بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک چهار رقم انگور ایرانی به تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای

حمیدرضا مهری[۱]، سیروس قبادی[۱*]، بهرام بانی نسب[۱]، پرویز احسان‌زاده[۲] و مهدیه غلامی[۱]

[۱]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان و [۲]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

(تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱۰/۲۸ ، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۵/۲۷)

چکیده:

تنش کم آبی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای غیر زیستی محدود کننده رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان باغی است. تنش کم آبی از طریق کشت درون شیشه، ه به طور موفقیت آمیزی در بسیاری از گیاهان استفاده شده است. در این پژوهش واکنش چهار رقم انگور ایرانی (*Vitis vinifera* L.) به تنش کم آبی ایجاد شده توسط پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ که پتانسیل‌های اسمزی ۵- و ۵.۲۴- و ۵.۶۵- و ۶.۲۴- و ۷.۰۱- بار (با احتساب پتانسیل اسمزی محیط کشت که ۵- بار بود) را در محیط کشت پایه MS ایجاد نمود، مورد بررسی قرار گرفت. ریزقلمه‌های مو حاوی جوانه انتهایی و چند جوانه جانبی به طول ۱/۵ سانتی‌متر پس از ضد عفونی سطحی، در محیط کشت پایه MS در معرض پتانسیل‌های اسمزی ذکر شده قرار داده شد. نتایج نشان داد که تنش کم آبی باعث کاهش وزن تر و خشک شاخه، سطح برگ، طول شاخه و محتوای نسبی آب می‌شود. افزایش معنی‌داری در میزان پرولین و مالون دای آلدئید و همچنین فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز در اثر تنش کم آبی مشاهده شد. افزایش در مقدار مالون دای آلدئید نشان داد تنش اکسیداتیو باعث کاهش پایداری غشا می‌شود. با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش به نظر می‌رسد در بین ارقام مورد مطالعه رقم 'شاهانی' با ظرفیت تولید پرولین و فعالیت بیشتر آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش، دارای تحمل بیشتر، رقم'عسگری' تمحل کمتر و ارقام 'قرمز قزوین' و 'یاقوتی سفید' حساس می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، پلی اتیلن گلیکول، تنش آبی، رادیکال فعال اکسیژن،

مقدمه:

خشکی یکی از مهمترین عوامل تنش‌زای محیطی می‌باشد که تأثیرات نامطلوبی بر مراحل مختلف رشد و نمو گیاه دارد (Safarnejad, 2004). تنش آبی به حالتی گفته می‌شود که فشار آماس یا تورم در بافت یا سلول گیاهی کامل نباشد که این موضوع می‌تواند از تعرق بالا و یا کاهش جذب آب از محیط ریشه و یا ترکیبی از هر دوی این عوامل ناشی شده باشد. تنش‌های شوری و خشکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده محیطی هستند که از بسیاری جهات شبیه به یکدیگر عمل می کنند و گیاهان در اکثر مواقع واکنش‌های یکسانی به این تنش‌ها از خود نشان می‌دهند. در اثر بروز هر یک از این تنش‌ها، توانایی جذب آب در گیاه به دلیل کاهش پتانسیل آب داخل گیاه کاهش می‌یابد و گیاه دچار کم آبی و تنش خشکی می گردد. در این شرایط گیاه نیازمند منفی‌تر کردن پتانسیل آب

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: cyrus@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

خود برای افزایش توانایی جذب آب است. منفی تر شدن پتاسیل اسمزی در گیاه با افزایش تجمع ترکیبات اسمزی مانند کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، گلایسین بتائین و سایر مواد با وزن مولکولی کم که مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند امکان پذیر است. این مواد علاوه بر منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی در گیاه باعث ایجاد پایداری غشاء و پروتئین‌ها نیز می گردند (Helal and Abdolaziz, 2008).

از دیگر مشکلاتی که به دنبال انواع تنش از جمله تنش خشکی و شوری در گیاهان ایجاد می‌شود، افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species (ROS)) است که می‌تواند در سطح سلولی باعث ایجاد خسارت گردد. گیاهان برای کاهش اثرات تخریبی این مواد، سنتز آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و برخی آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی دیگر که باعث از بین رفتن و یا تغییر حالت این مواد در سیستم گیاهی می‌شوند را افزایش می‌دهد (Ozden *et al*., 2009).

یکی از تکنیک‌هایی که اهمیت بسیار زیادی در پژوهش های بررسی مقاومت گیاهان به تنش‌های غیر زنده محیطی و آنالیز مکانیزم تحمل تنش در آنها دارد، کشت گیاهان در شرایط درون شیشه ای (*In vitro*) می‌باشد (Sayed Tabatabaei and Omidi, 2009). تکنیک‌های کشت درون شیشه‌ای این امکان را فراهم می‌سازد که با شبیه‌سازی تنش و کنترل سایر عوامل تنش‌زای محیطی که در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای ممکن است بر نتایج آزمایش تأثیر گذار باشند، بتوان شرایط انتخاب، آنالیز و به طور کلی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به تنش ایجاد شده را با دقت بیشتری مورد بررسی قرار داد (Sayed Tabatabaei and Omidi, 2009). به منظور بررسی مکانیسم‌های مقاومت به خشکی چه در شرایط گلخانه‌ای و چه در شرایط درون شیشه ای روش‌های مختلفی از جمله شبیه سازی خشکی با کاربرد کلرید سدیم و مانیتول وجود دارد (شریعت و عصاره، ۱۳۸۵)، ولی در اکثر موارد بافت‌های گیاهی عکس العمل یکنواخت و مناسبی به کاربرد آن ها از خود نشان نمی‌دهند، زیرا این مواد با نفوذ به بافت‌ها، دخالت در تغذیه آنها و ایجاد سمیت در مقادیر بالا، باعث آسیب رسیدن به بافت‌های گیاهی می‌شوند. بنابراین توجه پژوهشگران به سمت استفاده از موادی با وزن مولکولی بالا که دخالتی در تغذیه بافت‌ها ندارند و سمیتی برای گیاه ایجاد نمی‌کنند جلب شده است. یکی از این مواد که در کارهای پژوهشی مورد استفاده قرار می‌گیرد پلی اتیلن گلیکول می‌باشد. این ماده پلی‌مری با وزن مولکولی بالا، جاذب آب و غیریونی است که مصارف زیادی در صنعت، پزشکی و بیوتکنولوژی دارد (Sayed Tabatabaei and Omidi, 2009).

فعالیت‌های پژوهشی بسیاری در ارتباط با بررسی تحمل ارقام مختلف انگور و سایر درختان میوه به شوری و خشکی انجام شده است. برای مثال، Zyl و Kennedy (۱۹۸۳) در شرایط هیدروپونیک قلمه‌های ریشه دار شده انگور را تحت تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول ۴۰۰۰ قرار دادند و با بررسی نتایج حاصل مشخص کردند که ارتباط معکوس معنی داری بین مقاومت روزنه‌ای و میزان تعرق و نیز بین پتانسیل اسمزی محلول و هدایت روزنه‌ای وجود دارد. آزمایشی بر روی آلبالو توسط Sivritep و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از درصدهای مختلف پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون‌شیشه‌ای، انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از پلی اتیلن گلیکول باعث کاهش وزن خشک شاخه، طول شاخه، محتوای آب گیاه و میزان کلروفیل نسبی شد. در مقابل میزان مالون‌دای آلدئید که در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء ایجاد می‌شود و همین‌طور فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان از جمله سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ریداکتاز با افزایش میزان پلی اتیلن گلیکول افزایش پیدا کرد. در یک پژوهش، Singh و همکاران (۲۰۰۰)، مقاومت شش ژنوتیپ مختلف انگور را به شوری در شرایط درون شیشه ای مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از پژوهش آنها نشان داد که میزان کل قندها و پرولین با افزایش سطوح شوری به تدریج افزایش، و میزان کلروفیل کاهش یافت.

با وجود اطلاعات و پژوهش‌های فراوان در مورد بررسی مقاومت به شوری در گیاه انگور، اطلاعات چندانی در رابطه با بررسی مقاومت آن به خشکی در شرایط درون شیشه ای وجود ندارد. در یک پژوهش Dami و Hughes (۱۹۹۷) پلی اتیلن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

گلیکول را به محیط رشد ریزنمونه‌های انگور در انتهای مرحله ریشه دهی اضافه کردند و فاکتورهایی مانند شاخص روزنه‌ای و میزان واکس کوتیکولی را بررسی نمودند. نتایج آزمایش آنها نشان داد تیمار پلی اتیلن گلیکول میزان واکس کوتیکولی گیاهان را نسبت به گیاهان تیمار نشده افزایش داد. همچنین مشخص شد که پلی اتیلن گلیکول تأثیر معنی‌داری بر شاخص روزنه‌ای گیاه ندارد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییرات برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان، میزان پرولین و مالون دای آلدئید در واکنش به تنش خشکی ایجاد شده در شرایط کنترل شده و به دور از سایر عوامل نامطلوب تأثیرگذار و همین‌طور ارزیابی مقاومت به خشکی ارقام مورد مطالعه انگور و شناسایی مقاوم‌ترین رقم بود.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه پژوهشی کشت بافت و ریزازدیادی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان بر روی چهار رقم انگور 'عسگری'، 'کشمشی قرمز قزوین'، 'یاقوتی سفید' و 'شاهانی' به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. به منظور تهیه نمونه گیاهی برای ریشه‌دار کردن در شرایط درون شیشه ای و اعمال تنش کم آبی، ریزقلمه‌هایی (Microcutting) حاوی جوانه انتهایی و چند جوانه جانبی به طول ۱/۵ سانتی‌متر از گیاهان گلدانی موجود در گلخانه تهیه شد. ریز قلمه‌ها ابتدا به مدت یک ساعت در آب جاری قرار داده شد و سپس به مدت ۹۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ و پس از آن به مدت ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به همراه چند قطره توئین ۸۰ ضدعفونی سطحی شد. در ادامه صدعفونی سطحی، ریز نمونه‌ها به محلول هیپوکلریت سدیم ۷٪ به مدت ۷ دقیقه منتقل شد، و زیر جریان هوای استریل ۴-۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. ریزنمونه‌ها بعد از ضدعفونی در محیط ریشه‌زایی که شامل محیط پایه MS (Murashige and Skoog) همراه با ۷٪ میلی گرم در لیتر تنظیم کننده رشد گیاهی ایندول بوتریک اسید بود، کشت شد. پس از استقرار ریز نمونه‌ها، ریشه دهی و رشد مناسب، اعمال تیمارهای کم آبی با استفاده از غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ که پتانسیل‌های اسمزی ۵- و ۵.۲۴- و ۵.۶۵- و۶.۲۴- و ۷.۰۱- بار را با احتساب پتانسیل اسمزی محیط کشت (۵- بار) صورت گرفت. برای جلوگیری از ژله ای شده آگار، پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ با استفاده از تکنیک انتشار (Diffusion based method) به محیط کشت پایه MS اضافه شد (Grima and Kreig, 1992). گیاهچه‌های ریشه‌دار شده انگور با دقت به ظرف‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول منتقل گردید (شکل ۱). ۱۵ روز بعد از اعمال تنش، گیاهان از محیط کشت خارج و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد.

طول شاخه با استفاده از خط کش دقیق برای هر یک از تیمارها اندازه گیری شد. وزن تر شاخه ها بدون برگ مورد اندازه گیری قرار گرفت. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگ (Delta T Scan Image Analyses) اندازه گیری شد. به منظور اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ از روش Cherki و همکاران (۲۰۰۲) استفاده شد. اندازه گیری پرولین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۵) با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد برای استخراج پرولین و ناین هیدرین به عنوان ماده معرف آن انجام شد. غلظت مالون دای آلدئید که فراورده پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء محسوب می شود با استفاده از تیوباربیتوریک اسید به عنوان معرف و بر اساس روش Wang و همکاران (۲۰۰۹) اندازه‌گیری شد.

به منظور تهیه عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۱/. گرم از نمونه گیاهی ذخیره شده در داخل هاون چینی سرد شده با استفاده از ازت مایع آسیاب گردید. نمونه‌ها بلافاصله به داخل ویالهای ۲ میلی لیتری منتقل شده و ۱ میلی لیتر بافر استخراج (بافر فسفات) به آنها اضافه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار در دمای ۴ درجه سانتیگراد و ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ شدند. پس از تهیه عصاره، به بافر واکنش مخصوص اندازه گیری کاتالاز (شامل ۳ میلی لیتر بافر فسفات و ۴/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن)، ۵۰ میکرولیتر عصاره اضافه و فعالیت آنزیم در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه گیری شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]



شکل ۱- مراحل مختلف تهیه ریزنمونه تا انتقال به محیط تیمار

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان از معنی‌دار بودن تأثیر سطوح مختلف خشکی و رقم بر بیشتر فاکتورهای اندازه-گیری شده در سطح احتمال ۱ درصد داشت. به جز محتوای نسبی آب برگ و پرولین که اثر متقابل خشکی و رقم در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی داری بر میانگین آنها داشت. اثر متقابل این دو فاکتور تأثیر معنی داری بر سایر ویژگی‌های اندازه گیری شده نداشت (جدول ۱).

تیمارهای مختلف پلی اتیلن گلیکول باعث کاهش معنی داری در میزان وزن تر شاخه نسبت به شاهد گردید. به گونه‌ای که کمترین میزان وزن تر شاخه در تیمار ۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط کشت به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۵۷/۹ درصد کاهش پیدا کرده بود. ارقام مختلف مورد مطالعه نیز به لحاظ میزان وزن تر اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند. بیشترین این مقادیر مربوط به رقم 'یاقوتی سفید' و کمترین میزان مربوط به رقم 'عسگری' بود (شکل ۲). طول شاخه و سطح برگ نیز تحت تأثیر تیمارهای مختلف پلی اتیلن گلیکول نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری پیدا کردند. درصد کاهش طول شاخه ارقام 'عسگری'، 'قرمز قزوین'، 'یاقوتی سفید' و 'شاهانی' در تیمار ۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط کشت نسبت به شاهدهای خود به ترتیب حدود ۴۹، ۵۸، ۶۳ و ۵۱ درصد و درصد کاهش سطح برگ به ترتیب برابر با ۵۲/۷، ۶۸، ۵۹/۶ و ۵۲/۲ درصد بود (شکل ۳ و ۴). تأثیر تنش خشکی بر کاهش وزن تر و خشک ریشه و شاخه، سطح برگ، طول شاخه و بسیاری دیگر از فاکتورهای مورفولوژیکی در آزمایشات بسیاری بر روی گیاهان زراعی و باغی مانند سیب (Terence and Barrit, 1990)، آلبالو(Sivritep et al 2008) و انگور(Ghaderi *et al*., 2001; Zyl and Kennedy, 1983 ,) گزارش شده است. در آزمایشی که Sivritep و همکاران (۲۰۰۸) بر روی آلبالو در شرایط درون شیشه ای و با استفاده از پلی اتیلن گلیکول انجام دادند مشخص شد که تنش خشکی کاهش طول شاخه و وزن تر و خشک گیاه را باعث می‌شود. تنش کم آبی یکی از فاکتورهای محدود کننده در مراحل ابتدایی رشد و نمو گیاه می‌باشد که تقسیم و طویل شدن سلولی را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنش آبی منجر به بسته شدن روزنه‌ها، کاهش سرعت تعرق، کاهش پتانسیل آب گیاه و جلوگیری از رشد گیاه در اثر عدم توانایی آن در جذب مواد غذایی از محیط رشد می‌شود. در اثر بسته شدن روزنه ها تثبیت کربن فتوسنتزی به شدت کاهش پیدا می‌کند و در نتیجه مواد فتوسنتزی برای تولید ماده خشک در گیاه کاهش می‌یابد و رشد به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Yordanov *et al*., 2003).

آن‌گونه که از نتایج پژوهش حاضر بر می‌آید با افزایش سطوح پلی اتیلن گلیکول محتوای نسبی آب در برگ ها کاهش پیدا کرد، به طوری که در تیمارهای ۷/۰۱- و ۶/۲۴- پتانسیل اسمزی محیط کشت ، کمترین محتوای نسبی آب برگ مشاهده شد. همچنین در بین ارقام مطالعه شده رقم 'عسگری' بیشترین محتوای نسبی آب را نسبت به سایر ارقام داشت. در آخرین سطح تنش (۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط کشت) کاهش در محتوای نسبی آب برگ ارقام 'عسگری'، 'قرمز قزوین'، 'یاقوتی سفید' و 'شاهانی' نسبت به شاهدهای خود به ترتیب ۵/۴، ۱۹/۷، ۱۳/۶ و ۱۴/۶ درصد بود (شکل ۵). نتایج این پژوهش مغایرتی با نتایج حاصل از پژوهش‌های سایر محققان

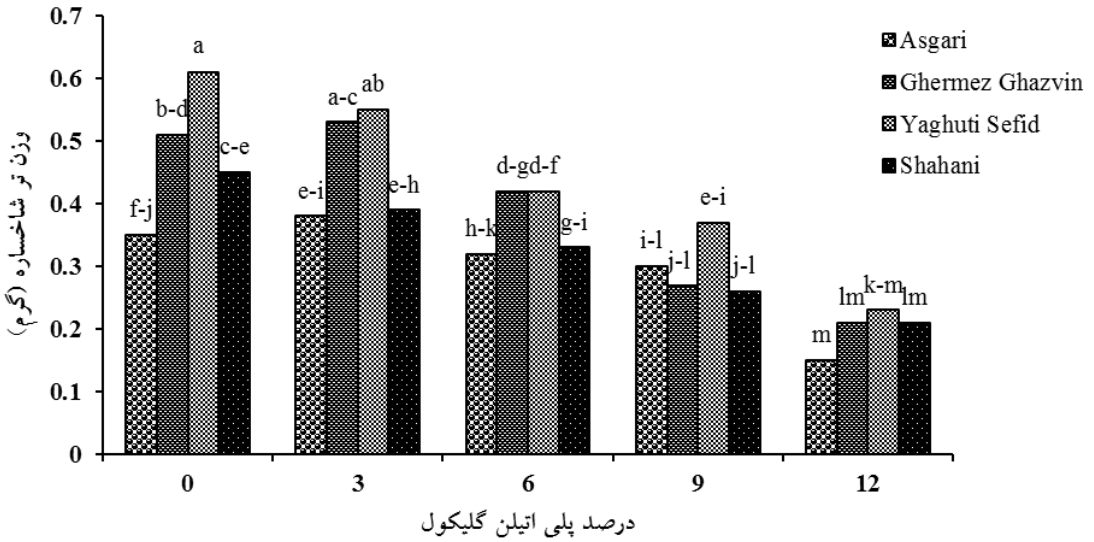
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

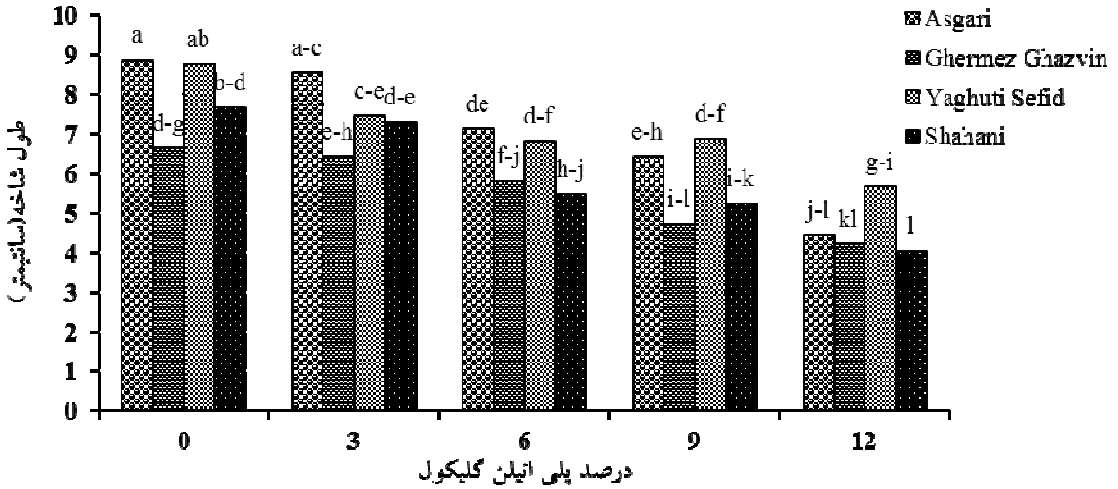
جدول۱- تجزیه واریانس مربوط به شاخص‌های فیزیولوژیک و مرفولوژیک انگور تحت تأثیر تیمار پلی اتیلن گلیکول

منابع تغییرات		میانگین مربعات						
	درجه آزادی	وزن تر شاخه	سطح برگ	طول شاخه	محتوای نسبی آب(%)	پرولین μ mol gr^{-1} FW	مالون دای آلدئید μ mol MDA gr^{-1} FW	کاتالاز Unit gr Fw
رقم	۳	۰/۰۵۶**	۴۳۹/۳۸**	۹/۵۵**	۴۱/۶۷*	۳۸/۷۵**	۰/۵۶۶**	۱۱/۶۲**
خشکی	۴	۰/۱۶۲۸**	۳۹۱۷/۸۳**	۲۱/۶۷**	۳۰۳/۰۱۵**	۳۳۲/۵۹**	۰/۵۵۸**	۱۱/۴۷**
خشکی× رقم	۱۲	۰/۰۰۵۷^{ns}	۷۷/۸۵^{ns}	۰/۶۵^{ns}	۲۸/۳۵*	۴/۸۲*	۰/۰۳۹^{ns}	۰/۵۵^{ns}
خطا	۴۰	۰/۰۰۳۴	۵۷/۸۸	۰/۴۶	۱۲/۶۳	۱/۸۵۲	۰/۰۳	۰/۳۱
ضریب تغییرات(٪)		۱۵/۸۳	۱۴/۲۸	۱۰/۶۶	۴/۱	۲۰/۰۱	۲۴/۸۸	۱۵/۱

** معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد * معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد ns معنی دار نبودن منابع تغییرات

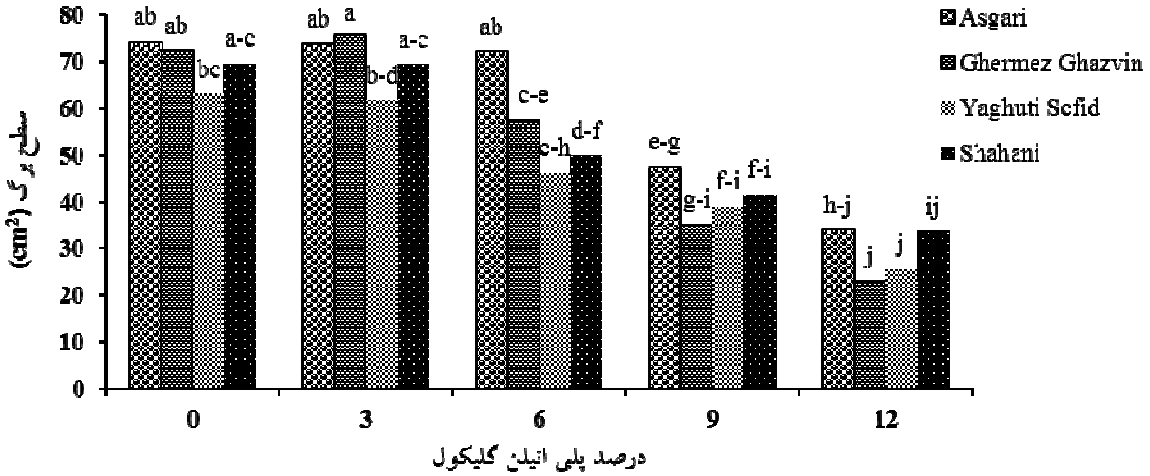


شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر وزن تر شاخه. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

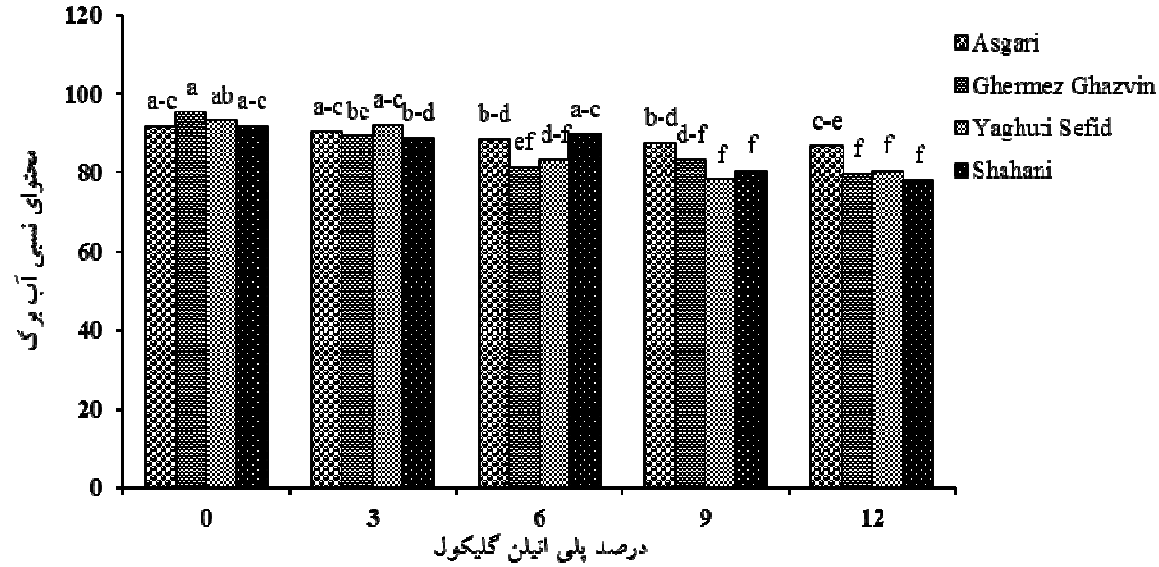


شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر طول شاخه. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]



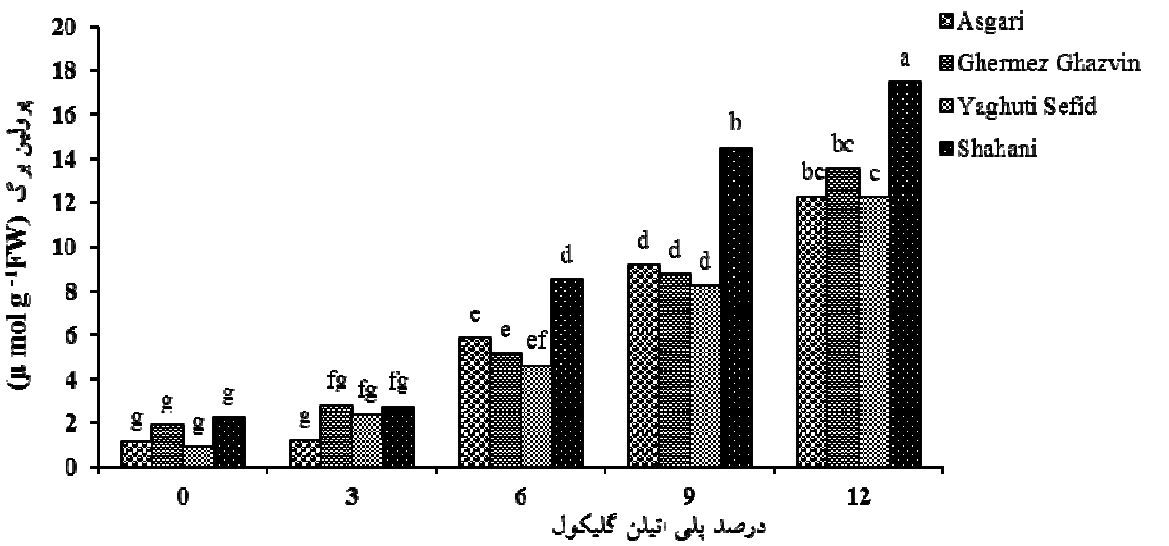
شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر سطح برگ گیاه. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۵- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر محتوی نسبی آب برگ گیاه. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

بر روی کوچیا (Masoumi *et al.*, 2010)، ماتریکاریا (Masoumi *et al.*, 2010)، موز (Mahmood *et al.*, 2012) و پسته (Panahi, 2009) نداشت. در رقم 'قرمز قزوین' که بیشترین کاهش محتوای آب نسبی را نشان داد، محتوای آب برگ از حدود ۹۵ درصد به ۷۹ درصد رسید که در مقایسه با بسیاری از گیاهان باغی مقدار آب بالایی در برگ‌ها را نشان می‌دهد و این می‌تواند معرف گیاه انگور به عنوان یک گونه خوگرفته به شرایط خشک مانند شرایط محل پرورش آنها در ایران باشد. از پارامترهای قابل ارزیابی در رابطه با تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ می‌باشد که همبستگی خوبی با مقاومت به خشکی و تنش‌های اسمزی در گیاهان نشان می‌دهد (Colom and Vazzana, 2003). در اثر انواع تنش‌های اسمزی از جمله تنش شوری و خشکی محتوای نسبی آب برگ‌ها، پتانسیل آب برگ و پتانسیل اسمزی سلول‌ها کاهش پیدا می

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]



شکل ۶- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر میزان پرولین برگ. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

کند که می‌تواند به عنوان شاخصی مهم از وضعیت آبی در گیاه باشد (شریعت و عصاره، ۱۳۸۵). در آزمایشی که Mahmood و همکاران (۲۰۱۲) در شرایط درون شیشه‌ای بر روی موز انجام دادند مشخص شد که استفاده از ۳۰ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت باعث کاهش معنی‌داری در محتوی آب نسبی برگ ها شد. محتوای نسبی آب بالاتر باعث حفظ هدایت روزنه ای و در نتیجه تعرق و فتوسنتز بالاتر در گیاهان می‌شود (Medrano *et al*., 2002). بیشترین محتوای نسبی آب در رقم 'عسگری' نسبت به سایر ارقام می‌تواند دلیلی بر کمترین کاهش ارتفاع (۴۸/۶ درصد) در این رقم باشد. ضمن اینکه در رقم 'عسگری'، کمترین کاهش ارتفاع و سطح برگ به همراه بالاترین مقدار محتوای نسبی آب برگ مشاهده شد و از آن‌جا که خصوصیت گونه‌هایی که به روش اجتناب از خشکی (Dehydration postponement) با این تنش مقابله می‌کنند این است که گیاهان پتانسیل آب و یا فشار تورگر خود را با بستن روزنه ها یا ریزش و کاهش سطح برگ‌ها، کاهش رشد یا با رشد ریشه به قسمت‌های مرطوب خاک بالا نگه می دارند (Saxena, 2003)، می‌توان این فرضیه را مطرح نمود که در این رقم انگور مکانیسم اجتناب از خشکی فعال است. باید توجه داشت که در موارد تنش آبی ملایم یا تنش آبی با دوره های کوتاه این مکانیزم به تنهایی برای حفظ کارایی گیاه کافی است ولی اگر تنش شدیدتر شود مکانیزم اجتناب از کاهش آب به تنهایی از اثرات پتانسیل آب پایین نمی‌تواند حمایت کند و گیاه برای مدت طولانی‌تر قادر نخواهد بود تعادل بین جذب و کاهش آب را حفظ کند. در شرایط تنش شدیدتر گیاهانی که مکانیسم تحمل به خشکی(Dehydration tolerance) را داشته باشند، یعنی از طریق تنظیم سلولی و استحکام غشای سلولی با خشکی مقابله کنند کاراتر هستند (Tripathy *et al*., 2000).

با افزایش تنش اسمزی توسط پلی اتیلن گلیکول میزان پرولین در گیاه انگور افزایش پیدا کرد. به گونه ای که در تیمار ۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط کشت بیشترین میزان پرولین نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. همچنین بین ارقام مختلف مطالعه شده رقم 'شاهانی' بیشترین میانگین میزان پرولین را داشت که با سایر ارقام اختلاف معنی داری نشان می‌داد (شکل۶). اثر متقابل خشکی و رقم در سطح احتمال ۵ درصد بر مقدار پرولین معنی دار بود (جدول ۱). اندازه گیری مقدار پرولین توانست فرایند غربال‌گری ارقام را در سطوح متوسط تنش خشکی(۵/۶۵- پتانسیل اسمزی محیط کشت) آغاز کند و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

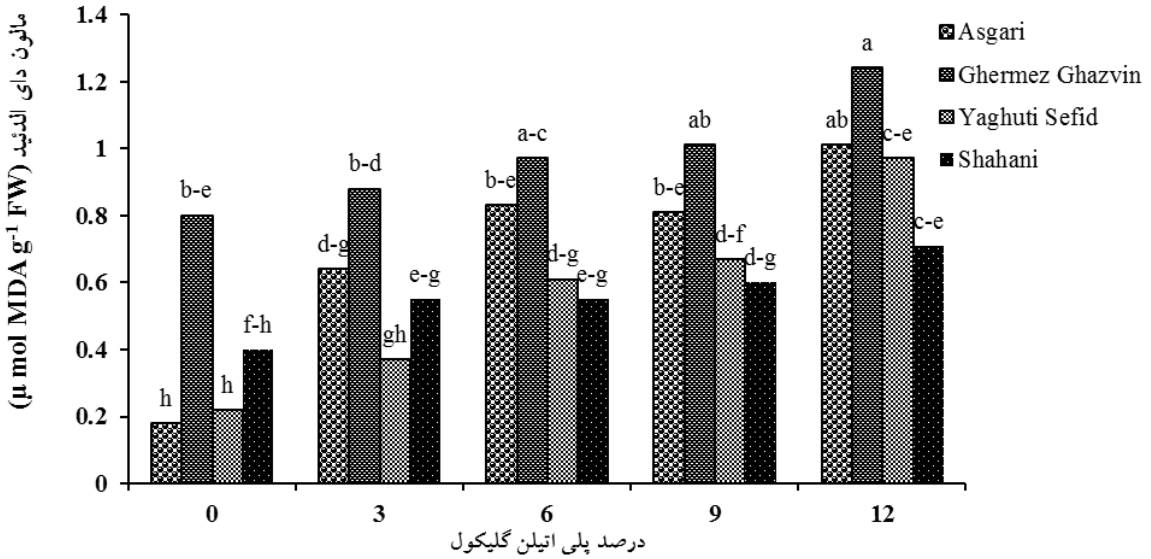
در این سطح تنها در رقم 'شاهانی' افزایش معنی‌داری در مقدار پرولین نسبت به سایر ارقام مشاهده شد. با این حال تفاوت‌ها در مقدار پرولین در این سطح خشکی نسبت به سطح قبلی (۵/۲۴- پتانسیل اسمزی محیط کشت)علاوه بر 'شاهانی' در 'عسگری' و 'قرمز قزوین' هم معنی‌دار بود. افزایش در مقدار پرولین با شدت یافتن تنش خشکی، علاوه بر پژوهش حاضر در مطالعات سایر پژوهشگران بر روی گیاهان مختلف از جمله آلبالو(Sivritep *et al*., 2008)، ذرت(Helal and Abdolaziz, 2008)، جو (Reymond *et al*., 1979) و برنج(wang *et al*., 2009) نیز مشاهده شده بود. یکی ازپاسخ‌های ریزنمونه‌های آلبالو به تنش خشکی محیط کشت، افزایش در مقدار پرولین بود. به طوری که با افزایش مقدار پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت از ۱ درصد به ۴ درصد، مقدار پرولین ۲۵ درصد افزایش یافت (Sivritep *et al*., 2008). کاهش پتانسیل آب آبیاری گیاه ذرت از ۰ به ۲۰- بار سبب شد مقدار پرولین از ۲/۰۲ به ۴/۸۹ میلی مول در گرم وزن تر افزایش یابد. همچنین در رقم مقاوم مقدار افزایش بیشتر از رقم حساس ذرت مشاهده شد (Helal and Abdolaziz, 2008). همانگونه که از نتایج بر می‌آید رقم 'شاهانی' بیشترین میزان پرولین را نسبت به سایر ارقام تولید نموده است و در عین حال دارای کمترین پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌باشد که می‌توان یکی از تأثیرات پرولین را در گیاه اثر بر سلامت غشا دانست. مواد محلول سازگار از جمله پرولین با واکنش‌های عادی بیوشیمیایی سلول تداخل ندارند و به عنوان محافظت کننده اسمزی در طی تنش اسمزی عمل می‌کنند. عمل فیزیولوژیک پرولین، قندها و سایر ترکیبات اسمزی که باعث حفظ پایداری غشاء سلولی می‌شود، به دلیل اثر ممانعت کنندگی آنها از اتصال بین غشاهای مجاور در طول دوره تنش و نگه داری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها و تنظیم ژن و تنظیم اسمزی می‌باشد (شریعت و عصاره، ۱۳۸۵).

با افزایش سطوح خشکی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء افزایش چشمگیری نسبت به شاهد پیدا کرد، به طوری که در بالاترین غلظت پلی اتیلن گلیکول شاهد بالاترین مقدار مالون دای آلدئید بودیم که افزایشی بیش از دو برابر نسبت به تیمار شاهد پیدا کرده بود. بین رقم های مطالعه شده رقم 'قرمز قزوین' بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را داشت. در رقم 'شاهانی' به جز آخرین سطح تیمار خشکی، بین میزان مالون دای آلدئید گیاهان شاهد و سایر سطوح خشکی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و در مجموع کمترین مقدار مالون دای آلدئید را به خود اختصاص داده بود (شکل۷). در گیاهان، غشاهای سلولی اولین مکانهایی هستند که در اثر تنش های محیطی دچار خسارت می‌شوند. گونه های فعال اکسیژن قادر به ایجاد واکنش با اسیدهای چرب اشباع نشده غشاء سلولی هستند (Halliwell, 1999). مالون دای آلدئید ماده تولیدی ثانویه‌ای است که در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء به وجود می‌آید. اندازه‌گیری میزان این ماده در ریشه و برگ یکی از روش‌های معمول برای اندازه گیری میزان خسارت وارده به غشاها در اثر پراکسیداسیون لیپیدها می باشد که پایین بودن میزان آن با افزایش میزان تنش خشکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی نشان از مقاومت بیشتر به این شرایط نامطلوب می‌باشد. در آزمایشی که Mahmood و همکاران (۲۰۱۲) با استفاده از پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون شیشه ای بر روی موز انجام دادند مشخص شد که در شرایط تنش اسمزی مقدار این ماده در برگ های گیاه به میزان زیادی افزایش پیدا می‌کند. آن‌چنان که پیش از این نیز اشاره شد، تولید کمتر ماده مالون دای آلدئید در رقم 'شاهانی' را می‌توان به توانایی سنتز یا تجمع پرولین در این رقم نسبت داد که سبب حفظ سلامت غشا شده است.

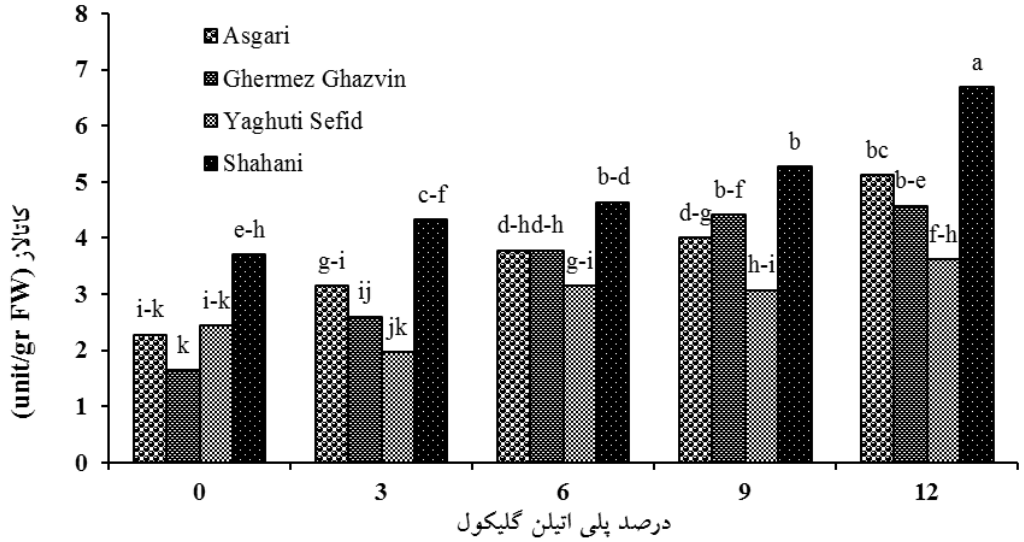
کاتالاز به عنوان یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این پژوهش اندازه‌گیری شد و نتایج اندازه‌گیری آن نشان داد فعالیت کاتالاز تحت تأثیر تیمارهای مختلف پلی اتیلن گلیکول افزایش چشمگیری نسبت به شاهد پیدا کرد. تیمار ۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط کشت افزایش ۹۸ درصدی در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد. همچنین بین ارقام مورد مطالعه رقم 'شاهانی' فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به سایر ارقام داشت و رقم 'یاقوتی سفید' کمترین فعالیت آنزیمی و کمترین نرخ افزایش در فعالیت آنزیم با افزایش میزان تنش به ۷/۰۱- پتانسیل اسمزی محیط را داشت (شکل۸). افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]



شکل ۷- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر میزان مالون دای آلدئید برگ. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.



شکل ۸- تأثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول بر فعالیت آنزیم کاتالاز. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

مختلف دیگر نیز مانند ذرت(Helal and Abdolaziz, 2008)، آلبالو(Sivritep *et al*., 2008)، سیب (Terence and Barrit, 1990) و آفتابگردان (Manivannan 2008) همچون انگور در این پژوهش مشاهده شده است. هنگامی که گیاه تحت تأثیر هر یک از تنش‌های زنده و یا غیر زنده محیطی قرار می‌گیرد رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن به میزان بیشتری در گیاه تولید می‌شوند که این امر موجب آسیب رسیدن به گیاه از طریق آسیب به غشاهای سلولی، اندام‌های تنفسی و فتوسنتزی می‌شود که کاهش فتوسنتز و تنفس و در نهایت کاهش رشد در گیاه را به دنبال خواهد داشت. گیاه با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان باعث کاهش این مواد درون سلول می‌شود (Alscher *et al*., 2002; Sarima and Srivastava, 2002). با بررسی پایه‌های آلبالو در شرایط درون شیشه‌ای تحت تنش خشکی Sivritep و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با افزایش سطوح پلی اتیلن گلیکول محیط کشت از ۰ به ۴ درصد، افزایش پیدا می‌کند علاوه بر این بالاترین فعالیت آنزیمی مربوط به آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز مربوط به تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول بود که به ترتیب افزایشی ۹، ۲/۷ و ۲/۷ برابری نسبت به تیمار شاهد پیدا کرده بودند. وقتی دانهال های خربزه با استفاده از پلی اتیلن گلیکول در معرض پتانسیل های اسمزی ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسگال قرار گرفتند فعالیت آنزیم کاتالاز در آنها از ۲/۲۲ نانومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی گرم پروتئین در تیمار شاهد به ترتیب به ۳/۹۰ و ۴/۳۸ نانومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی گرم پروتئین افزایش یافت. همچنین در این پژوهش مشخص گردید تحمل به خشکی رقم مقاوم‌تر خربزه همبستگی زیادی با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز و افزایش مقدار پرولین دارد که همسو با نتایج پژوهش ما می باشد (Kavas *et al.*, 2013).

نتایج حاصل از ارزیابی صفات در این پژوهش نشان داد که در بین ارقام مورد مطالعه با توجه به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، تولید بیشتر میزان پرولین و میزان کمتر پراکسیداسیون لیپیدها، رقم 'شاهانی' نسبت به سایر ارقام مقاومت بیشتری در برابر تنش اسمزی از خود نشان داد. رقم 'عسگری' بعد از رقم 'شاهانی' مقاومت خوبی از خود نشان داد و دو رقم 'قرمز قزوین' و 'یاقوتی سفید' نیز حساسیت بیشتری به تنش خشکی داشتند. تفاوت در مقاومت دو رقم 'شاهانی' و 'عسگری' می تواند به نحوه پاسخ آنها مربوط باشد به نحوی که رقم 'عسگری' با مکانیسم احتمالی اجتناب از خشکی کارایی کمتری در شرایط تنش شدیدتر داشت. با توجه به تنوع زیاد ژنتیکی انگور، خصوصا در کشور ما پیشنهاد می‌گردد که این پژوهش بر روی سایر ارقام تجاری، پایه‌ها و حتی ژنوتیپ‌های بومی مناطق مختلف صورت پذیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود تاثیر سایر آنزیم‌ها و همچنین اسمولیت های سازگار دیگر به جز پرولین از جمله قندهای محلول و گلایسین بتائین و میزان آنها در گیاه نیز مورد اندازه گیری قرار گیرد. با توجه به تاثیراتی که برخی از عناصر مانند پتاسیم و کلسیم بر بهبود شرایط گیاه در مقابله با تنش خشکی دارند پیشنهاد می‌گردد که میزان این عناصر در بافت‌های مختلف انگور مورد بررسی قرار گیرد.

تشکر و قدردانی:

هزینه اجرای این تحقیق توسط دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین شده است که شایسته تقدیر است.

منابع:

شریعت، ا و عصاره، م. ح. (۱۳۸۵) اثر تنش خشکی بر رنگدانه‌ها، قندهای محلول و ویژگی‌های رشد چهار گونه اکالیپتوس. مجله پژوهش و سازندگی ۷۸: ۱۴۸-۱۳۹.

Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxid dismotade in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331-1341

Bates, L. S., Woldren, R. P. and Teare, I. D. (1975) Rapid deterrmination of free proline for water stress studies. Journal of Plant and Soil 39: 205-207.

Cherki, G. H., Foursy, A. and Fares, K. (2002) Effects of salt stress on growth inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Journal of Envioronmental and Experimental Botany 47: 39-50.

Colom, M. R. and Vazzana, C. (2003) Photosynthesis and PSII functionality of drought-resistant and drought-sensitive weeping lovegrass plants. Journal of Envioronmental and Experimental Botany 49: 135-144.

Dami, I. and Hughes, H. G. (1997) Effect of PEG induced water stress on *in vitro* hardening of Valiant, grape. Plant Cell Tissue and Organ Culture 47: 97-101.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]

content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. Journal of Medicinal Plants Research 5: 2483-2488.

Reymond, E. T., Hanson, A. D. and Nelsen, C. E. (1979) Proline accumulation in water stressed barley leaves in relation to translocation and the nitrogen budget. Plant Physiology 63: 518-523.

Safarnejad, A. (2004) Characterizationof somaclones of *Medicago sativa* L. for drought tolerance. Journal of Agricaltural Science and Technology 6: 121-127.

Sarima, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science 82: 1227-1238.

Saxena, N. P. (2003) Management of Agricultural Drought (Agronomic and Genetic Options). Science Publishers, Inc., New Hampshire.

Sayed Tabatabaei, B. E. and Omidi, M. (2009) Plant Cell and Tissue Culture. Univercity of Tehran Press. Tehran.

Singh, S. K., Sharma, H. S. Datta, S. B. and Singh, S. P. (2000) *In vitro* growth and leaf compsition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. Biologia Plantarum 43: 283-286.

Sivritep, N., Erturk, U. Yarlikaya, C. Turkan, I., Bor, M. and Ozdemir, F. (2008) Response of the cherry rootstock to water stress induced *in vitro*. Biologia Plantarum 52: 573-576.

Terence, L. R. and Barrit, B. H. (1990) Endogenus abscisic acid concenterations, vegetetive growth, and water relation of apple seedling following PEG-induced water stress. Journal of American Society of Horticulture Scencei 115: 991-999.

Tripathy, J. N., Zhang, J. Robin, S. Nguyen, T. H. and Nguyen, H.T. (2000) QTLs for cell membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. Theorical Applied Genetics 100: 197-1202.

wang, F., zeng, B. Sun, Z. and Zhu, C. (2009) Relationship between proline and Hg^{+2} induced oxidative stress in tolerant rice mutant. Archive Environment Contaminant Toxicology 56: 723-731.

Yordanov, I., Velikova, V. and Tsonev, T. (2003) Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgarian Journal of Plant Physiology sp: 187-206.

Zyl, J. L. V. and Kennedy, C. S. (1983) Vine response to water stress induced by polyethylene glycol. South African Journal for Enology and Viticulture 4: 1-5.

Ghaderi, N., Talaie, A. R. Ebadi, A. and Lessani, H. (2001) The physiological response of three Iranian grape cultivars to progressive drought stress. Journal of Agriculture Science and Technology 13: 601-610.

Grima, F. S. and Kreig, D. R. (1992). Osmotic adjustment in sorghum. Plant Physiology 99: 577-582.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defence mechanism frome the beginning to the end. Free Radical Research 31: 261-272.

Helal, R. M. and Abdolaziz, S. M. (2008) Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. Australian Journal of Crop Science 1: 31-36.

Kavas, M., Baloglu, M. C., Akca, O., Kose, F. S. and Gokcay, D. (2013) Efect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. Turkish Journal of Biology 37: 491-498.

Mahmood, M., Shirani-Bidabadi, S. Ghobadi, C. and 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: 161-169.

Manivannan, P., Jaleel, A. Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2008) Osmoregulation and antioxidant metabolism in drought stressed *Helianthus annus* under triadimefon drenching. Comptes Renudus Biologies 331: 418-425.

Masoumi, A., Kafi, M. Khazaei, H. and Davari, K. (2010) Effect of drought stress on water status, electrolyte leakege and enzymatic antioxidants of kochia(*Kochia scoparia*) under salin condition. Pakistan Journal of Botany 42: 3517-3524.

Medrano, H., Escalona, J. M. Gulias, G. and Flexas, J. (2002) Regulation of photosynthesis of C3 plant in response to progressive drought: Stomatal conductance as reference parametr Annual of Botany 889: 595-905.

Ozden, M. U., Demirel, U. and Kahraman, A. (2009) Effect of proline on antioxidant system in leaves of grapevine(*Vitis vinifera* L.) exposed tp oxidative stress by H2O2. Scientia Horticulturae 119 :163-168

Panahi, B. (2009) Effects of osmotic and salt stresses on water relation parameters of pistachio seedlings. Plant Ecophysiology 1: 1-8.

Parizad, A., Shakiba, M. R. Zehtab-Salmasi, S. Mohammadi, S. A. Darvishzadeh, R. and Samadi, A. (2010) Effect of water stress on leaf relative water

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-28]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.11.0]