

تأثیر تنش یخ زدگی بر مقادیر نشت الکترولیتی، پرولین و رابطه آن با رشد مجدد در برخی ارقام انگور

حسین عراقی*^۱، علی تهرانی فر^۱، محمود شور^۱، بهرام عابدی^۱ و یحیی سلاح ورزی^۲

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیاران گروه علوم باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد.

۲- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات انار دانشگاه فردوسی مشهد.

چکیده

تنش یخ زدگی یکی از عوامل محدود کننده تولید میوه می باشد که باعث خسارت به جوانه، پوست، چوب و حتی ریشه درختان می شود. در این پژوهش به منظور مطالعه اثرات یخ زدگی در طول فصل رکود بر جوانه چهار رقم تجاری انگور، آزمایشی در سال ۱۳۸۹ بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل زمان جمع آوری (۲۰ آذر، ۱۰ بهمن، ۲۵ اسفند)، دما: (۲۵، -۱۰، -۱۲، -۱۴، -۱۶، -۱۸، -۲۰ و -۲۲- درجه سانتی گراد) و ارقام انگور (کلاهداری، کشمش قرمز، یاقوتی و کشمش سفید) در سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که در دمای -۲۲- درجه سانتی گراد، رقم کلاهداری در اواخر پائیز با ۶۰ درصد و رقم یاقوتی در اواخر زمستان با ۶۲ درصد، بیشترین مقدار نشت الکترولیتی را نشان دادند. رقم کشمش قرمز در اواسط زمستان با ۳۹ درصد کمترین مقدار نشت را دارا بود. کمترین و بیشترین میزان پرولین نمونه ها به ترتیب در اواخر زمستان با ۱۰/۴۸ میکرو مول بر گرم وزن خشک و در اواسط زمستان با مقدار ۱۴/۶۴ میکرو مول بر گرم وزن خشک بدست آمد و در این مدت رقم یاقوتی و کشمش قرمز با ۱۱ و ۱۴ میکرو مول بر گرم وزن خشک به ترتیب دارای کمترین و بیشترین میزان پرولین بودند. در دمای -۲۲- درجه سانتی گراد، کمترین میزان رشد مجدد (حدود ۱۲ درصد) و بیشترین میزان قهوه ای شدن مربوط به رقم یاقوتی در اواخر زمستان و همچنین بیشترین میزان رشد مجدد (حدود ۴۰ درصد) به همراه کمترین میزان قهوه ای شدن از رقم کشمش قرمز در اواسط زمستان بدست آمد. در بین این ارقام، رقم کشمش قرمز مقاوم ترین رقم و رقم یاقوتی حساس ترین رقم به یخ زدگی بودند.

واژه های کلیدی: پرولین، دمای یخ زدگی، رشد مجدد، رکود، نشت الکترولیت.

مقدمه

، ارقام دارای رنج مقاومتی نزدیک به ۳۶- و ارقام هیبرید دارای رنج مقاومتی ۱۷- تا ۲۷- درجه سانتی گراد هستند (فنل، ۲۰۰۴).

بر حسب نوع بافت نیز مقاومت به سرما در انگور متفاوت می باشد، این موضوع بوسیله ی محققین بسیاری گزارش شده است (هاول و شولیز، ۱۹۸۰؛ آشورث و همکاران، ۱۹۸۳؛ میلر و همکاران، ۱۹۸۸؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۹). وایسر (۱۹۷۰) گزارش کرد که مقاومت بافت های گیاهی با انباشته شدن یک یا چند ماده سنتز شده نظیر قندها، اسید های آمینه، پروتئین ها، پرولین و اسیدهای نوکلئیک در سلولها و عمدتا در واکوئول های گیاه رابطه مستقیم دارد.

تطابق به سرما یکی از مکانیزم های شناخته شده در گیاهان برای مقاومت به دماهای کم می باشد که این پدیده با کوتاه شدن طول روز، کاهش دما و یخبندانهای مقطعی در درختان اتفاق می افتد (لؤیت، ۱۹۸۰). بر طبق گزارش پیتچ و همکاران (۲۰۰۹) بین ظرفیت تطابق گیاهان با LT_{50} (میزان مرگ ۵۰٪ جوانه ها) رابطه مستقیمی برقرار است. گزارشات متعددی نیز مبنی بر تغییر محتوی پرولین بعد از تطابق به سرما در برخی گیاهان گزارش شده است (چن و همکاران، ۲۰۰۵؛ نادالی و کریستنسن، ۲۰۰۸؛ اصغری و همکاران، ۲۰۰۹ و هامین و نسرین، ۲۰۰۹).

سرما یکی از تنش های رایج است که رشد و توسعه گیاهان را تحت تاثیر قرار داده و تولید جهانی محصولات گیاهی را محدود می کند. همچنین پیامدهای بسیار منفی اقتصادی- صادراتی را به دنبال دارد. انگور از جمله محصولاتی است که در مواجه شدن با تنش سرمائی میزان محصول آن به شدت کاهش می یابد. متاسفانه توزیع جغرافیایی تاکستان ها در ایران به دلیل قرار گرفتن تاکستان ها انگور در مناطق سردسیر، نامناسب است به همین دلیل سطح زیادی از تاکستان ها کشور در معرض خسارت ناشی از تنش یخ زدگی قرار دارند (شور، ۱۳۷۰).

اما با توجه به سازگاری و قابلیت هائی که در ارقام انگور وجود دارد می توان با مدیریت صحیح از این محصول در مناطق مذکور بهره جست. به طور معمول اگر دمای هوا در مناطق کشت انگور به کمتر از دمای قابل تحمل برای آنها برسد، اندام های هوائی گیاه آسیب می بیند و در حالات شدید تر قسمت های زیر زمینی هم آسیب دیده و امکان رویش مجدد در فصل رشد بعدی کاهش می یابد و این دمای قابل تحمل آسیب نیز بسته به رقم نیز متفاوت می باشد، به طوری که ارقام ویتیس وینیفرا دارای رنج مقاومتی ۱۸- تا ۲۵-، ارقام دارای رنج مقاومتی نزدیک به ۲۶-

می باشد که بتوانند در شرایط بروز سرماها
سخت مقاومت بیشتری از خود نشان دهند.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

در این پژوهش قلمه های یکساله چهار رقم
انگور شامل کلاهداری، کشمش قرمز،
کشمش سفید، یاقوتی در پائیز و زمستان
۱۳۸۹ در سه نوبت: اواخر پائیز (۲۰ آذر)،
اواسط زمستان (۱۰ بهمن)، اواخر زمستان (۲۵
اسفند)، از منطقه کشت و صنعت جوین واقع
در ۷۵ کیلومتری شمال غربی سبزوار بین
۵۶/۲ درجه شمالی، جمع آوری شدند و برای
جلوگیری از خشک شدن قلمه ها در طی
مسیر انتقال به آزمایشگاه، در روزنامه مرطوب
قرار داده و پس از پیچاندن در کیسه های
پلاستیکی (آشورت و همکاران، ۱۹۸۳) سریعاً
به آزمایشگاه باغبانی دانشگاه فردوسی مشهد
منتقل شدند.

اعمال تنش یخ زدگی:

قلمه هایی به طول ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر با ۴
جوانه انتخاب شد و پس از علامت گذاری و
بسته بندی درون دستگاه فریزر ترموگرادیان^۱
قرار داده شدند. محدوده دمائی برای اعمال
تنش ۱۰- تا ۲۲- درجه سانتی گراد با توالی

تجمع پرولین باعث افزایش خاصیت
اسمزی سلول ها و کاهش انتشار آب به خارج
و ایجاد یک آماس برای توسعه سلول در
هنگام تنش می شود. همچنین پرولین با تحت
تاثیر قرار دادن آنزیم ها به حفظ ساختار
پروتئین ها و فعالیت آنها کمک می کند (بیتن
بندر و هاوول، ۱۹۷۴). همچنین گزارش شده
است که میزان نشت الکترولیتی رابطه
معکوسی با تطابق با سرما دارد (پیچ و
همکاران، ۲۰۰۹). اندازه گیری میزان نشت
الکترولیتی، تخمین خسارت بافت ها را امکان
پذیر می کند. استفاده از این روش، اولین بار
توسط دکستر و همکاران (۱۹۳۲) برای بررسی
مقاومت به سرما در گیاهان بکار برده شد.
خسارت های مورفولوژیکی سرمازدگی در
شاخه ها شامل تغییر رنگ بافت ها، قهوه ای
شدن در اثر اکسیداسیون (آنیسکو و
لیندستورم، ۱۹۹۵) و همچنین شاخص رشد
مجدد (بیگراس، ۱۹۹۷) در تعیین مقاومت به
سرما مورد ارزیابی قرار می گیرد.

با توجه به بروز سرماهای شدید در برخی
سال ها و وارد آمدن خسارات شدید به
کشاورزان معرفی ارقام مقاوم تر به یخ زدگی،
چه به عنوان پایه و چه به عنوان پیوندک
می تواند از وارد آمدن خسارات سنگین به
اقتصاد کشور بکاهد. بنابراین هدف از انجام
این پژوهش شناسایی ارقامی از انگور

¹. Thermo gradient freezer.

نشان دهنده حالت کاملاً قهوه ای و بافت مرده بود (مریج و کام، ۱۹۸۰).

جهت بدست آوردن مقدار نشت الکترولیت قطعات ۱ سانتی متری از چوب را به منظور حذف آلودگی سطحی با آب دو بار تقطیر شده شستشو داده و به همراه ۲۵ سی سی آب به داخل ویال ها انتقال داده شدند. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار گرفته و سپس هدایت الکتریکی اولیه (C^i) را بوسیله هدایت سنج دیجیتالی اندازه گیری شد. پس از آن ویال ها را به اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه) به مدت ۱۵ دقیقه منتقل گردید و بعد از ۱۲ ساعت هدایت الکتریکی ماکزیمم (C_m) اندازه گیری شد (آرین پویا و همکاران، ۱۳۸۶). در نهایت نشت الکترولیتی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$EL = C^i / C_m \times 100$$

محتوی پرولین با استفاده از روش بیتز و همکاران (۱۹۷۳) اندازه گیری شد، بدین صورت که ۰/۱ گرم از بافت چوبی نگهداری شده در دمای مورد نظر را به همراه ۱۰ میلی لیتر محلول ۳/۳ درصد حجمی / وزنی (v/w) اسید سولفوسالیسیلیک در یک هاون سائیده سپس محلول بدست آمده را با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف کرده در مرحله بعد ۲ میلی لیتر از محلول بدست آمده را برداشته به

کاهش ۲ درجه به گونه ای که دما در هر ساعت ۱ درجه سانتی گراد کاهش یافت و بعد از رسیدن به آستانه مورد نظر، برای نفوذ سرما به درون بافت ها قلمه ها به مدت ۳ ساعت در همان دما نگهداری شدند. سپس قلمه های مربوط به هر تیمار از دستگاه فریز خارج و جهت ارزیابی صفات در شرایط آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی گراد) و در مجاورت تیمار شاهد قرار گرفتند (یاموری و همکاران، ۲۰۰۵).

ارزیابی صفات

قلمه ها پس از خروج از دستگاه فریزر جهت تعیین قابلیت بقاء و رشد مجدد به مدت ۳۰ روز تحت شرایط دمائی آزمایشگاه نگهداری شدند (بارکا و آدران، ۱۹۹۷) و سپس از طریق رابطه زیر رشد مجدد (درصد بقاء) هر یک از شاخه ها محاسبه گردید:

$$\text{رشد مجدد} = Ba / Bt \times 100$$

Ba بیانگر تعداد جوانه های فعال و Bt نشانگر تعداد کل جوانه های موجود روی هر شاخه می باشد (بیگراس، ۱۹۹۷).

برای اندازه گیری میزان قهوه ای شدن بافت ساقه اعدادی از ۱ تا ۴ در نظر گرفته شد، به گونه ای که عدد ۱ نشان دهنده وضعیت کاملاً سالم و بدون عوارض یخ زدگی و عدد ۴

نتایج و بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که برهمکنش تیمار یخ زدگی، رقم و زمان قلمه گیری بر صفات رشد مجدد و نشت الکترولیتی در سطح ۱٪ معنی دار بوده است (جدول ۱).

رشد مجدد نمونه ها در دمای ۱۶- درجه سانتی گراد نسبت به ۲۵ درجه سانتی گراد، بسته به رقم و زمان قلمه گیری ۲۰ تا ۳۰٪ و دمای ۲۲- درجه سانتی گراد ۶۰ تا ۸۵٪ کاهش نشان می دهد. همچنین در دمای ۲۲- درجه سانتی گراد نمونه های تهیه شده از رقم یاقوتی در اواخر زمستان دارای کمترین مقدار رشد مجدد و حدود ۱۲٪ بودند. این در حالی است که بیشترین مقدار رشد مجدد (۴۰٪) مربوط به رقم کشمش قرمز در اواسط زمستان می باشد (شکل ۱).

مهم ترین دلایل کاهش درصد بقاء تحت تنش یخ زدگی را می توان به تخریب یاخته های پارانشیمی (مالون و آشورت، ۱۹۹۱)، نشت الکترولیت ها (پیچ و همکاران، ۲۰۰۹) نسبت داد. میزان رشد مجدد پس از برطرف شدن سرما در شاخه های کیوی (چات، ۱۹۹۵)، انگور (شور و همکاران، ۱۳۸۸) نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است و مشاهده شده که بین ارقام فوق از نظر مقاومت به سرما و رشد مجدد تفاوت وجود دارد که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

آن ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و ۲ میلی لیتر استیک اسید اضافه کرده و پس از قرار دادن لوله های حاوی محلول مورد نظر به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه به هر یک ۶ میلی لیتر تولوئن اضافه کرده سپس به شدت شیکر شده و پس از ایجاد دو فاز، فاز روئی جدا و میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردیده و با توجه به محلول استاندارد منحنی آنها رسم شد.

تجزیه آماری

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه عامل زمان جمع آوری اواخر پائیز (۲۰ آذر)، اواسط زمستان (۱۰ بهمن)، اواخر زمستان (۲۵ اسفند)، دما (۲۵، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۲- درجه سانتی گراد)، ارقام انگور (کلاهداری، کشمش قرمز، یاقوتی و کشمش سفید) و سه تکرار در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. تجزیه داده ها و تعیین حداقل اختلاف معنی داری با نرم افزار آماری JMP و MSTAT-C، رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین ها، بر اساس حداقل اختلاف معنی دار (LSD) صورت پذیرفت.

در اثر تیمارهای یخ زدگی را در صورتی که میزان مرگ ۵۰٪ جوانه ها (LT_{50}) به عنوان معیار مقایسه و تعیین کننده آستانه صدمه اقتصادی در نظر گرفته شود، تعیین کرد.

روش تعیین بقاء و رشد مجدد نمونه ها، پس از اعمال یخ زدگی در زمان طولانی تری نسبت به سایر روش ها انجام می گردد ولی همانگونه که در شکل ۱ نشان داده شده است به درستی می توان با استفاده از این روش، آستانه دمایی مربوط به نابودی کامل نمونه ها

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس حاصل از میانگین مربعات صفات مورد بررسی در ارقام مورد مطالعه

منابع تغییر	درجه آزادی	نشت الکترولیت	نمود ظاهری	رشد مجدد	پرولین
رقم	۳	۱۷۳/۵۳**	۲/۵**	۷۹۹/۷۴**	۱/۳۷**
تیمار سرمادهی	۷	۱۱۵۷۷/۹۶**	۱۴/۶**	۲۰۶۹۲/۰۸**	۳۸/۷۷**
زمان قلمه گیری	۲	۱۶۹/۵**	۰/۶۲**	۲۹/۶۶**	۷/۴۷**
رقم × تیمار سرمادهی	۲۱	۲۵/۸۱**	۰/۲۳**	۲۱۲/۱۱**	۰/۲۱**
رقم × زمان قلمه گیری	۶	۳۵/۵۱**	۰/۰۸ ^{ns}	۲۹/۳۹**	۰/۰۴ ^{ns}
تیمار سرمادهی × زمان قلمه گیری	۱۴	۱۰۰/۵۲**	۰/۰۷ ^{ns}	۳۲/۱۱**	۰/۳**
رقم × تیمار سرمادهی × زمان قلمه گیری	۴۲	۱۱/۰۷**	۰/۰۵ ^{ns}	۱۳/۷۱**	۰/۰۱ ^{ns}
خطای آزمایش	۱۹۲	۰/۵۲	۰/۰۷	۱/۰۵	۰/۹۴

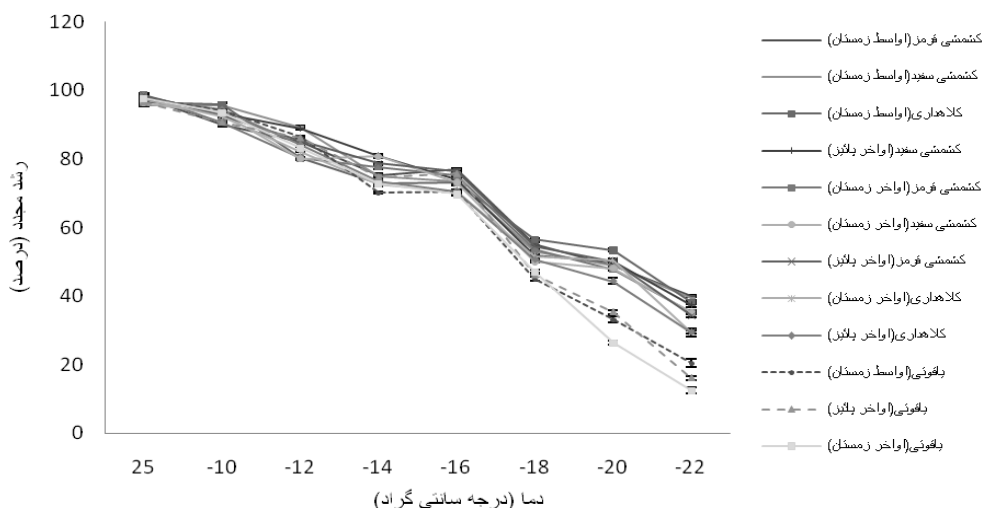
** و ^{ns} به ترتیب به معنی تفاوت معنی دار در سطح ۱٪ و عدم تفاوت معنی دار.

، (۱۹۹۷)، در این پژوهش مشخص گردید که با کاهش دما مقادیر نشت الکترولیتی افزایش می یابد. کمترین و بیشترین مقدار نشت الکترولیتی در دمای ۲۲- درجه سانتی گراد به

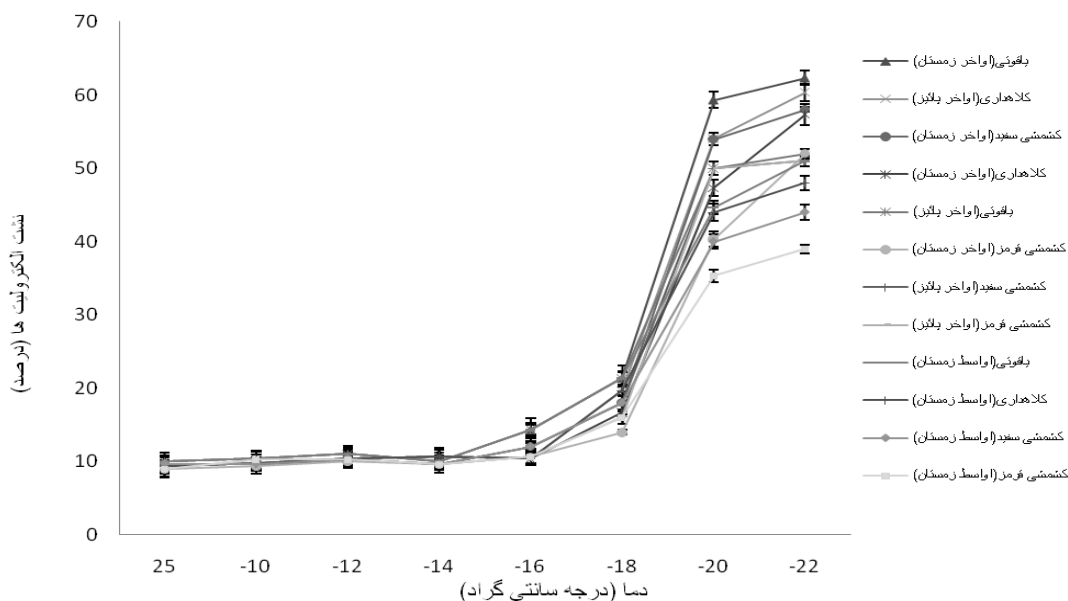
از آنجائی که نشت الکترولیت همواره به عنوان یکی از بهترین شاخص های میزان زیوایی و بقای بافت های زنده گیاهی در اثر تنش های محیطی مطرح است (بارکا و آدران

افزایش یافت. این نتایج بیان گر رخ داد پدیده خو سرمائی در گیاهان است که با مواجه شدن گیاهان با سرما پدیدار می شود. ارزیابی مقاومت به سرما بوسیله اندازه گیری نشت الکترولیت ها در بسیاری از گونه های چوبی دیگر نیز گزارش شده است (گومز دل کمپو و بارانکو، ۲۰۰۵؛ یوسفی و همکاران، ۱۳۸۷).

ترتیب از رقم کشمش قرمز در اواسط زمستان و رقم یاقوتی در اواخر زمستان مشاهده شد (شکل ۲). نشت الکترولیتی از یاخته ها که به صورت مشخص در اثر تخریب غشای یاخته ای و مختل شدن انتقال مواد در آن اتفاق می افتد (بیتن بندر و هاوول، ۱۹۷۴)، به شدت در اثر تیمار های یخ زدگی اعمال شده



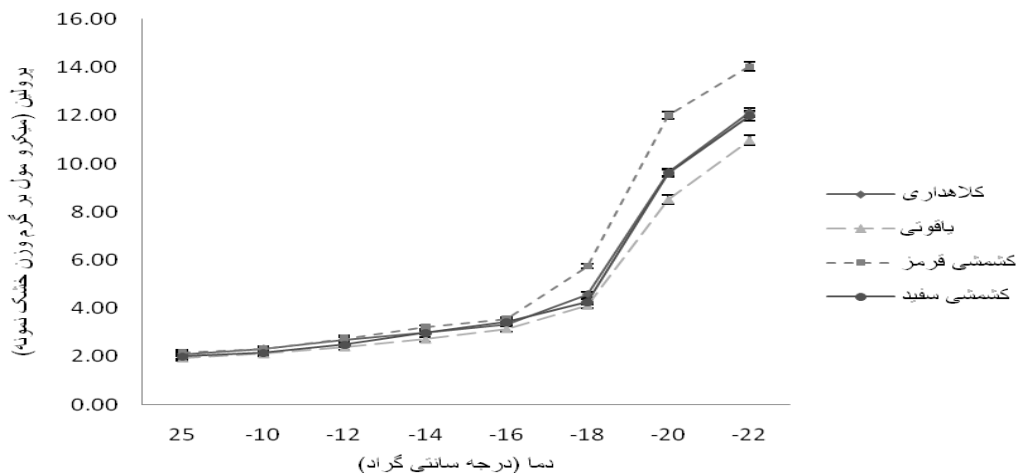
شکل ۱- میزان رشد جوانه ها در شاخه های چهار رقم انگور بعد از اعمال تیمار یخ زدگی در سه نوبت قلمه گیری، (میانگین \pm خطای استاندارد).



شکل ۲- اثر کاهش دما بر نشت الکترولیتی بافت شاخه ی چهار رقم انگور بعد از اعمال تیمار یخ زدگی در سه نوبت قلمه گیری ، (میانگین \pm خطای استاندارد).

دمای ۱۸- درجه سانتی گراد تسریع شد و بسته به نوع رقم متفاوت بود (شکل ۳). بیشترین افزایش در رقم کشمشی قرمز و کمترین افزایش در رقم یاقوتی در دمای ۲۲- درجه سانتی گراد مشاهده شد (شکل ۳). بارکا و آدران (۱۹۹۷) گزارش کردند افزایش میزان پرولین در جوانه های انگور در مراحل فنولوژیکی گیاه باعث افزایش قابلیت بقای گیاه می شود.

افزایش پرولین تحت تنش یخ زدگی (انز و وآن مون تاگو، ۲۰۰۲) از مکانیزم های قابل مشاهده در رقم های مورد مطالعه بود. تجزیه واریانس صفت مقدار پرولین حاکی از این امر است که برهمکنش رقم در تیمارهای سرمادهی و همچنین برهمکنش تیمارهای سرمادهی در زمان قلمه گیری در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بوده است (جدول ۱). روند افزایشی محتوای پرولین بافت کاهش دما در تمامی ارقام مشاهده شد، روند افزایشی از



شکل ۳- محتوی پرولین بافت شاخه چهار رقم انگور تحت تاثیر تیمارهای سرمادهی، (میانگین \pm خطای استاندارد).

مواجه شدن با سرما دچار تغییر و تحولاتی می شود که آنها را برای مقابله با تنش ها آماده ساخته و تجمع پرولین در آنها را کاهش داد (شکل ۴). تغییر میزان پرولین در طول دوره رکود در برگ های سه نوع پرتقال نیز مشاهده شده است (موسباه و جورج، ۱۹۸۷) که نشان دهنده ی افزایش تجمع پرولین در اواسط زمستان و کاهش این مقدار با نزدیک شدن به اواخر زمستان است.

همچنین تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ بین ارقام مورد مطالعه از نظر محتوی پرولین مشاهده شد (جدول ۱). رقم یاقوتی و کشمشی قرمز با میانگین ۴/۴۸ و ۵/۷۲ میکرو مول در گرم وزن خشک نمونه به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار پرولین در بافت ها بودند (شکل ۳). نانجو و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند پرولین می تواند نقش به

افزایش پرولین تحت تنش یخ زدگی (اینز و وان، ۲۰۰۲). یکی دیگر از مکانیزم های قابل مشاهده در رقم های مورد پژوهش بود. از آنجا که تنش ثانویه یخ زدگی، باعث پسابیدگی سریع در یاخته می شود (چدالوادا و همکاران، ۱۹۹۴). بنابراین گونه های گیاهی مقاوم در برابر یخ زدگی باید بتوانند پتانسیل اسمزی خود را نیز تحت چنین شرایط دمایی در حد بهینه حفظ کنند (جو و همکاران، ۲۰۰۰). بر این اساس رقم کشمشی قرمز با تجمع و افزایش پرولین از دمای شاهد تا دمای ۲۲- درجه سانتی گراد می تواند پتانسیل آب بافت را به شکل موثرتری حفظ نموده و از تخریب یاخته ای جلوگیری کند. در طول فصول سال نیز تغییر در محتوی پرولین که نقش مهمی در مقاومت به یخ زدگی دارد کاملاً مشهود است. به طوری که گیاه هنگام

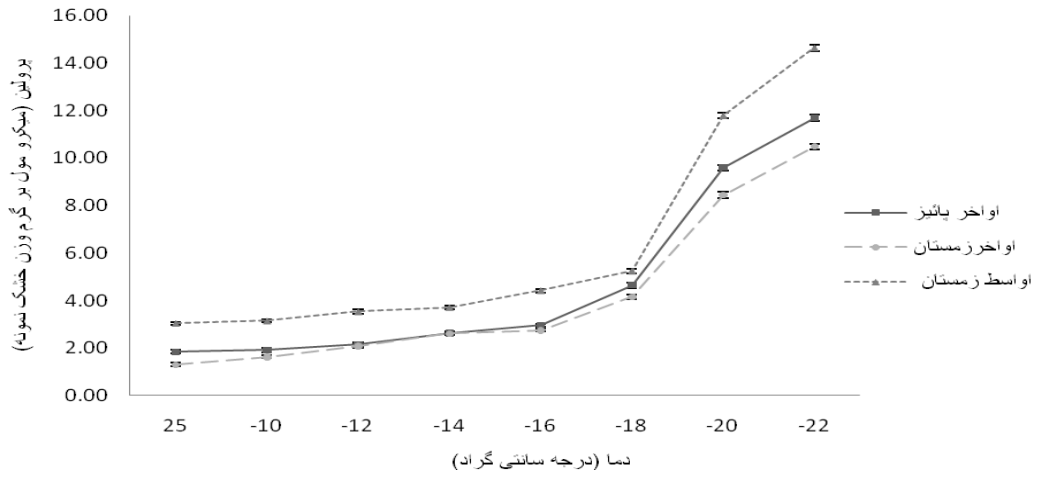
تجمع دادند و فرایند قهوه ای شدن در آنها کند تر صورت پذیرفت (شکل ۵).

لاوس و همکاران (۱۹۹۵) اثر دمای یخ زدگی را بر جوانه ها و قلمه ساقه کیوی را مورد بررسی قرار دادند، آن ها گزارش کردند که در بسیاری از ارقام کیوی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد میزان نشت الکتrolیتی و قهوه ای شدن پوست به بیشترین مقدار خودش می رسد. با توجه به مقایسه میانگین اثر اصلی زمان قلمه گیری چنین نتیجه گیری می شود که ارقام در اواسط فصل زمستان کمتر بوسیله تنش یخ زدگی تحت تاثیر قرار می گیرند، نتایج نشان داد که نمونه هائی که در اواسط فصل زمستان تحت تیمار قرار گرفتند با میانگین ۱/۶۵ دارای کمترین مقدار قهوه ای شدن و نمونه هائی جمع آوری شده در اواخر فصل زمستان با میانگین ۱/۸ دارای بیشترین مقدار قهوه ای شدن بودند که نشان دهنده ی کاهش مقاومت ارقام با نزدیک شدن به اواخر فصل زمستان می باشد، که بعد از اعمال تنش بصورت قهوه ای شده بافت ظاهر شده است. همچنین روند کاهش محتوی پرولین نیز این موضوع را ثابت می کند (شکل ۴).

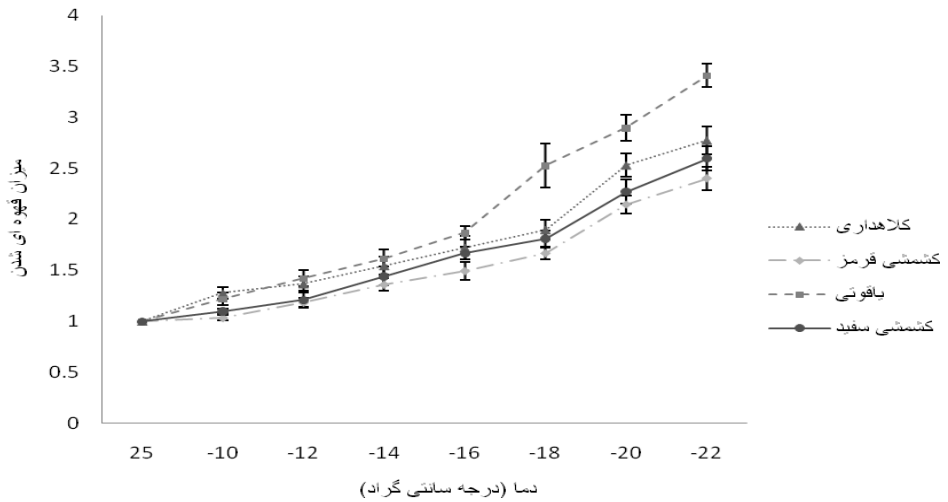
سزایی در تحمل به یخ زدگی گیاهان داشته باشد. آن ها بیان داشتند که تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش می تواند هم به دلیل فعالیت بیوستز آن باشد و هم در اثر جلوگیری از تجزیه آن صورت گیرد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس برهمکنش رقم در تیمار سرمادهی روی صفت نمود ظاهری در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). براساس شکل ۵ میزان قهوه ای شدن ارقام مورد مطالعه تا دمای ۱۸- درجه سانتی گراد تفاوت معنی داری نشان نمی دهد ولی با کاهش دما به ۲۲- درجه سانتی گراد تفاوت در بین ارقام محسوس بود. رقم یاقوتی دارای بیشترین مقدار قهوه ای شدن در بافت های خود بود (شکل ۵).

میزان قهوه ای شدن بافت که در اثر تجمع مواد فنلی در گیاهان رخ می دهد با افزایش شدت یخ زدگی و کاهش دما افزایش می یابد (آنیسکو و لیندس تورم، ۱۹۹۵). به نظر می رسد بافت شاخه ی رقم یاقوتی در مقایسه با سایر ارقام در دمای بالاتری، نسبت به دیگر ارقام شروع به قهوه ای شدن کرد. این در حالی است که سایر ارقام هنگامی که در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در شرایط یخ زدگی قرار گرفتند، مواد فنولی کمتری در بافت خود



شکل ۴- تغییر محتوی پرولین تحت تاثیر تیمارهای سرمادهی در سه زمان قلمه گیری، (میانگین \pm خطای استاندارد).



شکل ۵- اثر دما بر میزان قهوه ای شدن بافت شاخه چهار رقم انگور مورد مطالعه، (میانگین \pm خطای استاندارد).

نتیجه گیری کلی

با توجه نتایج بدست آمده مطلب زیر استنباط می شود:

۱- ارقام حساس به یخ زدگی دارای مقادیر بیشتر نشت الکترولیتی و مقادیر کمتر پرولین بودند و کم بودن مقادیر نشت الکترولیتی و تجمع بیشتر پرولین نشان دهنده مقاومت بیشتر ارقام به تنش یخ زدگی می باشد. بر این اساس رقم کشمش قرمز مقاوم ترین رقم و یاقوتی حساس ترین رقم به یخ زدگی شناخته شدند.

۲- تغییرات بدست آمده در مقادیر نشت الکترولیتی و محتوی پرولین نشان دهنده ی تغییر میزان مقاومت ارقام از اواخر پائیز تا اواخر زمستان است.

۳- بر اساس نتایج بدست آمده در بین سه زمان قلمه گیری، این چنین استنباط می شود که با نزدیک شدن به اواخر زمستان مقاومت تمام ارقام کاهش یافته است، بخصوص رقم یاقوتی که نسبت به دیگر ارقام حساسیت بیشتری از خود نشان داد. همچنین حساس ترین زمان به یخ زدگی در مورد رقم کلاهداری، اواخر پائیز بود، که علت آن را می توان در دیر رس بودن محصول جستجو کرد.

۴- نمونه های تهیه شده از رقم کلاهداری در اواخر پائیز و نمونه های تهیه شده از رقم

یاقوتی در اواخر زمستان دارای کمترین مقاومت به یخ زدگی در بین ارقام بودند. در نتیجه می توان گفت که رقم کلاهداری در مناطقی با سرمای زودرس پائیزه و رقم یاقوتی در مناطقی با نوسانات دمائی بیشتر، مخصوصاً در اواخر زمستان باید از یخ زدگی محافظت شوند.

سپاسگزاری

این یافته ها نتیجه همکاری مجتمع کشت و صنعت جوین می باشد ما از این ارگان به خاطر همکاری در تهیه نمونه های مورد نظر و کارهای مربوطه کمال تشکر را داریم.

منابع

۱. آرین پویا، ز.، داوری نژاد، غ و شادی، ع. ۱۳۸۶. بررسی حساسیت برخی ارقام هلو و شلیل به سرمای زمستان. مجله علوم باغبانی. ۲۳:۱:۷۸-۸۷
۲. شور، م.، تهرانی فر، ع.، نعمتی، ح.، سلاح ورزی، ی.، مختاریان، ع و رخمی، م. ۱۳۸۸. بررسی و تعیین مقاومت به سرما و یخ زدگی برخی ارقام تجاری انگور در منطقه خراسان. مجله تنش های محیطی در علوم کشاورزی. ۱۶۹-۱۵۹:۲:۲.
۳. شور، م. ۱۳۷۰. شناسائی و مطالعه ی ارقام محلی انگور در شمال خراسان (بجنورد،

Karber method for estimating the T50 of cold stressed plants. J. Am. Soc. Hort. Sci. 99(2): 187-190.

12-Chadalavada, S.V., Rajendrakumar, B.V and Reddy, A.R. 1994. Proline-protein interactions: Protection of structural and functional integrity of M4 lactate dehydrogenases. Biochem. Biophys. Res. Comm. 201: 957-963.

13-Chat, J. 1995. Cold hardiness within the genus Actinidia. Hort Science 30:329-332.

14. Chen, Y., Zhang, M., Chen, T., Zhang, T and An, L. 2005. The relationship between seasonal changes in Anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of sabina. 272-279.

15-Dexter, S.T., Tottingham, W.E and Graber, L.F. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. Plant Phys. 7: 63-78.

16-Mosbah, M., and George, Y. 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during Low temperature acclimation of citrus. Plant Physiol. 84: 692-695.

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

18-Gomezdel Campo, M., and Barranco, D. 2005. Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. Plant Gen. Res. 3:385-390.

19-Hanim, H., and Nesrin, Y. 2009. Does climate change have an effect on proline accumulation in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruits. Scientific Research and Essay. Vol.4 (12):1543-1546.

20-Howell, G. S., and Shaulis, N. 1980. Factors influencing within-vine

قوچان). پایان نامه ی کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران.

۴. یوسفی، م. ۱۳۸۷. اثر یخ زدگی روی نشت الکترولیتی ۱۰ رقم بادام زراعی و یک گونه بادام وحشی در استان اصفهان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۹-۴۵:۱.

5-Anisko, T and Lindstrom, O.M. 1995. Applying the richards function in freezing tolerance determination with electrolyte and phenolic leakage techniques. Physiol. Plant. 95:281-287.

6-Asghari, B., Rehman, A and Matthias, W. 2009. Altitudinal variation in the content of protein, proline, sugar and ABA in the Alpine herbs from Hunza Valley, Pakistan. Pak. J. Bot. 41(4): 1593-1602.

7-Ashworth, E.N., Rowse, D.J and Billmyer, L.A. 1983. The freezing of water in tissues of apricot and peach and the relationship to freezing injury. J. Am. Soc. Hort.Sci. 108(2): 299-303.

8-Barka, E.A and Audran, J.C. 1977. Response of champenoise grapevine to low temperature: change of shoot and bud proline concentration in response to low temperature and correlation with freezing tolerance. Hort. Sci. 72. 557-582.

9-Bates, L. S., Waldren, R.P and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39:205-208.

10-Bigras, F.J. 1997. Root cold tolerance of black spruce seedlings: viability tests in relation to survival and regrowth. Tree Physiology 17: 311-318.

11-Bittenbender, H.C and Howell, G.S. 1974. Adaptation of Spearman-

acclimation of citrus' Plant Physiol. 84: 692-695.

30-Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshiba, Y., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K and Shinozaki, K. 1999. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 18:185-193.

31-Nathalie, V., and Christian, H. 2008. Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids. 35:753-759.

32-Pietsch, G.M., Anderson, N.O and Li, P.H. 2009. Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. Sci. Hort. 120: 418-425.

33-Yamori, W., Kogami, H and Masuzawa, T. 2005. Freezing tolerance in alpine plants as assessed by the FDA-staining method. Polar Biosci. 18:73-81.

34-Weiser, C.J. 1970. Achievements in plant chilling stress and injuries studies. Hort. Sci. 169:1269-1275.

variation in the cold resistance of cane and primary bud tissues. Amer. J. Enol. Vitic. 131:158-161.

21-Inze, D., and M. Van Montagu. 2002. Oxidative Stress in Plants. Taylor & Francis. London. Inc.74 p.

22-Jones, K.S., Paroschy, J., McKersie, B.D and Bowley, S.R. 1999. Carbohydrate composition and freezing tolerance of canes and buds in *Vitis vinifera*. J. Plant Physiol. 155:101-106.

23-Jouve, L., Gaspar, T., Frank, T., Cattivelli, L and Hausman, J.F. 2000. Poplar acclimation to cold during *in vitro* conservation at low non-freezing temperature: metabolic and proteic changes. J. Plant Physiol. 157:117-123.

24-Lawes, G. S., Cheong, S.T and Alvarez, H.V. 1995. The effect of freezing temperatures on buds and stem cuttings of *Actinidia* species. Sci. Hort. 16:1-12.

25-Levitt, J. 1980. Responses of plant to environment stresses. Vol. 1: chilling freezing and high temperature stresses. Academic press. New York (NY). Pp: 497.

26-Marriage, P.B., and Quamme, H.A.1980. Effect of weed control on the winter hardiness of the bark and wood of young peach trees. Hort Science.15:290-291.

27-Malone, S.R., and Ashworth, E.N. 1991. Freezing stress response in woody tissues observed using low-temperature scanning electron microscopy and freeze substitution techniques. Plant Physiol. 95:871-881.

28-Miller, D.P., Howell, G.S and Striegler, R.K. 1988. Cane and bud hardiness of selected grapevine rootstocks. Am. J. Enol. Vitic. 39:55-59.

29-Mosbah, M., and George, Y. 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during low temperature

Effect of freezing stress on electrolyte leakage, proline content and its relationship with re-growth in some grape cultivars

Hossein Araghi^{1*}, Ali Tehranifar¹, Mahmood Shoor¹, Bahram Abedi¹ and Yahya Selahvarzi².

1- MSc Student, Associate professor and Assistant professors, Department of Horticulture, Ferdowsi University of Mashhad, Respectively

3- Academic Member of Pomegranate Research Center, Ferdowsi University of Mashhad.

Abstract

Freezing stress is a limiting factor in fruit production causing damage to bud, bark, wood and even roots. An investigation was carried out to study the effect of freezing temperature in dormant season on four commercial grape cultivars. Factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three assemblage date: end of autumn (20 November), middle of winter (10 January) and end of winter (25 February), temperature: (25, -10, -12, -14, -16, -18, -20 and -22^{0C}) and cultivar (Kolahdary, Red rasin, Yaghoti and white rasin) with three replications and in the department of agriculture, Ferdowsi University during 2010-2011. Results showed at (-22^{0C}) cultivar Kolahdary in end of autumn by %60 and cultivar Yaghoti in end of winter by %62 had highest of electrolyte leakage. Cultivar Red rasin in middle of winter by %39 had the lowest value of electrolyte leakage. The lowest and highest quantity of proline obtained in end of winter and middle of winter by 10.48 and 14.64 $\mu\text{mol/g}$ dry weight respectively, highest and lowest quantity of praline obtained from cultivar Yaghoti and Red rasin by 11 and 14 $\mu\text{mol/g}$ dry weight respectively. Yaghoti in (-22^{0C}) showed that the least re-growth (almost %12) and highest browning in end of winter. Highest re-growth (almost %40) with least browning observed in red rasin in the middle of winter. Red rasin and Yaghoti were the most and least resistant cultivars to freezing stress, respectively.

Key words: Proline, Freezing Temperature, Re-growth, Dormancy, Electrolyte Leakage.

* Corresponding author: Hossein Araghi
Received: 23 July 2011

Email: hoseinaraghi@ymail.com
Accepted: 16 December 2011