مقاله پژوهشی

اثر ترکیبات مختلف بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در درختان فندق

سعید بهرامی[۱]، شکراله حاجی‌وند[۲]*، سارا سعادتمند[۳] و مجتبی فتحی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۸- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۵/۲)

چکیده

فندق از محصولات با ارزش باغبانی است که هر ساله تحت تأثیر عوامل مختلف از جمله تنش‌های سرمایی قرار گرفته و تولید و عملکرد آن کاهش می‌یابد. از این رو، این تحقیق با هدف بررسی اثر ترکیبات ضدتنش بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در درختان فندق تحت تنش دمای پایین انجام شد. آزمایشات به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در منطقه الموت استان قزوین اجرا شدند. درختان فندق در چهار مرحله (قبل از ریزش برگ‌ها در پاییز، هنگام تورم جوانه‌ها در زمستان، هنگام ظهور گل‌ها و هنگام گل‌دهی کامل در بهار) با ترکیبات ضدتنش شامل؛ تیوفر، اسید سالسیلیک، بیوبلوم، اسید آمینه، های‌پتاس و آب (شاهد) محلول‌پاشی شدند. با کاهش دما به زیر صفر درجه سانتی‌گراد و وقوع سرمای بهاره در منطقه، از گل‌های نر، گل‌های ماده و جوانه برگ درختان فندق نمونه‌برداری انجام شد. از نمونه‌های جمع‌آوری شده، عصاره آنزیمی استخراج و مقدار آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز اندازه‌گیری شد. نتایج این تحقیق نشان داد اسید سالیسیلیک، های‌پتاس و اسید آمینه بیش‌ترین اثر و بیوبلوم و تیوفر کم‌ترین اثر را در افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در درختان فندق داشتند. با توجه به اهمیت نقش این آنزیم‌ها در افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش‌های مختلف از جمله دماهای پایین، کاربرد اسید سالیسیلیک، های‌پتاس و اسید آمینه در مناطقی که خطر سرمازدگی درختان فندق وجود دارد به منظور کاهش خسارات احتمالی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، آسکوربات پراکسیداز، سرمازدگی، گایاکول پراکسیداز، های‌پتاس

۱- دانشجوی دکتری گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات و آموزش ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳- دانشیار گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

* پست الکترونیک: Shokrollah2006@gmail.com

مقدمه

فندق یکی از میوه‌های خشک با ارزش بالای غذایی، دارویی و اقتصادی می‌باشد که از دیر باز مورد توجه بوده است. درخت فندق بومی آسیاست و تاکنون حدود ۱۳ گونه تأیید شده به عنوان فندق معرفی شده‌اند که در بین آن‌ها گونه *Corylus avellana* با نام فندق اروپایی شناخته می‌شود و به‌دلیل ارزش غذایی بالا جزء مهم‌ترین گونه‌ها در خانواده Betulaceae محسوب می‌شود. فندق منبعی غنی از چربی‌های مفید، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها است که در میان میوه‌های آجیلی پس از بادام‌هندی، گردو، بادام و پسته رتبه پنجم سطح زیرکشت در جهان را به خود اختصاص داده است. تولید جهانی فندق در سال ۲۰۱۹ حدود یک میلیون و ۱۲۵ هزار تن گزارش شده است که کشور ترکیه با تولید ۷۷۶ هزار تن بزرگ‌ترین تولید کننده آن در جهان به شمار می‌رود (فائو[1]، ۲۰۲۱؛ بوتا[2] و همکاران، ۲۰۱۹). ایران در جایگاه هشتم تولید این محصول قرار دارد و بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیرکشت فندق در کشور حدود ۲۵ هزار هکتار است که از این سطح تقریباً ۲۷ هزار و ۷۰۰ تن فندق برداشت می‌شود (احمدی، ۱۳۹۹).

علی‌رغم روند سریع و رو به رشد تولید جهانی فندق و حضور ایران در میان ده کشور نخست تولیدکننده این محصول، میزان تولید و عملکرد فندق در ایران نسبت به سایر کشورهای عمده تولیدکننده فندق در جهان، پایین است (فائو، ۲۰۲۱). لذا با توجه به شرایط مناسب کشور برای توسعه اقتصادی کشت و پرورش فندق و امکان افزایش تولید و صادرات این محصول، برطرف نمودن عوامل محدودکننده تولید از جمله خسارات ناشی از سرمازدگی ضروری می‌باشد. دمای پایین یکی از مخرب‌ترین تنش‌های غیرزنده است که رشد و نمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اگرچه میانگین دمای مناسب سالانه برای رشد درخت فندق حدود ۱۶-۱۳ درجه سانتی‌گراد است و نسبت به دمای پایین تا حدودی متحمل است اما سرما و یخبندان زمستانه، سرمای زودرس پاییزه و سرمای دیرهنگام بهاره موجب ایجاد خسارت و کاهش عملکرد می‌شود. کاهش دما در زمستان به کمتر از ۸- درجه سانتی‌گراد و کاهش دما به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد در اوایل بهار به ویژه اگر هم‌زمان با باز شدن جوانه‌ها و گل‌ها باشد، خسارات قابل توجهی بر جای می‌گذارد (ان[3] و همکاران، ۲۰۲۰). گل‌های نر و ماده تکامل نیافته فندق در دمای کمتر از ۱۳ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد، گل‌های نر آماده گرده‌افشانی در دمای پایین‌تر از ۳ تا ۷ درجه سانتی‌گراد و گل‌های ماده در زمان آماده بودن برای پذیرش دانه گرده در دمای پایین‌تر از ۸ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد آسیب می‌بینند (حسین‌آوا و شمس‌کیا، ۱۳۹۲).

در اغلب گیاهان تحت تنش دمای پایین، اختلالات فیزیولوژیکی و سلولی از جمله افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال[4] مانند یون سوپراکسید[5] و پراکسید هیدروژن[6] و در نتیجه آسیب‌های شدید اکسیداتیو رخ می‌دهد. در واکنش به این تغییرات و طی پاسخ دفاعی گیاه، مجموعه‌ای از مکانیسم‌های آنزیمی (از جمله پراکسیدازها[7]، آسکوربات‌پراکسیداز[8]، گایاکول پراکسیداز[9]، سوپراکسیددیسموتاز[10]، کاتالاز[11] و ...) و غیرآنزیمی (آسکوربات، گلوتاتیون، کاروتنوئیدها و ...) ایجاد می‌شود (ریتونگا و چن[12]، ۲۰۲۰؛ دریر و دایتز[13]، ۲۰۱۸؛ شارما و احمد[14]، ۲۰۱۴؛ لوکاتکین[15] و همکاران، ۲۰۱۲؛ گیل و توتجا[16]، ۲۰۱۰؛ آرورا[17] و همکاران، ۲۰۰۲).

هزینه‌های زیاد و عدم کارایی مناسب روش‌های سنتی مقابله با سرمازدگی، موجب گسترش تحقیقات مرتبط با شیوه‌های نوین و شناسایی ترکیبات مؤثر در افزایش مقاومت محصولات مختلف کشاورزی به سرما شده است. مطالعات مربوط به ترکیبات ضدسرما به‌منظور محافظت گیاهان در برابر تنش‌های سرمایی از سال ۱۹۶۰ آغاز شده و نتیجه تلاش محققان تاکنون منجر به ارائه بیش از ۲۰

1. FAO
2. Botta
3. An
4. ROS
5. O_2^-
6. H_2O_2
7. Peroxidases
8. Ascorbate Peroxidase
9. Guaiacol Peroxidase
10. Superoxide Dismutase
11. Catalase
12. Ritonga and Chen
13. Dreyer and Dietz
14. Sharma and Ahmad
15. Lukatkin
16. Gill and Tuteja
17. Arora

ترکیب ضدیخ در بازارهای جهانی شده است (رومن فیگورا[1] و همکاران، ۲۰۲۱). ما[2] و همکاران (۲۰۱۹)، اثر کاربرد پتاسیم در افزایش دانه‌بندی و عملکرد گندم تحت تنش سرمازدگی را گزارش کردند. تأثیر سایر ضدیخ‌های طبیعی و ترکیبات مصنوعی ضدتنش از جمله اسید سالیسیلیک، تیوفر، بیوبلوم و اسید آمینه در افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در واکنش‌های دفاعی گیاهان و در نتیجه تحمل و مقاومت گیاهان مختلف مانند پسته، انگور، سیب‌زمینی و غیره نسبت به سرمازدگی و یخزدگی گزارش شده است (حاجی‌وند[3] و همکاران، ۲۰۲۲؛ رومن فیگورا و همکاران، ۲۰۲۱؛ حاجی‌وند و رحمتی، ۱۳۹۷؛ سنتیناری[4] و همکاران، ۲۰۱۶؛ نجاتیان و همکاران، ۲۰۱۶؛ دارینی[5] و همکاران، ۲۰۱۳؛ ونگ[6] و همکاران، ۲۰۰۹). با توجه به خطر سرمازدگی درختان فندق در کشور و عدم کارایی مناسب روش‌های سنتی برای کاهش خسارت، این تحقیق با هدف بررسی اثر ترکیبات مختلف بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مؤثر در القاء مقاومت به سرما در درختان فندق انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ فندق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین واقع در منطقه الموت انجام شد. آزمایشات فاکتوریل بر مبنای طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و دو فاکتور اصلی در شرایط دمای طبیعی (کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد) انجام شد که فاکتور اول ترکیب ضدتنش با شش سطح (تیوفر: محصول تجاری میکروبیولوژیک غنی شده با باکتری *Thiobacillus*، ۵ میلی‌گرم در لیتر؛ بیوبلوم: کود ارگانیک، ۶۶ میلی‌گرم در لیتر؛ های‌پتاس: کود غنی از پتاسیم، ۲ میلی‌گرم در لیتر؛ اسید سالیسیلیک: تنظیم‌کننده رشد در گیاهان، ۳ میلی‌گرم در لیتر؛ اسید آمینه: محصول تجاری تهیه شده از مخلوطی از اسید آمینه‌ها، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و آب)، و فاکتور دوم بافت گیاه با سه سطح (گل نر، گل ماده، جوانه رویشی برگ) بود. درختان فندق در چهار مرحله (قبل از ریزش برگ‌ها، تورم جوانه‌ها، ظهور گل‌ها و گل‌دهی کامل) با ترکیبات ضدتنش به طور کامل محلول‌پاشی شدند. پس از آخرین مرحله محلول‌پاشی و کاهش دما به زیر صفر درجه سانتی‌گراد و وقوع پدیده سرمازدگی بهاره در منطقه (شکل ۱)، از گل‌های نر و ماده و جوانه رویشی برگ نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها بلافاصله به تانک حاوی ازت مایع منتقل شده و پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان استخراج آنزیم‌ها، در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج عصاره آنزیم

تهیه عصاره آنزیمی به روش مک‌آدم[7] و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. بدین منظور، ابتدا محلول‌های ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم و بافر فسفات‌سدیم ۰/۱ مولار (pH=7) به‌طور جداگانه تهیه شدند. سپس ۵۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید پتاسیم و ۵۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات‌سدیم با یکدیگر مخلوط شدند. سپس، ۰/۱ گرم بافت گیاهی با ۱۰ میلی لیتر از محلول مذکور در هاون چینی خوب ساییده شده و مخلوط حاصل با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و فاز رویی به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور حفظ فعالیت آنزیم، همه مراحل استخراج آنزیم روی یخ انجام شد.

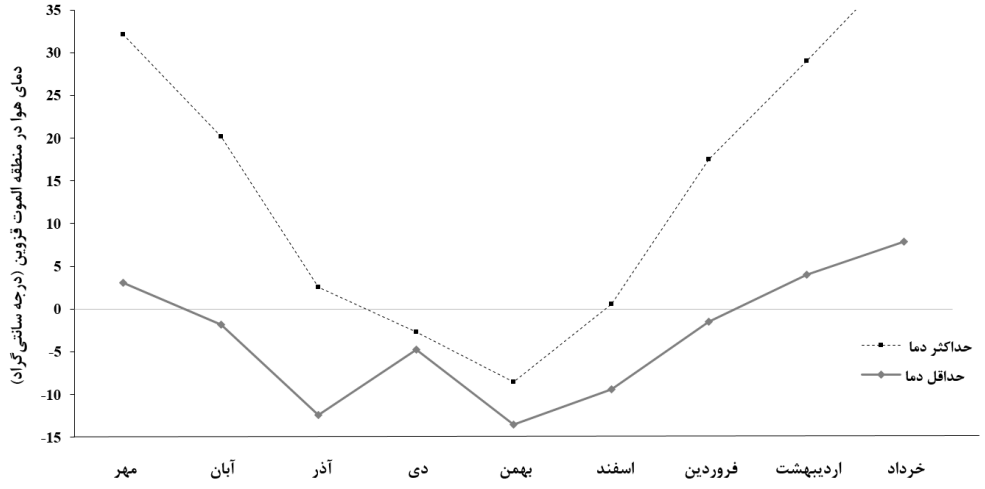
سنجش میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش لین و کائو[8] (۱۹۹۹) با اندکی تغییرات استفاده شد. بدین منظور، ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر از محلول واکنش که شامل؛ ۱۳ میلی‌مولار گایاکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم است مخلوط شده و جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه با اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش ناکانو و آسادا[9] (۱۹۸۱) استفاده شد. بر اساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول واکنش (ترکیبی از ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار اسید آسکوربیک و ۰/۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن) مخلوط و پس از یک

1. Roman-Figueroa
2. Ma
3. Hajivand
4. Centinari
5. Darini
6. Wang
7. Mac Adam
8. Lin and Kao
9. Nakano and Asada



شکل ۱- حداقل و حداکثر دمای هوا در منطقه الموت قزوین در طول دوره آزمایش

دقیقه، جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش دهیندزا[1] و همکاران (۱۹۸۱) استفاده شد. بدین منظور، ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با یک میلی‌لیتر محلول واکنش (شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن) مخلوط شد. سپس به مدت یک دقیقه جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد.

سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

ارزیابی میزان فعالیت این آنزیم طبق روش جیانوپولیتیس و ریس[2] (۱۹۹۷) انجام شد. مخلوط واکنش شامل؛ بافر HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار (pH=7)، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار ، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=10.2)، L-methionine ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ ماکرولیتر عصاره آنزیمی بود. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفتند و پس از این مدت، جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

آنالیزهای آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس فعالیت کمی آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز، کاتالاز و سوپر اکسیددیسموتاز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میزان فعالیت این آنزیم‌ها بودند به‌طوری‌که نتایج تجزیه واریانس تیمارها در اندام‌های مختلف (گل نر، گل ماده، جوانه برگ) در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

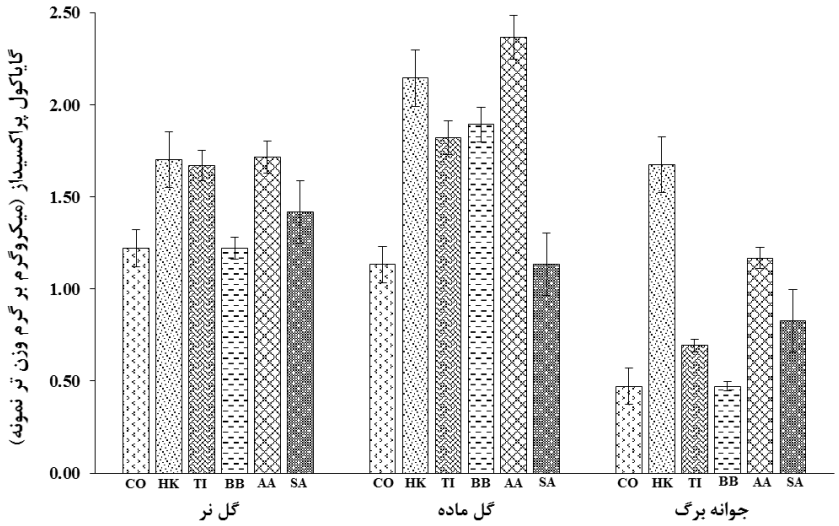
بررسی میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز نشان داد که به‌طور کلی تیمارهای اسید آمینه و های‌پتاس موجب بیشترین افزایش فعالیت این آنزیم در بافت‌های مختلف درختان فندق شدند. در گل ماده، اسید سالیسیلیک و در جوانه برگ، بیوبلوم در مقایسه با شاهد اثر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم نشان ندادند (شکل ۲). حاجی‌وند و همکاران (۲۰۲۲)، افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ درختان پسته تحت تنش سرمایی پس از محلول‌پاشی با ترکیبات ضدیخ مانند تیوفر، بیوبلوم، اسید سالیسیلیک و کراپ‌اید را گزارش کردند. نتایج پژوهش دیگر نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در بوته‌های انگور قرمز بی‌دانه محلول‌پاشی شده با اسید سالیسیلیک تیوفر، بیوبلوم و کراپ‌اید بوده است (حاجی‌وند و رحمتی، ۱۳۹۷).

1. Dhindsa
2. Giannopolitis and Reis

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر ترکیب ضدتنش و بافت گیاه بر میزان فعالیت آنزیم‌های گایاکول‌پراکسیداز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز

منبع تغییرات	درجه آزادی	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز	گایاکول پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۰۲۷۳	۰/۰۳۳۲	۰/۰۰۰۴	۳/۰۴۰۱
بافت گیاه	۲	۱/۰۱۴۲	۸/۲۸۸۰**	۰/۰۸۳۵**	۳/۲۳۲۵**
ترکیب ضد تنش	۵	۰/۰۲۰۹**	۰/۲۳۲۴**	۰/۰۰۰۹**	۰/۹۴۷۴**
بافت گیاه × ترکیب ضد تنش	۱۰	۰/۰۰۹۲**	۰/۱۸۰۵**	۰/۰۰۱۶**	۰/۲۰۱۱**
خطای آزمایشی	۳۴	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۵۳	۰/۰۰۰۰	۰/۰۵۸۱
ضریب تغییرات		۰/۰۳	۵/۴۷	۶/۸۸	۷/۶۵

**نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد.



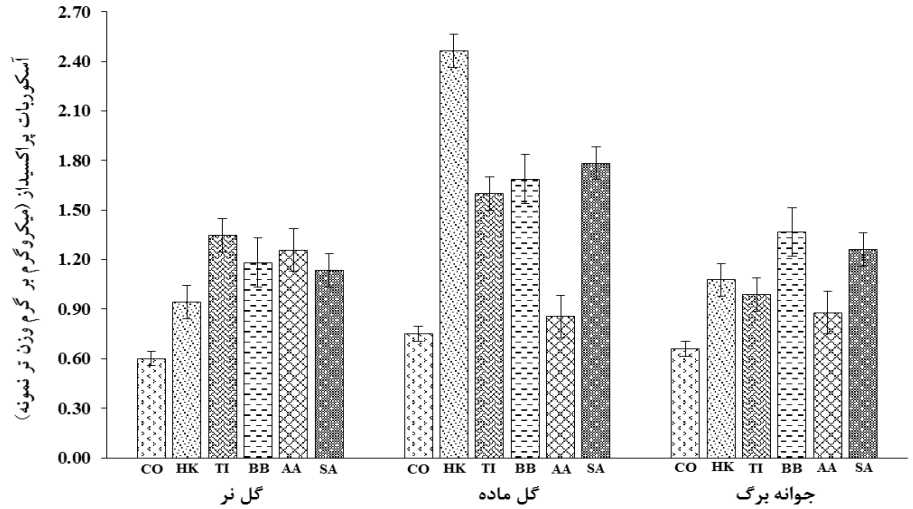
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش و بافت گیاه بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در گل نر، گل ماده و جوانه برگ فندق (CO: کنترل، HK: های‌پتاس، TI: تیوفر، BB: بیوبلوم، AA: اسید آمینه و SA: اسید سالیسیلیک). ستون‌های با ارور بارهای همپوشان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

پرهیزکار و همکاران (۱۳۸۱)، گزارش کردند که تحت تنش سرما و در دمای پایین، پایه‌هایی از یک گونه که دارای فعالیت پراکسیدازی بیشتری هستند، مقاومت بیشتری نسبت به سایر پایه‌ها از خود نشان می‌دهند. نتایج این پژوهش‌ها با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد. گایاکول‌پراکسیدازها آنزیم‌های حاوی آهن هستند که در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی از جمله سنتز لیگنین نقش دارند. علاوه بر این، نقش آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تحت تنش سرما گزارش شده است. میزان فعالیت این آنزیم به نوع گیاه، نوع تنش و شدت تنش بستگی دارد (کاورزان[1] و همکاران، ۲۰۱۶).

بررسی میزان فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز نشان داد که اکثر ترکیبات ضدتنش مورد استفاده موجب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در بافت‌های مختلف درختان فندق در مقایسه با شاهد شدند. اگرچه، اسید سالیسیلیک، بیوبلوم و تیوفر موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم در گل ماده شدند، های‌پتاس تأثیر بسیار قابل توجهی در افزایش فعالیت این آنزیم داشت. در جوانه برگ و گل نر اثر همه تیمارها در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود (شکل ۳).

حاجی‌وند و رحمتی (۱۳۹۷)، افزایش میزان فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز را در بوته‌های انگور قرمز بی‌دانه محلول‌پاشی شده با اسید سالیسیلیک، تیوفر، بیوبلوم و

1. Caverzan



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش و بافت گیاه بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در گل نر، گل ماده و جوانه برگ فندق (CO: کنترل، HK: های‌پتاس، TI: تیوفر، BB: بیوبلوم، AA: اسید آمینه و SA: اسید سالیسیلیک). ستون‌های با اروربارهای همپوشان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

کراپ‌اید گزارش کردند. ونگ[1] و همکاران (۲۰۰۹)، گزارش کردند که اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز در ذرت شد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی را در تجزیه پراکسید هیدروژن و محافظت از سلول‌ها بر عهده دارد. این آنزیم در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون با استفاده از آسکوربات احیاء شده به عنوان دهنده الکترون، باعث تبدیل پراکسید هیدروژن به آب می‌شود (کاورزان و همکاران، ۲۰۱۶؛ کاورزان و همکاران، ۲۰۱۲).

به‌طور کلی، اکثر ترکیبات ضدتنش مورد استفاده موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گل‌های نر و ماده درختان فندق در مقایسه با شاهد شدند. در جوانه رویشی برگ نیز تیمارهای های‌پتاس، بیوبلوم و تیوفر باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شدند در حالی که اثر اسید سالیسیلیک و اسید آمینه در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود. در گل ماده بیشترین افزایش آنزیم مربوط به تیمار بیوبلوم بود و اسید سالیسیلیک اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم نداشت. در گل نر، بیشترین اثر را اسید آمینه و کمترین اثر را اسید سالیسیلیک بر افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان دادند (شکل ۴).

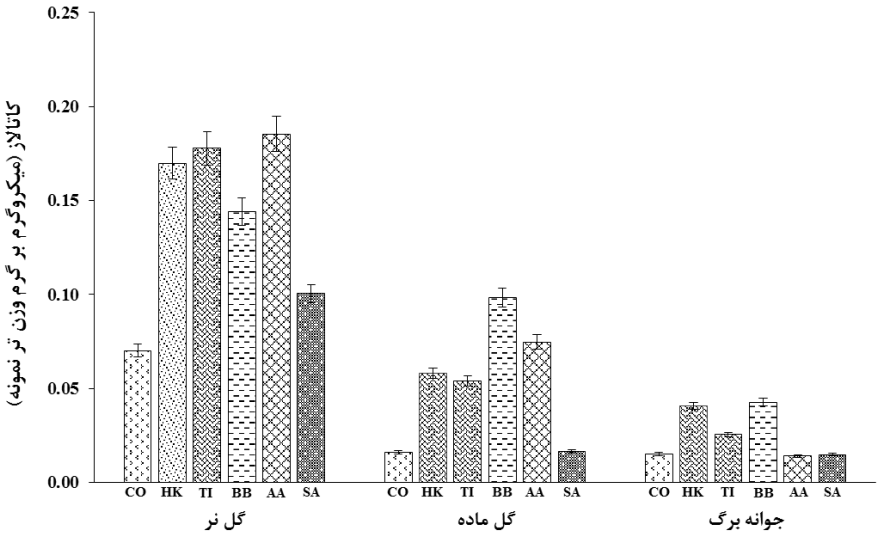
کاتالاز یک آنتی‌اکسیدان آنزیمی است که در حفاظت از سلول‌های گیاهی در مقابل تنش‌های محیطی نقش مهمی بر عهده دارد و پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند (شارما و احمد، ۲۰۱۴). نتایج تحقیقات متعددی حاکی از افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تنش سرمایی بوده است (درپر و دایتز، ۲۰۱۸). حاجی‌وند و همکاران (۲۰۲۲)، اثر برخی ترکیبات ضدیخ مانند بیوبلوم، اسید سالیسیلیک و اسید آمینه در افزایش فعالیت این آنزیم در برگ درختان پسته تحت تنش سرمایی را گزارش کردند.

بر اساس نتایج حاصل از بررسی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گل نر، گل ماده و جوانه برگ اکثر تیمارها نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان دادند. در گل نر، اسید سالیسیلیک و تیوفر، در گل ماده اسید سالیسیلیک و در جوانه برگ اسید سالیسیلیک و بیوبلوم بیشترین اثر معنی‌دار را در افزایش مقادیر آنزیم داشتند. در گل ماده و جوانه برگ اثر های‌پتاس در مقایسه با شاهد معنی‌دار نبود (شکل ۵).

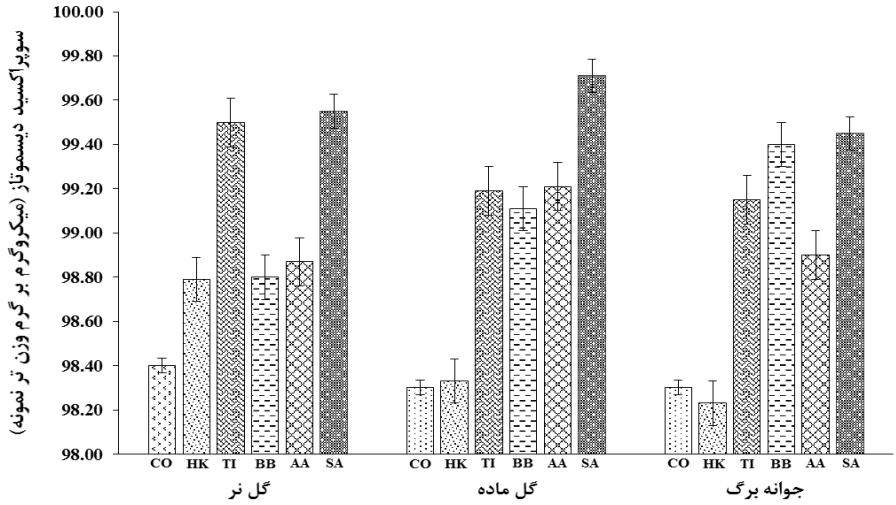
ونگ[2] و همکاران (۲۰۱۸)، افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در پایه‌های سیب قرار گرفته در معرض دماهای کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد را گزارش کردند. در مطالعه روی گیاه جو که یک دوره دمای زیر صفر را گذرانده بود، آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در اثر تنش یخزدگی افزایش یافتند (الین و کلارک[3]، ۱۹۹۵). بررسی تغییر فعالیت آنتی اکسیدان‌های

1. Wang

2. Wang
3. Olien and Clark



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش و بافت گیاه بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گل نر، گل ماده و جوانه برگ فندق (CO: کنترل، HK: های‌پتاس، TI: تیوفر، BB: بیوبلوم، AA: اسید آمینه و SA: اسید سالیسیلیک). ستون‌های با اروربارهای همپوشان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیبات ضدتنش و بافت گیاه بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گل نر، گل ماده و جوانه برگ فندق (CO: کنترل، HK: های‌پتاس، TI: تیوفر، BB: بیوبلوم، AA: اسید آمینه و SA: اسید سالیسیلیک). ستون‌های با ارور بارهای همپوشان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD ندارند.

آنزیمی در هشت رقم کلزا در پاسخ به تنش خشکی نشان داد که فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در پاسخ به تنش خشکی افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت (عابدی و پاک‌نیت[1]، ۲۰۱۰). در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرما، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش، فعالیت کاتالاز کاهش و فعالیت پراکسیداز ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان دادند (وی[2] و همکاران، ۲۰۰۹). سوپراکسیددیسموتازها نخستین خط دفاعی علیه گونه‌های اکسیژن فعال افزایش یافته در اثر تنش‌های غیرزنده هستند. این آنزیم‌ها تغییر شکل رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن را کاتالیز کرده و نقش مهمی در حفاظت از سلول‌ها در مقابل اثرات سمی رادیکال‌های سوپراکسید تولید شده در بخش‌های مختلف سلول ایفا می‌کنند (سیبی و برینی[3]، ۲۰۱۸؛ الشر[4] و همکاران، ۲۰۰۲؛ کلیر[5] و همکاران، ۱۹۸۴).

1. Abedi and Pakniat
2. Wei
3. Saibi and Brini
4. Alscher
5. Clare

نتیجه‌گیری کلی

تنش‌های مختلف از جمله دمای پایین و سرمازدگی موجب افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز می‌شوند که میزان تغییرات به سطح تنش اعمال شده، گونه و رقم گیاه و نوع آنزیم بستگی دارد. نتایج مطالعات مختلف حاکی از تأثیر مثبت افزایش میزان فعالیت این آنزیم‌ها در کاهش غلظت ترکیبات سمی تولید شده در سلول‌ها در اثر دمای پایین و سرمازدگی و در نتیجه افزایش تحمل گیاهان مختلف نسبت به تنش سرمایی می‌باشد. به‌طور کلی بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر، اسید سالیسیلیک، های‌پتاس و اسید آمینه بیشترین اثر و بیوبلوم و تیوفر کمترین اثر را در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در درختان فندق داشتند. کاربرد این ترکیبات به ویژه اسید سالیسیلیک، های‌پتاس و اسید آمینه می‌تواند منجر به افزایش سطح آنزیم‌های مؤثر در پاسخ‌های دفاعی گیاه از جمله سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول‌پراکسیداز، آسکوربات‌پراکسیداز و کاتالاز شده و در کاهش خسارات ناشی از دماهای پایین در درختان فندق مؤثر واقع شود. از این‌رو، محلول‌پاشی درختان فندق با این ترکیبات در مناطقی که خطر سرمازدگی و یخزدگی وجود دارد به‌عنوان یکی از راه‌کارهای مناسب جهت کاهش خسارت پیشنهاد می‌شود.

منابع

احمدی، ک.، عبادزاده، ح.ر.، حاتمی، ف.، حسین‌پور، ر. و عبدشاه، ح. ۱۳۹۹. آمارنامه کشاورزی ۱۳۹۸. مرکز آمار و اطلاعات، انتشارات جهاد کشاورزی، تهران، ۲۳۳ ص.

پرهیزکار، پ.، علی‌احمدکروری، س.، مراقبی، ف. و عادلی، الف. ۱۳۸۱. آنزیم پراکسیداز آنزیمی جهت یافتن پایه‌های مقاوم. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۵۶ و ۵۷: ۴۴-۴۷.

حاجی‌وند، ش. و رحمتی، م. ۱۳۹۷. تأثیر مواد ضدیخ در شرایط باغی بر مواد بیوشیمیایی مؤثر در مقاومت به سرمای انگور. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۳۲(۱): ۱۵۹-۱۷۰.

حسین‌آوا، س. و شمس‌کیا، ف. ۱۳۹۲. راهنمای کاربردی پرورش فندق. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ۱۵۲ ص.

نجاتیان، م.ع.، گل‌محمدی، م.، رسولی، و. و حاجی‌وند، ش. ۱۳۹۴. القاء مقاومت به سرما بر درختان زردآلو با استفاده از مواد شیمیایی در استان قزوین. نهمین کنگره علوم باغبانی ایران، اهواز.

Abedi, T. and Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 46(1): 27-34.

Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 53(372): 1331-1341.

An, N., Turp, M.T., Türkeş, M. and Kurnaz, M.L. 2020. Mid-term impact of climate change on hazelnut yield. Agriculture, 10(5): 159-179.

Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, pp.1227-1238.

Botta, R., Molnar, T.J., Erdogan, V., Valentini, N., Torello Marinoni, D. and Mehlenbacher, S.A. 2019. Hazelnut (*Corylus* spp.) breeding. Advances in Plant Breeding Strategies: Nut and Beverage Crops: 4: 157-219.

Caverzan, A., Casassola, A. and Brammer, S.P. 2016. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. Abiotic and biotic stress in plants-recent advances and future perspectives, 17: 463-480.

Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S.B., Ribeiro, C.W., Lazzarotto, F. and Margis-Pinheiro, M. 2012. Plant responses to stresses: role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. Genetics and Molecular Biology, 35: 1011-1019.

Centinari, M., Smith, M.S. and Londo, J.P. 2016. Assessment of freeze injury of grapevine green tissues in response to cultivars and a cryoprotectant product. HortScience, 51(7): 856-860.

Clare, D.A., Rabinowitch, H.D. and Fridovich, I. 1984. Superoxide dismutase and chilling injury in Chlorella ellipsoidea. Archives of Biochemistry and Biophysics, 231(1): 158-163.

Darini, A., Fathi, Q.A., Qarineh, M.H., Saied, K.A., Khodadadi, M. and Siadat, S.A.A. 2013. Effect of planting date and application of anti-freeze on the yield and yield components of potato cultivars under cold stress (case study: fall planting of potatoes in the tropics of Iran). International Journal of Agronomy and Plant Production, 4(11): 3028-3038.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32(1): 93-101.

Dreyer, A. and Dietz, K.J. 2018. Reactive oxygen species and the redox-regulatory network in cold stress acclimation. Antioxidants, 7(11): 169-184.

FAO, 2021. Statistical database of FAO. Available online at: http://www.fao.org. Accessed 10 September 2021.

Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59(2): 309-314.

Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930.

Hajivand, S., Kashanizadeh, S. and Javanshah, A. 2022. Effects of different antifreeze chemicals on late spring frost in pistachio. Protoplasma, 259: 91-102.

Lin, C.C. and Kao, C.H. 1999. NaCl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedlings. Plant and Soil, 216: 147-153.

Lukatkin, A.S., Brazaityte, A., Bobinas, C. and Duchovskis, P. 2012. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. Agriculture, 99(2): 111-124.

Ma, Q., Bell, R. and Biddulph, B. 2019. Potassium application alleviates grain sterility and increases yield of wheat (*Triticum aestivum*) in frost-prone Mediterranean-type climate. Plant and Soil, 434: 203-216.

MacAdam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E. 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiology, 99(3): 872-878.

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22(5): 867-880.

Olien, C.R. and Clark, J.L. 1995. Freeze-induced changes in carbohydrates associated with hardiness of barley and rye. Crop Science, 35(2): 496-502.

Ritonga, F.N. and Chen, S. 2020. Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants. Plants, 9(5): 560-573.

Román-Figueroa, C., Bravo, L., Paneque, M., Navia, R. and Cea, M., 2021. Chemical products for crop protection against freezing stress: A review. Journal of Agronomy and Crop Science, 207(3): 391-403.

Saibi, W. and Brini, F. 2018. Superoxide dismutase (SOD) and abiotic stress tolerance in plants: An overview. Superoxide Dismutase: Structure, Synthesis and Applications; Magliozzi, S., Ed, pp:101-142.

Sharma, I. and Ahmad, P. 2014. Catalase: a versatile antioxidant in plants. In Oxidative damage to plants. Academic Press, pp: 131-148)

Wang, H., Feng, T., Peng, X., Yan, M. and Tang, X. 2009. Up-regulation of chloroplastic antioxidant capacity is involved in alleviation of nickel toxicity of Zea mays L. by exogenous salicylic acid. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72(5): 1354-1362.

Wang, Y.X., Ya, H.U., Chen, B.H., Zhu, Y.F., Dawuda, M.M. and Svetla, S. 2018. Physiological mechanisms of resistance to cold stress associated with 10 elite apple rootstocks. Journal of Integrative Agriculture, 17(4): 857-866.

Wei, L., Xi-Zhen, A., Wen-Juan, L., Hong-Tao, W., Sheng-Xue, L. and Nan, Z. 2009. Effects of salicylic acid on the leaf photosynthesis and antioxidant enzyme activities of cucumber seedlings under low temperature and light intensity. Yingyong Shengtai Xuebao, 20(2): 441-445.