نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص. ۱۷۰-۱۵۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 32, No. 1, Spring 2018, P. 159-170
ISSN: 2008 - 4730

تأثیر مواد ضد یخ در شرایط باغی بر مواد بیوشیمیایی موثر در مقاومت به سرمای انگور

شکراله حاجی‌وند[1*]- میترا رحمتی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۴

چکیده

به منظور بررسی امکان افزایش مقاومت به سرمای بهاره درخت انگور از طریق مواد ضد یخ در شرایط باغی، آزمایشی در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در مرکز تحقیقات شهرستان تاکستان در استان قزوین در دو سال ۹۱ و۹۲ اجرا شد. محلول پاشی با ۴ ماده ضد یخ شامل سالیسیلیک اسید، تیوفر، کراپ اید، بایوبلوم و آب مقطر به عنوان تیمار شاهد در ۴ مرحله فنولوژیکی از جمله پاییز پیش از به خواب رفتن گیاه، در زمان متورم شدن جوانه‌ها، مصادف با شروع خوشه‌دهی و در زمان خوشه‌دهی کامل روی سه درخت انگور بی دانه قرمز در هر کرت آزمایشی انجام شد. خصوصیات کمی و کیفی مانند وزن خوشه، عملکرد محصول و میزان مواد جامد محلول، خصوصیات بیوشیمیایی برگ انگور مانند میزان اسمولیت‌های پرولین و بتائین گلایسین و وضعیت آنزیم‌های شاخص مقاومت به سرما از جمله گایاکول پراکسیداز (GPX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT) اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان‌داد که استفاده از مواد ضد یخ نامبرده به طور متوسط میزان مواد جامد محلول، وزن خوشه و عملکرد درخت انگور را بطور متوسط به ترتیب تا ۲۲، ۱۷ و ۲۶ درصد افزایش داد که از این نظر بایوبلوم تاثیر بیشتری داشت. کاهش به طور متوسط ۲ درجه دمای هوا طی مراحل ریزش برگ و رکود انگور (آبانماه تا دیماه) سال ۹۲ نسبت به سال قبل از آن منجر به افزایش معنی‌دار میزان اسمولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های شاخص مقاومت به سرما شد. همچنین مواد ضد یخ موجب افزایش معنی‌دار میزان اسمولیت‌ها و فعالیت آنزیم‌های شاخص مقاومت به سرما نسبت به تیمار شاهد شدند. به طوریکه بیشترین میزان این اسمولیتها و میزان فعالیت این آنزیم ها به ترتیب مربوط به تیمارهای سالسیلیک اسید، تیوفر، کراپ آید و بایوبلوم بوده و کمترین آن در تیمار شاهد اندازه گیری شد. این نتایج نشان می دهد که ضد یخ های تجاری مورد بررسی می توانند نه تنها برای افزایش مقاومت گیاه به سرما در تاکستان مورد استفاده قرار بگیرند، بلکه اندازه خوشه و کیفیت انگور را نیز بهبود می‌دهند.

واژه های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، بتائین گلایسین، پرولین، سرمازدگی، قرمز بیدانه

مقدمه

امروزه تولیدات باغی بخصوص در کشور ایران تحت تاثیر پدیده تغییر اقلیم (افزایش دمای هوا، کمبود آب به‌همراه خشکسالی و نوسانات شدید دمایی) دچار خسارت می شوند. در این میان بیشترین خسارت اقتصادی به محصولات باغی ناشی از خسارت سرمازدگی پاییزه و/ یا بهاره بوده که طی ۱۰ سال اخیر ۷ برابر افزایش یافته است (۳۵). به‌طوری‌که صرفا طی ۹ ماهه سال ۱۳۹۵، از کل ۹۶۱۰ میلیارد تومان خسارت انواع مخاطرات به بخش کشاورزی ۵۷۳۳ میلیارد تومان (حدود ۶۰ درصد) مربوط به سرمازدگی بوده است (۳۷). بر اساس گزارش صندوق بیمه کشاورزی (۳) بیشترین میزان غرامت پرداخت‌شده به بهره‌برداران بخش باغبانی کشور مربوط به محصولات سیب، گردو، انگور، بادام، انار، پرتقال، و پسته بوده است.

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* از تیره مو[3] عمده‌ترین محصول باغی شهرستان تاکستان است. این شهرستان مقام اول تولید کشمش در ایران را دارد. اما هر ساله بروز یخبندان دیررس بهاره منجر به کاهش شدید محصول و حتی از بین رفتن نهال در نهالستان‌ها می‌شود (۳۰). از اینرو هر ساله هزینه و نیروی انسانی زیادی برای انجام عملیات باغی در جهت کاهش شدت خسارت سرما صرف می‌شود. از جمله این عملیات باغی زیر خاک‌کردن بوته‌ها طی یخبندان‌های زمستانه، یخ آب زمستانه، آبیاری غرقابی و روشن‌کردن

۱- استادیار پژوهشی و معاون پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین
(*- نویسنده مسئول: Email: shokrollah2006@gmail.com)
۲- دکتری علوم باغبانی، کارمند وزارت جهاد کشاورزی

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i1.64047

3- Vitaceae

www.SID.ir

Archive of SID

بخاری‌های باغی می‌باشد.

امروزه استفاده از روشهای ارزان، سریع و جایگزین درکاهش خسارت یخزدگی مانند اسپری مواد ضد یخ در باغبانی مورد توجه قرار گرفته است (۲۶ و ۳۲). این مواد یا بصورت سد مکانیکی جلوگیری از تشکیل کریستال یخ روی بافت‌های گیاهی حساس عمل می‌کنند یا مکانیزم‌های مقاومت به سرما در گیاه را فعال می‌کنند (۴۲). یکی از این مواد ضد یخ، ترکیب فنلی اسید سالیسیلیک، یکی از مهمترین متابولیتهای ثانویه میوه انگور است. اسیدسالیسیلیک نه تنها نقش مهمی در تعیین کیفیت، رنگ و طعم میوه انگور دارد (۸)، بلکه در واکنش گیاه به تنش‌های محیطی از جمله خشکی (۲۶)، سرما (۲۰، ۳۱ و ۴۲)، شوری (۲۸) و فلزات سنگین (۲۹) بسیار موثر است. تسگین و همکاران (۳۶) برای اولین نشان دادند که کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک با تاثیر بر پروتئین‌های آپوپلاستی منجر به افزایش مقاومت به سرما در برگ گندم زمستانه شد.

اسمولیت‌های طبیعی مانند قندهای محلول، سوربیتول، مانیتول، اسیدهای آمینه مانند گلوتامات و پرولین (۱۳ و ۴۲) و ترکیبات آمونیومی مانند گلایسین بتائین در شرایط طبیعی در گیاهان آلی انباشته می‌شوند (۱۰). ترکیبات تجاری مانند تنظیم‌کننده های رشد گیاهی از جمله جیبرلین، مواد ضد تعرق و ضد یخ بر پایه ترکیبات نامبرده نیز برای افزایش مقاومت به سرما یا تاخیر در شکستن رکود جوانه‌های محصولات باغی بکار می‌روند (۲۱). برای مثال، بایوبلوم دارای بیش از ۸۵ درصد ماده آلی، مقادیر بالای فسفر و پتاسیم می‌باشد. مواد آلی بایوبلوم علاوه بر تاثیر روی سرعت متابولیسم و ساختار غشاهای زنده، با ایجاد پایداری و تعادل انواع خاص اسیدهای چرب، سیالیت غشا را تنظیم می‌نماید تا پروتئین ها و نیز آنزیم‌های درون آن بتوانند به‌خوبی نقش خود را ایفا نمایند. پتاسیم در تنظیم-اسمزی و جلوگیری از سرمازدگی موثراست و فسفر در ساختار مولکولهای حامل انرژی نقش دارد.

مواد دیگری که به عنوان ضد یخ در باغات بادام (۲۲)، گیلاس (۱۵) و پسته (۱۶) و سیب (۲۴) ایران مورد استفاده قرار گرفته‌اند، عبارتند از تیوفر[1]، کراپ‌آید[2] و فوسنوترن[3]. تیوفر شامل سه نوع باکتری تیوباسیلوس[4] و آمینواسیدها است (۵ و ۱۱). ضد یخ طبیعی کراپ آید ترکیبی تقریباً مشابه تیوفر است که شامل ۶۰ نوع ماده مختلف از جمله سه نوع باکتری تیوباسیلوس، ریز مغذی‌هایی همچون آهن، کلسیم، بر، مولیبدن و برخی از اسیدهای آمینه و پروتئین های ضد یخ می باشد که در کاهش خسارت سرمازدگی موثر گزارش شده است (۱۱). عملکرد مواد ضد یخ در کاهش اثرات تنش‌ها به غلظت و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. به‌طوریکه غلظت بسیار کم و بسیار بالای آن منجر به افزایش حساسیت و کاهش مقاومت گیاهان به تنش‌های غیر زیستی می‌شود (۲۶).

با وجود آسان و ارزان بودن استفاده از این روش برای تاکداران، اطلاعات اندکی در خصوص تاثیر این روش در کنترل سرمازدگی در تاکستان‌ها وجود دارد (۴۲). بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی امکان افزایش مقاومت به سرمای بهاره درخت انگور از طریق مواد ضد یخ گیاهی در شرایط باغی شهرستان تاکستان انجام شد. بدین منظور واکنش فعالیتهای آنزیمی درخت انگور، میزان اسمولیت‌های مهم و تعیین‌کننده مقاومت به سرما و نیز برخی از خصوصیات کمی و کیفی درخت انگور به این مواد ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و ماده گیاهی

به منظور بررسی تاثیر ترکیبات ضد یخ گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم‌های درخت انگور بیدانه قرمز (از مهمترین ارقام تجاری انگور تاکستان) پژوهشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار شامل تیوفر، کراپ اید، سالیسیلیک اسید[5]، بایوبلوم[6] و شاهد (آب مقطر) و ۳ تکرار طی دو سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان انجام شد. حداقل دمای هوای ثبت شده طی پاییز و زمستان سال‌های ۱۳۹۱- ۱۳۹۲ برابر با ۱۲/۲- درجه سانتیگراد بود. متوسط دمای هوای ماهانه شهرستان تاکستان در این دو سال در شکل ۱ (الف) و کمینه دمای هوا در شکل ۱ (ب) نشان داده شده است. محلول پاشی بوته‌ها با غلظت ۵ در هزار در چهار مرحله صورت گرفت: در پاییز پیش از به خواب رفتن گیاه (جهت آماده سازی بوته‌ها برای مقابله با سرما)، در زمان متورم شدن جوانه‌ها، مصادف با شروع خوشه‌دهی و بالاخره در زمان خوشه دهی کامل.

اندازه‌گیری صفات کمی و کیفی

وضعیت ظاهری برگ‌ها (رنگ و میزان ریزش) و جوانه‌ها در طول فصل رشد و خواص کمی و کیفی میوه انگور شامل عملکرد، میانگین وزن خوشه و میزان مواد جامد محلول در زمان برداشت طی دو سال بررسی شد.

اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی

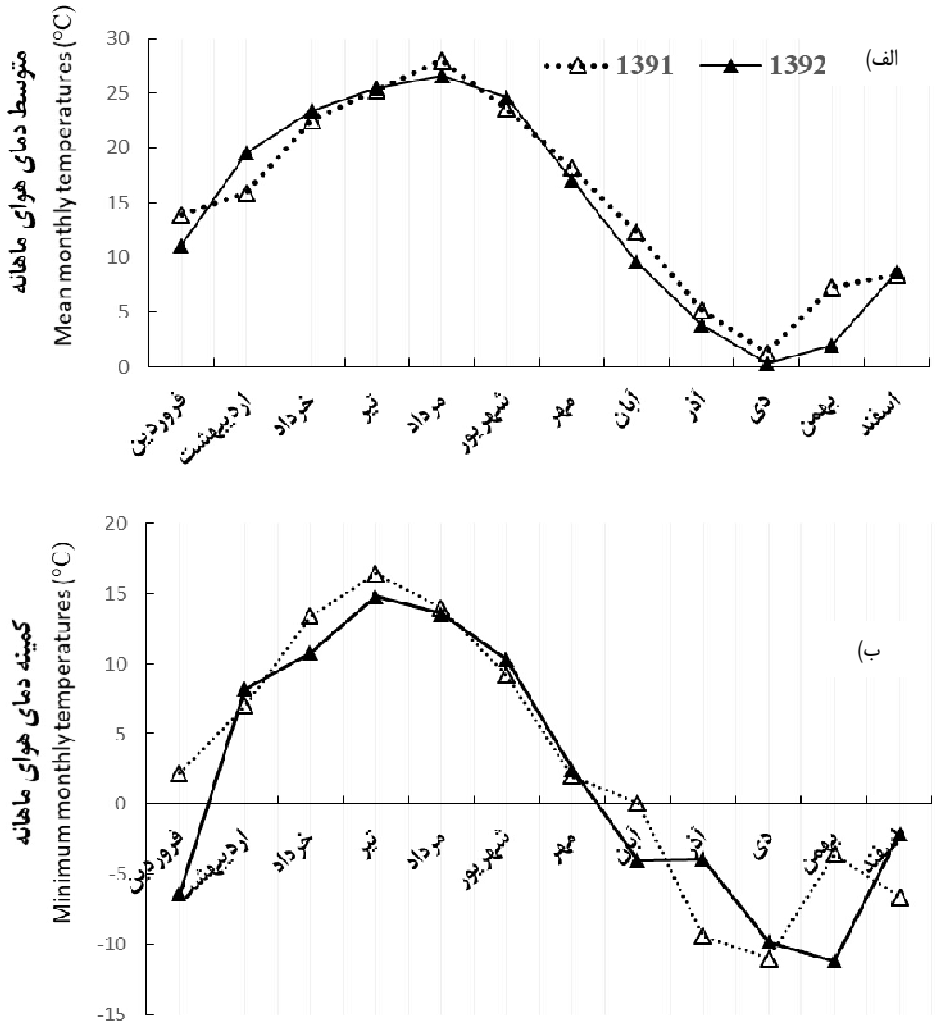
پرولین: ۷۲ ساعت پس از آخرین محلول پاشی میزان پرولین

1- Thiofer®
2- Cropaid®
3- Fosnutren®
4- Thiobacillus
5- Salicylic acid
6- Bio-Bloom®

www.SID.ir

Archive of SID

انگور به کمک روش بیتز و همکاران (۶) اندازه‌گیری شد. برای این کار ، ۰/۵ گرم برگ تازه در ۱۰ میلی لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد ساییده و فیلتر شد. ۲ میلی لیتر از محلول فیلتر شده با ۲ میلی لیتر معرف اسید ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر استیک اسید مخلوط و به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد.



شکل ۱- متوسط (الف) و کمینه (ب) دمای هوای ماهانه شهرستان تاکستان در سالهای ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲

Figure 1- Mean and minimum monthly temperature of Takestan during 2012-2013.

گلایسین بتائین: اندازه‌گیری میزان گلایسین بتائین به روش گریو و گراتان (۱۴) صورت گرفت. به ۰/۵ گرم برگ خشک ۲۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر اضافه و بعد از تکان دادن با شیکر به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از عبور دادن نمونه ها از کاغذ صافی، یک میلی لیتر عصاره گیاهی با یک میلی لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال مخلوط و در حمام آب یخ قرار گرفت و نهایتاً ۰/۲ میلی لیتر محلول یدین- یدید پتاسیم به مخلوط واکنش اضافه شد. محلول به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۰-۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. سپس نمونه ها بمدت ۱۵ دقیقه در دمای صفر درجه و سرعت ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. فاز بالایی محلول با میکروپیپت جدا شده و مقدار ۹ میلی لیتر ۱ و ۲- دی کلرواتان به آن اضافه گردید و به مدت یک دقیقه به شدت تکان داده‌شد و بعد از ۲ و نیم ساعت میزان جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر قرائت گردید. برای تهیه نمودار استاندارد از غلظت‌های ۷ تا ۱۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر گلایسین بتائین استفاده شد.

تهیه عصاره آنزیمی : ۷۲ ساعت پس از آخرین محلول پاشی عصاره گیاهی از روش کانگ و سالتیویت (۱۷) با تغییر جزیی تهیه شد. برای این کار ، ۰/۵ گرم برگ تازه درون هاون سرد با ۳

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌لیتر بافر استخراج تریس – اسیدکلریدریک ۵۰ میلی مولار (با اسیدیته ۷) محتوی $MgCl_2$ ۳ میلی مولار و EDTA ۱ میلی مولار ساییده شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در بافر فوق ۰/۰۲ میلی مولار آسکوربات نیز اضافه شد. سپس نمونه ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. فاز بالایی محلول برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز استفاده شد.

فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز (APX): به ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۷ شامل EDTA ۱ میلی مولار، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، ۰/۲ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیم استخراجی اضافه شد. سپس فعالیت آنزیم بر اساس اکسیده‌شدن آسکوربات و خواندن جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شده که همراه با کاهش جذب طی دو دقیقه فعالیت آنزیم بوده است (۲۷).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX): بر اساس روش آپادایا و همکاران (۳۸)، به ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، ۱ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد، ۱ میلی لیتر گایاکول ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی اضافه شد و فعالیت آنزیم طی دو دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز: با استفاده از روش ایبی (۱) مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار، ۰/۲ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱ درصد و ۰/۳ میلی لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهشی در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SAS، آنالیز واریانس مرکب داده‌ها با متغیرهای اثر سال و اثر مواد ضد یخ و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن ($p < ۰/۰۵$) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که خصوصیات کمی و کیفی عملکرد بوته، وزن خوشه و میزان مواد جامد محلول انگور در سال ۱۳۹۲ نسبت به سال ۱۳۹۱ افزایش یافت، اما این افزایش از نظر آماری معنی داری نبود (شکل ۲). بیشترین میزان مواد جامد محلول میوه انگور (۲۳ درصد) در بوته‌های محلول پاشی شده با ضد یخ بایوبلوم بدست آمد که بصورت معنی‌داری بیشتر از بوته های شاهد و حتی سایر تیمارها بود (شکل ۲– الف). سایر مواد ضد یخ نیز میزان مواد جامد محلول انگور را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. نتایج مشابهی مبنی بر افزایش میزان مواد جامد محلول گوجه‌فرنگی (۱۹)، آلو قطره طلا (۳۴)، گیلاس سیاه مشهد (۳۳)، و در انگور رقم فلیم (۹) و تامسون (۲۵) با استفاده از اسید سالیسیلیک گزارش شده است. اثر سایر مواد ضدیخ مورد بررسی قبلا روی خصوصیات کیفی انگور بررسی نشده است.

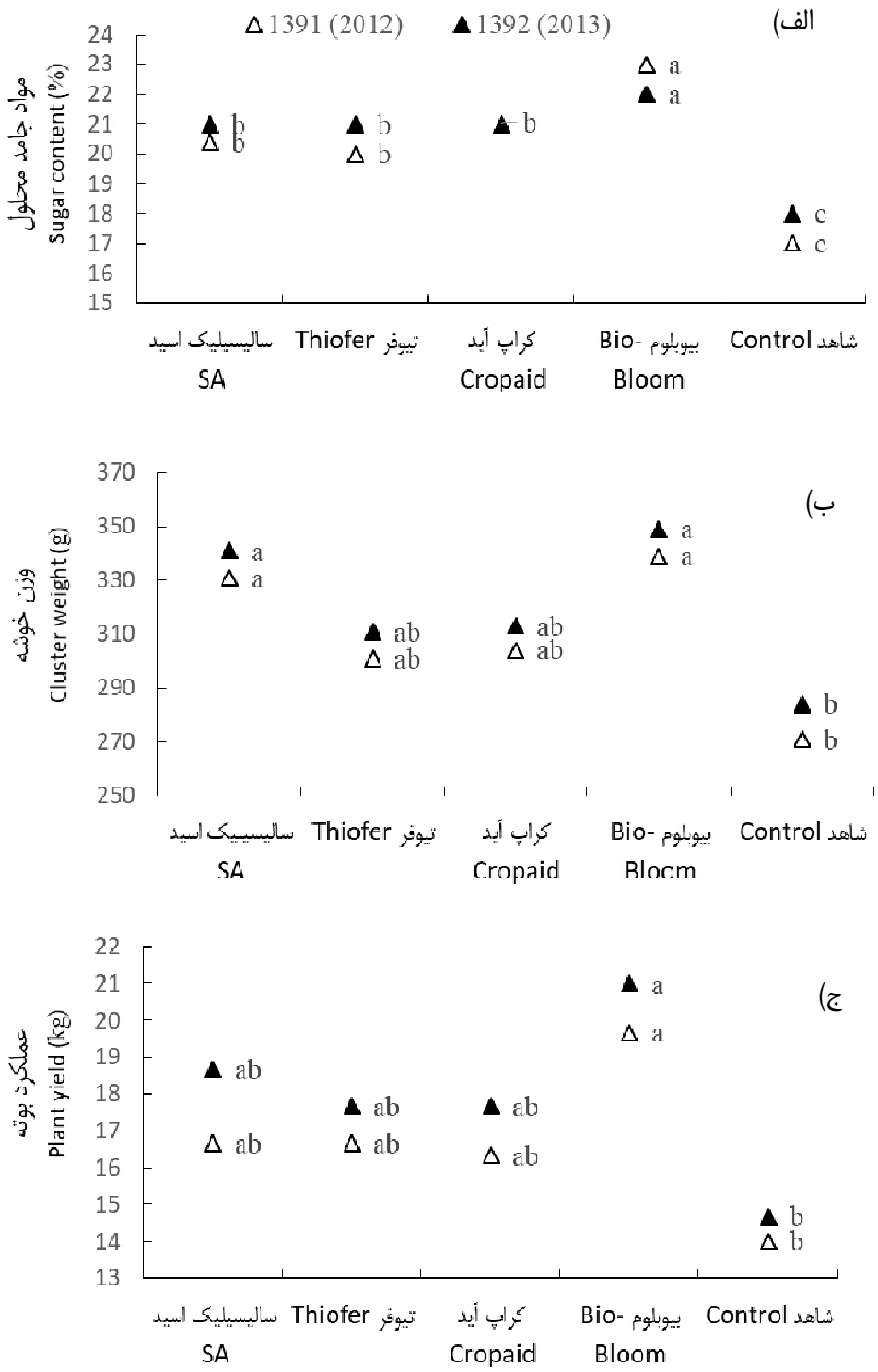
تیمارهای اسید سالیسیلیک و بایوبلوم در هر دو سال منجر به افزایش معنی‌دار وزن خوشه انگور بیدانه قرمز نسبت به تیمار شاهد شدند (شکل ۲– ب). اما تیمارهای تیوفر و کراپ‌آید هیچگونه تاثیر معنی داری بر وزن خوشه انگور نداشتند. نتایج مشابهی در مورد اثر اسید سالیسیلیک بر افزایش وزن و طول خوشه انگور فلیم (۹) و تامسون (۲۵) نیز گزارش شده است. از نظر عملکرد بوته اختلاف معنی‌داری بین بوته‌های شاهد با بوته‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک، تیوفر و کراپ‌آید وجود نداشت. اما تیمار بایوبلوم باعث افزایش معنی‌دار (۴۰ درصد) عملکرد درخت انگور نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۲– ج). همچنین اثر کاربرد اسید سالیسیلیک و پلی آمین‌ها بر توفق مسیر بیوسنتز اتیلن نشان داده شده است که از نرم شدن انگور جلوگیری کرده و عمر نگهداری آن را افزایش می‌دهد (۳۹).

شکل ۳ (الف) نشان می‌دهد که میزان پرولین در بوته‌های انگور قرمز بی دانه با کاربرد مواد ضد یخ نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) در هر دو سال ۹۱ و ۹۲ افزایش یافت. اما از نظر میزان پرولین در بوته‌ها بین تیمارهای مختلف بایوبلوم، اسید سالیسیلیک، تیوفر و کراپ‌آید اختلاف معنی‌داری در سالهای ۹۱ و ۹۲ وجود نداشت (شکل ۳، الف). همچنین میزان پرولین بوته ها در سال ۱۳۹۲ بصورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) بیشتر از سال ۱۳۹۱ بود (حدود ۹۲ درصد). افزایش میزان پرولین در درختان زردآلو و گیلاس با استفاده از مواد ضد یخ در شرایط آب و هوایی شاهرود و قزوین گزارش شده است (۲، ۱۵). پرولین یک اسید آمینه محلول در آب است که تحت تنش‌های محیطی در گیاهان عالی انباشته می‌شود . افزایش این اسمولیت در سلولها باعث تنظیم اسمزی و کاهش پتانسیل آب و کاهش نقطه انجماد آب در شیره سلولی آنها شده و مقاومت آنها به تنش سرمازدگی را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب میزان خسارت سرمازدگی به بافتهای گیاهی کاهش می‌یابد (۴۰).

با توجه به شکل ۳ (ب) تیمار مواد ضد یخ بر میزان بتائین گلایسین در هر دو سال اثر معنی‌داری داشت ($p < ۰/۰۱$). در سال ۱۳۹۱ بیشترین میزان بتائین گلایسین در بوته‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید و بایوبلوم بدست آمد. در سال ۱۳۹۲ بیشترین میزان (۱/۳۷ میکرومول بر گرم) و کمترین میزان (۰/۷۲ میکرومول بر گرم) آن به ترتیب، مربوط به تیمارهای سالیسیلیک اسید و شاهد بود.

www.SID.ir

Archive of SID

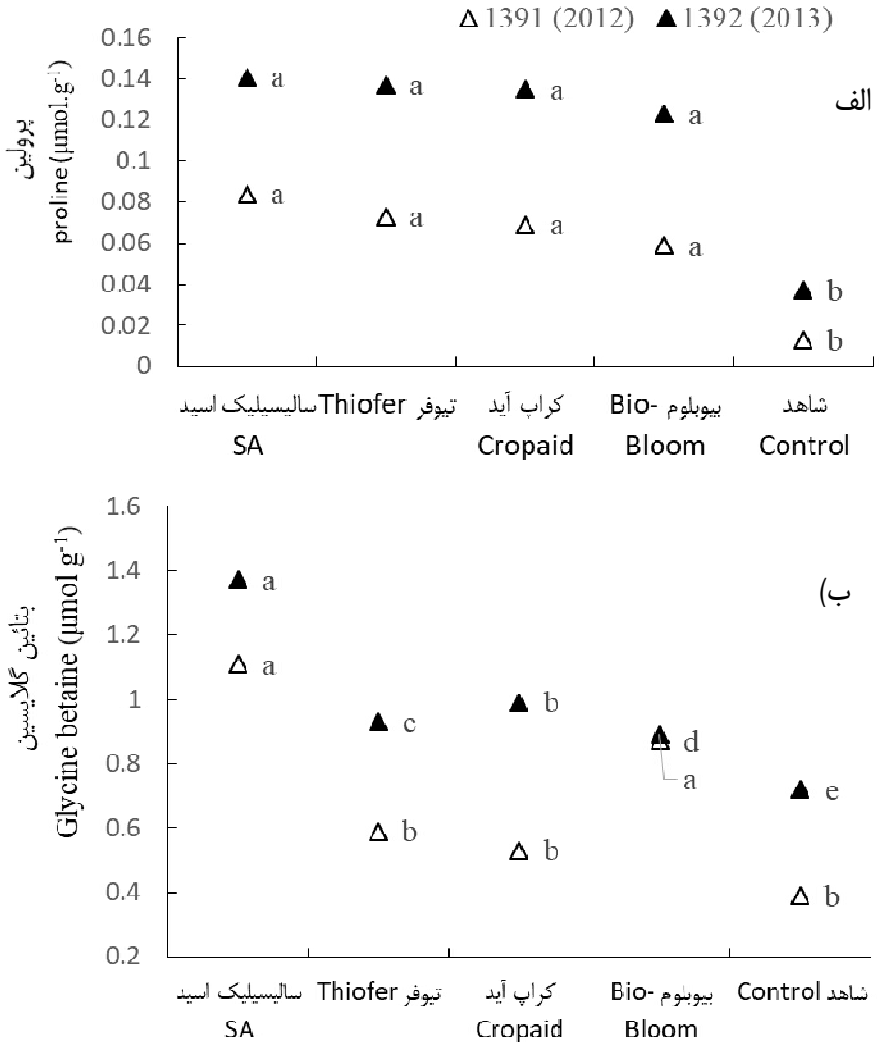


شکل ۲- اثر محلول‌پاشی مواد ضد یخ بر الف) درصد مواد جامد محلول، ب) وزن خوشه و ج) عملکرد درخت انگور بی‌دانه قرمز در سال ۹۱ و ۹۲. حروف مشابه در هر سال نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است

Figure 2- The effect of anti-freeze spray on the red seedless grapes' TSS, cluster weight and yield during 2012-2013. The same letters in each year show no significant difference among the treatments at the level of 5% by Duncan's multiple range test

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- اثر محلول‌پاشی با مواد ضد یخ بر میزان پرولین و بتائین گلایسین انگور بی دانه قرمز در سال‌های ۹۱ و ۹۲. حروف مشابه در هر سال نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن است

Figure 3- The effect of anti-freeze spray on the red seedless grapes' proline and glycine betaine content during 2012-2013. The same letters in each year show no significant difference among the treatments at the level of 5% by Duncan's multiple range test

اثر اسید سالیسیلیک در تجمع قند و اسمولیت‌های آلی نظیر پرولین و بتائین گلیسین در بعضی گیاهان در شرایط تنش‌زا گزارش شده است (۴). محلول پاشی همزمان با ترکیب اسید سالیسیلیک و بتائین گلایسین در کاهش پتانسیل اسمزی و ایجاد مقاومت در گیاهان ذرت تاثیر بیشتری داشت (۴). رابطه مستقیم بین افزایش مقدار قند و مقاومت به سرما در گیاهان چوبی و علفی نیز مشاهده شده است (۱۲ و ۱۸). در این شرایط نشان داده شده که افزایش در میزان مواد جامد محلول سلولی، نقطه انجماد شیره سلولی را پایین آورده و با کاهش میزان آب سلولی منجر به سازگار شدن به سرما می شود.

همچنین اثر سال بر میزان بتائین گلایسین معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). بطوریکه میزان بتائین گلایسین در سال ۱۳۹۲ حدود ۴۰ درصد بیشتر از سال ۱۳۹۱ بود. بررسی دمای متوسط ماهانه هوای تاکستان در این دو سال (شکل ۱) نشان داد که زمستان و نیمه اول فروردین ماه ۱۳۹۲ در غالب مناطق استان نسبت به سال گذشته بیشتر از ۲ درجه سانتیگراد سردتر بود. این کاهش دمای هوا ممکن است تاثیر مثبتی بر تجمع اسمولیت های پرولین و بتائین گلایسین داشته باشد تا با کاهش پتانسیل آب سلولی، نقطه انجماد بافت گیاهی را کاهش دهد (۱۰).

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۴ (الف) نشان می‌دهد کـه میـزان فعالیـت APX در بوتـه های انگور قرمز بی دانه با کاربرد مواد ضد یخ نسبت به تیمـار شـاهد به صورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) در هر دو سال مورد بررسی افزایش یافت. اما از نظر میزان فعالیت APX در بوته‌ها بین مواد مختلف ضـد یخ اختلاف معنی‌داری در سـال ۱۳۹۱ وجـود نداشـت. همچنـین، بـا توجه به این شـکل، میـزان فعالیـت APX بوتـه هـا در سـال ۱۳۹۲ بصورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) بیشتر از سال ۱۳۹۱ بود (حـدود ۱۰۰ درصد) که همانطور که گفته شد به کاهش دمای هوا در سـال ۱۳۹۲ مربوط می‌شود.

با توجه به شکل ۴ (ب)، میزان فعالیت GPX در بوته‌های انگـور قرمز بی دانه با کاربرد مواد ضد یخ نسبت به تیمار شـاهد بـه صـورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) در هر دو سال مورد بررسی افزایش یافت. اما از نظر میزان فعالیت GPX در بوتـه‌هـا بـین مـواد مختلـف ضـد یـخ اختلاف معنی‌داری در سال ۱۳۹۱ وجود نداشـت. بهـر حـال در سـال ۱۳۹۲ بیشترین میزان GPX (۰/۰۰۲۴ میکرومول بر گـرم) در تیمـار اسید سالیسیلیک بدست آمد. همچنین، با توجه به شکل ۴ (ب)، میزان فعالیت GPX بوته ها در سال ۱۳۹۲ بصورت معنی داری ($p < ۰/۰۵$) بیشتر از سال ۱۳۹۱ بود (حدود ۱/۵ برابر بیشتر).

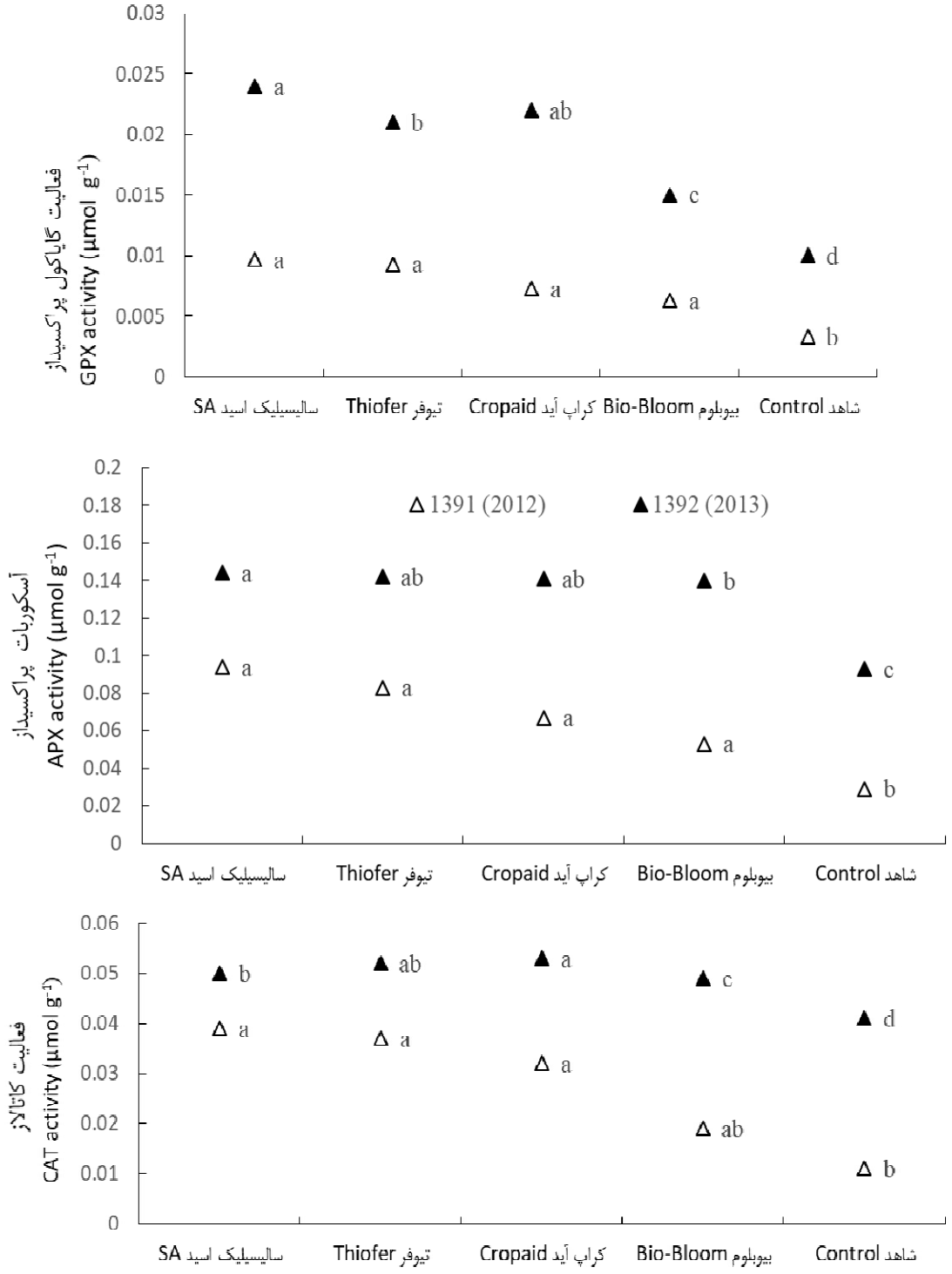
با توجه به شکل ۴ (ج)، میزان فعالیت کاتالاز در بوته های انگـور قرمز بی دانه با کاربرد ضد یخ اسید سالیسیلیک، تیـوفر و کـراپ آیـد نسبت به تیمار شاهد و بایوبلوم به صورت معنی داری ($p < ۰/۰۵$) در سال ۱۳۹۱ افزایش یافت. اما از این نظر بین شـاهد و تیمـار بـایوبلوم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در سال ۱۳۹۲ از نظر میزان فعالیـت کاتالاز در بوته ها بین مواد مختلف ضد یخ اختلاف معنی‌داری وجـود داشت. بطوریکه بیشترین میزان آن مربوط به تیمارهای کـراپ آیـد و تیوفر بود. همچنین با توجه به شـکل ۴ (ج)، میـزان فعالیـت کاتـالاز بوته‌ها در سال ۱۳۹۲ بصورت معنی‌داری ($p < ۰/۰۱$) بیشـتر از سـال ۱۳۹۱ بود (حدود ۷۷ درصد). مشابه میزان اسمولیتها، افزایش فعالیـت آنزیمهای آنتی اکسیداتیو شاخص مقاومت به سرما در انگـور در سـال ۱۳۹۲ نیز ممکن است به کاهش دمای هوای زمستان و اوایـل فصـل بهار (شکل ۱) مربوط شود. بدین وسیله گیاه به شـرایط آب و هـوایی سردتر سازگار شده و میزان فعالیت آنزیمهای مقاومت به سرما افزایش می یابند (۴۱). نقش استیل سالیسیلیک اسـید و سالیسـیلیک اسـید در ایجاد تحمل به تنش‌های گرما، سرما و خشکی در گیاهان قبلا نشـان داده شده است (۳۲). نتایج تحقیقات کانسـو و همکـاران (۷) در مـورد آنزیمهای مقاومت به سرمای کاتالاز و APX در برگ و ساقه زیتـون نشان داده است که آنها طی فصول پاییز و زمستان فعالیت بیشتری از فصل تابستان دارند. از طـرف دیگـر فعالیـت ایـن دو آنـزیم در پـاییز همزمان با کاهش میزان خسارت یخزدگی افزایش می‌یابد تا اینکه در زمستان زمانی که خسارت یخزدگی به کمترین خود برسد فعالیت آنها نیز کاهش می‌یابد. علاوه بر این درحالیکه فعالیت کاتـالاز بـا کـاهش دما کاهش می‌یابد، اما فعالیت APX با کاهش دما تا ۵- درجه بـدون تغییر می‌ماند و افزایش فعالیت آن در دمای ۱۰- درجه شروع می‌شود. در تحقیق ما نیز حداقل دمای هوای تاکستان در پـاییز و زمسـتان در سالهای مورد مطالعه ۶/۶- درجه سانتیگراد ثبت شده است. تحقیقـات محمودزاده و همکاران (۲۱) روی اثر چهار ترکیب ضدیخ شامل تیـوفر و کراپ اید، جیبرلین و فسـنوترن بـا غلظـت ۵ در هـزار بـر کـاهش خسارت سـرمای دیـررس بهـاره درختـان زردالـو رقـم عسـکرآباد در شهرستان ارومیه نیز نشان داده که اگرچـه تیـوفر منجـر بـه عقیمـی درصد بیشتری از گلها شد، اما میزان پرولین در این درختـان افـزایش یافت و میـزان خسـارت سـرمازدگی بصـورت معنـی‌داری نسـبت بـه درختان شاهد کاهش یافت.

نتیجه‌گیری کلی

بوته های انگور رقم قرمز بیدانه تیمار شده با مواد ضد یخ نه تنها از نظر میزان مواد جامد محلول، وزن خوشه و عملکـرد بلکـه از نظـر اسمولیتهای تنظیم اسمزی مانند پرولین و بتائین گلایسـین و فعالیـت آنزیمهای GPX، APX، CAT نسبت به بوته هـای شـاهد بصـورت معنی‌داری برتر بودند. از آنجا که افزایش میزان مـواد جامـد محلـول، اسمولیتهای تنظیم‌کننده اسمزی و آنزیمهای نامبرده منجر به افـزایش مقاومت به سرما می‌شوند، لذا استفاده از مـواد ضـد یـخ بعنـوان یـک روش آسان و ارزان در افزایش مقاومـت بـه سـرما در انگـور توصـیه می‌شود. نتایج بدست آمده با این مواد ضد یـخ در غلظـت ۵ در هـزار بدست آمده است، لذا پیشنهاد می‌شود که تاثیر غلظتهای مختلف مواد ضد یخ روی ارقام دیگر انگـور مـورد بررسـی قـرار بگیـرد. همچنـین قـراردادن شـاخه‌هـای انگـور در معـرض تیمـار سـرما در شـرایط آزمایشگاهی برای تعیین مقاومت به سرمای آنها توصیه می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤- اثر محلول‌پاشی با مواد ضد یخ بر فعالیت آنزیم‌های APX، GPX و کاتالاز انگور بی‌دانه قرمز در سال ۹۱ و ۹۲. حروف مشابه در هر سال نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنیدار در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن است

Figure 4- The effect of anti-freeze spray on the red seedless grapes' APX, GPX and CAT activity during 2012-2013. The same letters in each year show no significant difference among the treatments at the level of 5% by Duncan's multiple range test

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1- Aebi H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121–126.

2- Afshari H., Zahedi R., Parvaneh T., and Bagheri M. 2014. The effect of SA on the proline content, soluble solids and EC of two cultivar of apricot under frost stress. Agricultural Crop Management (16) 1: 127-138.

3- Agricultural Insurance Fund (2014). (In Persian with English abstract)

4-Aldesuquy H.S., Abbas M.A., Abo-Hamed S.A., and Elhakem A.H. 2013. Does glycine betaine and salicylic acid ameliorate the negative effect of drought on wheat by regulating osmotic adjustment through solutes accumulation? Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 9 (3): 5-22.

5- Bamdadian A. and Kosari S. 2012. The importance of prevention the plants from frost during the winter months. Monthly cultivation and livestock industry, 154. (In Persian with English abstract)

6- Bates I.S., Waldern R.P., and Tear I.D. 1973. Rapid determination of free praline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

7- Cansev A., Gulen H., and Eris A. 2011. The Activities of Catalase and Ascorbate Peroxidase in Olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik) under Low Temperature Stress. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 52 (2): 113-120.

8- Chamkha M., Cathala B., Cheynier V., and Douillard R. 2003. Phenolic composition of champagnes from Chardonnay and Pinot Noir vintages Journal of Agriculture and Food Chemistry. 51, 3179–3184.

9- Champa W.A., Gill M.I., Mahajan B.V.C., and Arora N.K. 2014. Preharvest salicylic acid treatments to improve quality and postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. Flame Seedless. Journal of Food and Science Technology. 52(6):3607-16.

10- Coughlan S., and Heber U. 1982. The role of glycine betaine in the protection of spinach thylakoids against freezing stress. Planta 156, 62-69.

11- Ecevit F.M. 2004. Bimas Team. Isparta / Türkiye, http: //www. bimastarim.com/dogal-bitki-antifrizi.html.

12- Eris A., Gulen E., Barut E., and Cansev A. 2007. Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold hardiness in olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik). Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 82:597-604.

13- Fischer C., and Holl W. 1991. Food reserves of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) I. Seasonal changes in the carbohydrate and fat reserves of pine needles. Trees, 5: 187-195.

14- Grieve C.M., and Grattan R. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary-amino compounds. Plant and Soil 70: 303-307.

15- Haji vand S., Mohebi S. and Bakhshi Khanki Gh. 2015. The effects of amino acid and other anti-freeze compounds on the induction of resistance to cold in cherry. Proceedings of the second symposium on new issues in agriculture. Tehran. (in Persian with English abstract)

16- Haji vand S., Yazdipour F., and Bakhshi Khanki Gh. 2015. The effects of anti-freeze compounds on the induction of resistance to cold in pistachio var. ghazvin. Proceedings of the second symposium on new issues in agriculture. Tehran. (In Persian with English abstract)

17- Kang, H. M. and Saltiveit, M. E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum, 115: 577-576.

18- Karami F., Siosemardeh A., Javadi T., and Vafaee Y. 2009. Evaluation of some physiological indices of cold resistance and fruiting characteristics in apricot cultivars. 6th Congress on Horticultural Sciences. Rasht, Gilan, Iran. (in Persian with English abstract)

19- Kazemi M. 2014. Effect of foliar application with salicylic acid and methyl jasmonate on growth, flowering, yield and fruit quality of tomato. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 3 (2): 154-158.

20- Kosova K., Prasil I.T., Vitamvas P., Dobrev P., Motyka, V., and Flokova K. 2012. Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. Journal of Plant Physiology, 169, 567–576.

21- Mahmoudzade H., Faroughi D., and Imani A. 2012. The effect of some chemical compounds on the frost injury of apricot under West Azerbaijan conditions. Second National Conference on climate change and its impact on agriculture and the environment, Urmia, agricultural research center, West Azerbaijan. (in Persian with English abstract)

22- Mahmoudzadeh A. and Imani A. 2011. Effect of some of anti frost on morphology, anatomy and proline of selective almond cultivars flower buds. International Journal of Nuts and Related Sciences 2(3):35-40.

23- Mahmoudzadeh A., Imani A., and Masoumi H. 2011. Preliminary study of the reaction of some almond cultivars treated with anti-frost materials. Proceeding of 1th International Congress Applied Biology, Mashhad, Iran, 321-326. (in Persian with English abstract)

24- Mahmoudzadeh A., Imani A., and Piri H. 2013. Effects of some of nutritional materials on fruit set and its characteristics in apple. Journal of Basic and Applied Scientific Research, 3 (1): 281-285.

25- Marzouk H.A. and Kassem H.A. 2011. Improving yield, quality, and shelf life of Thompson seedless grapevine by

www.SID.ir

Archive of SID

preharvest foliar applications. Scientia Horticulturae, 130: 425–430.
26- Miura K. and Tad K. 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. Frontiers in Plant Science, 5 (4) 1-12.
27- Nakano Y and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. Plant, Cell and Physiology, 22: 867-880.
28- Noreen S., and Ashraf M. 2010. Modulation of salt (NaCl)-induced effects on oil composition and fatty acid profile of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid. Journal of Science of Food and Agriculture, 90, 2608:2616.
29- Popova L.P., Maslenkova L.T., Ivanova A. and Stoinova Z. 2012. Role of salicylic acid in alleviating heavy metal stress. Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change, 447:466.
30- Safarpoor Taher MH. 2007. Half of the exploiters are covered by insurance. News Journal of Public Relations of Ministry of Jihad-e-Agriculture 87: 6-8. (in Persian with English abstract)
31- Scott I.M., Clarke S.M., Wood J.E., and Mur L.A. 2004. Salicylate accumulation inhibits growth at chilling temperature in Arabidopsis. Plant Physiology, 135, 1040:1049.
32- Senaratna T., Touchell D., Bunn E., and Dixon K. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30,157–161.
33- Sedighi A., Gholami M., Sarikhani H., and Ershadi A. 2011. The effect of GA and SA on the ripening time, anthocyanin and ethylene content of Sweet sherry var. Siah-e-Mashhad. Journal of Horticultural Sciences, FUM, Iran. 26 (2): 141-146. (In Persian with English abstract)
34- Shokrollah Fam S., Hajiloo J, Zare F. Taabatabaie J, and Naghshibandi Hasani R. 2011. The effect of cacl2 and SA on the quantitative characters and shelf life of plum var Ghatre Tala. Journal of Food Research 22 (1): 76-85. (In Persian with English abstract)
35- Statistics of chilling and hailstone injuries to horticulture products 2017. Executive committee on management of environmental stresses for horticultural products, Ministry of Jihad-e-Agriculture.
36- Taşgín E., Atící O., and Nalbantoğlu B. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation 41(3): 231–236.
37- Task force for water scarcity, chilling and agriculture risks 2017. Office of risk and crisis management in agriculture. Ministry of Jihad-e-Agriculture. (In Persian with English abstract)
38- Updhyaya A., Sankhla D., Davis T.D., Sankhla N. and Smidth B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activies of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Plant Physiology 121: 453-461.
39- Valero D. 2010. The role of polyamines on fruit ripening and quality during storage: what is new. Acta Horticulture. 884, 199–205.
40- Verbruggen N., and Hermans C. 2008. Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids, 35(4):753-9.
41- Wilson S 2001. Frost Management in Cool Climate Vineyards. Final report to grape and wine research and Development Corporation. University of Tasmania.
42- Wilson J.M. 1996. The Mechanism of chill and drought hardiness. New Physiologist, 97, 257-270.
43- Wan S.B., Tian L., Tian R., Pan Q.H., Zhan J.C., Wen P.F. 2009. Involvement of phospholipase D in the low temperature acclimation induced thermo tolerance in grape berry. Plant Physiology and Biochemistry. 47, 504–510.

www.SID.ir

Journal of Horticultural Science
Vol. 32, No. 1, Spring 2018, P. 159-170
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۷، ص. ۱۷۰-۱۵۹
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

The Effects of Anti-freeze Compounds on the Effective Biological Materials in Freezing Tolerance of Grape under the Orchard Conditions

Sh. Hajivand[1*]- M. Rahmati[2]

Received: 22-05-2017
Accepted: 03-02-2018

Introduction: Nowadays, horticultural products especially in our country are damaged by the climate change events (rising temperatures, water shortage associated by drought and extreme temperature fluctuations). The greatest economic damage to horticultural crops are caused by winter chilling and / or spring frosts, in which has been increased by seventimes during the last 10 years. Indeed, just during 9 months of 2016-2017 year, the chilling/frost damages were reached to 140 million euro of the total damage value of 240 million euro to agriculture (about 60%). According to the Agricultural Insurance Fund, maximum amount of compensation to farmers of the country was paid to apples, walnuts, grapes, almonds, pomegranates, oranges and pistachios orchardists, respectively. Grape (*Vitisvinifera*), a member of the Vitaceae family, is the most important horticultural crop in Takestan region, ranking top in producing raisins in Iran. Yearly, horticultural practices in order to reduce the severity of chilling damages to crops cost a lot under orchard conditions. Some of these practices are included burying vines under soil**,** winter ice-watering, flood irrigation, and turning the heaters on. Nowadays, cheap and fast alternative methods such as anti-freezes spraying havebeen considered to reduce the freeze injuries under orchards. These compounds as mechanical barriers either prevent the ice crystals formation on the sensitive plant tissues or activate the freezing tolerance mechanisms in the plants. Salicylic acid (SA), a type of phenolic acid, is one of the most secondary metabolites in the grape. SA not only plays an important role on the determination of the quality, color and taste of fruit, but also influences on the plant responses into environmental stresses such as drought, chilling, salinity and heavy metals. Natural osmolites such as soluble sugars, amino-acids and ammonium compounds are accumulated inside the plants under natural conditions. Commercial anti-freeze/anti-transpiration compounds on the basis of the mentioned natural osmolites are used to increase the freezing tolerance or postponing the bud break of horticultural crops. For example, Bio-bloom, Tiofer®, Cropaid® and Fosnutren® were used as anti-freeze compounds under almond, cherry, pistachio and apple orchards in Iran. The efficiency of this method to reduce the chilling injuries in vineyards is not well known. Therefore, to consider the effects of plant basis anti-freeze compounds on the freezing tolerance of red seedless grape under Takestan climate conditions, the current experimentation was conducted. In this regard, the important freezing tolerance determining osmolites as well as some of the qualitative and quantitative characters of vines in response to these compounds were evaluated.

Materials and Methods: In order to study the likely increase in grape spring freezing tolerance using the anti-freeze compounds under the orchard, an experiment was conducted as randomized completeblock design (RCBD) with anti-freeze compounds in Agriculture and Natural Resources Research Center of Qazvin during 2012-2013. Minimum monthly temperature during the autumn and winter months was -12.2 °C. The treatments including the spray of SA, Tiofer®, Cropaid®, Bio-Bloom® and water (control) were used on vines during fourphonological stages: before plant dormancy, during bud swelling, start of clustering and during the final clustering on the three red seedless vines per plot. Quantitative and qualitative characters such as cluster weight, yield and total soluble solids (TSS) were measured. Leaves osmolites contents such as proline (Bates et al.,1973) and glycin-betain (Grieve and Grattan.,1983) as well as the status of the freezing resistance index enzymes activities such as Glutathione peroxidase **(**GPX) (Updhyaya et al.,), Ascorbateperoxidase **(**APX) (Nakano and Asada,1981) and Catalase (CAT) (Aebi, 1984) were evaluated. All statistical analyses were made using SAS software. The comparison of mean values for the different treatments was made by ANOVA, followed by the Duncan's test at the significant level of 0.05.

Results and Discussion: The results showed that the anti-freeze compounds resulted in a significant increase in the TSS, cluster weight and yield by 22%, 17% and 26%, respectively and the most effectswas observed in Bio-bloom. Our results regarding the effect of SA on the TSS was in accordance with other researchers (ShokrollahFaam, 2011; Sedighi et al., 2011; Champa et al., 2014; Marzouk and Kasm, 2011). However the

1- Assistant Professor and Deputy Director of Agricultural and Natural Resources Research Center of Qazvin
(*- Corresponding Author Email: shokrollah2006@gmail.com)
2 - PhD in Horticultural Sciences, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran

www.SID.ir

Archive of SID

effect of other anti-freeze compounds on the quantitative characteristics has not studied yet. Tiofer and Cropaid had no significant effect on the grape cluster weight. Proline content increased significantly using anti-freeze compounds compared to control during 2012-2013. But there was no significant difference between the different anti-freeze compounds for proline content. The most important content of betaine-glysine was observed in SA and Bio-bloom treatments. A decrease in air temperature during 2013 dormancy period resulted in higher amount of osmolytes contents (betaine glycine) and freezing resistance index enzymes activities compared to those of 2012. The most important contents of these enzymes activities were obtained in SA, Tiofer, Cropaid and Bio-Bloom treatments, respectively and the less important content was observed in control.

Conclusions: According to these results the commercial anti-freeze compounds could be useful not only for an increase in the grape spring freeze resistance but also for an improvement in the grape cluster weight, total soluble solids and yield. Osmolytes contents such as such as proline and betaine glycine and enzymes GPX, APX, CAT are significantly higher in anti-freeze treated plants compared to control. Since high levels of soluble solids, mentioned osmolytes and enzymes resulted in an increase in cold resistance in plant, the use of antifreeze as an easy and inexpensive way to increase the cold hardiness of grapes is recommended. These results were obtained with this antifreeze in 5 ppm concentration. Therefore more researches on the other varieties using different concentrations of anti-freeze compounds are recommended.

Keywords: Ascorbate peroxidase, Frost, Glycine-betaine, Proline, Red seedless

www.SID.ir