



دانشگاه تهران

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و نهم، شماره دوم، ۱۳۹۸

۱-۱۳

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2019.7492.1693

پاسخ فیزیولوژی و بیوشیمیایی نهال سه رقم انگور بی‌دانه سفید، یاقوتی و چفته به تنش خشکی

رضا سوخت‌سرای^۱، * علی‌عبادی^۲، سید علی‌رضا سلامی^۳ و پریسا حاجی‌احمد^۱

^۱ دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران،

^۲ استاد گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران،

^۳ استادیار گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۰۴

چکیده

سابقه و هدف: انگور با نام علمی (*Vitis vinifera* L.) به خانواده Vitaceae تعلق دارد. شناسایی، انتخاب و استفاده از ارقام انگور متحمل به تنش خشکی از موارد بسیار مهم در برنامه‌های به‌نژادی و تولید انگور می‌باشد. بنابراین شناسایی، مطالعه و بررسی واکنش‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی ارقام انگور ایرانی تحت تنش خشکی از اهمیت بالایی در پژوهش‌های انگورکاری برخوردار است. با توجه به پراکنده بودن اکثر انگورکاری‌های ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک و همچنین کشت و کار این گیاه به‌صورت دیم در برخی از استان‌های کشور مانند کردستان، فارس و غیره، بوته‌های انگور در قسمتی از رشد سالیانه خود، یعنی در طی تابستان که تبخیر و تعرق زیاد است، به‌شدت تحت تأثیر تنش خشکی و کمبود آب قرار می‌گیرند که باعث بروز مشکلاتی مانند کوتاه شدن دوره رشد، کاهش گل‌انگیزی و پیری فیزیولوژیکی و در نهایت منجر به کاهش عملکرد و از بین رفتن بوته می‌شود. این مطالعه به‌منظور بررسی پاسخ فیزیولوژی و بیوشیمیایی نهال سه رقم انگور به تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در سال ۱۳۹۲ در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور ارقام انگور شامل (بی‌دانه سفید، چفته و یاقوتی) و تنش خشکی در چهار سطح شامل (۰/۳- (شاهد)، ۰/۶- (ملایم)، ۱- (متوسط) و ۱/۵- (شدید) مگاپاسکال پتانسیل آب خاک در سه تکرار به اجرا در آمد. بعد از کشت نهال‌ها درون گلدان، زمانی که پتانسیل آب خاک به حد ذکر شده رسید، میزان نشت یونی، تجمع مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX)، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایاز (PAL)، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) و میزان فنل کل اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیش‌ترین میزان نشت یونی در شرایط تنش شدید مربوط به رقم بی‌دانه سفید (۳۱/۶۳ درصد) و کم‌ترین میزان آن مربوط به رقم‌های چفته (۲۴/۱۰ درصد) و یاقوتی (۲۵/۸۸ درصد) بود. میزان فعالیت آنزیم PAL در رقم‌های چفته و یاقوتی تحت سطوح تنش متوسط و شدید خشکی به‌طور معنی‌داری، افزایش یافت به‌طوری‌که تحت تنش شدید خشکی دارای بالاترین میزان فعالیت آنزیم PAL به‌ترتیب (۲/۴۵ و ۱/۹۷ میکرومول سینامیک اسید تولید شده در ساعت) بودند. در حالی‌که در رقم بی‌دانه سفید با افزایش سطوح خشکی از تنش ملایم تا تنش شدید خشکی اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PAL

* مسئول مکاتبه: aebadi@ut.ac.ir

مشاهده نشد. میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) در رقم بی‌دانه سفید تحت شرایط تنش شدید خشکی، به‌طور معنی‌داری دارای در مقایسه با گیاهان شاهد بالاتر بود اما در رقم چفته با افزایش سطوح تنش خشکی از تیمار شاهد تا تیمار شدید خشکی اختلاف معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PPO مشاهده نشد. در رقم یاقوتی نیز افزایش چشم‌گیری در میزان فعالیت آنزیم PPO با افزایش تنش خشکی از تیمار ملایم به تیمار متوسط خشکی دیده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که رقم چفته و رقم یاقوتی به‌ترتیب پتانسیل بالاتری برای مقابله با سطوح تنش شدید و متوسط خشکی در مقایسه با رقم بی‌دانه سفید داشتند.

واژه‌های کلیدی: انگور، پلی‌فنل‌اکسیداز، تنش خشکی، فنیل‌آلانین‌آمونیاپاز

مقدمه

کشور ایران یکی از مناطق نسبتاً خشک در جهان می‌باشد به طوری که میانگین بارندگی سالیانه آن تقریباً معادل ۲۴۰ میلی‌متر می‌باشد که اگر بخواهیم با متوسط بارندگی سالیانه در سطح کره زمین که معادل ۸۶۰ میلی‌متر می‌باشد مقایسه کنیم ملاحظه می‌شود که مقدار بارندگی سالیانه ایران حتی کم‌تر از یک سوم متوسط بارندگی در سطح دنیا است. علاوه بر این زمان بارندگی و محل آن با نیازهای کشاورزی تطابق ندارد و لزوم آبیاری را در طی فصل رشد الزامی می‌کند (۱۴). با توجه به پراکنده بودن اکثر انگورکاری‌های ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک و همچنین کشت و کار این گیاه به صورت دیم در برخی از استان‌های کشور مانند کردستان، فارس و غیره، بوته‌های انگور در قسمتی از رشد سالیانه خود، یعنی در طی تابستان که تبخیر و تعرق زیاد است، به شدت تحت‌تأثیر تنش خشکی و کمبود آب قرار می‌گیرند که باعث بروز مشکلاتی مانند کوتاه‌شدن دوره رشد، کاهش گل‌انگیزی و پیری فیزیولوژیک و در نهایت منجر به کاهش عملکرد و از بین رفتن بوته می‌شود (۷).

در شرایط عادی رشد، بسیاری از فرآیندهای متابولیکی در گیاهان باعث تولید گونه‌های فعال

اکسیژن (ROS) می‌شوند اما گیاهان راهبردهای آنتی‌اکسیدانی کارآمدی برای از بین بردن ROS دارند. افزایش مقدار پراکسید هیدروژن نیز نتیجه اختلال در این تعادل است که منجر به صدمات اکسیداتیو در گیاه می‌گردد. یکی از آسیب‌های جدی تنش خشکی خسارت به غشای سلولی و رهاسازی یونها از سلول به فضای بین‌سلولی است (۸).

ROSها با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، آلدئیدهایی مانند MDA تولید می‌کنند که این محصولات آلدئیدی معمولاً به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو اندازه‌گیری می‌شوند (۲۱). قادری و همکاران (۱۳۸۸) در آزمایشی که به بررسی اثر تنش خشکی بر سه رقم انگور بی‌دانه سفید، فرخی و ساهانی پرداختند، گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش نشت یونی و کاهش پایداری غشای سلولی در ارقام بی‌دانه سفید و ساهانی شد. اندازه‌گیری محصولات پراکسیداسیون لیپید یکی از معمول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری صدمات اکسیداتیو به غشا است و به میزان وسیعی در گیاهان استفاده می‌شود (۳).

تنش خشکی مقدار MDA را در گیاهان افزایش می‌دهد که این نشان‌دهنده خسارت به غشای سلولی و پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد. همچنین افزایش در

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تغییرات پتانسیل آب خاک بر برخی تغییرات فیزیولوژی و زیست-شیمیایی نهال انگور، پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور ارقام انگور در سه سطح شامل (بی‌دانه سفید، چفته و یاقوتی) و تنش خشکی در چهار سطح شامل (۰/۳- (شاهد)، ۰/۶- (ملایم)، ۱- (متوسط) و ۱/۵- (شدید) مگاپاسکال پتانسیل آب خاک) و در سه تکرار در سال ۱۳۹۲ در پردیس کشاورزی دانشگاه تهران واقع در کرج به اجرا درآمد.

نحوه اعمال تنش: برای تعیین بافت خاک و رسم منحنی رطوبتی خاک جهت اعمال سطوح مورد نظر تنش خشکی در اواخر تیرماه ۱۳۹۲ از خاک گلدان‌ها نمونه‌گیری و نمونه‌ها به آزمایشگاه خاک‌شناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انتقال یافت. تعیین بافت نمونه خاک گلدان‌ها بر اساس مثلث بافت خاک، شامل ۱۹ درصد رس، ۱۹ درصد سیلت و ۶۲ درصد شن صورت گرفت و با توجه به داده‌های دستگاه صفحه فشار و با استفاده از نرم‌افزار RETC نمودار منحنی رطوبت خاک (مگاپاسکال مکش نسبت به رطوبت حجمی) بر اساس بافت خاک، رسم گردید.

اندازه‌گیری نشت یونی (EL): جهت اندازه‌گیری پایداری غشای سلولی ۵ قطعه برگ به مساحت یک سانتی‌متر مربع را داخل فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده و سپس مقدار ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده به آن اضافه گردید. سپس فالكون‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی شیکر قرار داده و بعد از این مدت با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی، هدایت الکتریکی (EC_1) آن‌ها اندازه‌گیری

فعالیت آنزیم LOX تحت شرایط خشکی نیز این مسأله را تأیید می‌کند. این آنزیم واکنش‌های پراکسیداسیون لیپیدها را کاتالیز می‌کند (۳۲). در آزمایشی که بررسی فعالیت آنزیم LOX و تجمع پرولین تحت تنش خشکی بر روی برگ و ریشه زیتون انجام گرفت، مشاهده شد فعالیت آنزیم LOX و همچنین تجمع پرولین در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافته بودند (۲۸).

در گیاهان تولید ترکیبات فنلی با افزایش فعالیت آنزیم PAL تحت تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (۱۸). در پژوهشی اثر تیمار اسیدسالیسیک بر میزان فعالیت آنزیم PAL روی انگور جنس وینیفرا رقم (Cabernet Sauvignon) تحت استرس دمای بالا بررسی و گزارش شد، اسیدسالیسیک باعث فعالیت بیش‌تر آنزیم PAL شده بود که این افزایش سبب مقاومت بیش‌تر انگور به دماهای بالا گردیده بود (۳۶).

در گیاهان تحت تنش خشکی، آنزیم PPO باعث اکسید شدن ترکیبات فنلی می‌شود که در حساسیت گیاهان به تنش خشکی نقش مهمی ایفا می‌کند. این آنزیم قادر است ترکیبات فنلی را به اورتوکینون اکسید کند (۱ و ۵). ترکیبات کینونی تحت تأثیر واکنش‌های ثانویه در مجاورت یکدیگر و یا مواد دیگر مانند پروتئین‌ها ایجاد ترکیبات رنگی به نام ملانین می‌نمایند (۱۶).

از آنجایی که ارقام یاقوتی و چفته در نواحی دیم استان‌های کشور مانند فارس و قزوین کشت می‌شوند و رقم بی‌دانه سفید بیش‌تر در شرایط آبی کشت می‌شود، بنابراین، بررسی واکنش‌های فیزیولوژی و زیست-شیمیایی این ارقام به مقادیر مختلف آب خاک می‌تواند، برای انتخاب مناطق گسترش آن‌ها در کشور کمک نماید.

دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتی‌فیوژ شد و روشن‌آور آن جمع‌آوری شد. پس از انجام یکسری واکنش‌ها، جذب محلول در طول موج ۲۹۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد (۳۶).

اندازه‌گیری فنل کل: میزان فنل کل بر اساس روش فولین-سینگلتون با کمی تغییرات محاسبه شد (۳۱).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO): سنجش میزان فعالیت PPO با روش کار و میشا انجام شد. محیط واکنش حاوی ۵۰ میکرولیتر از پیروگالول ۱۰۰ میلی‌مولار، ۳۰۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات (pH=۷) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان فعالیت آنزیم بر حسب مقادیر اکسید شده پیروگالول در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه شد (۱۲).

تجزیه آماری: تجزیه واریانس داده‌ها، آزمون نرمال بودن داده‌ها و همچنین مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ انجام گرفت. رسم تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام گرفت.

نتایج و بحث

میزان نشت یونی، تجمع MDA و فعالیت آنزیم LOX: نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان می‌دهد، سطوح تنش خشکی در سطح ۱ درصد و فاکتور رقم در سطح ۵ درصد باعث تغییر در میزان نشت یونی شده‌اند. اثر متقابل تنش خشکی و فاکتور رقم نیز به‌طور معنی‌داری در سطح ۵ درصد بر میزان نشت یونی تأثیر داشته است.

شد. سپس فاکتورهای حاوی نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شدند. سپس بعد از سرد شدن فاکتورهای حاوی نمونه‌ها تا دمای اتاق مجدداً هدایت الکتریکی (EC_2) آن‌ها اندازه‌گیری و میزان درصد نشت یونی محاسبه شد (۲۵).

اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA): اندازه‌گیری MDA به روش استوارت و بویولی (۱۹۸۰) انجام شد. میزان جذب مخلوط به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه مقدار MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۳۳).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX): سنجش فعالیت آنزیم LOX به روش اکسلرود و همکاران، (۱۹۸۱) با کمی تغییرات استفاده شد. محیط واکنش شامل ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر K_2HPO_4 ، ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر سوبسترا شامل (لینولئیک اسید، توئین ۲۰، بافر K_2HPO_4 و NaOH یک میلی‌مولار) بود. برای سنجش فعالیت آنزیم LOX دستگاه اسپکتروفتومتر روی طول موج ۲۳۴ نانومتر تنظیم شد سپس زمان تغییرات جذب به یک دقیقه ثبت شد (۲).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا لیاز (PAL): ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ با $6/5$ میلی‌لیتر بافر تریس - HCl (pH=۷/۸، ۵۰ میلی‌مولار) حاوی بتامرکاپتواتانول (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد شده سائیده و بلافاصله در ۹۵۰۰ دور در دقیقه و در

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی بر میزان نشت یون (EL)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و آنزیم لیپوآکسیژناز (LOX).

Table 1. The results of variance analysis of drought stress on ion leakage (EL), malondialdehyde (MDA) and lipoxygenase enzyme (LOX).

میانگین مربعات Average of Squares			درجه آزادی	منبع تغییرات Sources
آنزیم لیپوآکسیژناز Lipoxygenase enzyme	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde	نشت یونی Ion leakage	DF	Sources
2.78**	6.57**	52.44**	2	تنش Drought
0.88**	1.53**	21.84*	3	رقم Cultivar
0.23*	0.24 ^{ns}	9.97*	6	تنش * رقم Drought* Cultivar
0.14 ^{ns}	0.23 ^{ns}	3.38 ^{ns}	2	تکرار replication
0.086	0.221	2.77	22	خطا Error
24.58	14.36	6.94		ضریب تغییرات (درصد) %CV

*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی‌دار.

*, ** and ^{ns} respectively significant at 5%, 1% and non-significant.

چفته هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان نشت یونی در تمامی سطوح تنش خشکی مشاهده نشد. در رقم یاقوتی میزان نشت یونی تحت تنش شدید خشکی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ملایم خشکی افزایش یافت ولی در مقایسه با تیمار متوسط خشکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بر اساس نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۲)، در رقم بی‌دانه سفید تحت شرایط تنش متوسط و شدید خشکی میزان نشت یونی به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد و تنش ملایم افزایش یافت به‌طوری‌که تحت تنش شدید دارای بالاترین میزان نشت یونی در بین ارقام بود. نتایج همچنین نشان داد که در رقم

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم انگور بر درصد نشت یونی.

Table 2. Comparison of the effects of interaction between drought stress and grapevine cultivars on ionic leakage.

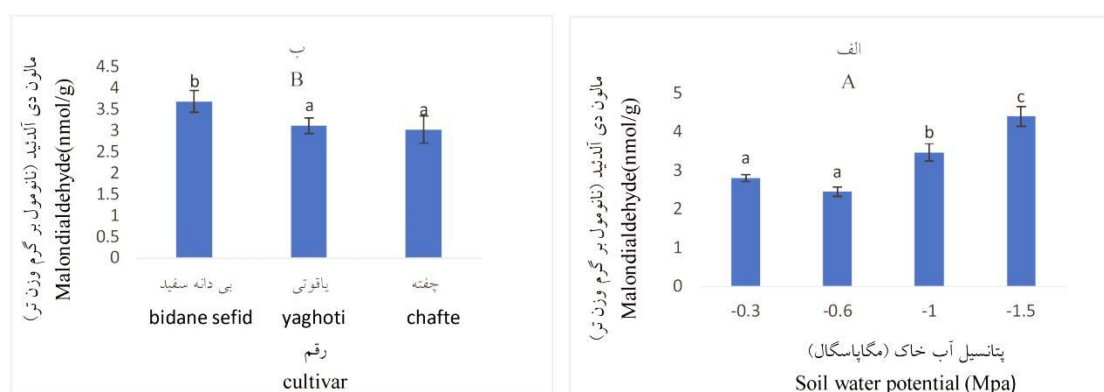
۱/۵ - مگاپاسگال -1.5 MPa	۱ - مگاپاسگال -1 MPa	۰/۶ - مگاپاسگال -0.6 MPa	۰/۳ - مگاپاسگال -0.3 MPa	تیمار Treatment
31.63 ± 1.252 ^a	25.58 ± 0.452 ^b	22.75 ± 0.382 ^c	21.65 ± 1.731 ^c	بی‌دانه سفید Bidane Sefid
24.10 ± 1.286 ^{bc}	23.47 ± 0.317 ^{bc}	21.94 ± 0.935 ^c	21.42 ± 1.086 ^c	چفته Chafte
25.88 ± 0.572 ^b	24.40 ± 1.182 ^{bc}	22.40 ± 0.707 ^c	22.63 ± 0.559 ^c	یاقوتی Yaghoti

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نمی‌باشند در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

Averages that do not have a common language are significant at 1% probability level.

خشکی افزایش یافت (شکل ۱- الف). بالاترین میزان MDA مربوط به سطح تنش ۱/۵- مگاسکال بود. تیمارهای ۰/۳- و ۰/۶- مگاسکال تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. همچنین مقایسه میانگین نشان داد که دو رقم چفته و یاقوتی دارای میزان MDA کم‌تری در مقایسه با رقم بی‌دانه سفید، بودند (شکل ۱- ب).

همان‌طور که از جدول ۱ مشاهده می‌شود، سطوح تنش خشکی و عامل رقم دارای اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر میزان MDA بودند. اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان MDA معنی‌دار نبود. با توجه به اثر تیمارهای متفاوت تنش خشکی بر میزان MDA مشخص شد که میزان آن با افزایش شدت تنش



شکل ۱- الف): تغییرات میزان مالون‌دی‌آلدئید در انگور تحت مقادیر ۰/۳- (شاهد)، ۰/۶- (ملایم)، ۱- (متوسط) و ۱/۵- (شدید) مگاسکال پتانسیل آب خاک. (ب) مقایسه میانگین اثر تنش بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در سه رقم انگور شامل بی‌دانه سفید، یاقوتی، چفته تحت تنش خشکی. علائم روی ستون‌ها خطای معیار (SE) را نشان می‌دهد. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی در سطح ۱ درصد ندارند.

Fig. 1 (a): Levels of malondialdehyde in grapes under the values of -0.3 (control), -0.6 (mild), -1 (moderate) and -1.5 (severe) -magaspagal of water potential Soil. **(B)** Comparison of the effect of stress on the level of malondialdehyde in three cultivars of grapevine including honey, yoghurt, chamomile under drought stress. Symbols on the columns show the criterion error (SE). Averages with at least one letter are not statistically significant at 1% level.

به‌طوری‌که در تیمار متوسط خشکی به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت این آنزیم شروع به افزایش کرد و در تیمار شدید خشکی بالاترین میزان فعالیت آنزیم LOX را در مقایسه با ارقام چفته و یاقوتی داشت. در رقم‌های چفته و یاقوتی میزان آنزیم LOX تحت تنش شدید خشکی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ملایم خشکی افزایش یافت ولی در مقایسه با تیمار متوسط خشکی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

همچنین بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۱، تیمار تنش خشکی باعث تغییراتی معنی‌دار در فعالیت آنزیم LOX در سطح ۱ درصد شد. همچنین بین ارقام مورد بررسی نیز از نظر فعالیت آنزیم LOX در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد. اثر متقابل تنش خشکی و رقم نیز تأثیر معنی‌داری در سطح ۵ درصد در میزان فعالیت آنزیم LOX داشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۳، در رقم بی‌دانه سفید با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم LOX نیز افزایش یافت

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل، سطوح تنش خشکی و رقم انگور بر فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین).

Table 3. Comparison of intermediate effects, drought stress and grapevine levels on lipoxigenase enzyme activity (u / mg protein).

تیماژ	۰/۳- مگا پاسگال	۰/۶- مگا پاسگال	۱- مگا پاسگال	۱/۵- مگا پاسگال
Treatment	-0.3 MPa	-0.6 MPa	-1 MPa	-1.5 MPa
بی‌دانه سفید Bidane Sefid	0.70 ± 1.73 ^{de}	0.87 ± 0.38 ^{de}	1.85 ± 0.45 ^b	2.58 ± 1.25 ^a
چفته Chafte	0.68 ± 1.80 ^e	0.75 ± 0.93 ^{de}	1.13 ± 0.31 ^{cde}	1.46 ± 1.28 ^{bc}
یاقوتی Yaghoti	0.70 ± 0.55 ^{de}	0.67 ± 0.7 ^e	1.25 ± 1.18 ^{cd}	1.62 ± 0.57 ^{bc}

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نمی‌باشند در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

Averages that do not have a common language are significant at 1% probability level.

علاوه بر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشای سلولی که به‌صورت غیرآنزیمی در اثر تجمع ROSها صورت می‌گیرد، آنزیم LOX نیز که میزان فعالیت آن تحت تنش خشکی افزایش می‌یابد مسئول پراکسیداسیون آنزیمی اسیدهای چرب غشا است. پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشای سلولی همراه با تجمع MDA می‌باشد (۲۷). در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که رقم بی‌دانه سفید در مقایسه با رقم‌های چفته و یاقوتی تحت سطوح تنش خشکی دارای بیش‌ترین مقدار نشت یونی به همراه MDA می‌باشد. همچنین در رقم بی‌دانه سفید در مقایسه با رقم‌های چفته و یاقوتی، سطوح بالای نشت یونی به همراه میزان تجمع MDA با میزان بالای فعالیت آنزیم LOX که مسئول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشا می‌باشد همراه می‌باشد که نشان‌دهنده این واقعیت است که رقم بی‌دانه سفید تحت تنش خشکی کم‌ترین میزان انسجام غشایی را دارا می‌باشد. با این‌که میزان نشت یونی به همراه میزان تجمع MDA و فعالیت آنزیم LOX در رقم‌های چفته و یاقوتی در مقایسه با رقم بی‌دانه سفید به‌طور معنی‌داری پایین بود اما بین این دو رقم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت و در حالت کلی رقم‌های چفته و یاقوتی تحت سطوح تنش خشکی توانایی بالاتری در حفظ انسجام غشایی نسبت به رقم بی‌دانه سفید دارا بودند.

با افزایش سطوح تنش خشکی، افزایش نشت یونی همراه با کاهش محتوی نسبی آب برگ اتفاق می‌افتد. بر اساس گزارش‌های علمی همان‌طور که محتوی نسبی آب برگ در تنش خشکی کاهش می‌یابد، سلول‌ها چروکیده شده و دیواره سلولی پایدار خود را از دست می‌دهد (۳۴). در نتیجه نفوذپذیری غشای سلولی افزایش یافته و محتویات داخل سلول به بیرون آن نشت می‌کند (۱۰). افزایش میزان نشت یونی متناسب با افزایش شدت تنش خشکی گزارش شده است (۱۰ و ۲۳). یکی از آسیب‌های جدی تنش خشکی خسارت به غشا و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین‌سلولی است که با اندازه‌گیری نشت یونی میزان آسیب به غشا مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۹). تحت شرایط تنش این تعادل به هم خورده و ROSها افزایش می‌یابند. تجمع ROSها تحت تنش خشکی منجر به پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشای سلولی می‌شود. پراکسیداسیون اسیدهای چرب غشای سلولی منجر به تجمع MDA می‌شود (۲۷).

میزان تجمع MDA به‌عنوان یک نشانگر (زیست-مارکر) برای مشخص کردن میزان خسارت تنش اکسیداتیو به اسیدهای چرب غشای سلولی به‌کار می‌رود و مقدارش بسته به نوع تنش زیستی و غیرزیستی متفاوت می‌باشد (۲۲ و ۲۸).

خشکی در ارقام چفته و یاقوتی، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PAL دیده شد، ولی میزان فعالیت این آنزیم، در رقم بیدانه سفید با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت، اما مقدار کاهش فعالیت آنزیم معنی‌دار نبود. در مجموع بالاترین و پایین‌ترین میزان فعالیت آنزیم PAL بتر تیب مربوط به رقم‌های چفته و بی‌دانه سفید تحت تیمار خشکی شدید بود.

تجمع فنل کل به همراه فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO: نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۴) سطوح تنش خشکی و رقم به صورت ساده و متقابل اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم PAL در سطح ۱ درصد داشتند. همچنین اثر متقابل تیمار خشکی و رقم به طور معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر میزان فعالیت PAL تأثیر گذاشته است بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) با افزایش سطوح تنش

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تنش خشکی و رقم انگور بر میزان فنیل آلانین آمونیلیاز (PAL)، پلی فنل اکسیداز (PPO) و فنل کل.

Table 4. Results of analysis of variance of drought stress and grape cultivars on the amount of PAL, polyphenol oxidase (PPO) and total phenol.

میانگین مربعات			درجه آزادی	منبع تغییرات
Average of Squares				
فنول کل	پلی فنل اکسیداز	فنیل آلانین آمونیلیاز		
total phenol	polyphenol oxidase	Phenylalanine ammonilase		
1128.6**	0.821*	0.375**	2	تنش Drought
1586.7**	0.955**	0.707**	3	رقم Cultivar
554.8**	0.401*	0.280**	6	تنش*رقم Drought* Cultivar
0.904 ^{ns}	0.075 ^{ns}	0.288 ^{ns}	2	تکرار replication
86.32	0.1519	0.069	22	خطا Erroe
12.80	24.69	15.77		ضریب تغییرات %CV

*، ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی‌دار.

*، ** and ^{ns} respectively significant at 5%, 1% and non-significant.

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم انگور بر میزان آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز (میکرومول سینامیک اسید تولید شده در ساعت).

Table 5. Comparison of the effects of interaction between drought stress and grapevine cultivars on the amount of phenylalanine ammonilase enzyme ($\mu\text{mol cinamic acid / h}$).

۱/۵ - مگاپاسگال	۱ - مگاپاسگال	۰/۶ - مگاپاسگال	۰/۳ - مگاپاسگال	تیمار
-1.5 MPa	-1 MPa	-0.6 MPa	-0.3 MPa	Treatment
1.17 ± 0.095 ^e	1.51 ± 0.132 ^{cde}	1.37 ± 0.230 ^{de}	1.60 ± 0.276 ^{cde}	بی‌دانه سفید Bidane Sefid
2.45 ± 0.184 ^a	2.09 ± 0.224 ^{ab}	1.55 ± 0.075 ^{cde}	1.51 ± 0.049 ^{cde}	چفته Chafte
1.97 ± 0.149 ^{bc}	1.76 ± 0.147 ^{bcd}	1.37 ± 0.175 ^{de}	1.57 ± 0.129 ^{cde}	یاقوتی Yaghoti

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نمی‌باشند در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

Averages that do not have a common language are significant at 1% probability level.

بر میزان فنل کل در رقم بی‌دانه سفید نداشت. بر اساس مجموع نتایج به‌دست آمده رقم چفته در تیمار خشکی شدید، میزان فنل بالاتری در مقایسه با ارقام یاقوتی و بی‌دانه سفید داشت. همچنین رقم بی‌دانه سفید در شرایط تنش خشکی ملایم و تنش خشکی شدید و رقم یاقوتی در شرایط تیمار شاهد و تیمار خشکی متوسط دارای پایین‌ترین میزان فنل کل بودند و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۴) اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان فنل کل در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین تیمار تنش خشکی و رقم نیز اثر معنی‌داری در سطح ۱ درصد بر میزان فنل کل داشته است. نتایج جدول مقایسه میانگین نشان داد که میزان فنل کل در ارقام چفته و یاقوتی با افزایش سطوح تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۶). برخلاف ارقام چفته و یاقوتی، افزایش سطوح تنش خشکی تأثیر معنی‌داری

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم انگور بر میزان فنل کل (میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم وزن تر).

Table 6. Comparison of the effects of interaction between drought stress levels and grape variety on total phenol content (mg asid galic/g fresh weight).

تیمار Treatment	۰/۳- مگاپاسگال -0.3 MPa	۰/۶- مگاپاسگال -0.6 MPa	۱- مگاپاسگال -1 MPa	۱/۵- مگاپاسگال -1.5 MPa
بی‌دانه سفید Bidane Sefid	67.8 ± 0.276 ^{de}	58.7 ± 0.230 ^e	76.1 ± 0.132 ^{bcd}	48.4 ± 0.095 ^c
چفته Chafte	65.7 ± 0.049 ^{cde}	76.2 ± 0.075 ^{bcd}	86.8 ± 0.244 ^b	107.4 ± 0.184 ^a
یاقوتی Yaghoti	55.9 ± 0.129 ^e	58.1 ± 0.107 ^e	81.3 ± 0.147 ^{bc}	90.8 ± 0.149 ^b

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نمی‌باشند در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

Averages that do not have a common language are significant at 1% probability level.

افزایش سطوح تنش خشکی افزایش یافته و در تیمار شدید خشکی دارای بالاترین میزان فعالیت آنزیم PPO می‌باشد. در رقم چفته تفاوتی در فعالیت آنزیم PPO در تیمارهای مختلف تنش خشکی دیده نشد. همچنین در رقم یاقوتی با افزایش سطوح تنش خشکی از تیمار ملایم به تیمار متوسط خشکی افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم PPO مشاهده شد (جدول ۷).

همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر متقابل تیمار تنش خشکی و عامل رقم باعث تغییر معنی‌دار در سطح ۵ درصد بر فعالیت آنزیم PPO شد. تیمار تنش خشکی نیز باعث تغییرات معنی‌دار در فعالیت آنزیم PPO در سطح ۵ درصد شد. همچنین بین ارقام مورد بررسی نیز از نظر فعالیت آنزیم PPO در این آزمایش تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ درصد مشاهده شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد فعالیت آنزیم PPO در رقم بی‌دانه سفید با

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم انگور بر میزان آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (واحد بر میلی‌گرم پروتئین).

Table 7. Comparison of the effects of interaction between drought stress and grapevine cultivars on the amount of polyphenol oxidase enzyme (U/mg Protein).

تیجار	۰/۳- مگاپاسگال	۰/۶- مگاپاسگال	۱- مگاپاسگال	۱/۵- مگاپاسگال
Treatment	-0.3 MPa	-0.6 MPa	-1 MPa	-1.5 MPa
بی‌دانه سفید Bidane Sefid	1.54 ± 0.202 ^{bcd}	1.46 ± 0.309 ^{bcd}	1.87 ± 0.442 ^{bc}	2.78 ± 2.164 ^a
چفته Chafte	1.46 ± 0.239 ^{bcd}	1.05 ± 0.167 ^{cd}	1.63 ± 0.61 ^{bcd}	1.37 ± 0.925 ^{bcd}
یاقوتی Yaghoti	1.48 ± 0.011 ^{bcd}	1.04 ± 0.218 ^d	1.85 ± 0.206 ^b	1.41 ± 2.164 ^{bcd}

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک نمی‌باشند در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشند.

Averages that do not have a common language are significant at 1% probability level.

گیاه نقش مهمی دارند. تنش‌های محیطی مانند خشکی که باعث افزایش تولید ROSها می‌گردند، موجب فعال شدن مسیر آلترناتیواکسیداز (AOX) می‌شوند. AOX می‌تواند به‌طور مستقیم از طریق پذیرش الکترون‌ها از یوبی کوئینون احیا شده و با جلوگیری از احیای بیش از اندازه مسیر سیتوکرومی از یک طرف باعث جلوگیری از تولید ROSها گردد و از طرف دیگر باعث ادامه فعالیت مسیرهای گلیکولیز، پنتوز فسفات و چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک (TCA) شود. مسیر گلیکولیز، مسئول تولید فسفوانول پیروات (PEP) و مسیر پنتوز فسفات مسئول تولید اریتریتوز ۴ فسفات برای تغذیه (Er4P) مسیر اسید شیکمیک می‌باشند.

در مسیر اسید شیکمیک با افزایش فعالیت PAL توسط AOX بیوستت ترکیبات فنیل پروپانوییدی افزایش می‌یابد که در سیستم دفاعی نقش مهمی بازی می‌کنند. آنزیم PAL، آنزیم کلیدی در تشکیل ترکیبات فنلی (یکی از راهبردهای دفاعی غیرآنزیمی در گیاهان) نقش اساسی داشته و به‌عنوان یکی از شاخص‌های حساس به تغییرات محیطی و همچنین یکی از نشانگرهای زیست-شیمیایی دفاعی گیاه در برابر تنش‌های محیطی مطرح می‌باشد. ترکیبات فنلی

آنزیم فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایز (PAL) با تبدیل فنیل‌آلانیل به ترانس اسید سینامیک به‌عنوان آنزیم رابط متابولیسم اولیه (مسیر اسید شیکمیک) و متابولیسم ثانویه (مسیر فنیل‌پروپانویید) محسوب می‌شود. هنگامی که گیاهی تحت تنش‌های محیطی مانند خشکی قرار می‌گیرد، (۱) فعالیت PAL در اثر تنش افزایش می‌یابد که منجر به افزایش سطوح فنل کل می‌شود که در واکنش تجمع می‌یابد، (۲) غشاهای سلولی نفوذپذیری انتخابی خود را از دست می‌دهد، (۳) فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) در سیتوپلاسم سلول در اثر تنش افزایش می‌یابد، (۴) در اثر کاهش قدرت نفوذپذیری انتخابی غشاهای سلولی مانند تونوپلاست، مواد فنلی که در اثر فعالیت آنزیم PAL در واکنش تجمع‌یافته بودند وارد سیتوپلاسم می‌شوند و تحت‌تأثیر آنزیم PPO قرار گرفته و اکسیداسیون فنل صورت می‌گیرد و تبدیل ترکیبات فنلی به کوئینون‌ها تحت تابش نور می‌تواند به رادیکال‌های آزاد تبدیل شده و موجب آسیب به سلول‌ها شوند (۱۸).

افزایش فعالیت آنزیم PAL موجب افزایش متابولیت‌های مسیر فنیل‌پروپانویید مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها و لیگنین می‌شود که در سیستم دفاعی

نمود که رقم بی‌دانه سفید دارای توانایی کم‌تر و ارقام چفته و یاقوتی دارای توانایی بالا در استفاده از این مکانیسم در مقابل تنش خشکی هستند.

نتیجه‌گیری کلی

تحت تنش شدید خشکی، رقم بی‌دانه سفید در مقایسه با رقم‌های چفته و یاقوتی دارای بیش‌ترین مقدار نشت یونی به همراه تجمع MDA بود که می‌تواند یکی از دلایل آن در اثر بالا بودن فعالیت آنزیم LOX در مقایسه با رقم‌های چفته و یاقوتی باشد. تحت تنش متوسط و شدید خشکی، رقم چفته و پس از آن رقم یاقوتی دارای انسجام غشایی بالا، به همراه نسبت بالای فعالیت آنزیم‌های PAL/PPO بودند که این امر منجر به افزایش تجمع فنل کل در این ارقام شده بود. از سوی دیگر تحت تنش شدید خشکی، رقم بی‌دانه سفید دارای انسجام غشایی پایین به همراه نسبت پایین فعالیت آنزیم‌های PAL/PPO بود که این امر منجر به کاهش تجمع فنل کل در این رقم شده بود. در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، که رقم چفته و رقم یاقوتی به ترتیب پتانسیل بالاتری برای مقابله با سطوح تنش شدید و متوسط خشکی در مقایسه با رقم بی‌دانه سفید داشتند.

در شرایط مطلوب محیطی نیز در سلول‌های گیاهی سنتز می‌شوند اما تنش‌های محیطی مختلف مقدار آن‌ها را در سلول تغییر می‌دهند (۱۳). ترکیبات فنلی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون مولکول‌های حیاتی سلول پیشگیری کرده و مانع بروز تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاه می‌شوند (۱۸ و ۲۶). همچنین گزارش‌ها نشان می‌دهد ترکیبات فنلی در مهار و کاهش اتو اکسیداسیون لیپیدها و خاموش کردن اکسیژن رادیکالی، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) عمل می‌نمایند (۱۴). رقم بی‌دانه سفید تحت سطوح تنش خشکی دارای میزان پایین فعالیت آنزیم PAL بود که در نتیجه آن تجمع فنل کل کاهش یافته بود. از طرفی دیگر رقم بی‌دانه سفید تحت سطوح تنش خشکی دارای میزان بالای فعالیت آنزیم PPO بود که منجر به اکسیداسیون فنل‌ها و کاهش هرچه بیش‌تر سطوح فنل کل در این رقم شده بود. در مقابل، رقم‌های چفته و یاقوتی با افزایش سطوح تنش خشکی با فعالیت بالای آنزیم PAL از یک طرف و فعالیت پایین آنزیم PPO از طرف دیگر موجب افزایش تجمع فنل کل شده بودند. با توجه به این‌که تجمع فنل یک راهبرد دفاعی در مقابل تنش خشکی می‌باشد می‌توان بیان

منابع

1. Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S. and Nicolas, J. 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *J. Food Sci.* 57: 4. 958-962.
2. Axelroad, B., Cheesebrough, T.M. and Laasko, S. 1981. Lipoxigenase from soybeans. *Methods Enzymol.* 71: 441-451.
3. Bakhshi, D. and Arakawa, O. 2006. Induction of phenolic compounds biosynthesis with light irradiation in the Tesh of red and yellow apples. *J. App. Hort.* 8: 2. 101-104.
4. Bandoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M. and Öktem, H.A. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant. Grow. Regu.* 42: 1. 69-77.
5. Boudet, A.M. 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochem.* 68: 22. 2722-2735.
6. Coseteng, M.Y. and Lee, C.Y. 1987. Changes in apple polyphenoloxidase and polyphenol concentrations in relation to degree of browning. *J. Food Sci.* 52: 4. 985-989.

7. Egert, M. and Tevini, M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum* L.) Env. Exp. Bot. 48: 1. 43-49.
8. Esteban, M.A., Villanueva, M.J. and Lissarrague, J.R. 2001. Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv. Tempranillo (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. J. Sci. Food Agric. 81: 402-420.
9. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metal and disease. J. Biol. Chem. 259: 1-14.
10. Hura, T., Hura, K., Grzesiak, M. and Rezepka, A. 2007. Effect of long-term drought stress on leaf gas exchange and fluorescence parameters in C₃ and C₄ Plant. Acta. Physiol. Plant. 29: 103-113.
11. Iturbe-ormaeche, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C. and Becana, M. 1998. Oxidative damage in pea plant exposed to water deficit or paraquat. Plant Phys. 116: 173-181.
12. Kar, M. and Mishra, D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. Plant phys. 57: 2. 315-319.
13. Kliebenstein, D.J. 2004. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through Arabidopsis thaliana tinged glasses. Plant Cell. Env. 27: 675-684.
14. Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, M., Grignon, C. and Abdelly, C. 2007. Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiol. Biochem. 45: 244-248.
15. Kuchaki, A. and Alizade, A. 1991. Principle of agriculture in drought condition. Astane Ghodse Razavi. Press, 434p. (In Persian)
16. Liu, F., Jensen, R. and Andersen, N. 2003. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implication in altering pod set. Field. Crop. Res. 86: 1-12.
17. Lozano, J.E., Drudis-Biscari, R. and Ibarz-Ribas, A. 1994. Enzymatic browning in apple pulps. J. Food Sci. 59: 3. 564-567.
18. Marschner, H. 1995 Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd Ed.). Academic Press Inc., London, UK.
19. Myung-Min, H., Trick, H.N., Lozano, J.E., Drudis-Biscari, R. and Ibarz-Ribas, A. 1994. Enzymatic browning in apple pulps. J. Food Sci. 5: 95-109.
20. Myung-Min, H., Trick, H.N. and Rajasheka, E.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. J. Plant Physiol. 166: 180-191.
21. Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossienifard, S.J. and Porseyyedi, Sh. 2013. Study of the rootstock and cultivar effect in PAL activity, production of phenolic and flavonoid compounds on flower, leaf and fruit in Pistachio (*Pistacia vera* L.). Iran. J. Plant Bio. 5: 95-109.
22. Nikolva, M.T. and Ivancheva, S.T. 2005. Quantitative flavonoid variation of *Artemisa vulgaris* and *veronica chamaedry* in relation altitude and pollution environmental. Acta Physiol. Scand. 49: 29-39.
23. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaqi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Ann. Bio. 95: 351-358.
24. Pereira, J.S. and Chaves, M.M. 1995. Plant responses to drought under climate change in Mediterranean-type ecosystems. In Global change and Mediterranean-type ecosystems (pp. 140-160). Springer New York.
25. Rajasheka, E.B. 2009. Secondary metabolism and antioxidant are involved in environmental adaptation and stress tolerance in lettuce. J. Plant Physiol. 166: 180-191.
26. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends. Plant Sci. 2: 152-159.

27. Sairam, R.K., Chandrasekhar, V. and Srivastava, G.C. 2001. Comparison of *hexaploid* and *tetraploid* wheat cultivars in their responses to water stress. *Biol. Plant.* 44: 1. 89-94.
28. Scandalalius, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiol.* 101: 7-12.
29. Shulaev, V. and Oliver, D.J. 2006. Metabolic and proteomic markers for oxidative stress, new tools for reactive oxygen species research. *Plant Physiol.* 141: 367-372.
30. Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2004. Lipooxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Phys. Planta.* 121: 1. 58-65.
31. Sgarbi, E., Baroni Fornasiero, R., Paulino Lins, A. and Medeghini Bonatti, P. 2003. Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape (*Vitis vinifera* L.) leaf. *Plant Sci.* 165: 5. 951-957.
32. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Eno. Vit.* 16: 3. 144-158.
33. Stewart, R.C. and Beweley, J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiol.* 65: 245-248.
34. Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Sarasini, E., Traversi, M.L. and Massai, R. 2006. Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustment in response rot ozone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. *New Phytol.* 170: 779-794.
35. Tiaz, L. and Zeiger, E. 1998. *Plant Physiology*, 2nd. Sinauer Associates Inc., Massachusetts.
36. Vogt, T. 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Molecular Plant.* 3: 2-20.
37. Wang, L.J. and Li, S.H. 2006. Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca²⁺ homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Plant Sci.* 170: 685-694.
38. Wen, P.F., Chen, J.Y., Wan, S.B., Kong, W.F., Zhang, P., Wang, W. and Huang, W.D. 2008. Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. *Plant Growth Reg.* 55: 1. 1-10.
39. Xiao, B., Huang, Y., Tang, N. and Xiong, L. 2007. Over-expression of a LEA gene in rice improves drought resistance under the field conditions. *Theo. App. Gene.* 115: 1. 35-46.

