تأثیر محلول‌پاشی سولفات روی و سولفات منگنز بر فعالیت برخی آنزیم‌های میوه پرتقال نافی (*Citrus sinensis* CV. *Navel*)

سارا خبازی[۱]، فرزین عبدالهی*[۲]، مصطفی قاسمی[۲]، سمیه رستگار[۲]
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی دانشگاه هرمزگان
[۲]اعضای هیئت‌علمی گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان
*نویسنده مسئول: farzin.abdollahi@yahoo.com

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی اثر تیمارهای قبل از برداشت سولفات‌روی و سولفات‌منگنز بر آنزیم‌های میوه پرتقال نافی به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای محلول‌پاشی شامل سولفات‌روی در چهار سطح صفر، ۲، ۴ و ۶ گرم در لیتر و سولفات‌منگنز در چهار سطح صفر، ۱،۲ و ۴ گرم در لیتر طی دو مرحله (۱۵ روز قبل از تمام‌گل و ۱۵روز بعد از تمام‌گل) روی درختان اعمال گردید. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در میوه‌های تیمارشده نسبت به شاهد بیشتر شده بود اما فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تغییری نداشت.چنین می‌توان گفت که، غلظت‌های ۲ و ۴ گرم در لیتر سولفات‌روی و غلظت ۱ گرم در لیتر سولفات‌منگنز معنی‌دار بوده است و هم‌چنین نتایج اثر متقابل آن‌ها نشان داد که غلظت‌های ۴ گرم سولفات‌روی به‌اضافه ۱ گرم سولفات‌منگنز، معنی‌دار بودند.

واژه‌های کلیدی: سولفات‌روی، سولفات‌منگنز، مرکبات، کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز

مقدمه

پرتقال نافی (*Citrus sinensis CV. Navel*) رقمی زودرس و بسیار کاربردی برای کشت در مناطق جنوب با کیفیت درونی بالا و طعم و مزه‌ی مناسب است، لذا استفاده از عناصر ریزمغذی در زمان مناسب منجر به بهبود کیفیت و افزایش محصول می‌گردد. روی یکی از عناصر بسیار مهم در رشد گیاه و تشکیل ساختمان گیاه است (Xiao.,2010). روی از عناصر ریزمغذی بسیار مهم در گیاه می‌باشد که برای تشکیل و تولید میوه مناسب با اندازه مطلوب مورد نیاز است (Hao et al.,2007). همچنین منگنز از دیگر عناصر غذایی کم‌مصرف می‌باشد که نقش اساسی در فرآیندهای گیاهی از جمله سیستم آنزیمی آرجناز (Argenaz) و فسفوترانسفراز (Phosphoteranspheraz) دارد(Mahamed et al.,1995).

کمبود روی در مرکبات باعث ایجاد میوه‌های کوچک، صاف و رنگ‌پریده با پوست نازک می‌شود و گوشت میوه تمایل به چوبی‌شدن، خشکی و بی‌مزگی دارد (Mohamed *et al.*,1995). کاربرد سولفات روی از طریق بهبود فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز در برگ، منجر به افزایش تولید زیست توده و عملکرد میوه در پرتقال می‌گردد (Hippler *et al.*, 2015). از طرف دیگر محلول‌پاشی درختان با ترکیب‌های دارای روی موجب افزایش مقدار آسکوربیک اسید و درصد آب میوه ارقام پرتقال می‌شود (Ahmad and Abbdel, 1995). آزمایشی که بر اساس تأثیر عنصر روی بر تشکیل میوه‌ی لیموترش انجام شد، نشان داد که مصرف روی به‌صورت محلول‌پاشی سولفات روی، باعث افزایش معنی دار تعداد و وزن میوه و در مجموع عملکرد آن نسبت به شاهد می‌گردد. در این آزمایش تیمار ۰/۴ درصد سولفات روی بهترین تیمار بود(Supriya *et al.*,1993). محلول‌پاشی درخت لیمو با غلظت ۰/۵ درصد سولفات روی باعث افزایش عملکرد و ویتامین C و کل مواد جامد محلول (TSS) و اسید کل شده است (Singh *et al.*,1989). محلول‌پاشی منگنز در درختان دارای کمبود، باعث افزایش معنی‌دار مواد جامد قابل‌حل کل در آب میوه ارقام مرکبات می‌شود (Quin, 1996).

بر این اساس به نظر می‌رسد که اعمال تغذیه‌ی مناسب در باغات و استفاده از عناصر روی و منگنز، با توجه به نقشی که در تعداد میوه و افزایش کیفیت درونی آن دارا است، می‌تواند راهکاری مؤثر در راستای بالا بردن عملکرد و افزایش کیفیت و کمیت محصول مرکبات باشد که مزایای اقتصادی زیادی دربر خواهد داشت (Mohamed *et al*., 1995). بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر تیمارهای قبل از برداشت سولفات‌روی و سولفات‌منگنز بر آنزیم‌های میوه پرتقال نافی در منطقه کازرون بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در باغ تجاری تحقیقاتی در منطقه کازرون از شهرستان‌های استان فارس در سال‌های ۱۳۹۴-۹۵ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. فاکتور اول شامل سولفات‌روی با غلظت‌های ۰، ۲و ۴و ۶ گرم در لیتر و فاکتور دوم سولفات‌منگنز با غلظت‌های ۰، ۱و ۲و ۴ گرم در لیتر با۳ تکرار بودند. برای این منظور تعداد ۴۸ اصله درخت ۸ ساله پرتقال رقم نافی(واشنگتن ناول)که در شرایط رشدی یکسان بودند به‌صورت تصادفی انتخاب شدند.استعمال خارجی تیمارها بر روی درختان پرتقال نافی به‌صورت محلول‌پاشی با محلول‌پاش ۲۰ لیتری در دو مرحله، نوبت اول ۱۵ روز قبل از تمام‌گل (۱۲ اسفند) و نوبت دوم ۱۵ روز بعد از تمام‌گل (۲۰ فروردین) انجام شد. در زمان رسیدن به بلوغ تجاری میوه‌ها در نیمه دوم آبان ماه از هر درخت حدود ۵ میوه به‌صورت تصادفی انتخاب و برداشت صورت گرفت و بلافاصله به آزمایشگاه باغبانی دانشگاه هرمزگان منتقل شدند.

مقدار ۰/۱ گرم از بافت‌گیاهی در هاون چینی سرد و ظرف یخ با ۱ میلی‌لیتر بافر استخراج هموژن شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی عصاره بدست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت سه آنزیم **کاتالاز، پراکسیداز** و **پلی فنل اکسیداز** مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز و پراکسیداز از روش(Chance and Maehly, 1995) و برای اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز، از پیروگالل به‌عنوان پیش ماده آنزیم استفاده شد(Kar and Mishra, 1976). میزان فعالیت آنزیمی (هر سه نوع آنزیم)، با استفاده از فرمول زیر و برحسب میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه محاسبه شد.

$$enzyme\ activity = \frac{\Delta OD \times \frac{100}{A}}{\varepsilon} \times B \div \frac{1}{c}$$

نتایج و بحث

این مطالعه نشان داد که غلظت‌های محلول‌پاشی شده سولفات‌روی و منگنز توانستند مقدار فعالیت **آنزیم کاتالاز** را نسبت به شاهد افزایش دهند. در بین سطوح مختلف سولفات‌روی، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در میوه‌های تیمار شده با غلظت‌های۲ با مقدار (۴/۸۴) و ۴ گرم در لیتر با مقدار (۴/۵۱) مشاهده شد و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد با مقدار (۳/۷۱) مشاهده گردید. همچنین در بین تیمارهای سولفات‌منگنز، بیشترین و کمترین مقدار فعالیت این آنزیم به ترتیب، مربوط به غلظت ۱ با مقدار (۴/۸۴) و شاهد با مقدار (۳/۶۲) بود. از طرف دیگر فعالیت این آنزیم در کاربرد همزمان ۴ گرم سولفات‌روی و ۱ گرم سولفات منگنز با مقدار (۵۵/۵) نسبت به شاهد با مقدار (۱/۷۰) افزایش یافت(جدول ۱). کاتالاز مهم‌ترین آنزیم غیرسمی است که با دیگر آنزیم‌ها در چرخه اسکوربات گلوتاتیون کار تصفیه ROS را بر عهده دارد. کاتالاز در پراکسی‌زوم سلول‌ها را از H_2O_2 به‌وسیله کاتالیز کردن آن و تجزیه آن به O_2 و H_2O حفاظت می‌کند(Xu and Tian, 2008).

نتایج نشان داد که بیشترین مقدار فعالیت **آنزیم پراکسیداز** در میوه‌های تیمار شده با سولفات‌روی در غلظت ۴ با مقدار (۰/۵۲) و کمترین در غلظت ۲ گرم در لیتر با مقدار (۰/۲۳) و شاهد با مقدار(۰/۳۲) مشاهده شد. در محلول‌پاشی سولفات‌منگنز بیشترین مقدار فعالیت این آنزیم در غلظت‌های۱ با مقدار (۰/۴۶) و ۲ گرم در لیتر با مقدار (۰/۳۷)و کمترین آن در تیمار شاهد (۰/۳۲) و غلظت ۴ گرم در لیتر (۰/۳۱) مشاهده شد. فعالیت این آنزیم در کاربرد همزمان ۴ گرم سولفات‌روی و ۱ گرم سولفات منگنز با مقدار(۱/۰۰) نسبت به شاهد با مقدار (۰/۱۳) افزایش یافت(جدول۱).

پراکسیدازها ازجمله آنزیم‌هایی به شمار می‌روند که نقش بسیار مهمی را در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی دارند. پراکسیدازها مسئول حذف مقادیر اضافی پراکسیدهیدروژن می‌باشند (Hayat & Ahmad,2007). فعالیت پراکسیداز باعث تولید یک قدرت اکسیداتیو برای ارتباط متقابل پروتئین‌ها و رادیکال‌های آزاد فنیل پروپانوئید می‌شود و درنتیجه باعث تقویت دیواره سلولی در برابر نفوذ قارچ‌ها می‌شود(Huchelhoven et al,1999).

طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها، دو نوع تیمار سولفات‌روی و منگنز تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نداشتند.

جدول ۱- اثر متقابل سطوح مختلف سولفات‌روی و منگنز بر میزان آنزیم‌های میوه پرتقال واشنگتن ناول

سولفات‌روی (گرم)	سولفات‌منگنز (گرم)	CAT (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه)	POD (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه)	PPO (میکرومول برگرم وزن تر در دقیقه)
۰	۰	۱/۷۰^{e}	۰/۱۳^{d}	۱/۸۰^{a}
۰	۱	۴/۵۰^{cadb}	۰/۳۰^{dbc}	۲/۱۶^{a}
۰	۲	۴/۸۸^{cab}	۰/۳۶^{dbc}	۲/۹۰^{a}
۰	۴	۳/۷۵^{cd}	۰/۴۷^{bc}	۲/۰۱^{a}
۲	۰	۴/۵۵^{cadb}	۰/۳۶^{dbc}	۲/۶۰^{a}
۲	۱	۵/۳۲^{ab}	۰/۱۷^{d}	۲/۵۴^{a}
۲	۲	۵/۰۸^{cab}	۰/۲۱^{dc}	۲/۴۷^{a}
۲	۴	۴/۴۱^{cadb}	۰/۱۶^{d}	۲/۰۱^{a}
۴	۰	۴/۲۹^{cadb}	۰/۳۸^{dbc}	۲/۰۰^{a}
۴	۱	۵/۵۵^{a}	۱/۰۰^{a}	۲/۸۱^{a}
۴	۲	۳/۷۴^{cd}	۰/۳۶^{dbc}	۲/۷۲^{a}
۴	۴	۴/۴۵^{cadb}	۰/۳۳^{dbc}	۲/۱۹^{a}
۶	۰	۳/۹۶^{cdb}	۰/۴۰^{dbc}	۲/۲۵^{a}
۶	۱	۴/۰۱^{cdb}	۰/۳۶^{dbc}	۱/۳۱^{a}
۶	۲	۳/۷۱^{cd}	۰/۵۵^{b}	۱/۹۶^{a}
۶	۴	۳/۴۱^{d}	۰/۲۹^{dbc}	۱/۶۳^{a}

منابع

Chance, B. and Maehly. A.C. 1995. Assay of peroxidases. Methods Enzymol. 11;755-764

HAO, Hu-lin., WEI.You-zhang, Xiao-e.YANG, FENG.Ying, WU.Chun-yong. 2007. Effects of Different Nitrogen Fertilizer Levels on Fe, Mn, Cu and Zn Concentrations in Shoot and Grain Quality in Rice (Oryza sativa). Rice Science, 2007, 14(4): 289-294.

Hayat. A. S & Ahmed. A, 2007, Salicylic acid, A Plant Hormone, Springer ISBN, pp: 1-200.

Huckelhoven. R, Fodor. J, Preis. C & Kogel. K.H, 1999,Hypersensitivecell death and papilla formation in barleyattacked bythe powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxidebut notwith salicylic acidaccumulation, Plant Physiology, 119:1251–1260.

Kar. M & Mishra. D, 1976, Polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence,journal of Plant physiology, 57:315-319.

Mohamed FA, Shraf ANM and Mohsen AM. 1995. Response of orange to foliar application of Manganese. Agric. Dep. of Soil and Water Res. Cario. Egypt.

Xiao-W.Z., Q.M.Lena, Q.Rong-Liang, T.Ye. 2010. Effects of Zn on plant tolerance and non-protein thiol accumulation in Zn hyper accumulator Arabis paniculata Franch. Environmental and Experimental Botany 70 (2011).

Xu. X & Tian. S, 2008, Salicylic acid aviated pathogen–induced oxidative stress in harvested sweet cherry fruit, Postharvest Biology and Technology, 49, 379-385.

Effect Of Micronutrient Spraying On Enzyme Activity Of Washington Novel Orange

Sara Khabazi1[1], Farzin Abdollahi[2], Mostafa Ghasemi[3] and Somaye Rastegar[4]
[1]MSc student of Horticultural Science Department, University of Hormozgan
[2]Assistant Professor of Horticultural Science Department, University of Hormozgan
[*]*Corresponding Author: farzin.abdollahi@yahoo.com*

Abstract
This study was to investigate the effect of pre harvest treatments of zinc and manganese sulfate on enzyme activity of Washington Navel orange fruit at harvest time as factorial experiment based on randomized complete block design with three replications designed. Spraying of zinc sulfate (0,2,4,6 g/lit) and manganese sulfate (0,1,2,4 g/lit) were performed in two stages, the first stage,15 days before full bloom and the second stage, 15 days after full bloom.Results indicated that spraying the trees increased catalase and peroxidase activity as compared to control. However, polyphenol oxidase activity did not differ. In this study the most effective treatments were 2 and 4 gr/lit zinc sulfate and 1 gr/lit manganese sulfate. Also results of interaction effect of treatment shown that the most effective combined treatment was 4 gr/lit zinc sulfate + 1gr/litmanganese sulfate.
***Key words*: Zinc sulfate. Manganese sulfate, Citrus, Catalase, Peroxidase, Polyphenol oxidase.**