تغییر در غلظت نشاسته و قندهای محلول جوانه‌های خفته سه رقم انگور با سطوح مختلف تحمل به سرما

روح الله کریمی[1*] و احمد ارشادی[2]

۱- استادیار گروه فضای سبز، دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر. ۲- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

*نویسنده مسئول: rouholahkarimi@gmail.com

چکیده

در این پژوهش، تغییرات مقادیر LT_{50}، نشاسته و قندهای محلول (ساکاروز، گلوکز، فروکتوز و رافینوز) طی مراحل سازگاری طبیعی به سرما و خروج از سازگاری در سه رقم انگور خلیلی، عسگری و پرلت مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخه‌های یکساله تاک‌های رشدیافته در باغ از این سه رقم، به طور جداگانه طی شش مرحله از آبان تا فروردین به صورت ماهیانه برداشت و مقادیر LT_{50} جوانه‌ها با روش نشت‌یونی و میزان نشاسته آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. همچنین غلظت قندهای محلول جوانه‌ها با دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) سنجیده شد. در تمامی مراحل نمونه‌برداری، بین مقاومت به سرمای ارقام اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ مشاهده شد. در بهمن ماه LT_{50} ارقام خلیلی، عسگری و پرلت به ترتیب ۲۵/۷۸-، ۲۲/۴۳- و ۲۰/۲۳- درجه‌سانتیگراد بود. همبستگی مثبتی بین غلظت نشاسته و مقادیر LT_{50} در هر سه رقم مشاهده شد. محتوای نشاسته ارقام از آبان تا بهمن کاهش و از اسفند تا فروردین تا حدودی افزایش یافت. غلظت قندهای محلول در تمام مراحل اندازه‌گیری به طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تاثیر رقم قرار گرفت. الگوی فصلی تغییرات غلظت قندهای محلول برعکس نشاسته بود. غلظت رافینوز در این مرحله در ارقام خلیلی، عسگری و پرلت به ترتیب ۱۷/۹۱، ۱۳/۹۶ و ۱۰/۰۳ میکرومول در گرم وزن تر بود. در بین قندهای محلول بیشترین میزان همبستگی مربوط به رافینوز بود. حداکثر تحمل به سرما زمانی مشاهده شد که جوانه‌ها ارقام دارای بالاترین مقدار قندهای محلول بودند که حاکی از ارتباط این قندها با تحمل به سرما در انگور می‌باشد.

کلمات کلیدی: انگور، تحمل به یخ زدگی، قندهای محلول

مقدمه

در بسیاری از محصولات باغبانی، داشتن دانش راجع به تحمل یخزدگی و دینامیک سازگاری به سرما و نیز خروج از مرحله سازگاری و فهم تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با آنها هم به لحاظ تئوری و هم تجاری حائز اهمیت بوده و می‌تواند برای اصلاح مقاومت به سرما در گونه ها و ارقام انگور از طریق مهندسی ژنتیک موثر باشد. طی فصل خواب، نشاسته موجود در تنه و شاخه یکساله و دوساله و جوانه‌ها به کربوهیدرات‌های محلول تبدیل می‌شوند این تغییر، تحمل به یخزدگی را در این اندام‌ها افزایش می‌دهد. نقش‌های متعددی راجع به تاثیر قندها در تحمل یخزدگی از قبیل اثرات اسمزی، کاهش نقطه انجماد در جوانه فراسرد شده، حفاظت از پروتئین‌ها و غشاءها در برابر یخزدگی و تولید انرژی پیشنهاد شده است (هامن و همکاران، ۱۹۹۶). ساکاروز یکی از قندهای محلول است که در رابطه با ارتباط این قند با تحمل به سرما مطالعات زیادی انجام شده است. در طی سازگاری به سرما در ریشه‌های یونجه غلظت ساکاروز، استاکیوز و رافینوز افزایش ولی غلظت گلوکز، فروکتوز و نشاسته کاهش یافته است (کاستونگوی و همکاران، ۱۹۹۵). تنش سرما منجر به افزایش میزان گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و رافینوز در آرابیدوپسیس شده است (تاجی و همکاران، ۲۰۰۲). در مطالعه حاضر، تحمل به سرما ، تغییر در محتوای نشاسته و قندهای محلول (ساکاروز، گلوکز، فروکتوز و رافینوز) سه رقم خلیلی، عسگری و پرلت طی شش مرحله از آبان تا فروردین ماه ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، ارقام خلیلی، عسگری و پرلت برای اندازه‌گیری تغییرات نشاسته و قندهای محلول انتخاب و از هر رقم پنج بوته با رشد یکنواخت در محل باغ مادری ایستگاه تحقیقات انگور ملایر برای انجام کارهای بعدی علامت گذاری شد. این پژوهش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی طی شش مرحله از آبان تا فروردین به صورت ماهیانه انجام شد. در هر مرحله از نمونه‌برداری، پنج قلمه به طول ۲۵-۲۰ سانتی متر از گره های میانی شاخه های یکساله از اطراف هر بوته انتخاب و جمع آوری شد. شاخه ها پس از اتیکت گذاری، درون کیسه های پلاستیکی گذاشته و بلافاصله درون نیتروژن مایع منجمد و برای اندازه‌گیری های بعدی به آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه خوارزمی تهران منتقل شدند. بررسی مجدد مقاومت به سرمای این ارقام با استفاده از روش نشت‌یونی (کریمی و ارشادی، ۲۰۱۵) انجام شد. استخراج و اندازه‌گیری نشاسته با روش هج و هوفرایتر (۱۹۶۲) صورت گرفت. غلظت نشاسته بر اساس منحنی استاندارد محلول نشاسته تعیین و به صورت میکرومول گلوکز در گرم وزن تر بیان شد. استخراج قندهای محلول به روش شین و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. تجزیه داده‌ها با نرم افزار آماری SAS 9.1 مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) بین مقاومت به سرمای (مقادیر LT_{50}) ارقام در هر شش مرحله ارزیابی آبان، آذر، دی، بهمن، اسفند و فروردین وجود داشت. در هر سه رقم، مقاومت به سرما همزمان با کاهش دما افزایش و در بهمن ماه به حداکثر میزان در تمامی مراحل نمونه‌برداری رسید. با افزایش تدریجی دما در اسفند ماه مقاومت به سرما رو به کاهش گذاشت و این روند تا آخرین مرحله نمونه‌برداری ادامه داشت (جدول ۱). تفاوت ارقام در مقاومت به سرما ممکن است با پایه ژنتیکی آنها و توانایی واکنش‌های دفاعی متابولیکی طی سازگاری به سرما مرتبط باشد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۱- مقایسه میانگین مقادیر LT_{50} در سه رقم انگور خلیلی، عسگری و پرلت طی شش مرحله نمونه‌برداری

ارقام	LT_{50} (°C)					
	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	فروردین
خلیلی	-۱۶/۰۸ ±۰/۴۵	-۱۹/۱۲ ±۰/۶۴	±۰/۳۴ -۲۳/۹۲	-۲۵/۷۸ ±۰/۵۳	-۲۱/۴۸ ±۰/۳۰	-۱۴/۱۰ ±۰/۳۲
عسگری	-۱۴/۵۳ ±۰/۴۹	-۱۷/۶۵ ±۰/۵۰	±۰/۵۲ -۲۱/۲۳	-۲۲/۴۳ ±۰/۶۱	-۲۰/۱۸ ±۰/۶۵	-۱۰/۷۳ ±۰/۴۳
پرلت	-۱۰/۰۳ ±۰/۶۰	-۱۴/۴۶ ±۰/۳۴	±۰/۵۳ -۱۹/۴۲	-۲۰/۳۲ ±۰/۴۶	-۱۸/۷۳ ±۰/۷۲	-۶/۵۱ ±۰/۵۴

اختلاف معنی‌داری بین غلظت نشاسته ارقام در همه مراحل نمونه‌برداری در سطح ۱٪ مشاهده شد . غلظت نشاسته از زمان شروع نمونه‌برداری در آبان ماه تا بهمن ماه در هر سه رقم رو به کاهش گذاشت. این تغییرات ضمن کاهش پتانسیل اسمزی در بافت‌ها، باعث محافظت بافت‌ها و افزایش تحمل به یخزدگی در گیاهان افزایش می‌دهد (کلر، ۲۰۱۰). مارکوات و همکاران (۱۹۹۹) بیان کردند که جوانه‌های در حال خواب درختان هلو قادر به جذب مولکول های اسمزی و پر انرژی از بافت‌های مجاور نیستند به همین خاطر از ذخایر نشاسته ای خود برای سنتز این قبیل مولکول ها مانند ساکاروز و رافینوز استفاده می کنند غلظت نشاسته ارقام خلیلی، عسگری و پرلت در مرحله رکود عمیق در بهمن ماه نسبت به مرحله شروع سازگاری به سرما در آبان به ترتیب ۴۸٪، ۴۶٪ و ۴۳ ٪ کاهش یافت که نشان دهنده تجزیه مقادیر بیشتر نشاسته به کربوهیدرات‌های محلول در ارقام با مقاومت بیشتر به سرما می‌باشد.

همزمان با شکست خواب و قبل از شکوفایی میزان نشاسته افزایش یافت. در مراحل شروع رکود، غلظت نشاسته در جوانه رقم خلیلی به مراتب بیشتر از ارقام عسگری و پرلت بود که این تفاوت تا مرحله رکود عمیق (بهمن ماه) مشهود بود ولی از بهمن تا فروردین سطح نشاسته جوانه‌ها در رقم عسگری افزایش نسبتاً بیشتری یافت و تقریباً مشابه رقم خلیلی بود در حالیکه رقم پرلت در این مرحله نیز دارای ذخایر نشاسته خیلی کمتری در جوانه‌ها بود (شکل ۳-۲). بین تجمع نشاسته و مقادیر LT_{50} برآورد شده برای هرکدام از ارقام و نیز میانگین دمای پنج روز قبل از نمونه‌برداری همبستگی مثبت معنی‌داری ($P \geq ۰/۰۱$) مشاهده شد.

غلظت قندهای محلول ساکاروز، گلوکز و رافینوز در هر شش مرحله اندازه‌گیری و فروکتوز از بهمن تا فروردین در سطح ۱٪ تحت تاثیر نوع رقم قرار گرفت. تفاوت در غلظت فروکتوز جوانه‌های سه رقم انگور از آبان تا دی در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. الگوی فصلی تغییرات غلظت قندهای محلول برعکس نشاسته بود. به طور کلی غلظت قندهای محلول طی سازگاری به سرما افزایش و در زمستان (دی و به ویژه بهمن ماه) به اوج خود رسیده و به سمت بهار کاهش یافت. کمترین غلظت ساکاروز جوانه انگور در هر شش مرحله اندازه‌گیری در رقم پرلت مشاهده شد. در سه مرحله اول اندازه‌گیری، غلظت ساکاروز جوانه‌های رقم خلیلی بیش از رقم عسگری بود ولی در سه مرحله بعدی این دو رقم تفاوت کمی از نظر غلظت ساکاروز جوانه داشتند (شکل ۳-۳). کمترین غلظت گلوکز در تمام مراحل مربوط به رقم پرلت بود. غلظت گلوکز در رقم خلیلی در تمام مراحل به جز فروردین ماه بیشتر از رقم عسگری بود. بیشترین غلظت گلوکز اندازه‌گیری شده در رقم خلیلی در بهمن ماه مشاهده شد ولی در دو رقم دیگر حداکثر غلظت این قند محلول در دی‌ماه یافت شد. در تمام مراحل اندازه‌گیری، غلظت فروکتوز جوانه ارقام خلیلی و عسگری تشابه زیادی با هم داشت ولی رقم پرلت از این نظر تفاوت چشمگیری با دو رقم اخیر داشت. بیشترین غلظت فروکتوز در ارقام خلیلی و عسگری در بهمن ماه مشاهده شد با این حال در رقم پرلت بیشترین غلظت این قند در دی‌ماه دیده شد. در ارقام خلیلی و عسگری بین غلظت گلوکز و فروکتوز با مقادیر LT_{50} و میانگین دمای پنج روز قبل از نمونه‌برداری همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد ولی این همبستگی در مورد رقم پرلت معنی‌دار نشد. غلظت رافینوز در پاییز شروع به افزایش نموده و در دی و بهمن به حداکثر رسید و پس از آن تا بهار شروع به کاهش کرد. بیشترین غلظت رافینوز در بهمن ماه همزمان با اوج مقاومت به سرمای ارقام مشاهده شد. غلظت رافینوز در این مرحله در ارقام خلیلی، عسگری و پرلت به ترتیب ۱۷/۹۱، ۱۳/۹۶ و ۱۰/۰۳ میکرومول در گرم وزن تر بود. در اسفند و به ویژه فروردین ماه غلظت این الیگوساکارید به تدریج کاهش پیدا کرد که با افزایش دمای محیط و کاهش مقاومت به سرمای ارقام در ارتباط بود. الگوی تغییرات رافینوز مشابه با تغییرات مقاومت به سرما ارقام بود (شکل ۳-۶) و همبستگی بالایی بین غلظت رافینوز و مقادیر LT_{50} ارقام مشاهده شد (جدول ۳-۴) به طوری که رقم مقاوم به سرمای خلیلی و رقم حساس پرلت در تمامی مراحل نمونه‌برداری به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار الیگوساکارید رافینوز را در جوانه‌های خود تجمع داده بودند.

کربوهیدرات‌های غیر ساختاری از قبیل قندهای محلول در آب نقش مهمی در مقاومت به سرمای بسیاری از گیاهان دارند. در مطالعه کاستونگوی و همکاران (۱۹۹۵) ساکاروز، استاکیوز، و رافینوز در ریشه های یونجه افزایش، در حالیکه غلظت گلوکز، فروکتوز و نشاسته طی سازگاری به سرما کاهش یافت. در چمن بوفالو همزمان با سازگاری به سرما ساکاروز، فروکتوز، گلوکوز و رافینوز افزایش یافت (بال و همکاران،۲۰۰۲). قندهای محلول به عنوان ترکیبات ضد یخ در سلول عمل نموده و با کاهش نقطه انجماد مایع درون سلولی از تشکیل یخ درون سلولی جلوگیری می کنند (منگ و همکاران، ۲۰۰۸). همبستگی بالایی بین غلظت رافینوز و مقاومت به سرمای ارقام مشاهده شد به طوری که رقم مقاوم به سرمای خلیلی و رقم حساس پرلت در تمامی مراحل نمونه‌برداری به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار الیگوساکارید رافینوز را در جوانه‌های خود تجمع داده بودند لذا می توان عنوان کرد که رافینوز نقش مهمی در تحمل به یخ‌زدگی در انگور دارد.

منابع

1. Ashworth, E.N., Stirm, V.E. and Volenec, J.J. 1993. Seasonal variations in soluble sugars and starch within woody stems of *Cornus sericea* L.. Tree Physiology, 13:379-388.
2. Ball, S., Qian, Y., Stushnoff, C. 2002 .Soluble carbohydrates in two buffalograss cultivars with contrasting freezing tolerance. Journal of the American Society for Horticultural Science, 127:45-49.
3. Bertrand, A., Robitaille, G., Castonguay, Y., Nadeau P.U. and Boutin R. 1997. Changes in ABA and gene expression in cold-acclimated sugar maple. Tree Physiology, 17:31- 37.
4. Castonguay, Y., Nadeau, P., Lechasseur, P. and Chouinard, L. 1995. Differential accumulation of carbohydrates in alfalfa cultivars of contrasting winter hardiness. Crop Science, 35:509-516.
5. Hamman, R.A., Dami, E., Walsh, T.M. and Stushnoff, C. 1996. Seasonal carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. American Journal of Enology and Viticulture, 47:31-36.
6. Hedge, J. E. and Hofreiter, B. T. 1962 .Carbohydrate chemistry" In: whistler, R. L. and Be-Miller J. N. (Eds), Academic press, New York.211p.
7. Karimi R and Ershadi A .2015. Rol of exogenous abscisic acid in adapting of 'Sultana' grapevine to low tempera–ture stress. Acta Physiologia Plantaroum. 37:15.
8. Keller, M. 2010. The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology. Burlington, MA: Academic Press.
9. Marquat, C., Vandamme, M., Gendraud, M. and Petal, G. 1999. Dormancy in vegetative bud of peach: relation between carbohydrate absorption potentials and carbohydrate concentration in the bud during dormancy and its release. Scientiea Horticulture, 79:151-162.
10. Meng, F., Hu, L., Wang, S., Sui, X., Wei, L., Wei, Y., Sun, J. and Zhang, Z. 2008. Effects of exogenous abscisic acid (ABA) on cucumber seedling leaf carbohydrate metabolism under low temperature. Plant Growth Regulators, 56:233-244.
11. Shin, K.S., Chakrabarty, D. and Paek, K.Y. 2002. Sprouting rate, change of carbohydrate contents and related enzymes during cold treatment of Lily bulblets regenerated in vitro. Scientia Horticulturae, 96: 195-204.
12. Taji, T., Ohsumi, C., Iuchil, S., Sekil, M., Kasuga, M., Kobayashil, M. and Shinozaki, K.Y. 2002. Important roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana. Plant Journal, 29:417-426.
13. Zhang, X., Wang, K. and Ervin E.H. 2008. Bermudagrass freezing tolerance associated with abscisic acid metabolism and dehydrin expression during cold acclimation . Journal of the American Society for Horticultural Science, 133:542-550.

Changes in starch and soluble sugar in three grapevine cultivars with different levels of cold tolerance

R. Karimi[1*] and A.Ershadi[2]

1- Department of Landscape Engineering, Malayer University, Malayer 6571995863, Iran. 2- Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan 6517833131, Iran

*Corresponding author: rouholahkarimi@gmail.com

Abstract

Changes in $LT_{50,}$ starch and soluble carbohydrate levels in response to natural cold acclimation and deacclimation were monitored in three grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars with different levels of cold hardiness including 'Khalili', 'Asgari' and 'Perllet'. Cane samples from field-grown plants of three cultivars were harvested in six sampling stage from November till April. Bud samples were evaluated for cold

hardiness (LT_{50}) by electrolyte leakage measurement in controlled freezing condition, then analyzed for carbohydrates, including starch, sucrose, glucose, fructose and raffinose. Qualitative changes in soluble sugar content were determined with high-performance liquid chromatography (HPLC) of authentic standards. LT_{50} values, estimated by EL, allowed us to discriminate between the cultivars in terms of FT. Freezing tolerance of buds differed significantly between cultivars and sampling dates ($P < 0.01$) and increased markedly from November to mid-February. Buds from field-grown vines of *V. vinifera* acclimated through the fall to a minimum LT_{50} in February, gradually deacclimated until March, and then rapidly deacclimated. Starch levels in buds declined from November to February, reached 46.2, 35.5, 21.2 mg Glu. g^{-1} FW at 'Khalili', 'Asgari' and 'Perllet' in respectively and rose coincident with the changes in LT_{50}. Seasonal changes in concentrations of sucrose, glucose, fructose and raffinose, were analyzed in each three cultivars during six sampling dates. Concentrations of soluble carbohydrates varied to different extents depending on the nature of the carbohydrate considered and the grapevine cultivars ($P<0.01$), but generally concentrations of all quantified soluble carbohydrates were considerably higher in 'Khalili' than 'Asgari' and to great extend 'Perllet'. Glucose was the primary soluble sugar in bud tissues, reaching 84.2 µmol/g FW in the middle of winter (February). As a comparison, fructose reached only about 61.7 µmol/g FW; sucrose reached about 100 µmol/g FW, while raffinose reached about 18 µmol/g FW. There were significant negative correlations between LT_{50} and these sugars in bud tissue.

Key words: Grapevine, freezing tolerance, soluble sugar