

اثرهای تنش خشکی بر شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی پایه‌های دورگه

سیب^۱

Effects of Drought Stress on Physiological and Biochemical Indices in Hybrid Apple Rootstocks

داریوش آتشکار^{*}، احمد ارشادی، حمید عبدالهی و مهدی طاهری^۲

چکیده

به منظور غربال شماری از پایه‌های دورگه سیب نسبت به تنش خشکی با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی در برگ، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار روی گیاهان گل‌دانی یک ساله ۱۱ نژادگان پایه سیب شامل AR1 تا AR11 به همراه پایه MM111 به عنوان شاهد متحمل، با کاربرد دو سطح آبیاری به میزان ۴۰ و ۸۰٪ آب قابل استفاده در خاک انجام گرفت. در تنش خشکی پایه‌های سیب به لحاظ شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. پایه‌های AR1، AR3، AR5، AR7 با داشتن دستکم یکی از شاخص‌های حساسیت به تنش خشکی، شامل کاهش شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای، کاهش ثبات در رنگدانه‌های فتوسنتزی و به دنبال آن کاهش فلورسنس کلروفیل، افزایش غلظت پرولین و مالون دی آلدئید، نسبت به شرایط آبیاری شاهد به عنوان پایه‌های حساس به خشکی شناسایی شدند. در مقابل، سایر پایه‌های مورد بررسی با بیش‌ترین پایداری فیزیولوژیک و کم‌ترین آسیب به عنوان پایه‌های با تحمل نسبی به تنش خشکی برای مطالعه‌های بعدی انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: پایداری غشاء، پایه رویشی، کاروتنوئیدها، کلروفیل، پرولین.

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های نازیوا است که گیاهان در طول دوران رشد و نمو با آن مواجه می‌شوند (۳۰). بررسی پاسخ گیاهان به تنش خشکی با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیک در بسیاری از پژوهش‌ها به اثبات رسیده است (۳۲). اهداف اصلی اصلاح پایه‌های رویشی سیب، بهبود ویژگی‌های خزانه‌ای، باغی و تحمل به تنش‌های زیوا و نازیوا است (۲۰). شناخت سازوکارهای تحمل برای گزینش پایه‌های سیب متحمل به تنش خشکی اهمیت فراوانی دارد (۳۸). استفاده از نژادگان‌های پاکوتاه بومی و یا نتاج حاصل از آن‌ها می‌تواند سازگاری بهتری با خاک به‌طور عمده خشک مناطق پرورش سیب در ایران داشته باشد (۲). پایه‌های متحمل می‌توانند تحمل به تنش خشکی را به رقم‌های پیوند شده روی آن‌ها انتقال دهند (۲۳). پیوند رقم‌های تجاری سیب روی پایه‌های متحمل به تنش خشکی باعث افزایش تحمل و عملکرد درختان در طول مدت تنش و افزایش کارایی مصرف آب آن‌ها می‌شود (۲۹). تنش خشکی به واسطه کاهش فرایند فتوسنتز، کاهش سطح برگ و

۱- تاریخ پذیرش: ۹۸/۹/۱۶

۲- تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۲۸

۱- به ترتیب دانش‌آموخته دوره دکتری، دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، دانشیار پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری-موسسه تحقیقات علوم باغبانی- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی و دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان-سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (datashkar2002@yahoo.com).

سبزینه آن و در نهایت کاهش تولید ماده خشک، عملکرد گیاه را به شدت کاهش می‌دهد (۳۶). تنش خشکی باعث ایجاد تغییرهایی در رنگدانه‌ها و ترکیب‌های آن‌ها می‌شود (۹). کاهش کلروفیل در شرایط تنش به دلیل افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن اُطی تنش است که باعث پراکسیداسیون این رنگدانه‌ها و در نتیجه تجزیه آن‌ها می‌شود (۱۵). امروزه فلورسانس کلروفیل به عنوان یک معیار سنجش میزان تأثیرگذاری تنش خشکی بر گونه‌های باغی و میزان تحمل آن‌ها به تنش پیشنهاد شده است (۲۵). فلورسانس کلروفیل به عنوان شاخص فعالیت فتوسیستم II شناخته شده است و تنش خشکی آن را زیر تأثیر قرار می‌دهد (۱۰). گزارش شده است با افزایش شدت تنش خشکی، محتوای نسبی آب برگ، شاخص سبزی‌نگی و پایداری غشاء در پایه رویشی M9 کاهش یافت (۱۱) انباشت مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی شده و به دنبال آن نشت یونی افزایش می‌یابد (۴). تنش خشکی (قطع آبیاری به مدت ۶ هفته) در دانهال‌های مرکبات باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها، پرولین، قندهای محلول، مالون‌دی‌آلدئید و کاهش سبزی‌نگی برگ در آن‌ها گردید (۴). میزان کلروفیل در برگ توت‌فرنگی زیر تنش خشکی کاهش یافت و یک روز پس از رفع تنش باز یافت چشمگیری در میزان کلروفیل مشاهده نشد (۷). تأثیر تنش خشکی روی دانهال‌های سیب گونه *Malus micromalus* در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که تنش خشکی در این گونه باعث افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در برگ دانهال‌های سیب گردید که با نفوذپذیری غشاء یاخته‌ای ارتباط مستقیم داشت. کاهش پایداری غشاء یاخته‌ای به دلیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء یاخته‌ای به وسیله رادیکال‌های آزاد سوپراکسید^۲ و هیدروکسیل^۳ اتفاق می‌افتد (۱۹)

هنگامی که پتانسیل آب برگ به زیر حد آستانه لازم برای رشد آن رسیده باشد، انباشت پرولین در گیاه شروع می‌شود و در بالای حد آستانه تغییرهای پرولین اندک است. گزارش شده است که انباشت پرولین به طور کلی وقتی شروع می‌شود که تنش آبی به حدی شدید باشد که رشد متوقف و روزه‌ها بسته شده باشند (۳۴). قندهای محلول گروه دیگری از اسمولیت‌ها^۴ هستند که انباشت آن‌ها با تحمل گیاهان به خشکی در ارتباط می‌باشد (۱۸). در بررسی میزان قندهای محلول در برگ، ساقه و ریشه سیب رقم جاناتان^۵ زیر شرایط تنش خشکی بیش‌ترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول به ترتیب در برگ‌های بالغ، برگ‌های جوان، ساقه و ریشه مشاهده شد (۳۸). هدف پژوهش حاضر بررسی تغییرهای شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی و ارزیابی میزان تحمل به تنش خشکی تعدادی از پایه‌های امیدبخش دورگه سیب بود. قابلیت تکثیر رویشی پایه‌های مورد ارزیابی در پژوهش‌های پیشین به اثبات رسیده است (۲).

مواد و روش‌ها

به منظور غربال تعدادی از پایه‌های دورگه حاصل از برنامه به‌نژادی پایه‌های رویشی سیب در ایران نسبت به تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار روی گیاهان گلدانی یک‌ساله انجام گرفت. به این منظور ۱۱ نژادگان پایه دورگه سیب شامل: AR1, AR2, AR3, AR4, AR5, AR6, AR7, AR8, AR9, AR10 و AR11 و پایه رویشی MM11 به عنوان شاهد (جدول ۱) مورد استفاده قرار گرفتند. در دی‌ماه سال ۱۳۹۶، قلمه‌هایی به طول ۲۵ سانتی‌متر از پایه‌های مختلف تهیه و پس از تیمار هورمونی ایندول بوتیریک اسید^۶ با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و در بستر پرلایت مجهز به پاگرما با دمای ۲۱ درجه سلسیوس ریشه‌دار شدند. قلمه‌های ریشه‌دار شده به گلدان‌های ۴ لیتری با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر حاوی ترکیب خاکی سبک (خاک‌برگ، خاک، ماسه‌بادی و پیت ماس به نسبت حجمی (۱:۱:۱)) انتقال داده شد. پس از سه ماه رشد گیاهان در شرایط رشدی مطلوب، اعمال تنش رطوبتی با دو تیمار ۴۰٪ (تنش شدید) و ۸۰٪ آب در دسترس خاک (بدون تنش) آغاز شد. بدین صورت که ابتدا در آزمایشگاه تحقیقات خاک و آب، درصد رطوبت خاک در

شرایط ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی خاک تعیین و رطوبت وزنی خاک در شرایط ۴۰٪ و ۸۰٪ آب در دسترس خاک محاسبه شد. با محاسبه مقدار وزنی آب گلدان‌ها در شرایط ۴۰٪ و ۸۰٪ آب در دسترس خاک، وزن کل گلدان‌ها در هر یک از این تیمارها با ملاحظه وزن گلدان و نهال داخل آن تعیین شد. گلدان‌ها به صورت منظم توزین شده و منطبق با کاهش وزن آن‌ها، مقدار آب لازم افزوده شد تا محتوی آب در خاک گلدان‌ها در تیمارهای مختلف ثابت باقی بماند. اعمال تنش خشکی از میانه تیرماه آغاز و به مدت ۲ ماه به طول انجامید و در اواسط دوره تنش خشکی، غلظت مالون‌دی‌آلدئید، پرولین برگ، قندهای محلول کل و پروتئین‌های محلول اندازه‌گیری شد. همچنین شاخص فلورسانس کلروفیل (F_v/F_m) در بازه زمانی ساعت ۹ تا ۱۱ صبح اندازه‌گیری شد. برای این منظور پس از پوشاندن سطح برگ با فویل آلومینیومی به مدت نیم ساعت، میزان فلورسانس مینا (F_0)، فلورسانس بیشینه (F_m) و فلورسانس متغیر ($F_v = F_m - F_0$) با استفاده از دستگاه فلوئورومتر (مدل OS-30P) خوانده شد.

جدول ۱- نژادگان پایه‌های سیب مورد مطالعه و والدین آن‌ها.

Table 1. Genotype of studied apple rootstocks and their parents.

شجره‌نامه Pedigree	والدین Parents	نژادگان پایه Rootstock genotype
حاصل گرده افشانی آزاد آرایش Obtained from open pollination of Azayesh genotype	AZ _{OP}	AR1
حاصل گرده افشانی آزاد آرایش Obtained from open pollination of Azayesh genotype	AZ _{OP}	AR2
حاصل گرده افشانی آزاد پایه رویشی M9 Obtained from open pollination of M9 rootstock	M9 _{OP}	AR3
حاصل گرده افشانی آزاد پایه رویشی M9 Obtained from open pollination of M9 rootstock	M9 _{OP}	AR4
دورگه بین نژادگان آرایش و پایه رویشی M9 Hybrid between Azayesh genotype and M9	M9×AZ	AR5
دورگه بین آرایش و پایه رویشی M9 Hybrid between Azayesh genotype and M9	AZ×M9	AR6
دورگه بین آرایش و پایه رویشی B9 Hybrid between Azayesh genotype and B9	AZ×B9	AR7
دورگه بین آرایش و پایه رویشی B9 Hybrid between Azayesh genotype and B9	AZ×B9	AR8
دورگه بین آرایش و پایه رویشی M27 Hybrid between Azayesh genotype and M27	AZ×M27	AR9
دورگه بین آرایش و پایه رویشی M27 Hybrid between Azayesh genotype and M27	AZ×M27	AR10
دورگه بین نژادگان مربایی و پایه رویشی M27 Hybrid between Morabae genotype and M9	Morabaei×M9	AR11
دورگه بین نورثرن اسپای و پایه رویشی Merton793 Hybrid between Northrn spy and Merton793	Northern spy×Merton793	MM111

شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای بر اساس روش Sairam و همکاران (۲۸) محاسبه شد، بر این اساس مقدار ۰/۱ گرم از نواحی مشابه برگ در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شد. این نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰

درجه سلسیوس (C_1) درون حمام آب گرم قرار داده شد و سپس هدایت الکتریکی (EC) آن توسط دستگاه EC متر Walk lab (مدل TRANS INSTRUMENTS) خوانده شد، سپس این نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شده و هدایت الکتریکی آن‌ها اندازه‌گیری شد (C_2). شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای بر اساس رابطه $[1 - (C_1/C_2)] \times 100$ = شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای (MSI) محاسبه شد.

کلروفیل و کاروتنوئیدهای برگ بر اساس روش Lichtenthaler و Buschman (۲۲) اندازه‌گیری شد. میزان جذب نور توسط عصاره استخراج شده با اسپکتروفتومتر (مدل BRITE) در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر تعیین گردید و غلظت کلروفیل از رابطه‌های زیر به دست آمد. در این رابطه‌ها، V حجم نمونه استخراج شده و w وزن تر نمونه است.

$$(1) \quad \text{در هر گرم وزن تر برگ} \quad \times v / (1000 \times w) \quad \text{[جذب در ۶۴۵ نانومتر (۲/۶۹ - جذب در ۶۶۳ نانومتر (۱۲/۷ = میلی گرم کلروفیل a}$$

$$(2) \quad \text{در هر گرم وزن تر برگ} \quad \times v / (1000 \times w) \quad \text{[جذب در ۶۶۳ نانومتر (۴/۶۹ - جذب در ۶۴۵ نانومتر (۲۲/۹ = میلی گرم کلروفیل b}$$

$$(3) \quad \text{در هر گرم وزن تر برگ} \quad \times v / (1000 \times w) \quad \text{[جذب در ۶۶۳ نانومتر (۸/۰۲ + جذب در ۶۴۵ نانومتر (۲۰/۲ = میلی گرم کلروفیل a}$$

$$(4) \quad \text{در هر گرم وزن تر برگ} \quad \times v / (1000 \times w) \quad \text{[جذب در ۴۷۰ نانومتر (۲/۲۷chl a - ۸۱/۴ chl b) / ۲۲۷ = میلی گرم کاروتنوئیدها در هر گرم وزن}$$

غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) بر اساس روش Heath و Packer (۱۷) به عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر (A_{532}) خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز رنگ تری کلرواستیک اسید- تیوباربیتریک اسید است. جذب بقیه رنگدانه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر (A_{600}) تعیین و از این مقدار کم شد. برای محاسبه غلظت مالون‌دی‌آلدئید از ضریب خاموشی ۱۵۵ استفاده گردید و نتیجه‌های حاصل از اندازه‌گیری برحسب نانومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

$$(5) \quad \text{غلظت مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)} \quad = (A_{532} - A_{600}) / 155 \times 1000$$

تهیه عصاره و اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ به روش Bates و همکاران (۱۰) انجام شد و میزان پرولین نمونه‌های برگ بر حسب میکرومول در گرم وزن تر برگ بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{حجم عصاره (میلی لیتر) } \times \text{ پرولین عصاره (میکرومول در میلی لیتر)} = \text{پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر برگ)} \\ 115/5 \text{ (میکروگرم در میکرومول)}$$

در رابطه بالا، عدد ۱۱۵/۵ وزن مولکولی پرولین می‌باشد.

پروتئین‌های محلول

برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول در گیاه از روش Bradford (۱۲) استفاده شد. بدین منظور ۳ میلی لیتر از معرف برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آلبومین گاوی تهیه شده (به طور جداگانه غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۹۰ میکروگرم بر میلی لیتر) به همراه محلول شاهد با آب مقطر خالص برای کالیبره کردن و رسم منحنی استاندارد با دستگاه طیف سنج به کار برده شد. پس از رسم منحنی استاندارد و به دست آوردن فرمول خط مربوطه، برای تعیین غلظت پروتئین عصاره به دست آمده در آزمایش‌ها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر عصاره هر نمونه به اضافه ۹۰۰ میکرولیتر آب مقطر با ۳ میلی لیتر معرف برادفورد در یک لوله آزمایش کوچک مخلوط شد و در مجموع ۴ میلی لیتر در کووت ریخته شد، سپس به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. با قرار دادن اعداد به دست آمده در فرمول خط استاندارد، غلظت پروتئین‌های محلول تعیین گردید.

کربوهیدرات‌های محلول

استخراج و اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ به روش Busse و Merckx (۱۳) انجام شد. برای این منظور، ابتدا ۰/۳ گرم از بافت برگ تر با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون چینی ساییده شد. از نمونه‌ها دو فاز جامد و مایع به دقت جدا و از بخش بالایی فاز مایع پس از سانتریفیوژ مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون تر تهیه شده مخلوط گردید. این محلول ده دقیقه در داخل بن ماری ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا واکنش رنگی انجام شود. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب نور آن‌ها با اسپکتروفتومتر (مدل CARY-100, Varian) در طول موج ۶۲۵ نانومتر و با استفاده از آب مقطر به‌عنوان شاهد خوانده شد و مقدار قندهای محلول بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{وزن نمونه (گرم)} \times \frac{180}{16} \times (\text{میلی‌گرم در میلی‌مول}) = \text{رم وزن تر برگ}$$

$$\frac{\text{حجم عصاره (میلی‌لیتر)} \times \text{قند عصاره (میلی‌گرم در لیتر)}}{\text{وزن نمونه (گرم)}} \times \frac{180}{16} \times (\text{میلی‌گرم در میلی‌مول})$$

واکاوی داده‌ها

نتیجه‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش به کمک نرم افزار SAS-9.1 تجزیه آماری و مقایسه میانگین اثر تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج و بحث

فلورسانس کلروفیل (FV/ FM)

تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد شاخص فلورسانس کلروفیل به‌عنوان نتیجه فعالیت کوانتومی کلروفیل، در سطح احتمال آماری یک درصد زیر تأثیر تنش خشکی قرار گرفت، اما نوع پایه و برهمکنش پایه با تنش خشکی بدون اثر معنی‌دار بود. بررسی اثر سطوح فاکتورهای آزمایشی نشان داد میانگین شاخص فلورسانس کلروفیل پایه‌ها زیر تأثیر تنش خشکی به‌صورت معنی‌دار از ۰/۸۱۶ به ۰/۸۰۵ کاهش یافت (جدول ۲). بیش‌ترین مقدار این شاخص در شرایط آبیاری شاهد و تنش خشکی به ترتیب مربوط به پایه AR8 (۰/۸۲۴) و AR11 (۰/۸۱۷)، و کم‌ترین مقدار آن در شرایط آبیاری شاهد و تنش خشکی به ترتیب متعلق به پایه‌های AR2 (۰/۸۰۸) و AR3 (۰/۷۹۸) بود. از نظر آماری، کاهش شاخص فلورسانس کلروفیل زیر تأثیر تنش خشکی در هیچ کدام از پایه‌ها به استثنای AR3 معنی‌دار نبود (شکل ۱-A). تنش خشکی، ظرفیت پذیرش و انتقال الکترون را کاهش داده، در نتیجه سیستم به‌سرعت به F_m می‌رسد که نتیجه آن کاهش فلورسانس متغیر ($F_v = F_m - F_0$) و کاهش فتوسنتز خواهد شد. در آزمایشی دیگر نتیجه‌ها نشان داد که پایه AR3 زیر شرایط تنش خشکی دارای کم‌ترین تبادلهای روزنه‌ای، تعرق و فتوسنتز بود (۱). بررسی تأثیر ترکیب‌های ضد تعرقی شامل ABA و کائولین روی رقم‌های گرانی اسمیت و رویال گالا^۲، پیوند شده بر پایه روشی MM106 زیر شرایط تنش خشکی نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و فلورسانس کلروفیل در برگ رقم‌های سیب گردید، اما ترکیب‌های ضد تعرقی تأثیری بر پارامترهای فیزیولوژیکی برگ نداشتند (۲۴). تنش خشکی در گیاه جو شاخص‌های فلورسانس کلروفیل یا کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم II را به دلیل افزایش فلورسانس مبدأ و کاهش فلورسانس بیشینه کاهش داد (۹). در پژوهشی دیگر اثر تنش خشکی بر پارامترهای فیزیولوژیک شامل: فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، تعرق، فلورسانس کلروفیل و روابط آبی در پایه‌های روشی مختلف سیب گردید، نتیجه‌های به‌دست‌آمده نشان داد اختلاف معنی‌داری در فلورسانس کلروفیل به‌عنوان شاخص فیزیولوژیک بین پایه‌های روشی سیب گردید تنش خشکی وجود نداشت (۱).

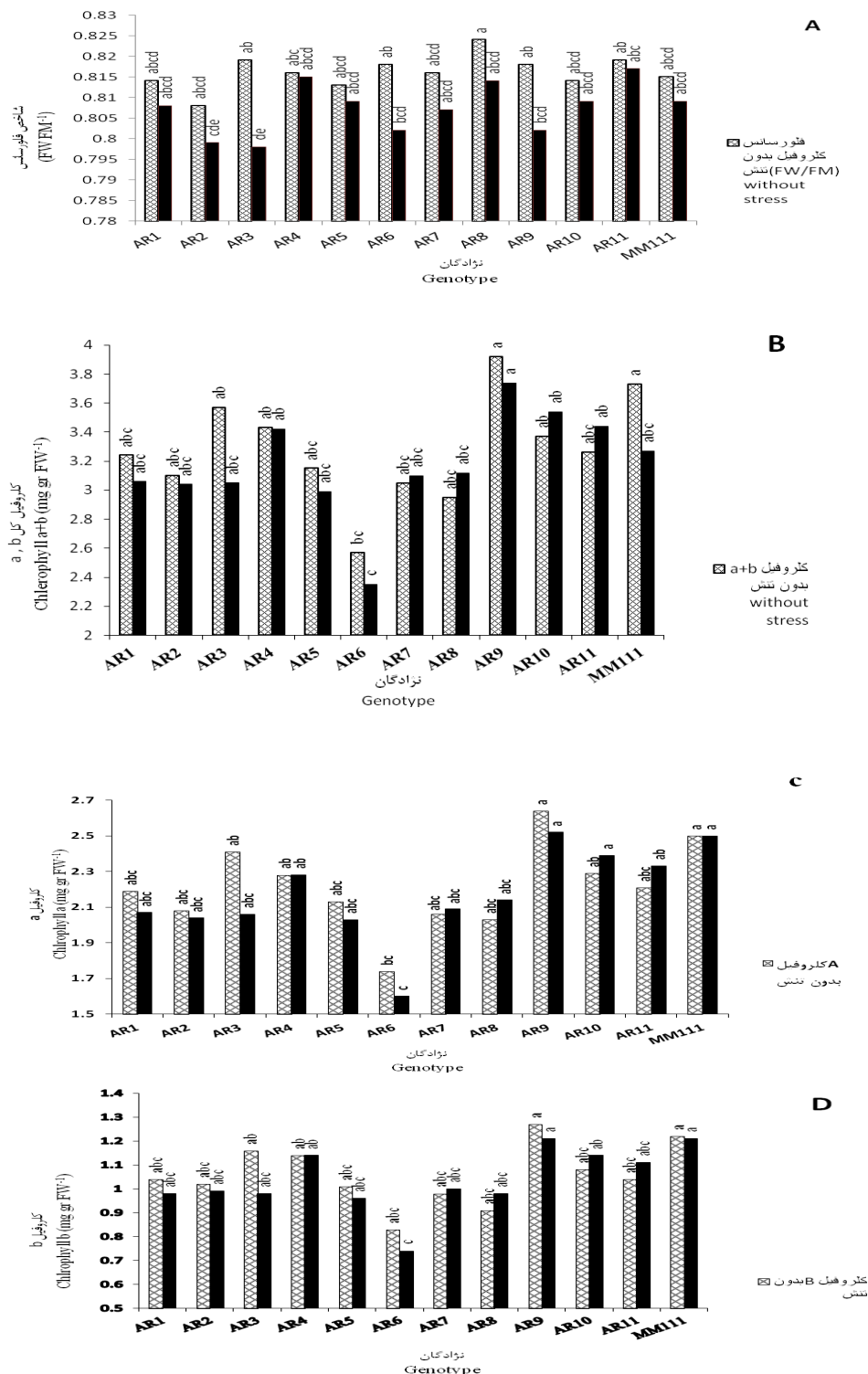


Fig. 1. Comparison of chlorophyll florescence (A), total Chl (a+b) (B), Chl a (C) and Chl b (D) in different apple rootstocks under control and drought stress conditions. Means followed by different letters in columns indicate significant differences by Duncan test at 5% probability.

شکل ۱- مقایسه شاخص فلورسانس کلروفیل (A) میزان کلروفیل کل (B)، کلروفیل a (C)، کلروفیل b (D) در پایه‌های مختلف سیب زیر شرایط تنش خشکی و آبیاری شاهد. میانگین‌های با حرف‌های مختلف در ستون‌ها نشان دهنده اختلاف آماری در سطح ۵٪ آزمون دانکن هستند.

کلروفیل a و b و کلروفیل کل

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، اثر پایه و تنش خشکی بر شاخص‌های غلظت کلروفیل a ، b و کلروفیل کل ($a+b$) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما، برهمکنش فاکتورهای بیان‌شده بر هیچ کدام از این معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد، پایه‌های AR9 و MM111 به ترتیب با ۲/۶۴ و ۲/۵۴ و ۲/۰۸ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ دارای بیشترین غلظت کلروفیل a و پایه AR6 با ۱/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ دارای کمترین غلظت کلروفیل a بودند و پایه‌های دیگر حد میانه و بدون تفاوت آماری بودند. همچنین، مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش خشکی بیانگر کاهش معنی دار شاخص گفته شده زیر تاثیر تنش بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد پایه MM111 با ۱/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بیشترین غلظت کلروفیل b را دارا بود و از این نظر تفاوت معنی داری بین پایه MM111 و پایه‌های AR9 و AR4 وجود نداشت، اما مقدار این شاخص در سایر پایه‌ها به صورت معنی داری کمتر از MM111 بود. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش خشکی نیز بیانگر کاهش معنی دار شاخص کلروفیل b زیر تاثیر تنش بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد پایه MM111 با ۳/۹۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بیشترین غلظت کلروفیل کل را دارا بود و از این نظر تفاوت معنی داری بین پایه گفته شده و پایه‌های AR9، AR10، AR4 و AR11 وجود نداشت، اما مقدار این شاخص در سایر پایه‌ها به صورت معنی داری کمتر از MM111 بود. از نظر آماری، پایه AR6 با ۲/۴۶ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ کمترین مقدار کلروفیل کل را دارا بود. همچنین، مقایسه میانگین‌های سطوح تنش نشان داد که خشکی به صورت معنی داری سبب کاهش شاخص کلروفیل کل شد (جدول ۲).

از نظر آماری، غلظت کلروفیل a ، b و کلروفیل کل در هیچ کدام از پایه‌ها زیر تاثیر تنش قرار نگرفت، هرچند با کاهش یا افزایش در شماری از پایه‌ها همراه بود. پایه AR6 کمترین میزان شاخص کلروفیل را در میان پایه‌های تنش دیده دارا بود که در برخی موارد تفاوت‌های موجود معنی دار بود (شکل ۱-B، ۱-C و ۱-D). کلروفیل یکی از ترکیب‌های اصلی کلروپلاست است که در فرایند فتوسنتز دخیل است. محتوی نسبی کلروفیل برگ‌های گیاه در ارتباط با میزان فتوسنتز آن بوده و به احتمال حفظ محتوای بالای کلروفیل و بالا بودن شاخص سبزیگی موجب حفظ عملکرد زیر شرایط تنش خشکی می شود. دلایل متعددی برای کاهش محتوی کلروفیل زیر شرایط تنش خشکی ارائه شده است. از دست رفتن آب بافت‌های برگ نه تنها مانع ساخته شدن کلروفیل می شود بلکه به نظر می رسد که تخریب کلروفیل را هم باعث شود (۲۸). در پژوهشی گزارش شد تنش خشکی باعث کاهش شاخص سبزیگی پایه‌های رویشی سیب M9 و گلابی MA به ترتیب به میزان ۴۶ و ۵۱٪ گردید (۱۱).

نتیجه‌های مشابهی در مورد کاهش شاخص سبزیگی زیر شرایط تنش خشکی شدید در پایه‌های رویشی سیب (۹) و نیز مرکبات (۱۶) گزارش شده است. افزایش محتوای کلروفیل زیر تاثیر تنش خشکی نیز در برخی گیاهان دیگر گزارش شده است که آن را به دلیل کاهش رشد یاخته‌ای و افزایش تراکم کلروپلاست در واحد یاخته‌ای می دانند. در شرایط تنش خشکی ملایم توت‌فرنگی رقم گاوپوتامیزان کلروفیل بیشتری داشت (۷). همچنین، گزارش شده است که زیر تنش ملایم میزان کلروفیل a ، b و کلروفیل کل در نهال‌های هلو (۳۳) و آفتابگردان (۲۶) افزایش یافت.

کاروتنوئیدها

در این پژوهش، غلظت کاروتنوئیدها زیر تأثیر پایه و تنش خشکی قرار گرفت، اما برهمکنش آن‌ها معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد بیش‌ترین میزان کاروتنوئیدها، در پایه AR7 با $0/363$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کم‌ترین آن در پایه AR6 با $0/210$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ ثبت گردید. همچنین، مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش نشان داد خشکی سبب کاهش معنی‌دار میانگین غلظت کاروتنوئیدها $0/300$ به $0/170$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر شد (جدول ۲). از نظر آماری، غلظت کاروتنوئیدها در پایه‌های مختلف مشابه بود و هیچ کدام زیر تأثیر تنش خشکی قرار نگرفتند. در شرایط آبیاری شاهد، بیش‌ترین غلظت متعلق به پایه AR7 بود که به صورت استثنا به صورت معنی‌داری بیش‌تر از پایه AR6 بود. مقدار این شاخص در همه پایه‌های تنش دیده مشابه بود (شکل ۲-A). افزایش غلظت کاروتنوئیدها در برخی از پایه‌ها در شرایط تنش خشکی به نظر می‌رسد نوعی سازوکار تحمل در برابر تنش خشکی باشد. کاروتنوئیدها از ترکیب‌های دفاعی با نقش آنتی‌اکسیدانی هستند که در شرایط تنش، اثرهای مضر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن را خنثی می‌سازند به همین دلیل کاروتنوئیدها می‌توانند نشانگرهای خوبی برای ارزیابی تحمل به تنش خشکی باشند (۳۲). در پژوهشی که با هدف بررسی اثر تنش خشکی بر تغییرهای زیست‌شیمیایی دو رقم سیب جوناگلد^۲ و الستار^۳ روی پایه M9 انجام شد، غلظت کاروتنوئیدهای کل در برگ‌های درختان زیر تنش تفاوت معنی‌داری با برگ درختان شاهد نداشت. اما غلظت زئوزانتین^۴ در هر دو رقم سیب در اثر تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش یافت (۳۲). تنش خشکی در دانه‌های نارنج، نسبت به دانه‌های بکرایی، رافلمون و لیموترش، باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها و به دنبال آن افزایش میزان کلروفیل شد (۴). در پژوهشی دیگر در دو همگروه از گونه اکالیپتوس، زیر تنش خشکی غلظت کاروتنوئیدهای وایولازانتین^۵، آنترازانتین^۶ و زئوزانتین^۳ برگ در واکنش به تنش خشکی شدید افزایش یافت که نشان می‌دهد کاروتنوئیدها ممکن است در محافظت برگ‌ها در برابر تنش خشکی نقش داشته باشند (۳۱). توجه به روند تغییرهای کاروتنوئیدها و کلروفیل کل می‌تواند موید نقش محافظتی کاروتنوئیدها در نگهداری کلروفیل باشد، به عبارتی زیر تنش خشکی شدید پایه‌هایی که میزان کاروتنوئید بیش‌تری داشتند به همان نسبت نیز از میزان کلروفیل بیش‌تری برخوردار بودند (شکل ۱-B و ۲-A).

پرولین

غلظت پرولین برگ زیر تأثیر سطح تنش خشکی و برهمکنش سطح تنش خشکی و پایه اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد بیش‌ترین میزان پرولین در پایه AR7 با $38/42$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ بود و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین پایه گفته شده و پایه‌های AR6، AR11، AR3 و AR1 وجود نداشت، اما مقدار این شاخص در سایر پایه‌ها به صورت معنی‌داری کم‌تر از AR7 بود. از نظر آماری، پایه AR10 با $11/49$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ کم‌ترین مقدار پرولین را دارا بود. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش خشکی بیانگر افزایش معنی‌دار پرولین در اثر تنش بود و میانگین آن در برگ پایه‌ها از $10/06$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ در شرایط آبیاری شاهد به 27 میکرومول بر گرم وزن تر برگ در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (جدول ۲). از نظر آماری مقایسه انباشت پرولین در برگ پایه‌ها و در شرایط تنش خشکی به استثناء پایه AR7 تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اما به لحاظ مقایسه انباشت پرولین در شرایط تنش خشکی نسبت به شرایط آبیاری شاهد، تفاوت معنی‌دار بود و بیش‌ترین انباشت پرولین در پایه‌های AR7 با $48/88$ و AR1 با $47/90$ میکرومول بر گرم وزن تر برگ ثبت شد (شکل ۲-B). کلروفیل و پرولین هر دو از پیش ماده‌های گلوتامات به وجود می‌آیند. در شرایط تنش خشکی به دلیل کاهش میزان کلروفیل، پرولین افزایش می‌یابد (۸). قادری و همکاران (۶) در بررسی اثر تنش خشکی بر میزان پرولین در دو رقم انگور خوش‌سناو و رشه نتیجه‌گیری کردند که کاهش کلروفیل در رقم‌های انگور زیر تنش خشکی به دلیل افزایش پرولین می‌باشد. قادری

و همکاران (۷) اثر تنش خشکی بر سه رقم توت‌فرنگی را بررسی کردند، نتیجه‌های به‌دست‌آمده نشان داد که زیر شرایط تنش خشکی میزان پرولین برگ رقم‌های توت‌فرنگی افزایش یافت و رقم‌هایی که از فتوسنتز کمتری برخوردار بودند میزان پرولین بیشتری داشتند. علیزاده و همکاران (۹) با بررسی اثرهای تنش خشکی بر پایه‌های رویشی سیب نتیجه‌گیری کردند که تنش خشکی باعث افزایش پرولین در برگ پایه‌های سیب گردید و پایه‌هایی با بیش‌ترین انباشت پرولین برگ میزان کلروفیل کمتری نسبت به سایر پایه‌ها داشتند. حسینی و همکاران (۳) اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی ۱۲ رقم زیتون را بررسی کردند. نتیجه‌های به‌دست‌آمده نشان داد بیش‌ترین انباشت پرولین در برگ رقم فدک اتفاق افتاد، این رقم به لحاظ سایر شاخص‌های مقاومت به تنش خشکی جز رقم‌های حساس به خشکی بوده و بنابراین به نظر می‌رسد انباشت پرولین بیانگر میزان آسیب بیشتر در اثر تنش خشکی و در نتیجه حساسیت بیشتر این رقم نسبت به تنش خشکی باشد. با توجه به دیگر ویژگی‌های بررسی شده در پایه‌های زیر آزمایش، چنین نتیجه‌گیری شد که انباشت پرولین در پایه‌های حساس به تنش خشکی نسبت به پایه‌های متحمل به تنش خشکی بیشتر بود.

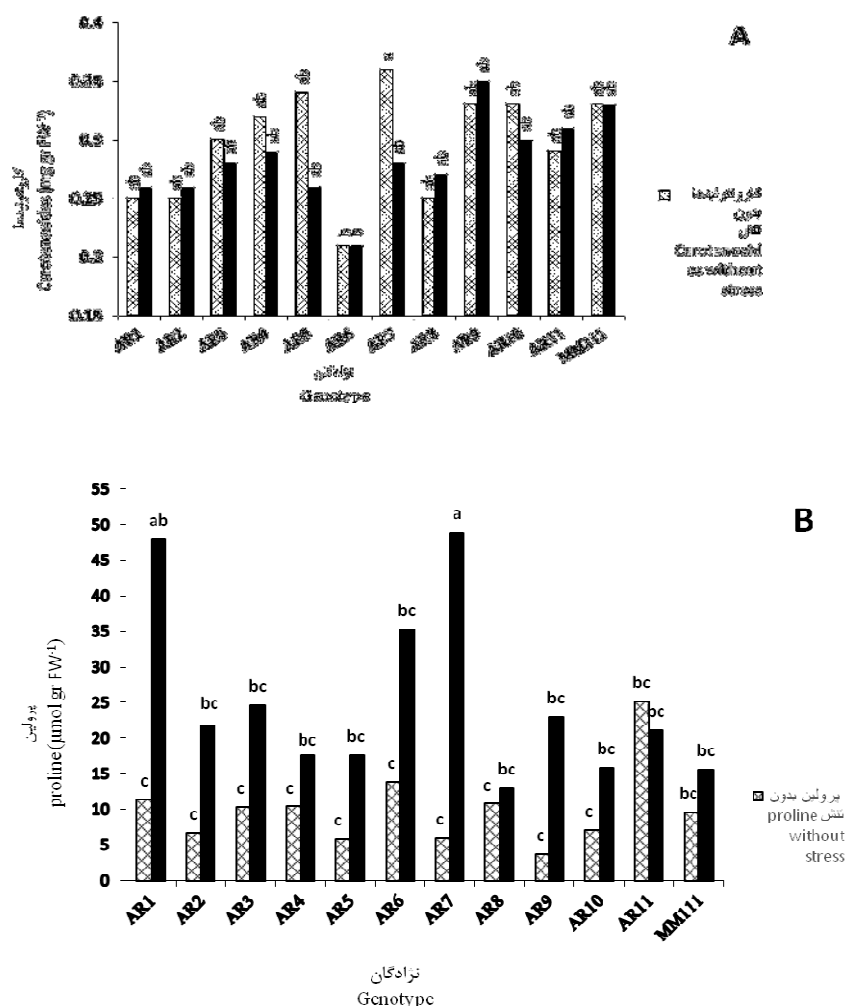


Fig. 2. Comparison of Carotenoids (A) and Proline (B) contents in different apple rootstock genotypes under control and drought stress conditions. Means followed by different letters in columns indicate significant differences by Duncan test at 5% probability.

شکل ۲- مقایسه میزان کاروتنوئیدها (A) و پرولین (B) در پایه‌های مختلف سیب زیر شرایط تنش خشکی و آبیاری شاهد. میانگین‌های با حرف‌های مختلف در ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری در سطح ۵٪ آزمون دانکن هستند.

شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای

شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای زیر تاثیر تنش خشکی و برهمکنش تنش خشکی و پایه در سطح یک درصد معنی‌دار شد، اما بین پایه‌های مورد بررسی اختلافی از نظر شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای مشاهده نشد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش نشان داد خشکی سبب کاهش معنی‌دار میانگین شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای شد و میانگین آن از ۸۷/۷۹ در شرایط آبیاری شاهد به ۸۵/۳۵ در شرایط تنش خشکی کاهش یافت (جدول ۲). از نظر آماری زیر تنش خشکی پایه‌ها به لحاظ شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای با هم تفاوت معنی‌داری نشان ندادند اما در بعضی از پایه‌ها از جمله پایه‌های AR7 و AR5 شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای به ترتیب از ۸۲/۲۱ و ۸۹/۹۰ در شرایط آبیاری شاهد به شاخص پایداری ۷۹/۲۴ و ۸۰/۷۶ در شرایط تنش خشکی کاهش معنی‌داری یافته است. در سایر پایه‌ها گرچه شاخص پایداری غشاء کاهش یافت، اما تفاوت معنی‌دار نبود (شکل ۳-۱). در دیگر پژوهش‌ها و در ارتباط با گیاهان مختلف نیز تنش خشکی باعث کاهش پایداری غشاء شده است. تیمار تنش خشکی ۱/۵ مگاپاسکال پتانسیل آب خاک در رقم‌های انگور شاهانی و بیدانه سفید باعث کاهش میزان پایداری غشاء نسبت به تیمار آبیاری شاهد گردید (۵). تنش خشکی در توت‌فرنگی نیز پایداری غشاء یاخته‌ای را در مقایسه با تیمار آبیاری شاهد کاهش داد (۷). تنش خشکی در پایه‌های ریشی سیب M9 و گلابی MA باعث کاهش پایداری غشاء گردید (۱۱). در پژوهشی دیگر نتیجه‌های مقایسه دو گونه سیب متحمل به تنش خشکی (*Malus prunifolia*) و حساس به تنش خشکی (*Malus hupehensis*) با اعمال تنش به مدت ۱۲ روز نشان داد که تنش خشکی باعث ایجاد تغییرهای ساختمانی در غشاء زیستی اندامک‌ها و افزایش نشت یونی غشاء سیتوپلاسمی در پایه حساس به تنش خشکی شد (۳۷).

غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

اثر تنش خشکی بر غلظت مالون‌دی‌آلدئید در برگ غیر معنی‌دار بود، اما تاثیر پایه و برهمکنش تنش و پایه به ترتیب در سطح یک درصد و پنج درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد بیش‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در پایه‌های AR4 و AR11 و AR1 به ترتیب با ۳/۹۴ و ۳/۷۳ و ۳/۶۶ نانومول بر گرم وزن تر برگ و کم‌ترین غلظت آن در پایه‌های MM111 و AR5 به ترتیب با ۲/۵۹ و ۲/۵۲ نانومول در گرم وزن تر برگ ثبت شد، سایر پایه‌ها در حد واسطه این دو پایه قرار گرفته و تفاوت معنی‌داری با هم نشان ندادند (جدول ۲). از نظر آماری، پایه‌های AR9 و AR7 به ترتیب با ۳/۸۵ و ۳/۶۶ نانومول بر گرم وزن تر برگ، بیش‌ترین و پایه MM111 با ۲/۴۶ نانومول بر گرم وزن تر برگ کم‌ترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی تفاوت معنی‌داری با هم نشان دادند اما افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در پایه‌های مختلف زیر تنش خشکی نسبت به آبیاری شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۳-۲). نتیجه‌های این پژوهش با سایر پژوهش‌های انجام‌گرفته در خصوص تأثیر تنش خشکی بر افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید برگ در رقم‌ها و گونه‌های حساس به تنش خشکی مطابقت می‌نماید (۴). تأثیر تنش خشکی بر دوپایه مقاوم *Malus prunifolia* و حساس *Malus hupehensis* نشان داد که زیر تأثیر تنش خشکی غلظت MDA در پایه سیب حساس به تنش خشکی بیش‌تر از پایه متحمل بود (۳۷). تأثیر تنش خشکی روی دانهال‌های سیب گونه *Malus micromalus* در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در برگ دانهال‌های سیب زیر تنش گردید و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در برگ دانهال‌ها با نفوذپذیری غشاء یاخته‌ای ارتباط مستقیم داشت (۱۹). بررسی اثر تنش خشکی روی شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی دو رقم سیب متحمل به تنش خشکی کین گوان و حساس به تنش خشکی ناگانو فوجی آپیوند شده بر پایه *Malus hupehensis* نشان داد که تنش خشکی در رقم حساس باعث کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی برگ و افزایش مقدار MDA نسبت به رقم متحمل به تنش خشکی گردید (۳۰).

اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های زیست‌شیمیایی برگ پایه‌های مرکبات نشان داد که تنش باعث افزایش MDA، پرولین، قندهای محلول و کاروتنوئیدها در پایه‌های مختلف شد و بیش‌ترین انباشت MDA در پایه بکرایی بود.

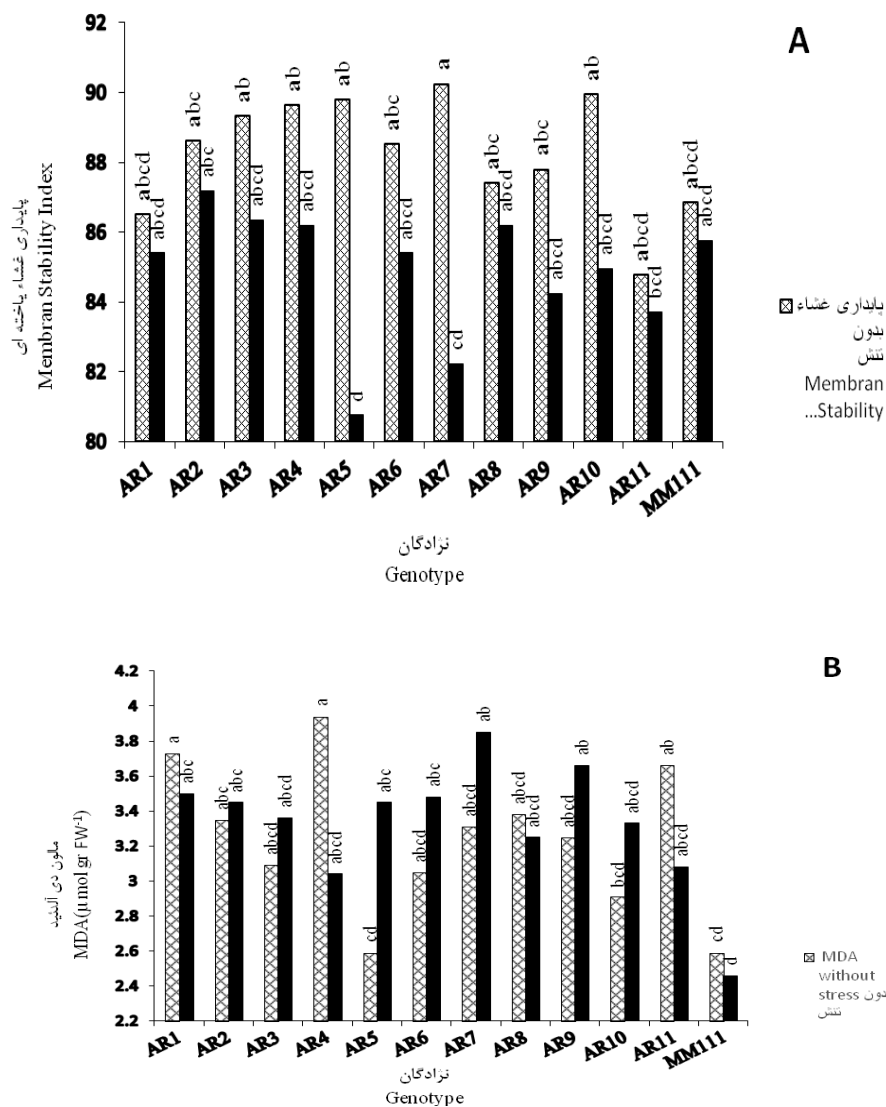


Fig. 3. Comparison of cell membrane stability (A) and malondialdehyde concentration (B) in different apple rootstock genotypes under control and drought stress conditions. Means followed by different letters in columns indicate significant differences by Duncan test at 5% probability.

شکل ۳- مقایسه شاخص پایداری غشاء یاخته‌ای (الف) و غلظت مالون دی آلدئید (ب) در پایه‌های مختلف سیب زیر شرایط تنش خشکی و آبیاری شاهد. میانگین‌های با حروف‌های مختلف در ستون‌ها نشان دهنده اختلاف آماری در سطح ۵٪ آزمون دانکن هستند.

پروتئین‌های محلول

غلظت پروتئین‌های محلول زیر تاثیر پایه و سطح تنش خشکی و همچنین، برهمکنش این فاکتورها معنی دار نشد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش نشان داد گرچه تنش خشکی سبب کاهش میانگین پروتئین‌های محلول برگ از ۰/۸۱ در شرایط آبیاری شاهد به ۰/۷۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ در شرایط تنش خشکی شد،

اما تفاوت معنی دار نبود (جدول ۲). کاهش نسبی محتوای پروتئین کل در این آزمایش می‌تواند ناشی از تخریب پروتئین‌ها و هم‌چنین کاهش ساخت آن باشد. در اثر تنش خشکی میزان پروتئین‌های کل کاهش یافته و اسیدهای آمینه آزاد افزایش می‌یابند. کاهش محتوای پروتئین‌های محلول زیر تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین و نیز انباشت اسید آمینه پرولین گزارش شده است (۲۱). قادری و همکاران (۶) به نتیجه‌های مشابهی در خصوص تأثیر تنش خشکی بر رقم‌های مختلف انگور دست یافتند.

قندهای محلول

تأثیر پایه، سطح تنش خشکی و برهمکنش این فاکتورها بر میزان قندهای محلول برگ در سطح پنج درصد معنی دار شد. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور پایه نشان داد نژادگان پایه AR2 با ۴/۲۰ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ، کم‌ترین میزان قندهای محلول و پایه AR4 با ۵/۷۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ، بیش‌ترین میزان قندهای محلول در بین پایه‌ها را داشته‌اند. سایر پایه‌ها در حدواسط این دو پایه قرار داشته و تفاوت معنی داری نداشتند. مقایسه میانگین‌های سطوح فاکتور تنش نشان داد خشکی سبب افزایش معنی دار میانگین قندهای محلول شد و میانگین آن از ۴/۹۳ در شرایط آبیاری شاهد به ۵/۲۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ در شرایط تنش خشکی افزایش یافت (جدول ۲). از نظر آماری، در شرایط تنش خشکی، پایه‌ها به لحاظ غلظت قندهای محلول برگ تفاوت معنی داری نشان دادند و تنش خشکی در پایه‌های AR2 و AR9 و AR10 به ترتیب با ۶/۱۵ و ۵/۷۹ و ۵/۸۱ و ۴/۴۴ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ باعث افزایش معنی دار غلظت قندهای محلول نسبت به شرایط آبیاری شاهد گردید (شکل ۴). پژوهشگران همبستگی بالایی را بین انباشت قندهای قابل حل (ساکارز، گلوکز و فروکتوز) و میزان تحمل به تنش خشکی در گیاهان مختلف بیان کرده‌اند. درخت سیب به هنگام رویارویی با تنش خشکی، میزان نشاسته و ساکارز را در برگ‌های بالغ خود کاهش داده و میزان سوربیتول را افزایش می‌دهد (۳۰). در بررسی میزان قندهای محلول در برگ، ساقه و ریشه سیب رقم جاناتان زیر شرایط تنش خشکی، بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول به ترتیب در برگ‌های بالغ، برگ‌های جوان، ساقه و ریشه مشاهده شد (۳۸). علیزاده و همکاران (۹) گزارش کردند که تنش خشکی در پایه‌های رویشی سیب باعث افزایش میزان قندهای محلول در برگ پایه‌های سیب گردید و پایه‌های گمی آلماسی و M9 دارای بیشترین انباشت قندهای محلول نسبت به دیگر پایه‌های زیر آزمایش بودند.

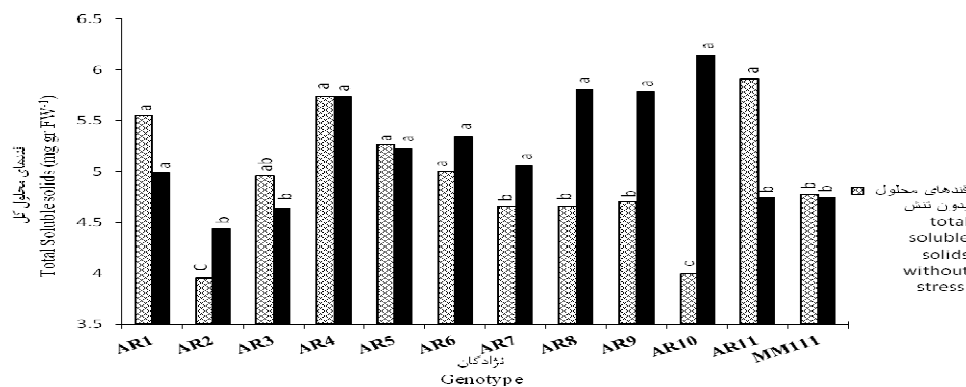


Fig. 4. Comparison of the content of total soluble solids in different apple rootstock genotypes under drought stress conditions and control irrigation. Means followed by different letters in columns indicate significant differences by Duncan test at 5% probability.

شکل ۴- مقایسه میزان قندهای محلول کل در پایه‌های مختلف سیب در شرایط تنش خشکی و آبیاری شاهد. میانگین‌های با حرف‌های مختلف در ستون‌ها نشان دهنده اختلاف آماری در سطح ۵٪ آزمون دانکن هستند.

جدول ۲- اثر سطوح فاکتورهای آزمایش بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی مورد ارزیابی.

Table 2. The effects of experimental factors levels on physiological characteristics.

تیما	نژادگان پایه	شاخص	شاخص پایداری غشاء	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کلروفیل <i>a+b</i>	کاروتنوئید	پروتئین‌های کل	مالون دی آلدئید	پرولین	قند های محلول
Treatment	Rootstock genotype	فلورسنس کلروفیل F_v/F_m	(MSI)	Chlrophy ll (a)	Chlrophy ll (b)	Chlro phyll (<i>a+b</i>)	Carotenoides	Total proteins	MDA	Proline	TSS
	AR1	0.811 ^{abc}	86.48 ^{ab}	2.13 ^c	1.01 ^{cd}	3.15 ^c	0.261 ^{bc}	0.81 ^a	3.66 ^a	29.66 ^{ab}	5.27 ^a
	AR2	0.804 ^{bc}	87.89 ^a	2.08 ^c	1 ^{cd}	3.07 ^c	0.262 ^{bc}	0.71 ^a	3.40 ^{ab}	14.23 ^b	4.20 ^b
	AR3	0.808 ^{abc}	87.84 ^a	2.41 ^{abc}	1.07 ^{bcd}	3.31 ^{bc}	0.298 ^{ab}	0.84 ^a	3.23 ^{ab}	17.47 ^{ab}	4.80 ^{ab}
	AR4	0.815 ^{ab}	87.92 ^a	2.28 ^{abc}	1.14 ^{abc}	3.43 ^{abc}	0.307 ^{ab}	0.81 ^a	3.94 ^a	13.99 ^b	5.74 ^a
	AR5	0.811 ^{abc}	85.28 ^{ab}	2.08 ^c	0.98 ^{cd}	3.07 ^c	0.306 ^{ab}	0.72 ^a	2.52 ^{bc}	11.72 ^b	5.25 ^a
	AR6	0.810 ^{abc}	86.96 ^{ab}	1.67 ^d	0.78 ^d	2.46 ^d	0.210 ^c	0.82 ^a	3.27 ^{ab}	24.59 ^{ab}	5.18 ^{ab}
	AR7	0.811 ^{abc}	86.22 ^{ab}	2.08 ^c	0.99 ^{cd}	3.07 ^c	0.363 ^a	0.80 ^a	3.58 ^{ab}	38.42 ^a	4.86 ^{ab}
	AR8	0.819 ^a	86.79 ^{ab}	2.08 ^c	0.95 ^{cd}	3.04 ^c	0.264 ^{bc}	0.86 ^a	3.32 ^{ab}	11.86 ^b	5.23 ^a
	AR9	0.810 ^{abc}	86.02 ^{ab}	2.64 ^a	1.22 ^{ab}	3.73 ^{ab}	0.344 ^a	0.81 ^a	3.45 ^{ab}	13.30 ^b	5.25 ^a
	AR10	0.812 ^{abc}	87.46 ^{ab}	2.34 ^{abc}	1.17 ^{abcd}	3.46 ^{abc}	0.318 ^{ab}	0.79 ^a	3.12 ^{ab}	11.49 ^b	5.07 ^{ab}
	AR11	0.802 ^c	84.25 ^b	2.27 ^{abc}	1.08 ^{bcd}	3.35 ^{abc}	0.305 ^{ab}	0.79 ^a	3.73 ^a	23.12 ^{ab}	5.33 ^a
	MM111	0.812 ^{abc}	86.31 ^{ab}	2.50 ^{ab}	1.24 ^a	3.93 ^a	0.274 ^{abc}	0.82 ^a	2.59 ^c	12.60 ^b	4.78 ^{ab}
	T1	0.816 ^a	87.79 ^a	2.21 ^a	1.08 ^a	3.28 ^a	0.300 ^a	0.81 ^a	3.24 ^a	10.06 ^b	4.93 ^a
	T2	0.805 ^b	85.45 ^b	2.10 ^b	1.02 ^b	2.89 ^b	0.170 ^b	0.79 ^a	3.33 ^a	27.01 ^a	5.23 ^b

* میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شده اند. در هر ستون میانگین‌هایی که دارای دست‌کم یک حرف مشترک باشند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

T₁= تیمار آبیاری شاهد، T₂= تیمار تنش خشکی.

نتیجه گیری

تنش خشکی باعث انباشت پرولین و قندهای محلول، کاهش شاخص پایداری غشا یاخته‌ای و در نتیجه کاهش ثبات در رنگدانه‌های فتوسنتزی و فلورسانس کلروفیل در برگ پایه‌های سیب گردید، اما پایه‌های سیب بررسی شده به لحاظ شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش خشکی نشان دادند. پایه AR3 دارای کم‌ترین شاخص فلورسانس، پایه‌های AR7 و AR1 دارای بیشترین انباشت پرولین و مالون‌دی‌آلدئید و پایه‌های AR7 و AR5 دارای کم‌ترین پایداری غشاء یاخته‌ای، زیر تنش خشکی نسبت به تیمار آبیاری شاهد بودند. بنابراین، نتیجه گیری می‌شود که پایه‌های AR7 و AR5 و AR3 و AR1 با داشتن تعداد بیشتری از شاخص‌های حساسیت به تنش خشکی بیش‌ترین آسیب فیزیولوژیک را در شرایط خشکی نشان دادند و به عنوان پایه‌های حساس به تنش خشکی شناسایی شدند. پیشنهاد می‌شود سایر پایه‌ها با داشتن ثبات فیزیولوژیک بیشتر، به عنوان پایه‌های متحمل به تنش خشکی مورد بررسی دقیق‌تر قرار گیرند.

References

منابع

۱. آتشکار، د.، ا. ارشادی، م. طاهری و ح. عبدالهی. ۱۳۹۷. غربال‌گری برخی پایه‌های دورگه انتخابی سیب برای تحمل به تنش خشکی بر اساس صفات مرتبط با فتوسنتز. مجله علوم باغبانی ایران، ۱۰۲۴-۱۰۱۳ : ۴۹(۴).
۲. آتشکار، د.، م. پیر خضری و ا. تقی زاده. ۱۳۹۵. تولید و ارزیابی مقدماتی پایه‌های دو رگ رویشی سیب (*Mallus domestica* Borkh). مجله علوم باغبانی ایران، ۳۳۵-۳۲۹ : ۴۷ (۲).
۳. حسینی، ز.، ع. سلیمانی، م. طاهری و ا. توکلی. ۱۳۹۲. غربال‌گری برای تحمل به خشکی در رقم‌های زیتون. علوم و فنون باغبانی ایران، ۵۰۰-۴۹۱ : ۱۴(۴).
۴. فیفا، ر.، ر. فتوحی قزوینی، ب. گل‌عین و ی. حمیدآوغلی. ۱۳۹۵. بررسی تاثیر تنش آبی شدید بر برخی ویژگی‌های دانه‌های مرکبات. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۰۵-۳۹۷ : ۴۷ (۳).
۵. قادری، ن.، ع. طلائی، ع. عبادی و ح. لسانی. ۱۳۸۹. تاثیر تنش خشکی و آبیاری مجدد بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی سه رقم انگور ساهانی، فرخی و بیدانه سفید. مجله علوم باغبانی ایران، ۱۸۸-۱۷۹ : ۴۱ (۲).
۶. قادری، ن.، ر. جلیل مرندی، ع. حسنی، ح. دولتی بانه، ح. عزیزی و ر. حاجی تقی لو. ۱۳۹۰. تاثیر سطوح مختلف رطوبت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی سه رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). علوم باغبانی ایران، ۴۰-۳۱ : ۴۲ (۱).
۷. قادری، ن. و ع. سی و سه مرده. ۱۳۹۲. بررسی اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی در سه رقم توت فرنگی. مجله علوم باغبانی ایران، ۱۳۶-۱۲۹ : ۴۴(۲).
۸. کافی، م.، ا. برزوئی، م. صالحی، ع. کمندی، ع. معصومی و ج. نباتی. ۱۳۸۸. فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. چاپ اول. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۰۲ صفحه.
9. Alizadeh, A., V. Alizadeh, L. Nassery and A. Eivazi. 2011. Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. Tech. J. Engin. App. Sci. 1 (3): 86-94.
10. Bates, L. S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil. 39:205-207
11. Bolat, E., M. Dikilitas, S. Ercisli, A. Ikinici and T. Tonkaz. 2014. The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. Hind. Sci. World J. 1: 1-8.
12. Bradford, M. M. A. 1976. Rapid sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye Binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.
13. Busse, J. and R. Merckx. 1993. An improved colorimetric method to quantify sugar content of plant tissue. J. Exp. Bot. 44(267):1627-1629.

14. Fernandez, R.T., R. L. Perry, J. A. Flore. 1997. Drought response of young apple trees on three rootstocks. II. gas exchange, chlorophyll fluorescence, water relations, and leaf abscisic acid. HortScience, 122 (6): 841-848.
15. Gibbs, J. and H. Greenway. 2003. Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. Funct. Plant Biol. 30: 1-47.
16. Haifeng, G., F. Cuina and L. Xinnan. (2011). Effects of drought stress on antioxidant system of leaves from different citrus rootstocks. Agr. Sci. Technol. 11 (8): 32-35.
17. Heath, R. L and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Bioche. Biophys. 125: 189-198.
18. Hoekstra, F. A., Golovina. E. A and Buitink. J 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance, Trends Plant Sci. 6: 431-438.
19. Jie, z., K. Yun, W. Shaohui and Y. Yuncong. 2010. Activities of some enzymes associated with oxygen metabolism, lipid peroxidation and cell permeability in dehydrated *Malus micromalus* seedlings. Afr. J. Biotechnol. 9 (17): 2521-2526.
20. Jakubowski, T. 1996. preliminary evaluation of new apple rootstocks clones. Eucapia symposium on fruit breeding and genetics. Acta Hort. No 484 :97-101.
21. Jangpromma, N., S. Kitthaisong, K. Lomthaisong, S. Daduang, P. Jaisil and S. Thammasirirak. 2010. A proteomics analysis of drought stress-responsive proteins as biomarker for drought-tolerant sugarcane cultivars. Amer. J. Biochem. Biotech. 6 (2): 89-102.
22. Lichtenthaler, H.K and C. Buschmann. 2001. Extraction of photosynthetic tissues: chlorophylls and carotenoids. Food Anal. Chem. F4.2.1-F4.2.6.
23. Liu, B., M. Li, L. Chenj, D. Liang, Y. Zou and F. Ma. 2012. Influence of rootstock on antioxidant system in leaves and roots of young apple trees in response to drought stress. Plant Growth Regul. 67: 247-256.
24. Khalid, K. A. 2006. Influence of water stress on growth, essential oil and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp). Int. Agrophys. 20: 289- 296.
25. Moffat, J., M.R.G. Sears and G. Paulsen. 1990. Wheat high temperature tolerance during reproductive growth. I: Evaluation by chlorophyll fluorescence. Crop Sci. 881-885.
26. Oraki, H., F. Parhizkar-Khanjani and M. Aghaalikhana. 2012. Effect of water deficit stress on praline contents, soluble sugars, chlorophyll and grain yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids. Afr. J. Biotechnol. 11 (1): 164-168.
27. Rong-Hua, L.I. , G.U.O. Pei-Guo, M. Baumz, S. Grando and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barely. Agr. Sci. 10:751-757.
28. Sairam, R.K. 1994. Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. Indian J. Exper. Biol. 32: 594-597.
29. Schwarz, D., Y. Rouphael, G. Colla and J.H. Venema. 2010. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: thermal stress, water stress and organic pollutants. Sci. Hort. 127: 162-171.
30. Shan, W., D. Liang, F. Ma. 2014. Leaf micromorphology and sugar may contribute to differences in drought tolerance for two apple cultivars. Plant Physiol. Biochem. 80: 249-258.
31. Shvaleva, A.L., F.C.E. Silva, E. Breia, L. Jouve., J.F. Hausmann, M.H. Almeida., J.P. Maroco, M.L. Rodrigues, J.S. Pereira and M.M. Chaves 2005. Metabolic responses to water deficit in two *Eucalyptus globules* clones with contrasting drought sensitivity. Tree Physiol. 26: 239-248.
32. Sircelj, H., M. Tausz, D. Grill and F. Batic. 2007. Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. Sci. Hort. 113:362-369.
33. Steinberg, S.L., J.C. Miller and M.J. McFarland. 1990. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. Aust. J.Plant Physiol. 17: 6-23.
34. Taylor, C.B. 1996. Proline and water deficit: ups, downs, ins, and outs. The Plant Cell. 8: 1221-1224.

35. Wahid, A. and E. Rasul. 2005. Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit, in: Pessarakli, M(Ed.), Handbook of Photosynthesis, 2nd ed., CRC Press. Florida. pp.479-497.
36. Wang, S., D. Liang, C. Lli, Y. Hao, F. Ma and H. Sho. 2012. Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. Plant Physiol. Biochem. 51: 81-89.
37. Wang, Z., B. Quebedeaux and G.W. Stutte. 1996. Partitioning of [14C]glucose into sorbitol and other carbohydrates in apple under waterstress. Aust. J. Plant. Physiol. 23:245-251.
38. William, C. and w. Johnson. 2000. Methods and Results of Screening for Disease and Insect Apple Rootstocks . Com. Fruit Tree. 33:108-111.

Effects of Drought Stress on Physiological and Biochemical Indices in Hybrid Apple Rootstocks

D. Atashkar*, A. Ershadi, H. Abdollahi and M. Taheri¹

This study was performed to screen some hybrid apple rootstocks for drought stress using physiological and biochemical indices in leaves. The experiment was carried out in a CRBD design, in a factorial scheme 12×2 (12 genotypes of apple and 2 irrigation regimes) with three replicates. The types of apple studied were 1 year old plants including genotypes AR1 to AR11 accompanied by MM111 as control (drought tolerant). Irrigation regimes applied in this study were 40 and 80 percent of FC Under drought stress. The apple rootstocks exhibited physiologically and biochemically different responses. Drought stress indices evaluated in this experiment were reduction of cell membrane stability, photosynthetic pigments, and chlorophyll fluorescence, accumulation of proline and malondialdehyde contents. In this experiment at least one of the aforementioned indicators was observed in the AR1, AR3, AR5, and AR7 being identified as sensitive rootstocks. In contrast, the rest of rootstocks with the most physiological stability and the least damage were considered drought stress tolerant and selected for further studies.

Keywords: Carotenoids, Chlorophyll Fluorescence, Rootstock, Membrane Stability, Proline.

1. Former Ph.D. Student of Horticultural Science, Associate Professor of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamadan, Associate Professor, Horticultural Science Research Institute, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Karaj and Associate Professor, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Zanjan, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (datashkar2002@yahoo.com).