ارزیابی تغییرات آنزیمهای آنتی اکسیدانی در طی دوره رکود جوانه گل درچند رقم زردآلو بر اساس تجمع نیاز سرمایی (*Prunus armeniaca*)

سحرتوپچی زاده تبریزیان[۱]، جعفر حاجی لو[۱*] و غلامرضا دهقان[۲]

[۱] **تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی**

[۲] **تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه بیوشیمی**

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۸

چکیده

درخت زردآلو با نام علمی *Prunus armeniaca* به عنوان یکی از مهمترین محصولات باغی در ایران بویژه منطقه آذربایجان مطرح می باشد. پژوهش حاضردر راستای ارزیابی تغییرات آنزیمی ومیزان پرولین در طی رکود در چهار رقم زردآلو شامل تبرزه، شکرپاره، شاملو و عسگرآباد در سال ۹۳- ۹۲ در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان (دانشگاه تبریز) انجام شد. در این تحقیق تغییرات فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و همچنین میزان پرولین در طی دوره رکود در فاصله زمانی هرماه یکبار در هر چهار رقم اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که از نظر تغییرات آنزیمی در هر سه آنزیم اختلاف معنی‌دار وجود دارد و فعالیت آنزیم‌ها از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در مرحله ورود به خواب بالا بوده و با نزدیک شدن به زمان رفع نیاز سرمایی فعالیت آنزیمی کاهش یافته است. همچنین نتایج اثر متقابل رقم وتجمع سرمایی نشان داد که رقم تبرزه با میزان تجمع سرمایی۶۲۱ واحد سرمایی(CU) کمترین و رقم عسگرآباد با میزان تجمع سرمایی ۱۴۱ واحد سرمایی(CU) بالاترین میانگین فعالیت در هر سه آنزیم را داشتند. بررسی تغییرات پرولین در ارقام مورد مطالعه در طی رکود بیانگر آن است که از نظر مقدار پرولین در تاریخ‌های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی دار وجود دارد، بطوریکه رقم تبرزه و عسگرآباد در آبان ماه کمترین میزان و رقم شاملو در دی ماه دارای بیشترین میزان پرولین بود. بنابراین تغییرات بیوشیمایی درطول مرحله تجمع سرمایی درغلبه بر آندودرمانسی نقش اساسی داشته و از این تغییرات میتوان به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی در تشخیص ارقام با نیاز سرمایی بالا، متوسط و پایین در درختان میوه بهره جست.

واژه های کلیدی: زردآلو، پرولین ، رکود، کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۰۶۱۸۷۴ ، پست الکترونیکی: J_hajilou @tabrizu.ac.ir

مقدمه

زردآلو یک درخت زودگل است و به همین خاطر، حساسیت به سرمازدگی در جریان گلدهی از عوامل محدود کننده کاشت و عمل آوری محصول آن به حساب می‌آید. به طوری که این عامل محدودکننده در نواحی مستعد اغلب موجب از بین رفتن بخش مهمی از محصول میشود(۳).

رکود یکی از مهمترین عوامل موثر در پراکنش گیاهان می‌باشد. در واقع این پدیده متمایز کننده‌ی گیاهان مناطق گرمسیری از گیاهان مناطق سردسیری شناخته شده است

(۲۹). پدیده فوق در طول ماههای سرد سال برای بقاء برخی گیاهان ضروری می باشد، درختانی که در زیستگاه طبیعی خود پرورش یافته اند به ندرت توسط سرما و یخبندان صدمه می بینند، زیرا در آنها مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سازگار پذیری توسعه یافته اند که به آنها اجازه رکود در شرایط آب هوایی سرد زمستان را می‌دهد(۶و ۲۴). نظر به این که این پدیده همزمان با کاهش تقسیم سلولی اتفاق می افتد، لذا کنترل رکود می بایست در رابطه با مکانسیم های تنظیم کننده سیکل سلولی درگیر با سیگنال های هورمونی همراه باشد (۲۴). موضوع رکود درختان میوه در بین محققین از زمانی بیشتر مورد توجه قرار گرفت که تلاش نمودند درختان میوه مناطق معتدله را در مناطق استوایی یا نزدیک استوا که سرمای زمستانی ندارند پرورش دهند. در این نواحی به دلیل وجود زمستانهای گرم، عدم تامین نیاز سرمایی یک عامل محدود کننده مهم در تولید محصولات درختی معتدله می باشد (۲۹).

درختان میوه مناطق معتدله در چرخه رشد سالیانه خود به یک دوره سرما نیاز دارند تا بعد از آن با مهیا شدن شرایط مناسب رشد، شکوفایی طبیعی جوانه ها اتفاق افتد. حداقل زمان لازم برای سرمادهی یک رقم در طی فصل سرما که موجب از سرگیری رشد طبیعی آن در فصل رویش می شود در اصطلاح نیاز سرمایی(Chilling requirement) نامیده می‌شود (۳۵). نیاز سرمایی بصورت واحد سرمایی (Chill unit) مربوط به دماهای مختلف در طی زمستان بیان می‌شود(۲۱).

در جوانه های درختان میوه، در شرایط عبور از مرحله خواب درونی(اندو درمانسی) به خواب محیطی (اکودرمانسی) یکسری تغییرات بیوشیمیایی قابل مشاهده است (۳۷). کراب (۱۹۹۴) گزارش کرد که یک سری نشانگرهای بیوشیمیایی مشخصی می‌تواند سطح نسبی خواب اندام ها، بافت ها و حتی سلول ها را مشخص کند (۱۳).

در گیاهان عالی متابولیسم آنتی اکسیدان بصورت چرخه های سالانه تغییر می‌یابد. فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در طی خواب عمیق پایین و بعد از طی این مرحله افزایش می‌یابد. در شرایطی که فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی در ارقام با نیاز سرمایی بالا پایین می‌باشد این امر موجب عدم رفع کامل خواب شده و باعث کاهش درصد شکوفایی جوانه های گل می‌شود (۱۰ و ۳۵). در پایان مرحله خواب عمیق یک افزایش قابل توجهی از نظر فعالیت آنتی اکسیدانی در ارقام زردآلوی با نیاز سرمایی پایین مشاهده می‌شود (۱۰).

اسید آمینه پرولین به طور وسیعی در گیاهان مطالعه شده و در ثبات ساختارهای سلولی مانند غشاها و پروتئینها مشارکت دارد.این ماده به عنوان واسطه‌ای برای ایجاد تنظیم اسمزی والقای ژنهای مرتبط با تنش نقش دارد. گزارشهای متعددی در رابطه با تاثیر مثبت تجمع پرولین و مقاومت به تنش در گیاهان وجود دارد (۸). ارزیابی تغییرات پرولین بر اساس تجمع سرمایی توسط محققینی چون محمد و همکاران (۲۰۱۰) در انگور، خورشیدی و همکاران (۲۰۱۴) در گلابی و آلو و ال- مانسی و همکاران (۱۹۶۹) در هلو و زردآلو انجام شده است (۱۵، ۲۰و ۲۲).

در این راستا هدف از این تحقیق ارزیابی تغییرات برخی از آنزیم ها در جوانه های گل چند رقم زردآلو در طی دوره رکود جوانه گل بر اساس میزان تجمع سرمایی می‌باشد.

مواد و روشها

انتخاب ارقام: برای اجرای این پژوهش چهار رقم زردآلوی تجاری شامل شکرپاره، شاملو، تبرزه و عسگرآباد از ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان (دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز) انتخاب شدند. ارقام انتخابی جزو

ارقام غالب و تجاری استان آذربایجان شرقی با سطح زیر کشت بالا می باشند.

تعیین نیاز سرمایی: جهت برآورد نیاز سرمایی از هررقم چهار تکرار و از هر تکرار چهار شاخه با طول و قطر یکسان برداشته شد. اولین نمونه برداری زمانی انجام شد که دماهای بالا با اثر منفی در رفع نیاز سرمایی به ندرت اتفاق می‌افتاد (۲۳ مهر ۹۲) و سپس با فاصله هفت روز یک بار تا زمان رفع نیاز سرمایی این عمل تکرار شد. مرحله نموی جوانه های گل بعد از ۱۰ روز قرار گیری در اتاقک رشد مورد ارزیابی قرار گرفت. زمانی که ۳۰ درصد جوانه ها در مرحله B-C فیلیکینگر (Fleckinger) بودند به عنوان رفع نیاز سرمایی در نظر گرفته شد (۲۸). برآورد میزان تجمع سرمایی و نیاز سرمایی از دماهای استحصال شده از دستگاه ترموگراف که در باغ نصب شده بود، در هر ماه در جوانه گل ارقام مورد مطالعه، توسط مدل یوتا محاسبه گردید. در این مدل به دماهای (درجه سانتیگراد) کمتر از ۱/۴ ارزش صفر، دماهای ۲/۴- ۱/۵ ارزش ۰/۵، دماهای ۹/- ۲/۵ ارزش ۱، دماهای ۱۲/۴- ۹/۲ ارزش ۰/۵، دماهای ۱۸-۱۶ ارزش ۰/۵- ودماهای بیشتر از ۱۸ ارزش ۱- واحد داده می شود (۱۴).

استخراج عصاره آنزیمی جهت**ارزیابی تغییرات آنزیمی**: جهت ارزیابی تغییرات آنزیمی از هر چهار رقم، نمونه برداری از جوانه های گل بصورت هر ماه یکبار (از زمانی که دماهای بالا با اثر منفی در رفع نیاز سرمایی به ندرت اتفاق افتاد تا زمان رفع نیاز سرمایی) انجام شد. جوانه های برداشت شده جهت سنجش آنزیمی بعد از جمع آوری تا شروع سنجش آنزیم ها در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. استخراج آنزیم‌های مورد بررسی با استفاده از بافر فسفات، ۰/۱ مولار وpH معادل ۷، حاوی ۰/۲ درصد پلی وینیل پیرولیدین، در روی یخ و هاون چینی انجام داده شد. به ازای یک گرم ماده تر سه میلی لیتر بافر استخراج استفاده و محلول همگن شده با سرعت ۱۴۰۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از عصاره رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و پروتئین محلول استفاده شد (۱۲).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت پراکسیداز از روش تبدیل گایاکول به تتراگایاکول سنجیده شد. 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 ۱ میکرو مولار تتراگایاکول در یک دقیقه گزارش گردید (۵).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: اساس روش سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از اکسیداسیون پیروگالول توسط رادیکال سوپراکسید می‌باشد. تغییرات جذب نمونه ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر در حضور پیروگالول اندازه گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ممانعت ازاکسیداسیون ۲ میکرو مولار پیروگالول در دقیقه می‌شود (۱۶).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز به وسیله کاهش در جذب H_2O_2 در۲۴۰ نانومتر از طریق اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. واحد فعالیت این آنزیم بر اساس مقدار آنزیمی که یک میکرومول H_2O_2 را در یک دقیقه تجزیه می‌کند گزارش گردید (۳۲).

سنجش پروتئین کل: برای اندازه گیری پروتئین کل، عصاره استفاده شده در سنجش آنزیم ها مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش پروتیین از روش برادفورد استفاده و جذب در ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر قرائت شد (۱۲).

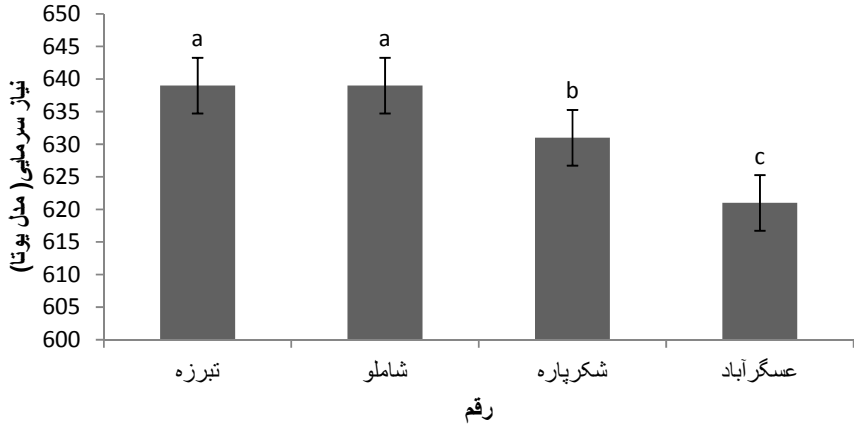
سنجش پرولین: جهت ارزیابی پرولین از روش بیتس استفاده شد(۱۱). در این روش ۰/۵ گرم جوانه با ۱۰ میلی-

لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ مخلوط و سابیده شد. مخلوط همگن به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. ۱ میلی‌لیتر عصاره رویی با ۱ میلی‌لیتر معرف اسید نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص مخلوط و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، ۲ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شدند. میزان جذب فاز قرمز رنگ در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آماری بکار برده شده جهت تعیین نیاز سرمایی طرح بلوک کامل تصادفی بود. داده های مربوط به آنزیم و پرولین نیز بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار انجام گردید بطوریکه نوع رقم به عنوان فاکتور اول و زمان نمونه برداری به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شد. تجزیه واریانس داده های حاصل از آزمایش توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و مقایسه میانگین به روش آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد.

نتایج

نیاز سرمایی : طبق نتایج بدست آمده از نظر نیاز سرمایی بر اساس مدل یوتا در ارقام مورد مطالعه در این پژوهش، ارقام تبرزه و شاملو با ۶۳۹ واحد سرمایی دارای بیشترین نیاز سرمایی، رقم شکرپاره با ۶۳۱ واحد سرمایی دارای نیاز سرمایی متوسط و رقم عسگرآباد با ۶۲۱ واحد سرمایی دارای کمترین نیاز سرمایی است (شکل ۱).

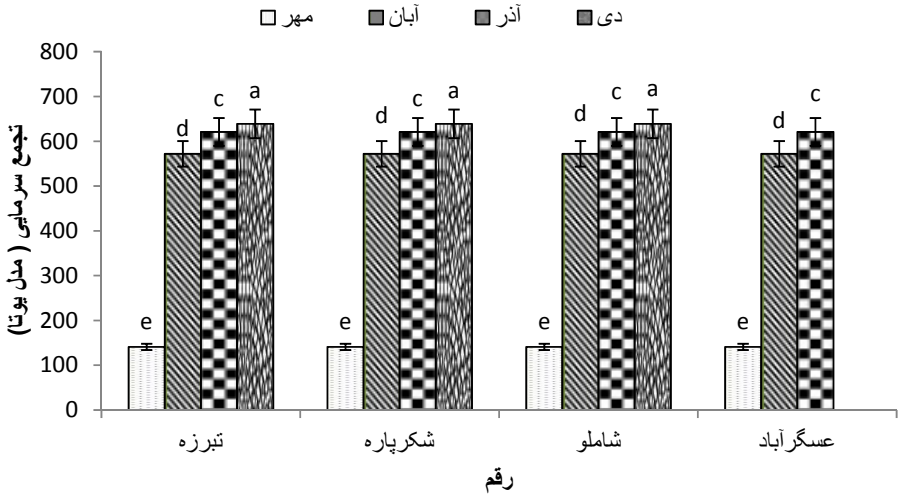


شکل ۱- میزان نیاز سرمایی جوانه های گل ارقام مورد مطالعه زردآلو بر حسب مدل یوتا(حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف درسطح احتمال ۱٪ می باشد).

بر اساس نتایج بدست آمده از نظر اثر متقابل رقم و زمان در میزان تجمع سرمایی بیشترین میزان تجمع سرمایی در دی ماه و مربوط به رقم های تبرزه و شاملو بوده است (شکل ۲). نتایج تحقیقات بر زمان رفع نیاز سرمایی ارقام مشخص کرده است که زمان رفع نیاز سرمایی رقم تبرزه و شاملو ۳۰ دی ماه، شکرپاره ۲۳ دی ماه و عسگرآباد ۲۵ آذر می‌باشد (۲).

سطوح سرمایی دریافت شده در عکس العمل به تغییرات آنزیمی: طبق نتایج بدست آمده رقم عسگرآباد با میزان تجمع سرمایی ۱۴۱ واحد دارای بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و رقم تبرزه با تجمع سرمایی ۶۲۱

واحد دارای کمترین فعالیت آنزیمی بود(جدول ۱). رقم عسگرآباد یک رقم با نیاز سرمایی پایین می باشد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم در پایان خواب مشاهده شد. نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نشان می‌دهد که در بین ارقام و زمان‌های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲).



شکل ۲- میزان تجمع سرمایی جوانه های گل چهار رقم زردآلو در طی رفع نیاز سرمایی برحسب مدل یوتا (حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف درسطح احتمال ۱٪ می باشد).

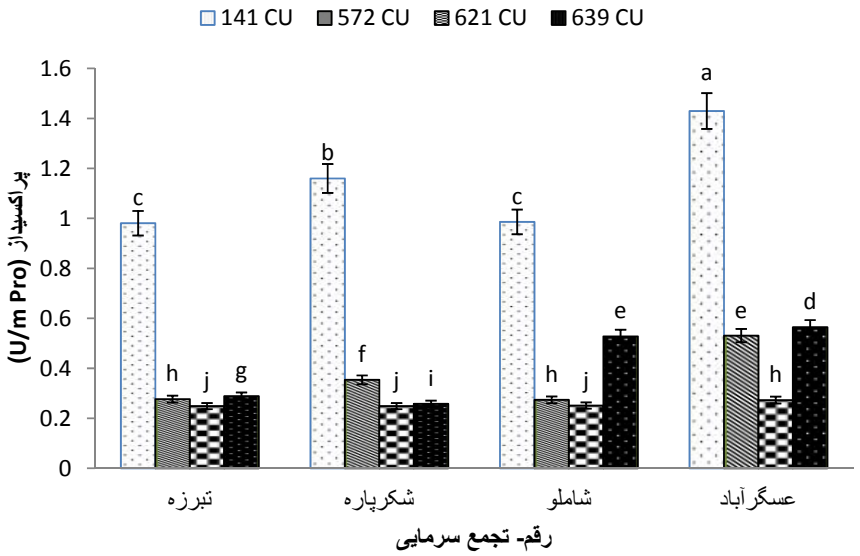
رقم عسگرآباد بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را در میزان تجمع سرمایی ۱۴۱ واحد نشان داد در حالیکه رقم شکرپاره و شاملو بترتیب در مقدار تجمع سرمایی۵۷۲ و ۶۳۹ واحد حدواسط فعالیت آنزیمی را نشان دادند و رقم تبرزه نیز در مقدار تجمع سرمایی ۶۲۱ واحد کمترین فعالیت آنزیمی را نشان داد (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که از نظر مقادیر فعالیت کاتالاز در بین ارقام و زمان‌های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲).

نتایج حاصل نشان داد که رقم عسگرآباد (با کمترین نیاز سرمایی) در میزان تجمع سرمایی ۱۴۱ واحد دارای بیشترین فعالیت و رقم تبرزه (با بیشترین نیاز سرمایی) در مقدار تجمع سرمایی ۶۲۱ واحد دارای کمترین فعالیت و ارقام شکرپاره و شاملو دارای حدواسط فعالیت برای آنزیم پراکسیداز بودند (شکل ۳). نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به اثر رقم و زمان نمونه برداری نشان داد که از نظر مقادیر فعالیت پراکسیداز در بین ارقام و تاریخ‌های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۲).

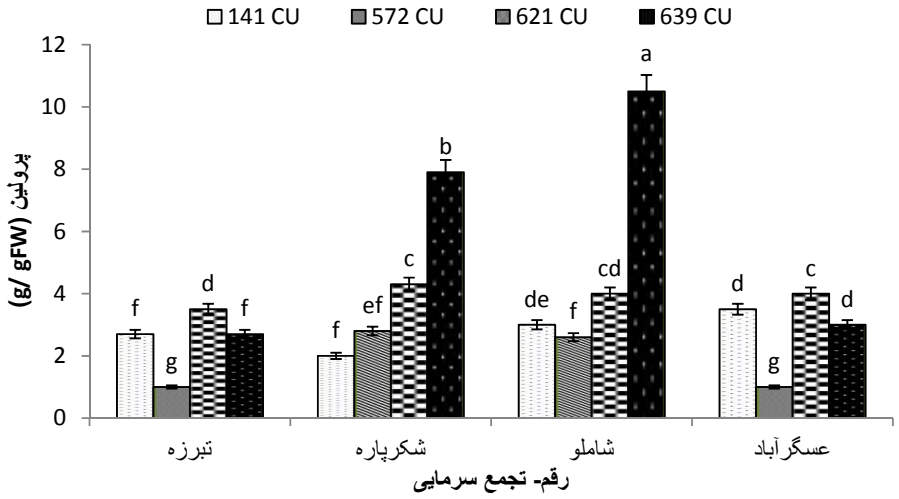
سطوح سرمایی دریافت شده در عکس العمل به تغییرات پرولین: مقدار پرولین در جوانه‌های در حال رکود از مهر تا دی افزایش یافت. بطوریکه کمترین میزان پرولین آزاد در آبان ماه و بیشترین میزان آن در دی ماه همزمان با رفع نیاز سرمایی بوده است (شکل۴). نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به اثر رقم و زمان نمونه برداری نشان داد که از نظر مقادیر تغییرات پرولین در بین ارقام و زمان های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱- تغییرات آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در جوانه های گل چهار رقم زردآلو در طی بازه زمانی رفع رکود (حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف درسطح احتمال ۱٪ می باشد).

رقم	تجمع سرمایی (واحد سرمایی)	میانگین سوپراکسید دیسموتاز(U/mg protein)	میانگین کاتالاز (U/mg protein)
	۱۴۱	۴۵۳/۷۷۵d	۱۹/۸۴c
	۵۷۲	۱۲۳/۱۶۴g	۴/۰۷g
تبرزه	۶۲۱	۱۰/۱۳۴o	۰/۶۱۹n
	۶۳۹	۲۱/۷۱۱l	۱/۸۵۷j
	۱۴۱	۶۳۴/۷۲۵b	۴/۴f
شکرپاره	۵۷۲	۱۶۰/۳۵f	۳/۷۶۲h
	۶۲۱	۱۲/۵۳۱n	۱/۵۵۳k
	۶۳۹	۳۷/۶۵۳k	۱/۳۳۸l
	۱۴۱	۵۶۲/۷۴۲C	۴۴/۹۷b
	۵۷۲	۱۲۰/۹۸۵h	۰/۸۴۶m
شاملو	۶۲۱	۱۲/۶۰۴n	۱/۳۶l
	۶۳۹	۵۰/۵۸۲j	۵/۰۳۶e
	۱۴۱	۷۲۲/۴۶۴a	۶۲/۴۸۲a
	۵۷۲	۲۵۱/۳۹۲e	۲/۰۳i
عسگرآباد	۶۲۱	۱۴/۴۷۹m	۱/۷۰۲jk
	۶۳۹	۶۷/۰۶۸i	۹/۱۳۷d



شکل ۳- تغییرات آنزیم پراکسیداز در جوانه های گل چهار رقم زردآلو در طی بازه زمانی رفع رکود (حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف درسطح احتمال ۱٪ می باشد).



شکل۴- غلظت پرولین در جوانه های گل چهار رقم زردآلو در طی بازه زمانی رفع رکود (حروف غیرمشابه نشان دهنده اختلاف درسطح احتمال ۱٪ می باشد).

جدول۲- تجزیه واریانس اثر رقم و زمان نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، و غلظت پرولین.

منبع تغییرات	درجه آزدی	میانگین مربعات			
		سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	کاتالاز	پرولین
رقم	۳	۱۱۴/۹۲۷**	۰/۰۱۱**	۳۶۴۵/۴۹۴**	۳۴/۰۸۶**
زمان نمونه برداری	۳	۳/۵۷۹**	۰/۰۰۳**	۸۱۹/۱۹۴**	۵۴/۲۹۴**
رقم*زمان نمونه برداری	۹	۱/۰۹۴۶**	۰/۰۰۴**	۶۴۰/۸۶۷**	۱۲/۰۴۳**

**معنی دار در سطح احتمال ۱٪

بحث

نتایج تحقیق حاضر بیانگر آن است که ارقام با نیاز سرمایی پایین دارای بالاترین فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتازاست. بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در پایان اکودرمانسی یا رفع کامل رکود می‌باشد که این امر می تواند ظرفیت سم زدایی از رادیکالهای آزاد سوپراکسید تولید شده در طی رکود را افزایش دهد. سوپراکسید دیسموتاز، رادیکال آزاد سوپراکسید را با تبدیل به اکسیژن مولکولی و H_2O_2 سم زدایی می کند. آنزیم در مکانهایی که تنش اکسیداتیو در آنها وقوع می پیوندد وجود دارد (۱۰ و۱۶). فعالیت پایین در سیستم آنتی اکسیدانی در واریته های با نیاز سرمایی بالا ممکن است نقش مهمی را در رفع ناقص خواب جوانه گل بازی کند که این امر منجر به پایین آمدن درصد شکوفایی جوانه ها خواهد شد. این موضوع در انتخاب ارقام در شرایط آب و هوایی مختلف حائز اهمیت می‌باشد. مطالعات ثابت کرده اند که در جوانه های گل سیب و هلو پایان اندودرمانسی در ارتباط با افزایش ظرفیت جمع آوری رادیکال های آزاد از طریق سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی می‌باشد (۳۴). علاوه بر نقش تجمع سرما در ایجاد تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، سایر تنش‌های زیستی از جمله تنش خشکی نیز باعث تغییراتی در فعالیت آنزیم می‌شود. بطوریکه در بررسی مقایسه اثر تنش کم آبی بر تغییرات فعالیت آنزیم

سوپراکسید دیسموتاز در ۳ رقم زیتون مشاهده شده است که با پیشرفت تنش خشکی فعالیت آنزیم در هر ۳ رقم افزایش می‌یابد (۱).

پراکسیداز در تعداد زیادی از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دخالت دارد و ممکن است در طی رشد و نمو از لحاظ کمی و کیفی تغییر کند. فعالیت پراکسیدازی با قابلیت تولید NADH اکسیداز، می تواند یک مسیر متناوب در تنظیم سطوح H_2O_2 باشد (۲۶). فعالیت پراکسیداز در طول دوره خواب و شکستن خواب بالا می باشد و سرانجام با رسیدن فصل بهار فعالیت آنزیم کاهش می‌یابد (۲۵). این تغییر احتمالا نقش حفاظتی را در افزایش تحمل به یخ زدگی زمستانه بازی می‌کند (۲۷). سزالای و همکاران (۲۰۰۵) طی تحقیقی بر روی زردآلو، نشان دادند که بالاترین فعالیت پراکسیداز در جوانه گل حساس به سرمای رقم *Cegledibiborkajszi* می‌باشد. فعالیت آنزیم ها در جوانه های گل با تحمل خوب به سرما، رقم *Rozakajszi* کم بود. فعالیت آنزیم ها در رقم *Magyar KasziGonic* حد واسط بین دو رقم دیگر است.با توجه به نتایج بدست آمده توسط محققین مذکور می‌توان پیش بینی کرد که رقم عسگر آباد با بیشترین فعالیت آنزیمی احتمالا یک رقم حساس به سرما و رقم تبرزه با کمترین فعالیت آنزیمی یک رقم مقاوم به سرما است. هنگامی که درجه حرارت کاهش می یابد فعالیت آنزیم جهت افزایش مقاومت جوانه گل تغییر می‌کند (۳۱).

بر اساس تحقیقات انجام شده توسط اسکالابرلی و همکاران در سال۱۹۹۱، فعالیت آنزیم کاتالاز در گل و جوانه های برگ زردآلو در طی دوره رکود دارای بیشترین مقدار بوده و طی دوره رها شدن از رکود مقدار آن کاهش می‌یابد. میزان کاهش در فعالیت کاتالاز در جوانه های گل نسبت به جوانه برگ بیشتر بود. ارتباط مستقیمی بین افزایش وزن جوانه گل و فعالیت کاتالاز مشاهده شده است. مشاهدات میکروسکوپی آشکار کرده است که میوز و پس از آن تشکیل تتراد قبل از کاهش در فعالیت کاتالاز رخ می‌دهد (۳۰). در جوانه های انگور، ارتباط مستقیمی بین شدت رکود و میزان فعالیت کاتالاز مشاهده شده است (۲۳). در جوانه های گل هلو فعالیت کاتالاز در حین انتقال از اندودرمانسی به اکودرمانسی و القا سرما کاهش و سپس در هنگام شکوفایی افزایش می‌یابد (۱۸). فعالیت کاتالاز در چوب راش گونه فاگوس اورینتالیس(*FagusOriyentalis*) به منظور تعیین ارتباط بین آنزیم ها و دوره خواب و فصل رشد توسط ذولفقاری و همکاران (۲۰۰۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز در طی فصل رشد کم و از مرداد تا آبان افزایش می‌یابد که گیاه خود را برای خواب و شرایط سرما آماده می‌کند. بیشترین فعالیت کاتالاز در آبان نشانه ورود به مرحله خواب است. کاهش فعالیت کاتالاز در ماه بهمن رها شدن از خواب تلقی گردیده است (۳۸).

غلظت قند و پرولین درمرحله رکود افزایش و غلظت نشاسته کاهش می‌یابد (۷). پرولین از اسیدی شدن جلوگیری کرده و تنش سلولی را کاهش می‌دهد. تجمع آن در گیاهان ممکن است در پاسخ به تنش های زیستی و غیر زیستی ایجاد شود (۱۷). در گیاهان حساس به سرما افزایش پرولین سلولی به حدی نیست که موجب افزایش مقاومت شود، مگر اینکه مقادیر بالای پرولین قبل از تنش به وجود آمده باشد (۳۶). نتایج تحقیقات نشان دهنده این است که با کاهش دما میزان پرولین افزایش می‌یابد. همچنین کاهش دما باعث تولید گونه های فعال اکسیژن بیشتری شده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. تنش اکسیداتیو باعث واسرشته شدن و تجزیه پروتئین ها می شود (۱۹). خانیزاده و همکاران (۲۰۰۰) با اندازه‌گیری پرولین در طول سال‌های مختلف نشان دادند که مقدار پرولین آزاد در طول خواب در حالت حدواسط قرار دارد (۱۹). برخی محققین میزان پرولین و نقش آن را در خواب جوانه انگور مورد مطالعه قرار دادند (۲۲).در اوایل خواب یعنی زمانی که هیچ تجمع سرمایی صورت نگرفته بود،

جوانه ها حداقل پرولین را نشان دادند. میزان پرولین با سرمادهی تدریجا افزایش و در زمان تجمع ۳۰۰ واحد سرمایی(زمان رفع رکود) به حداکثر مقدار خود رسید. بعد از رفع رکود دوباره کاهش پیدا کرد و در ۵۰۰ واحد سرمایی به میزان سطح اولیه(قبل از سرمادهی) رسید (۲۲). انباشته شدن نشاسته و پرولین در مرحله اولیه خواب (اندودورمانسی) جوانه های گل، در سازگاری به دمای پایین وجلوگیری از یخ زدگی به جوانه‌ها کمک می‌کند. با رفع کامل خواب (پایان اکودرمانسی) و شروع رشد پرولین به عنوان منبع نیتروژن، کربن و انرژی در جوانه ها مصرف می‌شود. روند کاهشی نشاسته با پایان خواب در جوانه ها همراه می‌باشد (۳۳). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که محتوای پرولین در ارقام گلابی و آلو در زمان رکود جوانه کمترین مقدار است (۲۰). همچنین الگوی تغییرات پرولین در زردآلو و هلو نشان داده است که محتوای پرولین از مهر تا اسفند افزایش می‌یابد (۱۵). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که علاوه بر سرما ، تنش خشکی نیز موجب افزایش مقدار پرولین می‌گردد. بطوریکه صالحی و همکاران (۱۳۹۴) با اندازه گیری مقدار پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی نشان دادند که مقدار پرولین در برگ های سه نمونه بذری بابونه افزایش می یابد (۴).

نتیجه گیری کلی

می توان نتیجه گرفت که متابولیسم آنتی اکسیدان ها در گیاهان تحت تاثیر تغییرات چرخه فصلی صورت می‌گیرد و تغییرات فعالیت آنزیمی به دما بستگی دارد. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش، فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی آنزیمی جوانه های گل در زردآلو در ابتدای دوره خواب تقریبا بالا بوده ولی در طی مراحل پایان خواب کاهش فعالیت را بهمراه داشت.

منابع

۱. امینی، ز.، معلمی. ن.، سعادتی، ص. ۱۳۹۳. مقایسه اثر تنش کم آبی بر تغییرات میزان پرولین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ۳ رقم زیتون (*Olea europaea* L.). مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۷ شماره ۲ صفحات ۱۶۷- ۱۵۶.

۲. توپچی زاده تبریزیان، س. ۱۳۹۳. ارزیابی برخی تغییرات فیزیولوژیکی و آنزیمی در چند رقم زردآلو در طی رکود جوانه گل. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تبریز. دانشکده کشاورزی. ۱۱۵.

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

۴. صالحی شانجانی، پ.، ایزدپناه، م.، فلاح حسینی، ل.، رمضانی یگانه، م.، رسول زاده، ل.، کاوندی، آ.، سردابی، ف.، پهلوانی، م.، امیر خانی، م.، سیدیان، ا. ۱۳۹۴. مقایسه اثر تنش خشکی بر تنظیم اسمزی، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و پیگمانها در نمونه‌های بذری مختلف بابونه کاذب و بابونه زرد *Anthemis tinctoria* و *Tripleurospermum servanes* بانک ژن منابع طبیعی ایران. مجله زیست شناسی ایران. جلد۲۸ شماره ۱ صفحات ۱۳۹- ۱۲۶.

۵. قمصری، ل.، کیهانی، ای.، گلخو، س. ۱۳۸۳. خصوصیات کنیتیکی گایاکول پراکسیداز در زعفران (*Crocus sativus*) در زمان ریشه دهی پیاز. فصلنامه بیومدیکال ایران. ۱۱: ۱۳۷- ۱۴۶.

۶. میرمحمدی میبدی، ع . و اصفهانی، س. ۱۳۷۹. جنبه های فیزیولوژی و بهنژادی تنشهای سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی .انتشارات گلبن.

7. Aron, J., Suzanne, M., Volenec, J. and Zachary, J. 2007. Differences in freeze tolerance of zoysia grass carbohydrate and proline accumulation. Crop Science. 47: 2170-2181.

8. Ashraf, M., and Foolad, M.2006. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59(2): 206-216.

9. Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances. 27(1), 84-93.

10. Bartolini, S., Zanol, G. C. and Viti, R. 2006. Chenges in antioxidant compounds in flower buds of two apricot cultivar during the winter season. Acta Horticulturae. 701: 69- 74.

11. Bates, L., Waldren, R., and Teare, I.1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39(1): 205-207.
12. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. AnalyticalBiochemistry. 72(1): 248-254.
13. Crabbe, J. 1994. Dormancy. Agriculturae Science. Academic Press, New York. 597-611.
14. Egea, J., Ortega, E., Martínez-Gomez, P., and Dicenta, F. 2003. Chilling and heat requirements of almond cultivars for flowering. Environmental and Experimental Botany. 50(1): 79-85.
15. EL-Mansy, H. I. & Walker, D. R. 1969. Seasonal fluctuations of amino acids, organic acids, and simple sugars in “Elbert” peach and “Chinese” apricot flower buds during and after rest. AmericanSociety for Horticultural Science. 94: 184-192.
16. Gao, R., Yuan, Z., Zhao, Z., and Gao, X. 1998. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochemistry and Bioenergetic.45(1), 41-45.
17. Hare, P. D. and Cress, W. A. 2004. Implications of stress induced proline accumulation in plant. African Journal of Biotechnology. 9(7): 1008-1015.
18. Kaminski, K. and Rom, R. 1974. A possible role of catalase in the rest of peach" *Prunus persica*" Sieb. And Zucc. Flower buds. Science Horticultural. 92: 84- 86.
19. Khanizadeh, S., Brodeur, C., Granger, R., and Buszard, D. 2000. Factor associated with winter injury to apple trees. Acta Horticulturae. 179- 190.
20. 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 .
21. Linvill, D. E. 1990. Chill units from daily maximum and minimum temperature observations. HortScience. 25: 14-16.
22. Mohamed, H. B., Vadel, A. M., Geuns, J. M., and Khemira, H. 2010. Biochemical changes in dormant grapevine shoot tissues in response to chilling: Possible role in dormancy release. Scientia Horticulturae. 124(4): 440-447.
23. Nir, G., Y. Shulman, L. Fanberstein and S. Lavee. 1986.Changes in the Activity of Catalase EC 1.11.1.6, in relation to the dormancy of Grapevine (*Vitis vinifera*L.) Buds. Plant Physiology. 81: 1140-1142.
24. Olsen, J. E. 2003. Molecular and physiological mechanism of bud dormancy regulation. Acta Horiculturae. 618:437-453.
25. Pang, X., Halaly, T., Crane, O., Keilin, T., Keren- Keiserman, A., Ogrodovitch, A., Golbraith, D. and Or, E. 2007. Involvement of Calcium siginaling in dormancy release of grape buds. Enviromental and Experimental Botany. 58: 3249- 3262.
26. Perez, F.J. and W. Lira, 2005. Possible role of catalasein post dormancy bud break in grapevines. Plant Physiol., 162: 301-308.
27. Raseira, M., Augustin, E., Herter, F., and Citadin, I. 2002.Relationship of peroxidase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, and phosphoglucoisomerase to endodormancy phase in peach. Acta Horticulturae. 451- 457.
28. Ruiz. D., Campoy,J., Egea, J. 2007. Chilling and heat requirements of apricot cultivar for flowering. Environmental and Experimental Botany. 254- 263.
29. Saure, M. 1985. Dormancy release in deciduous fruit trees. Horticultural Reviews. Volume 7.239-300.
30. Scalabrelli, G., Viti, R., and Cinelli, F. 1991. Change in catalase activity and dormancy of apricot buds in response to chilling.Acta Horticulturae. 267- 274.
31. Szalay, L., Hegedûs, A., and Stefanovitis-Banyai, E. 2005. Presumable protective role of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes against freezing stress in peach (*Prunus persica*). Acta Biologica Szegediensis. 49(1-2): 121-122.
32. Tayefi-Nasrabadi, H. 2008. Some biochemical properties of catalase from Kohlrabi (*Brassica oleracea*). Biological Sciences. 8(3): 649-653.
33. Vicas SI, Laslo V. 2011. The correlation of the cccumulation of cold cnits with come physiological and biochemical processes in the floral buds in the cultivation of nectarines (*Prunus Persica*) in North-Western Romania, Studia Universitatis “Vasile Goldiş”, Seria Ştiinţele Vieţii Vol. 21. 639-645
34. 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(2): 231-236.
35. Westwood, M.N. 1987.Temperate zone pomology. W. H. Freeman and Company, san Francisco. P. 360.
36. Yelonsky, G. 1979. Accumulation of free proline in citrus leaves during cold hardening of young tree in controlled temperature regimes. Plant Physiology. 64: 425-427.

37. Zahra, P., 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*) flower buds. World App Sciences Jornal. 1193-1199.

38. Zolfaghari, R., Korori, S. A., and Etemad, V.2005. Changes in the activity of amylase, peroxidase and catalase in beech (*Fagus orientalis*) during dormancy and growth. Acta Biologica Hungarica. 56(3): 305-311.

Evaluation of antioxidant enzymes changes during flower bud dormancy in several apricot (*Prunus armeniaca*) cultivars based on accumulation of chilling requirement

Toopchi zadeh Tabrizian S.[1], Hajilou J.[1] and Dehghan Gh.R.[2]

[1] Horticultural Sciences Dept., Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran

[2] Natural Sciences Dept., Faculty of Biology, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran

Abstract

Apricot (*Prunus armeniaca* L.) is one of the most important horticultural trees in Iran, particularly in Azerbaijan region. To evaluate the enzymatic changes and proline content,during the dormancy in four apricot cultivars including, “Tabarze,”“Shamloo,”“Shekarpare“ and Asgarabad, the present study was conducted. The research carried out in 2013-2014 at the Khalat poushan research station (Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz). In this study, changes in the activities of catalase, peroxidase, superoxide dismutase enzymes and proline contents were measured during dormancy. The results showed that there was a significant difference in all three enzymes activities during dormancy. The flower buds exhibited high level of enzyme activities at the initial phase of dormancy and the avtivities of mentioned enzymes have been decreased after the accumulation of chilling requirement. The interaction between cultivar and chilling accumulation in all three enzymes showed that, “Tabarze” had the least enzymes activities at 141 chill unit and after the accumulation of 621 chill unit “Asgarabaad” showed the highest amount of enzymes activities. Investigation of proline changes in the studied cultivars during dormancy showed that, there was a significant difference between different dates of sampling, so that, “Tabarze” and “Asgaraabad” in November had the least proline and Shamloo in January highest one. Therefore, the biochemical changes during chilling requirement play an important role in breaking of endo-dormancy and they can be used as biochemical markers in detection of low, intermediate and high chilling requirement cultivars in fruit trees.

Key words: Apricot, Proline, Dormancy, Catalase, Peroxisdase, Superoxid dismutase