

بررسی برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیک چهار رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) در شرایط تنش خشکی

وهب اسدی^۱، موسی رسولی^{۲*}، منصور غلامی^۳ و معصومه ملکی^۴
۱. دانشجوی دکتری پژوهشکده ملی انگور و کشمش دانشگاه ملایر
۲. استادیار، گروه فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر
۳. استاد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی، همدان
۴. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم دانشگاه ملایر
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۶/۱۱)

چکیده

تنش کم‌آبی از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید محصولات کشاورزی در جهان و کشور ایران است. آگاهی از سازوکار واکنش رقم‌های انگور در تنش خشکی می‌تواند تاکداران و پژوهشگران را در انتخاب رقم مناسب برای کشت و تعیین نژادگان (ژنوتیپ)‌های انتخابی برای برنامه‌های به‌نژادی یاری کند. به همین منظور پژوهشی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۴ در شرایط گلخانه‌ای برای بررسی تأثیر تغییرپذیری پتانسیل آب خاک بر صفات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) چهار رقم انگور بومی و غریبومی انجام شد. تیمارها شامل چهار رقم انگور (عسکری، خلیلی، چفته و پرلت) و سه سطح تنش خشکی شامل پتانسیل آب خاک در محدوده ۰/۲- (شاهد)، ۰/۷- و ۱/۲- مگاپاسکال بودند. صفات اندازه‌گیری‌شده شامل نسبت وزن خشک به سطح برگ (LMA)، میزان پایداری غشای یاخته‌ای، سبزینه (کلروفیل)، پروتئین کل، کربوهیدرات‌های محلول، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، میزان مالون دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) بود. بنا بر نتایج این پژوهش همه سطوح تنش و نوع رقم در سطح ۱ درصد تأثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری‌شده داشتند. با افزایش سطح تنش، پروتئین (۲۱ تا ۳۸ درصد)، مالون دی‌آلدئید (۵۰ تا ۷۰ درصد)، کربوهیدرات‌های محلول (۵۵ درصد)، فعالیت آنزیم کاتالاز (۳۷ تا ۵۴ درصد) و پراکسیداز (۱۳ تا ۱۷ درصد) افزایش یافت و محتوای آب نسبی برگ (۵/۶ درصد) و پروتئین‌های محلول کل (۱۹ تا ۳۹ درصد) کاهش پیدا کرد. به‌طور کلی نتایج نشان داد، رقم‌های چفته و خلیلی پتانسیل بالاتری برای تحمل شرایط تنش خشکی را نسبت به رقم‌های پرلت و عسکری داشتند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های پاداکسنده، تنش خشکی، پایداری غشای یاخته‌ای، مالون دی‌آلدئید، نسبت وزن خشک به سطح برگ.

Study of some morphological and physiological traits of four varieties grapes (*Vitis vinifera* L.) under water stress

Wahab Asadi¹, Mousa Rasouli^{2*}, Mansour Gholami³ and Masoumeh Maleki⁴

1. Ph. D. Candidate, Iranian Research Institute in Grape and Raisin, Malayer University, Malayer, Iran

2. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Malayer University, Malayer, Iran

3. Professor, Department of Horticultural Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

4. Assistant Professor, Department of Biology Science, Malayer University, Malayer, Iran

(Received: Jul. 8, 2017 - Accepted: Sep. 2, 2017)

ABSTRACT

Drought stress is one of the major limits of agricultural production in the world as well as Iran. Knowledge of the mechanism of action in different varieties and genotypes of grape in drought stress can help farmers in the selection of suitable varieties for cultivation and researchers to determine the candidate genotypes for breeding programs. For this purpose, research by factorial arrangement in completely randomized design (CRD) with three replications in greenhouse conditions in 2015-2016 were carried out to study the effect of soil water potential changes in some physiological and morphological traits of four varieties of domestic and foreign grapes. The treatments includes four varieties of grapes (Askari, Khalili, Chafteh and Perlette) and three levels of drought stress (-0.2, -0.7 and -1.2 M Pa). In this experiment effect of water potential changes in some physiological and morphological traits of four varieties of domestic and foreign grapes were studied. Measured traits were LMA (Leaf Mass Area), cell membrane stability index, chlorophyll, proline, total protein, soluble carbohydrates, RWC (Relative Water Content), malondialdehyde levels, activity of catalase (CAT) and peroxidase (POX). Base on the results of this study, all drought stress levels and varieties have significant effect on measured traits at 1% level. By increasing drought stress, proline (21- 38%), MDA (50-70%), soluble carbohydrates (55%), activity of CAT (37-54%), and POX (13-17%) increased, but RWC (5.6%) and total soluble protein (19-39%) decreased. In general, the results showed that the varieties of Chafteh and Khalili have the higher potential to tolerate drought stress conditions compared with Askari and Perlette.

Keywords: Antioxidant enzymes, drought stress, leaf mass area malondialdehyde, membrane stability index.

* Corresponding author E-mail: m.rasouli@malayeru.ac.ir

مقدمه

بر پایه آمارنامه محصولات باغبانی سال ۱۳۹۴ از ۲/۳ میلیون هکتار سطح باغ‌های بارور کشور، انگور با اختصاص دادن ۱۲/۱ درصد سطح بارور کشور رتبه دوم را پس از پسته در اختیار دارد. همچنین این محصول با تولید ۱۶/۳ درصد از ۱۹/۳۸ میلیون تن تولید محصولات باغبانی کشور پس از سیب رتبه دوم تولید را دارد (Ahmadi et al., 2016). عامل‌های محدودکننده‌ای مانند تنش خشکی که ناشی از شرایط تغییر اقلیم بوده از چالش‌های مهم باغبانی است و تلاش برای رویارویی و ارائه راه‌حل برای آن بسیار اهمیت دارد (Ekhvaia & Akhalkatsi, 2010). بیشتر محصول باغ‌های انگور در ایران مصرف تازه‌خوری و تولید کشمش دارند و به همین دلیل تنش خشکی می‌تواند آسیب و زیان‌های اقتصادی شدیدی به محصول تاکداران وارد کند. در صورتی که کاربردهایی مانند فرآوری آب انگور و تولید آب انگور در طی تنش خشکی تغییرپذیری‌های کمتری نشان می‌دهد و چه‌بسا ترکیب‌های فنول و پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) با تنش خشکی در حبه‌ها افزایش یابد و کیفیت آن‌ها بهبود نیز بیابد (Jacobs, 2010, Ahmadi et al., 2016).

انگور سازوکارهای متفاوت فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) دارد که آن را قادر به حفظ رشد و تولید در شرایط عادی (نرمال) و نیز شرایط کمبود آب می‌کند (Kavi Kishore et al., 2005). به‌طور کلی، انگورها به دلیل داشتن آوندهای چوبی به نسبت بزرگ در مقایسه با گیاهان دیگر به‌عنوان گیاهان به نسبت متحمل به کمبود آب در نظر گرفته می‌شوند و این امر تا حدی است که اجازه بازگشت سریع آن‌ها را پس از محدودیت‌های آبی فراهم می‌کند (Lovisolo et al., 2008). انگور از لحاظ تحمل به خشکی، گونه متحتملی به شمار می‌آید لکن یک تنش شدید ممکن است تأثیر قابل‌توجهی روی خواص کیفی میوه و فراسنجه (پارامترهای دیگر محصول داشته باشد. هنگامی که از مواد گیاهی سازگار شده به شرایط خشکی استفاده شود، امکان گریز از آسیب و زیان‌های تنش شدید آب نیز فراهم می‌شود (Chaves et al., 2004).

کمبود فاحش آب ممکن است منجر به کاهش عملکرد و اختلال در کیفیت حبه‌های انگور شود، به‌طوری‌که تنش القاشده توسط کمبود آب در فصل رشد، تأثیر قابل‌توجهی روی عملکرد فیزیولوژیکی انگور دارد (Chaves et al., 2004). در نتیجه تنش خشکی، کاهش رشد در همه ابعاد گیاه رخ می‌دهد. خشکی سبب القا پیری در برگ‌های مسن، کاهش رشد، کاهش پتانسیل آب گیاه، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش در میزان تعرق و نورساخت (فتوسنتز) می‌شود (Yordanov et al., 2000). نتایج بررسی‌های بسیاری نشان داده است، واکنش انگور به کمبود آب شامل کاهش در هدایت روزنه‌ای و نورساخت (Kennedy, 2008)، کاهش گسترش برگ و طول میان‌گره‌ها (Lovisolo et al., 2010) و کاهش در عملکرد است (Chaves et al., 2004). افزون بر این، پایه‌های انگور بسته به ظرفیت رشدی که دارند، می‌توانند توسعه سطح برگ و ریشه خود را تحت تأثیر قرار دهند. در طول فصول خشک پایه‌هایی که توان رشدی بالاتری دارند نسبت به پایه‌های کم‌رشدتر می‌توانند نواحی اطراف ریشه خود را برای جذب آب بیشتر جستجو کنند (Hadadinejad et al., 2013). تنش خشکی منجر به انسداد روزنه‌ای و کاهش در سرعت تعرق، پتانسیل آب بافت‌های گیاهی، نورساخت و رشد می‌شود. در این شرایط گیاه نیازمند منفی‌تر کردن پتانسیل آب خود است تا توانایی جذب آب را داشته باشد در نتیجه باعث تجمع آب‌سزیک اسید^۱، پرولین^۲، مانیتول^۳، سوربیتول^۴ و تشکیل رادیکال‌های آزاد^۵ (آسکوربات^۶، گلووتاتیون^۷ و آلفاتوکوفرول^۸ و غیره) می‌شود. این مواد افزون بر تداوم جذب آب باعث پایداری غشا و پروتئین‌های یاخته نیز می‌شوند (Kantar et al., 2011).

یکی از روش‌های شناسایی رقم‌های متحمل به

1. Abscisic acid
2. Proline
3. Mannitol
4. Sorbitol
5. Free-radical addition
6. ascorbate
7. Glutathione
8. Alpha-Tocopherol

استفاده است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر سطوح مختلف خشکی بر تغییرپذیری ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در چهار رقم عسکری، خلیلی، چفته و پرلت بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش با ۱۲ تیمار شامل چهار رقم (عسکری، خلیلی، چفته و پرلت) و سه پتانسیل آب (۰/۲- به‌عنوان شاهد، ۰/۷- و ۱/۲- مگاپاسکال) در سه تکرار به‌صورت آزمایش فاکتوریل (عامل A رقم و عامل B تنش خشکی) در قالب طرح کامل تصادفی در گلخانه (دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 و شرایط نوری ۱۴ ساعت روشنایی) تحقیقاتی دانشگاه ملایر با طول ۴۸ درجه و ۵۱ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۱۹ دقیقه در طی سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۵ اجرا شد. به‌منظور دقت در انجام کار و انتخاب رقم‌های مورد نظر، قلمه رقم‌های مورد بررسی در بهمن سال ۱۳۹۴ از کلکسیون ملی انگور ایران واقع در ایستگاه تحقیقات انگور شهرستان تاکستان در استان قزوین گردآوری و پس از ریشه‌دار شدن با محیط رشدی شامل خاک با بافت لومی رسی به گلدان‌های ۲۶ لیتری انتقال یافتند. تیمارهای تنش خشکی از اوایل خرداد در مرحله پنج یا شش برگی اعمال شد و با رسیدن پتانسیل آب خاک به مکش مورد نظر نمونه-برداری انجام شد. همه مراحل آزمایش شامل اعمال تنش و اندازه‌گیری صفات مورد بررسی، از ۷ خرداد تا ۷ تیر به‌طور همسان سه بار انجام گرفت و نتایج به‌صورت میانگین اندازه‌گیری‌ها ارائه شد (Ghaderi et al., 2010; Talaei et al., 2012). برای اندازه‌گیری پتانسیل آب خاک گلدان‌ها برای اعمال بهینه سطوح تنش خشکی از دستگاه تانسیمتر (Model: PMS-714 شرکت Lutron، کشور تایوان) استفاده شد. در مراحل اولیه انتقال نهال‌ها به گلدان‌ها نمونه‌های خاک در سیلندره‌های به قطر ۷/۵ و ارتفاع ۰/۵ سانتی‌متر از گلدان‌ها در مقادیر مختلف آب خاک تهیه شد و با دستگاه صفحه فشاری (پرشپلیت^۱) مکش آن محاسبه

تنش خشکی، اعمال تنش خشکی به‌صورت تیمارهای رطوبتی و بررسی تغییرپذیری‌ها در صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در گیاه است. در مورد تنش خشکی با اعمال تیمارهای رطوبتی و بررسی واکنش رقم‌ها به کم‌آبی در شرایط گلخانه یا مزرعه، رقم‌های مقاوم یا متحمل به خشکی معرفی شده‌اند که از آن جمله می‌توان به رقم‌های تمپرانیلو^۱ (Medrano et al., 2003)، رقم ساهانی (Talaei et al., 2012)، رقم‌های ملایی و سیاه‌انگور (Ghaderi et al., 2010)، رقم‌های گزنی (Rasuli & Golmohamadi, 2003)، رقم رشه (Rezaee et al., 2007) و رقم رشه (Jalili marandi et al., 2011) اشاره کرد. همچنین در پژوهشی با بررسی صفات ریخت‌شناختی نژادگان (ژنوتیپ)های انگور در ایران، نژادگان‌های کج انگور بجنورد، سرخک قوچان، سیاه معمولی زرقان و قلاتی شیراز به‌عنوان نژادگان‌های مناسب کشت در مناطق کم‌آب معرفی شد (Hadadinejad et al., 2013). در بررسی‌های همسان دیگری در ایالت فلوریدا آمریکا از این روش برای تعیین نژادگان‌های متحمل به خشکی برای استفاده به‌عنوان پایه دیگر رقم‌های تجاری استفاده شد (Jacobs, 2010). در علم باغبانی می‌توان از ویژگی‌های پایه برای شرایط نامناسب و تنش‌های گوناگون مانند شوری خاک، کم یا زیاد بودن pH خاک و خشکی استفاده کرد (Bascunan-Godoy et al., 2017)، این بررسی‌های افزون بر اینکه می‌تواند رقم‌های تجاری مناسب برای کشت در مناطق کم‌آب را معرفی کند، رقم‌های و نژادگان‌های موجود در ایران که قابلیت‌های ژنتیکی مطلوب از نظر تحمل به شرایط نامساعد دارند را نیز به‌عنوان پایه برای رقم‌های پر مصرف مشخص می‌کنند.

با توجه به چالش عمده کم‌آبی در کشور و مطرح بودن این محدودیت به‌عنوان مهم‌ترین عامل کاهش محصولات کشاورزی، نیاز است تا رقم‌های مناسب شرایط تنش خشکی شناسایی و معرفی شوند. این امر افزون بر افزایش سطح زیر کشت انگور و بهبود معیشت تاکداران، برای برنامه‌های اصلاحی نیز قابل

برای اندازه‌گیری میزان آب نسبی برگ (RWC)^۳ از رابطه ۴ استفاده شد (Sheng *et al.*, 2010).

$$RWC = \frac{\text{وزن تر دیسک‌های برگی}}{\text{وزن خشک دیسک‌های برگی} - \text{وزن آماس دیسک‌های برگی}} \times 100 \quad (4)$$

کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از روش Khochert (1987) اندازه‌گیری شد و خواندن طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۳۵ نانومتر صورت گرفت (Khochert, 1987). برای استخراج پرولین، از روش Irigoyen (1992) استفاده شد و میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (Irigoyen *et al.*, 1992).

غلظت مالون‌دی‌آلدئید که فرآوردهٔ پراکسیداسیون چربی (لیپید)های غشاء است از روش Wang *et al.* (2009) اندازه‌گیری شد و از تیوباربیتوریک اسید به‌عنوان معرف استفاده شد (Wang *et al.*, 2009). در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، برای تهیهٔ عصارهٔ ۰/۱ گرم برگ در هاون چینی سرد شده با نیتروژن مایع خرد شد، نمونه‌ها به درون ویال‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل و ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات به آن‌ها اضافه شد. سپس ویال‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال دار ۴ درجهٔ سلسیوس در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. ۵۰ میکرولیتر عصاره به بافر واکنش مخصوص اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز که شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات و ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن بود، اضافه شد و در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه میزان جذب مشاهده شد (Mehri *et al.*, 2014). در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز میزان جذب در طی سه دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. میزان تتراکویاکول^۴ تشکیل‌شده با کمک ضریب خاموشی محاسبه شد ($\epsilon = 26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). بر این اساس فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز به‌صورت میکرومول تتراکویاکول تشکیل‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ($\mu \text{ mol/mine/mg}$) (Hemeda & Kelin, 1990) بیان شد.

محاسبه و با نتایج به‌دست‌آمده از تانسئومتر مقایسه شد و منحنی رطوبتی رسم شد. در این روش با استفاده از تانسئومتر دیجیتالی رطوبت خاک اندازه‌گیری و آنگاه با کمک منحنی رطوبتی میزان پتانسیل آب خاک را تعیین شد. صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی در زمان رسیدن پتانسیل آب خاک به سطح خشکی مورد انتظار که با دستگاه تانسئومتر تعیین می‌شد، اندازه‌گیری شدند (Talaie *et al.*, 2012).

برای اندازه‌گیری نسبت وزن خشک برگ به سطح برگ (LMA) از هر تیمار شش برگ بالغ و سالم انتخاب شد. در آغاز توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (مدل OT)، سطح برگ‌ها اندازه‌گیری و پس از آن برگ‌ها در ۷۰ درجهٔ سلسیوس خشک شدند. برای به دست آوردن این شاخص وزن خشک برگ به سطح برگ تقسیم شد (Galmes *et al.*, 2007).

برای اندازه‌گیری پایداری غشای یاخته‌ای (MSI^۱) از رابطه ۱ استفاده شد که در آن C1 نشان‌دهندهٔ EC مخلوط حاوی قطعه‌های برگ و آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجهٔ سلسیوس در حمام آب گرم گرما داده‌شده و C2 نشان‌دهندهٔ EC مخلوط حاوی برگ و آب مقطر در حمام آب ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه گرما داده شده است (Sivritepe *et al.*, 2008).

$$MSI = \left[1 - \frac{C_1}{C_2} \right] \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری سبزینه (کلروفیل)، استخراج و میزان جذب نور توسط عصارهٔ استخراج‌شده با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر تعیین و غلظت سبزینه از رابطه‌های ۲ و ۳ به دست آمد. در این رابطه‌ها V حجم و W وزن تر نمونه استخراج‌شده است (Lichtenthaler & Buschmann, 2001).

$$chl\alpha = 11.24(OD 662) - 2.04(OD 645) \times \left(\frac{V}{1000 \times W} \right) \quad (2)$$

$$chl\beta = 20.13(OD 645) - 4.19(OD 662) \times \left(\frac{V}{1000 \times W} \right) \quad (3)$$

رشد رویشی میزان سطح تبخیر و تعرق گیاه کاهش می‌یابد (Anjum, 2011; Manivannan *et al.*, 2007). صفت نسبت وزن خشک به سطح برگ یکی از مهم‌ترین صفات تعیین‌کننده تحمل گیاه به تنش‌ها است، به طوری که گیاهان با نسبت وزن خشک به سطح برگ بالا تحمل بیشتر به تنش خشکی و ظرفیت بالاتری برای نورساخت دارند (Kennedy, 2008). بالاتر بودن میزان نسبت وزن خشک به سطح برگ در رقم‌های چفته و خلیلی و تغییرپذیری‌های کمتر آن در فرایند بروز تنش خشکی به احتمال نشان‌دهنده تحمل بهتر این رقم‌ها در مقایسه با رقم‌هایی مانند رقم پرلت و عسکری به تنش خشکی باشد. رقم‌های با نسبت وزن خشک به سطح برگ بالاتر، میزان سبزینه بیشتر دارند و در نتیجه تنش خشکی این سبزینه‌ها مانند دیگر رقم‌های حساس به سرعت تخریب نمی‌شوند (Gill & Tuteja, 2010; Koundouras *et al.*, 2008).

پایداری غشای یاخته‌ای

بر پایه جدول تجزیه واریانس، پایداری غشای یاخته‌ای (MSI) به طور معنی‌دار در سطح ۱ درصد تحت تأثیر عامل نوع رقم و سطوح تنش خشکی قرار گرفت. اثر متقابل این دو عامل نیز اثر معنی‌داری بر این صفت نشان داد (جدول ۱). پایداری غشای یاخته‌ای بر اثر تنش خشکی تا ۷ درصد کاهش پیدا کرد. رقم‌های چفته و سپس پرلت به ترتیب با ۷۵/۴ و ۷۴/۳۷ درصد بیشترین و رقم عسکری با ۶۸/۷ درصد کمترین پایداری غشای یاخته‌ای را نشان دادند (جدول ۲). با اعمال تنش خشکی رقم‌های پرلت با ۹/۳ درصد، عسکری با ۶/۹ درصد، خلیلی با ۶/۸ درصد و چفته با ۵ درصد کاهش پایداری غشای یاخته‌ای نشان دادند. نتایج اثر متقابل تیمارها نشان داد که در همه رقم‌های تنش در سطح بالا موجب ایجاد نشت الکترولیت و کاهش پایداری غشا شد. با توجه به تغییرات پایداری غشای یاخته‌ای رقم‌های تحت تأثیر تنش خشکی، می‌توان میزان تحمل آن‌ها را در مقابل این تنش سنجید (Ghaderi *et al.*, 2010). میزان پایداری و صدمه به غشای یاخته‌ای گاهی تنها فراسنجه تعیین‌کننده سطح تخریب چربی‌ها و یاخته است.

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام و مقایسه میانگین آن‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، صفت ریخت‌شناختی یعنی نسبت وزن خشک به سطح برگ و صفات فیزیولوژیکی مانند فندهای محلول، پرولین، درصد آب نسبی برگ، سبزینه، مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر اثر مستقل تنش خشکی و نوع رقم قرار گرفتند. اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم نیز تأثیر معنی‌داری بر صفات درصد آب نسبی برگ، سبزینه، پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز برگ داشت. اما صفات نسبت وزن خشک به سطح برگ، پروتئین محلول، میزان مالون دی آلدئید و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر اثر متقابل سطوح تنش خشکی و نوع رقم قرار نگرفت (جدول ۱). به همین دلیل افزون بر نتایج اثرگذاری مستقل عامل‌ها، جدول اثر متقابل نیز ارائه شد.

نسبت وزن خشک به سطح برگ

تنش خشکی و رقم بر صفت نسبت وزن خشک به سطح برگ اثر معنی‌دار داشت ولی اثر متقابل سطوح تنش و رقم بر تغییرپذیری‌های این صفت تأثیر معنی‌دار نشان نداد (جدول ۱). نتایج بررسی‌ها نشان داد، در نتیجه تنش خشکی میزان این صفت تا ۲۰ درصد کاهش یافت. رقم چفته با ۴/۸۶ و رقم عسکری با ۴/۰۶ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع بیشترین و کمترین میزان نسبت وزن خشک به سطح برگ را داشتند (جدول ۲). یکی از راهکارهای گیاه در روبرویی با تنش خشکی، کاهش رشد رویشی با کاهش اندازه و شمار برگ‌هاست که در نهایت منجر به کاهش وزن خشک این اندام‌های هوایی می‌شود. در نتیجه این راهکار سهم ریشه از مواد غذایی به مراتب بیشتر از اندام‌های هوایی می‌شود تا ریشه بتواند آب و مواد غذایی بیشتری جذب کند. افزون بر آن با کاهش

میزان نورساخت در نتیجه تنش خشکی، میزان تولید مواد کربوهیدراتی باید کاهش پیدا کند (Yanbao *et al.*, 2006). در صورتی که میزان قندهای محلول افزایش می‌یابد. افزایش میزان قندهای محلول مانند ساکارز، فروکتوز و گلوکز در اثر تنش خشکی برای تنظیم اسمزی برای تداوم جذب آب توسط گیاه صورت می‌گیرد. تجمع قندهای محلول با میزان تحمل گیاهان به تنش خشکی رابطه نزدیکی دارد و تا حد زیادی می‌تواند از اختلال در غشای یاخته‌ای جلوگیری کند (Bertamini *et al.*, 2006). در نتیجه تنش خشکی نشاسته بیشتری به قند تبدیل می‌شود و از سوی دیگر به دلیل کاهش رشد رویشی مواد غذایی و مواد قندی کمتری صرف رشد رویشی می‌شود (Kantar *et al.*, 2011).

رنگیزه سبزینه a و b

بنابر نتایج به دست آمده، تنش خشکی بر میزان سبزینه برگ انگوره‌های مورد بررسی اثر معنی‌داری داشت و رقم‌های از این نظر تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد نشان دادند. ولی اثر متقابل نوع رقم و سطوح تنش خشکی بر میزان سبزینه نوع b اثر معنی‌دار در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول ۱). هر دو نوع سبزینه a (۱۷/۸ درصد) و b (۱۷ درصد) و نیز سبزینه کل (۱۷/۸ درصد) کاهش یافت. بیشترین میزان سبزینه کل در رقم چفته با $1/66 \text{ mg g}^{-1} \text{ F. W.}$ و کمترین میزان آن در رقم پرلت با $1/44 \text{ mg g}^{-1} \text{ F. W.}$ مشاهده شد.

تنش خشکی منجر به نشت الکترولیت و از بین رفتن استحکام غشای یاخته‌ای و حتی غشای کلروپلاستی می‌شود (Sofa *et al.*, 2005). رقم‌هایی که پایداری غشای بالاتری داشته باشند و با افزایش سطوح تنش آن را حفظ کنند توانایی تحمل بهتر خشکی را خواهند داشت. با رخداد تنش خشکی یاخته‌های گیاهی چروکیده شده و دیواره یاخته‌ای پایداری و توسعه خود را از دست می‌دهد و افزون بر غیرفعال شدن پروتئین‌های غشا و پراکسیداسیون چربی‌ها، نفوذپذیری غشای یاخته‌ای نیز افزایش می‌یابد که منجر به نشت الکترولیت می‌شود. نشت یونی از شاخه‌های میزان آسیب اکسایشی به شمار می‌آید که در مهم‌ترین واکنش‌های گیاه به تنش‌های غیرزنده است (Bota *et al.*, 2004; Ghaderi *et al.*, 2010).

قندهای محلول

بررسی صفت قندهای محلول نشان داد، با افزایش تنش خشکی، میزان قندهای محلول تا ۵۵ درصد افزایش یافت (جدول ۲). بنا بر نتایج اثر متقابل رقم و سطوح تنش خشکی، میزان قندهای محلول در دو رقم چفته و خلیلی در سطح تنش ۱/۲- مگاپاسکال افزایش ۵۸ درصدی نشان دادند که نسبت به شاهد افزایشی معنی‌دار بود. رقم‌های عسگری و پرلت با ۵۲ درصد افزایش، افزایش کمتری نسبت به دو رقم دیگر نشان دادند (جدول ۳). در نگاه اول به دلیل کاهش

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر نوع رقم و سطوح تنش خشکی بر برخی صفات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی چهار رقم انگور

Table 1. Analysis of variance of effects of cultivars and drought stress levels on morphology and physiology traits in four grape cultivars

S.O.V	df	Means squares											
		Ratio dry weight to leaf area	Membrane Stability Index	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Relative Water Content	soluble carbohydrates	Soluble protein	Proline	Malondialdehyde	Catalase	Peroxidase
Cultivar (A)	3	4.435**	79.362**	0.046**	0.006**	0.124**	13.435**	6.357**	0.275**	14.275**	4.435**	1.774**	141*
Drought (B)	2	10.748**	85.826**	0.147**	0.021**	0.107**	113.91**	451.757**	0.92**	27.317**	10.748**	23.178**	348**
AxB	6	0.251 ^{ns}	1.728**	0.009**	0.0004*	0.007**	7.157**	2.188**	0.015 ^{ns}	0.433*	0.251 ^{ns}	0.611**	111 ^{ns}
Error	24	0.297	0.675	0.002	0.0001	0.001	1.082	0.558	0.018	0.153	0.297	0.095	511
CV (%)	-	12.16	1.12	4.44	2.58	2.94	1.21	4.7	8.44	4.53	20.72	5.62	3.77

*، ** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی‌داری آماری را نشان می‌دهد.

*, **, ns: Significant differences at 5% and 1% probability levels, and non-significantly differences, respectively.

نسبی برگ در همه رقم‌ها در سطح تنش ۱/۲- مگاپاسکال به صورت معنی‌دار بود، ولی در رقم‌های چفته و خلیلی در سطح تنش ۰/۷- مگاپاسکال کاهش معنی‌داری در درصد آب نسبی برگ مشاهده نشد (شکل ۱). این امر نشان می‌دهد، رقم‌های عسکری و پرلت حساسیت بیشتری در مقایسه با رقم چفته و خلیلی نسبت به تنش خشکی دارند و در نتیجه با بروز تنش به سرعت درصد محتوای آب نسبی برگ آن‌ها پایین می‌آید. شاخص درصد آب نسبی برگ بر پایه پژوهش‌های انجام‌شده همبستگی مثبت و زیادی با هدایت روزنه‌ای دارد (Jalili marandi et al., 2011) و همین امر باعث می‌شود با بروز تنش خشکی و کاهش پتانسیل اسمزی در برگ انگور، محتوای آب نسبی برگ به سرعت کاهش‌یافته و هدایت روزنه‌ای تحت تأثیر قرار گیرد و در نهایت این امر منجر به کاهش نورساخت می‌شود. محتوای آب نسبی برگ به همین دلیل برای نشان دادن الگوی پاسخ نورساختی گیاهان به کم‌آبی بسیار مناسب است (Bota et al., 2004). افزون بر تأثیر تنش خشکی بر نورساخت خالص، کاهش پتانسیل آب بازدارنده تقسیم یاخته‌ای، رشد اندام‌های گیاه و ساخت پروتئین نیز می‌شود (Lawlor, 2002).

پرولین

بنابر نتایج تجزیه واریانس، سطوح تنش خشکی تأثیر معنی‌دار بر تغییرپذیری‌های میزان پرولین داشتند و اثر متقابل رقم و تنش خشکی نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تنش خشکی موجب افزایش میزان پرولین در همه رقم‌ها شد (شکل ۲). با اعمال تنش خشکی میزان پرولین در رقم‌ها با سرعت متفاوتی افزایش یافت. بیشترین افزایش پرولین مربوط به رقم عسکری با ۳۸/۶ درصد و پس از آن رقم‌های خلیلی و چفته هر دو با ۲۹/۶ درصد و کمترین میزان افزایش مربوط به رقم پرلت با ۲۱/۳ درصد بود (شکل ۲). پرولین در گیاهان به‌عنوان یک اسمولیت نقش تنظیم اسمزی را ایفا می‌کند. پرولین به ثبات ساختاری ریزیاخته‌ای، خنثی کردن رادیکال‌های آزاد و کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیای یاخته‌ای

کاهش محتوای سبزینه در دو سطح ۰/۷- و ۱/۲- مگاپاسکال نسبت به شاهد در رقم‌های عسکری پرلت معنی‌دار بود ولی رقم‌های چفته و خلیلی تا سطح تنش ۰/۷- مگاپاسکال کاهش معنی‌داری در محتوای سبزینه مشاهده نشد. این در حالی بود که در همه رقم‌ها کاهش سبزینه a, b و سبزینه کل در سطح آخر تنش نسبت به شاهد معنی‌دار شد (جدول ۴). بنابر نتایج پژوهش‌های صورت گرفته میزان سبزینه و تغییرپذیری‌های آن در تنش خشکی از نشانه‌های تحمل رقم‌ها به خشکی است (Yanbao et al., 2006). تنش خشکی منجر به پیری زودرس گیاه و از بین رفتن غشای کلروپلاستی، که محل اصلی حضور سبزینه‌هاست، می‌شود. افزون بر تخریب غشای کلروپلاستی، صفحه‌های کلروپلاستی تغییر شکل می‌یابند (Sofa et al., 2005). از دلایل عمده دیگر کاهش سبزینه رقابت در ساخت (سنتز) سبزینه و پرولین است زیرا پیش‌ماده هر دو گلوتامین است (Hura et al., 2007). در نتایج بررسی‌های انجام‌شده روی انگور بیان شده است که بر اثر تنش‌های خشکی و شوری، فعالیت آنزیم مسئول ساخت سبزینه یعنی گلوتامات لیگاز^۱ کاهش می‌یابد و در مقابل آنزیم گلوتامین کیناز^۲ برای تبدیل گلوتامین به پرولین فعال می‌شود (Lovisolo et al., 2008).

درصد رطوبت نسبی آب برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده بروز تغییرپذیری‌های معنی‌دار در صفت درصد آب نسبی برگ در نتیجه سطوح تنش و اثر متقابل رقم و تنش خشکی در سطح ۱ درصد است (جدول ۱). میزان درصد آب نسبی برگ در نتیجه افزایش سطوح تنش خشکی کاهش ۵/۶ درصدی و معنی‌داری نشان داد و رقم‌ها از نظر محتوای آب نسبی برگ با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (جدول ۲). درصد آب نسبی برگ در همه رقم‌ها با اعمال تنش خشکی کاهش یافت و در رقم پرلت ۹/۹، رقم عسکری ۹، رقم خلیلی ۴/۵ و در رقم چفته ۳/۷ درصد کاهش نشان داد. کاهش درصد آب

1. Glutamat ligase
2. Glutamine kinas

(Nasir khan *et al.*, 2007). در تنش خشکی، کاهش پتانسیل اسمزی در گیاه در شرایط تنش با تجمع یون‌های کانی مانند Na و Cl رخ می‌دهد که بسیار برای گیاه زیانبار است (Arbona *et al.*, 2003; Gill & Tuteia, 2010). در این حالت برای تعادل فشار اسمزی در یاخته، پرولین در سیتوزول و اندامک‌ها ساخت و تجمع می‌یابد. (Ashraf & Foolad, 2006).

(ردوکس) در شرایط تنش کمک می‌کند (Kantar *et al.*, 2005; Kavi Kishore *et al.*, 2011). پرولین در همه‌اندامها افزایش می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (Kantar *et al.*, 2011). تجمع پرولین ممکن است ناشی از ساخت پرولین، کاهش اکسید شدن پرولین به گلوتامات یا کاهش تبدیل پرولین به پروتئین‌ها و یا حتی افزایش تجزیه پروتئین‌ها باشد.

جدول ۲. مقایسه میانگین تأثیر رقم و تنش خشکی (مگاپاسکال) بر برخی صفات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی رقم‌های انگور

Table 2. Mean comparisons of the cultivar and drought stress (M Pa) on morphological and physiological traits of grape cultivars

Treatment	Ratio of dry weight to leaf area (mg/cm ²)	Membrane stability index (%)	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ F. W.)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹ F. W.)	Total chlorophyll (mg g ⁻¹ F. W.)	Relative water content (%)	Soluble carbohydrates (mg g ⁻¹ D.W.)
Drought							
-0.2	5.05 a*	75.66 a	1.22 a	0.46 a	1.68 a	90.43 a	9.83 c
-0.7	4.44 b	73.08 b	1.08 a	0.42 b	1.51 b	87.13 b	16.79 b
-1.2	4.06 c	70.31 c	1.00 c	0.38 c	1.38 c	85.35 c	22.07 a
Cultivar							
Askari	4.06 c	68.7 c	1.03 b	0.39 c	1.43 c	87.23 a	15.42 c
Khalili	4.56 b	73.61 b	1.08 b	0.42 b	1.51 b	87.94 a	16.52 ab
Chafteh	4.86 a	75.4 a	1.20 a	0.46 a	1.66 a	87.75 a	17.23 a
Perlette	4.44 b	74.37 ab	1.03 b	0.41 b	1.44 c	87.79 a	15.62 bc

* حرف‌های همسان در هر ستون نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

* Means within a column followed by the same letter are not significant at the level of 5 %.

جدول ۳. اثر متقابل چهار رقم انگور و سطوح مختلف خشکی (مگاپاسکال) بر نسبت وزن خشک برگ به سطح برگ (LMA)، پایداری غشای یاخته‌ای (MSI) و کربوهیدرات‌های محلول

Table 3. The interaction of four cultivars and drought stress levels (M Pa) on the ratio dry weight to leaf area (LMA), membrane stability index (MSI) and soluble carbohydrates

Cultivar	Ratio dry weight to leaf area (mg/cm ²)			Membrane stability index (%)			Soluble carbohydrates (mg g ⁻¹ D.W.)			
	Drought (MPa)	-0.2	-0.7	-1.2	-0.2	-0.7	-1.2	-0.2	-0.7	-1.2
Askari		4.54 c*	3.93 d	3.73 d	71.14 d	68.78 d	66.19 e	9.72 d	15.99 c	20.54 b
Khalili		5.23 a	4.53 c	3.93 d	76.16 ab	73.75 bc	70.91 d	9.71 d	16.62 c	23.24 a
Chafteh		5.31 a	4.76 bc	4.51 c	77.54 a	75.02 bc	73.6 bc	9.97 d	17.96 c	23.76 a
Perlet		5.14 ab	4.56 c	3.62 d	77.8 a	76.69 ab	70.52 d	9.92 d	16.2 c	20.74 b

* حرف‌های همسان در هر ستون نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

* Means within a column followed by the same letter are not significant at the level of 5 %.

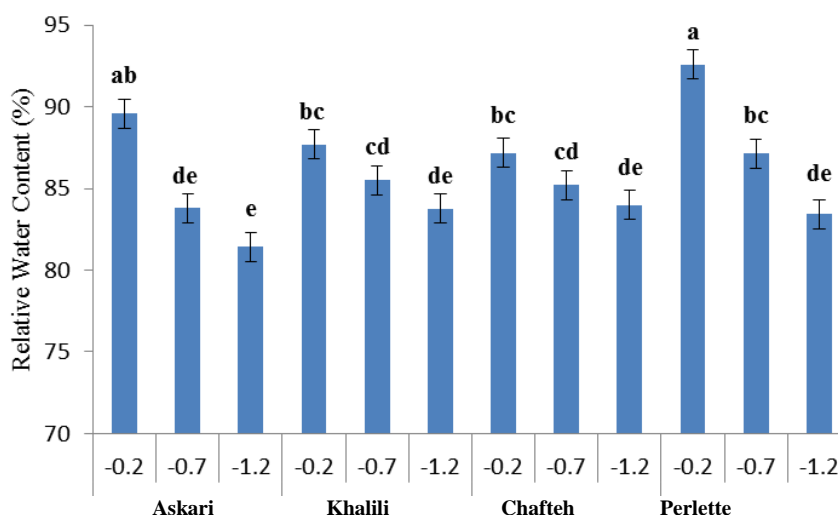
جدول ۴. اثر متقابل چهار رقم انگور و سطوح خشکی مختلف (مگاپاسکال) بر محتوای سبزینه a، b و سبزینه کل

Table 4. The interaction of four cultivars of grape and drought stress levels (M Pa) on Chlorophyll a, b and total chlorophyll content

Cultivar	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ F. W.)			Chlorophyll b (mg g ⁻¹ F. W.)			Total Chlorophyll (mg g ⁻¹ F. W.)			
	Drought (MPa)	-0.2	-0.7	-1.2	-0.2	-0.7	-1.2	-0.2	-0.7	-1.2
Askari										
Khalili		1.14 bc	1.07 cd	1.02 cd	0.46 ab	0.42 def	0.39 fg	1.61 bc	1.49 cd	1.42 def
Chafteh		1.30 a	1.25 ab	1.05 cd	0.49 a	0.46 abc	0.43 cde	1.79 a	1.71 ab	1.49 cd
Perlet		1.27.ab	1.03 cd	0.97 d	0.47 ab	0.41 ef	0.37 gh	1.71 ab	1.45 de	1.34 ef

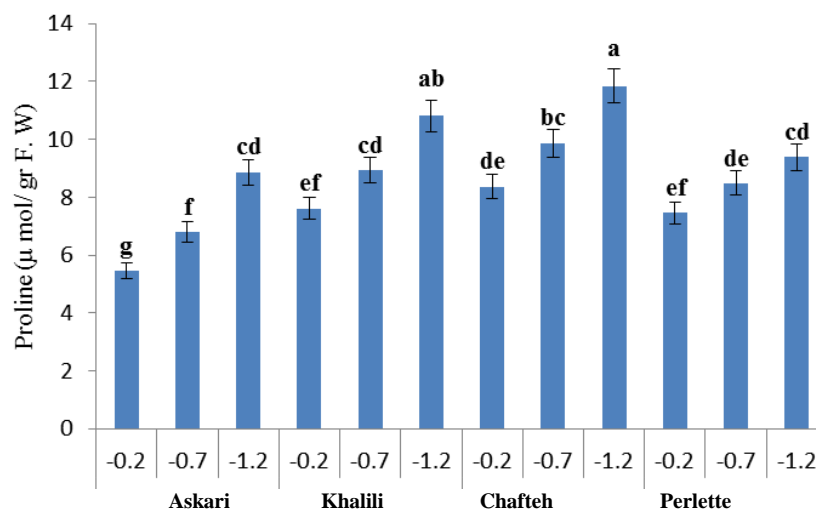
* حرف‌های همسان در هر ستون نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

* Means within a column followed by the same letter are not significant at the level of 5 %.



شکل ۱. اثر متقابل رقم و سطوح مختلف خشکی (مگاپاسکال) خاک بر محتوای آب نسبی برگ

Figure 1. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf relative water content



شکل ۲. اثر متقابل رقم و سطوح مختلف خشکی (مگاپاسکال) خاک بر پرولین برگ

Figure 2. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf proline

ماده افزون بر چربی‌ها به DNA نیز آسیب می‌رساند و باعث تولید ترکیب‌های اضافی مانند دئوکسی گوانوزین^۱ و دئوکسی آدنوزین^۲ می‌شود (Sofa *et al.*, 2005). در نتیجه تنش خشکی، پراکسیداسیون چربی‌ها به‌عنوان خطرناک‌ترین فرآیند شناخته‌شده در هر موجود زنده رخ می‌دهد. تخریب غشای یاخته‌ای اغلب به‌عنوان تنها فراسنجه تعیین‌کننده سطح تخریب چربی‌ها در شرایط تنش معرفی می‌شود (Gill & Tuteia, 2010). در گیاهان، غشای یاخته‌ای عضوی

مالون دی آلدئید

رقم و سطوح تنش بر میزان مالون دی آلدئید در سطح ۱ درصد معنی‌دار داشتند (جدول ۱). در تیمار شاهد میزان مالون دی آلدئید در همه رقم‌های مورد بررسی تا حدودی برابر بود، ولی با بروز تنش خشکی، میزان آن افزایش یافت به‌طوری‌که میزان مالون دی آلدئید در سطح تنش ۱/۲- مگاپاسکال به ترتیب در رقم‌های عسکری ۷۰، خلیلی ۵۹، پرلت ۵۷ و در چفته ۵۴ درصد افزایش یافت (شکل ۳). مالون دی آلدئید به‌عنوان یک معرف زیستی برای پراکسیداسیون چربی‌ها در تنش‌های اکسایشی استفاده می‌شود. این

1. Deoxyguanosine

2. Deoxyadenosine

رشد و غذا سازی شوند (Smart & Bingham, 1974). در این شرایط گیاه آنزیم‌های پاداکسیدان مانند کاتالاز را برای رویارویی با مواد درون‌یاخته‌ای زیان‌آوری تولید می‌کند. فعالیت بیشتر این آنزیم از میزان تنش اکسایشی می‌کاهد و در نتیجه یاخته را در برابر ترکیب‌های زیانبار مانند پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند (Sofa *et al.*, 2005). پس هر چه در شرایط تنش فعالیت این آنزیم در یک رقم خاص بیشتر باشد نشان‌دهنده تحمل بیشتر آن رقم در شرایط تنش است. پس می‌توان گفت در بین رقم‌های مورد بررسی رقم چفته و خلیلی نسبت به دو رقم دیگر تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان دادند.

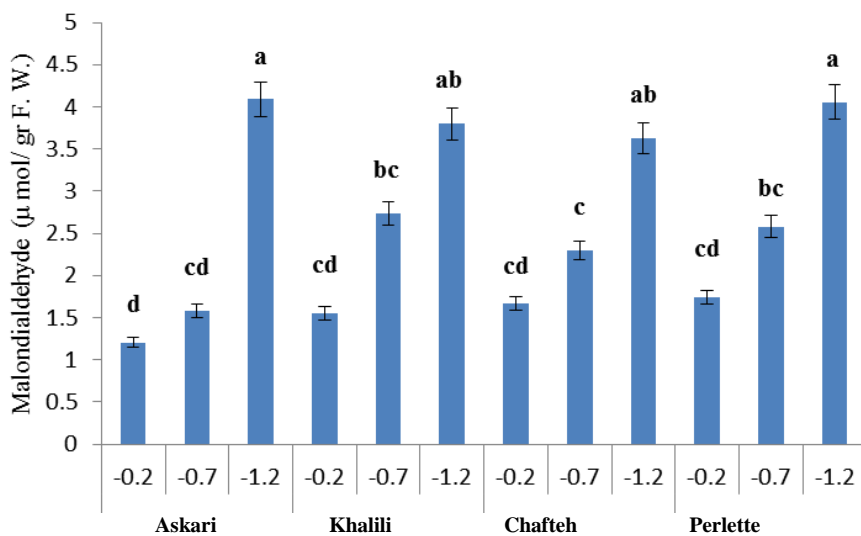
آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پاداکسیدان در هر چهار رقم با بروز تنش خشکی افزایش معنی‌داری داشت. تأثیر رقم در افزایش فعالیت این آنزیم در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود ولی تأثیر تنش در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. این در حالی بود که اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نشد (جدول ۱). در فرایند تنش خشکی در این پژوهش رقم چفته با ۱۵ درصد افزایش فعالیت بیشترین میزان افزایش فعالیت پراکسیداز را نشان داد این افزایش در رقم عسکری ۱۷ درصد، رقم خلیلی با ۱۶ درصد و رقم پرلت با ۱۳ درصد مشاهده شد (شکل ۵). یاخته‌های گیاهی و اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی زوم برای حفاظت از یاخته در برابر گونه‌های فعال اکسیژن ترکیب‌های آنزیمی مانند آنزیم سوپراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز استفاده می‌کند که در تنش‌های زنده و غیرزنده بسیار مؤثر هستند (Yong *et al.*, 2008). هر چه فعالیت این آنزیم‌ها در یک رقم بیشتر باشد، تنش اکسایشی را کاهش می‌دهد که ضامن محافظت از یاخته و فعالیت‌های سوخت‌وسازی (متابولیکی) یاخته است (Gill & Tuteia, 2010). افزایش بیشتر فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم‌های چفته و خلیلی، نشان‌دهنده تحمل بیشتر این رقم‌ها نسبت به دو رقم دیگر در برابر تنش خشکی است (Sairam *et al.*, 2001; Sivritep *et al.*, 2008).

است که نخستین آسیب و زیان‌ها را در فرایند تنش‌های محیطی دریافت می‌کند. اسیدهای چرب اشباع‌نشده غشای یاخته‌ای به راحتی با گونه‌های فعال اکسیژن آزاد واکنش نشان می‌دهند (Kantar *et al.*, 2011). تعیین حساسیت یا مقاومت رقم‌ها در برابر تنش خشکی با اندازه‌گیری میزان این ماده در ریشه و برگ می‌تواند صورت گیرد (Mahmood *et al.*, 2012). بر پایه نتایج پژوهش‌های صورت گرفته، تجمع بیشتر MDA نشان‌دهنده حساسیت بیشتر به تنش‌های اکسایشی است. پراکسیداسیون چربی‌ها به پروتئین‌های غشا آسیب می‌زند و گیرنده‌ها، آنزیم‌ها و کانال‌های یونی را غیرفعال می‌کند (Sofa *et al.*, 2005). بنا بر نتایج پژوهش ای انجام‌شده، تولید مواد پاداکسیدانی و پرولین می‌تواند بازدارنده تولید مالون در آلدئید شود و به نظر می‌رسد، رقم‌هایی مانند چفته و خلیلی به همین دلیل نسبت به دو رقم دیگر مالون دی آلدئید کمتری تولید کرده‌اند و به تنش خشکی مقاومت بیشتری دارند (Gill & Tuteia, 2010).

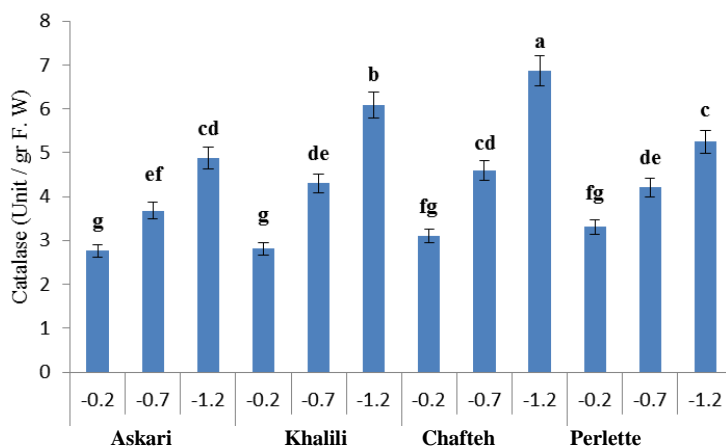
آنزیم کاتالاز

اثر مستقل سطوح تنش خشکی اعمال شده و رقم‌های انگور و همچنین اثر متقابل این دو عامل بر آنزیم کاتالاز که از ترکیب‌های پاداکسیدانی مهم است، در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱) و با بروز تنش خشکی، میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت (شکل ۴). رقم‌های چفته و خلیلی با ۵۴ درصد افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز بیشترین افزایش را نشان دادند و پس‌از این دو رقم عسکری با ۴۳ و رقم پرلت با ۳۷ درصد افزایش کمتری در این صفت داشتند (شکل ۴). رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن تولیدشده در نتیجه بروز تنش خشکی باعث بروز آسیب به گیاه و غشای یاخته‌ای می‌شوند (Mhamdi *et al.*, 2010). ترکیب‌هایی مانند پراکسید هیدروژن، که از گونه‌های فعال اکسیژن است و در حضور رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH) را تولید می‌کند. به‌آسانی می‌تواند از میان غشای یاخته‌ای عبور کنند و با ایجاد آسیب در فرایندهای تنفس و نورساخت، منجر به کاهش میزان



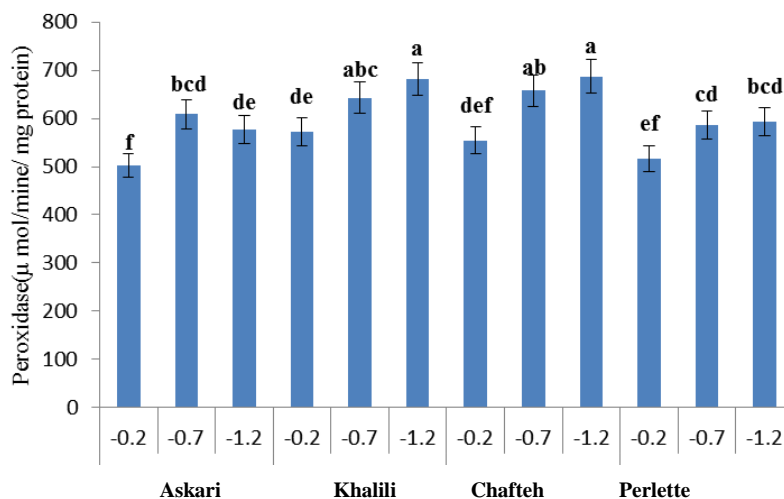
شکل ۳. اثر متقابل رقم و سطوح خشکی (مگاپاسکال) خاک بر مالون دی آلدئید برگ

Figure 3. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf malondialdehyde level



شکل ۴. اثر متقابل رقم و سطوح خشکی (مگاپاسکال) خاک بر کاتالاز برگ

Figure 4. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf catalase



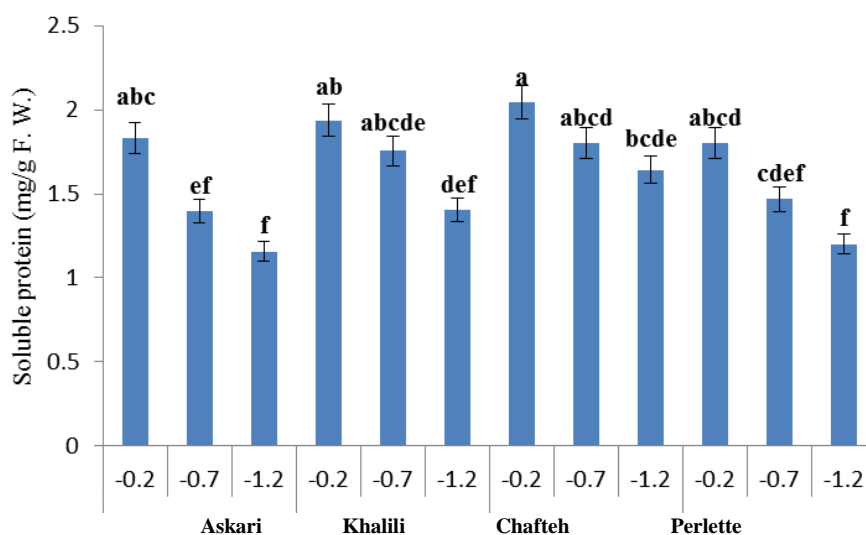
شکل ۵. اثر متقابل رقم و سطوح خشکی (مگاپاسکال) خاک بر پراکسیداز (POX) برگ

Figure 5. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf peroxidase

که در گیاهان درگیر با تنش بررسی می‌شود، میزان محتوای پروتئین محلول است که با افزایش میزان تنش کاهش می‌یابد (Gill & Tuteia, 2010). دلیل کاهش این محتوا، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین‌ها مانند پروتئاز و تجمع اسیدآمینوهای مانند پرولین است. در رقم‌های چفته و خلیلی کاهش پروتئین کمتر از دو رقم دیگر بود که شاید به دلیل کاهش تغییرپذیری‌های پیچیده مواد (کمپلکس‌های) پروتئینی در اثر تنش باشد (Bertamini *et al.*, 2006) که نشان‌دهنده حساسیت کمتر این رقم‌ها نسبت به دو رقم دیگر به شرایط تنش بوده است.

پروتئین‌های محلول کل

اثر مستقل رقم و سطوح تنش خشکی بر میزان تغییرپذیری‌های پروتئین‌های محلول کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل این دو عامل یعنی رقم و سطوح تنش خشکی بر تغییر میزان پروتئین معنی‌دار نشد (جدول ۱). کاهش محتوای پروتئین در برگ رقم‌های انگور به صورت معنی‌دار رخ داد ولی این کاهش با سرعت یکسان صورت نگرفت. رقم عسگری با ۳۷ درصد و رقم پرلت با ۳۳ درصد بیشترین کاهش را نشان دادند و پس از آن‌ها رقم‌های خلیلی با ۲۷ درصد و چفته با ۱۹ درصد کاهش قرار گرفتند (شکل ۶). یکی از صفاتی



شکل ۶. اثر متقابل رقم و سطوح خشکی (مگاپاسکال) خاک بر پروتئین محلول کل برگ.

Figure 6. The interaction of cultivar and drought stress (M Pa) levels of soil on leaf soluble protein

میزان بالاتری از سبزینه را حفظ می‌کنند، توان تحمل بهتری در برابر تنش خشکی دارند. به نظر می‌رسد بر پایه نتایج این پژوهش، رقم‌های چفته و خلیلی نسبت به رقم عسگری و پرلت، تنش خشکی را بهتر تحمل کنند و برای کشت در مناطق کم آب‌تر می‌توانند مورد توجه بیشتری قرار گیرند. همچنین از این رقم‌ها می‌توان به عنوان پایه و برای برنامه‌های اصلاحی استفاده شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این پژوهش رقم‌هایی که در شرایط تنش خشکی شاخص نسبت وزن خشک به سطح برگ و پایداری غشای یاخته‌ای و درصد آب نسبی برگ بیشتری دارند و ترکیب‌های اسمولیتی مانند کربوهیدرات محلول و پرولین را بیشتر تجمع می‌دهند و همچنین در مقابل تنش‌های اکسایشی فعالیت بیشتری از آنزیم‌های پاداکسیدانی نشان می‌دهند و

REFERENCES

- Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H. R., Hatami, F., Hosseinpour, R., Kazemifard, R. & Abdoshah, H. (2016). *Agricultural statistics 2015*. Volume 3. Publications Center of Information and Communication Technology in Ministry of Agriculture. Tehran. 253 pages.

2. Anjum, M. A. (2011). Effect of exogenously applied spermidine on growth and physiology of citrus rootstock Troyer citrange under saline conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(1), 43-53.
3. Arbona, V., Flors, V., Jacas, J., Garcia-Agustin, P. & Gomez-Cadenas, A. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of Carrizo citrange, a salt-sensitive citrus rootstock, to different levels of salinity. *Plant and Cell Physiology*, 44(4), 388-394.
4. Ashraf, M. & Foolad, M. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206-216.
5. Bascunan-Godoy, L., Franck, N., Zamorano, D., Sanhueza, C., Carvajal, D. E. & Ibacache, A. (2017). Rootstock effect on irrigated grapevine yield under arid climate conditions are explained by changes in traits related to light absorption of the scion. *Scientia Horticulturae*, 218, 284-292.
6. Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K. & Nedunchezian, N. (2006). Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) plants. *Photosynthetica*, 44, 151-154.
7. Bota, J., Stasyk, O., Flexas, J. & Medrano, H. (2004) Effect of water stress on partitioning of ¹⁴C-labelled photosynthates in *Vitis vinifera*. *Functional Plant Biology*, 31(7), 697-708.
8. Chaves, M. M. & Oliveira, M. M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: Prospects for water-saving agriculture. *Experimental Botany*, 55, 2365-2384.
9. Ekhvaia, J. & Akhalkatsi, M. (2010). Morphological variation and relationships of Georgian populations of *Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* (CC Gmel) Hegi. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(9), 608-617.
10. Food and Agriculture Organization. (2015). FAOSTAT. Retrieved May 1, 2012, from <http://www.fao.org/statistics/en>.
11. Galmes, J., Flexas, J., Save, R. & Medrano, H. (2007). Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*, 290(1-2), 139-155.
12. Ghaderi, N., Talei, A. R., Ebadi, A. & Lesani, H. (2010). *Study of some physiological characteristics in 'Sahani', 'Bidane-sefid' and 'Farkhii' grapes during drought stress and their subsequent recovery*. Tehran University, Department of Horticulture, Ph.D. Studies Dissertation. (in Farsi)
13. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
14. Hadadinejad, M., Ebadi, A., Fatahi, R., and Nejatian, M. A. (2013). Primary morphological screening of 698 grapevine genotypes to select drought tolerant rootstocks. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 44, 193-207. (in Farsi)
15. Hemeda, H. M. & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *Journal of Food Science*, 55(1), 184-185.
16. Hura, T., Hura, K., Grzesiak, M. & Rzepka, A. (2007). Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C3 and C4 plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(2), 103-113.
17. Irigoyen, J. J., Einerich, D. W. & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1), 55-60.
18. Jacobs, S. D. (2010). *Effect of rootstock and water stress on gas exchange, water relations, and water-use efficiency in petite sirah grapevines*. Ph.D. Dissertation. California State University, USA.
19. Jalili marandi, R., Hassani, A., Dolati baneh, H., Azizi, H. & Haji taghiloo, R. (2011). Effect of different levels of soil Moisture on the morphological and physiological characteristics of three grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 42, 31-40. (in Farsi)
20. Kantar, M., Lucas, S. J. & Budak, H. (2011). Drought Stress: molecular genetics and genomics approaches. *Advances in Botanical Research*, 57, 445-493.
21. Kavi Kishore, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Laxmi, P. S., Naidu, K. R., Rao, K. R., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P. & Sreenivasulu, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 88(3), 424-438.
22. Kennedy, J. A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 35(2), 107-120.
23. Khochert, G. (1987). *Carbohydrate determination by phenol- sulphoric acid methods*. In: Hellebust JA and Garigie JS (Eds.) handbook of physiological methods, Cambridge University Press. pp. 95-97.
24. Koundouras, S., Tsialtas, I. T., Zioziou, E. & Nikolaou, N. (2008). Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet-Sauvignon) under contrasting water status: Leaf physiological and structural responses. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 128(1), 86-96.

25. Lawlor, D. W. (2002). Limitation to photosynthesis in water stressed leaves: stomata vs. metabolism and the role of ATP. *Annals of Botany*, 89(7), 871-885.
26. Lichtenthaler, H. K. & Buschmann, C. (2001). Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. *Food Analytical Chemistry Protocols*. F4.3.1-F4.3.8.
27. 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.
28. Lovisolo, C., Tramontini, S., Flexas, J. & Schubert, A. (2008). Mercurial inhibition of root hydraulic conductance in *Vitis* spp. rootstocks under water stress. *Environmental and Experimental Botany*, 63, 178-182.
29. Mahmood, M., Shirani-Bidabadi, S., Ghobadi, C. & Gray, D. J. (2012). Effect of methyl jasmonate treatments on alleviation of polyethylene glycol - mediated water stress in banana (*Musa acuminata* cv. 'Berangan', AAA) shoot tip cultures. *Plant Growth Regulation*, 68(2), 161-169.
30. Manivannan, P., Abdul Jaleel, C., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Lakshmanan, G. A. & Panneerselvam, R. (2007). Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 59(2), 141-149.
31. Medrano, H., Escalona, J. M., Cifre, J., Bota, J. & Flexas, J. (2003). A ten-year study on the physiology of two Spanish grapevine cultivars under field conditions: effects of water availability from leaf photosynthesis to grape yield and quality. *Functional Plant Biology*, 30(6), 607-619.
32. Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Breusegem, F. & Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*, 61(15), 4179-4220.
33. Nasir Khan, M., Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Masroor, M., Khan, A. & Naeem, M. (2007). Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, proline accumulation and yield in Linseed genotypes. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(5), 685-695.
34. Rasuli, V. & Golmohamadi, M. (2009). Evaluation of drought stress tolerance in grapevine cultivars of Qazvin province. *Seed and Seedling Breeding*, 25(2), 349-359. (in Farsi)
35. Rezaee, T., Gholami, M., Ershadi, A. & Mosaddeghi, M. R. (2007). The effect of water deficit stress on some growth and physiological characteristics of five grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Water, Soil and Plants in Agriculture*, 7(4), 199-210. (in Farsi)
36. Sairam, R. K., Chandrasekhar, V. & Srivastava, G. C. (2001). Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress. *Biologia Plantarum*, 44(1), 89-94.
37. Sheng, C. X., Yong, P. L., Jin, H., Ya, J. G., Wen, G. M., Yun, Y. Z. & Shui, J. Z. (2010). Responses of Antioxidant enzymes to chilling stress in tobacco seedlings, *Agricultural Sciences in China*, 9(11), 1594-1601.
38. Sivritepe, N., Erturk, U., Yerlikaya, C., Turkan, I., Bor, M. & Ozdemir, F. (2008). Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. *Biologia Plantarum*, 52(3), 573-576.
39. Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. & Masia, A. (2005). Antioxidant defenses in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Functional Plant Biology*, 32(1), 45-53.
40. Talaei, A. R., Ghaderi, N., Ebadi, A. & Lesani, H. (2012). Biochemical responses of grape cvs Sahani and Bidane-Sefid, subjected to progressive drought. *Iranian journal of Horticultural Science*, 42, 301-308. (in Farsi)
41. Teixeira, A. H. C., Bastiaanssen, W. G. M. & Bassoi, L. H. (2007). Crop water parameters of irrigated wine and table grapes to support water productivity analysis in the Sao Francisco river basin. *Agricultural Water Management*, 94(1), 31-42.
42. Wangm, F., Zeng, B., Sun, Z. & Zhu, C. (2009). Relationship between proline and Hg²⁺ induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(4), 723.
43. Winkler, A., Kliewer, W. & Lider, L. (1962). *General viticulture*. (2nd Ed.). University of California Press, Berkeley, 710 p.
44. Yong, Z., Hao-Ru, T. & Ya, L. (2008). Variation in antioxidant enzyme activities of two straw berry cultivars with short-term low temperature stress. *Agricultural Sciences*, 4(4), 456-462.
45. Yanbao, L., Chunying, Y. & Chunyang, L. (2006). Differences in some morphological, physiological and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 182-191.
46. Yordanov, I., Velikova, V. & Tsonev, T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, 38(2), 171-186.