

مطالعه اثر تنش خشکی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برخی ارقام انگور (*Vitis vinifera* L.)

مجتبی قلی‌زاده^۱، مهدی حدادی‌نژاد (نویسنده مسئول)^{۲*}، علی عبادی^۳، علی محمدی‌ترکاشوند^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، gholizadeh1352@gmail.com

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، m.hadadinejad@sanru.ac.ir

۳- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، aebadi@ut.ac.ir

۴- استاد، گروه علوم باغی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، m.torkashvand54@yahoo.com

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

Studying the effect of drought stress on enzymatic and non-enzymatic antioxidant system of some grape cultivars (*Vitis vinifera* L.)

Mojtaba Gholizadeh¹, Mehdi Hadadinezhad (Corresponding author)^{2*}, Ali Ebadi³, Ali Mohamadi Torkashvand⁴

1- Ph.D Student, Department of Horticultural and Agricultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, gholizadeh1352@gmail.com

2- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran, m.hadadinejad@sanru.ac.ir

3- Professor, Department of Horticultural Science, University of Tehran, Karaj, Iran, aebadi@ut.ac.ir

4- Professor, Department of Horticultural and Agricultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, m.torkashvand54@yahoo.com

Received: March 2024

Accepted: June 2024

Abstract

In order to investigate the effect of drought stress on the enzymatic and non-enzymatic antioxidant system of six grape varieties, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design with three replications under greenhouse conditions. In this experiment, the treatments included six grape varieties (Asgari, Khalili, Yaquti, Pikami, Turkmen 4 and Suzak) and four levels of drought stress (normal conditions (100% of the farm capacity), low stress (75% of the farm capacity), medium stress (50% of the farm capacity) and severe stress treatment (25% of the farm capacity). The results showed that the traits of proline, malondialdehyde, catalase enzymes and ascorbate peroxidase enzymes improved with increasing stress intensity. increased significantly. On the other hand, the content of total phenol decreased significantly with the increase of the intensity of stress. Among the cultivars studied, Yaqouti cultivar is more resistant to drought than other grape cultivars in terms of the studied indices. The highest amount of catalase enzyme activity was recorded in Yaqouti cultivar, so that its catalase enzyme activity at the levels of 75, 50 and 25% of the agricultural capacity increased by 13, 12 and 46% respectively compared to the 100% agricultural capacity. According to the results of this research, it seems that Yaghtuti cultivar is more drought tolerant than other cultivars.

Keywords: Ascorbate-peroxidase, Catalase, Phenol, Proline

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Summer 2024, Vol 19, No 2, Pp 10-21

چکیده

به منظور بررسی مطالعه اثر تنش خشکی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی شش رقم انگور آزمایشی فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تحت شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. در این آزمایش، تیمارها شامل شش رقم انگور (عسگری، خلیلی، یاقوتی، پیکامی، ترکمن ۴ و سوزک) و چهار سطح تنش خشکی ((شرایط نرمال (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه)، تنش کم (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تیمار تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه)) بودند. نتایج نشان داد که صفات پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز با افزایش شدت تنش، به طور معنی‌داری افزایش یافتند. در مقابل، محتوای فنول کل با افزایش شدت تنش، به طور معنی‌داری کاهش یافت. در میان ارقام مورد مطالعه، رقم یاقوتی از حیث شاخص‌های مورد مطالعه نسبت به سایر ارقام انگور، مقاومت بیشتری نسبت به خشکی نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم یاقوتی ثبت شد؛ به گونه‌ای که فعالیت آنزیم کاتالاز آن در سطوح ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب ۱۳، ۱۲ و ۴۶ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد افزایش یافت. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که سامانه تحمل به تنش خشکی در برگ رقم یاقوتی نسبت به ارقام دیگر متحمل‌تر است.

کلمات کلیدی: آسکوربات‌پراکسیداز، پرولین، فنل، کاتالاز

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

تابستان ۱۴۰۳، دوره ۱۹، شماره ۲، صص ۱۰-۲۱

مقدمه و کلیات

نهایت باعث حفظ تورژسانس سلولی می‌شوند (Choudhury et al., 2017). علاوه بر این، ROS سمی تولید شده در طول تنش خشکی می‌تواند از طریق مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی حذف شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، می‌توانند تحت تنش خشکی فعال شوند. اسید اسکوربیک (AsA)، گلوتاتیون (GSH)، توکوفرول و فنولیک‌ها چندین آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی هسته‌ای هستند (Mukarram et al., Hasanuzzaman et al., 2020). سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی تقریباً در تمام سایت‌های اصلی تولیدکننده ROS، مانند کلروپلاست‌ها، میتوکندری‌ها و هسته‌ها وجود دارد و نقشی حیاتی در پاسخ به تنش خشکی ایفا می‌کند (Mukarram et al., 2021). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی هر دو به عنوان سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی متعارف شناخته می‌شوند زیرا به‌طور خاص بر روی یک نوع ROS و مولکول‌های منفرد عمل می‌کنند. توانایی گیاهان در از بین بردن گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن و کاهش اثرات مضر آن‌ها ممکن است با تحمل آن‌ها در برابر تنش خشکی ارتباط داشته باشد (Tsugane et al., 1999). علاوه بر این، گیاهان بسته به شدت و طول دوره تنش، گونه گیاهی و مرحله نموی آن، واکنش‌های متفاوتی در برابر تنش خشکی بروز می‌دهند (Dacosta and Huang, 2007). انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از مهم‌ترین درختان میوه پس از پسته در جایگاه دومین محصول با سطح کشت بالا قرار گرفته است که سهم زیادی در صادرات غیرنفتی کشور ایفا می‌کند. با این حال، قابلیت دسترسی به آب

خشکسالی یکی از مهم‌ترین مشکلاتی است که کشاورزی را در سراسر جهان تهدید می‌کند. تنش خشکی بر جذب مواد مغذی، فتوسنتز، تنفس و متابولیسم انرژی در گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد و در نتیجه رشد، نمو، عملکرد محصول و بهره‌وری گیاهان را کاهش می‌دهد (Mishra et al., 2023). بسته شدن روزنه‌ها طی تنش خشکی معمولاً تثبیت دی‌اکسید کربن را کاهش داده، زنجیره انتقال الکترون را مختل می‌سازد و باعث تولید مقادیر زیادی از گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری می‌شود (Sofa et al., 2004)، اما تولید بیش از حد آن‌ها طی تنش خشکی به بروز تنش اکسایشی در گیاه منجر می‌گردد (Arora et al., 2002). تولید نامتعادل و تخریب گونه‌های اکسیداتیو فعال (ROS)، مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و رادیکال‌های هیدروکسیل (HO)، باعث تجمع بیش از حد ROS تحت تنش خشکی می‌شود (Choudhury et al., 2017). ROS اضافی به‌طور جدی به رنگدانه‌های فتوسنتزی، لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها، مولکول‌های RNA و DNA آسیب می‌زند و منجر به مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی می‌شود (Mukarram et al., 2021). با گذشت زمان، گیاهان استراتژی‌های مختلفی را برای مقابله با کمبود آب و در نتیجه حفظ رشد و نمو ایجاد کرده‌اند. تنظیم اسمزی رایج‌ترین واکنش برای غلبه بر اثرات نامطلوب خشکسالی در نظر گرفته می‌شود. در شرایط خشکی، گیاهان با جذب مقادیر زیادی از املاح فعال اسمزی پتانسیل اسمزی را در سلول‌ها کاهش می‌دهند و در

میزان پرولین، مالون دی آلدئید و همچنین فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز می شود. هدف از این پژوهش، بررسی سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی ژنوتیپ های کاندید انگور در تنش ملایم، متوسط و شدید به منظور شناسایی ژنوتیپ های متحمل تر به خشکی است به طوری که بتوان در برنامه های آینده به نژادی از آن ها استفاده کرد.

فرآیند پژوهش

این پژوهش در خراسان شمالی، شهرستان اسفراین (طول جغرافیایی ۵۶، عرض جغرافیایی ۳۶، ارتفاع از سطح دریا ۱۲۶۰ متر) در محیط گلخانه با میانگین دمای ۲۷-۳۰ درجه سانتی گراد، انجام گرفت. مواد گیاهی شامل (عسگری، خلیلی، یاقوتی، پیکامی، ترکمن ۴ و سوزک) از شرکت کشت و صنعت جوین تهیه و سپس به صورت نهال های ریشه دار یکساله، در گلدان هایی به قطر دهانه ۳۰ سانتی متر قرار گرفتند. برای کشت ارقام، مخلوطی از خاک های رس، ماسه و ماده آلی به ترتیب با نسبت ۱:۱:۲ تهیه شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در فصل تابستان سال ۹۸-۹۹ انجام شد. این مطالعه شامل چهار تیمار آبیاری کامل (رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه)، تنش کم (رطوبت خاک در حد ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه)، تنش متوسط (رطوبت خاک در حد ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تنش شدید (رطوبت خاک در حد ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه) با سه تکرار و در هر تکرار سه واحد آزمایشی (گلدان ۳۰ در ۵۰) اجرا شد. تنش رطوبتی به وسیله وزن کردن روزانه گلدان ها اعمال شد. به طوری که رطوبت گلدان های حاوی تیمار تنش کم در حد ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه،

مهم ترین عامل محدودکننده تولید این محصول در کشور است (اسدی و همکاران، ۱۳۹۶). مطالعات زیادی در مورد تأثیر خشکی در ارقام مختلف انگور گزارش شده است. Sorori و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که سازگاری گیاه انگور به تنش خشکی نتیجه تغییرات در بسیاری از مکانیسم های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی است که باعث تغییر در محتوای پرولین، مواد جامد محلول، سرعت فتوسنتز، فعالیت های آنزیمی و غیره می شود. به طوری که رقم گرمه با بیشترین میزان پراکسیداز و کاتالاز از مقاوم ترین ارقام معرفی گردید. Altinci و Cangi (۲۰۱۹) طی مطالعاتی کاهش صفات رشدی و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان را طی تنش خشکی در ارقام مختلف انگور گزارش کردند. Singh و همکاران (۲۰۰۰) در بررسی ارقام انگور تحت تنش، کاهش میزان کلروفیل و افزایش میزان پرولین و کل قند محلول را با افزایش تنش گزارش کردند. فهمیم و همکاران (۱۴۰۱) گزارش کردند که با افزایش سطح تنش خشکی میزان نشت یونی، مالون دی آلدئید، کل قند محلول، پرولین و میزان فعالیت آنزیم های آنتی-اکسیدان در بیشتر ارقام انگور افزایش معنی داری پیدا کرد. در بررسی تأثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم انگور توسط محسنی فرد و همکاران (۱۳۹۸) مشخص شد که تنش خشکی به طور معنیداری فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش داد. طی تحقیقی توسط مهری و همکاران (۱۳۹۳) مشخص شد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش صفات رشدی و میزان رطوبت نسبی آب برگ و افزایش معنی دار در

تنش متوسط در حدود ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه و تیمار تنش شدید، ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه حفظ شد. همچنین، درصد رطوبت در گلدان‌های بدون تنش در حد ظرفیت مزرعه حفظ شد. قابل ذکر است که برای بدست آوردن میزان آب لازم برای رسیدن به حد ظرفیت مزرعه از رابطه زیر استفاده می‌گردد (Jalili Marandi et al., 2011):

$$100 * \text{وزن خاک خشک شده در آون} / \text{وزن خاک خشک شده در آون} - \text{وزن خاک در ظرفیت مزرعه}$$

در این آزمایش به منظور خارج کردن اثر افزایشی وزن گیاه و کاهش خطا در تنظیم مقدار آب خاک به روش وزنی، از گلدان‌های فاقد گیاه که فقط حاوی خاک آزمایش و هم وزن با گلدان‌های اصلی هستند، استفاده شد تا اختلاف وزنی گلدان‌های فاقد گیاه و حاوی گیاه، مقدار اثر وزن گیاه را از آزمایش خارج کند و مقدار تنظیم رطوبت خاک گلدان‌ها بر اساس روش وزنی باشد. غلظت ترکیبات فنلی طبق روش Zeker و Isfendiyaroglu (۲۰۰۲) تعیین شد بدین صورت که ۰/۱ گرم نمونه برگ با ازت مایع هموژن شده و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص به هر نمونه افزوده شد. بعد از سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه، ۲۵ میکرولیتر عصاره، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵۰ میکرولیتر معرف فولین شیکالتو مخلوط و بعد از ۵ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن افزوده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. در راستای برآورد میزان پرولین، ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳/۳ درصد سائیده و به مدت

۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با ۲ میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص مخلوط گردیده و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به داخل مخلوط آب و یخ منتقل شدند. در این مرحله با افزودن تولوئن به هر یک از لوله‌های آزمایش، میزان جذب نور فاز فوقانی در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Paquin and Lechasseur, 1979). در این مطالعه، میزان مالون دی‌آلدئید به روش Wang و همکاران (۲۰۰۹) تعیین شد (Wang et al., 2009). در این روش ۰/۲ گرم برگ تازه در ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) یک درصد سائیده شده، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۸۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ مجدد به مدت ۵ دقیقه با ۸۰۰۰ دور، جذب در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، ابتدا عصاره‌گیری از نمونه‌ها در یک میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷,۵)، حاوی ۵۰ میلی‌مولار EDTA و پلی‌ونیل‌پیرولیدین یک درصد صورت گرفت (Aebi, 1984). فعالیت آنزیم کاتالاز با روش Aebi (۱۹۸۴) تعیین شد. به طور خلاصه، محلول واکنش حاوی بافر ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷/۴، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه بود. تجزیه آب اکسیژنه یا کاهش جذب طی مدت ۶۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان فعالیت آنزیم از روی میزان تغییرات H₂O₂ تخمین زده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش Ranieri و همکاران

در این آزمایش به منظور خارج کردن اثر افزایشی وزن گیاه و کاهش خطا در تنظیم مقدار آب خاک به روش وزنی، از گلدان‌های فاقد گیاه که فقط حاوی خاک آزمایش و هم وزن با گلدان‌های اصلی هستند، استفاده شد تا اختلاف وزنی گلدان‌های فاقد گیاه و حاوی گیاه، مقدار اثر وزن گیاه را از آزمایش خارج کند و مقدار تنظیم رطوبت خاک گلدان‌ها بر اساس روش وزنی باشد. غلظت ترکیبات فنلی طبق روش Zeker و Isfendiyaroglu (۲۰۰۲) تعیین شد بدین صورت که ۰/۱ گرم نمونه برگ با ازت مایع هموژن شده و ۱ میلی‌لیتر اتانول خالص به هر نمونه افزوده شد. بعد از سانتریفیوژ با ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه، ۲۵ میکرولیتر عصاره، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵۰ میکرولیتر معرف فولین شیکالتو مخلوط و بعد از ۵ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن افزوده شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. در راستای برآورد میزان پرولین، ۰/۵ گرم برگ تازه با ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک ۳/۳ درصد سائیده و به مدت

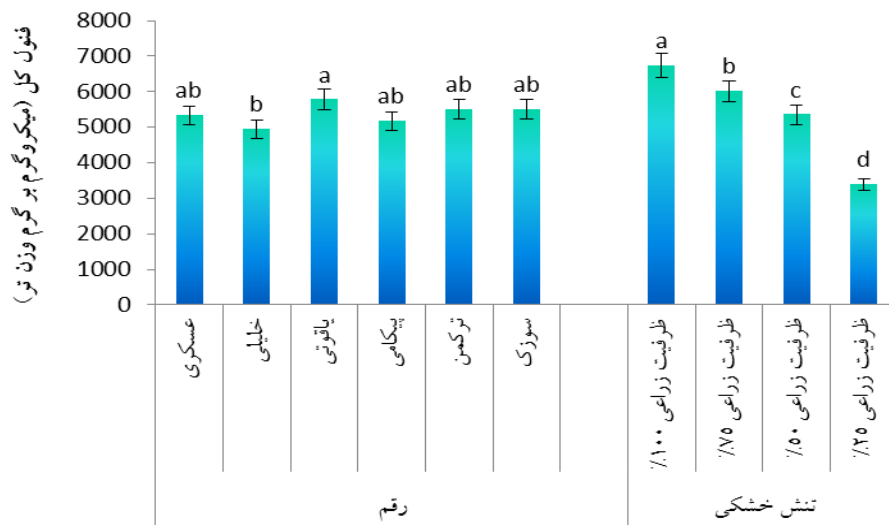
کاهش یافت (شکل ۱). در توافق با مشاهدات پژوهش، Esmailizadeh و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که کاهش آب آبیاری باعث کاهش سطح ترکیبات فنلی و افزایش آب آبیاری باعث افزایش ترکیبات فنلی در ژنوتیپ‌های انگور می‌شود. علت کاهش ترکیبات فنلی تحت شرایط خشکی در این پژوهش احتمالاً ناشی از کاهش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز می‌باشد. آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در واقع آنزیم اصلی درگیر در تولید ترکیبات فنلی می‌باشد که فعالیت آن در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و به خصوص خشکی تغییر می‌کند و به‌عنوان آنتی-اکسیدان عمل نموده و رادیکال‌های آزاد اکسیژن را به دام می‌اندازد. کاهش فعالیت این آنزیم احتمالاً به بیان فاکتورهای رونویسی درگیر در بیان ژن کدکننده آن برمی‌گردد. در توافق با نتایج تحقیق، Haider و همکاران (۲۰۱۷) مشاهده کردند که خشکی باعث کاهش بیان فاکتورهای رونویسی می‌شود که در بیان ژن فنیل آلانین آمونیا لیاز درگیر هستند و کاهش بیان آنها متعاقباً منجر به کاهش بیان فنیل آلانین آمونیا لیاز و کاهش تولید ترکیبات فنلی می‌شود.

(۲۰۰۳) تعیین شد. به‌طور خلاصه، مخلوط واکنش سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵)، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات پراکسیداز براساس اکسیداسیون آسکوربات اسید و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم افزار SAS استفاده شد. همچنین، مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها آشکار ساخت که تغییرات معنی‌دار در محتوای فنول کل در اثر سطوح تنش در سطح پنج درصد وجود دارد. بر اساس مشاهدات حاصل از این مطالعه، با افزایش شدت تنش خشکی از ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ به ظرفیت زراعی ۲۵٪، محتوای فنول کل به‌طور معنی‌داری در ارقام انگور کاهش یافت به‌گونه‌ای که فنول کل تا ۵۰ درصد

مطالعه اثر تنش خشکی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برخی ارقام انگور ۱۵



شکل ۱- میزان فنول کل در ارقام مختلف انگور تحت شرایط آبی متفاوت

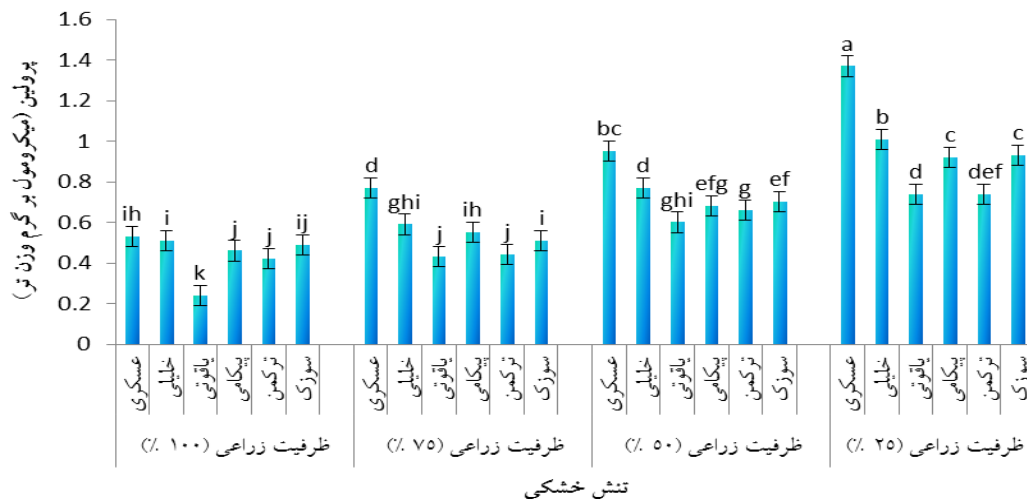
Fig 1- The total phenol in the grape's varieties under different water conditions

اسمولیتی، تعدیل اسمزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این اسمولیت به خشتی کردن رادیکال‌های آزاد، کاهش پتانسیل ردوکس (اکسیداسیون و احیای سلولی) و ثبات ساختاری ریزسلولی در شرایط تنش کمک می‌کند (Beis and Patakas, 2015). طی کمبود آب و مواجه گیاه با آن، آنزیم گلوتامین کیناز جهت تبدیل گلوتامین به پرولین القا شده تا با این رویه علاوه بر حافظت از غشا و لیپید، با تشکیل پیوندهای نوع هیدروژنی با دنباله خطی پروتئین‌ها منجر به پایداری پروتئین‌ها در سلول شوند. هم‌راستا با نتایج پژوهش، فهیم و همکاران (۱۴۰۱) و Esmailizadeh و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که میزان پرولین با وضعیت آبی خاک مزرعه در ژنوتیپ‌های انگور در ارتباط می‌باشد. به‌طور مشابهی، اسدی و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند که با افزایش شدت تنش خشکی بر میزان پرولین افزوده می‌شود و این امر احتمالاً به دلیل افزایش بیان ژن درگیر در سنتز پرولین یعنی گلوتامین کیناز است. علیرغم اینکه رقم یاقوتی از

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها در این آزمایش گویای تغییرات معنی‌دار در محتوای پرولین در اثر ارقام و سطوح تنش در سطح یک درصد و اثر متقابل تنش خشکی و رقم انگور در سطح پنج درصد بود. با افزایش سطح تنش از ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ تا ظرفیت زراعی ۲۵٪، محتوای پرولین به‌طور معنی‌داری در ارقام انگور افزایش پیدا کرد. کمترین میزان محتوای پرولین در سطح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب متعلق به رقم یاقوتی بود. با این حال، بیشترین میزان محتوای پرولین در سطح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب متعلق به رقم عسگری بود. به‌گونه‌ای که محتوای پرولین رقم عسگری در سطوح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب ۴۵، ۸۰ و ۱۵۰ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ (رژیم آبیاری بدون تنش خشکی) افزایش یافت (شکل ۲). طی تنش‌های محیطی مثل خشکی، پرولین به‌عنوان یک ترکیب

این امر را بتوان به بیان کمتر گلوتامین کیناز به واسطه مشارکت کمتر فاکتورهای رونویسی درگیر در بیان گلوتامین کیناز دانست (Bertamini et al., 2006).

حیث شاخص‌های تحمل به خشکی، نسبت به سایر ارقام مورد بررسی در این مطالعه برتر بود، با این حال از میزان پرولین کمتری برخوردار بود که شاید دلیل



شکل ۲- میزان پرولین در ارقام مختلف انگور تحت شرایط آبی متفاوت

Fig 2- The proline content in the grape's varieties under different water conditions

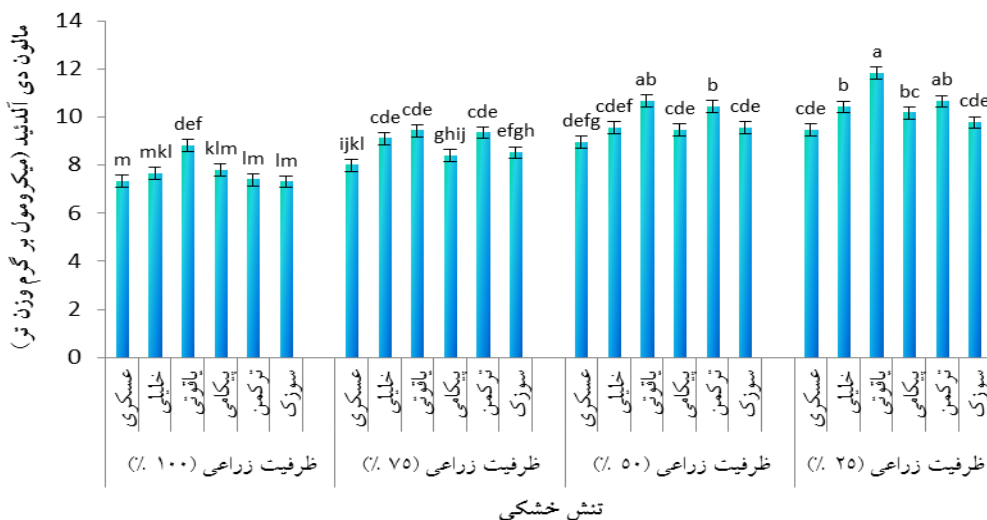
۳۴ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ افزایش یافت (شکل ۳). مالون‌دی‌آلدئید، محصول فرعی حاصل از پراکسیداس یونی لیپیدها در غشای سلولی می‌باشد. غشاء سلولی اولین خسارات را طی خشکی دریافت می‌نماید بدین شکل که اسیدهای چرب اشباع نشده واقع در غشای سلولی به راحتی با گونه‌های فعال اکسیژن آزاد واکنش می‌دهند. محصول نهایی پراکسیداسیون این اسیدهای چرب توسط گونه‌های فعال اکسیژن آزاد، مالون‌دی‌آلدئید خواهد بود. بنابراین، جهت پی بردن به تحمل یا حساسیت ژنوتیپ‌های گیاهی به تنش کم آبی، اندازه گیری مقدار مالون‌دی‌آلدئید می‌تواند به مقدار زیادی تعیین کننده سطح مقاومت باشد (Khochert, 1987). بر مبنای تحقیقات گذشته، تجمع مالون‌دی‌آلدئید در یک رقم گویای حساسیت بالاتر آن به تنش‌های کم آبی است. بالا بودن

یافته‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات معنی‌دار در محتوای مالون‌دی‌آلدئید در اثر ارقام، سطوح تنش و اثر متقابل تنش خشکی و رقم انگور در سطح یک درصد وجود دارد. با افزایش سطح تنش از ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ تا ۲۵٪، محتوای مالون‌دی‌آلدئید به طور معنی‌داری در ارقام انگور افزایش پیدا کرد. مقایسه بین ارقام انگور تحت تنش خشکی نشان داد که کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ متعلق به رقم عسگری بود. با این حال، بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ متعلق به رقم یاقوتی بود. به طوری که محتوای مالون‌دی‌آلدئید رقم یاقوتی در سطوح ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب ۸، ۲۰ و

مطالعه اثر تنش خشکی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برخی ارقام انگور ۱۷

است. با این حال، پژوهشگران دیگر نشان داده‌اند که میزان تولید بتائین گلايسين در رقم یاقوتی بالاست و لذا، این متابولیت می‌تواند به‌عنوان جایگزین پرولین در حفاظت از سلول‌ها عمل کند (سوخت‌سرایي و همکاران، ۱۳۹۶).

مالون‌دی‌آلدئید در رقم یاقوتی می‌تواند به دلیل ظرفیت کمتر آن در سنتز پرولین طی شرایط خشکی باشد که این مشاهدات در پژوهش‌های اسدی و همکاران (۱۳۹۶) و Esmailizadeh و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده



شکل ۳- محتوای مالون‌دی‌آلدئید در ارقام مختلف انگور تحت شرایط آبی متفاوت

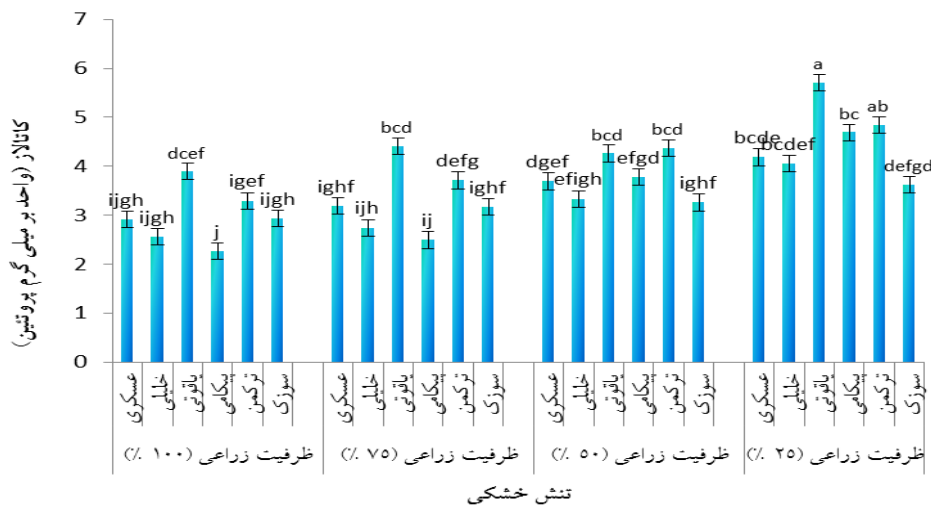
Fig 3- The MDA content in the grape's varieties under different water conditions

ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب ۱۳، ۱۲ و ۶ درصد نسبت به ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ افزایش یافت (شکل ۴). همان گونه که مشاهده می‌شود فعالیت این آنزیم آنتی‌اکسیدانت در تنش شدید خشکی، به‌طور چشم‌گیری در رقم یاقوتی افزایش یافت که نشان از پتانسیل این رقم انگور در مقابله با تولید بالای گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط شدید تنش کم آبی دارد. تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش آشکار ساخت که تغییرات معنی‌دار بر اثر ارقام و سطوح تنش در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح پنج درصد وجود دارد. یافته‌های پژوهش نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی از ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ به ظرفیت زراعی ۲۵٪، فعالیت آنزیم

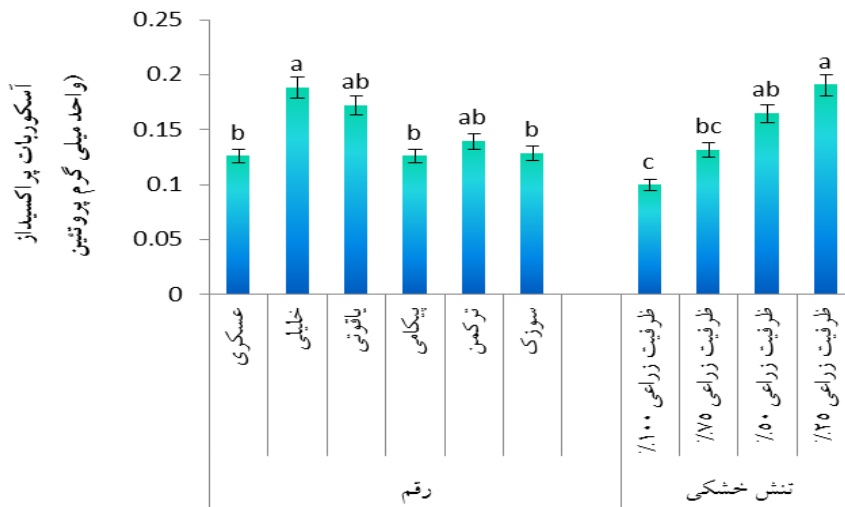
یافته‌های حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات معنی‌دار در فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر ارقام و سطوح تنش در سطح یک و اثر متقابل تنش خشکی و رقم در سطح پنج درصد وجود دارد. با افزایش سطح تنش خشکی از ظرفیت زراعی ۱۰۰٪ (بدون تنش) تا ظرفیت زراعی ۲۵٪ (تنش شدید)، فعالیت آنزیم کاتالاز به‌طور معنی‌داری در ارقام انگور افزایش یافت. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح تنش ظرفیت زراعی ۷۵٪، ظرفیت زراعی ۲۵٪ و ظرفیت زراعی ۲۵٪ به ترتیب متعلق به ارقام پیکامی، سوزک، و سوزک بود. در مقابل، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم یاقوتی ثبت شد به‌گونه‌ای که فعالیت آنزیم کاتالاز آن در سطوح ظرفیت زراعی ۷۵٪،

و همکاران (۱۴۰۱)، اسدی و همکاران (۱۳۹۶)، سوخت‌سرایبی و همکاران (۱۳۹۶) و Esmailizadeh و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است. تمام این محققان علت افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را به افزایش بیان ژن‌های کدکننده آن در سلول نسبت داده‌اند. با توجه به مشاهدات آنها، هر چه فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در یک رقم بیشتر باشد، متعاقباً تنش اکسیداتیو به مقدار بیشتری کاهش می‌یابد که ضامن محافظت از سلول و فعالیت متابولیکی یا سوخت‌وسازی آن می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت کاتالاز در رقم یاقوتی گویای این موضوع است که به احتمال زیاد این رقم تحمل بیشتری به سطح بالای خشکی نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه در این پژوهش دارد. همان گونه که قبلاً ذکر شده، رقم یاقوتی از پایداری غشاء بیشتری نسبت به دیگر ارقام انگور برخوردار است که علت آن می‌تواند به فعالیت بیشتر آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مرتبط باشد.

آسکوربات پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به گونه‌ای که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تا ۵۳ درصد افزایش یافتند (شکل ۴). تنش خشکی موجب بروز تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و تحت چنین شرایطی، انواع اکسیژن فعال تولید می‌شوند (Mhamdi *et al.*, 2010). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS ها) به دلیل تاثیر منفی بر DNA، پروتئین‌ها، چربی‌ها و رنگدانه‌ها، صدمات سلولی زیادی را موجب می‌شوند. در مقابله با این خسارات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و ترکیبات با وزن مولکولی پایین، این توانایی را دارند که بدون آن که خود مورد تغییر قرار گرفته و به مواد مخرب رادیکال تبدیل شوند، ROSها را مهار کنند (Mhamdi *et al.*, 2010). آنزیم‌های تجزیه کننده گونه‌های فعال اکسیژن از جمله کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز از رایج‌ترین مکانیسم‌ها برای سمیت زدایی ROSهای تولید شده در طول تنش هستند (Bertamini *et al.*, 2006). مطابق با یافته‌های پژوهش، افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات-پراکسیداز طی شرایط کمبود آب در انگور توسط فهمیم



مطالعه اثر تنش خشکی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی برخی ارقام انگور ۱۹



شکل ۴- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ارقام مختلف انگور تحت شرایط آبی متفاوت

Fig 4- The antioxidant enzyme activities in the grape's varieties under different water conditions

تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۸: ۹۸-۸۵.

۳) فهمیم، س.، قنبری، ع. ر.، ناجی، ع. م.، شکوهیان، ع. ا. و ح.، ملکی لجایر. ۱۴۰۱. تاثیر تنش خشکی روی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در برخی ارقام انگور ایرانی. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۱(۴۷)، ۲۶۶-۲۴۹.

۴) محسنی فرد، ا.، نجاتیان، م. ع.، حسینی سالکده، ق.، محمدپرست، ب. و ا.، مویدی نژاد. ۱۳۹۸. تأثیر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم انگور. فرآیند و کارکردهای گیاهی، ۳۲: ۳۷۷-۳۹۰.

۵) مهری، ح. ر.، قبادی، س.، بان‌نسب، ب.، احسان زاده، پ و م، غلامی. ۱۳۹۳. بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی چهار رقم انگور ایرانی (*Vitis vinifera* L.) به تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱۰(۳)، ۱۱۵-۱۲۶.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به یافته‌های پژوهش، ژنوتیپ‌هایی که تحت تنش خشکی، دارای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و میزان فنول کل بالاتر می‌باشند، ظرفیت بیشتری در تحمل خشکی دارند. در نتیجه، به نظر می‌رسد که رقم یاقوتی نسبت به سایر ارقام انگور، تنش خشکی را به مراتب بهتر تحمل کند و لذا، برای کشت در مناطق با احتمال تنش خشکی توصیه می‌شود.

منابع

- اسدی و. رسولی م. غلامی م. و م. ملکی. ۱۳۹۶. بررسی برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی چهار رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) در شرایط تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۸(۴): ۹۹۰-۹۹۷.
- سوخت‌سرای، ر.، عبادی، ع.، سلامی، س. ع. و ح.، لسانی. ۱۳۹۶. بررسی شاخص‌های اکسیداتیو در سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.) در شرایط

- 16) Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M.B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S.M., Mahmud, J.A., Fujita, M. and V, Fotopoulos. 2020. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants* (Basel), 9(8): 681.
- 17) Isfendiyaroglu, M. and E, Zeker. 2002. The relation between phenolic compound and seed dormancy in Pistacia spp. In: AKB E (ed.). 11 Grema Serr Pistachios and Almond. *Chieres Optins Mediterraneenes*, 232-277.
- 18) Jalili marandi, R., Hassani, A., Dolati baneh, H., Azizi, H. and R, Haji taghiloo. 2011. Effect of different levels of soil moisture on the morphological and physiological characteristics of three grape cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Horticultural Science*, 42: 31-40.
- 19) Khochert, G. 1987. Carbohydrate determination by phenol- sulphoric acid methods. In: Hellebust J. A. and Garigie J. S. (Eds.) pp. 95-97. *Handbook of Physiological Methods*, Cambridge University Press. UK.
- 20) Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Breusegem, F. and G, Noctor. 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany*, 61(15): 4179-4220.
- 21) Mishra, N., Jiang, Ch., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A. and G, Shen. 2023. Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiersin Plant Science*, 14: 1110622. doi: 10.3389/fpls.2023.1110622.
- 22) Mukarram, M., Choudhary, S., Kurjak, D., Petek, A. and M.M.A, Khan. 2021. Drought: Sensing, signalling, effects and tolerance in higher plants. *Physiology Plant*, 172: 1291-1300.
- 23) Paquin, R. and P, Lechasseur. 1979. Observations sure one method de dosage de la proline libber dens les extra its de plants. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854.
- 6) Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105: 121-126.
- 7) Altinci, N.T. and R, Cangi. 2019. Drought tolerance of some wine grape cultivars under *in vitro* conditions. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University*, 36: 145-151.
- 8) Arora, A., Sairam, R.K. and G.C, Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. *Plant Physiology*, 82: 1227-1237.
- 9) Beis A. and A, Patakas. 2015. Differential physiological and biochemical responses to drought in grapevines subjected to partial root drying and deficit irrigation. *European Journal of Agronomy*, 62: 90-97.
- 10) Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K. and N, Nedunchezian. 2006. Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) plants. *Photosynthetica*, 44: 151-154.
- 11) Choudhury, F.K., Rivero, R.M., Blumwald, E. and R, Mittler. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Physiology Plants*, 90(5): 856-867.
- 12) Dacosta, M. and B, Huang. 2007. Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in responses to drought stress. *Journal of the American Society for Horticultreual Science*, 132: 319-326.
- 13) Esmaeilzadeh, M., Lotfi, A., Mirdehghan, S.H. and M, Shamshiri. 2018. Effects of irrigation intervals on some physiological and biochemical characteristics in four Iranian grapevine cultivars. *Crops Improvement*, 20: 3-14.
- 14) Esmaeilzadeh, M., Lotfi, A., Mirdehghan, S.H. and M, Shamshiri. 2018. Effects of irrigation intervals on some physiological and biochemical characteristics in four Iranian grapevine cultivars. *Crops Improvement*, 20: 3-14.
- 15) Haider, M.S., Zhang, C. and M.M, Kurjogi. 2017. Insights into grapevine defense response against drought as revealed by biochemical, physiological and RNA-Seq analysis. *Scientific reports*, 7: 13134.

- 24) Ranieri, A., Castagna, J., Pacini, B., Baldan, A. and G.F, Mensuali Sodi. 2003. Soldatini Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflowers plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, 54: 2529-2540.
- 25) Singh, S.K., Sharma, H.S., Datta, S.B. and S.P, Singh. 2000. In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia Plantarum*, 43: 283-286.
- 26) Sofo A., Dichio B., xiloyannis, C. and A, Masia. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during rewatering in olive tree. *Plant Science*, 166(2): 293-302.
- 27) Sorori, Sh., Asgharzadeh, A., Marjani, A. and M, Samadi-Kazemi. 2022. Evaluation of Drought Stress Tolerance among some of Grape Cultivars Using Physiological and Biochemical Studies. *Journal of Horticultural Science*, 36(2): 373-388.
- 28) Tsugane, K., Kobayarabidopsis shi, K., Niwa, Y., Ohba, Y., Wada, K. and H, Kobayashi. 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *The Plant Cell*, 11: 1195-1206.
- 29) Wang, F., Zeng, B., Sun, Z. and C, Zhu. 2009. Relationship between prolion and Hg²⁺ induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 56(4): 723-731.