

تأثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم انگور

اعظم مؤیدی نژاد^۱، بهروز محمد پرست^{۱*}، قاسم حسینی سالکده^۲، محمد علی نجاتیان^۳ و احسان محسنی فرد^۴

^۱ پژوهشکده انگور و کشمش، دانشگاه ملایر، ملایر، ^۲ پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

^۳ بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، قزوین، ^۴ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۱۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۳/۲۲)

چکیده

تنش خشکی مهم‌ترین فاکتور محیطی محدودکننده رشد، عملکرد و کیفیت محصولات زراعی و باغی در سراسر جهان است. این پژوهش باهدف بررسی و مقایسه برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم انگور متفاوت از نظر تحمل به خشکی، به سطوح مختلف محدودیت آب صورت گرفت. به این منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار، در شرایط گلخانه‌ای، انجام گرفت. تنش خشکی به صورت قطع آبیاری در چهار سطح: صفر (شاهد)، ۶، ۱۲ و ۱۸ روز، بر روی دو رقم یاقوتی و بیدانه سفید، اعمال شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی به طور معنی‌داری، محتوای نسبی آب برگ را در هر دو رقم، کاهش داد. در شرایط تنش حداکثر (۱۸ روز)، کاهش در محتوای نسبی آب برگ برای رقم یاقوتی ۱۶/۹ و برای رقم بیدانه سفید ۲۳/۸ درصد بود. تحت تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی در پژوهش حاضر، رقم متحمل یاقوتی مقادیر کمتری از پراکسید هیدروژن، مالون‌دی‌آلدئید و نشت یونی را در مقایسه با رقم حساس بیدانه سفید، نشان داد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در دوره تنشی ۱۸ روزه در رقم یاقوتی، به ترتیب ۲/۱، ۱/۶ و ۱/۶ برابر، بیشتر از رقم بیدانه سفید بود. در مجموع به نظر می‌رسد رقم یاقوتی با داشتن سیستم آنتی‌اکسیدانی قدرتمندتر، از توانایی بیشتری برای کاهش صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی، بخصوص در شرایط تنش شدید برخوردار است. علاوه بر بررسی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، آزمایشات مولکولی نیز باهدف شناسایی ژن‌های دخیل در تحمل خشکی این رقم و ارقام متحمل دیگر، در پیشرفت برنامه‌های اصلاحی انگور، بسیار مفید و مؤثر خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بیدانه سفید، پراکسید هیدروژن، نشت یونی، یاقوتی

مقدمه

تن، مقام هشتم را در جهان دارد (OIV Statistical Report, 2017). در بیشتر مناطق جهان، خشکی، مهم‌ترین عامل محیطی محدودکننده رشد، تکامل و عملکرد محصولات زراعی و باغی است (Chaves, 2002). اگرچه درختان انگور نسبتاً مقاوم به خشکی هستند اما کمبود بارندگی در فصل‌های بهار و تابستان

انگور از مهم‌ترین محصولات باغی در دنیا است که هم به لحاظ سطح زیر کشت و هم از نظر ارزش اقتصادی و تغذیه‌ای زیاد، کشت می‌شود. از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید، ایران با حدود ۲۲۳۰۰۰ هکتار انگورکاری و تولید سالانه ۲/۲ میلیون

سبب می‌شود تا چرخه فنولوژیکی انگور تحت تأثیرات منفی دمای بالای هوا، افزایش میزان تبخیر و تعرق و در نهایت تنش خشکی قرار گیرد. از آنجایی که پاسخ به تنش خشکی با توجه به زمینه ژنتیکی گیاه متفاوت است، یکی از راهبردهای مناسب برای اصلاح درختان میوه در شرایط کم‌آبی استفاده از ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی است. بررسی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی رقم‌های مختلف تحت شرایط تنش به شناسایی عوامل مؤثر در مقاومت به تنش کمک می‌کند و می‌توان از این ویژگی‌ها به‌عنوان نشانگرهایی مناسب برای انتخاب گیاهان مقاوم استفاده کرد. از جمله این ویژگی‌ها می‌توان به کارایی مصرف آب، محتوای کلروفیل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کاهش کمتر در محتوای نسبی آب (RWC)، تنظیم اسمزی بهتر، ظرفیت رشدی و قابلیت فتوسنتزی بیشتر برگ‌ها اشاره کرد (Cattivelli et al., 2008; Lovisolo et al., 2010; Liu et al., 2012; Cregg, 2002). تنش خشکی همانند سایر تنش‌های غیرزنده از طریق افزایش تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به ایجاد تنش ثانویه اکسیداتیو می‌شود. تجمع گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، تخریب غشاء و دستگاه فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل می‌شود (Noctor et al., 2014). پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، پایدارترین گونه‌ی فعال اکسیژن است که بسیار واکنش‌پذیر است و آسیب‌های اکسیداتیو جدی به لیپیدهای غشایی وارد می‌کند و در نتیجه منجر به از دست دادن سلامت غشاء، نشت الکترولیت‌های موجود در داخل سلول به سمت بیرون و مرگ سلولی می‌شود (Slesak et al., 2008). میزان خسارت وارده به غشاهای سلولی توسط خشکی، از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌های سلولی قابل ارزیابی است (Kocheva and Georgiev, 2003). بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde: MDA) بافت گیاهی نیز می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشاء سلولی باشد، زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشاء سلولی آزاد می‌شود (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002). در یک پژوهش انجام‌شده بر روی ارقام انگور در شرایط تنش خشکی،

میزان مالون‌دی‌آلدئید در برگ ارقام مقاوم به خشکی کمتر از ارقام حساس افزایش یافت (Toumi et al., 2008). سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو، به یک سیستم جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد مجهز می‌باشند. این سیستم شامل آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و نیز آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی است (Cho and Park, 2000). غلظت بالای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی و یا فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجب افزایش مقاومت گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شود. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، با افزایش شدت تنش خشکی در برگ و ریشه درختان زیتون افزایش یافت (Sofa et al., 2005). بررسی مقایسه‌ای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی در ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به خشکی در مطالعات متعدد، نشان‌دهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر ژنوتیپ‌های متحمل بوده است. در میان دوپایه سبب مقاوم و حساس در برابر خشکی، پایه حساس آسیب‌پذیرتر بود و در نتیجه در شرایط تنش خشکی افزایش بیشتری در میزان پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید نسبت به رقم مقاوم نشان داد و فعالیت SOD و POX به میزان بیشتری در رقم مقاوم در پاسخ به تنش افزایش یافت (Wang et al., 2012). تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در دو رقم انار تحت تأثیر قرار داد. در شرایط تنش شدید، فعالیت این آنزیم‌ها در رقم مقاوم‌تر بیشتر از رقم دیگر بود (Ebtadaie and Shekafandeh, 2017). در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مقدار مالون‌دی‌آلدئید، نشت یونی، رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در دو جمعیت بلوط ایرانی، تحت تأثیر شدت تنش و نوع رقم تغییر یافتند (Jafarnia et al., 2018). ایران به‌عنوان یکی از مراکز پیدایش و پراکنش انگور در جهان، از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است. ارقام و ژنوتیپ‌های انگور ایرانی از نظر تحمل انواع تنش‌های زنده و غیرزنده بسیار متنوع‌اند ولی پژوهش‌های انجام‌شده در جهت ارزیابی مقاومت به خشکی آنها بیشتر

بار محلول‌پاشی برگ‌ها با کود کامل (نیترژن ۹ درصد، فسفر ۹ درصد، پتاسیم ۹ درصد، بر ۰/۰۱ درصد، مس ۰/۰۰۲ درصد، روی ۰/۰۰۲ درصد، آهن ۰/۰۲ درصد، منگنز ۰/۰۱ درصد و مولیبدن ۰/۰۰۱ درصد) بر روی نهال‌ها صورت گرفت. در این پژوهش، چهار سطح تنش خشکی با شش تکرار (هر گلدان شامل یک گیاه)، در دو رقم انگور یاقوتی و بیدانه سفید به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اعمال شد. سطوح تنش شامل عدم تنش یا شاهد، ۶، ۱۲ و ۱۸ روز تنش بود. رطوبت گلدان‌های شاهد در طول دوره آزمایش در حد ظرفیت مزرعه حفظ شد. بدین منظور، قبل از شروع آزمایش، گلدان‌های شاهد هر رقم تا حد غرقاب آبیاری شدند و دو روز بعد، یعنی پس از خروج آب ثقلی، این گلدان‌ها توزین شده، وزن هر یک ثبت شد. پس از شروع آزمایش، این گلدان‌ها روزانه توزین می‌شدند و مقدار آب لازم برای رسیدن به حد رطوبت ظرفیت مزرعه به هر یک اضافه می‌شد. به منظور هم‌زمان سازی نمونه‌گیری از تیمارها، در سطح تنشی ۱۸ روز تنش، از آغاز دوره آزمایش آبیاری گلدان‌های مربوطه قطع شد ولی در سطح تنشی ۶ و ۱۲ روز تنش، به ترتیب شش و دوازده روز پس از آغاز آزمایش، آبیاری گلدان‌های مربوطه متوقف شد. در انتهای آزمایش به منظور تعیین محتوای رطوبت خاک در هر یک از سطوح تنشی، نمونه‌ای از خاک هر گلدان از عمق صفر تا ۲۵ سانتیمتری توسط آگر تهیه شد و پس از توزین و خشک‌کردن در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز، محتوای رطوبت خاک هر گلدان تعیین شد (Jiang *et al.*, 2010). در طول مدت تنش، برای کاهش خطای آزمایش، گلدان‌ها به صورت تصادفی جابجا می‌شدند. نمونه‌گیری از جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه‌یافته صورت گرفت. نمونه‌های برگ‌ی بلافاصله به نیترژن مایع منتقل شدند و برای اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی تا زمان آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای تعیین محتوای نسبی آب برگ، از هر تکرار سه برگ و از هر برگ سه دیسک دایره‌ای به قطر ۱/۵ سانتی‌متر تهیه و توزین شدند (Fw: fresh weight). نمونه‌های برگ‌ی به مدت

معطوف به بررسی‌های مورفولوژیک بوده است (Fatahi *et al.*, 2004; حدادی نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). از سوی دیگر کمبود مطالعات انجام‌شده در زمینه بررسی و مقایسه پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی ارقام حساس و متحمل به خشکی انگور، کاملاً مشخص است، لذا بررسی‌های بیوشیمیایی و مولکولی بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. در بررسی میزان تحمل و سازگاری چند رقم انگور تجاری داخلی و خارجی در شرایط دیم، انگور یاقوتی به عنوان یکی از ارقام مناسب برای کشت دیم معرفی شد (دولتی بانه و همکاران، ۱۳۹۵). در بررسی خصوصیات فتوسنتزی و بیان ژن رویسکو اکتیواز در چهار رقم انگور در سطوح مختلف تنش خشکی، رقم یاقوتی به عنوان یک رقم متحمل و رقم بیدانه سفید به عنوان رقم حساس به خشکی گزارش شدند (Hadadinejad *et al.*, 2013). این پژوهش باهدف بررسی و مقایسه برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم انگور یاقوتی و بیدانه سفید، تحت دوره‌های مختلف تنش خشکی، صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر صورت گرفت. نهال‌های ریشه‌دار دوساله یکنواخت از نظر ژنتیکی از دو رقم انگور یاقوتی و بیدانه سفید در اسفندماه سال ۱۳۹۳ به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۶ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر منتقل شدند. به هر گلدان ده کیلوگرم خاک با نسبت ۳:۱:۱ از ترکیب خاک، ماسه و کود پوسیده دامی اضافه شد. آزمایش خاک، نشان داد که خاک مورد استفاده دارای بافت لومی (۴۳٪ خاک، ماسه، ۳۹٪ سیلت و ۱۸٪ رس) و ۱/۲۳ درصد مواد آلی است. پس از انتقال نهال‌ها به گلدان‌ها، نهال‌ها به مدت چهار ماه در گلخانه‌ای با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ درصد رشد یافتند. قبل از آغاز رشد بهاره، هرس دو جوانه بر روی هر نهال صورت گرفت. در طول دوره رشد تا آغاز آزمایش، آبیاری معمول (سه بار در هفته) و پنج

اسید ۰/۱ درصد عصاره‌گیری شدند. پس از سانتریفوژ، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۴۵۰۰، نیم میلی‌لیتر از روشناور به یک میلی‌لیتر از یدور پتاسیم یک میلی‌مولار و بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار (PH=7) اضافه شد. غلظت نمونه‌ها با مقایسه جذب آنها در ۳۹۰ نانومتر با یک منحنی کالیبراسیون استاندارد ارزیابی شد. جهت استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ۰/۱ گرم از بافت پودر شده برگی، یک میلی‌لیتر بافر استخراج (بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (PH= ۷/۸) حاوی پلی‌وینیل پلی‌پیرولیدین (PVP) دو درصد)، اضافه شد. عصاره تهیه شده به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و دمای چهار درجه سانتی‌گراد، سانتریفوژ گردید. از روشناور برای سنجش غلظت پروتئین‌های محلول و سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

غلظت پروتئین‌های محلول با استفاده از روش Bradford (1976) با اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در ۵۹۵ نانومتر و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد محاسبه شد. فعالیت آنزیم SOD با ثبت سرعت احیاء نیترو بلو تترازولیوم (NBT) در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Beauchamp and Fridovich, 1971). یک واحد آنزیم به‌عنوان مقدار آنزیمی که ۵۰ درصد ممانعت از احیاء نیترو بلو تترازولیوم در شرایط ارزیابی ایجاد می‌کند تعیین شد. فعالیت آنزیمی برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در عصاره بیان شد.

فعالیت آنزیم CAT به‌صورت کاهش در جذب، در طول موج ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه با دنبال کردن تجزیه پراکسید هیدروژن تعیین شد (Aebi, 1984). یک واحد آنزیمی کاتالاز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن را در یک دقیقه تجزیه می‌کند. فعالیت آنزیم، برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین، با استفاده از ضریب خاموشی $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم POD با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تراگایاکول تشکیل‌شده در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی

۲۴ ساعت در شدت نور کم و دمای چهار درجه سانتی‌گراد درون آب مقطر قرار گرفته، مجدداً توزین شدند (Tw: turgid weight). وزن خشک نمونه‌ها نیز پس از ۲۴ ساعت قرارگیری در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (Dw: dry weight) و در نهایت محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد: (Kirmak et al., 2001)

$$\text{RWC}\% = (\text{Fw} - \text{Dw} / \text{Tw} - \text{Dw}) * 100$$

برای اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌های برگ، از برگ‌های کاملاً توسعه یافته پس از شستشو با آب مقطر، قطعاتی با ابعاد یک سانتی‌متر تهیه شد. نمونه‌های برگ در لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر قرار گرفتند. سپس لوله‌های حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. بعد از آن هدایت الکتریکی اولیه (EC1) محلول با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی قرائت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از خنک شدن، هدایت ثانویه آنها (EC2) قرائت گردید. در نهایت درصد نشت الکترولیت‌های برگ از طریق رابطه $\text{EC1}/\text{EC2} \times 100$ محاسبه شد (Lutts et al., 1995).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌آلدئید ایجادشده با تیوباربتوریک اسید (TBA) سنجش شد. بدین منظور ابتدا نیم گرم برگ تازه را در محلول ۲۰ درصد تری کلرو استیک اسید (TCA) که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید بود کاملاً پودر کرده و عصاره به دست آمده با دور ۶۰۰۰g سانتریفوژ شد. محلول رویی به مدت ۲۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس واکنش با قرار دادن تیوب‌ها در یک حمام یخ متوقف شد. مخلوط سرد شده با دور ۱۰۰۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و از جذب غیر مخصوص در طول موج ۶۰۰ نانومتر کسر گردید (Heath and Packer, 1968).

محتوای پراکسید هیدروژن نمونه‌های برگی به روش Sergiev و همکاران (1997) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۳۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های برگی با سه میلی‌لیتر از تری کلرو استیک

(Yang and Mioa, 2010). گیاه انگور با داشتن یک سیستم کنترل روزنه‌ای قوی، در زمره گیاهان ایزوهیدریک قرار می‌گیرد. این گروه از گیاهان در مواجهه با محدودیت آب خاک به سرعت روزنه‌هایشان را می‌بندند و از کاهش بیشتر پتانسیل آب برگ جلوگیری می‌کنند (Hugalde and Vila, 2014). در پژوهش حاضر، میزان محتوای نسبی آب برگ در شرایط تنش حداکثر، برای رقم یاقوتی ۷۶/۴ درصد و برای رقم بیدانه سفید ۶۸/۴ درصد بود که در مقایسه با شرایط شاهد، رقم یاقوتی، ۱۶/۹ درصد و رقم بیدانه سفید، ۲۳/۸ درصد کاهش در محتوای نسبی آب برگ نشان دادند. مقادیر نسبتاً بالای محتوای نسبی آب برگ در دو رقم مورد بررسی را می‌توان به ماهیت ایزوهیدریک گیاه انگور نسبت داد. مشخص شده است که در شرایط مشابه، محتوای نسبی آب ارقام متحمل به خشکی، کمی بیشتر از ارقام حساس به خشکی است. این نشان می‌دهد که پتانسیل آب برگ در گیاهان حساس به کمبود آب، به سرعت کاهش می‌یابد (Chakraborty and Pradhan, 2011). در یک تحقیق مشابه، با بررسی یک دوره تنشی ۱۷ روزه بر روی سه رقم انگور، مشخص شد که محتوای نسبی آب در یک رقم بومی کره جنوبی نسبت به دو رقم تجاری، کمتر تحت تأثیر تنش قرار گرفت (Choi et al., 2013). در تحقیق حاضر نیز، کاهش کمتر محتوای نسبی آب در رقم یاقوتی، مقاومت نسبی بیشتر این رقم نسبت به کم آبی در مقایسه با رقم بیدانه سفید را تأیید می‌کند.

تنش خشکی، درصد نشت یونی غشاء سلول‌های برگ را افزایش داد (جدول ۱). بیشترین درصد نشت یونی در شرایط حداکثر تنش و کمترین درصد، در شرایط شاهد حاصل شد. اثر رقم (جدول ۲) و اثر متقابل تنش × رقم (شکل ۲) نیز بر درصد نشت یونی غشاء سلول‌های برگ، معنی‌دار بود. در مقایسه با گیاهان شاهد، دوره‌های تنشی ۱۲ و ۱۸ روزه، درصد نشت یونی در برگ‌های هر دو رقم را به‌طور قابل‌توجهی افزایش دادند، درحالی‌که دوره تنشی ۶ روزه تغییر معنی‌داری در این پارامتر در هیچ یک از دو رقم ایجاد نکرد (شکل ۲). میزان خسارت وارده به غشاهای سلولی توسط خشکی از طریق

$^{-1} \text{cm} \cdot \text{mm}^2 / 8$ محاسبه شد (Herzog and Fahimi, 1973).
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

تنش خشکی، محتوای رطوبت خاک (درصد رطوبت وزنی) را در هر دو رقم کاهش داد. با افزایش طول دوره تنش، میانگین محتوای رطوبت خاک، کاهش یافت به‌طوری‌که در تیمارهای شاهد، ۶، ۱۲ و ۱۸ روز تنش، میانگین محتوای رطوبت خاک در رقم یاقوتی به ترتیب ۱۷/۹۶، ۱۲، ۷/۳۱، ۴/۹۸ و در رقم بیدانه سفید ۱۷/۷۴، ۱۰/۴۸، ۵/۵۳، ۴/۷۴ درصد بود.

اثر تنش، رقم و همچنین اثر متقابل تنش × رقم بر محتوای نسبی آب برگ معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲، شکل ۱). تنش خشکی به‌طور معنی‌داری محتوای نسبی آب برگ را در هر دو رقم کاهش داد. در شرایط عدم تنش (شاهد)، بین محتوای نسبی آب برگ هر دو رقم، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت اما در دیگر سطوح تنشی همواره محتوای نسبی آب برگ رقم یاقوتی از رقم بیدانه سفید، بیشتر بود. محتوای نسبی آب برگ که به‌عنوان مقیاسی از وضعیت رطوبتی گیاه مطرح است منعکس‌کننده فعالیت متابولیکی در بافت‌هاست و به‌عنوان پرمعناترین شاخص تحمل به خشکی مورداستفاده قرار می‌گیرد (Anjum, 2011). کاهش در محتوای نسبی آب در پاسخ به تنش خشکی، در انواع گسترده‌ای از گیاهان گزارش شده است (Nayyar and Gupta, 2006). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که توانایی نگهداری آب بیشتر، یکی از مکانیسم‌های تحمل به خشکی در گیاهان است (Chakraborty et al., 2002; Iqbal and Bano, 2009). محتوای نسبی آب، تحت تأثیر گونه گیاهی، شدت تنش و دوره وقوع تنش قرار می‌گیرد. وقتی دو گونه صنوبر در معرض تنش تصاعدی خشکی قرار گرفتند کاهش در محتوای نسبی آب در گونه *Populus cathayana* ۲۳/۳ درصد و در گونه *P. kangdingensis* ۱۶ درصد بود

جدول ۱- مقایسه میانگین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در سطوح مختلف تنش خشکی

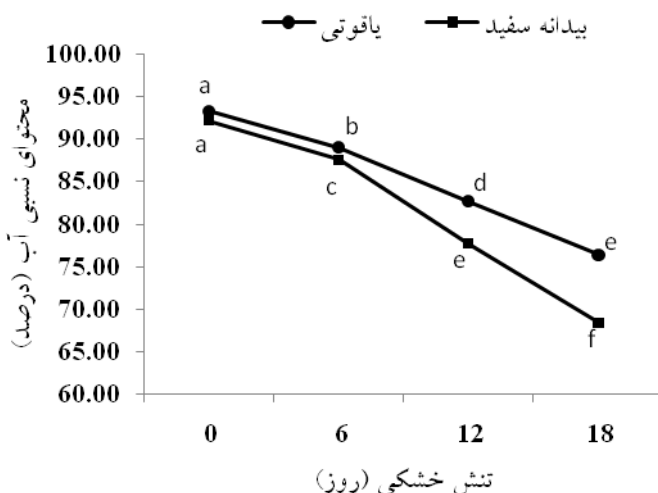
سطح تنش خشکی	محتوای نسبی آب	نشت یونی	مالون‌دی‌آلدئید	پراکسید هیدروژن	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز
(روز)	(درصد)	(درصد)	(نانومول بر گرم وزن تر برگ)	(میکرومول بر گرم وزن تر برگ)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)
۰	۹۲/۷۹ ^a	۲۴/۱۵ ^d	۲/۴۵ ^d	۹/۶۹ ^d	۶۰/۲۴ ^c	۵/۲۶ ^d	۸/۲۰ ^d
۶	۸۸/۳۳ ^b	۲۷/۳۸ ^c	۳/۶۳ ^c	۱۱/۰۵ ^c	۶۲/۶۱ ^c	۶/۲۸ ^c	۱۲/۵۴ ^c
۱۲	۸۰/۲۴ ^c	۳۸/۵۸ ^b	۴/۹۲ ^b	۱۳/۰۱ ^b	۱۲۰/۴۲ ^b	۹/۰۷ ^a	۱۷/۴۶ ^b
۱۸	۷۲/۴۲ ^d	۴۴/۱۸ ^a	۵/۶۹ ^a	۱۶/۷۴ ^a	۱۴۷/۳۹ ^a	۷/۵۶ ^b	۱۸/۵۴ ^a

در هر ستون میانگین‌های با دست‌کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

جدول ۲- مقایسه میانگین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در دو رقم انگور

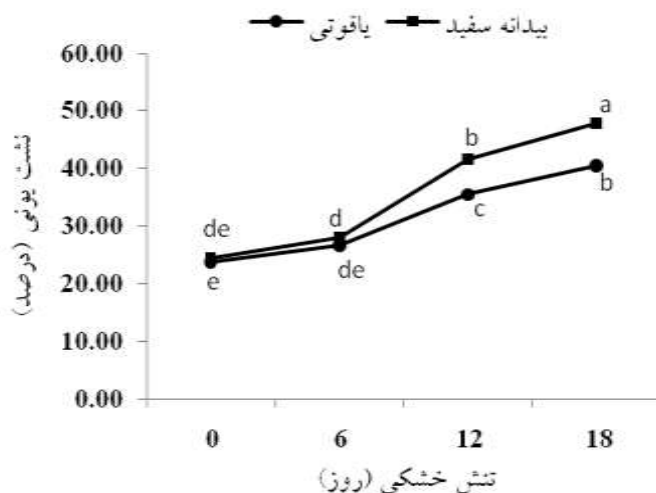
رقم انگور	محتوای نسبی آب	نشت یونی	مالون‌دی‌آلدئید	پراکسید هیدروژن	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز
	(درصد)	(درصد)	(نانومول بر گرم وزن تر برگ)	(میکرومول بر گرم وزن تر برگ)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)	(واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین)
یاقوتی	۸۵/۳۸ ^a	۳۱/۶۴ ^b	۳/۸۲ ^b	۱۱/۸۵ ^b	۱۰۸/۶۷ ^a	۸/۱۸ ^a	۱۶/۲۴ ^a
بیدانه-سفید	۸۱/۵۱ ^b	۳۵/۵۱ ^a	۴/۵۳ ^a	۱۳/۳۹ ^a	۸۶/۶۷ ^b	۵/۹۱ ^b	۱۲/۱۳ ^b

در هر ستون میانگین‌های با دست‌کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.



شکل ۱- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر محتوای نسبی آب برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست‌کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است (Kocheva and Georgiev, 2003). تحت تنش خشکی، در نتیجه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن، غشاء سلولی پایداری خود را ازدست داده و در صورت قرار گرفتن برگ در



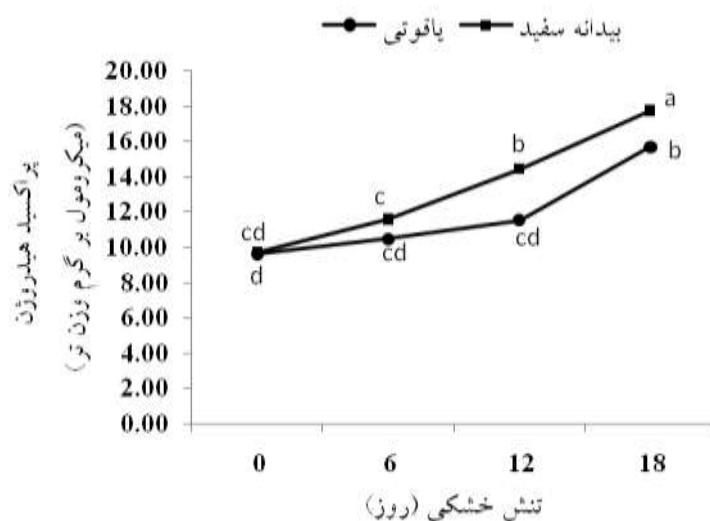
شکل ۲- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر درصد نشت یونی سلول‌های برگ در دو رقم انگور. میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

ترتیب ۴۹ و ۸۲ درصد، محتوای پراکسید هیدروژن برگ‌ها را افزایش دادند. فعالیت عادی سوخت‌وساز سلولی تحت شرایط رشد، به‌طور منظم منجر به تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود. تنش‌های زنده و غیرزنده، موجب ایجاد عدم تعادل بین تولید و پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه افزایش غلظت آن‌ها در سلول می‌شوند (Kar, 2011). پراکسید هیدروژن، نقشی اساسی در انتقال سیگنال در گیاه، تنظیم نمو و سازگاری به تنش‌های زنده و غیرزنده ایفا می‌کند (Noctor *et al.*, 2014). افزایش محتوای پراکسید هیدروژن در اثر خشکی، به ویژه در ارقام و ژنوتیپ‌های حساس‌تر، در مطالعات زیادی مورد تأیید قرار گرفته است (Wang *et al.*, 2012; Chakraborty and Pradhan, 2011). مقایسه دو رقم در مطالعه حاضر، نشان داد که محتوای پراکسید هیدروژن برگ‌ها در تیمارهای تنشی ۱۲ و ۱۸ روزه در رقم یاقوتی، به‌طور معنی‌داری از رقم بیدانه‌سفید، کمتر بود. این نتیجه می‌تواند در اثر کارایی بهتر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی (آنزیم‌های CAT و POD) در رقم یاقوتی نسبت به رقم بیدانه‌سفید، حاصل شده باشد.

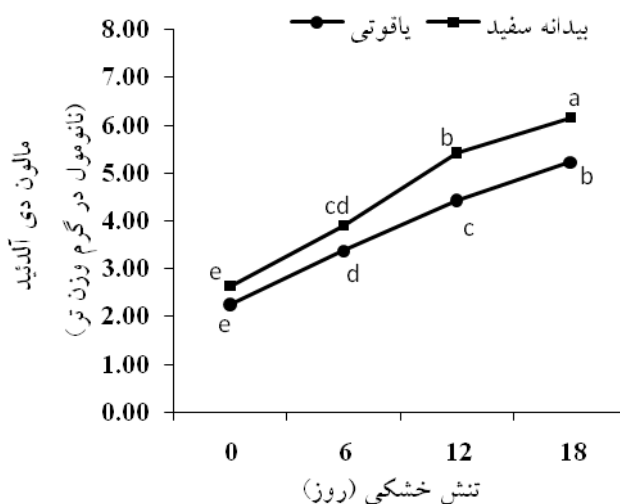
هنگامی‌که افزایش تولید و تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش خشکی بر ظرفیت جاروب کنندگی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غلبه می‌کند آسیب‌های اکسیداتیو مهمی به

یک محیط آبی، مواد محلول از سلول‌های آن تراوش می‌یابد، لذا پایداری غشاء به وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن تعیین می‌شود (Sairam *et al.*, 2002). ثبات غشا سلولی و نشت الکتروولت کمتر تحت شرایط تنش رطوبتی، یک جز اصلی تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های متحمل محسوب می‌شود (Kocheva and Georgiev, 2003). در پژوهش حاضر، در گیاهان شاهد و ۶ روز تنش‌یافته، اختلاف معنی‌داری بین درصد نشت یونی برگ‌های دو رقم، مشاهده نشد اما در سطوح ۱۲ و ۱۸ روز تنش خشکی، درصد نشت یونی غشاء سلول‌های برگ در رقم بیدانه‌سفید به‌طور معنی‌داری بالاتر از رقم یاقوتی بود. نشت یونی کمتر غشاء‌های سلولی در رقم یاقوتی در اثر تنش خشکی، متفاوت بودن زمینه ژنتیکی دو رقم را تأیید کرده و پایداری بیشتر غشاء‌های سلولی در این رقم نسبت به رقم بیدانه‌سفید را نشان می‌دهد.

اثر تنش، رقم و اثر متقابل تنش در رقم، بر محتوای پراکسید هیدروژن برگ، معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲، شکل ۳). در رقم یاقوتی، فقط دوره تنشی ۱۸ روزه بر افزایش محتوای پراکسید هیدروژن برگ، مؤثر بود و در مقایسه با گیاهان شاهد، ۶۳ درصد محتوای پراکسید هیدروژن برگ‌ها را افزایش داد، درحالی‌که دیگر سطوح تنشی تأثیر معنی‌داری بر این پارامتر نداشتند. در رقم بیدانه‌سفید ۱۲ و ۱۸ روز تنش خشکی به



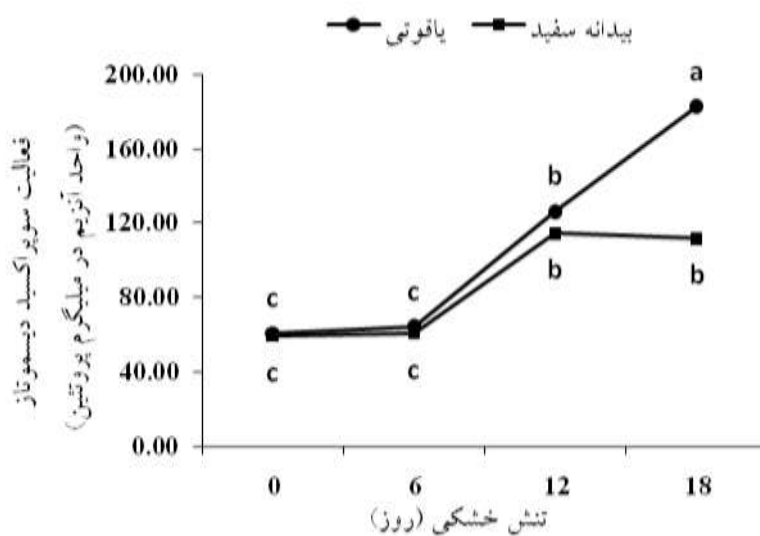
شکل ۳- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر مقدار پراکسید هیدروژن برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.



شکل ۴- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

یک نشانگر مناسب برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در نظر گرفته شده است. در تحقیق حاضر، اثر تنش، رقم و اثر متقابل تنش در رقم، بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ، معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲، شکل ۴). دوره‌های مختلف تنش خشکی محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ را در هر دو رقم به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. در مقایسه با گیاهان شاهد، دوره‌های تنشی ۶، ۱۲ و ۱۸ روزه، محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ را در رقم یاقوتی به‌ترتیب ۴۹، ۹۶ و ۱۳۱ درصد و در رقم بیدانه

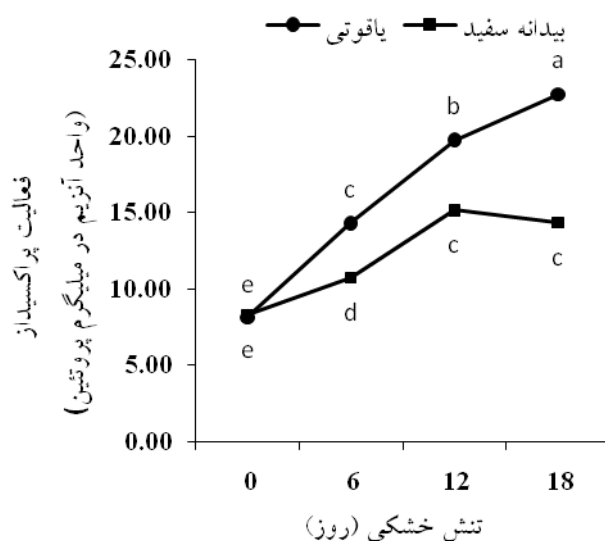
لیپیدهای غشایی وارد می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی، شاخصی از میزان شیوع واکنش‌های رادیکال‌های آزاد در بافت‌هاست که می‌تواند تنش اکسیداتیو را از طریق ایجاد رادیکال‌های مشتق شده از چربی‌ها تشدید کند، زیرا این رادیکال‌ها می‌توانند با پروتئین‌ها و DNA واکنش داده و به آنها آسیب برسانند. پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی یکی از زیان‌بارترین اثرات تنش خشکی در سلول‌های گیاهی بسته به شدت تنش است (Thankamani et al, 2003). مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان



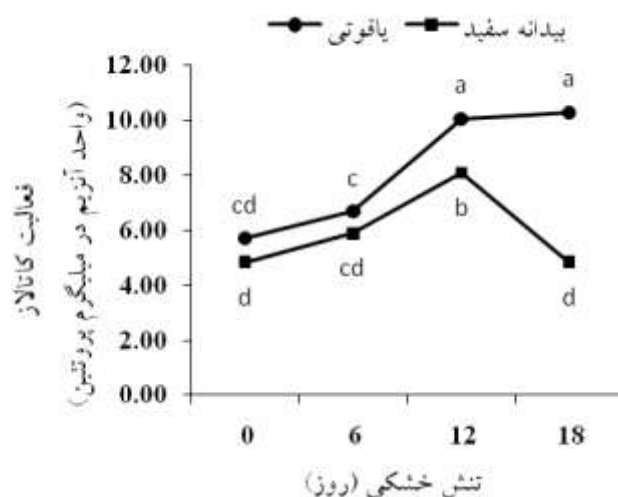
شکل ۵- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

و POX افزایش یافت، اما در رقم بیدانه سفید افزایش فعالیت این سه آنزیم تا دوره تنشی ۱۲ روزه ادامه یافت و پس از آن با ادامه تنش خشکی، فعالیت این آنزیم‌ها، ثابت مانده و یا کاهش یافت (شکل‌های ۵ و ۶ و ۷). القاء فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، یک استراتژی عمومی سازگاری است که گیاهان برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو، استفاده می‌کنند (Noctor *et al.*, 2014). SOD، CAT و POD آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هستند که فعالیت آنها تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و POX در اثر تنش خشکی در گیاهان مختلف گزارش شده است (Sharma and Dubey, 2005; Wang *et al.*, 2005). فعالیت هماهنگ این آنزیم‌ها ممکن است به‌عنوان دفاع مؤثر آنتی‌اکسیداتیو در برابر اثرات گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط خشکی عمل کند. آنزیم‌های SOD اولین خط دفاعی در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند که واکنش دیسموتاسیون آنیون سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$) به اکسیژن و پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کنند. در گیاهان تعدادی از آنزیم‌ها، سطح درون سلولی پراکسید هیدروژن را تنظیم می‌کنند که در میان آنها CAT و APX اهمیت بیشتری دارند (Noctor and Foyer, 1998). در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و

سفید ۴۸، ۱۰۵ و ۱۳۳ درصد افزایش دادند. در تطابق با یافته‌های ما، تنش‌های خشکی ملایم و شدید، محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ یک رقم هلو را در مقایسه با گیاهان شاهد، به ترتیب ۵۲ و ۱۰۵ درصد افزایش دادند (Haider *et al.*, 2018). در تیمارهای شاهد و ۶ روز تنش خشکی، بین محتوای مالون‌دی‌آلدئید برگ دو رقم، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ولی در شرایط ۱۲ و ۱۸ روز تنش، محتوای مالون‌دی‌آلدئید رقم بیدانه سفید به‌طور معنی‌داری از رقم یاقوتی بیشتر بود (شکل ۴). تحقیقات متعددی، نشان‌دهنده افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدئید با افزایش شدت تنش خشکی (Chakraborty and Pradhan, 2011; Tatar and Gevrek, 2008) و افزایش بیشتر مالون‌دی‌آلدئید در ارقام حساس‌تر، نسبت به ارقام مقاوم به خشکی بوده‌اند (Zhang *et al.*, 2014). در مجموع در تحقیق حاضر، رقم یاقوتی توانایی بالاتری در کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای زیستی در مقایسه با رقم بیدانه سفید نشان داد. تأثیر رقم و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های مورد ارزیابی معنی‌دار بود (جدول ۱ و ۲). تنش خشکی باعث افزایش قابل‌ملاحظه فعالیت آنزیم‌های SOD، POD و CAT در برگ دو رقم، در مقایسه با گیاهان شاهد شد. در رقم یاقوتی با افزایش طول دوره تنش خشکی فعالیت سه آنزیم SOD، CAT و



شکل ۶- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر فعالیت پراکسیداز در برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست‌کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.



شکل ۷- تأثیر دوره‌های مختلف تنش خشکی بر فعالیت کاتالاز در برگ دو رقم انگور. میانگین‌های با دست‌کم یک حرف مشترک، بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد آزمون توکی هستند.

مانند فعالیت آنزیم‌های CAT و POD همراه باشد، می‌تواند به عنوان یک مکانیسم مهم برای مقابله با تنش اکسیداتیو حاصل از کمبود آب در شرایط تنش خشکی، عمل کند (Chakraborty and Pradhan, 2011). در تحقیق حاضر، فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رقم یاقوتی، می‌تواند به محافظت از غشاهای سلولی و دستگاه فتوسنتزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی و در نتیجه تحمل بیشتر این رقم، کمک کند. مقادیر کمتر شاخص‌های تنش

CAT در دوره تنشی ۱۸ روزه در رقم یاقوتی، به ترتیب ۱/۶، ۲/۱ برابر رقم بیدانه‌سفید بود. در یک تحقیق مشابه، سطوح مختلف تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در دو رقم انار مورد بررسی، افزایش داد. در شرایط تنش شدید، تفاوت معنی‌داری بین دو رقم انار مورد مطالعه از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشاهده شد (Ebtadaie and Shekafandeh, 2017). در صورتیکه بیان بالای SOD، با افزایش بیان مکانیسم‌های حذف پراکسید هیدروژن

محتوای مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش خشکی در هر دو رقم افزایش یافت با این وجود، شدت تأثیر تنش خشکی در دوره های تنشی مورد بررسی بر دو رقم، متفاوت بود به طوریکه محتوای پراکسید هیدروژن از یک طرف و شاخص‌های تخریب غشاء از طرف دیگر در سطوح مختلف تنش خشکی در رقم بهیاقوتی، افزایش کمتری پیدا کردند. رقم یاقوتی تحمل بیشتری خشکی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و جلوگیری از آسیب‌های غشایی نشان داد لذا می‌توان گفت که رقم یاقوتی در شرایط تنش خشکی از سیستم حفاظتی بهتری در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از آن برخوردار است.

اکسیداتیو مانند نشت یونی، غلظت مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن، در رقم یاقوتی را نیز می‌توان به فعالیت بیشتر و کارایی بهتر آنزیم‌های فوق نسبت داد. فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارقام مقاوم به خشکی نسبت به ارقام حساس، در انواع دیگری از تنش‌های محیطی از جمله سرما و شوری نیز گزارش شده است (Yong *et al*, 2008; Wang *et al*, 2009)

نتیجه‌گیری

شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی در دو رقم انگور، الگوهای مشابهی در پاسخ به تنش خشکی نشان دادند به طوریکه محتوای نسبی آب برگ در هر دو رقم کاهش یافت اما غلظت پراکسید هیدروژن، درصد نشت یونی و

منابع

- حدادی نژاد، م.، عبادی، ع.، فتاحی مقدم، م. ر. و نجاتیان، م. ع. (۱۳۹۲) غربالگری اولیه مورفولوژیکی ۶۹۸ ژنوتیپ انگور بر اساس تحمل به خشکی برای انتخاب پایه. علوم باغبانی ایران ۴۴: ۱۹۳-۲۰۷.
- دولتی بانه، ح.، غنی شایسته، ف.، نورجو، ا.، سعیدیان، ر. و جعفری، ح. (۱۳۹۵) معرفی ارقام مطلوب انگور برای کشت دیم با هدف تازه‌خوری. پژوهش در میوه‌کاری ۱: ۳۷-۵۵.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. (2011) Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research* 6: 2026-2032.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276-287.
- Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A. (2002) Salt stress-induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology* 30: 279-287.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254.
- Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F. W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Francia, E., et al. (2008) Drought tolerance improvement in crop plants: an integrated view from breeding to genomics. *Field Crops Research* 105: 1-14.
- Chakraborty, U. and Pradhan, B. (2011) Drought stress-induced oxidative stress and antioxidative responses in four wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Archives of Agronomy and Soil Science* 58: 617-630
- Chakraborty, U., Dutta, S. and Chakraborty, B. (2002) Response of tea plants to water stress. *Biologia Plantarum* 45: 557-562.
- Chaves, M. M., Pereira, J. O. S., Maroco, J. O., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. N. P. P., Osorio, M. L., et al. (2002) How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of Botany* 89: 907-916.
- Cho, U. H. and Park, J. O. (2000) Mercury-induced oxidative stress in tomato seedlings. *Plant Science* 156: 1-9.
- Choi, Y. J., Hur, Y. Y., Jung, S. M., Kim, S. H., Noh, J. H., Park, S. J. and Yun, H. K. (2013) Transcriptional analysis of Dehydrin1 genes responsive to dehydrating stress in grapevines. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 54: 272-279.
- Cregg, B. M. (2002) Improving drought tolerance of trees: theoretical and practical considerations. In: *Proceeding of the 26th International Horticultural Congress: Nursery Crops*, Toronto, Canada.
- Ebtedaie, M., and Shekafandeh, A. (2017) Antioxidant and carbohydrate changes of two pomegranate cultivars under deficit irrigation stress. *Spanish Journal of Agricultural Research* 14: 1-9.
- Fatahi, R., Ebadi, A., Vezvaei, A. and Zamani, Z. (2004) Relationship among quantitative and qualitative characters in 90 grapevine (*Vitis vinifera*) cultivars. *Acta Horticulturae* 640: 275-282.

- Hadadinejad, M., Ebadi, A., Fatahi, R., Mousavi, A., Santesteban, L. G. and Nejatianc, M. A. (2013) The effect of drought stress on photosynthetic traits and the expression of some genes for a few Iranian grapevine candidate rootstocks. In: Proceeding of the 6th International Phylloxera Symposium, Bordeaux, France.
- Haider, M. S., Kurjogi, M. M., Khalil-ur-Rehman, M., Pervez, T., Songtao, J., Fiaz, M. and Fang, J. (2018) Drought stress revealed physiological, biochemical and gene-expressional variations in 'Yoshihime' peach (*Prunus Persica* L.) cultivar. *Journal of Plant Interactions* 13: 83-90.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Herzog, V. and Fahimi, H. D. (1973) A new sensitive colorimetric assay for peroxidase using 3, 3'-diaminobenzidine as hydrogen donor. *Analytical Biochemistry* 55: 554-562.
- Hugalde, I. P., and Vila, H. F. (2014) Isohydic or anisohydic behavior on vines an endless controversy? *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 40: 75-82.
- Iqbal, S. and Bano, A. (2009) Water stress induced changes in antioxidant enzymes, membrane stability and seed protein profile of different wheat accessions. *African Journal of Biotechnology* 8: 6576-6587.
- Jafarnia, S., Akbarinia, M., Hosseinpour, B., Modarres Sanavi, S. A. M. and Salami, S. A. (2018) Effect of drought stress on some growth, morphological, physiological, and biochemical parameters of two different populations of *Quercus brantii*. *Forest-Biogeosciences and Forestry* 11: 212-220.
- Jiang, Y., Watkins, E., Liu, S., Yu, X. and Luo, N. (2010) Antioxidative responses and candidate gene expression in prairie Junegrass under drought stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 135: 303-309.
- Kar, R. K. (2011) Plant responses to water stress: role of reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior* 6: 1741-1745.
- Kirnak, H., Kaya, C., Tas, I. and Higgs, D. (2001) The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 27: 34-46
- Kocheva, K. and Georgiev, G. (2003) Evaluation of the reaction of two contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars in response to osmotic stress with PEG 6000. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 49: 290-294.
- Liu, B. H., Cheng, L., Liang, D., Zou, Y. J. and Ma, F. W. (2012) Growth, gas exchange, water-use efficiency, and carbon isotope composition of 'Gale Gala' apple trees grafted onto 9 wild Chinese rootstocks in response to drought stress. *Photosynthetica* 50: 401-410.
- Lovisollo, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., et al. (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.
- Lutts, S., Kinet, J. and Bouharmont, J. (1995) Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Nayyar, H. and Gupta, D. (2006) Differential sensitivity of C₃ and C₄ plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany* 58: 106-113.
- Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Review of Plant Biology* 49: 249-279.
- Noctor, G., Mhamdi, A. and Foyer, C. H. (2014) The roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. *Plant Physiology* 164: 1636-1648.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
- Sergiev, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de Academie Bulgare des Sciences* 51: 121-124.
- Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation* 46: 209-221.
- Slesak, I., Slesak, H., Libik, M. and Miszalski, Z. (2008) Antioxidant response system in the short-term post-wounding effect in *Mesembryanthemum crystallinum* leaves. *Journal of Plant Physiology* 165: 127-137.
- Sofa, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. (2005) Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Functional Plant Biology* 32: 45-53.
- Tatar, O. and Gevrek, I. (2008) Lipid peroxidation and water content of Wheat. *Asian Journal of Plant Sciences* 7: 409-412.
- Thankamani, C., Chempakam, B. and Ashokan, P. (2003) Water stress induced changes in enzyme activities and lipid peroxidation in black pepper (*Piper nigrum* L.) *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 25: 646-650.
- The International Organisation of Vine and Wine (OIV) (2017) OIV StatiStical report on World VitiViniculture. Available online at <http://www.oiv.int/oiv>. Accessed 28 May 2017.

- Toumi, I., Gargouri, M., Nouairi, I., Moschou, P. N., Salem-Fnayou, A. B. and Mliki, A. (2008) Water stress induced changes in the leaf lipid composition of four grapevine genotypes with different drought tolerance. *Biologia Plantarum* 52: 161-164.
- Wang, F. Z., Wang, Q. B., Kwon, S. Y., Kwak, S. S. and Su, W. A. (2005) Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase. *Journal of Plant Physiology* 162: 465-472.
- Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F. and Shu, H. (2012) Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry* 51: 81-89.
- Wang, W. B., Kim, Y. H., Lee, H. S., Kim, K. Y., Deng, X. P. and Kwak, S. S. (2009) Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 570-577.
- Yang, F. and Miao, L. F. (2010) Adaptive responses to progressive drought stress in two poplar species originating from different altitudes. *Silva Fennica* 44: 23-37.
- Yong, Z., Hao-Ru, T. and Ya, L. (2008) Variation in antioxidant enzyme activities of two strawberry cultivars with short-term low temperature stress. *World Journal of Agricultural Sciences* 4: 458-462.
- Zhang, L., Peng, J., Chen, T., Zhao, X., Zhang, S., Liu, S. and Yu, S. (2014) Effect of drought stress on lipid peroxidation and proline content in cotton roots. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24: 1729-1736.

Effect of drought stress on some physiological and biochemical characteristics of two grapevine cultivars

Azam Moayedinezhad¹, Behrooz Mohammadparast^{1*}, Ghasem Hosseini Salekdeh²,
Mohammad Ali Nejatian³, Ehsan Mohseni fard⁴

¹Grape and Raisin Research Institute, Malayer University, Malayer, Iran

²Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran

³Horticulture Crops Research Department, Qazvin Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qazvin, Iran

⁴Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 07/02/2018, Accepted: 12/06/2018)

Abstract

Drought stress is the most important environmental factor limiting the growth, yield and quality of crops and horticultural products all over the world. This research was carried out with the aim of investigating and comparing some of the physiological and biochemical responses of two grapevine cultivars differing in drought tolerance, to different levels of water restriction. For this purpose, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with six replications in greenhouse conditions. Drought stress was performed by the method of cut off irrigation in four levels of 0 (control), 6, 12 and 18 days on the two Yaghuti and Bidanese fid cultivars. The results showed that drought stress significantly reduced leaf relative water content in both cultivars. In terms of maximum stress (18 days), the decrease in leaf relative water content was 16.9% for Yaghuti and 21.8% for Bidanese fid cultivar. In the present study, with different periods of drought stress, the Yaghuti drought tolerant cultivar showed lower amounts of hydrogen peroxide, malondialdehyde and electrolyte leakage compared to the sensitive cultivar of Bidanese fid. In Yaghuti cultivar, the activity of catalase, peroxidase and superoxide dismutase enzymes in the 18-day drought stress duration, was 2.1, 1.6 and 1.6 times higher than those in Bidanese fid cultivar, respectively. Totally, it seemed that Yaghuti with its more powerful antioxidant system had more ability for reducing the oxidative damage caused by drought stress, especially in severe stress conditions. In addition to physiological and biochemical studies, molecular experiments with the aim of identifying the genes involved in drought tolerance of this cultivar and other tolerant cultivars, are also very helpful and effective in advancing grape breeding programs.

Keywords: Antioxidant enzyme, Bidanese fid, Hydrogen peroxide, Electrolyte leakage, Yaghuti