تاثیر مواد شیمیایی ضد سرما و تغیرات آنزیمی در انگور رقم بیدانه در استان قزوین

شکراله حاجی وند[1*] ، مجید گل محمدی[1]، محمد علی نجاتیان[1]، ولی اله رسولی[1]

۱- اعضاء هیئت علمی بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

*نویسنده مسئول: shokrollah2006@gmail.com

چکیده

افزایش مقاومت به سرما مهمترین موضوع اصلاحی در بیشتر مناطق میوه کاری می باشد. مقاومت جوانه گل، جوانه های برگ و آوند چوبی شاخه (مقاومت بافت های شاخه ها) به سرما می تواند تعیین کننده کشت موفقیت آمیز در درختان میوه باشد. بنابراین، این تحقیق به منظور القاء به سرما در انگور با استفاده از مواد شیمیایی ضد یخ بر روی درختان انگور منطقه تاکستان استان قزوین، به مدت یک سال اجراشد. این پژوهش در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار و بر روی یک رقم انگور بی دانه کشمشی اجرا شد، و هر پلات آزمایشی شامل سه بوته مو بود. تیمارهای آزمایش شامل: تیوفر، کراپ اید، سالیسیلیک اسید، بیوبلوم و شاهد بوده که در زمان های تعیین شده بر روی درختان محلول پاشی شدند. در این مطالعه میزان خسارت سرما به شاخه های یکساله و جوانه ها ی رویشی و زایشی بررسی و وضعیت ظاهری برگها از نظر شکل، رنگ و میزان ریزش آن مقدار افت و کاهش گل در بهار مورد بررسی قرارگرفت. جوانه از نظر رنگ و آسیب وارده بر اندامهای داخلی جوانه با تهیه مقطع سلولی بررسی شدند. شاخه ها یعنی قهوه ای شدن و طول و عمق شکاف در پوست، میزان گسترش آن در شاخه های مختلف و تنه، و بافت های آسیب دیده بررسی شده و در برش عرضی و طولی شاخه ها اثر سرما بر آوندها نیز بررسی گردید. عدم تشکیل میوه و برخی صفات کمی و کیفی میوه یادداشت گردید. داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزارهای SAS آنالیز ومقایسه میانگین ها به روش دانکن انجام شد. نتایج نشان داد اعمال تیمارها به تنهایی باعث افزایش میزان آنزیم های شاخص شده و با تیمار شاهد اختلاف معنی دار نشان داده است. و تیمار بیوبلوم باعث افزایش خواص کمی و کیفی میوه در مقایسه با سایر تیمارها گردید.

کلمات کلیدی: انگور، مقاومت به سرما، مواد ضد سرمازدگی

مقدمه

در بین باغات میوه دنیا ۷۷۰۰ هزار هکتار به باغ انگور اختصاص دارد. با توجه به ارزش اقتصادی و تغذیه ای انگور برنامه توسعه کشت آن در ایران یکی از اهداف مهم وزارت جهاد کشاورزی است. سرما و یخبندان یکی از عوامل محیطی غیرزنده بسیار مهمی است که در اکثر سالها به صورت سرمازدگی بهاره و یا زمستانه بر محصولات زراعی و باغی خسارت وارد می‌سازد.گزارشات متعددی مبنی بر نقش سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرات ناشی از تنش ها وجود دارد. از جمله سالیسیلیک اسید با اثر بر روی آنزیم های آنتی اکسیدان مانند کاتالاز، سوپر اکسیددیسموتاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیدازها و متابولیت هایی مانند آسکوربیک اسید گلوتاتیون، اثرات ناشی از تنشهای خشکی ، گرما (Dat, Foyer, and Scott, 1998) ، سرما(Kang et al., 1973) ، شوری ، بیماریهای گیاهی (Davis, 2005) و فلزات سنگین(Scandalias, 1993) را کاهش می دهد. شاخص های مهمی از قبیل میزان نشت الکترولیت ها،

اختلال در تولید کلروفیل، کاهش میزان فلورسانس کلروفیل و میزان کربوهیدراتها در بررسی میزان حساسیت یا مقاومت به تنش یخ زدگی مورد بررسی قرار می‌گیرند (پارسائیان، ۱۳۸۲). پرولین اسید آمینه محلول در آب است که تحت تنش های محیطی در گیاهان عالی انباشته می شود(Briens & Larher, 1982). یکی از جدیدترین روش های مبارزه با عارضه سرمازدگی که جدیداً به بازار معرفی شده است استفاده از مواد ضد یخ طبیعی می باشد که گیاه را به ساختن پروتئین ضد یخ و آمینواسید ضد یخ تحریک می‌کند. از جمله مواد ضد یخ طبیعی گیاهان تیوفرمی‌باشد، که سبب مقاومت گیاه نسبت به سرما و یخبندان، گرما، آفات می‌شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار و بر روی یک رقم انگور بیدانه کشمشی در ایستگاه تحقیقاتی تاکستان (شکل۱) اجرا و هر پلات آزمایشی شامل سه بوته مو بود. تیمارهای آزمایش شامل: تیوفر، کراپ اید ، سالیسیلیک اسید و شاهد بوده که در زمان های تعیین شده بر روی درختان محلول پاشی گردیدند. در چهار مرحله اولین مصرف در پاییز بیش از به خواب رفتن گیاه مرحله دوم زمان متورم شدن و جوانه زنی جوانه ها مرحله سوم آغاز زمان خوشه دهی و آخرین مرحله هنگام خوشه دهی کامل محلولپاشی انجام گرفت.پس از انجام تیمارهای فوق میزات خسارت وارده به اندامهای رویشی و زایشی بر اساس وضعیت ظاهری آنها ارزیابی و رتبه دهی شد. اندازه گیری میزان پرولین **:**[µg prolin/ml ×ml Toloen/115.5] ÷ [g sample/5] = µ mol پرولین درگرم وزن تر بافت گیاهی. داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزارهای MSTAT-C و Spss آنالیز و میانگین ها به روش دانکن با هم مقایسه شدند. اندازه گیری فعالیت آنزیم ها: برای تهیه عصاره گیاهی به میزان ۰/۵ g وزن تر بافت از هر دو اندام ریشه و اندام هوایی به طور جداگانه از همه تیمارها وزن می شود. سپس به داخل هاون سرد منتقل خواهد شد و توسط ml ۳ بافرشامل(بافر تریس HCl ۰/۰۵ مولار با pH ۷/۵، $MgCl_2$ ۳ میلی مولار، EDTA ۱ میلی مولار) با دسته هاون ساییده می شود. بافر استخراجی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) علاوه بر موارد فوق شامل ۰/۰۲ میلی مولار آسکوربات نیز می باشد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتریفیوژ با نیرویی۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار می گیرند. محلول رویی حاصل به عنوان عصاره ناخالص برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان استفاده شد.اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX): فعالیت APX در همه تیمارها و تکرارها با استفاده از روش شن و آزدا با کمی تغییرات انجام گرفت. ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات mM ۵۰ با pH ۷ شامل (EDTA ۱ میلی مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، ۰/۲ میلی لیتر H_2O_2 ۱٪ (V/V) برداشته و روی آن ۱/. میلی لیتر آنزیم استخراجی اضافه شد. سپس فعالیت آنزیم بر اساس اکسیده شدن آسکوربات و خواندن جذب محلول با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج nm ۴۲۰ اندازه گیری شده که همراه با کاهش جذب در طی دو دقیقه فعالیت آنزیم بوده است. منحنی استاندارد با غلظت های شاهد، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم تهیه شده است. اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX): فعالیت GPX در همه تیمارها و تکرارها با استفاده از روش آپادایا و همکاران انجام گرفت. ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات mM ۵۰ برداشته و روی آن ۱ میلی لیتر H_2O_2 ۱٪ (V/V)، ۱ میلی لیتر گایاکول ۱٪ و ۰/۳ میلی لیتر عصاره آنزیم استخراجی اضافه شد و فعالیت آنزیم در طی دو دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج۴۲۰nm اندازه گیری شد. پس از انجام تیمارهای فوق میزات خسارت وارده به اندامهای رویشی و زایشی بر اساس وضعیت ظاهری آنها ارزیابی شد.

نتایج و بحث

نتایج نشاد داد که ظهور خوشه و خوشه دهی نسبت به شاهد در تیمارها بیشتر و در حد قابل قبولی بوده است. ریزش گل در حد قابل قبولی نسبت به شاهد بوده است. سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان داد که در مورد آنزیم کاتالاز تفاوت معنی داری بین تیمارهای با شاهد مشاهده شد ولی بین تیمارهای T1, T2, T3, T4 اختلاف معنی دار نبود. درمورد آنزیم GPX کمترین مقدار مربوط به نمونه شاهد بود که نشان دهنده این است که مواد ضد سرما باعث افزایش آنزیم گوایاکول پراکسیداز می شود . بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار کراپ اید بود وکمترین مربوط به نمونه شاهد که نشان دهنده این است که مواد ضد سرما باعث افزایش پرولین در گیاه شده و مقاومت ایجاد می کنند. همه تیمارها بر اساس جدول زمانی ذکر شده اعمال گردیده است. نتایج نشان داد که متورم شدت جوانه ها و ظهور برگ در انگور نسبت به شاهد در تیمارها زودتر و در حد قابل قبولی بوده است (جدول۱).

جدول ۱: مقایسه آنزیم های شاخص سرمازدگی در تیمارهای مختلف

تیمارها	یتایین	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	پراکسیداز	پرولین
T1	۰/۸۸۶۳ c	۰/۱۴۰۶ ab	۰/۰۵۲۰a	۰/۰۲۱۰ a	۰/۱۲۳۳ ab
T2	۰/۹۳۰۳ b	۰/۱۴۱۶ a	۰/۰۵۲۶ a	۰/۰۲۲۰ a	۰/۱۴۱۳ a
T3	۱/۳۷۴۶a	۰/۱۴۰۲ a	۰/۰۵۰۰ a	۰/۰۲۴۰ a	۰/۱۳۷۰ ab
T4	۰/۹۹۴۶ a	۰/۱۴۳۶ a	۰/۰۴۹۳ b	۰/۰۱۵۰ b	۰/۱۳۵۰ ab
T5	۰/۷۱۵۶ c	۰/۰۹۳۳ b	۰/۰۴۱۳ b	۰/۰۰۹۶ c	۰/۰۳۶۶ b

T1:تیوفر T2: کروپ اید T3: سالیسیلیک اسید T4: Biobloom T5: شاهد

در بررسی مقایسه برخی از خواص کمی و کیفی میوه انگور نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر در میانگین وزن متوسط خوشه و همچنین عملکرد متوسط در بوته در تیمار T4 (بیوبلوم) مشاهده شد . در سایر تیمارها تاثیر معنی داری روی خواص کمی و کیفی بررسی شده مشاهده نگردید (جدول ۲).

جدول ۲: میانگین اثر تیمارها بر برخی خواص کمی و کیفی میوه انگور

تیمار	عملکرد بوته(بوته/کیلوگرم)	وزن خوشه(گرم)	در صد قند
T1	۲۹۵ b	۱۷ b	۲۱ a
T2	۳۰۰ b	۱۶ b	۲۱ a
T3	۳۲۰ b	۱۶ b	۲۰ a
T4	۳۶۰ a	۲۲ a	۲۲ a
T5	۲۹۰ c	۱۵ c	۲۰ a

منابع

1. Briens, M., Larher, F. 1982. Osmoregulation in halophytic higher plants: a comparative study of soluble carbohydrates, polyols, betanins and fire proline. Plant, Cell and Environ. 5: 287-292.

2. Dat, J. F., Foyer, C. H. and Scott, I. M., 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in Mustard seedlings. *Plant Physiol.* 118: 1455–1461.

3. Davis, P. J. 2005. Plant hormones biosynthesis, signal transduction, action!. *Springer*. Germany.750 pp.

4. Scandalias.J.G. 1993. Oxygen stress and superoxise dismutase. *Plant Physiol.*101:7-12.

5. Kang, G., and Wang, C., Sun, G. and wang, Z. 1973. Salicylic acid changes activities of H2O2-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environ. Exp.Bot.*. 50: 9-15.

Anti-Forest Induction and Enzyme differentiation in Grape in Qazvin Province

Shokrollah Haji Vand[1*]

1- Scientific Member of Department of Seed and Plant Improvement, Agriculture and Natural Resources Research Center of Qazvin, Shahid Beheshti BLV., Qazvin, Iran

[*]Corresponding Authors: shokrollah2006@gmail.com

Abstract

The current research was conducted to evaluate the induction of antioxidant enzymes and resistance to forest on some quantitative and qualitative traits in Grape in Qazvin province. The study design was a randomized complete block with three replications and each plot consisted of three trees. The treatments were Tiofer, Crop Aid, Salisilic Acid, Bio bloom and control which were applied in three different times. The results showed that APX significantly reduced in all of the treatments but GPX was increased compared to control in different treatments. There were no significantly differences in the treatments for CAT enzyme. The highest proline is related to crop aid and salicylic acid treatment, so betaine was significantly increased in all of the treatments compared to control. However the treatments increased the forest tolerances in grape trees and fruit quality.

Key words: Forest, Salisilic Acid, Proline, Enzyme, Stress