نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۶۳۷-۶۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 623-637
ISSN: 2008 - 4730

بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین طی رکود جوانه گل در چند رقم گیلاس و آلبالو

اکبر انگوتی[1*]- جعفر حاجی‌لو[2]- فرهنگ رضوی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۲۷

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین در طی رکود جوانه گل گیلاس ارقام زودرس، سیاه شبستر، زرد مشهد و یک ژنوتیپ محلی از آلبالو در آزمایشگاه بیولوژی گلدهی و فیزیولوژی رشد و نمو گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. نمونه‌برداری از جوانه‌های درختان موجود در ایستگاه تحقیقاتی خلعت پوشان بصورت ماهانه انجام پذیرفت. وضعیت جوانه‌ها از نظر تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکساید دیسموتاز) در هر مرحله نمونه‌برداری مورد بررسی قرار گرفت. سرماهای تجمعی در هر یک از این تاریخ‌های نمونه‌برداری بر طبق مدل یوتا محاسبه گردید. همچنین تغییرات وزن تر جوانه‌ها در طول دوره رکود بصورت هفتگی ارزیابی و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تکرار تجزیه شد. نتایج نشان داد از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در طی رکود جوانه گل، اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد دیده شد. در سه آنزیم مذکور آلبالو دارای بیشترین و گیلاس رقم سیاه شبستر کمترین میزان را دارا بود بطوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیمی به ترتیب در ۳۶۰ و ۸۲۰ واحد سرمایی میزان دیده شد. از نظر میزان پرولین بین مراحل مختلف نمونه‌برداری و بین ارقام مورد مطالعه اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد. نتایج بیانگر آن است که رقم گیلاس زودرس دارای بیشترین میزان پرولین و آلبالو کمترین میزان این اسید آمینه را داشته است.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، رکود جوانه، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، مدل یوتا

مقدمه

توان تحمل به سرما بدون توقف یا القاء خواب امکان‌پذیر نخواهد بود که این خاصیت یکی از مراحل مهم در چرخه زندگی گیاهان مناطق معتدله محسوب می‌شود که در درختان از اواسط تابستان و قبل از ریزش برگ‌ها در پاییز شروع می‌شود. مطابق نظر برخی از محققین، خواب مرحله‌ای است که در آن بطور موقت رشد قابل مشاهده متوقف می‌شود (۳۷). تعریفی که در مورد خواب توسط محققین دیگر ارائه شده، عبارت است از ناتوانی مریستم و دیگر اندام-ها و سلول‌ها در از سر گیری رشد تحت شرایط مطلوب محیطی (۳۵). این دوره یکی از عوامل مهم در جلوگیری از بروز صدمات سرما در زمستان و بهار در مناطق معتدله می‌باشد. جوانه‌های درختان در این مناطق پس از ورود به مرحله خواب در زمستان، دماهای خیلی پایین را تحمل می‌کنند و صدمه نمی‌بینند ولی در صورت گرم شدن هوا از مقاومت آنها به شدت کاسته شده و به سرما حساس می‌شوند (۳۴). مطالعات مختلف در شرایط کنترل شده بر روی گیاهان جهت بررسی سازوکارهای داخلی موثر بر استراحت نشان داده است که در گیاهان هنگام ورود و خروج از این دوره تغییرات مختلفی در موادی همچون پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و هورمون‌ها رخ می‌دهد و عواملی مانند تغذیه و شرایط آب و هوایی در آن موثر می‌باشند (۱۴).

گیاهان به منظور مهار اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژنی از مکانیسم‌های دفاعی برخوردار می‌باشند (۲۹). آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌ها یا ترکیباتی هستند که به عنوان از بین برنده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند. این رادیکال‌ها باعث می‌شوند تا مولکول‌ها آسیب ببینند یا عملکرد خود را از دست بدهند که دفاع اولیه در برابر این تخریب‌های اکسیداتیو بر عهده آنتی اکسیدان‌هاست. در سلول‌های گیاهی اندامک‌هایی مانند کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم‌ها

۱ و ۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(*- نویسنده مسئول: Email:akbarangooti9396@gmail.com)
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.74475

تولید کننده‌ی اصلی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طی فرآیند فتوسنتز و تنفس می‌باشند. زنجیره انتقال الکترون در غشای تیلاکوئید مهمترین منبع تولید گونه‌های فعال اکسیژن هستند که سبب پراکسیداسیون[1] چربی‌های غشاء می‌گردد. گونه‌های اکسیژن فعال باعث تنش اکسیداتیو می‌شوند که این تنش در صورت شدید بودن منجر به آسیب به غشاء، پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها می‌شود (۴۳).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آیند (۱۲). فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های گیاهی غالباً در مواجهه با تنش‌های محیطی افزایش یافته و از این طریق گیاهان قادرند از خسارات رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده بکاهند (۱۹). آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به عنوان یک تیم دفاعی هستند که هدف مشترک آن‌ها دفاع در برابر اثرات مخرب گونه‌های فعال اکسیژنی می‌باشد (۱۵). اطلاعات در مورد فعالیت این سه آنزیم در طول نمو جوانه گل و میوه بسیار اندک است (۴۱). این سه آنزیم به صورت ایزوفرم‌های مختلف در یاخته‌ها ظاهر می‌شوند و ویژگی‌های متفاوت دارند و این گروه‌های فعال اکسیژن را از بین می برند (۲۹).

پرولین یک اسید آمینه آزاد می‌باشد که از اسیدی شدن جلوگیری کرده و تنش سلولی را کاهش می‌دهد و تجمع آن در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایجاد می‌شود (۲۰). این ماده به عنوان محافظی است که قادر به محافظت از پروتئین بوده و می‌تواند فعالیت آنزیم‌های مختلف را افزایش دهد (۳۸). تعدادی از محققین تغییرات پرولین را در جوانه‌های چند رقم زرد آلو طی فصل خواب بررسی و گزارش نمودند که مقدار پرولین در همه ارقام سیر صعودی را از ماه مهر تا اسفند داشته است (۲). ساده‌ترین روش تعیین نیاز سرمایی ثبت افزایش در وزن خشک و تر جوانه‌های گل در طول فصل دورمانسی و بعد از پیش‌رس کردن شاخه‌های یکساله در اتاقک رشد می‌باشد (۷). در این روش زمانی که افزایش ۳۰ درصدی در وزن تر جوانه‌های گل رخ داده و یا انتقال از مرحله A به B (شروع رشد قابل رویت در جوانه) در ۳۰ درصد جوانه‌های گل صورت پذیرد پایان دورمانسی در نظر گرفته می‌شود. انتقال از مرحله A به B و افزایش در وزن تر نتایج مشابهی را به همراه دارند ولی بعضی مواقع انتقال از مرحله A به B مدتی بعد از افزایش در وزن تر جوانه نمایان می‌شوند (۴۰).

گیاهان خزان‌دار خود را به شرایط نامساعد زمستانی (که از ویژگی‌های مناطق معتدله و سردسیری می‌باشد) وفق داده و با کاهش مواد محرک رشد و افزایش مواد بازدارنده رشد در درون خود، توقف رشد را سبب می‌شوند. در این حالت کلیه فعل و انفعالات بیوشیمیایی، جریان شیره نباتی و پتانسیل تنفسی به پایین‌ترین سطح خود تنزل یافته و رشد و نمو گیاهی نسبتا متوقف می‌شود (۱۶). با توجه به اینکه اکثر مناطق آذربایجان دارای آب و هوای سرد می‌باشد، انتخاب و کاشت ارقامی از گیلاس که دارای نیاز سرمایی و گرمایی بالا هستند مهم به نظر می‌رسد. در این راستا به منظور تعیین زمان برآورد نیاز سرمایی و ارتباط بین تغییرات میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین با زمان برآورد شدن نیاز سرمایی، این پژوهش انجام یافت.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی خلعت پوشان و آزمایشگاه بیولوژی گلدهی و فیزیولوژی رشد و نمو میوه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. جوانه‌های گل مورد نیاز برای انجام آزمایشات از ارقام تجاری گیلاس سیاه شبستر، زرد مشهد و زودرس و یک ژنوتیپ محلی آلبالو انتخاب شدند بطوری که هر ماه یک بار از جوانه‌های مورد نظر به تعداد کافی برداشت شده (اولین نمونه‌برداری در آبان ۹۴) و ابتدا با استفاده از اسکارپل فلس‌های اطراف جوانه‌ها جدا شدند، به‌طوری که کمترین آسیب مکانیکی به آنها وارد شود و تا شروع انجام آزمایشات در داخل فویل آلومینیومی در دمای ۸۰- سانتی‌گراد درون فریزر نگهداری شدند. استخراج آنزیم‌های مورد بررسی با استفاده از بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH= ۷ حاوی ۰/۲درصد پلی وینیل پیرولیدون[2] (PVP)، در روی یخ و هاون چینی انجام داده شد. به ازای یک گرم ماده تر سه میلی‌لیتر بافر استخراج استفاده شد. محلول هموژن شده با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (مدل5702 ساخت کشور آلمان) شد. بعد از اتمام سانتریفیوژ، عصاره‌ی رویی را جدا کرده و جهت سنجش آنزیم‌های CAT، POX، SOD و پروتئین محلول مورد استفاده قرار گرفتند.

تعیین نیاز سرمایی

جهت برآورد نیاز سرمایی از هر رقم 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 (۳ آبان ۹۴) اتفاق می‌افتاد و سپس با فاصله هفت روز یک بار تا زمان رفع نیاز سرمایی این عمل تکرار شد. مرحله نموی جوانه‌های گل بعد از ۱۰ روز قرارگیری در اتاقک رشد مورد ارزیابی قرار گرفت. زمانی که ۳۰ درصد جوانه‌ها در مرحله B-C فلیکینگر[3] (معیار تعیین

1 - Peroxidation

2 - Poly Vinil Pyrrolidone

3 - Fleckinger

مرحله فنولوژیکی جوانه‌ها) بودند به عنوان رفع زمان نیاز سرمایی در نظر گرفته شد. برآورد میزان تجمع سرمایی و نیاز سرمایی از دماهای استحصال شده از دستگاه ترموگراف (مدل-EXTECH RH520A 240 ساخت کشور آمریکا) که در باغ نصب شده بود، در هر ماه توسط مدل یوتا[1] محاسبه گردید. این مدل یک روش اندازه‌گیری نیاز سرمایی جوانه می‌باشد که مطابق این روش دماهای زیر ۱/۴ تاثیری در رفع نیاز سرمایی ندارد. نحوه محاسبه نیاز سرمایی به این صورت بود که دمای هر ساعت، از شروع آزمایش تا پایان رکود جوانه‌ها، توسط دستگاه ترموگراف تعیین و با توجه به ارزش خاصی که برای هر دما در مدل یوتا لحاظ می‌شود، میزان نیاز سرمایی جوانه‌ها محاسبه گردید (۱۱).

سنجش فعالیت کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC: 1.11,1,6) به وسیله کاهش در جذب پراکسیدهیدروژن در ۲۴۰ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر[2] اندازه‌گیری شد. یک یونیت فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تجزیه ۱ میکرولیتر سوبسترای پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (۲۳).

سنجش فعالیت پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز (POX, EC: 1.15.1.1) به روش تست گایاکول[3] و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. تتراگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. یک یونیت فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تشکیل ۱ میکرولیتر تتراگایاکول در یک دقیقه در میلی گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (۴۲).

سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD, EC:1.11.1.7) به روش ممانعت واکنش وابسته به $O_2^{\cdot-}$ توسط آنزیم اندازه‌گیری شد. در این روش سوپراکسید به روش فتولیز ریبوفلاوین[4] تولید می‌گردد. سپس $O_2^{\cdot-}$، NBT[5] را به ترکیب ارغوانی دی فرمازان[6] احیاء می‌کند. این روش بر اساس توانایی سوپر اکسید دیسموتاز در ممانعت از احیاء NBT می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT می‌شود. برای ثبت فعالیت این آنزیم میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد (۴۴).

اندازه‌گیری غلظت پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (۸) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌های استخراج شده در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل UV-2100 ساخت کشور آمریکا) ثبت گردید (۷).

اندازه‌گیری وزن جوانه‌ها

برای برآورد وزن تر در هر رقم ۴ تکرار و در هر تکرار ۵ جوانه از قسمت‌های مختلف شاخه انتخاب شدند، سپس وزن تر هر تکرار بطور جداگانه توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و بعد از قرارگیری شاخه‌ها در اتاقک رشد به مدت ۱۰ روز، مجددا وزن تر جوانه‌ها اندازه‌گیری شد. در آماده‌سازی جوانه‌ها برای توزین، دقت بر این بود که جوانه‌های سالم و طبیعی به صورت تصادفی انتخاب شوند. اولین نمونه‌برداری در تاریخ ۳ آبان صورت گرفت و با فاصله ۷ روز تا مرحله اتمام رکود انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری مورد استفاده در تعیین نیاز سرمایی طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار (۴ جهت جغرافیایی) بود. داده‌های مربوط به سنجش آنزیمی و پرولین بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند بطوری که ارقام به عنوان فاکتور اول و زمان به عنوان فاکتور دوم مد نظر بود. نتایج توسط نرم افزار SPSS (نسخه۲۲) صورت گرفت و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد و نمودارها توسط نرم افزار اکسل (۲۰۱۳) رسم گردید.

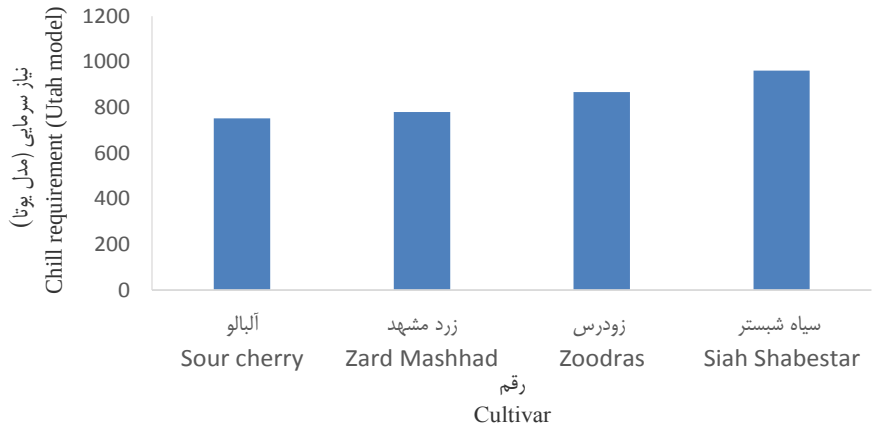
نتایج و بحث

اثر تیمارها بر متغیرهای اندازه گیری شده

نیاز سرمایی

براساس مدل یوتا، نیاز سرمایی آلبالو و گیلاس ارقام زرد مشهد، زودرس و سیاه شبستر به ترتیب ۷۵۲، ۷۸۰، ۸۶۷ و ۹۶۱ محاسبه شد (شکل۱). متفاوت بودن نیاز سرمایی ارقام گیلاس و آلبالو را سایر دانشمندان نیز در مطالعات خود گزارش نموده‌اند.

1 - Utah
2 - Spectrophometer
3 - Guaiacol
4 - Ribiflavin
5 - Nitro Blue Tetrazolium Chloride
6 - Diformazan



شکل۱- میزان نیاز سرمایی جوانه‌های گل ارقام مورد مطالعه زردآلو بر حسب مدل یوتا

Figure 1- Chill requirement of flower buds for apricot cultivars according to Utah model

جدول۱- تجزیه واریانس اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری بر میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز، پرولین در جوانه گل ارقام گیلاس و آلبالو

Table 1- Variance analysis of cultivar and sampling date on the activity level of superoxide dismutase, catalase, peroxidase and proline in flower buds of cherry and cherry cultivars

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS			
		کاتالاز CAT	پراکسیداز POX	سوپراکسید دیسموتاز SOD	پرولین Proline
رقم Cultivar	**3**	**339.604****	**0.015****	**29.17****	**0.014****
تاریخ نمونه برداری Date of sampling	4	1368.720**	0.038**	43169.1**	0.029**
رقم× تاریخ نمونه برداری Date of sampling×Cultivar	12	42.623**	0.002**	27.56**	0.002**
اشتباه آزمایشی Error	60	1.793	0.01	0.84	1.33

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

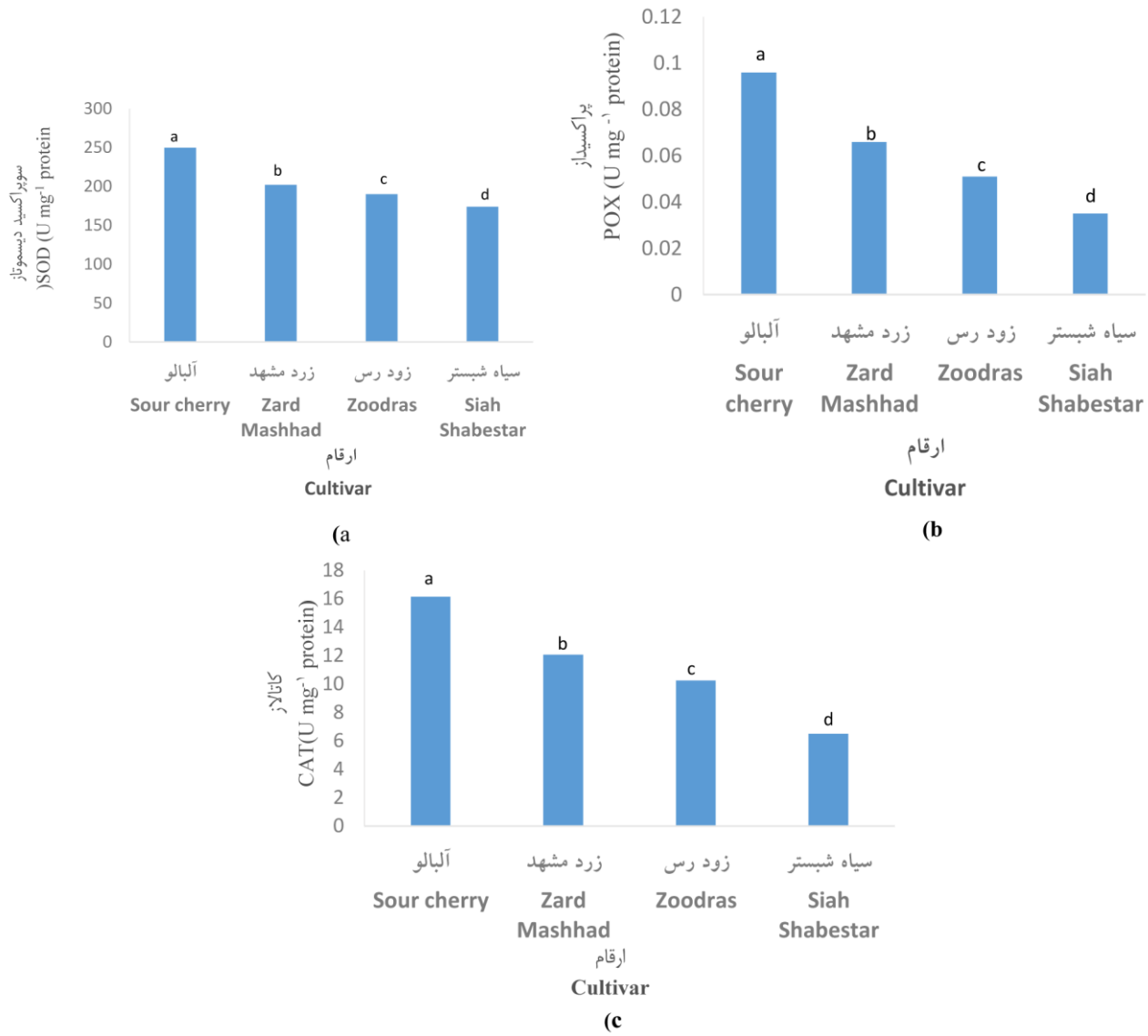
** Significant at 1% of probability level

به عنوان مثال عده‌ای از محققین نیاز سرمایی ۷ رقم گیلاس را با مدل‌های مختلفی همچون تعداد ساعات زیر۷ درجه سانتی‌گراد، مدل یوتا و مدل واحدهای سرمایی متغیر اندازه‌گیری و گزارش کردند که نیاز سرمایی ارقام بین سال‌های مختلف اختلاف چندانی ندارد، در حالی که اختلاف معنی‌داری بین نیازهای سرمایی ارقام مشاهده شد. نیازهای سرمایی این ارقام بر اساس مدل یوتا بین ۳۹۷ تا ۱۰۰۱ واحد سرمایی گزارش شد، به گونه‌ای که ارقام کریستوبالینا[1] و بروکس[2] زودگل‌ترین ارقام و با کمترین نیاز سرمایی معرفی شدند در حالی که رقم ماروین[3] با دارا بودن بالاترین ارزش سرمایی به عنوان دیرگل‌ترین رقم گزارش گردید. همچنین ارقام بورلات[4]، نیواستار[5] و سامرست[6] نیاز سرمایی حد واسطی را دارا بودند (۳).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که از نظر مقادیر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بین ارقام و زمان‌های مختلف نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۱). میانگین میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ارقام مورد مطالعه در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری بر اساس تجمع نیاز سرمایی در شکل ۲a نشان داده شده است.

1- Cristoballina
2- Brooks
3- Marvin
4- Burlat
5- New star
6- Samerest



شکل ۲- میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بین ارقام مورد مطالعه آلبالو و گیلاس: a) سوپراکسیددیسموتاز b) پراکسیداز c) کاتالاز.

Figure 2- The average activity of antioxidant enzymes among sweet and sour cherry cultivars a) Superoxide dismutase b) Peroxidase c) Catalase (DMRT, $p \leq 0.01$).

گیلاس رقم سیاه شبستر با بیشترین نیاز سرمایی، کمترین میزان فعالیت آنزیمی و زرد مشهد و زودرس ارقام حد واسط از نظر فعالیت آنزیمی بودند. همچنین آلبالو که کمترین نیاز سرمایی را داشت، بیشترین میزان فعالیت آنزیم را از خود نشان داد (جدول ۲) که این موضوع با نتایج برخی از محققین در مورد زردآلو منطبق است. این محققین بیان نمودند که در زرد آلو، رقم با نیاز سرمایی پایین دارای بالاترین فعالیت آنزیمی است (۶).

البته چون آلبالو و گیلاس از دو گونه متفاوت هستند، می‌تواند دلیل دیگری مبنی بر اختلاف فعالیت آنزیمی آلبالو و ارقام گیلاس باشد. تجمع متابولیت‌ها و تغییر در فعالیت آنزیم‌ها از جمله پراکسیداز ممکن است مربوط به پتانسیل و جنس گیاه برای مقابله با اثرات مضر تنش‌های محیطی در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی باشد (۴). همچنین نوع پایه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات بیوشیمیایی را در انگور رقم تامسون سیدلس[1] تغییر می‌دهد (۲۲).

1 - Tomoson seedless

جدول ۲- تغییرات فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو در طی بازه زمانی رکود جوانه گل

Table 2- Changes of superoxide dismutase and peroxidase enzyme activities in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during flower bud dormancy period

رقم Cultivar	تجمع سرمایی Chill Accumulation (CU)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز SOD Activity (U/mg protein)	فعالیت پراکسیداز POX Activity (U/mg protein)
آلبالو Sour cherry	369	600 a	0.231a
	541	280 e	0.11d
	653	175 i	0.067f
	820	80 q	0.03k
	963	150.3m	0.056g
زرد مشهد Zard Mash-had	369	484.8 b	0.153b
	541	242.4f	0.073e
	653	133.3k	0.046h
	820	64.64 r	0.021 l
	963	114 o	0.039 i
زودرس Zoodras	369	457.32 c	0.121 c
	541	218.8 g	0.067 f
	653	133.3 j	0.035 j
	820	60.8 s	0.016 m
	963	121.2 n	0.03 k
سیاه شبستر Siah Shabestar	369	417.6 d	0.087 e
	541	194.8 h	0.057 g
	653	121.8 l	0.041 h
	820	55.6 t	0.011 n
	963	104.4 p	0.022 l

حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد طبق آزمون دانکن می باشد.

.Non-identical letters indicate significant difference at 1% probability level according to Duncan test

فعالیت آنزیم پراکسیداز

از نظر مقادیر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در بین ارقام و زمان های مختلف نمونه برداری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۱). میانگین میزان فعالیت پراکسیداز در ارقام مورد مطالعه در تاریخ‌های مختلف نمونه برداری نشان می‌دهد که آلبالو با کمترین نیاز سرمایی، بیشترین میزان فعالیت آنزیمی و همچنین گیلاس رقم سیاه شبستر با بیشترین نیاز سرمایی کمترین این میزان را داراست (شکل 2b و جدول ۲) که نتایج مشابه این آزمایش را برخی از محققین در مورد زردآلو بدست آورده‌اند (۶). پراکسیدازهای گیاهی در چرخه فعالیت معمول خود، کاتالیزکننده احیاء H_2O_2 هستند . این آنزیم مشابه کاتالاز، منجر به شکستن H_2O_2 می‌شود ولی برخلاف کاتالاز به یک اهدا کننده هیدروژن نیاز دارد. مطالعات پیرامون این آنزیم به طور قابل ملاحظه‌ای انجام شده و در حال حاضر نیز در حال انجام است. تمامی محققینی که بر روی این

آنزیم تحقیق می‌کنند، همگی معتقد هستند که تعیین دقیق نقش فیزیولوژیک این آنزیم بسیار مشکل است و هنوز نیازمند مطالعات و تحقیقات بیشتر است (۲۸). دلایل عدم موفقیت در تعیین نقش دقیق پراکسیدازها را می‌توان در وجود تعداد زیاد ایزوآنزیم‌ها در گیاهان، اختصاصی نبودن سوبستراهای مختلف برای هر یک از این ایزوفرم‌ها، عدم وجود یک ارتباط دقیق بین ساختار و عملکرد (علی رغم وجود ۴۰ الی ۶۰ درصد شباهت در ترادف آمینواسیدی) و همچنین عدم تلاش مستمر برای مطالعه ویژگی و شرایط واکنش این آنزیم دانست (۱۷).

اثر متقابل رقم در تاریخ نمونه‌برداری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در جدول (۲) آمده است، بطوریکه آلبالو ۳۶۹- واحد سرمایی دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با میانگین ۰/۲۳۱ و گیلاس رقم سیاه شبستر ۸۲۰- واحد سرمایی با میانگین ۰/۰۱۱ کمترین این میزان را داراست. در بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز در شاخه‌های درخت راش در طول یک سال حداکثر فعالیت آنزیم پراکسیداز در ماه نوامبر یعنی زمانی که درخت برای سرمای زمستانه آماده می‌شود مشاهده شد (۴۶). همچنین تحقیقات انجام گرفته بر روی جوانه‌های زردآلو نشان داد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی فصل سرما دارای اختلاف معنی‌دار بوده بطوریکه فعالیت این آنزیم در طی فصل سرد (آذر و دی ماه) روند کاهشی را نشان داده است (۱۳). در این راستا، نتایج بررسی در چند رقم زرد آلو مشخص کرد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در ابتدا بالا بوده و به تدریج با افزایش سرما و ورود جوانه به مرحله خواب عمیق کمترین فعالیت آنزیم مشاهده شد و پس از آن در مرحله شکستن خواب یک افزایشی در فعالیت این آنزیم دیده شد که با نتایج حاصل از این پژوهش هم راستاست (۳۸). در تحکیم بیشتر این مدعا می‌توان به نتایج تعدادی از محققین بر روی زردآلو اشاره نمود. این محققین طی تحقیقی که روی جوانه‌های گل دو رقم کانینو[1] و پولونایس[2] داشتند، تغییراتی را در فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول فصل سرما مشاهده کردند. فعالیت آنزیم در طول خواب عمیق در هر دو واریته پایین بود ولی بعد از طی این دوره فعالیت آن افزایش یافت، اما سطوح فعالیت آنزیم در این دو رقم متفاوت بود، بطوریکه رقم کانینو با نیاز سرمایی پایین، افزایش فعالیت آنزیم را همزمان با پایان دورمانسی نشان داد. پایین‌ترین فعالیت آنزیمی در واریته با نیاز سرمایی بالا (پولونایس) مشاهده شد (۶).

در همه ارقام در اواخر مرحله رکود و مقارن با شکسته شدن خواب جوانه‌ها افزایش مجدد در فعالیت آنزیم پراکسیداز اتفاق افتاده است که این پدیده بی‌شباهت با نتایج برخی از محققین نیست. در این راستا در بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز در جوانه‌های چندین رقم از پسته در طول دوره خواب و بعد از خواب مشخص شد که افزایش فعالیت پراکسیداز در اکثر ارقام در مرحله نیش زدن جوانه‌ها (مرحله شکوفایی) رخ می‌دهد که بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در این مرحله مربوط به رقم کله قوچی بود که علت این امر بدلیل پایین بودن نیاز سرمایی این رقم است (۳۱). همچنین عده‌ای از محققین گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در جوانه‌های گل سیب رقم رد دلیشز در مرحله خواب پایین بوده سپس در طول متورم شدن جوانه به شدت افزایش یافت به گونه‌ای که در مرحله نیش زدن جوانه میزان فعالیت این آنزیم به ۲ الی ۵ برابر رسید (۱).

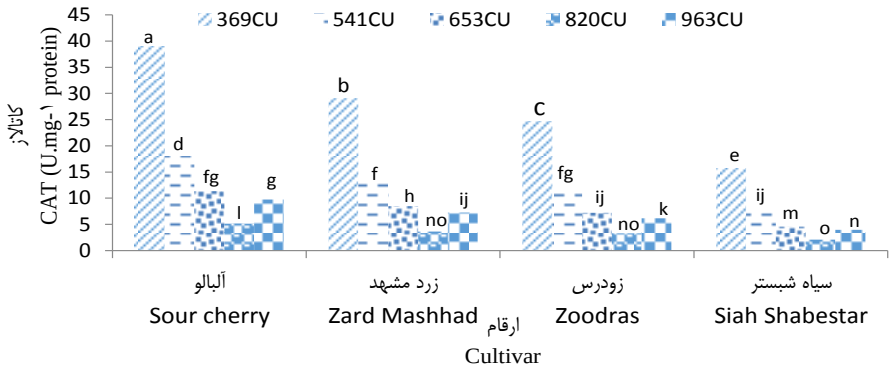
فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف آماری را طی فصل سرما نشان داد (جدول ۱). همانند دو آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز، ، فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در آلبالو بیشترین و برای گیلاس رقم سیاه شبستر کمترین است (شکل ۲c). تفاوت در گونه و البته تفاوت در نیازهای سرمایی این ارقام را می‌توان دلیل این تفاوت بیان کرد. از نظر مقادیر فعالیت آنزیمی در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری نیز به مانند دو آنزیم قبلی، اختلافی آماری وجود دارد. با سرد شدن هوا و به خواب رفتن جوانه‌ها در خواب، روند کاهشی در فعالیت این آنزیم دیده می‌شود (شکل۳). کاهش در فعالیت آنزیم کاتالاز همزمان با شروع دوره رکود و سپس افزایش در فعالیت این آنزیم (در زمان شکستن خواب جوانه) در جوانه‌های زردآلو، در مطالعات برخی از محققین دیده می‌شود (۱۳و۳۹). کاتالاز که عمدتا در پراکسی‌زوم حضور دارد، H_2O_2 را به O_2 و H_2O تبدیل می‌کند. این آنزیم همچنین منجر به حذف الکترون‌هایی می‌شود که در تولید $O^{\cdot-}$ نقش دارند (۹). گفته می‌شود که در فرایند اکسیداسیون پلی‌آمین، H_2O_2 تولید می‌شود (۵). بیوسنتز و اکسیداسیون پلی‌آمین در طول نمو جوانه گل شدید است. علت افزایش کاتالاز در این مراحل می‌تواند جلوگیری این آنزیم در مهار و ممانعت از تولید H_2O_2 باشد (۱).

فعالیت کاتالاز طی تیمار با مواد شکننده دورمانسی کاهش یافت که این نتایج نشان از یک رابطه علت و معلولی بین خواب و فعالیت کاتالاز است (۳۰). گزارش شده است که فعالیت آنزیم کاتالاز در جوانه انگور در ماه اکتبر به حداکثر خود رسیده و پس از آن در عرض کمتر از ۳ ماه، فعالیتش به نصف کاهش یافت. کاهش در فعالیت آنزیم همزمان با کاهش دما در فصل زمستان بود. همسو با این نتایج، عده‌ای از محققین طی پژوهشی فعالیت آنزیم کاتالاز را در جوانه‌های گل رقم رد دلیشز بررسی و گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در مرحله خواب عمیق پایین می‌باشد که رفته رفته با متورم شدن جوانه فعالیت آن افزایش می‌یابد (به ۲ الی ۵ برابر) (۱). همچنین فعالیت

1 - Canino
2 - Polonais

کاتالاز در *Fagus Oriyentalis* به منظور تعیین ارتباط بین آنزیم‌ها و دوره خواب و فصل رشد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت که 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 (۴۶).

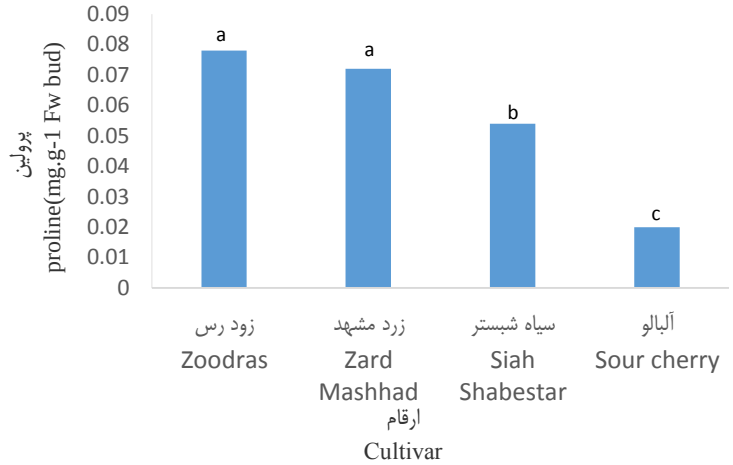


شکل۳- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو با افزایش تجمع سرمایی

Figure 3- Catalase activity changes in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during the increasing of chill accumulation (DMRT, *p≤0.01*).

غلظت پرولین

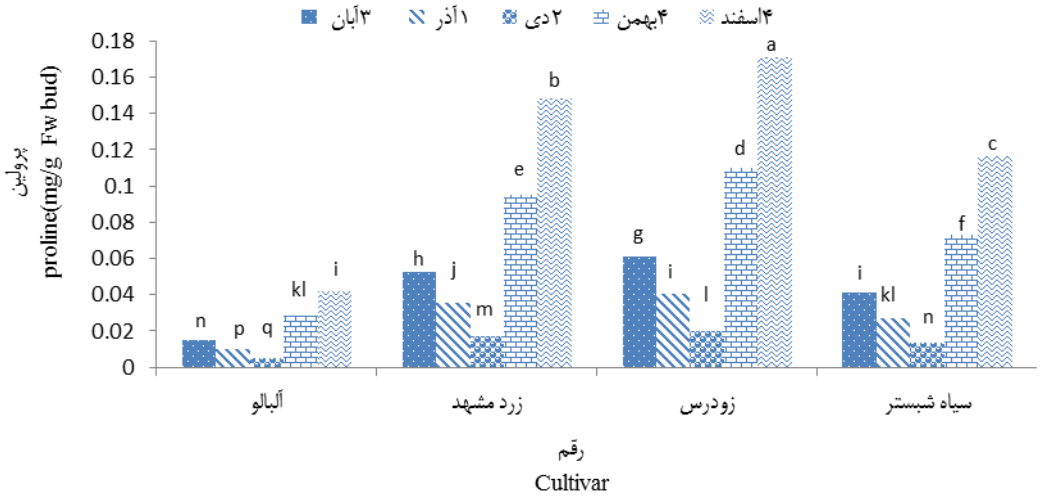
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱درصد از نظر وجود پرولین آزاد در بین ارقام مورد بررسی نشان داد (جدول ۱). با توجه به نتایج به دست آمده، بین رقم گیلاس زرد مشهد و زودرس اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، در حالی بین این دو رقم و رقم گیلاس سیاه شبستر و آلبالو اختلاف معنی‌داری دیده شد. رقم گیلاس زودرس بیشترین و آلبالو کمترین میزان پرولین آزاد را دارا می‌باشد (شکل۴).



شکل٤- مقدار پرولین در جوانه‌های ارقام مورد مطالعه گیلاس و آلبالو

Figure 4- Proline content in buds of sour cherry and cherry cultivars (DMRT, *p≤0.01*).

اثر متقابل رقم در تاریخ نمونه‌برداری بر میزان پرولین آزاد نشان می‌دهد که کمترین میزان پرولین آزاد در آلبالو –۲ دی با میانگین ۰/۰۰۵ و بیشترین این میزان در رقم زودرس–۴ اسفند با میانگین ۰/۱۷۱ دیده شد (شکل ۵).



شکل۵- تغییرات میزان پرولین در جوانه‌های گل ارقام گیلاس و آلبالو طی بازه زمانی رکود جوانه گل

Figure 5- Changes in proline content in flower buds of sweet and sour cherry cultivars during the period of flower bud dormancy (DMRT, $p\leq0.01$).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رقم و تاریخ نمونه‌برداری بر وزن تر جوانه‌های گل گیلاس و آلبالو طی تامین نیاز سرمایی

Table 3- Variance analysis of cultivars and sampling date on fresh weight of sweet and sour cherry flower buds during chill requirement supply

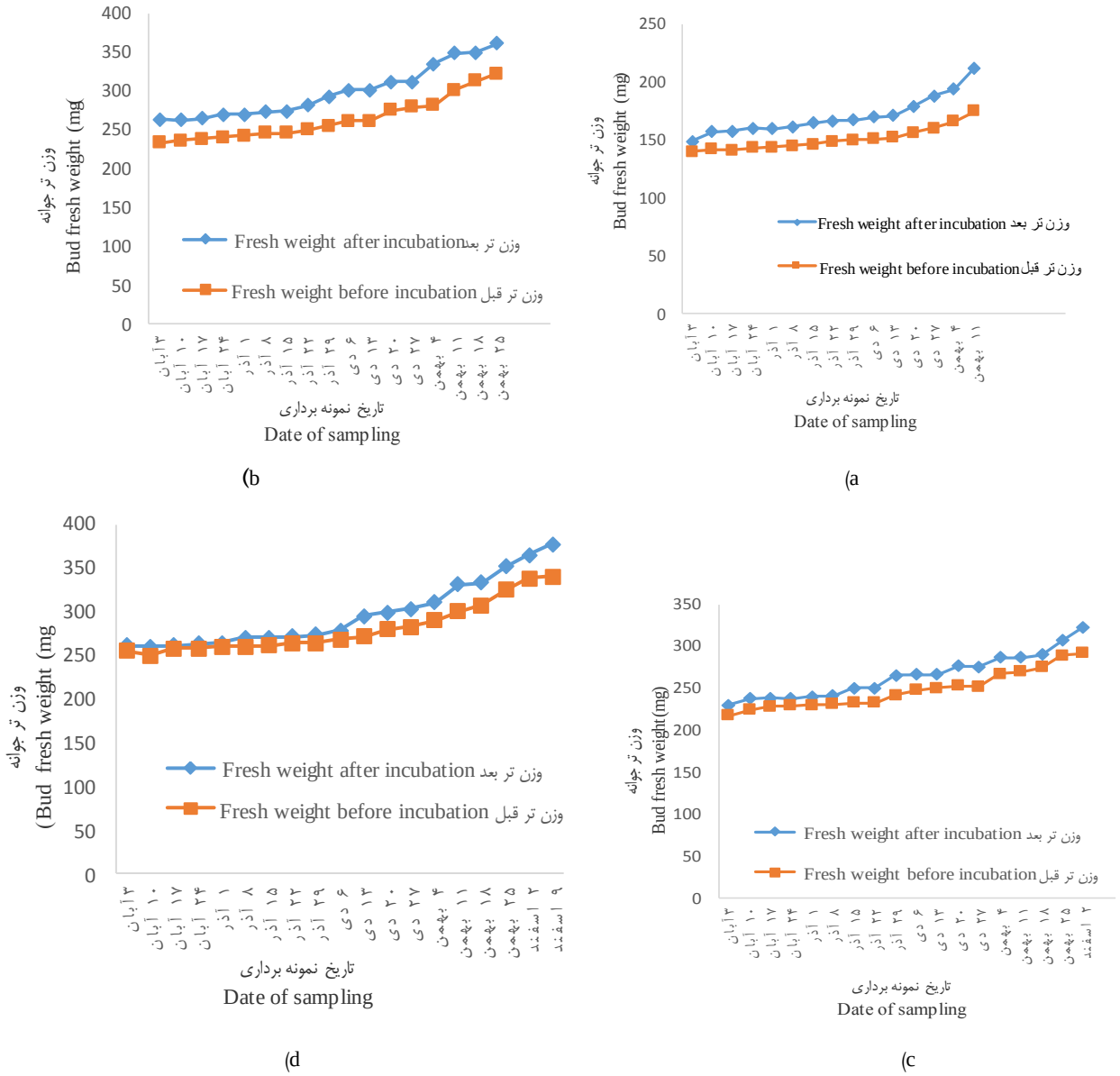
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات وزن تر MS Dry weight	
		قبل قرارگیری در اتاقک رشد Before including in growth chamber	بعد قرارگیری در اتاقک رشد After including in growth chamber
تکرار Replication	3	5412.4 ns	212.5 ns
رقم Cultivar	3	0.004**	0.001**
اشتباه آزمایش ۱ Error1	9	1214.7	20341.3
تاریخ نمونه‌برداری Date of sampling	18	0.001**	0.06**
رقم×تاریخ‌نمونه برداری Cultivar× Date of sampling	54	4283.5 ns	1213.5 ns
اشتباه ۲ Error2	228	303.6	4123.4

** و ns به ترتیب معنی‌دار و غیر معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

** and ns significant and non-significant at 1% probability level, respectively

مشاهده می‌شود که مقدار پرولین تا ۲دی ماه کاهش می‌یابد و سپس بعد از این تاریخ روند افزایشی در مقدار این اسمولیت رخ می‌دهد. تحقیقات انجام شده بر روی زردآلو و هلو نتایج حاصل از پژوهش حاضر را تائید می‌کنند، زیرا مشابه این الگوی تغییر پرولین در آن‌ها نیز دیده شده است (۲۵). عده‌ای از محققین با اندازه‌گیری پرولین درختان سیب در طول سال‌های مختلف نشان دادند که مقدار

پرولین آزاد در طول خواب در حالت حد واسط قرار دارد (۲۴). همسو با این نتایج طی پژوهشی تغییرات پرولین آزاد در طی مراحل فنولوژی جوانه گل چندین رقم پسته ارزیابی و گزارش شد که تغییرات پرولین در بین ارقام، بین زمان‌ها و رقم در زمان نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری دارد و پرولین در مرحله باز شدن گل‌ها نسبت به دوره‌های قبل خود (از بعد از ریزش برگ‌ها تا متورم شدن) در ارقام اکبری، احمدآقایی روند افزایشی معنی‌داری داشته که این امر به خاطر تبدیل پرولین از فاز ذخیره‌ای به فرم غیر ذخیره‌ای و نیز فرم‌های دیگر بالاخص فرم قابل مصرف گیاه می‌باشد (۲۷).



شکل۶- تغییرات وزن تر جوانه گل ارقام گیلاس و آلبالو قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد a) آلبالو b) زرد مشهد c) زودرس d) سیاه شبستر

Figure 6- Changes in the fresh weight of the sweet and sour cherry flower buds before and after incubation in the growth chamber: a) Sourcherry b) Zard Mash-had c) Zoodras d) Siah Shabestar

وزن جوانه‌ها

بین ارقام مختلف از نظر وزن تر جوانه‌ها، قبل از قرارگیری در اتاقک رشد و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد، اختلاف آماری در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. همچنین در هر رقم در تاریخ‌های مختلف

نمونه‌برداری، وزن تر جوانه‌ها قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد افزایش نشان می‌دهد. به طوری که اختلاف بین تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری برای هر دو صفت مذکور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

همان‌طور که در شکل۶ (a وb، c، d) مشاهده می‌شود افزایش وزن تر برای آلبالو و ارقام گیلاس زرد مشهد، زودرس و سیاه شبستر به ترتیب ۲۵ ،۲۷ ، ۳۱/۵ و ۳۳ درصد بود.

بیشترین میزان وزن تر قبل و بعد از قرارگیری در اتاقک رشد در رقم سیاه شبستر و کمترین این میزان در آلبالو مشاهده شد. با دقت در نمودارها، مشاهده می‌شود که بیشترین این میزان در نمونه‌برداری آخر می‌باشد که نشان‌دهنده‌ی رشد تدریجی جوانه‌ها در زمستان و همچنین رشد جزئی در زمان دورمانسی است که به تدریج با نزدیک شدن جوانه‌ها به زمان رفع نیاز دورمانسی و خروج از مرحله آندودورمانسی بیشتر می‌شود که این نتیجه با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد (۳۳و۱۸). پاسخ متفاوت ارقام به افزایش وزن جوانه‌ها در زمان رفع نیاز سرمایی توسط محققین مختلف گزارش شده است. عده‌ای از محققین در زردآلو افزایش ۳۰-۲۵ درصد در وزن تر و خشک را معیار ارزیابی برآورد نیاز سرمایی قرار داده و بیان کردند که افزایش در وزن تر و خشک بسته به نیاز سرمایی ارقام مورد مطالعه می‌تواند دیرتر یا زودتر مشاهده گردد. همچنین این دانشمندان بیان نمودند که قابل اعتمادترین معیار جهت ارزیابی پایان آندودورمانسی افزایش در وزن تر و خشک جوانه‌هاست (۱۸). در این آزمایش در همه ارقام مورد مطالعه، افزایش در وزن تر و خشک جوانه‌ها همزمان با رفع نیاز سرمایی بود. منطبق بودن افزایش وزن جوانه‌ها با پایان دورمانسی در اغلب ارقام گیلاس توسط عده‌ای از محققین گزارش شده است و این دانشمندان تنها در رقم روبی افزایش جوانه گل را قبل از رفع نیاز سرمایی مشاهده کردند. در این رقم بر اساس روش وزن تر نیاز سرمایی حدود ۸۰۰ -۷۰۰ ساعت بیان شده در حالی که نیاز سرمایی این رقم را بر طبق روش فنولوژیکی ۸۰۰ ساعت گزارش نموده‌اند (۳). پس با توجه به نتایج تحقیقات یاد شده، در تحقیق حاضر، افزایش متفاوت در وزن تر جوانه‌ها در زمان رفع نیاز سرمایی در ارقام مورد مطالعه قابل توجیه است. همچنین این گفته را عده‌ای از محققین در آزمایشات خود ثابت کرده و بیان نمودند که رفتار ارقام مختلف زردآلو از نظر تغییرات وزن تر جوانه‌ها متفاوت است به گونه‌ای که تکامل وزن جوانه‌های گل در موقع رفع نیاز سرمایی در برخی ارقام سریع‌تر است (۳۶).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان تحت تاثیر تغییرات چرخه فصلی صورت می‌گیرد و تغییرات فعالیت آنزیمی به دما بستگی دارد بطوریکه آلبالو با کمترین نیاز سرمایی دارای بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد و گیلاس سیاه شبستر که بیشترین نیاز سرمایی را دارد کمترین فعالیت آنزیمی را به خود اختصاص داده است. بر این اساس فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی جوانه‌های گل در ابتدای دوره خواب تقریبا بالا بوده ولی در طی مراحل پایان خواب کاهش فعالیت را به همراه داشت. همچنین میزان پرولین آزاد جوانه‌ها در انتهای خواب و مرحله شکستن خواب در بیشترین مقدار بود و کمترین میزان در مرحله خواب عمیق می‌باشد. پیشنهاد می‌شود که برای بررسی بهتر ارتباط بین میزان تجمع سرمایی و سیستم تغییرات آنزیمی، مطالعه گسترده‌تری با تعداد بیشتری از ارقام تجاری بومی و غیر بومی ایران در طی سال‌های مختلف انجام شود.

منابع

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

2- Abedi B., Tafazoli E., Rahemi M., Khaladbarin B., and Ganji A. 2010. Changes in sugars, starch, proline and intercostal water in the face of cold in some apricot cultivars (*armeniaca Prunus* L.). Iranian Journal of Horticulture, 41(4): 375–382. (In Persian)

3- Alburquerque N., Garcıa-Montiel F., Carrillo A., and Burgos L. 2008. Chilling and heat requirements of sweet cherry cultivars and the relationship between altitude and the probability of satisfying the chill requirements. Environmental and Experimental Botany, 64: 162 – 170.

4- Allen R.D., Webb R.P., and Schake S.A. 1997. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. Free Radical Biology and Medicine, 23:473–479.

5- Angelini R., and Frederico R. 1989. Histochemical evidence of polyamine oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. Journal of Plant Physiology, 135: 212–217.

6- Bartollini S., Vitti R., and Zanol J. 2004. The involvement of glutathione in flower bud dormancy overcoming in apricot. Research Signpost, 1: 11– 28.

7- Bassi D., Vitti R., and Bartolini S. 2006. Recent advances on environmental and physiological challenges in apricot growing. Agricultural Science, 717: 23– 31.

8- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil, 39:205–207.
9- Bowler C., Montagu M.V., and Inze D. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43:83–116.
10- Dennis F.G. 2003. Problem in standardizing methods for evaluating the chilling requirement for the breaking of dormancy in buds of woody plants. HortScience, 3: 347–350.
11- Dirk I., and Montago M.V. 2002. Oxidative Stress in Plants. Journal of Research Science, 14:177-186.
12- Ebdali l. 2012. Evaluation of oxidative metabolism in flower buds of *Prunus armeniaca* after the developmental period during the cold season. Faculty of Natural Sciences, Tabriz University. Tabriz. Master's Thesis. (In Persian)
13- Felker F.C., and Robitaille H.A. 1985. Chilling accumulation and rest of sour cherry flower buds. Journal of the American Society of Horticultural Science, 110(2): 227-232.
14- Fridovich I. 1988. The biology of oxygen radicals: general concepts. p. 145–160. In Halliwell B (ed.) Oxygen radicalsand tissue injury. Journal of the American Society of Horticultural Science.
15- Fuchigami L.H., and Nee C. 1987. Degree growth stage model and restbreaking mechanisms in temperate woody perennials. HortScience, 22:836–845.
16- Ghamsari L., Keyhani E., and Golkhoo Sh. 2007. Kinetics Properties of Guaiacol Peroxidase Activity in *Crocus sativus* L. Corm during. Rooting Iranian Biomedical Journal, 11(3): 137–146.
17- Guerriero R., Viti R., and Monteleone P., 2006. Evaluation of end of dormancy several apricot cultivars according to different methodological approaches. Acta Horticulturae, 701: 99–103.
18- Hamrahi S., Habibi D., Madani H., and Mashhadi M., 2008. Cycocel effect on enzymes and micro-nutrients anti as indices of oxidant stress resistance in oilseed rape. The new data agricultural, 3: 2–14
19- Hare P.D., and Cress, W.A. 2004. Implications of stress induced proline accumulation in plant. African Journal of Biotechnology, 9(7): 1008–1015.
20- Hussain S., Liu G., Liu D., Ahmed M., Hussain N., and Teng Y. 2015. Study on the expression of dehydrin genes and activities of antioxidative enzymes in floral buds of two sand pear (*Pyrus pyrifolia Nakai*) cultivars requiring different chilling hours for bud break. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39(6):930–939.
21- Jogaiah S., Maske S.R., and Upadhyay, A. 2015. Rootstock induced changes in enzymes activity and biochemical constituents during budbreak in 'Thompson Seedless' grapevine. Vitis, 53(2): 57–64.
22- Kang, H.M., and Saltveit M.E., 2002. Effect of chilling on antioxidant enzymes and DPPH-radical scavenging activity of high- and low-vigour cucumber seedling radicles. Plant, Cell and Environment, 25: 1233–1238.
23- Khanizadeh S., Brodeur C., Granger R., and Buszard D. 2000. Factor associated with winter injury to apple trees. International Society for Horticultural Science, 514(20):179–192.
24- Lassheen A.M., and Chaplin C.E. 1971. Biochemical Comparison of Seasonal Variations in three peach cultivars differing in cold hardiness. Journal of American Society for Horticultural Science, 96(2): 212–222.
25- Mansouri Deh Shoeybi R., Davari Nejad Gh., Hokmabadi H., and Tehranifar, A. 2011. Evaluation of changes in proline, total protein and soluble sugars during phenological stages of flower buds of Pistachio cultivars. Journal of Horticultural Science, 25(2): 116–121. (in Persian)
26- Mathe C, Barre A, Jourda C and Dunand C .2010. Evolution and expression of class III peroxidases. Archives of Biochemistry and Biophysics. 500(1):58–65.
27- Monk L.S., Fagerstedt K.V., and Crawford R.M. 1989. Oxygen toxicity and superoxide dismutase as an antioxidant in physiological stress. Physiol Plant, 76: 456–459.
28- Nir G., Shulman Y., Fanberstein L., and Lavess S. 1986. Changes in the activity of catalase (EC1.11.1.6) in relation to the dormancy of grapevine (*Vitis vinifera* L.) buds. Plant Physiology, 81: 1140–1142.
29- Pakkish Z, Rahemi M and Baghizadeh A .2009. Seasonal caange of peroxidase, polyphenol oxidase enzymes activity and phenol content during and after rest in Pistachio flower buds. World applied Science Journal. 6: 1193–1199.
30- Razavi F., Haji-lou J., and Tabatabaii S.J. 2011. Determination of the heat and chill requirements of flower buds in some peach cultivars (*Prunus persica* L.). Journal of Horticultural Science, 26(1): 17–24. (in Persian)
31- Richardson E.A., Seeley S.D., and Walker D.R .1974. A model for estimating the completion of rest for Redhaven and Elberta peach trees. HorstScience, 9:331–332.
32- Rohde A., and Bhalerao R.P. 2007. Plant dormancy in perennial context. Trends Plant Science, 12: 217–223.
33- Ruiz D., Campoy J.A., and Egea J. 2007. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. Environmental and Experimental Botany, 61:254 – 263.
34- Saure M.C. 1985. Dormancy release in deciduous fruit tress. Horticultural Reviews, 7:239–300.
35- Szabados L., and Arnould S. 2009. Proline: a multifunctional amino. Plant Science, 15:89–97.
36- Toupchizade Tabrizian S. 2014. Evaluation of some physiological and enzymatic changes in some apricot cultivars during flower bud dormancy. Faculty of Agriculture, Tabriz University. Tabriz. Master's Thesis.
37- Viti R., Bartollini S., and Guerrirro R. 2003. The influence of sampling from different canopy positions on the

evaluation on flower bud anomalies and dormancy in apricot. Fruits, 58: 117–126.
38- Wang C.Y. 1991. Chilling injury of Horticultural Crops. US Department of Agriculture, Beltsville, Maryland.
39- Wang S., Jiao H., and Faust M. 1995. Changes in ascorbate, glutatation and related enzymes activity during thidiazuron indused bud break of apple. Physiologia plantarum, 82:231–236.
40- Yordanova R., Christork K., and Popora L.P. 2003. Antioxidative oenzymes in barley plants subjected to soil flooding. Environmental and Experimental Botany, 51: 93- 101.
41- Zhang Z., Huber D., and Rao J. 2013. Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. Postharvest Biology and Technology, 76: 58–64.
42- Zhi-You Y., Xia L., Ling-Hao L., Xing-Guo., and Tian-Li Y. 2003. Effects of temperature and sevsral chemicals on metabolic changes during dormancy release in NJ72 nectariane. Agricutural Sciences in China, 2:549–555.
43- Zolfaghari R., Hosseini S.M., and Korori S.A.A. 2005. Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* L.) in three different elevations. International journal of environmental sciensic, 1 (2): 22–25.

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2019, P. 623-637
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۶۳۷-۶۲۳
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Investigating of Antioxidant Enzymes and Proline Changes During the Flowering Bud Dormancy in Several Cherry Cultivars

A. Angouti[1*]- J. Haji-lou[2]- F. Razavi[3]

Received: 29-08-2018
Accepted: 18-09-2018

Introduction: The ability to tolerate cold will not be possible without stopping or inducing sleep, which is one of the important steps in the life cycle of plants in temperate regions. This period is one of the important factors in preventing cold damages in winter and spring in temperate regions. Various studies in controlled conditions on plants have shown that in plants, when entering and leaving this period, various changes occur in materials such as proteins, enzymes and hormones. In order to control the harmful effects of active oxygen species, plants have defense mechanisms. Catalase, peroxidase and superoxide dismutase enzymes are a defensive team whose common goal is to defend against the destructive effects of active oxygen species. This study was carried out to determine the chill requirement and its relationship with the changes in the activity of antioxidants enzymes and proline.

Materials and Methods: The experiment was conducted at agricultural Research Station of Khalat-Pooshan and the Laboratory of Flower Biology and Physiology of Fruit Growth in the Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tabriz University in 2015-2016. Flower buds needed for testing were selected from 'Siah Shabestar', Zard Mashhad, Zoodras cultivars and a local genotype of sour cherry. Once a month, enough buds were harvested and until the experiments began, they were kept inside the freezer inside an aluminum foil at -80 ° C. In order to estimate the chill requirement, four replicates (4 geographic directions) from each cultivar and from each replication four branches with the same length and diameter were removed. The amount of chilling accumulation and chilling requirement in each month was calculated according to Utah model. In order to estimate fresh weight, four replicates in each cultivar were selected and in each replication five buds were selected from different parts of the branch. The statistical design used in the determination of the chill requirement was a randomized complete block design. Enzymatic and proline data were analyzed in a completely randomized design as factorial

Conclusions: Chill requirement: Based on the Utah model, the chill requirement of sweet and sour cherry cultivars contains Zard Mashhad, Zoodras and Siah Shabestar were calculated 752, 780, 867 and 961 CU, respectively. There was a significant difference in the activity of superoxide dismutase enzymes between cultivars and different sampling times at 1% probability level. Siah Shabestar cultivars with the highest chill requirement had the lowest SOD enzymatic activity and Zard Mashhad and Zoodras were intermediate cultivars in terms of enzymatic activity. Sour cherries, which had the least chill requirement, showed the highest levels of SOD enzyme activity. This is consistent with the results of some researchers regarding apricot stated that the low chill apricot cultivars had the highest SOD enzymatic activity. The sour cherry had the highest amount of POX enzymatic activity with the least amount of chill requirement, and also Siah Shabestar has the least chill requirement. Like the two previous enzymes, the activity of catalase was highest in sour cherries and the lowest was observed in Siah Shabestar. In terms of the presence of free proline, there was no significant difference between the Zard Mashhad cultivars and Zoodras, while there was a significant difference between these two cultivars and Sour Cherry and Siah Shabestar. Zoodras cultivar has the highest and our cherry has the lowest amount of free proline. Between different cultivars, in terms of fresh weight of buds, there is a significant difference at 1% probability level before and after placement in the growth chamber. The increase in fresh weight of sour cherry and Zard Mashhad, Zoodras and Siah Shabestar cultivars were 25, 27, 31.5 and 33%, respectively. The highest fresh weight before and after placement in growth chamber was observed in Siah Shabestar and sour cherry was the lowest. In all the cultivars, the activity of all three enzymes were initially at maximum (369 CU), then, with the cooling of the air and the initiation of deep dormancy, the activity of these enzymes were greatly reduced (820 CU) and then again increased in the activity of this enzyme (963 CU), which is similar to other studies.

1 and 2- M.Sc. Graduated and Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, East Azarbaijan, Iran
3- Assistant professor of pomology, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Iran
(*- Corresponding Author Email: akbarangooti9396@gmail.com)

Conclusions: The results of this study showed that the antioxidant metabolism in plants is influenced by seasonal cycle changes and enzymatic activity changes depending on temperature, so that sour cherry with the least chill requirement has the most activity of the enzyme catalase, peroxidase and superoxide dismutase and Siah Shabestar, which have the most chill requirement, have the least enzymatic activity. Accordingly, the enzymatic antioxidant system activity of the flower buds was relatively high at the beginning of the dormancy period, but decreased during the end of dormancy. Also, the amount of free proline at the end of dormancy and the stage of dormancy breaking was highest and the lowest was in the deep dormancy period.

Keywords: Catalase, Bud dormancy, Peroxidase, Superoxide dismutase, Utah model.