اثر تیمار پاکلوبوترازول بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی موثر در تحمل تنش سرما در جوانه انگور رقم بیدانه سفید

پروانه روستایی[۱]، موسی رسولی*[۲] و آرش بابایی[۳]

تاریخ دریافت:
تاریخ پذیرش:

چکیده

هدف این پژوهش بررسی اثر پاکلوبوترازول بر شاخص‌های فیزیولوژکی جوانه‌های بهاری انگور بود. محلول‌پاشی پاکلوبوترازول روی رقم بیدانه سفید با غلظت‌های ۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در سه تکرار (بلوک) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در اواخر دوره رکود جوانه‌ها در ملایر انجام شد. تغییرات شاخص‌های محتوای پرولین، مالون‌دی آلدهید، قندمحلول، پروتئین‌کل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز جوانه‌ها در بهار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج اثر معنی‌دار و مطلوب پاکلوبوترازول را روی شاخص‌های پرولین، قندمحلول، پروتئین کل و آنزیم‌ها نشان داد. تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر بیشترین اثر را در کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید جوانه‌های برگ (۱۳ درصد کاهش نسبت به شاهد) و افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز (بترتیب با مقادیر ۵۶۳، ۴۷۸ و ۴۰۷ درصد افزایش نسبت به شاهد)، نشان داد. با توجه به تاثیرهای شاخص‌های مزبور در تعیین میزان تحمل به تنش‌های محیطی، غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بعنوان مناسب‌ترین غلظت در ارتقا سازش‌پذیری جوانه‌ها برای تحمل سرمای دیررس بهاره مشخص گردید.

واژه‌های کلیدی: ***آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین کل، پرولین، قندمحلول، مالون‌دی‌آلدهید***

مقدمه

پاکلوبوترازول[۲] جزء تریازول‌ها است و اغلب به عنوان یک کندکننده رشد کاربرد دارد. مارشال و همکاران (۲۰۰۰) بیان کردند که ترکیبات تریازولی باعث افزایش هورمون‌های آبسیزیک اسید و پلی آمین‌ها می‌گردند که با اثر روی کاهش شاخص فیزیولوژیک مقدار اتیلن در القای تحمل به سرما نقش دارند (Marshall *et al.*, 2000). فلتچر و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که پاکلوبوترازول باعث تقویت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله توکوفرول، آسکوربات و سیستم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی همچون

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه ملایر.
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر
* (نویسنده مسئول m.rasouli@malayeru.ac.ir)
۳- استادیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه ملایر.

[2] (2S,3S)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol

سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردکتاز می‌شود. این آنزیم‌ها نقش حفاظت غشاها را در مقابل خطرات اکسیداتیو ناشی از تمامی تنش‌ها را برعهده دارند (Fletcher *et al.*, 2000). گابور و همکاران (۲۰۰۱) با بررسی تاثیر پاکلوبوترازول در توت فرنگی 'کاماروسا' نشان دادند که پاکلوبوترازول موجب القای افزایش هدایت روزنه‌ای و اندازه و نیز تعداد روزنه‌ها را در برگ هلو می‌شود و به این ترتیب تنفس را در گیاهان مذکور بهبود می‌بخشید (Gabor *et al.*, 2001). افزایش تنفس موجب بالا رفتن مقدار قند محلول در گیاه می گردد و این فرآیند موجب حفظ تعادل اسمزی و ثبات غشاء در برابر تنش‌ها می‌شود (Joshi, 2007). به این ترتیب که ساکارز می‌تواند به عنوان جانشینی برای آب عمل کرده و باعث گردد تا فسفولیپیدهای غشاء در فاز کریستال-مایع حفظ شده و از تغییرات ساختمانی آن جلوگیری گردد. استفاده از پاکلوبوترازول به همراه هرس دیر هنگام در پژوهش انجام شده توسط محمودزاده و همکاران (۲۰۰۸) افزایش دوره رکود جوانه‌های انگور و فرار از سرمای دیررس بهاره را موجب شد (Mahmoudzadeh *et al.*, 2008). شاکری و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که پاکلوبوترازول موجب افزایش وزن تر و خشک، مقدار کلروفیل‌کل و کاروتنوئیدهای برگ و در نتیجه افزایش میزان سیتوکنین در برگ انگور می‌شود (Shakeri *et al.*, 2011).

در واقع اثر اولیه این ترکیبات، جلوگیری از فعالیت کائورن‌اکسیداز است، این آنزیم تبدیل انت‌کائورن به کائورونیک‌اسید را در مسیر سنتز جیبرلیک اسید کاتالیز می‌کند؛ در نتیجه میزان جیبرلین کاهش می‌یابد. ارشادی و دارابی (۲۰۱۱) در پژوهشی که با کاربرد غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول روی بادام رقم شاهرود" انجام دادند نشان دادند که پاکلوبوترازول با کاهش جیبرلیک اسید باعث لیگنینی شدن، افزایش قطر ساقه و کاهش محتوی آب نسبی بافت ساقه می‌شود و در نتیجه باعث افزایش تحمل بافت‌ها و کاهش نقطه انجماد آنها می‌گردد (Ershadi & Darabi, 2011).

در استان همدان و به خصوص شهرستان ملایر همواره سرمازدگی بهار اتفاق می‌افتد. سرمازدگی بهاره اگر هم‌زمان با مراحل اولیه رشد جوانه‌ها و یا گلدهی (مراحل اولیه تشکیل میوه) رخ دهد، باعث کاهش باردهی تاک‌ها می‌شود زیرا در این زمان‌ها گیاه به تنش‌های دمایی حساس است. کندکننده های رشد موجب به تاخیر افتادن مراحل خروج از رکود جوانه‌ها و فرار از سرما می‌گردند. با توجه به تمام اثرات مثبت پاکلوبوتراوزل، اثرات جانبی آن روی صفات فیزیولوژیکی و سلامت گیاه مورد تردید است و حتی در برخی موارد استفاده از آن ممنوع شده است با این وجود هنوز هم از پاکلوبوترازول به صورت محلول پاشی روی خاک یا گیاه استفاده می گردد. در این موارد معمولا برای جلوگیری از ماندگاری آثار سوء این ماده در میوه، محلولپاشی را در غلظت های بسیار پایین و با فاصله زیاد از مراحل اولیه رشد میوه انجام می‌دهند. هدف این پژوهش بررسی اثر تیمار پاکلوبوترازول بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه در زمان بیشترین حساسیت گیاه به سرمای دیررس بهاره (رویش اولیه جوانه‌ها) در انگور رقم بیدانه سفید از یک سو و از سویی دیگر پیگیری تداوم تاثیرات این ماده بر متابولیت‌های اولیه تا زمان گلدهی (اولین مراحل تشکیل میوه) بود.

مواد و روش ها

این آزمایش در یکی از تاکستان‌های شهرستان ملایر استان همدان، در حوالی پردیس دانشگاه ملایر واقع در ۵ کیلومتری جاده اراک انجام شد. تاکستان مورد آزمایش ۱۶ ساله بود که به روش سنتی کشت شده و آبیاری به صورت غرقابی صورت می‌گرفت. جهت اعمال تیمارها روی تاک‌های مورد نظر، پاکلوبوترازول خالص (SERVA30078 ساخت شرکت هیدل‌برگ[3] نیویورک، آمریکا) در پنج غلظت ۰ (شاهد)، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تهیه گردید. آزمایش براساس طرح بلوک کامل تصادفی و در سه تکرار (بلوک) انجام شد. هر بلوک شامل پنج درختچه بود. محلول پاشی با دقت و کامل انجام شد به طوریکه تمام شاخه های درختچه ها خیس شدند (حالت چکیدن محلول از شاخه‌ها). محلول‌پاشی پاکلوبوترازول در اواخر مرحله رکود در زمستان سال ۱۳۹۱ بر رقم بیدانه سفید انجام گردید. نمونه‌برداری از ساقه‌های یکساله دارای جوانه برگ زمانی که جوانه‌های شاهد در مرحله ۳ تا ۴ برگی بودند، در بهار سال ۱۳۹۲ انجام شد. به این ترتیب که تعدادی از قلمه‌های حاوی ۵-۶ جوانه در حال رویش از هر تیمار برداشته شد. جهت انجام سنجش‌های فیزیولوژیکی از خود جوانه استفاده شد. زمان محلول پاشی و نمونه‌برداری در این پژوهش با توجه به دانش بومی و مشاهده وضعیت و مراحل رشد تاکستان تعیین می‌شود که در هر سال و منطقه ممکن است تغییر کند و قابل تعمیم به سایر مطالعات مشابه نیست. دمای زمان نمونه‌برداری نیز در جدول ۱ ثبت گردید.

جدول۱: دماهای ثبت شده توسط ایستگاه هواشناسی ملایر در روز نمونه‌برداری.

مقادیر دمایی	دما (°C)
بیشترین دما	۲۳
کمترین دما	-۱
میانگین دما	۱۱

سنجش‌های فیزیولوژیکی

مواد شیمیایی مورد نیاز برای سنجش‌های فیزیولوژیکی از شرکت مرک آلمان خریداری شد و برای سنجش‌های مختلف دستگاه‌های اسپکتروفوتومتر (UV-1200 دیجیتالی مدل JENUS ساخت چین) و سانتریفوژ یخچال‌دار (مدل Z326K شرکت ویتاطب کوشا نماینده کمپانی Hettich آلمان) مورد استفاده قرار گرفتند.

برای اندازه‌گیری مقدار پرولین از روش استاندارد بتس و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد (Bates *et al*., 1973). پراکسیداسیون لیپیدها با اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به روش هیت و پیکر (۱۹۶۹) انجام شد (Heath & Paeker, 1969). سنجش قندهای محلول از روش فنل- اسیدسولفوریک با روش کوچرت (۱۹۷۸) و اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از

[3] Heidel Berg

روش لیتچن تالر (۱۹۸۷) انجام پذیرفت (Kochert, 1978; Lichtenthaller, 1987). سنجش غلظت پروتئین محلول نیز با استفاده از روش برادفورد (۱۹۷۶) انجام شد (Bradford, 1976). برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز از روش کار و میشرا (۱۹۷۶) برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش ناکانو و آساد (۱۹۸۱) استفاده شد (Kar & Mishra, 1976; Nakano & Asada, 1981).

تجزیه داده‌های بدست آمده از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) براساس طرح بلوک کامل تصادفی انجام و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. نمودارها با نرم افزارExcel 2010 رسم گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس یک طرفه داده ها در اکثر پارامترها اثر معنی دار پاکلوبوترازول را روی شاخص‌های فیزیولوژیک مورد بررسی را نشان دادند (جدول ۲).

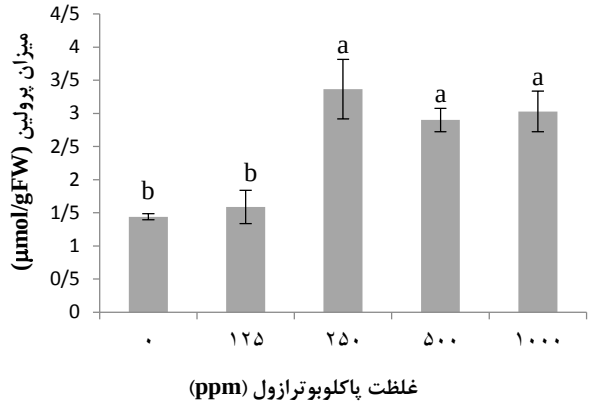
جدول ۲: تجزیه واریانس یک طرفه اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر شاخص‌های فیزیولوژیکی جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید.

منابع تغییر	df	میانگین مربعات									
		پرولین	قند محلول	مالون دی آلدهید	کاروتنوئید	کلروفیل a	کلروفیل b	پروتئین کل	پراکسیداز	پلی فنل اکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۱۴ns	۰/۰۶ns	۰/۰۴ns	۲/۱۶**	۰/۰۸**	۰/۰۰۲ns	۰/۰۱ns	۱/۱۶*	۰/۰۱ns	۰/۳۷ns
تیمار	۴	۲/۳۵**	۵/۰۳**	۱/۰۵**	۱/۹۸**	۰/۰۸**	۰/۰۲۴**	۱/۱۷**	۸۱/۲۳**	۶/۸۲**	۳۱۳/۵۸**
Error	۸	۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۱۴	۰/۲۶	۰/۰۳	۲/۱۲
CV%		۱۰/۲۶	۶/۹	۶/۱۶	۶/۷۱	۶/۳۷	۷/۹۸	۷/۱۸	۱۰/۱۸	۱۳/۷۳	۱۳

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ براساس آزمون دانکن.

میزان پرولین

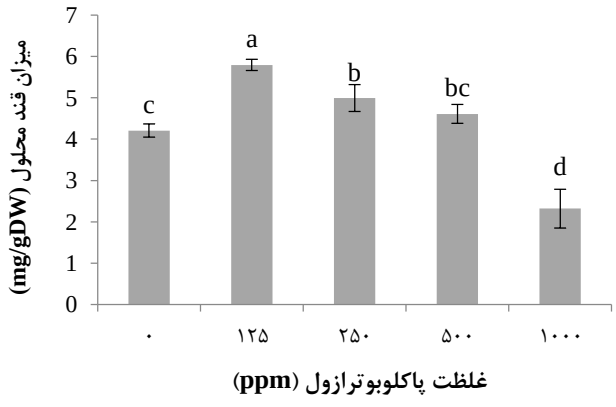
مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمارهای بیشتر از ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد مقدار پرولین را در گیاه افزایش معنی‌داری دادند (شکل ۱). هماهنگ با این نتایج پژوهش‌های جلیل و همکاران (۲۰۰۷) و نیوس و همکاران ۲۰۰۱) دادند که تریازول‌ها خصوصاً پاکلوبوترازول مقدار پرولین را در گیاه افزایش می‌دهند که علت آن اثر تریازول‌ها در افزایش هورمون اسید آبسیزیک است زیرا اسید آبسیزیک موجب افزیش مقدار آمینواسیدها از جمله پرولین می‌شود (Jaleel *et al*., 2007; Nieves *et al*., 2001).



شکل ۱: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر محتوای پرولین جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

مقدار قند محلول

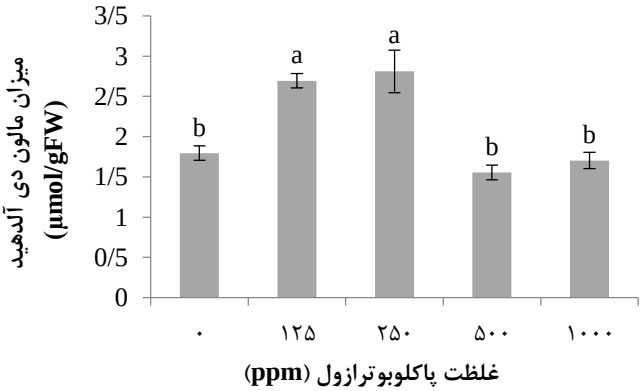
نتایج مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد تمامی تیمارهای پاکلوبوترازول به جز غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش قند محلول در بافت گیاه نسبت به شاهد شده بودند (شکل ۲). هماهنگ با این نتایج، گوپی و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که پاکلوبوترازول با ممانعت از تولید جیبرلین و تحریک تولید سیتوکینین از فعالیت آنزیم تولید کننده نشاسته جلوگیری می‌کند و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تجزیه کننده نشاسته را در برگ افزایش می‌دهد (Gopi *et al.*, 2007). به علاوه در این پژوهش بیشترین افزایش قند محلول در تیمار پاکلوبوترازول در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۲). تحقیق‌های روهنر و بوچنائر (۱۹۸۱) نشان دادند تریادایمنول در غلظت‌های پایین به عنوان یک ترکیب تریازولی، فعالیت آمیلاز تجزیه کننده نشاسته را در اکثر گیاهان افزایش می‌دهد و موجب افزایش میزان قند محلول در بافت می شود (Rohner & Buchenauer, 1981).



شکل ۲: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر محتوای قند محلول جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

میزان مالون دی آلدهید

با توجه به نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌های آزمون دانکن تیمار پاکلوبوترازول در غلظت های پایین (۱۲۵ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) با افزایش معنی‌دار میزان مالون دی آلدهید نسبت به شاهد، تاثیر منفی روی بافت گیاه داشت (شکل ۳). این نتایج ناهماهنگ با تحقیق گوپی و همکاران (۲۰۰۷) است که نشان دادند پاکلوبوترازول پراکسیداسیون غشاء را کاهش می‌دهد (Gopi *et al*., 2007). به نظر می‌رسد که در غلظت‌های پایین تاثیر تنش حاصل از خیس شدن ساقه‌ها در زمان محلول-پاشی (زمستان) موجب خسارت بیشتر غشا شده است که با وجود تاثیرات مثبت پاکلوبوترازول در حفاظت از غشا (که در مطالعات گذشته مشخص شده بودند)، در پژوهش حاضر مقدار مالون دی آلدهید نسبت به شاهد افزایش یافت. در غلظت های بالا (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر) مقدار مالون دی آلدهید نسبت به شاهد کاهش نشان داد که این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۳). در این پژوهش مشاهده شد میزان پرولین جونه‌ها در این تیمارهای ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول افزایش یافته است. در ارتباط با این موضوع سیواکومار و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که پرولین می‌تواند در آب پوشی لایه احاطه کننده فسفولیپیدها نقش داشته و با گروه‌های فسفات واقع در سر فسفولیپیدها برهمکنش انجام دهد (Sivakumar *et al*., 2000). به عبارتی در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد افزایش پرولین با این مکانیسم موجب محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست‌ها و کاهش میزان مالون دی آلدهید در غلظت‌های مزبور شده است (Ashraf & Foolad, 2007).

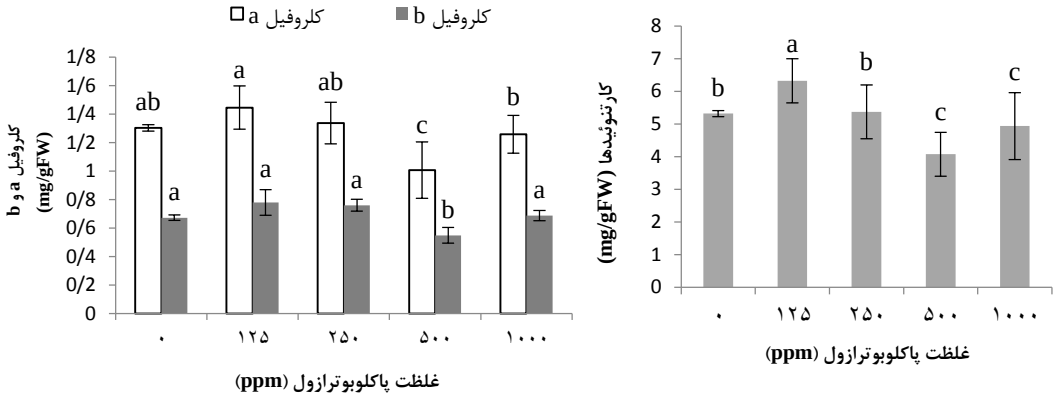


شکل ۳: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر محتوای مالون دی آلدهید جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

تیمارهای پاکلوبوترازول در غلظت های پایین موجب افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی جوانه‌ها شد و در غلظت‌های بالا کاهش مقدار رنگیزه ها را نشان داد بطوری‌که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار پاکلوبوترازول با غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شدند (شکل ۴). گزارش‌های زو (۲۰۰۵) و تکالین و همس

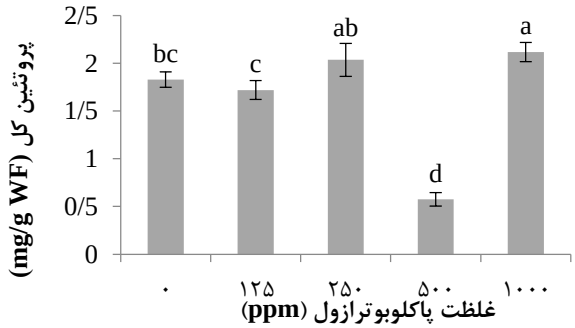
(۲۰۰۴) نشان داد، پاکلوبوترازول تیغه‌های استرومایی و تعداد تیلاکوئیدها را در هر گرانوم زیاد می‌کند و به طور معنی‌داری میزان کلروفیلb و a را در بافت‌های برگ افزایش می‌دهد (Tekalign & Hammes, 2004; Zhou, 2005). در پژوهش حاضر در غلظت ۱۲۵ میلی گرم در لیتر پاکلوبوترازول بیشترین قند محلول مشاهده شد که یکی از دلایل آن می‌تواند افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در این غلظت و افزایش فتوسنتز در جوانه‌های حاصل از این تیمار باشد. تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش مقدار رنگیزه‌ها شد. با توجه به اینکه مقدار قند محلول به عنوان محصول اولیه فتوسنتز در این تیمار مشابه نمونه شاهد بود، کمتر بودن میزان رنگیزه‌ها می تواند تحت تاثیر جوانتر بودن برگ‌های نسبت به شاهد باشد. پاکلوبوترازول به عنوان یک کندکننده رشد موجب تاخیر در رشد جوانه‌ها می شود.



شکل ۴: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر محتوای رنگدانه های فتوسنتزی جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

پروتئین کل

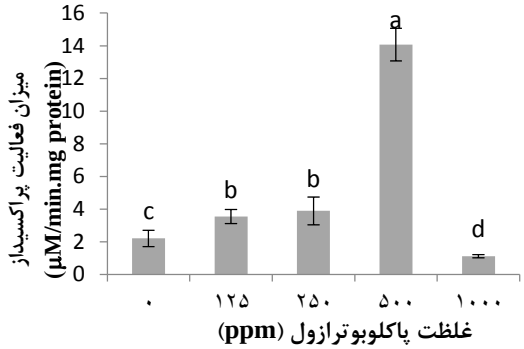
مقدار پروتئین کل جوانه‌ها در تیمارهای ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد افزایش یافت و غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار پروتئین کل را داشت (شکل ۵). هماهنگ با این نتایج پژوهش های نیوس و همکاران (۲۰۰۱) و شیمونو (۲۰۰۴) گزارش کردند که پاکلوبوترازول در گیاهان بطور غیر مستقیم موجب حفظ پروتئین‌ها از تخریب می‌شود (Nieves *et al.*, 2001; Shimono, 2004). آن‌ها مکانیسم اثر را این گونه بیان کردند که با کاهش جیبرلیک اسید، هورمون آبسیزیک اسید افزایش می‌یابد. مانع تنش آب می‌شود و مقدار اسید آمینه پرولین را افزایش می‌دهد. در نتیجه عوامل آسیب رسان مانند رادیکال‌های آزاد حذف می‌شوند و مقدار بالای پرولین با تحت تاثیر قرار دادن آنزیم‌ها به حفظ ساختار پروتئین‌ها و فعالیت آنها کمک می‌کند.



شکل ۵: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر پروتئین کل جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

آنزیم پراکسیداز

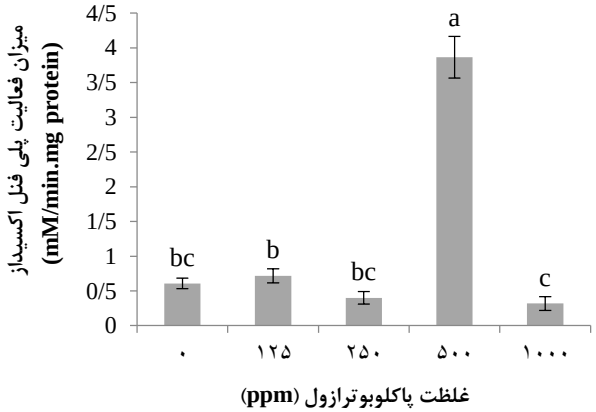
تیمار پاکلوبوترازول در تمام غلظت‌ها به جز ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز جوانه‌ها نسبت به نمونه شاهد شد و تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین اثر را در افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت (شکل ۶). هماهنگ با این نتایج، مانیش (۲۰۱۰) نشان داد که پاکلوبوترازول با کاهش جیبرلیک اسید مقدار فعالیت آنزیم پراکسیدازها را در نمونه‌های گیاهی افزایش می‌دهد و جالب آنکه مطلوب ترین تیمار پاکلوبوترازول از نظر شاخص مالون‌دی‌آلدهید غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شد(Manish, 2010). در این پژوهش بررسی شاخص ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که مقدار هر سه آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و آسکوربات‌پراکسیداز در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بیشترین مقدار را داشتند. هر سه آنزیم در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارند و آنزیم‌های پراکسیداز پس از کاتالاز در درجه دوم اهمیت در حذف H_2O_2 نقش ایفا می‌کنند (Cook *et al*., 2004). شاخص مالون‌دی‌آلدهید بیانگر میزان آسیب وارده به غشاء در اثر رادیکال‌های آزاد است (Davey, 2005). بنابراین پایین بودن مقدار مالون‌دی‌آلدهید در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول می‌تواند در اثر فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان علاوه بر افزایش پرولین و قند محلول در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر باشد که در نهایت منجر به حفظ ساختار آنزیم‌ها شده گردیده است.



شکل ۶: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر فعالیت آنزیم پراکسیداز جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

آنزیم پلی فنل اکسیداز

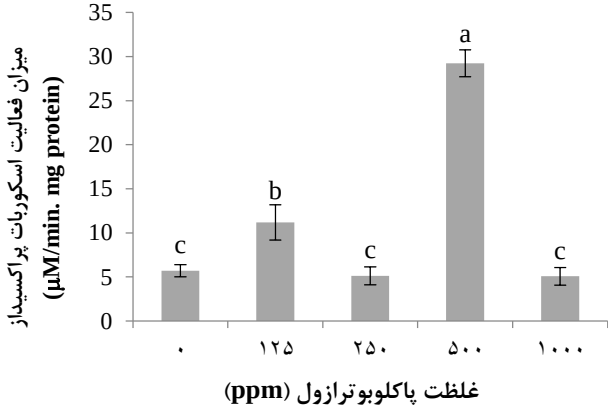
مقایسه میانگین داده های بدست آمده نشان داد که در اوایل فصل رشد جوانه ها تیمار پاکلوبوترازول با غلظت‌های ۱۲۵ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز نسبت به شاهد شدند و تیمار پاکلوبوترازول با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را داشت (شکل ۷). هماهنگ با این نتایج، بالاساندرام و همکاران (۲۰۰۸) نشان داد که پاکلوبوترازول با تاثیر روی کاهش جیبرلیک اسید موجب افزایش فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز می‌شود که منجر به اتصال اجزا فنلی به دیواره سلولی می‌گردند (Balasundram *et al.*, 2008). از آنجایی که تمامی سنجش‌های این پژوهش روی قسمت جوانه انجام شده است؛ افزایش فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز موجب ورود ترکیبات فنلی به دیواره‌های سلولی و استحکام بافت‌های گیاهی در حال رشد و افزایش آمادگی در مواجه با تنش‌ها می‌شود.



شکل ۷: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

با توجه به شکل (۸) میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز جوانه‌ها در غلظت‌های ۱۲۵ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد افزایش چشمگیری را نشان دادند. هماهنگ با این نتایج، گوپی و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده‌اند که تریازول‌ها فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز را افزایش می‌دهند (Gopi *et al.*, 2007). فلتچر و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که پاکلوبوترازول باعث تقویت سیستم‌های آنتی اکسیدان آنزیمی از جمله آسکوربات‌پراکسیداز می‌شود که نقش حفاظت غشاها را در مقابل خطرات اکسیداتیو ایفا می‌نمایند (Fletcher *et al.*, 2000). جعفری و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که پاکلوبوترازول در هلو فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز سیتوسلی را افزایش می‌دهد (Jafari *et al.*, 2007). سنکر و عبدالجلیل (۲۰۰۷) نشان دادند که تیمار پاکلوبوترازول موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در بادام‌زمینی خصوصاً در شرایط تنش خشکی می‌شود (Sankar & Abdul Jaleel, 2007).



شکل ۸: مقایسه میانگین مربعات اثر محلول پاشی پاکلوبوترازول بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز جوانه بهاری انگور رقم بیدانه سفید. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند (Duncan).

نتیجه‌گیری کلی

تمامی مسیرهای سوخت و ساز درون گیاه تحت تاثیر یکدیگر قرار دارند. شاخص‌های اندازه‌گیری شده در این پژوهش نیز مستقل از هم نیستند. وجود رابطه‌های پیچیده بین آنها موجب شده است تا پاکلوبوترازول نیز اثرهای متفاوتی را روی این شاخص‌ها داشته باشد. در این پژوهش مشاهده شد که پاکلوبوتراوزل در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر با وجود افزایش مقدار آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و قند محلول که پارامترهای موثری در حفاظت از غشا در برابر عوامل تنش‌زا هستند، موجب افزایش میزان پراکسیداسیون غشا شود. تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول نیز با وجود مقدار بالای پرولین و قند محلول و آنزیم پراکسیداز مقدار بالای مالون دی آلدهید را نشان داد. تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیز میزان پرولین و پروتئین کل را افزایش داد اما مقدار مالون دی آلدهید در این نمونه‌ها مشابه شاهد بود. این سه تیمار ۱۲۵، ۲۵۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به جز مواردی که گفته شد، تاثیر معنی‌داری روی سایر شاخص‌ها نداشتند. تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول موجب افزایش معنی‌دار مقدار پرولین و آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و افزایش نسبی مقدار قند محلول شد. با توجه به تاثیر تمام این شاخص‌ها در حفظ غشا از پراکسیداسیون، کاهش مقدار مالون دی آلدهید در سطح ۱۰ درصد مشاهد شد. بطور کلی در این پژوهش محلولپاشی پاکلوبوترازول با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر، اثر مطلوبی روی شاخص‌های موثر در آمادگی انگور رقم بیدانه سفید برای تحمل تنش‌های محیطی از جمله تغییرات دمایی در مراحل آغازین رشد جوانه‌ها داشت.

سپاسگزاری

بدین وسیله از سرکار خانم سمیرا خرسندی مسئول محترم آزمایشگاه‌های گروه زیست شناسی و آقای مهندس میرشاهولد مسئول محترم آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ملایر به خاطر مساعدت در انجام امور آزمایشگاهی و فراهم آوردن مواد مورد نیاز جهت آزمایش‌ها تشکر می‌گردد.

منابع

Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant a biotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206- 216.

Balasundram, S.K., Husni, M.H.A. and Ahmad, O.H. (2008). Application of geostatistical tools to quantify spatial variability of selected soil chemical properties from a cultivated tropical peat. Journal of Agronomy. 7(1): 82-87.

Bates, L.S., Walderd, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39:205–207.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quntitation of microgram quantities of protein ultilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72:248-254.

Cook, D., Fowler, S. Fiehn, O. and Thomashow, M.F. (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low temperature metabolome of Arabidopsis. Plant Biology. 101:15243-8.

Davey, M.W., Stals, E. Panis, B. Keulemans, J. and Swennen, R.I. (2005). High throughput of malondialdehyde in plant. *Analytical Biochemistry*. 347: 201-207.

Ershadi, A. and Darabi, A. (2011). The effect of paclobutrazol on some parameters involved in low temperature-induced damages in almond (*Prunus amygdalus)* saplings cultivar Shahrood 12. Second national conference of almond with pivotal of exports. Shahrkord. 471-174. (In Farsi)

Fletcher, R.A., Sopher, C.R. and Vettekkorumakankav, N.N. (2000). Modulation of gibberellins protects plants from environmental stresses .Indian Journal of Plant physiology. 5(2):115-126.

Gabor, K., Ballmoos, P.V. and Brunold, C. (2001). Increasing the glutathione content in a chilling-sensitive maize genotype using safeners increased protection against chilling- induced injury. Plant Physiology. 127:1147-1156.

Gopi, R., Abdul Jaleel, C. Sairam, R. Lakshmanan, G.M.A. Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2007). Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass,electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. Colloids and Surfaces Bionterfaces. 60: 180-186.

Heath, R.L. and Paeker, L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast and stiochiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125:189-198.

Jafari, S.R., Kalantari, Kh.M. and Mosave, A.A. (2007). The role of paclobutrazol on accumulation of antioxidant in tomato plants (*Lycopersicum esculentom* L.) under cold stress. Iranian Journal of Biology. 20(3): 206-217. (In Farsi)

Jaleel, C.A., Gopi, R. Sankar, B. Manivannan, P. Kishorekumar, A. Sridharan, R. and Panneerselvam, R. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in Catharanthus roseus seedlings under salt stress, South African Journal of Botany. 73: 190–195.

Joshi, S.C., Chandra, S. and Palni, L.M.S. (2007). Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetic. 45(4): 594-600.

Kar, M. and Mishra, D. (1976). Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. Plant Physiology. 57(2):315-319.

Lichtenthaller, H.K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids, Pigments of Photosynthetic Biomembranes. Methods in Enzymology. 148: 350-382.

Mahmoudzadeh, H., Rasooli, V. and Dolati baneh, H. (2008). Effect of pruning time and paclobutrazole application on bud burst delaying of Vitis vinifera CV. Sefid Bidaneh in order to reduce of spring cold damage. Pajouhesh and Sazandegi. 80: 138 – 143. (In Farsi)

Manish S., Kishor, A. Dahuja, A. and Sharma, R.R. (2010). Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.). Scientia Horticulturae. 125: 785–788.

Marshall, J., Beardmore, T. Whittle, C.A. Wang, B. Rutledge, R.G. and Eduardo, E. (2000). The effects of paclobutrazol, abscisic acid, and gibberellins on germination and early growth in silver, red, and hybrid maple. Canadian Journal of Forest Research. 30:557-565.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology. 22: 867-880.

Nieves, N., Martinez, M-E. Castillo, R. Blanco, M-A. and Gonzalez-Olmedo, J-L. (2001). Effect of abscisic acid and jasmonic acid on partial desiccation of encapsulated somatic embryos of sugarcane. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 65:15-21.

Sankar, B., Abdul Jaleel, C. Manivannan, P. Kishorekumar, A. Somasundaram, R. and Panneerselvam, R. (2007). Effect of paclobutrazol on water stress amelioration through antioxidants and free radical scavenging enzymes in *Arachis hypogaea* L. Colloids and Surfaces Biointerfaces. 60: 229–235.

Shakeri, F., Baninasab, B. Ghobadi, S. and Mobli, M. (2011). Effects of paclobutrazol on leaf gas exchange parameters, vegetative growth and fruit quality of 'Camarosa' strawberry. *I*ranian Juornal of sience and Thecnology of Agriculture and Neatural Resources. 12(4):369-378. (in Farsi).

Shimono, H., Hasegawa, T. Fujimura, S. and Iwama, K. (2004). Responses of leaf photosynthesis and plant water status in rice to low water temperature at different growth stage. *Field Crop Research*. 89: 71-83.

Sivakumar, P., Sharmila, P. and Pardha Saradhi, P. (2000). Proline alleviates salt stress induced enhancement in the activity of ribulose-1, 5-bisphosphate oxygenase. Biochemical and Biophysical Research Communications. Academic Press, USA. 279: 512- 515.

Tekalign, T. and Hammes, P.S. (2004). Response of potato grown under non-inductive condition to paclobutrazole: shoot growth, chlorophyll content, net photosynthesis, assimilate partitioning, tuber yield, quality, and dormancy. Plant Growth Regulation, 43: 227-236.

Zhou, B., Huang, X. and Yang, R. (2005). Effects of abscisic acid and paclobutrazol on superoxide dismutase activity and proline content in lychee leaves under low temperature. Acta Horticulturae Science. 65: 209-214.

The treatment effect of Paclobutrazol on some effective physiological traits of cold stress tolerance in bud grape of cv. Bidane Sefide

Parvaneh Roostaei[1], Mousa Rasouli [2]*and Arash Babaei[3]

Received:
Accepted:

Abstract

The aim of this study was investigation the effect of paclobutrazol on physiological parameters of spring buds of grapes. Foliar application of paclobutrazol on cultivar of Bidane Sefide at concentrations of 0, 125, 250, 500 and 1000 mg/L with three replicate contest of the randomized complete block design (CRB) was carried out in late buds dormancy in Malayer. Changes in proline content, malondialdehyde content, soluble sugar, total protein, photosynthesis pigments and enzymes activity of peroxidase, polyphenol oxidase and ascorbate peroxidase of buds were measured in spring. The results showed a significant effect of paclobutrazol on parameters of proline, soluble sugar, total protein and mentioned enzymes. The treatment of 500 mg/L had the greatest effect on decreasing of malondialdehyde content (with 13% decrease compared to the control) and increasing the activity of peroxidase, polyphenol oxidase and ascorbate peroxidase (with 563, 478, 407 decrease compared to the control, respectively). Due to the effects of these parameters on determination of tolerance to environmental stresses, concentration of 500 mg/L was determined as the best concentration to improve the adaptability of buds for late cold spring tolerance.

Kay word: Antioxidant enzymes, Malondialdehyde, Proline, Soluble sugar, Total protein.

1-MSc. Master graduate of Biology Departement, Faculty of Sciences, Malayer University, Malayer, Iran.

2-Associate Professor of Horticultural Science and Landscape Engineering Departement, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

* (Corresponding Aouter: m.rasouli@malayeru.ac.ir)

3-Assistant Professor of Biology Department, Faculty of Sciences, Malayer University, Malayer, Iran