اثر کاربرد برگی اسید آبسیزیک در بهبود مقاومت به سرمای انگور بیدانه سفید

روح الله کریمی[۱]، احمد ارشادی[۱*]، محمود اثنی عشری[۱]، مسعود مشهدی اکبر بوجار[۲]

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار گروه باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ۲- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه خوارزمی، تهران

* نویسنده مسئول: Ershadi@basu.ac.ir

چکیده

انگور یکی از میوه های مناطق معتدله است که به خاطر پراکنش جغرافیایی گسترده، به میزان زیادی در معرض دماهای زیر صفر قرار می گیرد. یکی از راههای ممکن برای مقابله با این مشکل استفاده از ترکیبات شیمیایی نظیر اسید آبسیزیک (ABA) است. ABA یک هورمون القاء کننده خواب در جوانه بوده که باعث توسعه مقاومت به سرما در گیاهان مختلف می شود. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کاربرد خارجی غلظت های مختلف ABA (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار) در افزایش مقاومت به سرمای نهال های یکساله انگور رقم بیدانه سفید انجام شد. سه روز پس از تیمار هورمونی، نهال ها تحت تیمارهای دمایی صفر، ۲- و ۴- درجه سانتیگراد قرار گرفتند و میزان نشت یونی و شاخص های فیزیولوژیک از قبیل کربوهیدرات های محلول، پرولین، پراکسیداسیون لیپید های غشا و پروتئین نهال ها اندازه گیری شد. تیمار ABA باعث کاهش معنی داری($p \leq ۰/۰۱$) در میزان نشت یونی و پراکسیداسیون لیپید های غشاء نسبت به شاهد شد و به طور متوسط تا سه درجه سانتیگراد مقاومت به سرمای نهال های انگور را نسبت به شاهد افزایش داد. غلظت کربوهیدرات های محلول، پرولین و پروتئین در برگ های تیمار شده با ABA، اختلاف معنی داری با شاهد داشتند. تیمار ۲۰۰ میکرومولار ABA بیشترین اثر را در کاهش آسیب ناشی از تنش سرما داشت. نتایج نشان داد که کاربرد ABA می تواند به عنوان یک ابزار پیشگیری کننده برای محافظت ارقام انگور در مناطق سرد به کار رود.

کلمات کلیدی: اسید آبسیزیک، انگور، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، تحمل یخ زدگی

مقدمه

دمای پایین یک عامل مهم در پراکنش، رشد و باردهی انگور (*Vitis vinifera* L.) به خصوص در عرض های جغرافیایی زیاد به شمار می رود (میلز و همکاران ۲۰۰۶). یخبندان های دیررس بهاره و زودرس پاییزه می تواند در مناطقی رخ دهد که به طور عادی دچار خسارت سرمازدگی زمستانه نمی شوند(فنل، ۲۰۰۴). اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به عنوان یک روش مناسب برای تخمین سلامت و تراوایی غشاء پس از سرما مورد استفاده می شود. اندازه گیری شاخص های فیزیولوژیکی مرتبط با سرما همراه با روش نشت یونی اطلاعات دقیق تری از میزان مقاومت به سرما در اختیار محققان قرار می دهد. کربوهیدرات های محلول، آمینو اسید ها (پرولین)، محتوای آب بافت ها و ترکیبات ضد انجماد از قبیل پروتئین های ضد انجماد و اسید آبسیزیک از جمله پاسخ های فیزیولوژیکی هستند که طی دوره سازگاری به سرما در گیاه دستخوش تغییر می شوند. این ترکیبات سازگاری ممکن است در حفظ ساختار سلول از دهیدراسیون (آبکشیدگی) ناشی از انجماد و یا کاهش نقطه انجماد ایفای نقش کنند. اسید آبسیزیک (ABA) نقش مهمی در واکنش های مرتبط با تنش سرما دارد. غلظت ABA درون زاد طی دوره سازگاری به سرما افزایش می یابد و کاربرد خارجی ABA باعث افزایش تحمل یخزدگی در چندین گونه گیاهی شده است. (لی و همکاران، ۲۰۰۴). آسیب های زمستانه جوانه های انگور و صدمات یخ زدگی بهاره شاخه های در حال نمو انگور مشکل جدی در تاکستان های مناطق معتدله است. یکی از راههای

ممکن برای مقابله با این مشکلات استفاده از ترکیبات شیمیایی به منظور افزایش مقاومت زمستانه جوانه ها و شاخه های در حال رشد است (ریگر، ۱۹۸۹). تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر کاربرد برگی ABA روی مقاومت به سرما و برخی شاخص های فیزیولوژیکی مرتبط با سرما در نهال های ریشه دار شده انگور رقم بیدانه سفید تحت تنش سرما انجام شد.

مواد و روش ها

این پژوهش در اواخر شهریور ماه سال ۱۳۹۱ روی قلمه‌های ریشه‌دار شده انگو رقم بیدانه سفید، در گلخانه پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل محلول‌پاشی ABA با غلظت‌های شاهد (صفر)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرو مولار در دو نوبت صبح و عصر انجام شد و بعد از ۷۲ ساعت گلدان‌های حاوی قلمه-های ریشه‌دار شده به داخل اتاقک سرما انتقال داده شدند. فاکتور دوم شامل تیمارهای دمایی ۰، ۲- و ۴- درجه‌سانتی‌گراد بود. پس از رسیدن دما به هر یک از تیمارهای مورد نظر، نمونه‌ها به مدت سه ساعت در این دما نگهداری شد. پس از خروج نهالهای جوان از اتاقک سرمایی نشت یونی برگ و ساقه، پرولین (بیتز،۱۹۷۳)، کربوهیدرات محلول (کارول و همکاران، ۱۹۶۵)، پروتئین محلول (برادفورد، ۱۹۷۶) و پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (هیت و پکر، ۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. تعیین مقدار LT_{50} (دمایی که در آن ۵۰٪ نمونه ها از بین می روند) با برنامه Excel وتجزیه داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS (SAS Inst., Inc., 2003) انجام گرفت.

نتایج و بحث

درصد نشت یونی: کاربرد ABA به صورت معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۱$) باعث کاهش درصد نشت یونی در برگ و شاخه نهال های تیمار شده شد. البته درصد نشت یونی بسته به غلظت ABA و تیمار دمایی تغییر می کرد. در دمای صفر درجه، درصد نشت یونی بین غلظت های مختلف تفاوتی وجود نداشت ولی در تیمار دمایی ۲- و ۴- درجه سانتیگراد بیشترین کاهش درصد نشت یونی مربوط به تیمار ۲۰۰ میکرومولار ABA بود. بر اساس مقادیر LT_{50} محاسبه شده، مقاومت به سرمای گلدان های تیمار شده با ABA بیشتر از گلدان های شاهد بود. در کل کاربرد ABA باعث افزایش مقاومت به سرمای نهال‌های انگور به میزان۲ تا $^{\circ}C$ ۳/۷ نسبت به تیمار شاهد شد. حداکثر افزایش مقاومت به سرما طی کاربرد غلظت‌های بالای ABA (۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار) مشاهده شد. در حالیکه تیمار ۵۰ میکرومولار اثر مثبت کمتری بر مقاومت به سرما داشت (جدول ۱). برخی تحقیقات حاکی از اثر کاربرد خارجی ABA در افزایش مقاومت به سرما در گیاهان مختلف هستند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۲). به نظر می رسد که ABA با القاء خواب در جوانه ها و کاهش محتوای آب آنها باعث افزایش مقاومت به سرمای نهال های تیمار شده می شود.

کربوهیدرات های محلول: کاربرد ABA به طور معنی‌داری($p \leq ۰/۰۱$) باعث افزایش کربوهیدرات‌های محلول نهال های انگور نسبت به شاهد شد. بیشترین غلظت‌های کربوهیدرات‌های محلول به ترتیب در تیمارهای ۲۰۰ میکرومولار (۱۳/۶۴ mg/g Dw) و ۱۰۰ میکرو مولار ABA (۱۲/۹۳ mg/g Dw) مشاهده شد. همبستگی منفی معنی‌داری بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول و مقادیر LT_{50} مشاهده شد. در مطالعات انجام گرفته روی کلزا و خیار کاربرد خارجی ABA باعث تجمع کربوهیدرات های محلول شده و مقاومت به سرما را افزایش داده است (بوربولیس و همکاران، ۲۰۱۰ ؛ منگ و همکاران، ۲۰۰۸). پیشنهاد شده که قند های محلول نقش مهمی در محافظت سلول ها از صدمات سرما داشته و با ثبات بخشیدن به پروتئین‌ها و فسفو لیپید ها، از تخریب غشاء جلوگیری می کنند.

پرولین: با کاربرد تیمارهای ABA غلظت پرولین در برگهای نهال های انگور نسبت به شاهد افزایش معنی داری نشان داد. تغییر غلطت پرولین در دو تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار اختلاف معنی داری نشان نداد. در مطالعه امل،(۲۰۰۷)کاربرد خارجی ABA روی باقلا باعث افزایش پرولین آزاد نسبت به گیاهان شاهد شد. از مهم‌ترین نقش‌های پرولین در بحث مقاومت به سرمازدگی می‌توان به محافظت گیاه در برابر تغییرات اسمزی، محافظت از غشاء سلولی و آنزیم‌های سلولی و همچنین ذخیره انرژی برای ترمیم‌های پس از سرمازدگی اشاره کرد (ون اسوجی و همکاران، ۱۹۸۵).

پروتئین های محلول: غلظت پروتئین های محلول اندازه گیری شده در تاک های تیمار شده با غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار ABA اختلاف معنی داری با شاهد داشتند ولی تیمار ۵۰ میکرومولار تفاوت معنی داری با شاهد نداشت. بیشترین میزان پروتئین محلول در تیمار ۲۰۰ میکرو مولار ABA (۱۶/۸ میلی گرم در گرم وزن تر) مشاهده شد. در مطالعه امل (۲۰۰۷) کاربرد ABA باعث افزایش غلظت پروتئین کل شد که تائیدی بر نتایج این پژوهش است. طی فرآیند سازگاری به دمای پایین، پروتیئن های خاصی در گیاه تولید شده که باعث حفاظت از پروتئینهای درون سلولی و غشاء سلولی طی فرآیند انجماد - ذوب می شود (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۶).

پراکسیداسیون لیپید های غشاء: تنش سرما باعث افزایش تولید مالون دی آلدهید(MDA) حاصل از پراکسیداسیون لیپید ها می شود. ABA به طور معنی داری باعث کاهش تولید MDA از برگ های تاک های تحت تیمار شد. تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار ABA باعث کاهش چشمگیری در تولید MDA شدند. بین تولید MDA و مقاومت به سرما ارتباط منفی معنی داری مشاهده شد.

به طور کلی نتایج نشان داد کاربرد ABA باعث بهبود مقاومت به سرما در انگور رقم بیدانه سفید به عنوان رقم غالب منطقه شد. غلظت ۲۰۰ میکرومولار ABA بیشترین تاثیر را در کاهش نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و افزایش تجمع متابولیت های سازگاری داشت. به نظر می رسد که غلظت های مناسب ABA با افزایش مقاومت دیواره سلولی به نشت یونها و تنظیم پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با القاء خواب در جوانه و به دنبال آن تکمیل فرایند های تکمیل کننده سازگاری به سرما از قبیل تشکیل پریدرم و کاهش محتوای آب (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۲) زمینه ساز القاء رکود زودتر از موقع و افزایش تحمل یخزدگی در انگور می شود و می تواند به عنوان یک ابزار پیشگیری کننده مدیریتی زود بارده و بادوام برای محافظت ارقام انگور در برابر صدمات سرما در مناطق با یخبندان های دیررس بهاره و زودرس پاییزه استفاده شود البته تحقیقات تکمیلی برای این امر ضروری می باشد

References منابع

Amal A.H. Saleh , 2007. Amelioration of Chilling Injuries in Mung Bean (*Vigna radiata* L.) Seedlings by Paclobutrazol, Abscisic Acid and Hydrogen Peroxide. *American Journal of Plant Physiology, 2: 318-332.*

Bates, L.S., R.P. Waldren, and I. D. Teare**.** 1973**.** Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39:205-207.

Bradford, M. 1976 .A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anallytic. Biochemistry. **72:**248-254.

Burbulis, N., V. Jonytiene, R. Kupriene, A. Blinstrubiene, and V. Liakas. 2010. Effect of abscisic acid on cold tolerance in Brassica napus shoots cultured in vitro. J. Food Agric. Environ. 8:698-701.

Carroll, N.V., R.W., Longley, and J.H. Roe**.** 1965. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. Journal of Biological Chemistry. 220: 583–593.

Fennell, A. 2004 Freezing tolerance and injury in grapevines. Jornal of Crop Improvement. (10)1:201-235

Heath R.L., and L., Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast.Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125: 189-198.

Li P.H., L., Christersson, S.P., Lee, and T.H.H., Chen. 1993. Advances in plant cold hardiness, Molecular biology of plant cold hardiness development, eds LiP.H., ChristerssonL. (CRC Press, Boca Raton, FL), pp 1–30.

Li, C., O., Junttila, P., Heino, E.T., Palva. 2004. Different responses of northern and southern ecotypes of Betula pendula to exogenous ABA application. Tree Physiology. 23:481–487.

Mills, L. J., J. C. Ferguson, and M. Keller. 2006. Cold-Hardiness Evaluation of Grapevine Buds and Cane Tissues. American Society for Enology and Viticulture . 57(2): 194-200.

Meng, F., L. Hu, S. Wang, X. Sui, L. Wei, Y. Wei, J. Sun, and Z. Zhang. 2008. Effects of exogenous abscisic acid (ABA) on cucumber seedling leaf carbohydrate metabolism under low temperature. Plant Growth Regul. 56:233-244.

Rieger, M. 1989. Freeze protection for horticultural crops. Hortic. Rev. 11:45-109.

SAS Institute, Inc. 2003, SAS Campus Drive, Version 9.2.Cary, North Carolina 27513, USA.

Zhang, Y., and I.E. Dami. 2012. Foliar Application of Abscisic Acid Increases Freezing Tolerance of Field-grown *Vitis vinifera* Cabernet franc Grapevines. American Journal of Enology and Viticulture.

Zhang, J. H., Liu, Y. P., Pan, Q. H., Zhan, J. C., Wang, X. Q. and Huang, W. D. (2006) Changes in membrane-associated H+-ATPase activities and amounts in young grape plants during the cross adaptation to temperature stresses. Plant Sciences 170(4): 768-777.

Effect of foliar application of abscisic acid on improvement of cold hardiness in grapevine cultivar 'Bidaneh Sefid'

R. Karimi[1], A.Ershadi[1*], M.Esna Ashari[1] and M. Mashhadi Akbar Bojar[2]

1- Dept. of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. 2- Dept. of Biochemistry, Kharazmi University, Tehran- Iran.
*Corresponding author: Ershadi@basu.ac.ir

Abstract

Grapes, due to their wide distribution, are most frequently damaged by freezing temperatures. Chemicals such as abscisic acid (ABA) offer useful approach to overcome such problems. ABA is a dormancy inducing hormone because it accumulates in dormant nodes and increases when the tissue is exposed to low temperatures. This research was conducted to evaluate the effect of exogenous application of different concentrations of ABA (0, 50, 100, 200 µM) on improving cold hardiness of one year-old sapling of grapevine cv. 'Bidaneh Sefid'. Three days after spraying, vine were subjected to cold treatments (0, -2 and -4˚C) and electrolytic leakage of leaves and canes, soluble carbohydrate, soluble protein, proline, and membrane lipids peroxidation of leaves were measured. Exogenous application of ABA significantly decreased electrolytic leakage and lipids peroxidation. In ABA treated plants, cold hardiness was about 3˚C higher than control plants. Soluble carbohydrates, proteins and proline content of ABA-treated plants were significantly higher, compared to control. Among all treatment, 200 µM ABA had the highest influence on alleviation of cold injury. Results suggest that ABA can be used as a prophylactic tool to protect grape cultivars against winter injury.

Keywords: Abscisic acid, Grapevine, Lipid peroxidation of membrane, freezing tolerance,