انتخاب ژنوتیپ یا رقم مناسب انگور جهت کشت در روش‌های دیم یا کم آبیاری می‌باشد (Alsina *et al*., 2011).

نتایج برخی مطالعات فیزیولوژیکی نشان می‌دهند که در گیاه انگور تحت تنش خشکی، همراه با کاهش بسیار کم در محتوای نسبی آب برگ، کاهش شدید میزان فتوسنتز مشاهده می‌شود (Asadi *et al*., 2018; 2019). بازیابی کامل هدایت روزنه‌ای بعد از آبیاری مجدد در شرایط تنش کم و متوسط در انگور سریع اتفاق می‌افتد، ولی در شرایط تنش شدید این مسئله کندتر صورت می‌گیرد. تحت تنش شدید، گیاه انگور با تنش اسمزی و اکسیداتیو با ایجاد رادیکال‌های سمی اکسیژن، اختلال در سیستم فتوسنتز و نیز عدم تعادل یونی مواجه شده، و نهایتاً رشد و نمو گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد، در حالی‌که مکانیسم‌های دفاعی نیز مانند پرهیز از خشکی به وسیله کاهش سطح برگ، ظرفیت بالای ذخیره آب، تراکم بالای روزنه‌ای و کاهش هدایت روزنه‌ای در انگور در شرایط خشکی مشاهده شده است (Serra *et al*., 2014).

در مطالعه‌ای توسط McCarthy(1997)، تأثیر کم‌آبی (همراه با تنش خشکی ملایم) بر رشد و نمو نسبی و وزن حبه انگور در رقم شیراز بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که بیشترین حساسیت حبه‌ها (رشد نسبی و وزن حبه) به کاهش آب در خاک و گیاه، در مرحله بلافاصله بعد از گلدهی بوده، در حالی‌که در یک ماه قبل از برداشت میوه هیچ گونه حساسیتی به کم‌آبی نشان ندادند. Schultz (2000) ، از میزان رشد میانگره، برگ و پیچک انگور تحت تنش خشکی به عنوان شاخصی جهت انتخاب ارقام انگور متحمل خشکی استفاده نمود چرا که رشد میان‌گره‌ها، برگ و پیچک در هنگام ایجاد تنش خشکی مختل و حتی متوقف می‌شود. در نهایت رشد رویشی گیاه هم در اثر کمبود آب کاهش پیدا می‌کند.

نتایج مطالعه‌ای روی انگور رقم آگلیانیکو در باغات انگور جنوب ایتالیا توسّط Sofo *et al*., (2012) نشان داد که کم‌آبیاری یا کشت دیم (بدون آبیاری) انگور، تأثیر منفی معنی‌داری را بر میزان محصول در بوته، وزن خوشه و وزن حبه در این رقم داشته، لیکن تأثیر منفی بر کیفیت میوه در رقم مذکور نداشته است، این نتایج اهمیت ویژه‌ای در تولید انگور در مناطق خشک با منابع آبی محدود دارد. گزارشات دیگر در مورد عملکرد کیفی میوه انگور تحت تنش ملایم خشکی نیز نشان داده است که تأمین آب در حد حداقل نیاز انگور، می‌تواند حتی اثرات مثبتی را روی عملکرد کمی و کیفی میوه انگور داشته باشد و آبیاری‌های غیراصولی و بیش از حد نیاز گیاه در روش‌های سنتی، خود باعث کاهش کیفیت میوه، کاهش قندهای محلول، اسیدیته نامتعادل

1 . Reactive oxygon specieis

2 . Aglianico

و رنگ نامطبوع در حبه و بروز آفات و بیماری‌های مختلف خصوصاً بیماری‌های قارچی می‌گردد (Schultz, 2000; Ferreyra *et al*., 2003; Santos *et al*., 2003).

در ایران نیز تاکنون مطالعات مختلفی با هدف یافتن یا معرفی بهترین ارقام و پایه‌های مقاوم به خشکی انگور انجام گرفته، چندین رقم ایرانی به عنوان ارقام متحمل به خشکی و کاندیداهای مناسب جهت استفاده به عنوان پایه انگور معرفی شده‌اند که عبارتند از شاهانی، قلاتی، سبز انگور، کج انگور، سیاه زرقان، قلاتی شیراز، سرخک قوچان، رباتی، یاقوتی قرمز و غیره. از طرفی ارقامی مانند عسگری به عنوان رقمی با تحمل متوسط و ارقام بیدانه سفید، یاقوتی سفید و قرمز قزوین و سلطانی به عنوان ارقام حساس به خشکی معرفی شده‌اند (Zandkarimi *et al*., 2015, Mehri *et al*., 2015; Hadadinejad *et al*., 2014). همچنین، مطالعاتی در ارتباط با بررسی میزان تحمل به خشکی در برخی از ژنوتیپ‌ها و ارقام انگور بومی ایران، منجر به معرفی ارقام انگور متحمل به خشکی شامل ارقام چفته، ملایی و سیاه انگور از قزوین (Rasuli & Golmohamadi, 2009)، یاقوتی از فارس (Rabiei, 2004)، خوشناو از کردستان (Rabiei, 2004; Ghaderi, 2009; Ghaderi *et al*., 2011) و فرخی و رشه (خوشناو) از آذربایجان شرقی و غربی (Azizi *et al*., 2009; Hesabi Esfahlan, 2000) شده است. در مطالعه‌ای دیگر، رقم شیراز به عنوان رقمی بسیار مقاوم به خشکی (McCarthy, 1997) و مناسب برای کشت دیم معرفی شده که این رقم یکی از ارقام غالب دیم کشور ما خصوصا در استان فارس با نام محلی لرکش می‌باشد.

در مطالعه‌ای توسط Doulati Baneh *et al*. (2019)، واکنش فیزیولوژیکی و رشدی نهال یکساله انگور به تنش خشکی در سطوح مختلفی از خشکی (۳۵، ۵۵، و ۷۵ درصد) در چندین رقم خارجی و نیز چند رقم بومی آذربایجان غربی بررسی گردید که ارقام خارجی بلک سیدلس و فیستا به عنوان ارقام خیلی[1] حساس،[2] و ارقام رشه، خلیلی و یعقوبی به عنوان ارقام بسیار متحمل به خشکی تعیین شدند. در پژوهشی دیگر، شش رقم انگور محلی آذربایجان در سطوح مختلف تنش خشکی بررسی گردید (Fahim *et al*., 2023). نتایج این مطالعه، اثر معنی‌دار تنش خشکی را بر پارامترهای رشدی گیاه، محتوای نسبی آب برگ و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ($P<0.01$) نشان داده، رقم‌های آق‌شیلیق و کوپک‌بوغان از ارقام حساس و ارقام قره‌شیلیق و توکیلگن از ارقام مقاوم به خشکی معرفی شدند.

Bahrani *et al*. (2020) نیز، تحمل به خشکی را در برخی از پایه‌ها و ارقام انگور ارزیابی و متحمل‌ترین آن‌ها را معرفی نمودند. در این مطالعه ۱۵ تیمار شامل چهار رقم انگور غیرپیوندی (سمرقندی، یاقوتی، رطبی و چفته) و پایه پیوندی R_{110} حاصل تلاقی *V. berlandieri* × *V. rupestris* و سه تیمار کم آبی شامل: الف) شاهد (بدون تنش)، ب) ۲- مگا پاسکال (تنش شدید) و ج) ۲/۵- مگا پاسکال (تنش خیلی شدید) مقایسه شدند. نتایج نشان داد که با افزایش شدت خشکی، تعداد و سطح برگ، طول ریشه، وزن‌تر و خشک ساقه و ریشه، محتوای فنل، کلروفیل و آب برگ کاهش یافته، میزان نشت یونی، قند محلول، پرولین و گلایسین بتائین افزایش یافت و رقم چفته به عنوان متحمل‌ترین رقم در مقایسه با ارقام دیگر معرفی شده، که پس از آن به ترتیب ارقام رطبی، سمرقندی و یاقوتی قرار گرفتند. در تحقیقی گلدانی روی گیاهان یکساله ریشه‌دار انگور، تحمل به خشکی در ۲۰ رقم مختلف ایرانی و خارجی، شامل رشه، بیدانه سفید، بیدانه قرمز، یاقوتی، فخری، خلیلی سفید، قزل اوزوم، عسگری، گزندایی، گچی امجگی، تبرزه قرمز، تبرزه سفید، لعل، حسینی، شیرازی، بلک سیدلس، فلیم سیدلس، پرلت، روبی سیدلس و ترکمن چهار، تحت دو تیمار ۹۰ درصد نیاز آبی (شاهد) و ۵۰ درصد نیاز آبی (تنش خشکی) اجرا شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته، ارقام رشه، خلیلی سفید، یاقوتی و لعل تحمل نسبتاً بالایی به خشکی داشتند (Khandani *et al*., 2022).

اثر تنش‌های مختلف آبی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سه رقم انگور (شاهانی، فرخی و بیدانه سفید) توسط Ghaderi *et al*. (2011) بررسی گردید و نتایج نشان داد که رقم شاهانی برای کشت در شرایط کم‌آب مناسب‌تر از دو رقم دیگر می‌باشد.

1 . Black seedless

2 . Fiesta

همچنین Mehri *et al*.(2015) واکنش چهار رقم انگور ایرانی به تنش کم‌آبی ایجاد شده توسط پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ را در شرایط محیط درون شیشه مورد بررسی قرار دادند که نتایج آن‌ها نقش تنش کم‌آبی را در کاهش وزن تر و خشک شاخه، سطح برگ، طول شاخه و محتوای نسبی آب و افزایش میزان پرولین، مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت کاتالاز نشان داد. بر اساس این نتایج، رقم شاهانی دارای تحمل بیشتر و رقم عسگری دارای تحمل کمتر و ارقام قرمز قزوین و یاقوتی سفید حساس به خشکی می‌باشند.

در مطالعه Sokhtsarai *et al*. (2019) عکس‌العمل فیزیولوژیکی سه رقم انگور بیدانه سفید، چفته و یاقوتی تحت چهار سطح تنش خشکی شامل شاهد (۰/۳-)، ملایم (۰/۶-)، متوسط (۱-) و شدید (۱/۵-) مگاپاسکال پتانسیل آب خاک با اندازه‌گیری میزان نشت یونی و فنیل آلانین آمونیا لیاز بررسی گردید. در شرایط تنش شدید بیشترین میزان نشت یونی مربوط به رقم بیدانه سفید (۳۱/۶۳ درصد) و کم‌ترین آن مربوط به رقم‌های چفته (۲۴/۱۰ درصد) و یاقوتی (۲۵/۸۸ درصد) بود. میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در رقم‌های چفته و یاقوتی تحت تنش شدید خشکی به طور معنی‌داری، افزایش یافت، در حالی‌که در رقم بیدانه سفید اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم مشاهده نشد. نتایج این پژوهش اثبات نمود که ارقام چفته و یاقوتی به ترتیب پتانسیل بالاتری برای مقابله با تنش شدید خشکی در مقایسه با رقم بیدانه سفید داشتند.

هدف تحقیق حاضر، بررسی و ارزیابی عملکرد فیزیولوژیکی و ملکولی در برخی ارقام تجاری انتخابی انگور با پتانسیل متفاوت تحمل به خشکی بود و نتایج حاصل از این تحقیق مکمل اطلاعات قبلی و قابل استفاده در برنامه‌های آتی به‌نژادی و به‌گزینی ژنوتیپ‌ها و ارقام جدید انگور مقاوم به خشکی می‌باشد.

روش شناسی پژوهش

مواد گیاهی و ارقام مورد مطالعه

آزمایش حاضر از سال ۱۳۹۸ لغایت ۱۴۰۰ در ایستگاه چهار تخته مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری انجام گرفت. تعداد ۸ رقم تجاری انگور با درجه متفاوت تحمل به خشکی بر اساس گزارشات پژوهشی قبلی (Razavi, 2020) از کلکسیون ملی قزوین انتخاب شدند. ارقام مورد مطالعه عبارت بودند از: سبز انگور (A1) ، کج انگور (A2)، چفته (A3)، قلاتی شیراز (A4) و سیاه انگور یا سرخک قوچان (A7) همگی با تحمل بالا به خشکی، عسگری (A5) حساس به خشکی، رجبی (A6) با تحمل متوسط به خشکی، و سوپریور (A8) نیمه حساس به خشکی. از این ارقام قلمه تهیه شده و پس از ریشه‌دار کردن آن‌ها در خزانه به گلدان‌های اصلی منتقل شدند.

بهینه‌سازی ایجاد تنش خشکی در رقم عسگری

با هدف بهینه‌سازی مدل ایجاد تنش خشکی در ارقام مورد مطالعه انگور، در ابتدا آزمایشی روی رقم عسگری به عنوان رقم شاهد و غالب استان چهارمحال و بختیاری انجام شد که در آن نحوه بروز تنش خشکی گلدانی به دو صورت تدریجی و یکباره، بر اساس اندازه‌گیری میزان حجمی آب درون خاک گلدان با استفاده از دستگاه دیجیتالی رطوبت سنج[3] بررسی شد. تنظیم اولیه دستگاه با تعیین میزان حجم آب خاک گلدان در سطح ظرفیت زراعی و قرار دادن این عدد به عنوان درصد حداکثر آب حجمی خاک (۱۰۰ درصد) انجام گرفت. ترکیب خاک گلدان شامل نسبت مساوی از ماسه، خاک رس و کود گاوی پوسیده (۱:۱:۱) بود و تغییرات بدست آمده در آب حجمی گلدان‌ها در دوره‌های متوالی حدود ۱۰ روزه ثبت شد. ایجاد تنش خشکی در هر دو روش خشکی تدریجی و یکباره بر اساس شیوه به‌کار برده شده توسط Razavi (2012) انجام گرفت. در این آزمایش، قبل از شروع تنش خشکی، در ابتدا همه گلدان‌ها (شاهد و تیمار) جهت استقرار و سازگاری اولیه گیاهان، به مدت سه ماه آبیاری کامل شده،

1 . Malondealdehide

2 . Phenylalanine ammonia-lyase (PAL)

3 . TDR

سپس تیمار خشکی آغاز گردید. در شیوه خشکی تدریجی، پس از توقف آبیاری کامل، آبیاری حداقلی با حجم آبی حدود ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلی لیتر ادامه پیدا کرد که تحت این شرایط اکثر گلدان‌ها تقریبا ۳۰ روز پس از شروع کم آبی به سطح خشکی مورد نظر یعنی میزان ۲۰ درصد آب حجمی ظرفیت زراعی خاک گلدان رسیدند. پس از شروع اعمال تنش، گلدان‌ها به مدت ۳۰ روز با کم آبیاری کنترل شده صرفاً جهت حفظ آب حجمی خاک در سطح ۲۰ درصد، در شرایط خشکی نگهداری شدند. در شیوه خشکی یکباره، آبیاری به صورت کامل متوقف شد و گلدان‌ها سریعاً و تقریباً پس از طی فقط ۱۰ روز به مرحله ۲۰ درصد آب حجمی خاک رسیدند. آبیاری گلدان‌های شاهد در هر دو مدل، طبق روال قبل و به صورت آبیاری کامل (اشباع گلدان با حدوداً ۴ تا ۵ لیتر آب) با هدف نگهداری میزان آب حجمی خاک در حد ظرفیت مزرعه یعنی ۱۰۰ درصد ادامه یافت. اندازه‌گیری درصد حجمی آب خاک در هر دو تیمار خشکی و شاهد ۲ روز یک بار و به صورت مستمر با استفاده از رطوبت سنج انجام گرفت. انتخاب سطح ۲۰ درصد آب حجمی خاک گلدان، به عنوان مرحله استقرار تنش خشکی فیزیولوژیکی در گیاه انگور، بر اساس ارزیابی‌های مختلف در آزمایش بهینه‌سازی اولیه انجام گرفت که در این ارزیابی‌ها، در بازه‌های زمانی مختلف پیشرفت تنش یعنی ۵، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز بعد از آغاز کم آبیاری، پارامترهایی شامل توازن آبی گیاه (میزان نسبی آب برگ [1]) و برخی تغییرات متابولیکی در تیمارهای شاهد (آبیاری کامل بدون خشکی) و تیمار خشکی در انگور عسگری بررسی شد. نتایج نشان دادند در شرایط آب حجمی خاک ۲۰ درصد همه صفات مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری را بین نمونه های شاهد و تحت تنش خشکی نشان می‌دهند. این صفات عبارت بودند از: ۱) پتانسیل آب (Ψ_w) برگ، ۲) محتوای نسبی آب برگ، ۳) محتوای پرولین برگ، ۴) محتوای قند محلول (ساکاروز و قندهای هگزوز شامل فروکتوز و گلوکز) و ۵) محتوای نشاسته در برگ.

ارزیابی واکنش ۸ رقم منتخب انگور به تنش خشکی

با توجه به نتایج بهینه‌سازی اولیه در رقم عسگری، و با هدف حفظ بیشتر واکنش‌های سازگاری گیاه نسبت به خشکی، شیوه خشکی تدریجی بر اساس ارزیابی آب حجمی گلدان‌ها ، برای ارزیابی واکنش هشت رقم مورد مطالعه به تنش خشکی انتخاب و اجرا گردید. برای هر رقم انگور تعداد ۶ گلدان برچسب‌دار (با شماره گلدان) با ترکیب مساوی ماسه، خاک رس و کود گاوی پوسیده (۱:۱:۱) تهیه شده و در دو ردیف سه تایی، برای هر تیمار (خشکی و کنترل) چیده شدند و بر اساس شیوه توصیف شده، تیمارها اجرا گردید. در این آزمایش، تأثیر تنش خشکی بر محتوای قند محلول و پرولین در این ۸ رقم انگور، در روز ۳۰ ام خشکی، یعنی۳۰ روز پس از استقرار و حفظ تنش خشکی در سطح ۲۰ درصد آب حجمی خاک انجام گرفت.

اندازه‌گیری پارامترهای میکروکلیمایی (شرایط ریز اقلیمی)

مقدار نور در پایین تاج (سایه‌انداز) و در بالای تاج گیاه، با استفاده از دستگاه نورسنج [2] اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ

محتوای نسبی آب برگ (RWC) با نمونه‌گیری تصادفی از برگ‌های میانی جوان تازه با رشد کامل با استفاده از روش Richardson &Mckell (1980) اندازه‌گیری شد.

1 . Relative Water Content, RWC

2 . Quantum Sensor QS, Delta T Devices, Cambridge, UK

آنالیزهای متابولیکی

نمونه‌گیری در ارقام مورد مطالعه

نمونه برگ از ارقام مختلف در مرحله ۳۰ روز پس از شروع تنش خشکی (با توجه به آثار تنش خشکی در این مرحله از تنش در رقم عسگری بر اساس آزمایش بهینه‌سازی اولیه)، از برگ‌های جوان تهیه شد و به فریزر منهای۸۰ درجه سلسیوس منتقل شدند.

اندازه‌گیری پرولین

محتوای پرولین برگ انگور به روش توصیف شده توسط Bates (1973) اندازه‌گیری شد. استخراج پرولین از ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ انگور با ۱۰۰۰ میکرولیتر سولفوسالیسیلیک اسید (۳ درصد، حجمی/حجمی) و سانتریفیوژ ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه انجام گرفت. روشناور جدا شده حاوی پرولین با ۲۵۰ میکرولیتر اسید نان هیدرین و ۲۵۰ میکرولیتر اسید استیک خالص مخلوط و در ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت حرارت داده شده، سپس با افزودن ۵۰۰ میکرولیتر تولوئن جداسازی و میزان جذب نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. محاسبه غلظت پرولین بر اساس منحنی استاندارد انجام و در نهایت میزان غلظت پرولین به صورت میکرومول بر یک گرم وزن تازه برگ انگور محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی

اندازه‌گیری میزان کل ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی با ارزیابی قدرت احیاکنندگی آهن، انجام شد. میزان احیای کاتیون فریک به فروس، در اثر ویژگی الکترون‌دهندگی آنتی‌اکسیدان‌ها در پی اچ پایین، اندازه‌گیری شد. میزان جذب نوری عصاره حاصل از ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت برگ انگور با ۲۰۰ میکرولیتر معرف فراپ (بافر استات سدیم۳۰۰ میلی‌مولار با پی‌اچ ۳/۶، فریک– تری‌پرییدیل– استریازین و فریک کلرید) در طول موج ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری و جذب محلول فوق نسبت به شاهد (شامل آب مقطر به همراه معرف فراپ یا آمونیوم فروس سولفات)، مقایسه گردید (Aebi, 1974).

استخراج و آنالیز قندهای محلول و ذخیره

استخراج قندهای محلول و اندازه‌گیری آن‌ها با استفاده از روش توضیح داده شده توسط Chaplin & Kennedy (1994) انجام شد. در این روش هضم و استخراج قند محلول از ۲۰۰ میلی‌گرم برگ انگور توسط ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۸۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سلسیوس انجام گرفت. میزان قند کل با استفاده از۲۰۰ میکرولیتر از عصاره تغلیظ شده مخلوط با ۲۰۰ میکرولیتر معرف آنترون و قرائت میزان جذب نور نمونه در طول موج ۶۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر و بر اساس منحنی استاندارد ساکاروز محاسبه گردید.

اندازه‌گیری قندهای احیاء (گلوکز و فروکتوز)

اندازه‌گیری قندهای احیا بر اساس روش توضیح داده شده توسط Chaplin & Kennedy (1994) انجام شد. برای اندازه‌گیری گلوکز، ۲۰۰ میکرولیتر ازعصاره تغلیظ شده از برگ انگور حاوی قندهای محلول با ۲۰۰ میکرولیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید و پتاسیم سدیم تارتارات ۴۰ درصد مخلوط و جذب نور آن‌ها در طول موج ۵۷۵ نانومتر خوانده شد. غلظت نهایی بر اساس منحنی استاندارد گلوکز تعیین گردید. برای اندازه‌گیری فروکتوز، ۲۰۰ میکرو لیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده با ۲۰۰ میکرولیتر معرف ری‌سورسینول و اسیدکلریدریک رقیق در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شده و پس از آن جذب

---

1 . Hettich Universal320, US.

2 . Beckman DU, Germany, 520UV/VIS

3 . FRAP

4 . Beckman DU, Germany, 520UV/VIS

نور هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد و میزان نهایی غلظت فروکتوز بر اساس منحنی استاندارد فروکتوز تعیین گردید.

اندازه‌گیری قند غیراحیاء (ساکارز)

اندازه‌گیری قند غیراحیا بر اساس روش توضیح داده شده توسط Chaplin & Kennedy (1994) انجام شد. قند غیراحیاء سوکروز در عصاره تغلیظ شده از برگ انگور حاوی قندهای محلول اندازه‌گیری شد. ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده با ۲۰۰ میکرولیتر هیدروکسید پتاسیم ۳۰ درصد در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد و نهایتاً با ۱۰۰ میکرولیتر معرف آنترون مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس جذب نور هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت با توجه به رابطه به‌دست آمده از نمودار استاندارد ساکاروز و جذب نور در نمونه‌ها میزان قند غیراحیایی به‌دست آمد.

استخراج و اندازه‌گیری نشاسته (قند ذخیره)

استخراج و اندازه‌گیری غلظت نشاسته نیز با استفاده از روش توضیح داده شده توسط Chaplin & Kennedy (1994) انجام گرفت. محتوای نشاسته از بقایای بافتی به‌جا مانده از استخراج قندهای محلول از برگ انگور، با ۲۵۰ میکرولیتر اسید پرکلریک ۵۲ درصد استخراج شده، غلظت نشاسته در این عصاره، در واکنش با ۱۰۰ میکرولیتر معرف آنترون و اندازه‌گیری میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری و بر اساس نمودار استاندارد نشاسته غلظت نهایی نشاسته تعیین شد.

مطالعه تغییرات بیان ژن سوکروز فسفات سنتتاز

آنالیزهای مربوط به بررسی بیان ژن سوکروز فسفات سنتتاز تحت تنش خشکی بر اساس روش‌های توصیف شده توسط Vandesompele *et al.* (2002) ، Hellemans *et al.* (2007) و De Keyser *et al.* (2009) انجام گرفتند. استخراج RNA با استفاده از کیت تجاری شرکت یکتا تجهیز آزما (کد YT9080) و دستورالعمل آن از حدود ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تازه برگ انگور پودر شده انجام شد. نمونه RNA استخراج شده به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شد. سنتز cDNA از نمونه RNAاستخراجی نیز با استفاده از کیت تجاری شرکت یکتا تجهیز آزما، حاوی آنزیم‌های DNase*I*، M-MLVReverseTranscriptase (200u/µl)، Ribolock RNase Inhibitor (200u/µl) ، آغازگر Oligo dT و بافر dNTP RT5x شرکت ترمو فیشرساینتیفیک انجام شد، نمونه سنتز شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. طراحی آغازگرها برای ژن اصلی *SPS* و ژن رفرنس اکتین (*Actin*) براساس روش انجام شده توسط Vandesompele *et al.* (2002) ، Hellemans *et al.* (2007) و De Keyser *et al.* (2009) انجام شد. ویژگی آغازگرهای انتخاب شده، توسط نرم افزار Primer-BLAST در پایگاه داده NCBI و همچنین نرم افزار Oligo7.0 مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). به منظور ارزیابی کارایی آغازگرها و همچنین تعیین غلظت مناسب cDNAها برای واکنش qPCR، منحنی استاندارد برای ژن‌های *Actin* و *SPS* ترسیم شد. جدول ۲، برنامه دمایی واکنش qPCR را نشان میدهد.

جدول ۱. آغازگرهای مورد استفاده در واکنش qRT-PCR

نام ژن		توالی آغازگر '۳ .....'۵	دمای بهینه اتصال (سلسیوس)	طول محصول پی‌سی‌آر	منبع
SPS	F	CTCGTGGTTTTGCAGTGAAG	۵۵	۱۵۰ bp	Razavi, 2012
	R	TCTCTTGGATGTGCGACTTG			
Actin	F	AATGGAACTGGAATGGTCAAGGC	۶۰	۲۲۷ bp	Razavi, 2012
	R	TGCCAGATCTTCTCCATGTCATCCCA			

جدول ۲. برنامه دمایی واکنش qPCR

مرحله واکنش	درجه حرارت (سلسیوس)	زمان	تعداد چرخه
واسرشت اولیه	۹۵	۱۵ دقیقه	۱
واسرشت	۹۵	۱۵ ثانیه	
اتصال	*	۲۵ ثانیه	۴۵
گسترش	۷۲	۴۰ ثانیه	
	۹۵	۱۵ ثانیه	
نمودار ذوب	۶۰	۱ دقیقه	۱
	+ ۰/۳	–	
	۹۵	۱۵ ثانیه	

* دمای بهینه مربوط به هر جفت آغازگر

پس از تعیین غلظت مناسب cDNAها برای واکنش qPCR، غلظت نمونه‌های cDNA سنتز شده، با استفاده از دستگاه نانودراپ (IMPLEN مدل NP80، آلمان) تعیین و بر اساس غلظت مشخص شده در منحنی استاندارد، یکسان‌سازی شد. به منظور انجام واکنش qRT-PCR، مخلوط واکنش با استفاده از سایبرگرین مستر میکس شرکت کیاژن برای نمونه‌های cDNA آماده شده (با دو تکرار تکنیکی برای هر cDNA)، واکنش qRT-PCR مطابق برنامه دمایی جدول ۲، برای هر دو ژن در دستگاه ترموسایکلر ، برطبق برنامه ارائه شده توسط شرکت سازنده به روش Quantitation-Comparative C_t ($\Delta\Delta C_t$)، انجام گرفت. چرخه آستانه (C_t) که نمایان‌گر تعداد نسخه‌های اولیه mRNA و میزان بیان ژن است، توسط نرم‌افزار StepOne2.3 (ترموفیشرساینتیفیک، ABI، آمریکا) برای هر یک از نمونه‌ها تعیین شد. به منظور ارزیابی تغییرات نسبی بیان ژن در نمونه‌های مختلف cDNA، از رابطه $۲^{-\Delta\Delta C_t}$ استفاده شد.

آنالیز آماری داده‌ها

تحلیل آماری نتایج متابولیکی به دست آمده بر اساس آزمون t و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار خشکی و شاهد در هر رقم انگور و سه تکرار در هر تیمار بوده، که با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون تی در سطح معناداری یک درصد ($P\leq0.01$) برای بررسی تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها و مرحله تنش انجام گرفت. آنالیز نان پارامتریک با تست ویلکوکسون برای بررسی بیان نسبی ژن انجام شد.

یافته های پژوهش

بهینه‌سازی اولیه آزمایش تنش خشکی در رقم عسگری

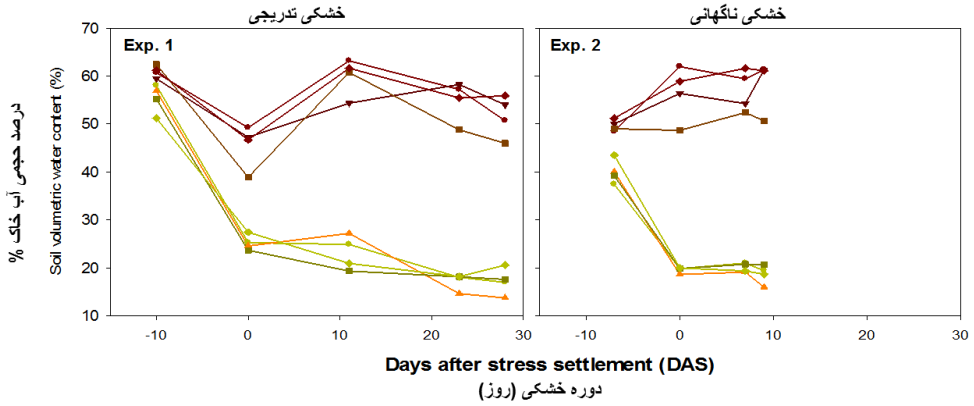
میزان حجمی آب در خاک گلدان‌ها در نمونه تیمار کاهش شدیدی نسبت به نمونه شاهد نشان داد و این کاهش در تنش ناگهانی سریع‌تر اتفاق افتاد. در شیوه خشکی تدریجی، آب حجمی در خاک گلدان تقریبا ۳۰ روز پس از شروع تیمار به۲۰ درصد رسید و تنش خشکی حادث شد (شکل ۱، چپ)، در حالی که در شیوه خشکی ناگهانی، رسیدن به این مرحله تنها پس از ۱۰ روز اتفاق افتاد (شکل ۱، راست).

1 . Applied Biosystem: Step One 48 well

2 . Threshold cycle

3 . Non parametric

4 . Related samples Wilcoxon signed rank test



شکل ۱. تغییر میزان حجمی آب درون گلدان در طول مدت اعمال خشکی تدریجی (چپ) و خشکی یکباره (راست) در رقم عسگری (نمودار بالا تیمار شاهد، نمودار پایین تیمار خشکی)

بررسی فاکتورهای فیزیولوژیکی و متابولیکی در دوره اعمال تیمار خشکی در رقم عسگری

تاثیر تنش خشکی یکباره بر برخی صفات متابولیکی و فیزیولوژیکی انگور عسگری

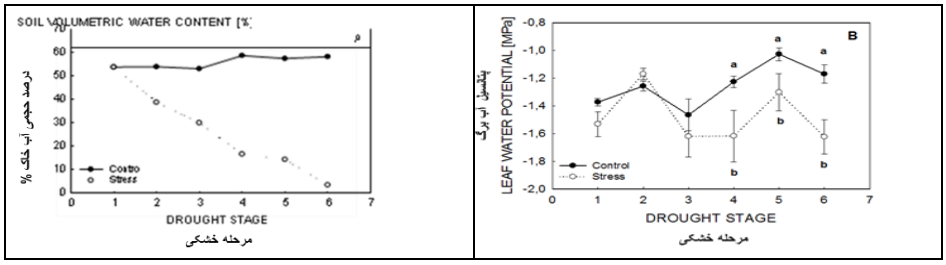
نتایج نشان داد که بین مقدار پتانسیل آب برگ، نشاسته، فروکتوز و پرولین در نمونه شاهد و نمونه تحت تنش خشکی یکباره، اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اعمال تنش خشکی سبب کاهش پتانسیل آب برگ و مقدار نشاسته و افزایش ساکاروز و پرولین نسبت به نمونه شاهد گردیده است (جدول ۳).

جدول ۳. تأثیر تنش خشکی یکباره بر پتانسیل آب برگ، میزان قندهای محلول و میزان پرولین در برگ‌های انگور رقم عسگری

رقم عسگری	پتانسیل آب برگ (Ψ_w) (MPa)	نشاسته	گلوکز	فروکتوز	ساکارز	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)
		(گرم بر ۱۰۰گرم وزن تر)				
تیمار شاهد	−۰/۶±۰/۰۳۳ b	۱/۰۹±۰/۱۳ b	۱/۲۷±۰/۱۴	۱/۰۶±۰/۱۰	۰/۷۰±۰/۰۵ b	۰/۱۶±۰/۰۱۴ b
تیمار خشکی	−۲/۱۲±۰/۱۰ a	۰/۵۲±۰/۱۵ a	۰/۹۰±۰/۰۹	۰/۸۰±۰/۰۶	۱/۱۸±۰/۱۳ a	۰/۳۴±۰/۰۴۶ a

روابط آبی خاک و گیاه (پتانسیل آب برگ)

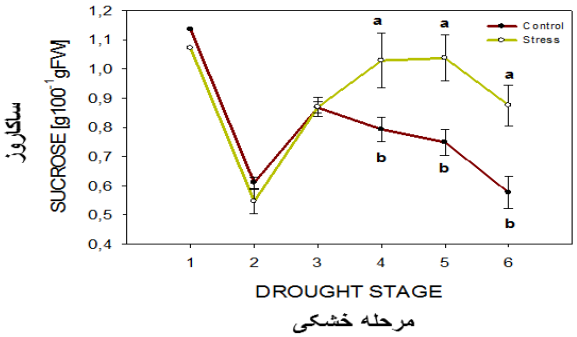
با اعمال تنش خشکی تدریجی، آب حجمی گلدان‌ها در نمونه تحت تنش خشکی نسبت به نمونه شاهد افت شدیدی در طی دوره پیشرفت خشکی نشان داد (شکل A۲). پتانسیل آب برگ نیز در طی دوره تنش خشکی نوسانات زیادی داشت، به نحوی که در مراحل ۴، ۵ و ۶ آزمایش (۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز پس از شروع خشکی)، کاهش معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نشان داد (شکل B۲).



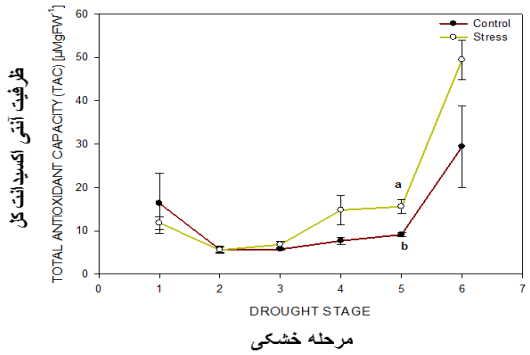
شکل ۲. روند کاهش درصد آب حجمی گلدان‌ها (A) و پتانسیل آب برگ (B) در رقم شاهد انگور عسگری بعد از شروع کم آبی و پیشرفت خشکی تدریجی (۱: قبل از خشکی، ۲: شروع خشکی (تیمار کم آبی)، ۳: ۵ روز بعد از شروع خشکی، ۴: ۱۰ روز پس از شروع خشکی، ۵: ۲۰ روز پس از شروع خشکی، ۶: ۳۰ روز پس از شروع خشکی)

تأثیر تنش خشکی تدریجی بر برخی فاکتورهای متابولیکی انگور عسگری

در خشکی تدریجی اعمال شده روی رقم انگور عسگری، افزایش معنی‌داری در مقدار ساکارز برگ تحت تنش خشکی نسبت به نمونه تیمار شاهد در رقم عسگری مشاهده گردید (شکل۳). همچنین افزایش معنی‌داری در مقدار ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانتی رقم عسگری در انتهای زمان دوره تنش خشکی تدریجی (۳۰ روز پس از شروع خشکی) رخ داد که این افزایش در نمونه تحت تنش بیشتر از نمونه شاهد و اختلاف مشاهده شده از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (شکل ۴).



شکل ۳. تأثیر تنش خشکی بر محتوای قند محلول ساکاروز در طی مراحل مختلف بعد از ایجاد تنش (در سطح ۲۰ درصد آب حجمی خاک) در برگ انگور رقم عسگری (۱: قبل از خشکی، ۲: شروع خشکی، ۳: ۵ روز بعد از شروع خشکی، ۴: ۱۰ روز پس از شروع خشکی، ۵: ۲۰ روز پس از شروع خشکی، ۶: ۳۰ روز پس از شروع خشکی)



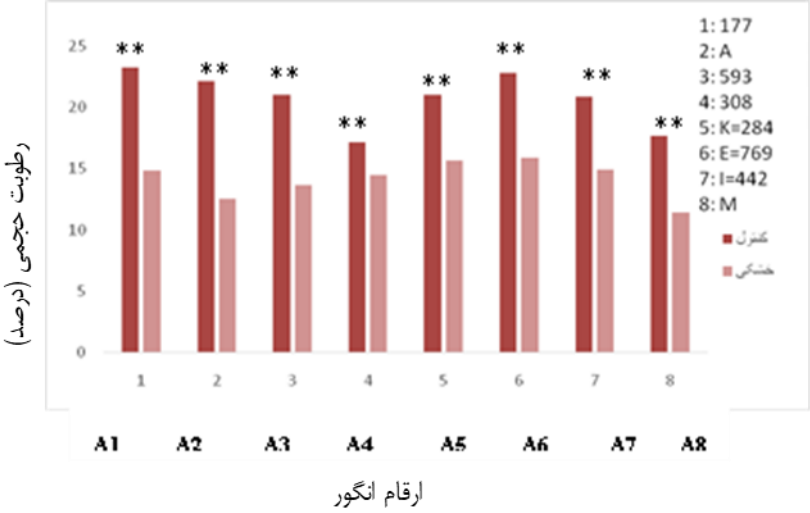
شکل ٤. تأثیر تنش خشکی بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی کل در برگ‌های انگور رقم عسگری در طی مراحل مختلف بعد از ایجاد تنش خشکی (در سطح۲۰ درصد آب حجمی خاک) (۱: قبل از خشکی، ۲: شروع خشکی، ۳: ۵ روز بعد از شروع خشکی، ۴: ۱۰ روز پس از شروع خشکی، ۵: ۲۰ روز پس از شروع خشکی، ۶: ۳۰ روز پس از شروع خشکی)

اعمال تیمار خشکی تدریجی بر ۸ رقم انگور مورد مطالعه

الف: بررسی رطوبت خاک نمونه‌های گلدانی

پس از ایجاد خشکی (در سطح۲۰ درصد آب حجمی خاک) در گلدان‌های تیمار خشکی، تنش خشکی به مدت ۳۰ روز در این سطح حفظ شد، به طوری‌که در روز ۳۰ ام پس از اعمال تنش خشکی، کاهش شدید مقدار رطوبت حجمی خاک در گلدان‌های مربوط به تنش خشکی نسبت به شاهد در همه ارقام انگور کاملاً مشهود بود و تمام ارقام انگور تحت تنش خشکی،

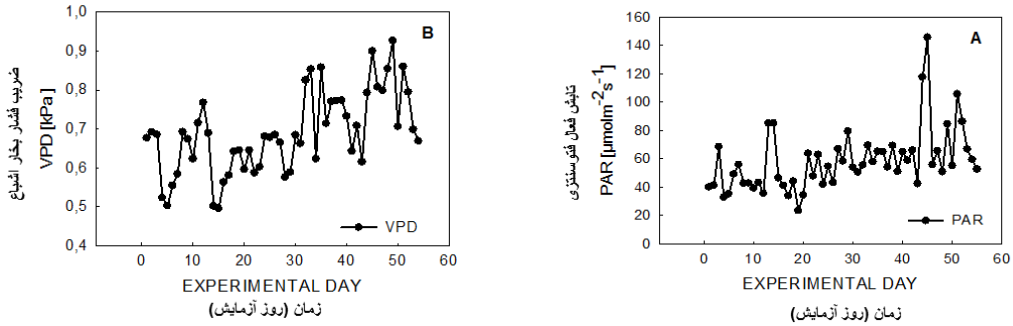
کاهش میزان رطوبت خاک را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. بررسی‌های مختلف متابولیکی روی ارقام تحت تنش خشکی در همین مرحله یعنی ۳۰ روز پس از حادث شدن خشکی انجام گرفت (شکل۵).



شکل ۵. میزان رطوبت حجمی خاک نمونه‌های شاهد و تحت تیمار خشکی در روز ۳۰ آزمایش (A1 تا A8 به ترتیب ارقام سبز انگور، کج انگور، چفته، قلاتی شیراز، عسگری، رجبی، سیاه انگور (سرخک قوچان) و سوپریور می‌باشند).

پارامترهای محیطی در زمان اعمال تیمار خشکی

در طول انجام تیمارهای خشکی و بررسی آب حجمی گلدان‌ها، مقدار مؤلفه‌های اقلیمی شامل میزان تابش فعال فتوسنتزی و ضریب فشار بخار اتمسفر و نحوه نوسان آن‌ها، در طول آزمایش اندازه‌گیری گردید (شکل ۶).

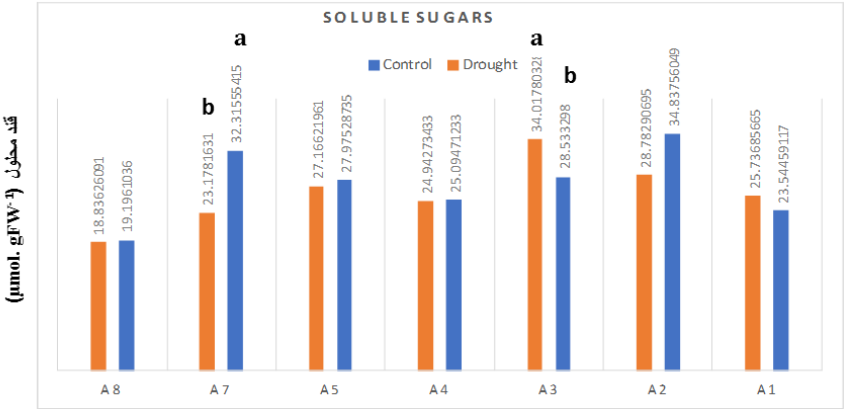


شکل ٦. مؤلفه‌های محیطی (ریز اقلیمی) ثبت شده روزانه: A: تابش فعال فتوسنتزی در طول آزمایش. B: ضریب فشار بخار اشباع در طول آزمایش

نسبت قند محلول به نشاسته تحت تنش خشکی در ارقام مورد مطالعه

با توجه به نتایج بررسی متابولیسم قند در رقم شاهد عسگری، نسبت قند محلول به قند ذخیره یعنی نشاسته از واکنش‌های کلیدی انگور به تنش خشکی است، این واکنش تدافعی در بین سایر ارقام مورد مطالعه نیز بررسی گردید. از طرفی، با توجه به نتایج خشکی تدریجی گلدانی در ۸ رقم مورد مطالعه، کاهش شدید مقدار رطوبت حجمی خاک در همه ارقام انگور، در مرحله ۳۰ روز پس از اعمال تنش خشکی کاملاً مشهود بود، بنابراین مقایسه صفات متابولیکی بین این ارقام در همین مرحله یعنی ۳۰ روز پس از شروع تنش خشکی انجام گرفت. همان طور که در شکل ۷ مشاهده می‌گردد نسبت قند محلول به نشاسته در

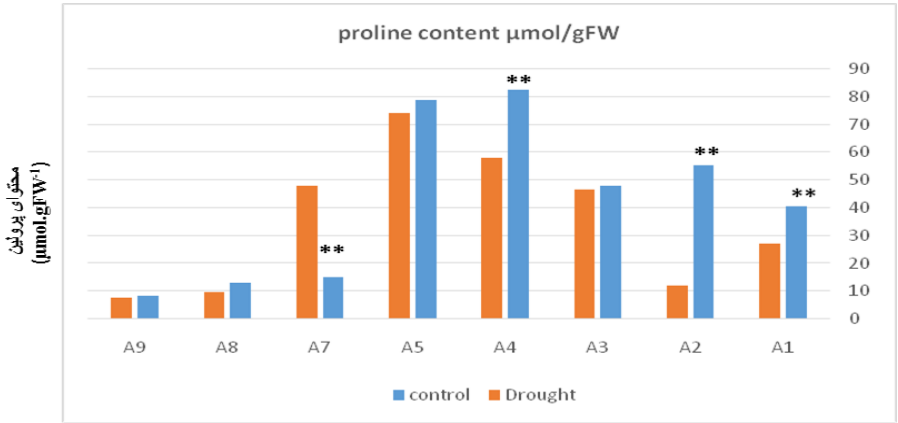
بین ارقام متفاوت می باشد. به طوری‌که در ارقام A7 (سیاه انگور یا سرخک قوچان) و A3 (چفته) بین نمونه‌های شاهد و خشکی تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. این نسبت در رقم سیاه انگور (A7) در نمونه خشکی کاهش یافت؛ در حالی‌که در رقم چفته (A3)، این نسبت در نمونه خشکی افزایش معنی‌دار داشت. البته در سایر ارقام تفاوت معنی‌داری در نسبت قند محلول به نشاسته بین تیمار خشکی و شاهد مشاهده نشد.



شکل ۷. نسبت قند محلول به نشاسته در ارقام مورد مطالعه انگور ۳۰ روز پس از شروع تنش خشکی تدریجی (A1 تا A8 به ترتیب ارقام سبز انگور، کج انگور، چفته، قلاتی شیراز، عسگری، رجبی، سیاه انگور (سرخک قوچان) و سوپریر می‌باشند).

بررسی تغییرات در محتوای پرولین تحت تنش خشکی در ارقام مورد مطالعه

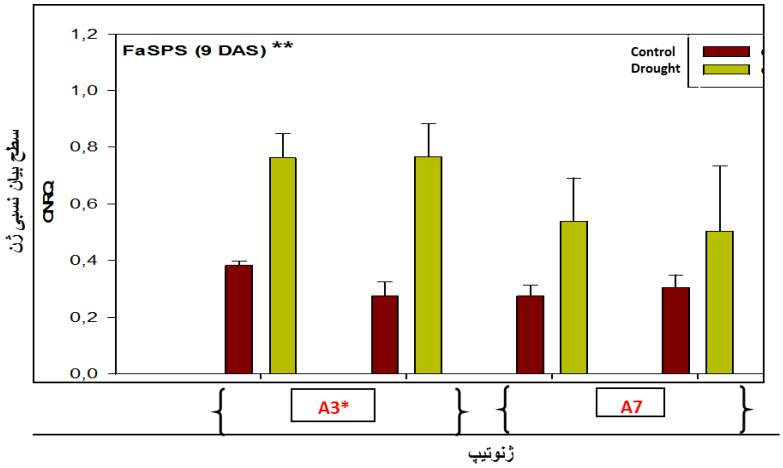
با توجه به نتایج بررسی محتوای پرولین در رقم شاهد عسگری تحت تنش خشکی، محتوای پرولین در برگ انگور تحت تنش خشکی تغییر می‌کند. این عکس‌العمل تدافعی در بین سایر ارقام مورد مطالعه نیز در مرحله ۳۰ روز پس از اعمال تنش خشکی بررسی گردید. نتایج نشان داد که در رقم‌های A7، A4، A1 و A2، تفاوت معنی‌دار در محتوای پرولین نمونه شاهد و تیمار خشکی وجود دارد، به طوری‌که در همه ارقام مذکور به جز رقم A7، مقدار پرولین نمونه تیمار خشکی کمتر از پرولین نمونه شاهد بود (شکل ۸).



شکل ۸. نمودار تفاوت عکس‌العمل ژنوتیپ‌های مختلف انگور مورد مطالعه به تنش خشکی بر اساس محتوای پرولین در برگ‌ها ۳۰ روز پس از شروع تنش خشکی تدریجی (A1 تا A8 به ترتیب ارقام سبز انگور، کج انگور، چفته، قلاتی شیراز، عسگری، ، سیاه انگور (سرخک قوچان) و سوپریور می‌باشند).

بررسی بیان ژن سوکروز فسفات سنتتاز

بر اساس نتایج بدست آمده از بررسی تغییرات متابولیکی قندها در بین ارقام مختلف مورد مطالعه و همچنین در رقم عسگری، بیان ژن کلیدی متابولیسم ساکاروز (*SPS*) در بین دو رقم انگور چفته (A3) و سیاه انگور (A7)، ۳۰ روز بعد از شروع تنش خشکی بررسی گردید. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که در نمونه‌های رقم چفته (A3)، بیان این ژن افزایش معنی‌داری داشته است، در حالی‌که در دو نمونه رقم سیاه انگور یا سرخک قوچان (A7) تغییرات معنی‌داری در بیان این ژن وجود نداشته است، اگرچه تمایل به افزایش بیان ژن تحت تأثیر تنش خشکی دیده می‌شود (شکل۹).



شکل ۹. نمودار تغییرات بیان ژن *SPS* ژن کلیدی متابولیسم ساکاروز در دو گیاه از رقم مقاوم انگور چفته (A3) و دو گیاه از رقم سیاه انگور یا سرخک قوچان (A7) به تنش خشکی (۳۰ روز بعد از ایجاد تیمار خشکی).

بحث

نتایج این تحقیق مقدماتی روی رقم عسکری نشان داد که اعمال تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار مقدار پرولین برگ از ۰/۱۶ به ۰/۳۴ میکرومول بر گرم وزن تر برگ گردید. در ارقام سبز انگور، کج انگور، قلاتی شیراز و سیاه انگور یا سرخک قوچان نیز تفاوت معنی‌داری در مقدار پرولین نمونه شاهد و تیمار خشکی مشاهده شد. همچنین، در رقم عسگری در مقدار پتانسیل آب برگ، نشاسته، فروکتوز و پرولین بین نمونه شاهد و نمونه تنش اختلاف معنی‌دار وجود داشت، به‌نحوی‌که اعمال تنش خشکی، سبب کاهش پتانسیل آب برگ و مقدار نشاسته و افزایش ساکارز و پرولین نسبت به نمونه شاهد گردید، این نتایج با نتایج مطالعات قبلی در این رابطه مطابقت دارد (Mirás-Avalos & Intrigliolo, 2017). بنابر نتایج تحقیق حاضر، نسبت قند محلول به نشاسته در رقم سیاه انگور (سرخک قوچان) تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت، در حالی که در رقم چفته این نسبت در نمونه خشکی افزایش معنی‌دار داشته است، بنابراین به نظر می‌رسد که علاوه بر تغییرات متابولیسم پرولین و تجمع پرولین تحت تنش خشکی، تغییر در متابولیسم قندها به سمت تجمع قندهای محلول نیز از سازوکارهای کلیدی تدافعی انگور تحت تنش خشکی می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که تنش خشکی باعث تجزیه وکاهش نشاسته در اثر افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز شده و از طرفی باعث افزایش غلظت قندهای محلول می‌گردد (Anderson & Kohorn, 2001). البته همانطور که نتایج این تحقیق نیز نشان دادند، نوع و میزان تغییرات محتوای قند محلول و پرولین تحت تأثیر خشکی در بین ارقام مختلف انگور متنوع بود، بنابراین قدرت و شدت مکانیسم‌های دفاعی مربوط به قند و پرولین، بستگی کامل به پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ یا رقم انگور در میزان مقاومت به خشکی دارد، به نحوی که احتمالاً در ارقام یا ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی این مکانیسم‌ها با سرعت و قدرت بیشتر در مقابل خشکی عمل می‌کنند. منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی در گیاه تحت تنش خشکی با افزایش تجمع ترکیبات کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در مطالعات قبلی هم گزارش شده است. بر اساس این مطالعات، پرولین و

قندهای محلول همچنین به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانت در سم‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن تحت تنش خشکی مطرح می‌باشند که البته قدرت و عملکرد آن‌ها در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف به حساسیت یا مقاومت آن‌ها به خشکی متفاوت است (Gambetta *et al*., 2020; Tiaz & Zeiger, 2006; Anderson & Kohorn, 2001). مطالعات قبلی در محصولات دیگر مانند توت فرنگی، نشان داده است که تحت تأثیر تنش خشکی، هر دوی چرخه‌های کاتابولیک (تجزیه) و متابولیک (سنتز) پرولین در گیاه به عنوان مکانیسم‌های تدافعی فعال شده، به نحوی که گیاه نه تنها با سنتز پرولین و افزایش محتوای آن به عنوان یک اسمولیت و آنتی‌اکسیدانت سلولی قوی باعث حفظ بالانس آبی و ایجاد مقاومت به خشکی می‌گردد، بلکه با فعال نمودن چرخه تجزیه پرولین در میتوکندری و اضمحلال آن، به تأمین انرژی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در سلول گیاهی کمک کرده و مقاومت در برابر خشکی را افزایش میدهد (Razavi, 2012). تا کنون مطالعات ملکولی مختلفی نیز در راستای شناسایی چرخه‌های متابولیکی و فیزیولوژیکی مؤثر در ایجاد مقاومت به خشکی در انگور انجام شده است. به عنوان مثال نقش تنظیمی miRNA ها و تجمع آن‌ها تحت شرایط تنش خشکی در ارقام و پایه‌های مقاوم و حساس به خشکی انگور با استفاده از روش‌های توالی‌یابی بررسی شده است، که نتایج به[1]وضوح نقش miRNA های مرتبط با مکانیسم‌های دفاعی را در انگور تحت تنش خشکی اثبات نمود، اگرچه قابلیت آن بسته به نوع رقم و ژنوتیپ و میزان مقاومت آن‌ها به خشکی کاملاً متفاوت است (Guo *et al*., 2023; Pagliarani *et al*., 2017). در مطالعات ملکولی دیگر نیز نقش کلیدی برخی ژن‌های عملکردی مانند ژن‌های کنترل میزان واکس و آنتوسیانین حبه انگور، آنتی‌اکسیدانت‌ها، پرولین و قندها و نیز عوامل رونویسی آن‌ها (Transcription Factors) مانند *bZIP* ، *WRKY*، *AREB/ABF* ، *DREB/CBF* در کنترل میزان مقاومت به خشکی در انگور اثبات شده است. (Zhao *et al*., 2018; Zandkarimi *et al*., 2015). بر اساس یافته‌های Munns & Tester (2008) تنش‌های سرما، خشکی و شوری از جمله تنش‌هایی هستند که منجر به دهیدراسیون و تنش اسمزی می‌شوند که متعاقب آن متابولیسم ساکارز و بیان آنزیم سوکروز سینتاز را تحریک می‌کنند. در تحقیق حاضر نیز افزایش معنی‌دار بیان ژن *SPS* به عنوان یک ژن کلیدی در تولید آنزیم سوکروز سینتاز در چرخه متابولیکی ساکاروز، همزمان با افزایش نسبت قند محلول به نشاسته در رقم چفته به عنوان رقم انگور مقاوم به خشکی، نشان‌دهنده نقش مهم متابولیسم قندها و نیز کنترل ژنتیکی آن در مکانیسم‌های مقاومت به تنش خشکی در انگور می‌باشد. تحقیقات گذشته نیز وجود همبستگی بین رسوب سلولز در دیواره سلولی با بیان بالای ژن سوکروز سینتاز به اثبات رسیده است (Jiang *et al*., 2017) که با توجه به نقش تنظیمی محصول این ژن در هدایت هدفمند کربوهیدرات‌ها به بیوسنتز دیواره سلولی و در نتیجه تقویت آن در مقابل تنش خشکی دور از انتظار نیست. نتایج آزمایشات در تحقیق حاضر روی رقم عسگری همچنین نشان داد که مقدار ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانت‌ها در پاسخ به تنش خشکی تدریجی در برگ انگور عسگری افزایش یافته است. این نتیجه با مطالعه Sokhtsarai *et al*.(2019) روی ارقام انگور چفته و یاقوتی مطابقت نشان می‌دهد. اگرچه امروزه نقش دفاعی متابولیت‌های ثانویه و آنتی‌اکسیدانت‌ها برای همه تقریباً پذیرفته شده است، اما هنوز بررسی سازوکار تأثیر تنش‌های محیطی بر تولید این مواد تصویر پیچیده و پرابهامی پیش روی ما می‌گذارد. شواهد زیادی نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی تولید برخی از این ترکیب‌ها تا چندین برابر افزایش می‌یابد (Koc *et al*., 2010; Efeoğlu *et al*., 2009). تنش خشکی باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه شده که سبب آسیب به قسمت‌های مختلف سلول و به ویژه غشای پلاسمایی می‌گردند. به نظر می‌رسد ظرفیت افزایش یافته سیستم آنتی‌اکسیدانت‌ها در مطالعه حاضر در انگور با حذف گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از پراکسیداسیون غشا مرتبط است و سیستم آنتی‌اکسیدانتی نیز از ساز وکارهای دفاعی انگور در مقابل تنش خشکی می‌باشد. در مجموع، نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش در محتوای آنتی‌اکسیدانت‌ها، محتوای پرولین و قند محلول و کاهش در محتوای قند ذخیره یا نشاسته در مواجهه

1 . Illumina sequencing

با خشکی در انگور از عکس‌العمل‌های کلیدی تدافعی انگور به تنش خشکی بوده که بسته به نوع ژنوتیپ یا رقم انگور شدت آن متفاوت می‌باشد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در مطالعه حاضر، هر رقم انگور بسته به پتانسیل ژنتیکی خود (مقاومت یا حساسیت به خشکی)، پاسخ‌های مختلفی را در چرخه‌های متابولیکی و دفاعی خود نسبت به تنش خشکی نشان داد و میزان و نوع مقاومت در بین ارقام متفاوت بود. به نظر می‌رسد که تحت تأثیر خشکی، الگوی متابولیسم پرولین و قندها در هر رقم، خاص همان رقم است، به عنوان مثال، در ارقام سبز انگور، گج انگور و قلاتی شیراز، کاهش پرولین و در سیاه انگور (سرخک قوچان) افزایش پرولین تحت تنش خشکی مشاهده شده است و این در حالی است که خشکی تأثیر معناداری بر روی محتوای پرولین در سایر ارقام نداشته است. با توجه به این واقعیت که هم کاهش و هم افزایش پرولین تحت تنش خشکی نشان دهنده تحریک سیستم مقاومتی گیاه در مقابل خشکی بوده، بنابر این می‌توان نتیجه گرفت که متابولیسم پرولین در هر ۴ رقم مذکور قوی‌تر از سایر ارقام مورد مطالعه عمل کرده است. همچنین در بحث متابولیسم قندها و بررسی نسبت قند محلول به نشاسته ، الگوی رفتاری این ارقام تحت تنش خشکی متنوع بوده، در ارقام سیاه انگور (سرخک قوچان) و چفته تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های شاهد و خشکی دیده شد. به این ترتیب که نسبت قند محلول به قند ذخیره در رقم سیاه انگور در اثر خشکی کاهش و در رقم چفته افزایش معنی‌داری داشته، بیان ژن کلیدی *SPS* در سنتز ساکاروز در رقم چفته افزایش معنادار و در سیاه انگور نیز تمایل به افزایش نشان داد. این در حالی است که در سایر ارقام تفاوت معنی‌داری در نسبت قند محلول به نشاسته بین تیمار خشکی و شاهد مشاهده نشد. بر اساس این الگوی متابولیکی قندها، می‌توان نتیجه گرفت که رقم چفته سیستم تدافعی قوی‌تری نسبت به سایر ارقام داشته است. در رقم سیاه انگور نیز کاهش در نسبت قندهای محلول به قند ذخیره و الگوی افزایشی در بیان ژن *SPS* ، حاکی از عملکرد دینامیک و قوی تدافعی چرخه متابولیکی قندها بوده که با مصرف قندهای ساکاروز و هگزوز در جهت تأمین انرژی سلول و القای مقاومت در مقابل خشکی عمل کرده است. در مجموع ارقام چفته و سیاه انگور را می‌توان به عنوان ارقامی مقاوم تر به خشکی نسبت به سایر ارقام در این مطالعه معرفی نمود و در درجات بعدی هم شاید بتوان ارقام سبز انگور، کج انگور و قلاتی را مقاوم‌تر از سایر ارقام معرفی کرد، هر چند که مطالعات تکمیلی بر اساس فاکتورهای ملکولی و متابولیکی بیشتر در چرخه‌های قند و پرولین جهت نیل به نتایج قوی‌تر ضروریست و در بررسی‌های تکمیلی انجام خواهد گرفت. همچنین، با توجه به این‌که تغییرات حاصل از تنش خشکی در گیاه، محدود به یک اندام گیاهی مثلا برگ نمی‌باشد و از طرفی با توجه به چند ژنی بودن فنوتیپ تحمل به خشکی، در ارزیابی‌های بعدی روی انگور، لازم است که از صفات چندگانه مربوط به اندام‌های مختلف گیاه جهت مطالعه تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف و در ابعاد مختلف ارزیابی و بر آن اساس نتیجه‌گیری شود. هرچند که ارقام انگور در این پژوهش از چندین جهت بررسی شده‌اند، ولی لازم است که قرابت ژنتیکی آن‌ها با یکدیگر نیز مشخص گردد تا بتوان از مزایای نتایج این تحقیق در دورگ‌گیری‌های هدفمند برای ایجاد مقاومت به خشکی در لاین‌های جدید انگور نیز استفاده نمود. از طرفی سایر مکانیسم‌های ژنتیکی و متابولیکی تدافعی تحت تنش خشکی در انگور نیاز به بررسی دارند که در مطالعات آتی در تعداد بیشتری ژنوتیپ و رقم بررسی خواهند شد.

منابع

اسدی، وهب؛ رسولی، موسی؛ غلامی، منصور و ملکی، معصومه (۱۳۹۶). بررسی برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک چهار رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) در شرایط تنش خشکی. *نشریه علوم باغبانی ایران (علوم کشاورزی ایران)*، ۴۸ (۴)، ۹۹۰-۹۷۷.

اسدی، وهب؛ غلامی، منصور؛ رسولی، موسی و ملکی، معصومه (۱۳۹۸). اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). *تولید فرآوری محصولات زراعی و باغی*، ۹ (۳)، ۴۵-۵۹.

آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی (۱۳۹۸). انتشارات وزارت جهاد کشاورزی.

بحرانی، پگاه؛ عبادی، علی؛ زمانی، ذبیح‌اله و فتاحی مقدم، محمدرضا (۱۳۹۹). تأثیر سطوح مختلف خشکی در برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک به‌منظور انتخاب متحمل‌ترین پایه انگور. *پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۲۷ (۱)، ۴۱-۵۶.

حسابی اصفهانی، پرویز (۱۳۷۹). تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و آب خاک بر رشد برخی از رقم انگور (*Vitis vinifera*. L.)، (پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز، تبریز).

خندانی، یاسر؛ غلامی، منصور؛ ساریخانی، حسن و چهرگانی راد، عبدالکریم (۱۴۰۱). عکس‌العمل برخی ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیک ارقام انگور ایرانی و خارجی به تنش خشکی. *فصلنامه فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۱ (۶)، ۱۵۳-۱۷۴.

ربیعی، ولی (۱۳۸۳). پاسخ فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی برخی ارقام انگور به تنش آبی. (رساله دکتری، دانشگاه تهران، تهران).

رسولی، ولی‌اله و گل‌محمدی، مجید (۱۳۸۸). ارزیابی تحمل به تنش خشکی ارقام انگور استان قزوین. *نهال و بذر*، ۲۵ (۲)، ۳۵۹-۳۴۹.

رضوی، فرزانه (۱۳۹۹). ارزیابی پتانسیل کشت دیم برخی از ارقام انگور در استان چهارمحال و بختیاری. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی خاص، شماره فروست: ۵۹۰۵۵، مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع‌رسانی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران، ۸۰ صفحه.

سوخت‌سرایی، رضا؛ عبادی، علی؛ سلامی، سیدعلیرضا و حاجی احمد، پریسا (۱۳۹۸). پاسخ فیزیولوژی و بیوشیمیایی نهال سه رقم انگور بیدانه سفید، یاقوتی و چفته به تنش خشکی. *پژوهش‌های تولید گیاهی* (علوم کشاورزی و منابع طبیعی)، ۲۶(۲)، ۱۳-۱.

عزیزی، حسین؛ جلیلی مرندی، رسول؛ حسنی، عباس و دولتی بانه، حامد (۱۲ تا ۱۵ تیر، ۱۳۸۸). تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سه رقم انگور. مجموعه مقالات ششمین کنگره علوم باغبانی ایران. دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

فهیم، سمیه؛ قنبری، علیرضا؛ ناجی، امیرمحمد؛ شکوهیان، علی اکبر و ملکی لجایر، حسن (۱۴۰۱). تأثیر تنش خشکی روی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در برخی ارقام انگور ایرانی. *فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۱(۴۷)، ۲۴۹-۲۶۶.

قادری، ناصر (۱۳۸۸). تأثیر تنش آبی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی پنج رقم انگور و ارزیابی تنوع ژنتیکی آن‌ها در استان کردستان. (رساله دکتری، دانشگاه تهران، تهران).

مهری، حمیدرضا؛ قبادی، سیروس؛ بانی‌نسب، بهرام؛ احسان‌زاده، پرویز و غلامی، مهدیه (۱۳۹۳). بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی چهار رقم انگور ایرانی به تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای. *فرایند و کارکرد گیاهی*، ۳ (۱۰)، ۱۲۵-۱۱۵.

REFERENCES

Acevedo-Opazo, C., Ortega–Farias, S., & Fuentes, S. (2010). Effects of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status on water consumption, vegetative growth and grape quality: An irrigation scheduling application to achieve regulated deficit irrigation. *Agricultural Water Management*, 97, 956-964. http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2010.01.025

Statistics of the Ministry of Agricultural Jihad (2018). Publications of the Ministry of Agricultural Jihad. (In Persian).

Aebi, H. (1974). *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic Press, New York.

Alsina, M. M., Smart, D. R., Bauerle, T., de Herralde, F., Biel, C., Stockert, C., Negron, C., & Save, R. (2011). Seasonal changes of whole root system conductance by a drought tolerant grape root system. *Journal of Experimental Botany*, 62, 99-109. http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erq247

Anderson, C. M., & Kohorn, B. D. (2001). Inactivation of *Arabidopsis SIP1* leads to reduced levels of sugars. *Journal of Plant Physiology*, 158, 1215-1219.

Asadi, W., Rasouli, M., Gholami, M., & Maleki, M. (2018). Study of some morphological and physiological traits of four grape varieties (*Vitis vinifera* L.) under water stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 48(4), 977-990. (In Persian) https://doi.org/10.22059/ijhs.2017.237072.1279

Asadi, W., Gholami, M., Rasouli, M., & Maleki, M., (2019). Effect of drought stress on some physiological traits in three varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.). Isfahan University of Technology-*Journal of Crop Production and Processing*, 9(3), 45-59. (In Persian) http://dx.doi.org/10.47176/jcpp.9.3.24642

Azizi, H., Jalilimarandi, R., Hasani, A., & Dolati Bane, H. (2009). Effect of drought stress on some

morphological and physiological characters of three grapevine cultivar. In *Proceedings of 6th Iranian Horticultural Science Congress*. (pp. 527). University of Guilan, Rasht, Iran. (In Persian).

Bahrani, P., Ebadi, A., Zamani, Z., & Fatahi Moghadam M.R. (2020). Effects of drought stress levels on some morphological and physiological traits of grape to select the most tolerant ones as a rootstock (2020). *Journal of Plant Production*. 27, 41-56. (In Persian). https://doi.org/10.22069/jopp.2020.15230.2369

Bates L. S. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

Chaplin M. F., & Kenedy J. F. (1994). *Carbohydrate analysis: A practical approach*. No: 143, Oxford University Press BPS, 2nd ed, 344p.

De Keyser E., De Riek J., & Van Bockstaele E. (2009). Discovery of species-wide EST-derived markers in Rhododendron by intron-flanking primer design. *Mol Breed*, 23, 171-178. http://dx.doi.org/10.1007/s11032-008-9212-4

Doulati Baneh, H., Ahmadali, J., & Rasouli, M. (2019). Effects of drought stress on some morphophysiological traits of some Iranian and foreign commercial grape varieties. *Research in Pomology*, 4(2), 127-142.

Efeoğlu, B., Ekmekçi, Y., & Çiçek, N. (2009). Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, 75, 34-42. http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2008.06.005

Fahim, S., Ghanbari, A., Naji, A. M., Shokohian, A. A., & Maleki Lajayer, H. (2023). Impact of drought stress on morphological and physiological traits in some Iranian grape cultivars. *Plant Process and Function*, 11 (47), 249-266. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1556-fa.html (In Persian).

Ferreya, E. R., Selles G., Ruiz S. R., & Selles, M. I. (2003). Efecto del estres hidrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la produccion Y calidad Del vino. *Agricultura Tecnica* (Chile), 63, 277-286. http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072003000300007

Gambetta, G. A., Herrera, J. C., Dayer, S., Feng, Q., Hochberg, U., & Castellarin, S. D. (2020). The physiology of drought stress in grapevine: Towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 71, 4658–4676. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa245

Ghaderi, N. T., Talaei, A., Ebadi, A., & Lesani, H. (2011). Physiological response of three Iranian grape cultivars to increasing drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(4), 601-610. http://dorl.net/dor/20.1001.1.16807073.2011.13.4.4.3

Ghaderi, N. (2009). *Effect of water stress on some physiological characters of five grapevine cultivars and evaluation of genetic diversity of them in Kurdistan province*. [Doctoral dissertation, Faculty of Horticulture. University of Tehran, Iran]. (In Persian).

Guo, S., Xu, T., Ju, Y., & Yulu Lei, Y., *et al*. (2023). MicroRNAs behave differently to drought stress in drought-tolerant and drought-sensitive grape genotypes. *Environmental and Experimental Botany*, 207. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105223

Hadadinejad, M., Ebadi, A., Fatahi, R., Mousavi, A., Santesteban, L.G., & Nejatian, M.A. (2014). The effect of drought stress on photosynthetic traits and the expression of some genes for a few Iranian grapevine candidate rootstocks. *The proceeding of ISHS Acta Horticulture*, 1045, *VI* International Phylloxera symposium, DOI: 10.17660/ActaHortic.2014.1045.17.

Hellemans J., Mortier G., De Paepe A., Speleman F., & Vandesompele J. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of realtime quantitative PCR data. *Genome Biology*, 8, R19. doi 10.1186/gb-2007-8-2-r19.

Hesabi Esfahlan, P. (2000). Effect of different level of drought stress and soil water on some grapevine (*Vitis vinifera*. L.) cultivars growth, [M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, Tabriz University, Iran]. (In Persian)

Jiang, J., Liu, X., Liu, C., Liu, G., Li, S., & Wang, L. (2017). Integrating omics and alternative splicing reveals insights into grape response to high temperature. *Plant Physiology*, 173, 1502-1518. https://doi.org/10.1104/pp.16.01305

Jiang, Q., Jian, H., & Chenyang, H. (2011). The wheat (*T. aestivum*) sucrose synthase 2 gene (*TaSus2*) active in endosperm development is associated with yield traits. *Funct Integr Genomics*, 11, 49-61. http://dx.doi.org/10.1007/s10142-010-0188-x

Khandani, Y., Gholami, M., Sarikhani, H., & Chehregani Rad, A. (2022). Response of some vegetative and physiological traits of Iranian and foreign grape cultivars to drought stress. *Plant Process and Function*, 11 (51), 153-174 . http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1661-fa.html. (In Persian).

Koc, E., İslek, C., & Üstun, A. S. (2010). Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*, 23, 1-6.

Lovisolo, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., & Schubert, A. (2010). Drought-induced changes in development and function of grapevine (*Vitis* spp.) organs and in their hydraulic and non-hydraulic interactions at the whole-plant level, a physiological and molecular update. *Functional Plant Biology*, 37, 98-116. http://dx.doi.org/10.1071/FP09191

McCarthy, M. G. (1997). The effect of transient water deficit on berry development of cv. Shiraz (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3, 102-108. https://doi.org/10.1111/J.1755-0238.1997.TB00128.X

Mehri, H., Ghobadi, C., Baninasab, B., Ehsanzadeh, P. & Gholami, M. (2015). Evaluation of some physiological and morphological responses of four Iranian grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars to drought stress under in vitro conditions. *Journal of Plant Process and Function*, 3 (10), 115-126. (In Persian). http://dorl.net/dor/20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0

Mirás-Avalos, J. M., & Intrigliolo, D. S. (2017). Grape composition under abiotic constrains: Water stress and salinity. *Frontiers in Plant Science*, 8(851), 1-8. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00851

Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681. http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911

Pagliarani, C., Vitali, M., Ferrero, M., Vitulo, N., Incarbone, M., Lovisolo, C., Valle G., & Schubert, A. (2017). The accumulation of miRNAs differentially modulated by drought stress is affected by grafting in grapevine. *Plant Physiology*, 173(4), 2180-2195. https://doi.org/10.1104/pp.16.01119

Rabiei, V. (2004). Physiological and morphological response of some grapevine cultivars to water stress. [Doctoral dissertation, Faculty of Horticulture. University of Tehran, Iran]. (In Persian)

Rasuli, V. & Golmohamadi, M. (2009). Evaluation of drought stress tolerance in grapevine cultivars of Qazvin province. *Seed and Plant Imprivement Journal*, 25(2), 349-359. (In Persian). https://doi.org/10.22092/spij.2017.111006

Razavi, F. (2012). *Molecular and physiological responses to drought stress in Fragaria* sp. Universitaat Press, University of Ghent, Gent, Belgium.

Razavi, F., De Keyser, E., De Riek, J., & Van Labeke, M.C. (2011). A method for testing drought tolerance in *Fragaria* based on fast screening for water deficit response and use of associated AFLP and EST candidate gene markers. *Euphytica*, 180, 385-409. http://dx.doi.org/10.1007/s10681-011-0398-x

Richardson, S. G., & McKell, C. M. (1980). Water relations of *Atriplex canescens* as affected by the salinity and moisture percentage of processed oil shale. *Agronomy Journal*, 72 (6), 946-950. https://doi.org/10.2134/agronj1980.00021962007200060020x

Santos, T. P., Lopes, C. M., Rodrigues, M. L., Souza, C. R., Maroco, J. P., Pereira, J. S., Silva, J. R., & Chavez, M. M. (2003). Partial rootzone drying: Effects on growth and fruit quality of field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Functional Plant Biology*, 30, 663-671. doi: 10.1071/FP02180.

Schultz, H. R. (2000). Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV B effects. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 2-12. http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00156.x

Serra, I., Strever, A., Myburgh, P.A., & Deloire, A. (2014). Review: The interaction between

rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhance drought tolerance in grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20, 1-14. http://dx.doi.org/10.1111/ajgw.12054

Sofo, A., Nuzzo, V., Tataranni, G., Manfra M., De Nisco M., & Scopa, A. (2012). Berry morphology and composition in irrigated and non-irrigated grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Plant Physiology*, 169, 1023-1031. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.03.007

Sokhtsarai, R., Ebadi, A., Salami, S.A., & Haji Ahmad, P. (2019). Physiological and biochemical response of three Iranain grapevine cultivars 'Bidane sefid', 'Chafte' and 'Yaghooti' to drought stress. *Plant Production Research* (Agricultural Sciences and Natural Resources), 26(2), 1-13. (In Persian).

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant physiology*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., & Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biology*, 3, 1-11. http://dx.doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034

Zandkarimi, H., Ebadi, A., Salami, S. A., Alizade, H., & Baisakh (2015). Analyzing the expression profile of AREB/ABF and DREB/CBF genes under drought and salinity stresses in grape (*Vitis vinifera* L.). *PLOS ONE*. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134288

Zhao, J., Zhang, X., & Guo, R., et al., (2018). Over-expression of a grape WRKY transcription factor gene, VlWRKY48, in *Arabidopsis thaliana* increases disease resistance and drought stress tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 132, 359–370. https://link.springer.com/article/10.1007/s11240-017-1335-z