به زراعی کشاورزی
دوره ۱۵ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۲
صفحه‌های ۱۴۶-۱۳۵

بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر تحمل به یخبندان بهاره در انگور (Vitis Vinifera) رقم بیدانهٔ سفید

احمد ارشادی*[۱]، سمیرا طاهری[۲]

۱. استادیار گروه باغبانی دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲. دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان- ایران

تاریخ وصول مقاله: ۹۱/۱۰/۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۲/۳۱

چکیده

یخبندان بهاره یکی از عوامل محدودکننده در تولید انگور است. استفاده از برخی ترکیبات شیمیایی یکی از روش‌های کاهش خسارت سرما محسوب می‌شود. سالیسیلیک اسید در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار در مرحلهٔ تمام گل روی بوته‌های انگور ده‌سالهٔ رقم بیدانهٔ سفید محلول‌پاشی و صبح روز بعد، تغییرات غلظت کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و پروتئین‌های محلول در بافت برگ اندازه‌گیری شد. نمونه‌هایی از برگ و ساقه به مدت سه ساعت تحت تنش سرمایی صفر، ۲-، ٤- و ۸- درجهٔ سانتی‌گراد و نمونه‌های خوشهٔ گل در معرض دماهای صفر، ۲- و ٤- درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شدند. کاربرد سالیسیلیک اسید در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب حداکثر تجمع کربوهیدرات‌های محلول و در غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار باعث افزایش غلظت پرولین برگ شد. کاربرد سالیسیلیک اسید در غلظت ۲ میلی‌مولار سبب کاهش پروتئین‌های محلول شد. تیمارهای سالیسیلیک اسید، سرما و برهم‌کنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر درصد نشت یونی در بافت‌های مختلف داشت. تیمار با سالیسیلیک اسید باعث کاهش مؤثر درصد نشت یونی تا محدودهٔ ۸- درجهٔ سانتی‌گراد در نمونه‌های ساقه و ٤- درجهٔ سانتی‌گراد در برگ و خوشهٔ گل در مقایسه با شاهد شد. به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید ضمن افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های محلول باعث کاهش اثرات منفی دمای پایین و خسارت به غشای سلول‌ها می‌شود.

کلیدواژه‌ها: انگور، پرولین، تنش سرما، کربوهیدرات محلول، نشت یونی

* نویسنده مسئول Email: ershadi@basu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۱. مقدمه

سرمای دیررس بهاره یکی از مشکلات پرورش انگور است که گاهی تا ۹۰ درصد محصول تاکستان‌ها را از بین می‌برد [٦]. خطر سرمازدگی شاخه‌های سبز و خوشه‌های گل انگور در اوایل فصل رشد در اکثر ارقام تجاری انگور وجود دارد [۳۷]. شاخه‌های علفی نورست تحمل سرمای پایین‌تر از ۲ درجهٔ سانتی‌گراد را ندارند و در کمتر از این دما به‌شدت آسیب می‌بینند [۵، ٦].

پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و دقیق مقاومت گیاهان به سرما انجام شده است. از شاخص‌های مهمی از قبیل اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها [۲٤] و آزمون رنگ‌آمیزی با تترازولیوم [۱۵] برای بررسی میزان خسارت ناشی از تنش یخزدگی استفاده می‌شود. سرما باعث تغییرحالت غشا از کریستال ـ مایع به حالت جامد ـ ژل می‌شود و با این تغییر، فعالیت غشای سلولی مختل می‌شود [۱۷]. سرمازدگی باعث اختلال در فعالیت غشا می‌شود و به دنبال آن الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند [۸] و به همین دلیل محققان با اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیت‌ها از بافت‌های گیاهی به عنوان روشی مناسب برای تخمین سلامت و تراوایی غشا پس از تنش‌های محیطی از جمله سرما استفاده می‌کنند [۲۸]. گیاهان با انباشت مواد تنظیم‌کنندهٔ اسمزی مانند اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌های محلول، برخی یون‌های معدنی و پروتئین‌ها، مقاومت خودشان را به دمای پایین افزایش می‌دهند. پرولین یکی از اسیدآمینه‌های فعال در پدیدهٔ تنظیم اسمزی است [۷]. نقش محافظتی پرولین و پروتئین‌های محلول محافظت گیاه در برابر تغییرات اسمزی، محافظت از غشای سلولی و آنزیم‌های سلولی و همچنین، ذخیرهٔ انرژی برای ترمیم‌های پس از تنش است [۲٦]. کربوهیدرات‌های محلول ضمن تنظیم فشار اسمزی، سبب کاهش تلفات آب و حفظ تورژسانس سلول و پایداری غشا می‌شوند [۱٦].

یکی از روش‌های افزایش تحمل به سرمازدگی استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله سالیسیلیک اسید است [۳٦]. سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنلی است که به‌طور طبیعی در گیاهان سنتز می‌شود [۳۰]. گزارش‌های فراوانی مبنی بر نقش سالیسیلیک اسید بر کاهش اثرات ناشی از تنش‌های زیستی و غیرزیستی از جمله سرمازدگی وجود دارد [۳٦]. سالیسیلیک اسید ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش سمیت رادیکال‌های آزاد می‌شود که بر اثر خسارت سرمازدگی تجمع یافته‌اند و به این طریق خسارت ناشی از تنش سرمایی را کاهش می‌دهد [۲۲].

از طرفی کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش میزان پلی‌آمین‌ها می‌شود که نقش مهمی در ایجاد مقاومت به سرما دارند [۲۷]. نقش حفاظتی سالیسیلیک اسید در برابر آسیب سرمایی در گیاهان مختلف مانند برنج، ذرت و خیار [۲۱]، گوجه‌فرنگی [۳۲]، لیموآب [۱]، پسته [۳] و گردو [۲] گزارش شده است. محلول‌پاشی قلمه‌های انگور با سالیسیلیک اسید باعث افزایش مقاومت به تنش سرمایی و گرمایی از طریق کاهش نشت یونی و پراکسیداسیون غشای سلول‌ها شده است [۳٦]. گزارش شده است که سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقاومت محورهای جنینی زیتون تلخ [٤] و یاس خوشه‌ای [۱۰] در برابر سرما شده و استحکام غشای سلولی دانهال‌های موز را در برابر سرما بهبود داده است [۲۲].

هدف از این پژوهش بررسی تأثیر کوتاه‌مدت کاربرد سالیسیلیک اسید در واکنش بوته‌های انگور نسبت به یخبندان بهاره است که ضمن اندازه‌گیری تغییرات کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و پروتئین‌های محلول، درصد نشت یونی بافت‌های خوشهٔ گل، برگ و ساقه تحت تنش سرمایی ارزیابی شد.

Archive of SID
www.SID.ir

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۰ در تاکستانی تجاری در روستای امزاجرد از توابع شهرستان همدان و آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشگاه بوعلی سینا و در قالب طرحی کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. سالیسیلیک اسید در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار تهیه شد. بوته‌های ده‌سالهٔ انگور رقم بیدانهٔ سفید در مرحلهٔ تمام گل، در دو نوبت صبح و عصر با فاصلهٔ ۱۲ ساعت محلول‌پاشی شدند. صبح روز بعد، از هر بوته پنج برگ از گره ٦ ـ ۵ شاخه‌های سال جاری جدا و داخل پارچهٔ تنظیف مرطوب به آزمایشگاه منتقل شد. همچنین، از هر بوته دو شاخهٔ سال جاری، هر کدام حاوی یک گل آذین جداشده، به آزمایشگاه انتقال یافت.

ابتدا غلظت پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین‌های محلول نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سپس، نمونه‌های ساقه، برگ و خوشه گل تحت تیمار سرمایی قرار گرفت و درصد نشت یونی آن‌ها بررسی شد.

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین برگ از روش بیتس[1] و همکاران استفاده شد [۹]. ۰/۲ گرم از برگ هر نمونه با استفاده از ازت مایع در هاون چینی کوبیده شد. ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد به نمونه اضافه و در هاون کاملاً مخلوط شد. به ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ تهیه‌شده ۲ میلی‌لیتر اسید استیک و ۲ میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین (۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین+ ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلایسیال+ ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٦ مولار) اضافه شد و به مدت یک ساعت درون حمام آب جوش با دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس، لوله‌ها سرد و به هر یک ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. نمونه‌ها به‌شدت تکان داده شد و بعد از ایجاد دو فاز جداگانه در لولهٔ آزمایش، جذب فاز تولوئن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل کری ۱۰۰ [2]، واریان، آمریکا) و در طول موج ۵۱۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. غلظت پرولین براساس میکرومول بر گرم وزن تر برگ گیاه تعیین شد.

برای اندازه‌گیری غلظت کربوهیدرات‌های محلول از روش پاکوین و لچاسر[3] استفاده شد [۲۹]. نیم گرم از بافت تازهٔ برگ با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده و له شد. سپس، قسمت بالایی محلول جدا و با افزودن ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به رسوبات قبلی استخراج برای دو مرحلهٔ دیگر تکرار شد. عصارهٔ استخراج‌شده به مدت ۱۵ دقیقه در ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۰/۱ میلی‌لیتر از این عصارهٔ الکلی با ۳ میلی‌لیتر آنترون تازهٔ تهیه‌شده مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب‌جوش قرار داده شد تا رنگ صورتی حاصل شود. سپس، میزان جذب آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ٦۲۵ نانومتر خوانده و غلظت کربوهیدرات‌های محلول به‌صورت میلی‌گرم بر گرم وزن تازه محاسبه شد.

به منظور بررسی پروتئین‌های محلول از روش برادفورد[4] استفاده شد [۱۱]. ۰/۵ گرم برگ تازه با ٦/۲۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (تریس با غلظت ۱ میلی‌مولار و PH=٦/۸)، مخلوط و به مدت ۲٤ ساعت در یخچال در دمای ٤ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شد. بعد از ۲٤ ساعت، نمونهٔ برگی در هاون چینی، کاملاً له و این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ٦۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از روشناور ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و ۵ میلی‌لیتر معرف بیورد به آن اضافه شد؛ جذب محلول حاصله با استفاده از اسپکتروفتومتردر طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. با

1. Bates

2. Cary 100
3. Paquin and Lechasseur
4. Bradford

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده از منحنی استاندارد تهیه‌شده از غلظت‌های مختلف آلبومین گاوی غلظت پروتئین‌های محلول براساس میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ محاسبه شد.

۱.۲. تیمار سرمایی

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار انجام شد. نمونه‌های برگ شامل هشت قطعه برگ به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر مربع و ساقه از میان‌گره پنجم به طول ۱/۵ سانتی‌متر در داخل قوطی‌های پلاستیکی با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شد و به مدت ۳ ساعت، تحت تنش سرمایی با دمای صفر، ۲-، ٤- و ۸- درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌های خوشه گل با وزن حدود یک گرم نیز به مدت ۳ ساعت تحت سه تیمار دمایی صفر، ۲- و ٤- درجهٔ سانتی‌گراد و شاهد (عدم تیمار سرمایی) قرار گرفتند. دمای اولیهٔ اتاقک سرمایی ١٦ درجهٔ سانتی‌گراد و سرعت سردکردن نمونه‌ها ۲ درجهٔ سانتی‌گراد در ساعت بود. پس از تیمار سرمایی قوطی‌های حاوی نمونه‌های برگ، ساقه و گل آذین از اتاقک سرمایی خارج و ٤٠ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر به آن‌ها اضافه شد و به مدت ۱/۵ ساعت روی شیکر قرار گرفت. در مرحلهٔ بعد، نمونه‌های گیاهی به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق و در شرایط تاریکی نگه‌داری شدند و سپس، نشت یونی آن‌ها با استفاده از دستگاه EC متر (مدل اینولب۷۲۰[1]، ساخت آلمان) اندازه‌گیری شد (E_1). لوله‌های آزمایش حاوی نمونه‌های گیاهی در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شده و پس از سردشدن نمونه‌ها مجدداً نشت یونی آن‌ها اندازه‌گیری شد (E2). درصد نشت یونی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۳۵].

1. Inolab 720

$$(E_1 \div E_2) \times 100 = \text{درصد نشت یون}$$

نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری ۹/۱ SAS تجزیه و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. پرولین

کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) بر غلظت پرولین برگ داشت (جدول ۱). حداکثر غلظت پرولین برگ در بوته‌های تیمارشده با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمد و بوته‌های تیمارشده با غلظت ۲ میلی‌مولار در کنار بوته‌های شاهد مقادیر پرولین کمتری در برگ‌های خود داشتند (جدول ۲). گزارش شده است که تیمار سالیسیلیک اسید سبب افزایش پرولین در گردو [۲] و گندم [۳۳] شده است. هرچند سالیسیلیک اسید در بامیه سبب کاهش پرولین در گیاهان شاهد شد، گیاهان تیمارشده با سالیسیلیک اسید در شرایط تنش خشکی پرولین بیشتری نسبت به شاهد تولید کردند [۷]. تولید رادیکال‌های آزاد در شرایط تنش افزایش می‌یابد که در انتقال الکترون‌ها در کلروپلاست‌ها و میتوکندری اختلال ایجاد می‌کنند و موجب تخریب و فروپاشی غشاها در شرایط تنش می‌شوند [۱۳، ۱۸]. اسیدآمینهٔ غیرساختاری پرولین نقش آنتی‌اکسیدانی دارد و در از بین‌بردن رادیکال‌های آزاد مؤثر است و از این طریق پروتئین‌ها و غشاها را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند [٤٠].

۲.۳. کربوهیدرات محلول

کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ داشت (جدول ۱). محلول‌پاشی بوته‌های انگور با غلظت‌های مختلف

Archive of SID
www.SID.ir

سالیسیلیک اسید غلظت کربوهیدرات محلول برگ را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. حداکثر کربوهیدرات محلول در برگ بوته‌های تیمارشده با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به‌دست آمد و بین بوته‌های محلول‌پاشی‌شده با غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). سالیسیلیک اسید سبب تحریک هیدرولیز کربوهیدرات‌ها می‌شود و با افزایش ترکیباتی مانند قندهای محلول ضمن ایجاد یک منبع اسمزی سبب کاهش خسارت سرمازدگی می‌شود [۱۹]. باغبان‌ها و همکاران، در سال۱۳۸٦، با تحقیق روی نهال‌های لیمو آب دریافتند کاربرد سالیسیلیک اسید با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب تجمع کربوهیدرات‌های محلول در برگ نهال‌های لیمو آب شد [۱]. قندهایی نظیر فروکتوز و گلوکز از اسمولیت‌های مهم با وزن مولکولی کم در گیاهان عالی هستند که در شرایط تنش اسمزی و تغییر در محتوای نسبی آب بافت، در گیاه تجمع می‌یابند و باعث تنظیم اسمزی و حفظ آماس در داخل گیاه می‌شوند. همچنین، قندها سبب کاهش نقطهٔ انجماد بافت می‌شوند [۲۳]. قندها به پروتئین‌ها و غشاها ثبات می‌بخشند و با ایجاد پیوند هیدروژنی با دنباله‌های قطبی پلی‌پپتیدها و گروه‌های فسفولیپید، از تخریب پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند [۷].

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس اثر سالیسیلیک اسید بر غلظت پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین محلول برگ انگور رقم بیدانهٔ سفید

منابع تغییرات	درجهٔ‌آزادی	میانگین مربعات		
		پرولین	کربوهیدرات‌های محلول	پروتئین‌های محلول
سالیسیلیک اسید	۳	۱/۸۷**	۳۱۷/۳۸**	۱۱/۲۳**
خطا	۱۲	۰/۱۷	۱۹/۱۱	۰/۱۲
ضریب تغییرات	-	۱۵/۹٦	۹/۲۲	۷/۱٤

**: معنی‌دار در سطح ۱٪.

جدول ۲. اثر سالیسیلیک اسید بر غلظت پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین محلول برگ انگور بیدانهٔ سفید

غلظت سالیسیلیک اسید (میلی‌مولار)	پرولین(میکرومول بر گرم وزن تازه)	کربوهیدرات محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	پروتئین محلول (میلی‌گرم بر گرم بر وزنتازه)
۰	^{b}۷۹/۱	^{c}۳۷/۳٦	^{a}۵/۵٦
۰/۵	^{a}۳۲/۳	^{a}۱٦/۵۸	^{a}۵/٤۷
۱	^{a}۹۷/۲	^{b}۰۱/٤۸	^{a}٦/۰۰
۲	^{b}۳۱/۲	^{b}۹۵/٤٦	^{b}۳۵/۲

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون اختلاف آماری در سطح ۵ ٪ ندارند.

Archive of SID
www.SID.ir

۳.۳. پروتئین

کاربرد سالیسیلیک اسید تأثیر معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۱$) بر غلظت پروتئین‌های محلول برگ داشت (جدول ۱). غلظت ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید سبب کاهش پروتئین‌های محلول‌شده شد، ولی غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌مولار اثر معنی‌داری بر پروتئین‌های محلول برگ در مقایسه با شاهد نداشت (جدول ۲). سالیسیلیک اسید نقش مؤثری در تنظیم پروتئین‌های آپوپلاستی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مرتبط با مقاومت به تنش سرمایی دارد [۳٤]. کاهش در تولید یا افزایش تجزیهٔ پروتئین‌ها یا هر دو را می‌توان به افزایش یا کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها نسبت داد [۱٤]. با این حال پروتئین تجمع‌یافته بر اثر کاربرد سالیسیلیک اسید در چاودار نقشی در فعالیت ضد یخی نداشت [۳۹] و نقش سالیسیلیک اسید طی مقاومت به یخبندان هنوز ناشناخته است و نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. تأثیر سالیسیلیک اسید بر مقدار پروتئین‌های محلول ممکن است در گیاهان مختلف متفاوت و یا نتایج متناقض به سن و مرحلهٔ نموی گیاه و یا روش آزمایش مرتبط باشد [۲۰].

٤.۳. درصد نشت یونی تحت تنش سرما

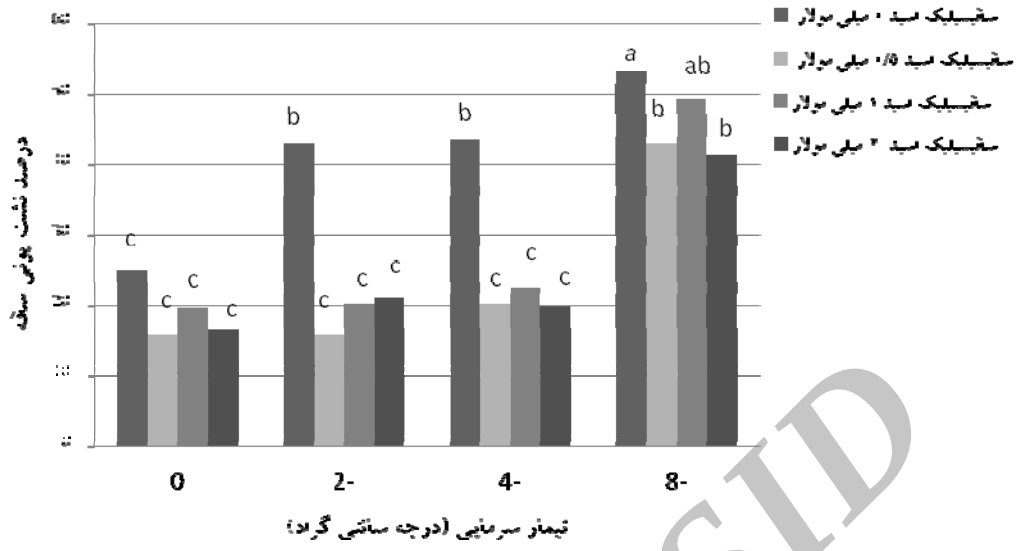
درصد نشت یونی ساقه در سطح ۱٪ تحت تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید و سرمادهی قرار گرفت، ولی اثر متقابل این دو فاکتور در سطح ۵٪ معنی‌دار شد (جدول ۳). کاهش دما باعث افزایش درصد نشت یونی در نمونه‌های ساقه شد، ولی روند افزایش تحت تأثیر تیمار با سالیسیلیک اسید قرار گرفت. کاهش دما از صفر به ۲- درجهٔ سانتی‌گراد به افزایش معنی‌دار نشت یونی در نمونه ساقهٔ بوته‌های شاهد منجر شد، ولی در بوته‌های تیمارشده با غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، درصد نشت یونی بافت‌ها تا دمای ٤- درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معنی‌دار نشان نداد (شکل ۱). کاربرد سالیسیلیک اسید با غلظت‌های ۰/۵ و ۲ میلی‌مولار تأثیر چشمگیری بر کاهش نشت یونی و حفظ سلامت بافت‌ها در تنش سرمایی ۸- درجهٔ سانتی‌گراد داشت (شکل ۱). تفاوت نامحسوس در نشت یونی نمونه‌های تیمارشده و شاهد در دمای صفر درجهٔ سانتی‌گراد می‌تواند ناشی از خسارات جزئی ایجادشده در این دما باشد.

جدول۳. تجزیهٔ واریانس اثر سالیسیلیک اسید بر درصد نشت یونی ساقه، برگ و خوشه گل انگور رقم بیدانهٔ سفید تحت تیمارهای سرمایی مختلف

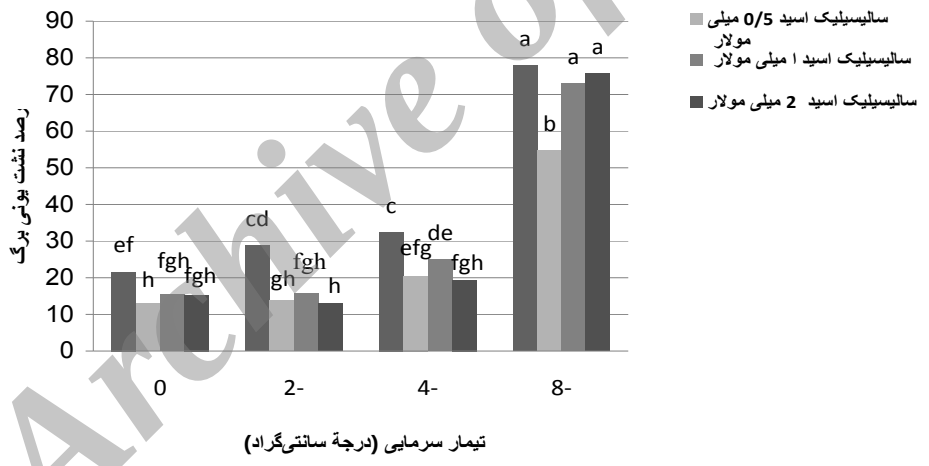
منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات		
		نشت یونی ساقه	نشت یونی برگ	نشت یونی خوشه گل
سالیسیلیک اسید	۳	۱۰٤۷/۸۰**	۵۹۲/٦۳**	۳۰/٦۱**
سرما	۳	۲۲۸۸/۸٤**	۱۰۵۲۷/۸۵**	۲۲٦**
سرما×سالیسیلیک اسید	۹	۹۱/۱۲*	۹۱/۲۸**	٦/٦۵**
خطا	٤۸	۳۵/۷٦	۱۹/۱۳	۰/٦۲
ضریب تغییرات	-	**۲۰/۲**	**۱۳/۵**	**۹/۷۲**

*، **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و ۵٪.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۱. اثر سالیسیلیک اسید بر درصد نشت یونی ساقهٔ انگور رقم بیدانهٔ سفید تحت تیمارهای سرمایی مختلف. حروف مشترک معرف نداشتن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.



شکل ۲. اثر سالیسیلیک اسید بر درصد نشت یونی برگ انگور رقم بیدانهٔ سفید تحت تیمارهای سرمایی مختلف. حروف مشترک معرف نداشتن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

تأثیر سالیسیلیک اسید، تیمار سرمایی و برهم‌کنش آن‌ها بر درصد نشت یونی برگ‌ها در سطح ۱٪ معنی‌داری شد (جدول ۲). خسارات ناشی از تیمار سرمایی در برگ گیاهان شاهد بیش از بوته‌های تیمارشده با سالیسیلیک اسید بود و غلظت‌های مختلف سالیسیلیک

اسید در دامنهٔ تنش سرمایی صفر تا ٤- درجهٔ سانتی‌گراد تأثیر مثبتی بر کاهش درصد نشت یونی برگ‌ها داشتند. هرچند تیمار سرمایی ۸- درجهٔ سانتی‌گراد باعث

Archive of SID
www.SID.ir

افزایش شدید درصد نشت یونی برگ‌ها در گیاهان شاهد و تیمارشده شد، در همین دما نیز تیمار ۰/۵ میلی‌مولار باعث کاهش محسوس نشت یونی و خسارت به غشای سلول‌ها در مقایسه با سایر غلظت‌ها و تیمار شاهد شد (شکل ۲).

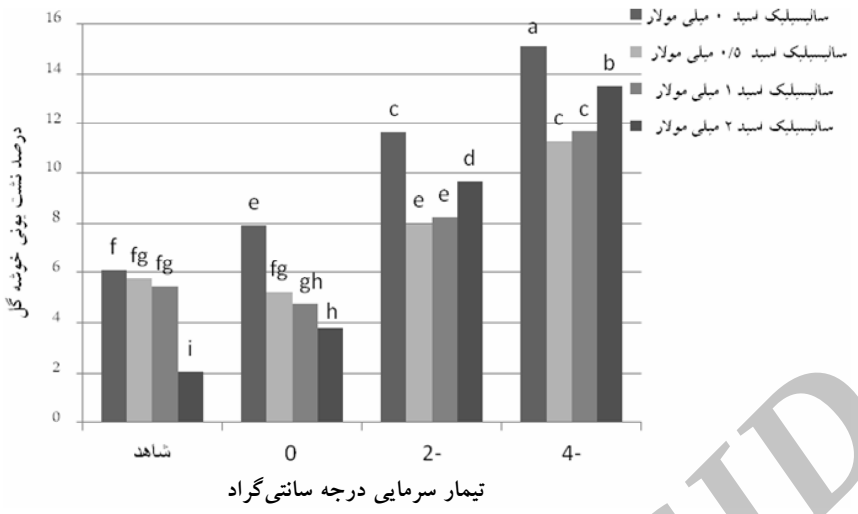
سالیسیلیک اسید، تیمار سرمایی و اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری در سطح ۱٪ بر درصد نشت یونی خوشهٔ گل داشتند (جدول ۲). نشت یونی خوشه‌های گل همراه با کاهش دما افزایش یافت. در دمای ۲۵ و صفر درجهٔ سانتی‌گراد حداقل نشت یونی ضمن تیمار با غلظت ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مشاهده شد، ولی در تنش‌های شدیدتر غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار تأثیر مثبت بیشتری بر کاهش درصد نشت یونی داشتند (شکل ۳).

اندازه‌گیری نشت یونی از بافت‌های تحت تنش سرما معیار قابل قبولی برای ارزیابی مقاومت گیاه به دماهای پایین است [۱۵]. هنگامی که بافت‌های گیاه بر اثر سرما آسیب می‌بینند، رادیکال‌های آزاد اکسیژن مثل سوپر اکسید، هیدروژن پراکسیداز و رادیکال‌های هیدروکسیل تجمع می‌یابند و باعث آسیب‌رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشا می‌شوند [۱۷]. تداوم این امر موجب تخریب بیشتر غشای سلول و خروج آب از درون سلول به فضای بین‌سلولی می‌شود و نتیجهٔ این وضعیت، بروز پدیدهٔ آبگزشدن و افزایش نشت یونی است [۸]. کاربرد سالیسیلیک اسید سبب کاهش نشت یونی در گیاهان گوجه‌فرنگی [۳۲] و انگور [۲۵، ۳۶] شده است. تیمار دانهال‌های پسته رقم بادامی ریز با سالیسیلیک اسید سبب افزایش مقاومت به سرمای آن‌ها از طریق کاهش نشت یونی برگ‌ها شده است [۳].

تجمع ترکیبات با وزن مولکولی پایین مانند کربوهیدرات محلول، پرولین و پروتئین‌های محلول به پایداری غشای سلولی و اندامک‌ها طی تنش سرمایی کمک می‌کند و باعث کاهش نشت الکترولیتی در سلول‌های تحت تنش می‌شود [۳۸]. همبستگی منفی و معنی‌داری بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ با درصد نشت یونی ساقه و خوشهٔ گل (تحت تیمارهای سرمایی ۲- و ٤- درجهٔ سانتی‌گراد) و درصد نشت یونی برگ (تحت تیمارهای سرمایی صفر تا ۸- درجهٔ سانتی‌گراد) مشاهده شد. بین غلظت پروتئین‌های محلول برگ و درصد نشت یونی ساقه، برگ و خوشهٔ گل رابطه‌ای منفی، ولی غیرمعنی‌دار وجود داشت (جدول ٤). رابطهٔ مثبت بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول و مقاومت به سرما در سیب [۱۲]، تمشک [۲۸]، لیموآب [۱] و انار [۱۵] گزارش شده است. همچنین، افزایش در غلظت پرولین درون‌زاد [۱۵] و یا کاربرد خارجی آن [۳۱] می‌تواند به کاهش خسارت سرمازدگی در بافت‌های گیاهی منجر شود. خرمشاهی در سال ۱۳۹۱، گزارش کرد که محلول‌پاشی بهارهٔ سالیسیلیک اسید باعث افزایش در غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در برگ درختان گردو رقم Z60 شد و درصد نشت یونی برگ‌ها را در محدوهٔ دمایی صفر تا ۳- درجهٔ سانتی‌گراد به‌طور چشمگیری نسبت به درختان شاهد کاهش داد [۲]. براساس نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق کاربرد بهارهٔ سالیسیلیک اسید به‌ویژه در غلظت نیم میلی‌مولار باعث کاهش چشمگیر خسارت سرما تا محدودهٔ ۸- درجهٔ سانتی‌گراد در بافت ساقه و ٤- درجهٔ سانتی‌گراد در برگ و خوشه گل شد. بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و غلظت پلی‌آمین‌های درون‌زاد می‌تواند به درک بهتر نقش این ترکیب در ایجاد مقاومت به سرما در گیاهان کمک کند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳. اثر سالیسیلیک اسید بر درصد نشت یونی خوشه گل انگور رقم بیدانهٔ سفید تحت تیمارهای سرمایی مختلف. حروف مشترک معرف نداشتن اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است.

جدول ٤. همبستگی بین درصد نشت یونی برگ، ساقه و خوشهٔ گل با کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و پروتئین محلول در برگ انگور بیدانهٔ سفید تحت تیمارهای سرمایی مختلف

تنظیم‌کننده‌های اسمزی	تیمار سرمایی (درجهٔ سانتی‌گراد)			
	۰	-۲	-٤	-۸
	درصد نشت یونی ساقه			
کربوهیدرات محلول	-۰/٤۱ ns	-۰/۸۳**	-۰/٦۹**	-۰/٤۰ ns
پرولین	-۰/۲۳ ns	--۰/٦۸**	-۰/٦٥**	-۰/۲۸ ns
پروتئین محلول	-۰/۲٥ ns	-۰/۱٦ns	-۰/۳۱ ns	-۰/۳۸ ns
	درصد نشت یونی برگ			
کربوهیدرات محلول	-۰/٥۷*	-۰/٦۳**	-۰/٦٦**	-۰/۷۷**
پرولین	-۰/٥۲*	-۰/٦۰*	-۰/٥٦*	-۰/٦۸**
پروتئین محلول	-۰/۰۸ns	-۰/۳۳ns	-۰/٤٤ ns	-۰/۲۱ ns
	درصد نشت یونی خوشه گل			
کربوهیدرات محلول	- ۰/٤۰ ns	- ۰/۷٥**	- ۰/٦٦**	-
پرولین	- ۰/٤۲ns	-۰/۸۷**	- ۰/۷٥**	-
پروتئین محلول	- ۰/٤۸ns	- ۰/۱٥ns	- ۰/۲۳ns	-

**, *, ns : به ترتیب معنی‌داری در سطح ۰/۰۱، ۰/۰٥ و غیرمعنی‌دار.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

۱. باغبان‌ها، م؛ فتوحی قزوینی، ر؛ حاتم‌زاده، ع؛ حیدری، م؛ (۱۳۸٦). «اثر سالیسیلیک اسید بر تحمل تنش یخ زدگی دآنهال‌های لیموآب شیراز». *مجلهٔ علوم و فنون باغبانی ایران*، جلد۸، شمارهٔ ۳، ص. ۱۹۸ـ ۱۸۵.

۲. خرمشاهی، ل؛ (۱۳۹۱). «اثر محلول تیوفر و سالیسیلیک اسید بر مقاومت به سرمای بهاره درختان گردو». دانشگاه بوعلی سینا، همدان، پایان‌نامهٔ دورهٔ کارشناسی ارشد.

۳. سجادیان، ح؛ (۱۳۹۰). «بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر مقاومت به سرما دانهال‌های پسته رقم بادامی ریز با استفاده از نشت یونی». مجموعه مقالات هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ص. ۱۳۲ـ۱۳٤.

٤. کاویانی، ب؛ برنارد، ف؛ شاکر، ح؛ حدادچی، ح؛ (۱۳۸٤). « اثرات اسید سالیسیلیک بر مقاومت محورهای جنینی زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) در برابر سرما و انجماد سرد». پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی.شمارهٔ ٦۷: ص. ٤۹ـ٤٤.

۵. ناظمیه، ع؛ (۱۳۷۲). *بیولوژی مو*. انتشارات جهاد دانشگاه تبریز، ص.۱۵۰.

6. Anonymous (2004) FAO stat data base results. Available on the www.FAO.org.

7. Ashraf M, and Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206-216.

8. Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Marrone E and Mancuso S (2009) Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. Trees. 23: 159-167.

9. Bates LS, Waldron RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205–207.

10. Bernard F, Shaker-bazarnov H and Kaviani B (2002) Effects of salicylic acid on cold preservation and cryopreservation of encapsulated embryonic axes of Persian lilac (*Melia azedarach* L.). Euphytica.123: 85–88.

11. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

12. Coleman WK, Estabrooks EN (1992) Enhancement of cold hardiness in apple tree by PBZ, thidiazuron and flurprimidol. Canadian Journal of Plant Science. 72: 1267-1274.

13. Davies KJA (1987) Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. The ***Journal*** of ***Biological Chemistry***. 262: 9895-9901.

14. El-Tayeb MA (2005) Response of barley grains to the interactive effect of salinityand salicylic acid. Plant Growth Regulation. 45:215–224.

15. Ghasemi Soluklui AA, Ershadi A and Fallahi E (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. Hortscience. 47:1821-1825.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Agriculture & Food chemistry. 53: 47-55.

24. Linden L (2002) Measuring cold hardiness in woody plants. Helsinki University. Ph.D. Dissertation.

25. Liu Y, Zhang J, Liu H and Huang W (2008) Salicylic acid or heat acclimation pre-treatment enhances the plasma membrane-associated ATPase activities in young grape plants. Scientia Horticulturae. 119: 21-27.

26. Mahajan Sh and Narendra T (2005) Cold, salinity and drought stresses: An overview. Biochemistry and Biophysics. 444: 139-158.

27. Nemeth M, Janda T, Horvath E, Paldi E and Szalai G (2002) Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Science. 162: 569-574.

28. Palonen P (1999). Relationship of seasonal changes in carbohydrates and cold hardiness in canes and buds of three red raspberry cultivars. Journal of the American Society for Horticultural Science. 124 (5): 509-513.

29. Paquin R and Lechasseur P (1979) Observations sur la methode de dosage de la proline libredans les extraits de plantes. Canadian Journal Botany. 57:1851-1854.

30. Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43: 439–463.

31. Santarius KA (1992) Freezing of isolated thylakoid membranes in complex media. VIII. Differential cryoprotection by sucrose, proline and glycerol. Physiology Plant. 84: 87-93.

16. Gusta LV, Trischuk R and Weiser CJ (2005) Plant cold acclimation: the role of abscisic acid. Journal of Plant Growth Regulation. 24: 308- 318.

17. Hana B and Bischoff JC (2004) Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology. 48, 8-21.

18. Hassibi P, Moradi F and Nabi pour M (2007) Screening of rice genotypes for low temperature stress-using chlorophyll fluorescence. Iranian Journal of Crop Sciences. 9(1): 14-31.

19. Hayat S and Ahmad A (2007) Salicylic Acid – A Plant Hormone. Plant Physiology. 91–150.

20. Janda T, Horvath G, Szalai G and Paldi E (2007) Role of salicylic acid in the induction of abiotic stress tolerance. In: Hayat, S., Ahmad, A. (Eds.), Salicylic Acid, A plant Hormone. Springer Publishers, Dordrecht, Netherlands.

21. Kang HM and Saltveit ME (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (Leaves and roots) and differentially affected by Salicylic acid. Physiologia Plantarum. 115: 576-577.

22. Kang G, Wang C. Sun G and Wang Z (2002) Salicylic acid changes activities of H_2O_2-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environmental and Experimental Botany. 50: 9-15.

23. Kerepesi I (1998). Osmotic and salt stresses induced differential alteration in water- soluble carbohydrate content in wheat seedling.

Archive of SID
www.SID.ir

32. Senaratna T, Touchell D, Bunn E and Dixon K (2000) Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress to lerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regulation. 30: 157–161.

33. Singh, B and Usha K (2003). Sal icylic acid induced physiological and bi ochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regulation. 39: 137–141.

34. Tasgin E, Atici O, Nal bantoglu B (2003) Effect of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves, Plant Growth Regulation.41: 231-236.

35. Teutonica RA, Palta JP and Osborn TC (1993) In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars. Crop Science. 33: 103-107.

36. Wang LJ and Shao HL (2006) Sal icylic acid – induced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2+} homeostasis and ant ioxidant systems in young grape plants. Plant Science.170: 685-69.

37. Winkler A, cook J, Kl ievers N and Lideer L (1974) General viticulture. University of California press, Berkeley and Los Angles.710 p.

38. Yelenosky G and Guy CL (1989). Freezing tolerance of ci trus, spinach, and petunia leaf tissue. Osmotic adjustment and sensitivity to freeze induced cellular dehydration. Plant Physiology. 89: 444-451.

39. Yu XM, Griffith M and W iseman SB (2001) Ethylene induces antifreeze activity in winter rye leaves. Plant Physiology. 126: 1232-1240.

40. Zhang J, Kl uera NY, W ang Z, R ay Wu, Ho TD and Nguyen HT (2000) Genet ic engineering for abiotic stress resistance in crop plants. In Vi tro Cell Developmental Biology Plant. 36: 108-114.

Archive of SID

www.SID.ir