پژوهش در میوه‌کاری
دوره اول، شماره دوم، زمستان ۱۳۹۵ (۳۶-۲۵)

تغییرات میزان پرولین و برخی آنزیم‌های موجود در جوانه گل چند رقم زردآلو طی دوره تجمع گرمایی

سحر توپچی‌زاده تبریزیان[۱]، جعفر حاجی‌لو*[۲] و غلامرضا دهقان[۳]

۱- دانشجوی دکتری میوه‌کاری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استاد گروه زیست‌جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۹/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۲)

چکیده

به منظور ارزیابی تغییرات آنزیمی و میزان پرولین جوانه گل بعد از تأمین نیاز سرمایی و طی دوره تأمین نیاز گرمایی در چهار رقم زردآلو تبرزه، شاملو، شکرپاره و عسگرآباد، پژوهش حاضر در سال زراعی ۹۳-۹۲ در ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان وابسته به دانشگاه تبریز انجام گرفت. نمونه‌برداری از جوانه‌های گل در فاصله زمانی هر ماه یک بار از زمان رفع نیاز سرمایی تا ۵۰ درصد گلدهی در طبیعت انجام و تغییرات آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پرولین مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین رقم، تاریخ نمونه‌برداری و تغییرات هر سه آنزیم و نیز اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. فعالیت آنزیم‌ها در مرحله بلافاصله بعد از رفع نیاز سرمایی کم و در زمان شکوفایی به بیشترین مقدار خود رسیدند. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در ارقام مورد بررسی نشان داد که رقم عسگرآباد در فروردین ماه با ۳۲۵۴ درجه رشد ساعت (GDH) دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیمی و رقم تبرزه در بهمن ماه با ۲۱۴ درجه رشد ساعت (GDH) دارای کمترین مقدار فعالیت آنزیم‌های مذکور بودند. بررسی تغییرات پرولین در طی دوره بعد از رکود بیانگر آن است که بین ارقام و تاریخ‌های نمونه‌برداری و هم چنین اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌داری وجود داشت، بطوریکه بیشترین میزان تجمع پرولین مربوط به رقم تبرزه در۳۲۵۴ درجه رشد ساعت و کمترین مقدار مربوط به رقم عسگرآباد در ۲۱۴ درجه رشد ساعت بود.

کلمات کلیدی: پرولین، کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، نیاز گرمایی

* نویسنده مسئول: Email: j_Hajilou@Tabrizu.ac.ir

مقدمه

زردآلو با نام علمی *Prunus armeniaca* L. به عنوان یکی از محصولات مهم باغی در ایران است کـه محصـول آن بـه صورت تازه‌خوری، کمپوت، مربا و برگه علاوه بر مصرف داخلی، جنبه‌های صادراتی را هم دارد (دژم‌پور، ۱۳۸۰).

اصولاً بیداری درخت و زمان گلدهی در حالات کلی تحت کنترل دو فاکتور مهم فیزیولوژیکی، نیاز سرمایی و نیاز حرارتی جوانه‌های رویشی و جوانه‌های گل می‌باشد. نقش و اهمیت هر یک بسته به آب و هوای منطقه در طول پاییز و زمستان فرق می‌کند. به عبارت دیگر گاهی در زمان گلدهی، نیاز سرمایی بالاترین نقش را دارد و گاهی نیاز حرارتی و گاهی هر دو به نوبه خود در این امر سهیم هستند (سیتادین و همکاران[1]، ۲۰۰۱). میزان دما یا حرارتی که جوانه‌ها برای شکوفایی در یک دوره‌ی زمانی مشخص نیاز دارند "نیاز حرارتی" جوانه گفته می‌شود (مورای و همکاران[2]، ۱۹۸۹). هر گیاه برای ورود از یک مرحله‌ی زندگی به مرحله دیگر به یک مقدار مشخصی از حرارت نیاز دارد. وجود نیاز حرارتی از شکوفایی سریع جوانه‌ها در اواخر زمستان یا اوایل بهار جلوگیری می‌کند. در مقایسه با نیاز سرمایی مطالعات در خصوص نیاز گرمایی و تأثیرات آن بر گلدهی در درختان میوه کمتر انجام شده است (سیتادین و همکاران، ۲۰۰۱).

تغییر در فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند به عنوان شاخصی از پایان خواب و شروع به رشد در نظر گرفته شود. متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان تحت تأثیر تغییرات چرخه فصلی صورت می‌گیرد و تغییرات فعالیت آنزیمی به دما بستگی دارد (بارتولینی و همکاران[3]، ۲۰۰۱). تحقیقات نشان داده است که تجمع گرمایی موجب تحریک ترکیبات آنتی‌اکسیداتیو شده و به جلوگیری از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید غشایی کمک می‌کند (زو و همکاران[4]، ۲۰۰۶). علاوه بر آن گیاهان می‌توانند به تنش‌های اکسیداتیو بوجود آمده در دماهای بالا از طریق افزایش تظاهر ژن‌های دخیل در سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی سازگاری پیدا کنند. گیاهان همچنین دارای یک سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد (سایرام و همکاران[5]، ۲۰۱۱).

اسید آمینه پرولین به طور وسیعی در گیاهان عالی شناخته شده و به طور طبیعی در واکنش به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابد. بعلاوه، پرولین در ثبات ساختارهای سلولی مانند غشاها و پروتئین‌ها مشارکت دارد. مشخص شده است که پرولین یک نقش چندگانه

1. Citadin *et al.*
2. Murry *et al.*
3. Bartolini *et al.*
4. Xu *et al.*
5. Sairam *et al.*

در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. گزارش‌های متعددی در رابطه با تأثیر مثبت تجمع پرولین و مقاومت به تنش در گیاهان وجود دارد (اشرف[1]، ۲۰۰۹).

ارزیابی تغییرات آنزیمی در طی تجمع گرمایی توسط پژوهشگرانی چون پاک‌کیش و همکاران[2] (۲۰۰۹) در پسته، وانگ و همکاران[3] (۱۹۹۱) در سیب ، ویکاس و لازلو[4] (۲۰۱۱) در شلیل و بارتولینی و همکاران[5] (۲۰۰۱) در زردآلو انجام شده است. در این راستا هدف از این پژوهش ارزیابی تغییرات برخی از آنزیم‌ها و پرولین در جوانه‌های گل چند رقم زردآلو بعد از رفع نیاز سرمایی در طی دوره تجمع گرمایی و امکان تغییر فعالیت آنزیم‌ها در ارقام با نیازهای گرمایی متفاوت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

انتخاب ارقام و نحوه نمونه‌برداری

برای اجرای پژوهش حاضر چهار رقم زردآلو به نام های تبرزه، شاملو، عسگرآباد و شکرپاره از ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان (وابسته به دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز) انتخاب شدند. جهت ارزیابی تغییرات آنزیمی و پرولین از هر چهار رقم، نمونه‌برداری ازجوانه‌های گل به فاصله زمانی هر ماه یک بار از زمان تأمین نیاز سرمایی جوانه‌ها تا مرحله ۵۰٪ گلدهی انجام شد. جوانه‌های برداشت شده بعد از جمع‌آوری تا شروع سنجش آنزیم‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت برآورد نیاز سرمایی از هر رقم چهار تکرار و از هر تکرار چهار شاخه با طول و قطر یکسان به فاصله هر هفت روز برداشت و در اتاقک رشد قرار داده شدند. اولین نمونه‌برداری زمانی صورت گرفت که دماهای بالا با اثر منفی در رفع نیاز سرمایی به ندرت اتفاق افتاد (۲۳ مهر ۱۳۹۲). رفع نیاز سرمایی زمانی در نظر گرفته شد (جدول ۱) که بعد از ده روز قرارگیری در اتاقک رشد ۳۰ درصد جوانه‌ها در مرحله B-C فلکینگر[6] باشد (روئیز و همکاران[7]، ۲۰۰۷).

تعیین نیاز گرمایی

برآورد نیازگرمایی پس از تأمین نیاز سرمایی تا زمان گلدهی ۵۰٪ جوانه‌ها درطبیعت صورت گرفت. در این فاصله زمانی دمای هر ساعت (از طریق دماهای بدست آمده از دستگاه ترموگراف) از دمای صفر گیاهی (۴/۵ درجه سانتی‌گراد) کسر شده و بصورت درجه رشد ساعت (GDH) به عنوان نیاز حرارتی ارقام منظور گردید (والنتینی و همکاران [8]، ۲۰۰۲).

1. Ashraf
2. Pakkish *et al.*
3. Wang *et al.*
4. Vicas and laslo
5. Bartolini *et al.*

۶- به مرحله‌ای اطلاق می‌شود که جوانه کم کم فعالیت خود را شروع کرده و نوک گلبرگ نمایان می‌شود.

7. Ruiz *et al*
8.-Valentini *et al*.

$$GDH= \sum_{1}^{n}(T - Tb)$$

T : دمای هر ساعت

T_b: دمای صفر گیاهی

n: ۵۰٪ گلدهی

۱: زمان رفع نیاز سرمایی

استخراج عصاره آنزیمی

استخراج آنزیم‌های مورد بررسی با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=۷ حاوی ۰/۲ درصد پلی وینیل پیرولیدین (PVP)، در روی یخ و هاون چینی انجام شد. به ازای یک گرم ماده تر سه میلی‌لیتر بافر استخراج استفاده شد. محلول هموژن شده با سرعت ۱۴۰۰۰g، دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از اتمام سانتریفوژ، عصاره رویی را جدا کرده و از آن برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و پروتئین محلول استفاده شد (برادفورد[1]، ۱۹۷۶).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر توانایی آنزیم آن در ممانعت از اکسیداسیون پیروگالول توسط رادیکال سوپراکسید صورت می‌گیرد. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر در حضور پیروگالول اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ممانعت از اکسیداسیون پیروگالول می‌شود (گاوو و همکاران[2]، ۱۹۹۸).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به وسیله کاهش در جذب H_2O_2 در۲۴۰ نانومتر از طریق اسپکتروفتومتر انجام شد. واحد فعالیت این آنزیم (Unit) بر اساس مقدار آنزیمی که یک میکرومول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند بیان گردید (طایفی نصرآبادی[3]، ۲۰۰۸).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش تست گایاکول و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. تتراگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. واحد فعالیت این آنزیم بر اساس پروتئین آنزیمی مورد نیاز برای تشکیل یک میکرو مولار تتراگایاکول در یک دقیقه گزارش گردید (قمصری و همکاران[4]، ۲۰۰۷).

سنجش پروتئین کل

برای سنجش پروتئین از روش برادفورد استفاده شد و میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر استفاده شد (برادفورد، ۱۹۷۶).

سنجش پرولین

جهت بررسی تغییرات پرولین از روش بیتس استفاده شد (بیتس و همکاران[5]، ۱۹۷۳). در این روش ۰/۵ گرم جوانه توزین شده و با ۱۰ میلی‌لیتر

1. Bradford
2. Gao *et al.*
3. Tayefi- nasrabadi
4. Ghamsari *et al.*
5. Bates *et al.*

اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ مخلوط و ساییده شد. مخلوط همگن به مدت پنج دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفوژ از عصاره حاصل یک میلی‌لیتر در لوله آزمایش ریخته و یک میلی‌لیتر معرف اسید نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، به هر لوله آزمایش ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شدند. در این حالت دو فاز تشکیل گردید و پرولین وارد فاز تولوئن شد که یک فاز قرمز رنگ در قسمت بالای لوله‌ها تشکیل شد. میزان جذب نمونه‌های استخراج شده (فاز رنگی) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری بکار برده شده بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار بود بطوریکه نوع رقم به عنوان فاکتور اول و زمان نمونه‌برداری به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت و مقایسه میانگین به روش آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد.

نتایج و بحث

نیاز گرمایی

جدول ۱ زمان ۵۰٪ گلدهی ارقام مورد مطالعه را بر اساس نیازهای گرمایی جوانه‌های گل نشان می‌دهد. ۵۰٪ گلدهی در ارقام تبرزه و شاملو در ۱۹ فروردین اتفاق افتاده در حالیکه در رقم عسگرآباد در ۱۶ فروردین و در رقم شکرپاره در ۱۸ فروردین (سال ۱۳۹۳) مشاهده شد. مطالعات نشان می‌دهد که زمان گلدهی با تأثیر متقابل نیاز گرمایی و سرمایی تعیین می‌گردد و هر یک نسبت به آب و هوای منطقه نقش خاصی را ایفا می‌کنند. علیرغم بیشتر بودن نیاز گرمایی رقم عسگرآباد زمان ۵۰٪ گلدهی این رقم زودتر اتفاق افتاده است (جدول ۱) پس در این رقم نیاز سرمایی (داشتن نیاز سرمای کمتر) نقش تعیین کننده‌تری را در زمان گلدهی دارد.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نشان داد که بین ارقام و تاریخ‌های نمونه‌برداری و اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ۱٪ وجود دارد(جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که جوانه‌های گل در ارقام عسگرآباد (با داشتن ۳۲۵۴ درجه رشد ساعت) و تبرزه (در شرایط دریافت ۲۱۴ درجه رشد ساعت) به ترتیب بیشترین و کمترین فعالیت آنزیمی را به همراه داشتند (جدول ۳).

جدول۱- دوره اتمام تامین نیاز سرمایی، نیاز گرمایی و زمان ۵۰٪ گلدهی جوانه‌های گل در ارقام زردآلو مورد مطالعه

ارقام	پایان رکود	نیاز گرمایی (GDH)	زمان ۵۰٪ گلدهی
تبرزه	۳۰ دی	۳۰۶۰c	۱۹ فروردین
شاملو	۳۰ دی	۳۰۶۰c	۱۹ فروردین
شکرپاره	۲۳ دی	۳۰۸۰b	۱۸ فروردین
عسگرآباد	۲۵ آذر	۳۲۵۴a	۱۶ فروردین

حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و غلظت پرولین در ارقام زردآلو مورد مطالعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پرولین
رقم	۳	۰/۰۰ **	۸۳۳/۴۹۶ **	۱۱۰/۰۴۰ **	۴/۴۰۵ **
تاریخ نمونه‌برداری	۲	۲/۴۷۱ **	۱۶۸۴/۳۱۵ **	۳/۷۹۵ **	۲۲/۳۵ **
رقم * تاریخ نمونه‌برداری	۶	۳/۲۷۵ **	۲۹۲۷/۳۸۷ **	۱/۹۴۶ **	۵/۳۴۵ **
اشتباه آزمایشی	۳۶	۱/۱	۱/۸۷۱	۰/۸۷	۰/۰۰۹

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در طی رشد و نمو جوانه گل میوه سیب نتایج نشان داد که در جوانه‌های در حال خواب، فعالیت این آنزیم در آغاز (قبل از رفع نیاز سرمایی جوانه گل) پایین بود ولی در زمان آماس جوانه دو تا پنج برابر افزایش یافت (عباسی و همکاران[1]، ۱۹۹۸). عده‌ای از محققان تغییرات موجود در فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسوتاز را در طی نمو جوانه گل سیب "York Imperial" بررسی کردند. آنها افزایش در فعالیت سوپراکسیددیسموتاز را در طی آماس جوانه مشاهده کردند (وانگ و همکاران[2]، ۱۹۹۱). نتایج آنالیزهای بیوشیمیایی در جوانه‌های گل دو واریته زردآلو به نام‌های "Canino" و "Polonais" که نیاز سرمایی و نیاز گرمایی متفاوت دارند، تغییراتی را در آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، در طول فصل سرما و فصل رشد نشان داد. در هر دو رقم در طول خواب عمیق چنین فعالیت‌هایی پایین بود ولی بعد از طی این دوره در طی فصل رشد فعالیت آن افزایش یافت، اما در بین دو واریته به سطوح متفاوتی رسید (بارتولینی و همکاران[3]، ۲۰۰۱).

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که مقدار فعالیت کاتالاز بین ارقام و تاریخ‌های نمونه‌برداری و اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ۱٪ وجود دارد، بطوریکه رقم عسگرآباد بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را در میزان تجمع گرمایی ۳۲۵۴ درجه رشد ساعت نشان داد و

1. Abbasi *et al.*
2. Wang *et al.*
3. Bartolini *et al.*

جدول ۳- تغییرات آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و پرولین در جوانه‌های گل چهار رقم زردآلو

رقم	تجمع گرمایی (GDH)	میانگین سوپراکسید دیسموتاز (U/mg protein)	میانگین کاتالاز (U/mg protein)	میانگین پراکسیداز (U/mg protein)	پرولین (g/gfw)
تبرزه	۲۱۴	۱۰۰/۲k	۲۰/۷۵k	۱/۰۴ h	۰/۰۳۵d
	۳۰۴۰	۱۳۶/۹۴۷d	۲۵/۰۸f	۱/۲g	۰/۰۴۱bc
	۳۲۵۴	۱۴۴/۲۹۱d	۲۷/۸۷ b	۲/۰۲c	۰/۰۶۱a
شکرپاره	۲۱۴	۱۰۷/۶۸j	۲۳/۶i	۱/۰۴h	۰/۰۱۸h
	۳۰۴۰	۱۳۹/۷۱۵f	۲۴/۳ g	۱/۳۱f	۰/۰۱۹g
	۳۲۵۴	۱۶۳/۵۹b	۲۶/۵ e	۲/۵۲a	۰/۰۲۲f
شاملو	۲۱۴	۱۱۲/۸۲ i	۲۲/۰۵ j	۱h	۰/۰۳۵d
	۳۰۴۰	۱۱۹/۵۳۵ h	۲۷d	۱/۴f	۰/۰۳۶cd
	۳۲۵۴	۱۴۶/۶۵۸c	۲۸a	۲/۳۸b	۰/۰۳۷c
عسگرآباد	۲۱۴	۱۱۹/۵۲۵h	۲۴ h	۱/۵۹e	۰/۰۱۳i
	۳۰۴۰	۱۴۱/۶۵۳e	۲۷/۵۴ c	۱/۵۸d	۰/۰۲۴e
	۳۲۵۴	۱۹۲/۷۲۵a	۲۸/۰۴ a	۲/۵۲a	۰/۰۴۲b

حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ می‌باشد.

رقم تبرزه نیز در میزان تجمع گرمایی ۲۱۴ درجه رشد ساعت کمترین فعالیت آنزیمی را نشان داد (جدول ۳).

تجمع و تغییرات محتوای سولفوهیدریل (SH)، کاهش گلوتاتیون (GSH) و فعالیت کاتالاز در چرخه جوانه گل توسع یافته و ارتباط آنها در دو رقم زردآلو "Portici" و "San Castrese" در سه فاز رشدی مورد مطالعه قرار گرفته است. در دو مرحله نخست، افزایش تدریجی در فعالیت کاتالاز و غلظت گلوتاتیون و کاهش در غلظت سولفوهیدریل مشاهده شد. در مرحله سوم (اوایل فوریه)، همزمان با افزایش سولفوهیدریل کل و گلوتاتیون، فعالیت کاتالاز کاهش نشان داد. بطوریکه رقم "San Castrese" بالاترین محتوای GSH و بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان داد (ویتی و همکاران[1]، ۲۰۰۳). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که رفع خواب (خواب محیطی، تأمین نیاز گرمایی) در هلو با افزایش در فعالیت کاتالاز همراه است که این امر منجر به شکوفایی در آن می‌گردد. به عبارتی در جوانه‌های گل هلو فعالیت کاتالاز در حین انتقال از خواب درونی به خواب محیطی کاهش و سپس در هنگام شکوفایی افزایش می‌یابد این موضوع در راستای نتایج حاصل از پژوهش حاضر است (کامینسکی[2]، ۱۹۷۴).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری نشان داد که از نظر

1. Viti *et al.*
2. Kaminski

مقادیر فعالیت پراکسیداز بین ارقام و تاریخ‌های نمونه‌برداری و اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲). نتایج حاصل نشان داد که رقم‌های عسگرآباد و شکرپاره مشترکاً در تجمع گرمایی ۳۲۵۴ درجه رشد ساعت بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را دارا بودند و در بین این دو رقم اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین فعالیت آنزیمی در تجمع گرمایی ۲۱۴ درجه رشد ساعت مربوط به سه رقم شکرپاره، شاملو و تبرزه بود و در بین این سه رقم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). نتایج حاصل از این تحقیق در خصوص فعالیت آنزیم پراکسیداز با نتایج تحقیقات ویکاس لازلو (۲۰۱۱) مطابقت داشت. بطوریکه نتایج تحقیقات نشان داده است که فعالیت آنزیم پراکسیداز در شلیل در اوایل ماه آوریل (فروردین ماه) همزمان با نزدیک شدن به شکوفایی جوانه‌ها افزایش می‌یابد (ویکاس و لازلو[1]، ۲۰۱۱). مقایسه بین فعالیت آنزیم پراکسیداز و ترکیبات فنولی نشان می‌دهد که فعالیت پراکسیداز در طی ماه‌های ژانویه (دی) و فوریه (بهمن) و اوایل مارس (اسفند) کاهش می‌یابد. همچنین در پژوهش ویکاس و لازلو (۲۰۱۱) مشخص گردید که هیچ ارتباطی بین میزان پراکسیداز و محتوای ترکیبات فنولی و زودگلدهی و دیرگلدهی وجود ندارد. در آزمایشی فعالیت آنزیم پراکسیداز در جوانه‌های گل پسته واریته‌های کله قوچی، اوحدی، احمد–آقایی و اکبری در طی دوره خواب و بعد از طی دوره خواب اندازه‌گیری شد. در اکثر واریته‌ها در مرحله نیش‌زدن جوانه‌ها یعنی شکوفایی فعالیت پراکسیداز افزایش یافت که بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در مرحله نیش‌زدن مربوط به رقم کله قوچی بود که علت این امر بدلیل پایین بودن نیاز سرمایی این رقم است (پاک‌کیش و همکاران[2]، ۲۰۰۹).

مطالعات نشان‌دهنده این است که میزان فعالیت این آنزیم در جوانه‌های در حال خواب پایین بوده و بعد از رفع خواب در زمان نیش‌زدن جوانه میزان فعالیت آنزیم به سرعت دو تا پنج برابر افزایش می‌یابد (عباسی و همکاران[3]، ۱۹۹۸). مطابق گزارشات عده‌ای از محققین مشخص شده است که فعالیت آنزیمی باقیمانده‌های پراکسیداز منجر به شکوفایی جوانه‌ها می‌گردد، همچنین تیمارهای گرمایی، سرمایی و همچنین شیمیایی شکوفایی را القا می‌کند. نتایج نشان می‌دهد که اتمام خواب در جوانه‌ها با تنظیمات آنتی‌اکسیدانی همراه است (آرورا و همکاران[4]، ۲۰۰۳). نوسانات در فعالیت پراکسیداز مربوط به شاخه‌های هلو در طی درمانسی، با یک اوج در پایان اندودرمانسی و بعد از مراحل چهارگانه جوانه گل می‌باشد (راسریا و همکاران[5]، ۲۰۰۱). بین پایان درمانسی و شروع گلدهی، افزایش مستمر در فعالیت پراکسیداز و پلی

1. Vicas and Laslo

2. Pakkish *et al.*
3. Abbasi *et al.*
4. Arora *et al.*
5. Raseira *et al.*

فنل اکسیداز در اندام‌های مختلف در رقم "*Dixred*" هلو آشکار شد (کنیس[1]، ۱۹۷۶).

تغییرات پرولین

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر رقم و تجمع گرمایی نشان داد که از نظر مقادیر تغییرات پرولین در بین ارقام و مقادیر تجمع گرمایی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در تجمع گرمایی ۳۲۵۴ درجه رشد ساعت رقم تبرزه دارای بیشترین مقدار پرولین و کمترین میزان، مربوط به رقم عسگرآباد در تجمع گرمایی ۲۱۴ درجه رشد ساعت می‌باشد (جدول ۳).

پرولین در پاسخ به استرس‌های غیرزیستی نظیر خشکی، شوری، دمای پایین و بالا در بافت‌های گیاهی تجمع می‌یابد (جین[2]، ۲۰۰۷). در تحقیق انجام گرفته توسط یون و همکاران[3] (۲۰۱۴) گزارش شد که یک رابطه مثبت بین تجمع پرولین و غلظت قندها وجود دارد. نتایج نشان داده است که محتوای پرولین در ارقام زودگل گلابی در مرحله شکوفایی گل‌ها نسبت به زمان قبل از گلدهی بیشتر است (خورشیدی و همکاران[4]، ۲۰۱۴). همچنین در یک مطالعه‌ای که توسط ایمانی[5] (۲۰۱۲) بر روی بادام انجام گرفت مشخص شد که محتوای پرولین در زمان شکوفایی بالا و در زمان تورم کامل جوانه دارای کمترین میزان است. نوبری و همکاران[6] (۲۰۱۲) گزارش کردند که مقدار پرولین در مراحل فنولوژیکی گل در ارقام پسته افزایش می‌یابد. نتایج بدست آمده از تحقیق با نتایج بدست آمده توسط محققین فوق مطابقت دارد بطوریکه محتوای پرولین همزمان با شکوفایی جوانه گل افزایش یافت.

نتیجه‌گیری کلی

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رقم عسگرآباد، با وجود داشتن بیشترین نیاز گرمایی، بالا بود در حالیکه کمترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رقم تبرزه که دارای کمترین میزان نیاز گرمایی است می‌باشد. همچنین بیشترین فعالیت آنزیم‌های فوق در چهار رقم مورد مطالعه در زمان شکوفایی جوانه گل مشاهده شد. ارزیابی تغییرات پرولین نیز نشان داد که فعالیت پرولین نیز در مرحله بعد از رفع نیاز سرمایی کم بوده و همزمان با شکوفایی گل‌ها افزایش یافت.

1. Kenis
2. Jain
3. Yun *et al.*
4. Khorshidi *et al.*
5. Imani
6. Nobari *et al.*

منابع

دژم پور، ج. ۱۳۸۰. تعیین نیاز دمایی در چند رقم تجاری زردآلو در تبریز. مجله نهال و بذر، ۱۷: ۱۲- ۲۰.

Abassi, N., Kushad, M. and Endress, A. 1998. Active oxygen-scavenging enzymes activities in developing apple flowers and fruits. Scientia Horticulturae,74: 183-194.

Arora, R., Rowland, L.J. and Tanino, K. 2003. Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. HortScience, 38: 911-921.

Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology advances, 27: 84-93.

Bartolini, S., Zanol, G. and Viti, R. 2001. Changes in antioxidant compounds in flower buds of two apricotcultivars during winter season. Paper presented at the XII International Symposium on Apricot Culture and Decline 701.

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

Bradford, M.M. 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.

Citadin, I., Raseria, M.C.B., Herter, F.G. and Baptista da Silva, J. 2001. Heat requirement for blooming and leafing in peach. Hortscience, 36: 305-307.

Gao, R., Yuan, Z., Zhao, Z. and Gao, X. 1998. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 45: 41-45.

Ghamsari, L., Keyhani, E. and Golkhoo, S. 2007. Kinetics properties of guaiacol peroxidase activity in *Crocus sativus* L. corm during rooting. Iranian biomedical journal, 11: 137-146.

Imani, A. 2012. Evaluation the resistance of almond to frost in controlled and field conditions. International Journal of Nuts and Related Sciences (IJNRS), 29-36.

Jain, R., Shrivastava, A.K. and Solomom, S. 2007. Low temperature stress induced biochemical changes effect stubble bud sprouting in sugarcane (*Sacharum* spp. Hybrid). Plant Growth Regulator, 53: 17- 23.

Kaminski, K. and Rom, R. 1974. A possible role of catalase in the rest of peach" *Prunus persica*" Sieb. and Zucc. Flower buds. Journal of the American Society for Horticultural Science, 92: 84-86.

Kenis, J. 1976. Some biochemical aspects of dormancy and its break in peach flower buds. I. Changesin RNase and protease activities, the activity and composition of polyphenol oxidase and peroxidase and modification of the concentration of RNA, soluble proteins and total nitrogen. Phyton-Argentina, 34: 133-142.

Khorshidi, S., Davarynejad, G., Azmoode, F. and Kameli, M. 2014. Evaluation of susceptibility of pear and plum cultivars to winter frost. Folia Horticulturae. 103-108.

Murry, M.B., Cannell, M.J.R. and Smith, R.I. 1989. Date of budburst of fifteen tree species in britain following climate warming. Journal of Applied Ecology, 26: 693-700.

Nobari, F., Afshari, H., Miri, S. and Hokmabadi, H. 2012. An investigation of cold tolerance on chemical properties (proline, protein, and sugar) of the flower buds in four commercial cultivars of Damghan local pistachio. International Journal of Nuts and Related Sciences (IJNRS), 3: 3-4.

Pakkish, z., Majid, R. and Amin, B. 2009. Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio (*Pistacia vera* L.) flower buds. World App Sciences Journal, 6: 1193-1199.

Raseira, M., Augustin, E., Herter, F. and Citadin, I. 2001. Relationship of Peroxidase, 6-Phosphogluconate Dehydrogenase, and Phosphoglucoisomerase to Endodormancy Phase in Peach. Paper presented at the V International Peach Symposium 592.

Ruiz. D., Campoy, J. and Egea, J. 2007. Chilling and heat requirements of apricot cultivar for flowering. Environmental and Experimental Botany, 254-263.

Sairam, R.K., Vasanthan, B. and Arora, A. 2011. Calcium regulates *Gladiolus* flower senescence by influencing antioxidative enzymes activity. Acta Physiolgical Plant, 33: 1897–1904.

Tayefi-Nasrabadi, H. 2008. Some biochemical properties of catalase from Kohlrabi (*Brassica oleracea gongylodes*). Journal of Biological Sciences, 8: 649-653.

Valentini, N., Me, G., Spanna, F. and Lovisetto, M. 2002. Chilling and heat requirement in apricot and peach varieties. Paper presented at the XXVI International Horticultural Congress: Key Processes in the Growth and Cropping of Deciduous Fruit and Nut Trees 636.

Vicas, S.I. and Laslo, V. 2011. The correlation of the accmulation of cold units with some physiologocal and biochemical processes in the floral buds in the cultivation of nectarines (*Prunus Persica* var. nectarina) in North-Western Romania. Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii, 21(3): 639-645.

Viti, R., Bartolini, S. and Guerriero, R. 2003. The influence of sampling from defferent canopy positions on the evaluation of flower bud anomalies and dormancy in apricot (*Prunus armeniaca* L.). Fruits, 58: 117-126.

Yun, S.K., Bae, H., Chung, K.H., Yoon, I.K., Nam, E.Y., Kwon, J.H. and Jun, J.H. 2014. Sugar, Starch, and Proline in peach trees exposed to freezing temperatures during dehardening. Agricultural Sciences, 5(10): 913-921.

Wang, S.Y., Jiao, H.J. and Faust, M. 1991. Changes in ascorbate, glutathione, and related enzyme activities during thidiazuron-induced bud break of apple. Physiologia Plantarum, 82: 231-236.

Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H. and Cui, L. 2006. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. Environmental Export Botany, 56: 274–285.

Proline and some enzyme changes in flower buds of some apricot cultivars during heat accumulation period

Sahar Toopchizadeh Tabrizian[1], Jafar Hajilou*[2] and Gholamreza Dehghan[3]

1. Ph.D. student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
2. Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran
3. Professor, Departement of Animal Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Iran

(Received: Nov. 26, 2016 - Accepted: Jan. 31, 2017)

Abstract

This experiment was conducted to evaluate the proline and enzymes changes after termination of chilling requirement and during heat accumulation. Four apricot cultivars including "Tabarzeh", "Shekarpareh","Shamloo" and "Asgarabad" were selected at Khalaat Pooshan Agricultural Research Station, Tabriz University, Iran. In this study, changes in enzyme activity of catalase, peroxidase and superoxide dismutase as well as proline content were measured monthly just after the end of dormancy period until 50% blooming for each cultivar. Analysis of variance (ANOVA) showed that there was a significant difference in enzymes activity within different cultivars. Enzymes activity had the minimum value immediately after terminating chilling requirement while reached the maximum value during the bloom. Comparing the average superoxide dismutase, catalase and peroxidase activity in different cultivars showed that "Asgarabad" had the highest enzyme activity in March with the 3254 Grow Degree Hour (GDH), while the least amount of enzyme activity was recorded in "Tabarze" during February with 214 GDH. Also, significant change in proline content was revealed in studied cultivars at different sampling times, so that, the highest and lowest proline contents was observed in "Tabarzeh" with 254 GDH and "Asgaraabad" with 214 GDH, respectively.

Keywords: Proline, Catalase, Peroxidase, Superoxide dismutase, Heat requirement

*Corresponding author: Email: j_Hajilou@Tabrizu.ac.ir