القا مقاومت به سرما بر درختان زردآلو با استفاده از مواد شیمیایی در استان قزوین

محمد علی نجاتیان[1*]، مجید گل محمدی[2]، ولی اله رسولی[3] و شکراله حاجی وند[4]

۱- دانشیار ۲- مربی ۳ و ۴- استادیار بخش زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین.
* نوسنده مسئول: nejatianali@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی اثر القا مقاومت به سرما بر آنزیم های آنتی اکسیدانت و برخی صفات کیفی و کمی در درختان بادام استان قزوین این پژوهش در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد، و هر پلات آزمایشی شامل سه اصله درخت بود. ، تیمارها شامل تیوفر،کراپ اید ۱ ، سالیسیلیک اسید ، bio bloom و شاهد بوده که در چهار زمان مختلف (بیش از به خواب رفتن گیاه ، زمان متورم شدن جوانه زنی جوانه ها ،آغاز زمان گلدهی ،هنگام تمام گل) بر روی درختان محلول پاشی شدند. آزمایشات نشان داد که تمام تیمارها میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نسبت به شاهد کاهش دادند ولی میزان گایاکول پراکسیداز را نسبت به شاهد افزایش دادند .درمورد آنزیم کاتالاز هم هیچ تغییر معنی داری بین تیمارها و نمونه شاهد مشاهده نشد .همچنین بیشترین میزان پرولین به ترتیب مربوط به تیمار کراپ اید و سالیسیلیک اسید بود و میزان بتایین هم در تمام نمونه ها نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت. هر چند از لحاظ متوسط وزن میوه، اختلاف چندانی بین تیماره مشاهده نشد ولی تیمار سالسلیک اسید نسبت به سایر تیمارها از نظر تعداد میوه در شاخه و شاخص باردهی شاخه، برتری معنی داری را نشان داد. در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمارهای ضد سرما هرکدام به نوبه خود باعث افزایش آنزیم های شاخص مقاومت شده و همچنین سبب افزایش خواص کمی در زردآلو هنگام سرما زدگی گردیدند.

کلمات کلیدی: سرمازدگی ،تنش، سالیسیلیک اسید، پرولین،آنزیم ها

مقدمه

زردآلو از محصولات عمده کشاورزی در قزوین می باشد که حجم زیادی از تولید این درختان در نتیجه سرمای دیر رس بهاره از بین می رود .در بیشتر مناطق، افزایش مقاومت به سرما مهمترین موضوع اصلاحی می باشد. تنش سرما باعث تجمع انواع اکسیژن فعال در سلول و آسیب رسیدن به لیپیدهای غشا، پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Noctor and Foyer CH. 1998). ود ر این خصوص تولید گونه های اکسیژن فعال منجر به پراکسیداسیون لیپدها (Chen *et al.*, 2000) و از بین رفتن پروتئین (Jiang and Huang, 2001) می گردد. اما در بروز چنین خسارتهای گیاهان به منظور حفاظت در برابر گونه های فعال اکسیژن (Ros) به دفاع آنتی اکسیدانتی مانند ترکیبات آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز مجهز هستند.که در شرایط تنش گیاهان با تولید (Ros) در سلولهایشان موجب تحریک و افزایش فعالیت آنزیمهای اشاره شده می شود. رادیکالهای آزاد اکسیژن مثل سوپراکسید ،هیدروژن پراکسید و رادیکالهای هیدروکسیل در اثر سرما تجمع می یابند (Hasagawa و همکاران). آنتی اکسیدانها با همکاری یکدیگر موجب فرونشانی سمیت رادیکالهای آزاد می شوند و سلولهای گیاهی را در مقابل آسیب دیدگی محافظت می کنند .یکی از این محرکهای زیستی سالیسیلیک اسید است (Zhang X., Schimdt R). اکثر شواهد علمی پیشنهاد می کنند اسید سالسلیک نقش کلیدی در ایجاد مقاومت سازگانی و دفاعی دارد (Yalpani and Raskin,1993). گزارش شده است که در فلفل ذرت و خیارو دانه رست های برنج که با محلولهای سالسلیک اسید تیمار شده اند اثر معنی داری در تحمل به سرما در این گیاهان داشته است (Kang and Saltiveit). سالیسیلیک اسید یک بازدارنده فعالیت آنزیم کاتالاز که یک آنزیم

پاکسازی کننده پراکسید هیدروژن است، بوده و در نتیجه با کاهش فعالیت این آنزیم سبب افزایش این ماده در گیاه می‌شود . (Hausladen and Alsche, 1993) در گزارشی کاربرد اسید سالیسیلیک در هندوانه مقاومت به سرما را از طریق فعالسازی ظرفیت آنتی اکسیدانتی از جمله آنزیم های گوایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون ردوکتاز افزایش داد (Hua -Jing *et al.*, 2008).

پرولین پایدارترین اسیدآمینه است که در برابر تنش‌های اکسیداتیو مقاومت کرده و کم‌ترین اثر بازدارندگی را بر رشد سلولها در بین تمام اسیدهای آمینه دارد (Kumur *et al.*,). تحقیقات انجام شده بر روی زردآلو و هلو نشان داد که میزان پرولین در فصل سرما از مهر تا اسفند افزایش می‌یابد (EL-Mansy and Wallker, 1996; Lassheen and Chaplin, 1971). طبق گزارشات تجمع اسید آمینه پرولین در ارقام پسته تحت تنش سرما افزایش یافت. تجمع این اسید آمینه در گیاهان چند ساله از پاییز تا اواسط زمستان یک رخداد طبیعی فیزیولوژیکی در متابولیسم ذخیره نیتروژن می باشد (منصوری ده شعیبی و همکاران ۱۳۹۰). در بررسی دو رقم کلزا گزارش کردند که در رقم مقاوم به شوری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر از رقم حساس بود (اشرف و علی ۲۰۰۸). نتایج پژوهش در چغندر قند نشان می‌دهد که میزان بتائین تحت تاثیر تنش آبی افزایش می یابد Brank and Tuma, (1993).

در این مطالعه به منظور القا مقاومت و کاهش سرما زدگی در درختان زردآلو، اثر مواد شیمایی و نحوه تغییر فعالیت آنزیمهای APX, GPX, CAT و پرولین و بتایین بررسی شده است.

مواد و روش ها

به منظور اثر پیش تیمار مواد ضد سرما بر خواص کمی و کیفی درختانزردآلو در شرایط تنش سرما این پژوهش در قالب طرح آماری بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. هر پلات آزمایشی شامل سه اصله درخت بود .تیمارهای آزمایش شامل: ۱- تیوفر ۲- کراپ اید ۳- سالیسیلیک اسید ۴. بیو بلوم و ۵- شاهد بود. به منظور ارزیابی فعالیت های آنزیمی ابتدا استخراج پروتئین صورت گرفت .اندازه گیری آنزیم پراکسیداز به روش Upadhyaya *et al.* صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۳۰۰۰ µl بافر، ۴۰ µl H_2O_2، ۳/۵۱ µl گوئیکول به عنوان الکترون دهنده و ۴۰ میل مول گوئیکول به عنوان الکترون دهنده و در ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد . سنجش آنزیم کاتالاز به روش Maehly & Chen استفاده شد به این منظور مخلوط واکنش شامل ۳۰۰۰ µl بافر، ۸/۵۱ µl H_2O_2، ۱۰ µl عصاره برای هر نمونه به کیووت اضافه شد و ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد. تغییرات آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش chen انجام شد .مخلوط شامل ۱۹۰۰ میکرولیتر بافر و ۳ میکر و لیتر H_2O_2 و ۱۰۰ میکرولیترآسکوربات و ۴۰ میکرولیتر عصاره برای هر نمونه بود و در ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه و ۱۰۰ میکرولیترآسکوربات و ۴۰ میکرولیتر عصاره برای هر نمونه بود و در ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱۲۰ ثانیه سولفوسالیسیلیک ۳٪ سائیده و محلول یکنواخت تهیه و عصاره حاصل در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به۲ میلی لیتر از محلول رویی ۲ میلی لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه و به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه در بن ماری جوشانده شدند. لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردیده و به هر یک از نمونه ها ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه و تکان داده شد. پس از چند ثانیه دو فاز در لوله ها تشکیل می شود که از فاز بالایی برای اندازه گیری غلظت پرولین استفاده گردید جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر تعیین شده و با استفاده از محلول استاندارد پرولین خالص رسم گردید . سنجش بتائین به روش گریو انجام شد و مقدار جذب آن در ۳۶۵ نانومتر قرائت گردید. صفات

ظاهری از جمله زمان شروع، ۱۰ ٪ و خاتمه گلدهی و ابعاد و وزن میوه و مغز نیز اندازه گیری شد. همچنین هر یک از درختان علامت گذاری شده میزان مقاومت گل ها نسبت به سرمای موجود در منطقه به صورت مشاهده ای بررسی و تعیین شد.

نتایج و بحث

سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نشان داد که در مورد آنزیم کاتالاز تفاوت معنی داری بین تیمارهای مختلف و شاهد وجود دارد و درمورد آنزیم GPX کمترین مقدار مربوط به نمونه شاهد بود که نشان دهنده این است که مواد ضد سرما باعث افزایش آنزیم گوایاکول پراکسیداز می شود. سنجش آنزیم آسکوربات پراکسیداز نشان داد که کمترین فعالیت آن مربوط به نمونه شاهد بود و تیمارها تاثیری زیادی در افزایش این آنزیم داشتند . بررسی در گیاه ذرت هم نشان داده است که SA صدمه سرما را در این گیاه در غلظت ۰/۵میلی مولار کاهش می دهد و موجب محافظت در مقابل تنش دماهای پایین می شود. آزمایش حاضر نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید موجب تغییر در فعالیت آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز، کاهش فعالیت کاتالاز شده و فعالیت گایاکول پراکسیداز بعد از یک روز تیمار با سالیسیلیک اسید افزایش می‌یابد (Janda ET AL.,??). بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار تیوفر وکمترین مربوط به نمونه شاهد بودکه نشان دهنده این است که مواد ضد سرما باعث افزایش پرولین در گیاه شده و مقاومت ایجاد می کنند (جدول ۱). در تفسیر نتایج می توان گفت که مواد ضد سرما باعث افزایش مقاومت گیاه و افزایش آنتی اکسیدانها برای مقابله با سرما می شوند که این آنتی اکسیدانها O_2 ایجاد شده در اثر تنش سرما را به H_2O_2 تبدیل می کنند و سپس آنرا به H_2O متابولیزه می کنند. وجود آسکوربات پراکسیداز علاوه برنقش در متابولیزه کردن H_2O_2 جهت احیاء آسکوربات نیز ضروری به نظر می رسد.

جدول ۱: مقایسه میانگین فعالیت آنزیمی و اسیدهای آمینه تحت سرما زدگی و مصرف مواد ضد سرما

تیمار	پرولین	گایاکول پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
T1:تیوفر	۰/۲۱۲۱۰ a	۰/۱۲۱۴ a	۰/۱۸۹۲ a	۰/۴۲۳۷ a
T2: کروپ اید	/۰۸۱۲۷ b	۰/۰۹۹۷۷ b	۰/۱۴۸۲ b	۰/۳۷۹۷ b
T3: سالیسیلیک اسید	۰/۱۴۵۱۲ ab	۰/۱۳۲۱۴ a	۰/۱۷۲۱ ab	۰/۳۸۹۲ b
T4: بیو بلوم	۰/۰۷۳۲۴ b	۰/۰۵۵۸۴c	۰/۱۲۱۰ c	۰/۴۹۹۸ a
T5: شاهد	۰/۰۵۲۱۴ c	۰/۰۲۶۳۱ d	۰/۰۹۷۴۵ d	۰/۲۴۱۵ c

در هر ستون، میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی داری می باشند.

هر چند به لحاظ متوسط وزن تک میوه ها ختلاف چندانی بین تیماره مشاهده نشد (جدول ۲) لیکن تیمار سالسلیک اسید نسبت به سایر تیمارها از نظر تعداد میوه در شاخه و شاخص باردهی شاخه (تعداد و وزن میوه) برتری معنی داری را نشان داد. شکل میوه (طول و عرض و نسیت این دو) در تیمار تیوفر با سایر تیمارها تفاوت بارزتری داشت.

جدول ۲- مشخصات و شاخص های رشد و میوه در تیمارهای اعمال شده در درختان زردآلو

تیمار	طول شاخه cm	تعداد میوه در شاخه	وزن میوه gr	طول میوه cm	عرض میوه cm	حجم میوه cm_3	وزن گوشت gr	وزن هسته gr	شاخص باردهی شاخه (تعداد میوه)	شاخص باردهی شاخه (وزن میوه)	نسبت گوشت به هسته	شاخص شکل میوه
T1:تیوفر	۲/۴۲ a	۴/۸۳۳ b	۲۹/۵۵ ab	۴/۳۸۳ a	3.233 ab	۲۵/۴۰ a	۲۶/۰۰ ab	۱/۹۰۰ a	۲/۰۵۰ b	۱۳/۵۲ a	۱۴/۳۰ ab	۱/۳۶۷ a
T2: کروپ اید	۲/۵۰۰ a	۳/۱۶۷ b	۲۴/۷۲ b	۴/۰۵۰ ab	۳/۰۶۷ ab	۱۹/۷۲ a	۲۳/۱۸ ab	۱/۵۱۷ a	۱/۳۶۷ b	۱۰/۲۸ a	۱۵/۲۰ ab	۱/۳۱۷ ab
T3: سالیسیلیک اسید	۲/۲۵۰ a	۱۵/۶۷ a	۳۹/۵۷ a	۳/۳۰۰ b	۲/۷۵۰ b	۲۱/۴۳ a	۲۰/۳۰ b	۱/۴۳۳ a	۷/۶۱۷ a	۱۸/۳۲ a	۱۳/۳۵ b	۱/۱۶۷ c
T4: بیو بلوم	۲/۰۸۳ a	۵/۳۳۳ b	۲۴/۵۳ b	۳/۹۰۰ ab	۳/۲۵۰ ab	۲۰/۸۳ a	۲۲/۸۰ ab	۱/۸۳۳ a	۲/۵۸۳ b	۱۱/۶۵ a	۱۱/۹۷ b	۱/۲۱۷ bc
T5: شاهد	۲/۰۸۳ a	۴/۳۳۳ b	۳۴/۸۸ ab	۴/۵۵۰ a	۳/۵۵۰ a	۲۵/۶۷ a	۳۳/۹۰ a	۱/۹۱۷ a	۲/۱۱۷ b	۱۷/۰۰ a	۱۷/۸۸ a	۱/۳۰۰ abc

در هر ستون، میانگین‌ها با حروف مشابه، فاقد اختلاف معنی داری می باشند.

منابع

۱. منصوری ده شعیبی، ر.، داوری نژاد، غ.، حکم آبادی، ح.، تهرانی فر، ع. ۱۳۹۰. ارزیابی تغییرات پرولین، پروتئین کلوقندهای محلول در طی مراحل فنولوزی جوانه گل ارقام پسته. نشریه علوم باغبانی.

2. Chen, P.W. and P.H. Li. 2002. Membrane stabilization by abscisic acid under cold aids proline in alleviating chilling injury in maize. Plant Cell Environ. 25:955-962.
3. Dat, J. F., Foyer, C. H. and Scott, I. M., 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in Mustard seedlings. Plant Physiol. 118: 1455–1461.
4. Ehyedi A .J., Yalpani N , Silvenman P . and Raskin I(1992). signal molecules in systemic plant resistance to
5. pathogens and pestes. Cell.70: 879-886.
6. Esashi Y., Wakabyashi S. , Tsukada Y. and sato H .S (1979). Possible involvement of ethylene –stimulated germination of Cocklebur seed . Plant Physiol.63:1039-1043.
7. Hausladen, A and alscher R, G.(1993).Glutathione- active oxygen in plants .In:Alscher R.g. and Hess J.L. (eds), Antioxidants in Higher Plants CRC Press, Boca Raton, pp.12-15
8. Janda, T., G. Szalai, I. Tari and E. Paldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (Zea mays L.) plants. Planta 208:175-180.
9. kundu, P. B. and Paul, N. K.(1997).effect of water stress on chlorophyll , prolin and sugar accumulation in rape (Brassica compestris L.). Bangladesh Journal of Botany, 26:83-85
10. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43:439–463.
11. Rodrigo, J. 2000. Spring frost in deciduous fruit trees morphological damage and flower hardiness. Sci. Hort. 85:155-173.
12. Scandalias.J.G. 1993. Oxygen stress and superoxise dismutase. Plant Physiol.101:7-12.
13. Senaratan. T.D., Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 30:157–161.
14. Yalpani N., Raskin I(1993). Salicylic acid: A systemic signal in plant disease resistance. Trend Microbiol. 1:88-92.

Anti-Forest Induction in Apticot Trees using Chemical Treatments in Qazvin Province

M.A. Nejatian[1*], M. Golmohammadi[2], V. Rasoli[3] and Sh. Hajivand[4]

1- Associate Professor, 2- Faculty member, 3 and 4- Assistant Professor in Department of Seed and Plant Improvement, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Qazvin, Iran

*Corresponding author: nejatianali@yahoo.com

Abstract

In many regions, increased cold hardiness of fruit trees is the most important issue of breeding. Resistance flower buds, leaf buds, and branches xylem (resistance of branches tissue) can determine the successful cultivation of fruit trees. The current research was conducted to evaluate the induction of antioxidant enzymes and resistance to forest on some quantitative and qualitative traits in apricot trees in Qazvin province. The study design was a randomized complete block with three replications and each plot consisted of three trees. The treatments were Tiofer, Crop Aid, Salisilic Acid, Bio bloom and control which were applied in three different times. The results showed that APX significantly reduced in all of the treatments but GPX was increased compared to control in different treatments. There were no significantly differences in the treatments for CAT enzyme. The highest proline is related to crop aid and salicylic acid treatment, so betaine was significantly increased in all of the treatments compared to control. There was no significant difference in fruit weight between treatments. Salisilic scid treatment showed a significant advantage in fruits number per fruiting branches and productivity index. However the treatments increased the forest tolerances in almond trees and fruit quality.

Keywords: Forest, Salisilic acid, Proline, Enzyme, Stress