

تأثیر آلودگی با قارچ *Botrytis cinerea* بر تولید رسوراترول و دلتا وینیفیرین در سه رقم انگور ایرانی

عاطفه امینی^۱، احمد ارشادی^{۱*}، دوست مراد ظفری^۱، مسعود مشهدی اکبر بوجار^۲

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار گروه علوم باغبانی و دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. ۲- دانشیار گروه بیوشیمی دانشگاه خوارزمی، تهران.

*نویسنده مسئول: Ershadi@basu.ac.ir

چکیده

پوسیدگی خاکستری ایجاد شده توسط *Botrytis cinerea* یک تهدید جدی برای پرورش انگور بخصوص در مناطق با آب و هوای مرطوب و بارانی است. یکی از مکانیزم های مقاومت، تولید فیتوالکسین ها در بافت های مختلف انگور است که از جوانه زنی و رشد میسیلیوم قارچ جلوگیری کرده و یک راه مؤثر مقابله با بیماری است. در این پژوهش بوته های انگور سه رقم بیدانه سفید، فخری و عسگری با سوسپانسیون قارچ با غلظت $10^6 \times 1/8$ (تیمار) و آب مقطر (شاهد) محلول پاشی شدند و پس از سه روز غلظت رسوراترول و دلتا وینیفیرین در برگ و گل سه رقم انگور اندازه گیری شد. به طور کل آلوده سازی بوته ها با قارچ باعث افزایش بیشتر رسوراترول در مقایسه با دلتا وینیفیرین در برگ و گل های سه رقم مورد بررسی شد. بیشترین مقدار رسوراترول گل و برگ بوته های شاهد و تیمار شده در رقم بیدانه سفید مشاهده شد. غلظت رسوراترول در نمونه های گل و برگ رقم فخری در عکس العمل به آلودگی با قارچ افزایش چشمگیری داشت. بالاترین غلظت دلتا وینیفیرین در نمونه های گل و برگ به ترتیب در ارقام بیدانه سفید و فخری مشاهده گردید. مقادیر کمتری از فیتوالکسین ها در رقم عسگری در مقایسه با دو رقم دیگر شناسایی شد.

واژه های کلیدی: پوسیدگی خاکستری، فیتوالکسین ها، انگور

مقدمه

استیلین ها متابولیت های ثانویه پلی فنولی با خواص فیتوالکسینی هستند که به طور طبیعی در تعداد زیادی از گیاهان از جمله انگور تولید می شوند و گیاهان را قادر می سازند تا با حمله پاتوژن ها مقابله کنند. تولید این فیتوالکسین ها بعد از آلودگی بافت های مختلف گیاه با قارچ هایی مثل بوتریتیس افزایش می یابد (باوارسکو، ۲۰۰۹). فیتوالکسین ها فعالیت بیولوژیکی درمقابل بسیاری از پاتوژن ها دارند و می توانند به عنوان نشانگرهایی برای مقاومت به بیماری در نظر گرفته شوند (جیندت و همکاران، ۲۰۰۲). پوسیدگی خاکستری ایجاد شده توسط *Botrytis cinerea* یک تهدید جدی برای پرورش انگور بخصوص در مناطق با آب و هوای مرطوب و بارانی است. آلودگی توسط کنیدی قارچ در طول فصل رشد می تواند اتفاق افتد. اما گلدهی اولین و اغلب مهم ترین زمان آلودگی در طی رشد انگور است (المرو همکاران، ۲۰۰۷). اگرچه استفاده از قارچ کش ها شیوع این بیماری را به شدت کاهش می دهد اما تأثیر منفی سموم شیمیایی روی محیط زیست کاملاً شناخته شده است. از طرفی کاربرد آن ها ممکن است باعث به وجود آمدن استرین های مقاوم به قارچ کش ها شود (تمپریو و همکاران، ۲۰۱۲). یکی از مکانیزم های مقاومت، تولید فیتوالکسین ها است که از جوانه زنی و رشد میسیلیوم قارچ جلوگیری کرده و یک راه مؤثر مقابله با بیماری می باشد. فیتوالکسین ها نسبت به قارچ کش های شیمیایی سمیت کمتری برای پاتوژن ها دارند، ولی در مقادیر بالا در بافت های گیاه تجمع یافته و از خسارت قارچ های بیماری زا جلوگیری می کنند (درکس و همکاران، ۱۹۹۵). این پژوهش با هدف بررسی تولید فیتوالکسین ها در سه رقم انگور تجاری ایرانی تلقیح شده با قارچ بوتریتیس انجام شد.

مواد و روش ها

این پژوهش در یکی از باغات انگور شهرستان ملایر و روی سه رقم انگور ایرانی فخری، بیدانه سفید و عسگری به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و در ۴ تکرار انجام شد. کنیدی قارچ بوتریتیس روی محیط سیب زمینی - دکستروز - آگار کشت شد و به مدت دو هفته در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد در انکوباتور نگهداری شد. پس از این مدت ۵ میلی

لیتر آب مقطر استریل به محیط اضافه شده و سپس کنیدی های قارچ با کمک یک اسکالپل استریل از روی محیط جدا شد. شمارش تعداد اسپورها با لام هموسیتمتر انجام شد و برای رسیدن به غلظت مورد نظر ($10^6 \times 1/8$ اسپور در میلی لیتر) از اضافه آب مقطر استریل استفاده شد. بونه ها با سوسپانسیون قارچ (تیمار) و آب مقطر (شاهد) مخلول پاشی شده و برای حفظ رطوبت لازم جهت رشد قارچ، شاخه ها با پلاستیک پوشانده شدند. جوانه زنی اسپورها در طی سه روز بعد از آلودگی بررسی شد. پس از مشاهده جوانه زنی اسپورها، نمونه هایی از خوشه گل و برگ از هر رقم جمع آوری شده و پس از انجام در ازت مایع تا شروع اندازه گیری ها به فریزر با دمای 80^- درجه سانتیگراد منتقل شدند.

غلظت رسوراترول و دلتا وینیفیرین در برگ و خوشه های گل طبق روش تمپریو و همکاران (۲۰۱۲) اندازه گیری شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS ۹.۱ و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اثر رقم و تیمار آلودگی با قارچ بر غلظت رسوراترول در خوشه های گل و برگ هر سه رقم در سطح ۱٪ معنی دار شد. همچنین اثر متقابل تیمار و رقم در سطح ۱٪ معنی دار شد. در شرایط عدم آلودگی بین ارقام از نظر غلظت رسوراترول خوشه های گل اختلاف معنی داری وجود داشت، به طوری که رقم بیدانه سفید بیشترین و رقم عسگری کمترین غلظت رسوراترول را داشتند ولی تفاوت کمتری بین ارقام از نظر رسوراترول برگ وجود داشت.

اگرچه ارقام بیدانه سفید و عسگری، بیشترین و کمترین میزان تولید رسوراترول را در گل های خود تحت شرایط آلودگی داشتند ولی میزان عکس العمل و افزایش در تولید رسوراترول در گل ارقام فخری و عسگری تحت شرایط آلودگی با قارچ بیش از رقم بیدانه سفید بود. میزان تولید رسوراترول در برگ هر سه رقم مورد بررسی تحت آلودگی با قارچ افزایش یافت ولی این افزایش در رقم عسگری جزئی و در مقایسه با گیاهان شاهد غیر معنی دار بود.

اثر رقم و تیمار آلودگی با قارچ بر میزان تولید دلتا وینیفیرین در خوشه های گل هر سه رقم در سطح ۱٪ معنی دار است. همچنین اثر متقابل تیمار و رقم در سطح ۱٪ معنی دار شد. مقایسه میانگین ها نشان داد بالاترین غلظت دلتا وینیفیرین در گل مربوط به رقم بیدانه سفید و کمترین میزان تولید مربوط به رقم عسگری بود. حداکثر تولید دلتا وینیفیرین در برگ رقم فخری مشاهده شد و بین دو رقم بیدانه سفید و عسگری از این نظر اختلاف معنی داری دیده نشد.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر آلودگی با قارچ بر تولید فیتوالکسین ها (میکرو گرم بر گرم وزن تازه) در سه رقم انگور

		دلتا وینیفیرین برگ	دلتا وینیفیرین گل	رسوراترول برگ	رسوراترول گل
بیدانه سفید	بیدانه سفید	۲/۶۰ ^c	۶/۱۳ ^b	۲/۳۷ ^c	۹/۱۳ ^c
	عسگری	۳/۷۷ ^{bc}	۱/۱۳ ^c	۱/۳ ^d	۲/۸۳ ^f
	فخری	۶/۹۷ ^{ab}	۵ ^b	۱/۹۳ ^{cd}	۶/۹۷ ^d
عسگری	بیدانه سفید	۲/۹۷ ^c	۸/۹۲ ^a	۴/۱۳ ^a	۱۴/۹۷ ^a
	عسگری	۲/۷۷ ^c	۱ ^c	۱/۶۷ ^{cd}	۴/۷۳ ^e
	فخری	۷/۶۷ ^a	۹/۳۰ ^c	۳/۳۷ ^b	۱۳/۳۰ ^b

حروف مشابه در هر ستون نشانگر معنی دار نبودن اختلاف ها است. ($P < 0.05$)

طبق گزارش تمپریو و همکاران (۲۰۱۲) در برگ های رقم کابرننت ساویگنون غلظت های بالایی از ترانس رسوراترول به خصوص بعد از آلودگی با بوتریتیس در مقایسه با شاهد یافت شد و غلظت کمتر ترانس رسوراترول در گل های این رقم مشاهده شد. در مقابل رقم مرلت غلظت بالایی از ترانس رسوراترول را در گل ها نسبت به برگ ها نشان داد. حضور فیتوالکسین های استیلین در حبه های انگور مورد بررسی قرار گرفته است و نشان داده شده که بین محتوی رسوراترول و مقاومت به بیماری رابطه وجود دارد. پترواستیلین، رسوراترول و وینیفیرین قارچ کش هایی هستند که توسط آلودگی با قارچ یا اشعه UV تولید می شوند (آدریان و همکاران، ۲۰۰۰)، (لانگکک و همکاران، ۱۹۷۹). توانایی برای سنتز رسوراترول به عنوان یک معیار مناسب برای انتخاب ارقام مقاوم به پوسیدگی خاکستری در نظر گرفته شده است (اسباقی و همکاران، ۱۹۹۵). باوارسکو و همکاران (۱۹۹۷) تحریک و تجمع رسوراترول در حبه های آلوده به قارچ پوسیدگی خاکستری را مطالعه کردند و مشاهده کردند حبه های رقم مقاوم به بوتریتیس کاستور بیشترین غلظت ترانس رسوراترول و اپسیلون وینیفیرین را در مقایسه با رقم حساس ها کسل رب تولید کرد و علائم آلودگی کمتری نشان داد.

منابع

- Adrian, M., P. Jeandet, A.C. Douillet-Breuil, L. Tesson, and R. Bessis. 2000. Stilbene content of mature *Vitis vinifera* berries in response to UV-C elicitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 6103-6105.
- Bavaresco, L., C. Fregoni, M.I. Gonçalves, and S. Vezzulli. 2009. Physiology and molecular biology of grapevines stilbenes: An update. In: Roubelakis-Angelakis, K.A(ed). *Grapevine Molecular Physiology and Biotechnology*. 2d Edition. Springer Science and Business Media. pp: 341-364.
- Bavaresco, L., D. Petegolli, E. Cantu, M. Fregoni, G. Chiusa, and M. Trevisan. 1997. Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea*. *Vitis*. 36(2): 77-83.
- Dercks, Wk., L.L Creasy, and C. J. Luczka-Bayles. 1995. Stilbene phytoalexins and disease resistance in *Vitis*. In *handbook of Phytoalexin Metabolism and Action*. Daniel, M., R.P. Purkayashita, Eds: Marcel Dekker: New York. pp: 287-315.
- Elmer, P.A.G. and T.J. Mihailides. 2007. Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops. In: Elad Y, et al(eds). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Springer. pp: 243-272.
- Jeandet, P., A. Celine Douillet, R. Besis, S. Debord, M. Sbaghi, and M. Adrian. 2002. Phytoalexins from the vitaceae: Biosynthesis, Phytoalexin gene expression in transgenic plants, antifungal activity, and metabolism. *Agricultural and Food Chemistry Reviews*. 50: 2731-2741.
- Langcake, P. and W.V. McCarthy. 1979. The relationship of resveratrol production to infection of grapevine leaves by *Botrytis cinerea*. *Vitis*. 18: 244-253.
- Sbaghi, M., R. Jeandet, B. Faivre, R. Bessis, and J.C. Fourniox. 1995. Development of methods using phytoalexin (resveratrol) assessment as a selection criterion to screen grapevine in vitro cultures for resistance to gray mould (*Botrytis cinerea*). *Euphytica*. 86: 41-47.
- Timperio, A.M., A. D'Alessandro, M. Fagioni, P. Magro, and L. Zolla. 2012. Production of phytoalexins trans-resveratrol and delta-viniferin in two economy-relevant grape cultivars upon infection with *Botrytis cinerea* in field conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*. 50: 65-71.

Production of resveratrol and delta-viniferin in three Iranian grape cultivars as influenced by *Botrytis cinerea*

A. Amini¹, *A. Ershadi¹, D. Zafari¹, M.M.A. Boojar²

1- M.Sc. Student, Assistant professor, Department of Horticultural Sciences and Associate professor, Department of Plant Protection, Bu-Ali Sina University, Hamedan- Iran. 2- Associate professor, Department of Biochemistry, Kharazmi University, Tehran- Iran.

*Corresponding author: Ershadi@basu.ac.ir

Abstract

Gray mold caused by *Botrytis cinerea* is a serious threat to grape cultivation, in particular during wet and rainy weather. The production of the phytoalexins in different grape tissues, is effective against fungal diseases, as it inhibit spore germination and growth of the fungal pathogen. In this study, leaves and flowers of three grape cultivars: Bidaneh sefid, Fakhri and Asgari were inoculated at full- bloom stage with a suspension of *Botrytis cinerea* conidia ($1/8 \times 10^6$) or sprayed with sterile distilled water (control) and the concentration of resveratrol and delta-viniferin of leaves and flower bunches were evaluated after three days. In general, inoculation of vines with *Botrytis cinerea* resulted in higher accumulation of resveratrol in leaves and flowers in comparison with delta-viniferin. The highest concentrations of resveratrol was found in flowers and leaves of inoculated and control plants of 'Bidaneh sefid'. A considerable increase of resveratrol was seen in leaves and flowers inoculation vines of 'Fakhri'. The maximum amounts of delta-viniferin was found in leaves and flowers of 'Bidaneh sefid' and 'Fakhri', respectively. 'Asgari' contained lower amounts of phytoalexins, compared to the other cultivars.

Keywords: Gray mold, Phytoalexins, Grape