مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۶ شماره ۲ صفحه‌های ۱۲۵ تا ۱۳۶ (۱۴۰۴)
مقاله پژوهشی

# تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و پروهگزادیون کلسیم بر میزان مقاومت به یخزدگی شکوفه‌های زردآلوی رقم تبرزه

# The Effect of Different Concentrations of Salicylic Acid and Prohexadione Calcium on Freezing Resistance of Blossoms in Apricot Cultivar "Tabarzeh"

**جعفر حاجیلو[۱]، سهیلا محمدرضاخانی[۲*] و زهرا صفری[۱]**

۱. بخش باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، آذربایجان شرقی، ایران

۲. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Smohammadrezakhani@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۲۷

## چکیده

پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تاثیر دو تنظیم‌کننده رشد بر میزان مقاومت به یخزدگی شکوفه‌های زردآلوی رقم تبرزه انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با سه تیمار دمایی (صفر، ۱/۵- و ۳- درجه سلسیوس) و دو تنظیم‌کننده رشد [پروهگزادیون کلسیم (۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسید سالیسیلیک (نیم و یک میلی‌مولار)]، به همراه شاهد بر پایه طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. صفاتی نظیر درصد مادگی سالم، درصد جوانه‌زنی دانه گرده، درصد نشت یونی، غلظت پرولین آزاد و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شامل کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که از نظر خسارت به مادگی در رقم مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری بین دماهای اعمال شده و تنظیم کننده‌های رشد وجود داشت. درصد مادگی سالم در دمای منفی سه درجه‌سلسیوس نسبت به دمای صفر درجه سلسیوس سه برابر کاهش یافته است. کاهش دما سبب کاهش درصد جوانه‌زنی دانه گرده شده، در حالی که تیمار با تنظیم کننده‌های رشد سبب افزایش درصد جوانه‌زنی دانه گرده شد. تیمارهای اعمال شده، تاثیری در میزان نشت یونی و غلظت پرولین نداشتند. به طورکلی، کاربرد اسید سالیسیلیک و پروهگزادیون کلسیم، برای افزایش مقاومت به یخزدگی شکوفه‌های زردآلو نتایج مثبتی را نشان داده است.

**واژه‌های کلیدی:** آنتی اکسیدان، تیمار، جوانه‌زنی، مقاومت، یخزدگی.

## مقدمه

خسارت یخزدگی یکی از عوامل مهم محدود کننده تولید و گسترش گیاهان باغی است. سالیانه ۵ تا ۱۵ درصد تولیدات کشاورزی جهان، در اثر یخزدگی از بین می‌روند و تنها در حدود ۱۰ درصد از کل زمین‌های قابل کشت در جهان ممکن است بدون تنش یخزدگی باشند. میزان تنش یخزدگی در ایران دو و نیم تا سه درصد گزارش شده است و این در حالی است که این عارضه، در بعضی از مناطق کشور تا نابودی کل محصولات و به ویژه در مورد درختان میوه هسته‌دار گزارش شده است (Sahragard, 2007). زردآلو به عنوان یکی از مهم‌ترین درختان میوه هسته‌دار، دارای دوره گلدهی زود هنگام بوده، به طوری که در این محدوده زمانی امکان یخزدگی وجود دارد و با توجه به حساسیت گل‌های زردآلو نسبت به سرمای دیررس بهاره، خسارت ناشی از این پدیده گاهی مواقع قابل توجه است (Viti *et al*., 2010). همچنین در آب و هوای مناطق معتدله، یخزدگی‌های بهاره به عنوان یک عامل محیطی مهم، باردهی درخت زردآلو را به دلیل آسیب‌های شدید به جوانه‌ها، گل‌ها و میوه‌های نمو یافته، محدود می‌کند. این در حالی است که، در طول پاییز و زمستان، جوانه‌های گل در زردآلو در وضعیت رکود قرارگرفته و نسبت به یخ زدگی تحمل بالایی دارند. در شروع متورم شدن جوانه‌ها در مرحله اتمام دوره رکود در اواخر زمستان و اوایل بهار، تحمل به یخزدگی همراه با فعالیت مجدد رشد جوانه کاهش می‌یابد (Gunes, 2006). بنابراین به دلیل عادت گلدهی زودهنگام و به دنبال آن خسارت یخزدگی بهاره، نواحی تولید زردآلو محدود می‌باشد (Hormaza *et al*., 2007). ساختارهائی که گیاهان برای بالا بردن تحمل خود در برابر

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

تنش‌ها به کار می‌برند، شامل سازگاری‌های فیزیکی و تغیرات سلولی و مولکولی است که بلافاصله بعد از دریافت پیام‌های تنش، صورت گیرد (Knight and Knight, 2001).

مطالعات نشان داده است که برخی تنظیم کننده‌های رشد می‌توانند در مقاومت به سرما در گیاهان نقش اساسی داشته باشند. از جمله این تنظیم کننده‌های رشد، می‌توان به اسید سالیسیلیک و پروهگزادیون کلسیم اشاره کرد (Wang *et al.*, 2009). اسید سالیسیلیک در تحریک واکنش‌های دفاعی و افزایش مقاومت به سرمازدگی در گیاهان نقش دارد (Kang & Saltveit, 2002). کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک بر سرعت تولید انواع اکسیژن فعال (ROS)، تحت شرایط تنش تاثیر گذاشته و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را تغییر می‌دهد و از این طریق، مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزیستی را افزایش می‌دهد. همچنین کاربرد بیرونی اسید سالیسیلیک در گیاهان در برابر خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو، محافظت ایجاد می‌کند (Horvath *et al.*, 2007). مطالعات نشان داده که کاربرد اسید سالیسیلیک بیرونی می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را تنظیم نموده و مقاومت گیاه را نسبت به تنش‌های غیرزیستی افزایش دهد (He *et al.*, 2005). اسید سالیسیلیک همچنین می‌تواند واکنش گیاه را به دامنه وسیعی از تنش‌های اکسیداتیو تعدیل کند، بنابراین اسید سالیسیلیک در مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارد (Hayat *et al.*, 2010). به‌عبارتی اسید سالیسیلیک با افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان، به‌واسطه تولید موادی از جمله کاروتنوئیدها، باعث کاهش مقدار $H_2O_2$ و در نتیجه جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها شده و حفاظت بیش‌تری برای غشاهای سلولی در برابر این تنش‌ها ایجاد می‌کند (Tadjvar *et al.*, 2011).

مطالعات نشان داده که در اثر کاربرد پروهگزادیون کلسیم رشد و عملکرد گلابی‌های پرورش یافته تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش یافته است (Bekheta *et al.*, 2009). استفاده از این ماده در زمستان، با به تاخیر انداختن زمان باز شدن گل‌ها باعث مقاوم شدن گل‌ها به یخزدگی در خرمالو شده است (Kang *et al.*, 1998). دماهای پایین عامل ایجاد تنش‌اکسیداتیو در بافت‌های گیاه بوده، از این‌رو مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، برای کاهش خسارت یخزدگی مطرح هستند. پروهگزادیون کلسیم که به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد برای درختان دانه‌دار مطرح شده است، در درختان سیب وگلابی از طریق تولید فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی، منجر به کاهش شیوع بیمارگرها می‌شود. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی همچنین به عنوان از بین برنده رادیکال‌های آزاد اکسیژن شناخته شده‌اند (Albrecht *et al.*, 2004).

سازگاری به تنش سرما در نتیجه مکانیزم‌های پیچیده بیوشیمیایی است که منجر به افزایش تجمع قندهای محلول، افزایش مکانیزم‌های ضد اکسیداسیون و تغییر در ترکیبات لیپیدی غشا می‌شود (Poirier *et al.*, 2010). گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی از جمله دمای کم با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی، مقاومت خود را به دمای کم افزایش می‌دهند. پرولین، به عنوان یک اسمولیت طبیعی با تنظیم کردن پتانسیل اسمزی، نقش مهمی در جلوگیری از هدر رفتن آب درون سلولی در شرایط تنش ایفاد می‌کند. پرولین تحت شرایط تنش، نقش‌های متنوعی، مانند تثبیت پروتئین، غشا و ساختارهای سلولی و محافظت از اعمال سلولی توسط از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن دارد (Schreiber *et al.*, 2013). پلی‌آمین‌ها از طریق جذب رادیکال‌های آزاد، ثبات و پایداری پروتئین‌ها و غشاها در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها نقش دارد (Roosens *et al.*, 2002). در سال‌های اخیر، اهمیت آمینواسیدها در مقابله با تنش‌ها در گیاهان به‌طور وسیعی آشکار شده است و توجه زیادی در علوم پایه و کاربردی گیاهی را به خود جلب کرده است. در پژوهشی گزارش شد که تیمار سیستئین، در میوه‌های آلو باعث کاهش آسیب سرمازدگی و قهوه‌ای شدن درونی می‌شود (Binin Sogvar *et al.*, 2020).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات اسید سالیسیلیک و پروهگزادیون کلسیم بر میزان افزایش مقاومت شکوفه‌های زردآلو به یخزدگی بود تا در نهایت بتوان با استفاده از تیمارهای مناسب شکوفه‌ها را از یخزدگی محافظت کرد.

## مواد و روش ها

شاخه‌های گلدار هم قطر و هم اندازه درختان زردآلو رقم تبرزه در ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان در مرحله فنولوژیکی E (از مراحل تمایز جوانه گل و یک مرحله قبل از باز شدن کامل گل) ساعات اولیه صبح جهت انجام تیمارها انتخاب و سپس شاخه‌ها برای اعمال تیمارها به آزمایشگاه بیولوژی گلدهی واقع در دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز منتقل شدند. محلول‌پاشی با تنظیم



[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

کننده‌های رشد پروهگزادیون کلسیم صفر، ۴۰ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر و اسید سالیسیلیک نیم و یک میلی‌مولار در روی گل‌ها انجام شد، به طوری که گل‌ها کاملا خیس شدند. شمارش تعداد گل‌ها قبل از تیمار سرمایی انجام گرفت. شاخه‌های تیمار شده ۲۴ ساعت پس از استفاده از تنظیم کننده‌های رشد در تیمار سرمایی (صفر، ۱/۵- و ۳- درجه سلسیوس) به مدت سه ساعت قرار گرفتند. رطوبت نسبی سردخانه حدود ۷۰ تا ۷۵ درصد تنظیم شد. شاخه‌ها پس از سه ساعت قرار گرفتن در تیمار سرمایی به دمای اتاق (۲۴-۲۰ درجه‌سلسیوس) منتقل شدند. دانه گرده بعد از تیمار سرمایی جمع آوری شده و بعد از ۲۴ ساعت صفات مورد نظر مورد ارزیابی قرار گرفت (Gunes, 2006; Albrecht *et al*., 2004). این پژوهش به صورت فاکتوریل با فاکتور اول در سه سطح دمایی (صفر، ۱/۵- و ۳- درجه سلسیوس) و فاکتور دوم در پنج سطح تنظیم کننده‌های رشد (اسید سالیسیلیک در دو غلظت، پروهگزادیون کلسیم در دو غلظت، و شاهد [بدون استفاده از تنظیم کننده‌های رشد]) در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا شد.

**ارزیابی درصد مادگی‌های سالم**

در مورد درختان و برای تشخیص گل‌ها و جوانه‌های یخزده در خسارت یخزدگی، قهوه‌ای شدن بافت به عنوان ملاک - دیداری خسارت استفاده می‌شود (Kang *et al*., 1998). بر این اساس میزان قهوه‌ای شدن بعد از ۲۴ ساعت به صورت مشاهده و بررسی چشمی تعیین شد. به این منظور، به وسیله اسکالپل اندام‌های گل (کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها و پرچم‌ها) جدا شدند و درصد مادگی خسارت دیده محاسبه گردید (Gunes, 2006).

**محاسبه درصد جوانه‌زنی گرده**

بعد از تیمار سرمایی و انتقال شاخه‌ها به دمای اتاق (۲۴- ۲۰ درجه سلسیوس) و قبل از باز شدن گل، به منظور تعیین اثر تنظیم کننده‌های رشد بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده، بساک‌ها با استفاده از پنس جمع‌آوری شده و در یک پتری دیش قرار داده شدند. پس از ۴۸ ساعت گرده‌های آزاد شده به داخل لوله‌های آزمایش منتقل شده و در دمای ۵ درجه سلسیوس به مدت سه روز در یخچال نگهداری شدند. بعد از کشت گرده‌ها روی محیط کشت با ترکیب ۱۵ درصد ساکارز و ۱/۲ درصد آگار، پتری دیش‌ها در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در ژرمیناتور فرآیند جوانه‌زنی با افزودن چند قطره کلروفرم متوقف شد.

محاسبه درصد جوانه‌زنی دانه گرده با کمک میکروسکوپ نوری انجام گرفت. به این ترتیب که تعداد گرده جوانه زده در یک میدان دید میکروسکوپی از هر نمونه شمارش گردید. این عمل در مورد هفت میدان دید که به صورت تصادفی از هر نمونه انتخاب شده بود جداگانه بررسی شد. میانگین ۲۸ بار شمارش (هفت میدان دید در هر تکرار) به عنوان شاخصی برای تعیین درصد جوانه‌زنی دانه گرده برای هر ترکیب تیماری به کار رفت. به منظور اجتناب از اثر توده‌ای (تحریک جوانه‌زنی و رشد لوله گرده وقتی که تعداد دانه گرده در واحد سطح زیاد باشد) شمارش تعداد دانه گرده از میدان‌هایی صورت گرفت که دانه‌های گرده به طور یکنواخت توزیع شده بودند (Hajilou *et al.,* 2000).

**اندازه‌گیری درصد نشت یونی**

به منظور اندازه‌گیری درصد نشت یونی، یک گرم از شکوفه‌های در مرحله E فنولوژیکی زردآلو تهیه شد و سپس برش داده شدند. برای حذف الکترولیت‌های جذب سطحی شده سه بار با آب دیونیزه شده شست و شو شدند. در ادامه نمونه‌ها در ده میلی‌لیتر آب دیونیزه شده قرار داده شده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس روی شیکر قرار گرفتند. در مرحله بعد هدایت الکتریکی بر حسب µS با دستگاه EC Conductivity Meter ساخت کشور پرتقال تعیین شد و سپس نمونه‌ها در دمای ۱۲۰ درجه‌سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند و هدایت الکتریکی نهایی (Lo) بعد از تعادل در ۲۵ درجه‌سلسیوس به دست آمد و نهایتا نشت یون‌ها با استفاده از فرمول زیر تعیین شد (Tuna *et al*., 2007).

1) نشت الکترولیت ٪ EL = (Lt/Lo) 100

**اندازه‌گیری غلظت پرولین**

غلظت پرولین در شکوفه‌ها به روش نین هیدرین بیتس و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. در این روش نیم گرم شکوفه در مرحله E فنولوژیکی وزن شده و با ده میلی‌لیتر سولفواسید سالیسیلیک سه درصد مخلوط و ساییده شد. مخلوط همگن به مدت پنج دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفوژ از عصاره حاصل یک میلی‌لیتر در لوله آزمایش ریخته و



[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

یک میلی‌لیتر معرف اسید نین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن افزوده شد. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، به هر لوله آزمایش دو میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده شدند. در این حالت دو فاز تشکیل گردید و پرولین وارد فاز تولوئن شد که یک فاز قرمز رنگ در قسمت بالای لوله‌ها تشکیل شد. میزان جذب نمونه‌های استخراج شده (فاز رنگی) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل T60- PG Instruments (شکل ۲-۲) ثبت گردید. با استفاده از فرمول زیر محاسبات مربوطه انجام شد:

$$\text{غلظت پرولین } C=\frac{\text{جذب}(A)}{\text{ضریب خاموشی}(\Sigma)} \quad (2$$

میزان ضریب جذب خاموشی در این فرمول $\mu$ ۲۴/۳$mol^{-1}.cm^{-1}$ می‌باشد.

**سنجش پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی**

استخراج آنزیم‌های شکوفه در مرحله E فنولوژیکی با استفاده از بافر فسفات یک دهم مولار با pH هفت حاوی دو دهم درصد پلی وینیل پیرولیدین (PVP)، در روی یخ و هاون چینی انجام شد. به ازای یک گرم ماده تر، سه میلی لیتر بافر استخراج استفاده شد. محلول یکنواخت شده با سرعت ۱۴۰۰۰g در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفوژ، عصاره رویی را جدا کرده و از آن برای سنجش آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و پروتئین محلول استفاده شد (Bradford, 1967).

**آنزیم کاتالار**

فعالیت آنزیم کاتالاز (Catalysis, CAT, EC :1.11.1.6) به وسیله کاهش در جذب $H_2O_2$ در۲۴۰ نانومتر از طریق اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. آنزیم در بافر فسفات یک دهم مولار ( pH هفت) استخراج شد. محلول واکنش حاوی سه میلی لیتر بافر TS[1] (pH ۷) و ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با افزودن ۲۶ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن ده میلی‌مولار به محلول واکنش آغاز شد و تغییر در جذب به مدت پنج دقیقه اندازه‌گیری شد. واحد فعالیت این آنزیم بر اساس مقدار آنزیمی که یک میکرومول $H_2O_2$ را در یک دقیقه تجزیه می‌کند گزارش شد (Tayfi-Nasrabadi, 2008).

**آنزیم پراکسیداز**

فعالیت آنزیم پراکسیداز (Peroxidases, POD, EC : 1.15.1.1) به روش تست گایاکول و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. تتراگایاکول تشکیل شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. بنابراین واکنش فتوشیمیایی می‌تواند به سرعت دنبال شود. استخراج آنزیم به وسیله بافر فسفات یک دهم مولار (pH هفت) انجام گرفت. محلول واکنشی شامل سه میلی لیتر بافر TS (pH هفت)، ۲۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۲۵ میکرو لیتر گایاکول ۱۵ میلی مولار بود. واکنش با افزودن ۲۵ میکرو لیتر پراکسید هیدروژن سه و سه دهم میلی مولار آغاز و به مدت پنج دقیقه دنبال گردید. واحد فعالیت این آنزیم بر اساس پروتئین آنزیمی مورد نیاز برای تشکیل یک میکرو مولار تتراگایاکول در یک دقیقه گزارش شد (Ghamsari *et al*., 2007).

**آنزیم سوپراکسیددیسموتاز**

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ( SOD, Superoxide dismutase EC :1.11.1.7) به روش ممانعت واکنش وابسته به $O_2^{\circ -}$ توسط آنزیم تعیین شد. در این روش، سوپراکسید به وسیله فتولیز ریبوفلاوین تولید می‌شود. سپس $O_2^{\circ -}$، NBT[2] را به ترکیب ارغوانی دی فرمازون احیاء می‌کند. اساس روش بر توانایی SOD در ممانعت از احیاء NBT توسط $O_2^{\circ -}$ می‌باشد. عصاره آنزیمی در بافر فسفات یک دهم مولار (pH هفت) استخراج شد. محلول واکنش شامل ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر NBT یک و نیم میلی مولار، ۲۰۰ میکرولیتر EDTA یک دهم مولار حاوی سدیم سیانید سه دهم میلی‌مولار و ۲۶۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۰۶۷ مولار (pH برابر هفت) بود. این محلول به مدت پنج تا هشت دقیقه در شدت نور یکسان (۴۰W) و دمای بهینه قرار داده شد. بعد از این زمان، ۵۰ میکرولیتر ریبوفلاوین به محلول افزوده شد و در شدت نور یکسان و دمای

۱- Tris-SDS Buffer
۲- Nitro Blue Tetrazolium Choloride



[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

مناسب به مدت ۱۲ دقیقه قرار گرفتند. در انتها، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیاء NBT شود (Giannopolities & Ries, 1997).

**سنجش پروتئین کل**

برای اندازه گیری پروتئین کل، عصاره استفاده شده در سنجش آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. برای سنجش پروتئین از روش برادفورد استفاده شد. مقدار پروتئین نمونه‌ها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر گزارش شد. برای تهیه معرف برادفورد ۱۰۰ میلی‌گرم کوماسی برلیانت بلو در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک هشت درصد و ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد. برای تهیه محلول برادفورد، ۳۰ میلی لیتر معرف برادفورد، ۳۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۸ درصد و ۱۵ میلی‌لیتر الکل ۹۵ درصد مخلوط شد و حجم محلول با آب مقطر به ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول را صاف و در شیشه قهوه‌ای نگهداری شد تا در سنجش پروتئین استفاده شود. برای سنجش میزان پروتئین ۱۰۰ میکرولیتر نمونه با یک ملی لیتر محلول برادفورد مخلوط شده و بعد از دو دقیقه جذب در ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. برای تهیه منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی استفاده شد (Bradford, 1967).

**واکاوی آماری داده‌ها**

این پژوهش به صورت فاکتوریل فاکتور اول در سه سطح دمایی (صفر، ۱/۵- و ۳- درجه سلسیوس) و فاکتور دوم در پنج سطح تنظیم کننده‌های رشد (SA در دو غلظت، Pro-Ca در دو غلظت، و شاهد [بدون استفاده از تنظیم کننده‌های رشد]) در قالب طرح پایه کاملا تصادفی در سه تکرار اجرا شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ واکاوی شد. قبل از تجزیه واریانس نرمال بودن توزیع داده‌ها مورد آزمون قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام گردید. تمامی نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Office Excel رسم شدند.

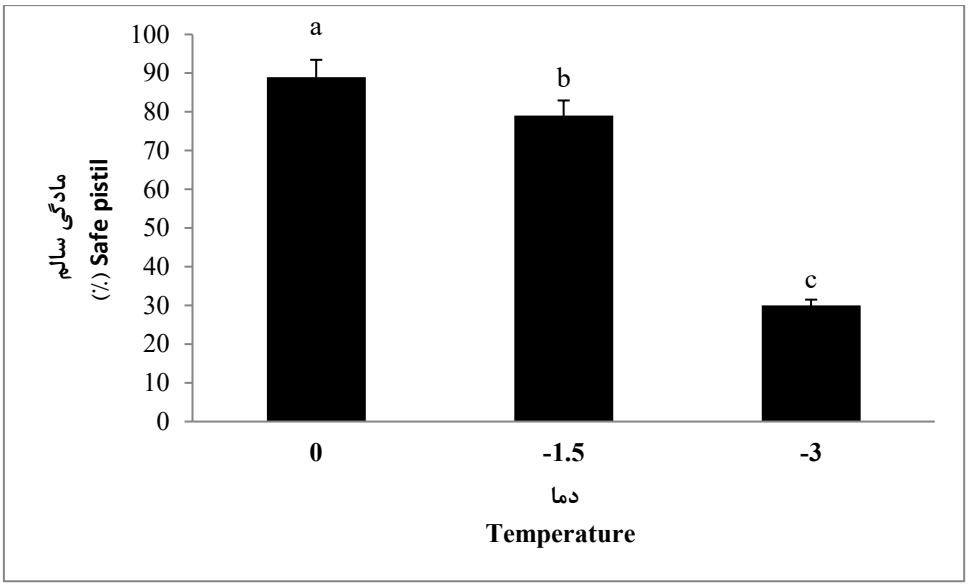
# نتایج

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دماهای اعمال شده در رقم تبرزه مشاهده گردید، به طوری که با کاهش دما درصد مادگی‌های سالم کاهش یافته است و در دمای منفی سه درجه سلسیوس کمترین درصد مادگی سالم وجود دارد. درصد مادگی سالم در دمای منفی سه درجه سلسیوس نسبت به دمای صفر درجه سلسیوس سه برابر کاهش یافته است (شکل ۲). همچنین شکل ۱، نمونه‌ای از مادگی سالم و آسیب دیده را نشان می‌دهد.

شکل ۱- مادگی های سالم و خسارت دیده در زردآلو رقم تبرزه.

Fig.1. Intact and damaged pistils in "Tabarzeh" apricot cultivar.

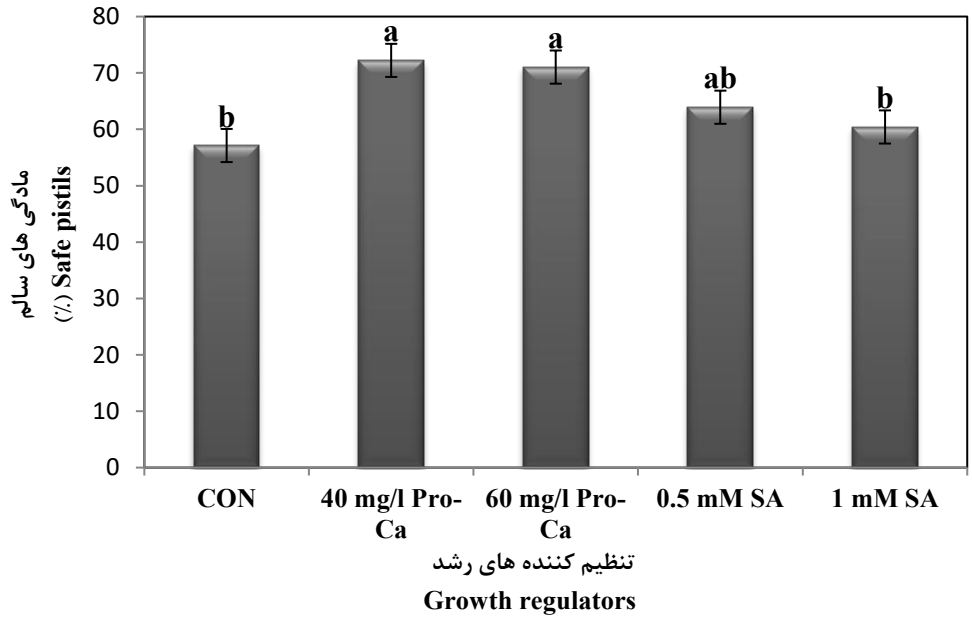
[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]




شکل ۲- اثر دما بر درصد مادگی‌های سالم در زردآلوی رقم تبرزه. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح پنج درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند.

Fig. 2. The effect of temperature on percentage of intact pistils in apricot cultivar "Tabarzeh". Columns with different letters are significantly different at the 5% level of Duncan's statistical test.

شکل سه نشان می‌دهد که در رقم تبرزه بیش‌ترین درصد مادگی سالم (۷۲/۲۳ درصد) در تیمار با ۴۰ میلی‌گرم در لیتر پروهگزادیون کلسیم به دست آمده است هر چند این تیمار با تیمار ۶۰ میلی‌گرم در لیتر پروهگزادیون کلسیم و تیمار نیم میلی‌مولار اسید سالیسیلیک اختلاف معنی‌داری نداشت.

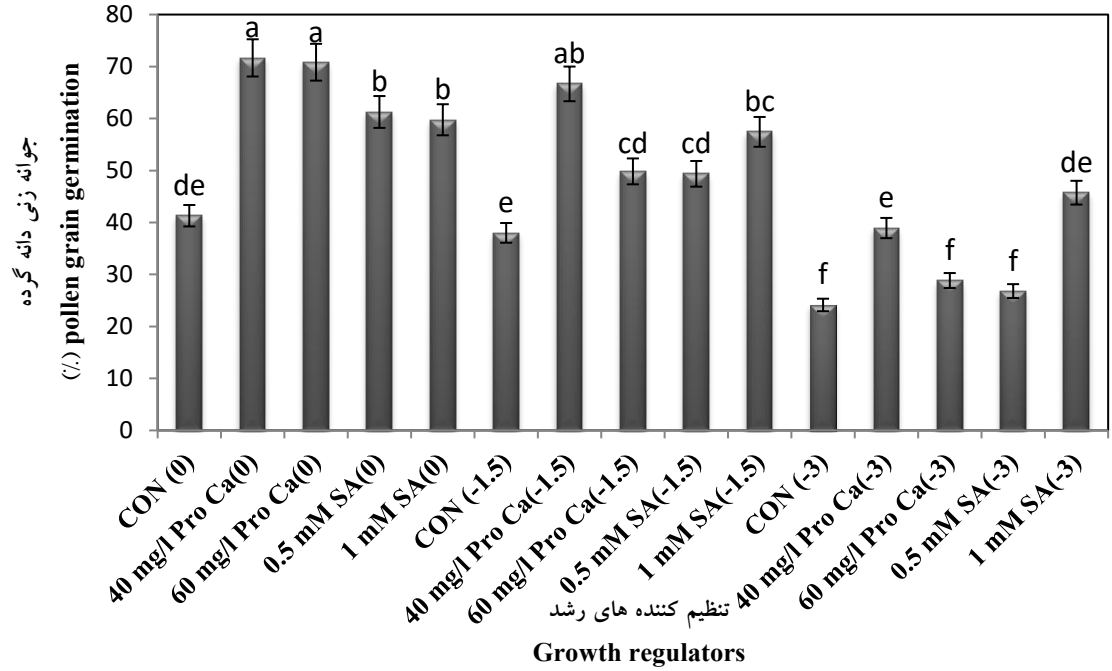



شکل ۳- اثر تنظیم کننده‌های رشد بر درصد مادگی‌های سالم در زردآلوی رقم تبرزه. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح پنج درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند.

Fig. 3. The effect of growth regulators on percentage of intact pistils in apricot cultivar "Tabarzeh". Columns with different letters are significantly different at the 5% level of Duncan's statistical test.

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس برهمکنش دما و تنظیم‌کننده رشد در سطح احتمال یک درصد بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده در رقم تبرزه معنی دار بود. همان طوری که در شکل چهار دیده می شود در هر سه دمای مورد استفاده کم‌ترین میزان درصد جوانه زنی مربوط به شاهد بود که بین دماهای صفر و ۱/۵- در این تیمار اختلاف معنی داری دیده نشد.

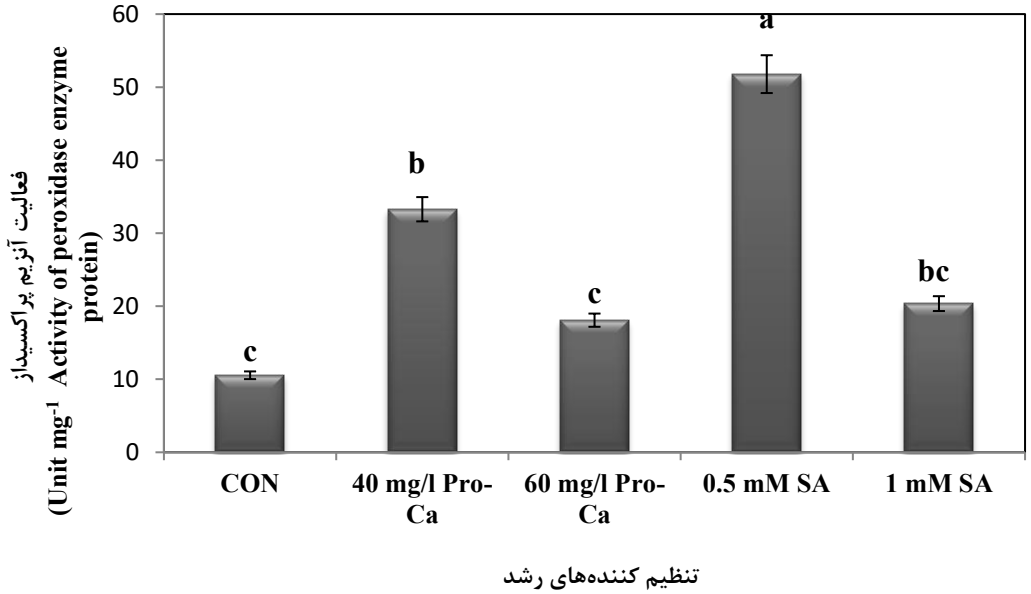



شکل ۴- برهمکنش درجه‌حرارت و تنظیم کننده های رشد بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده در زردآلوی رقم تبرزه. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح پنج درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند.

Fig. 4. The interaction of temperature and growth regulators on percentage of pollen germination in apricot cultivar "Tabarzeh". Columns with different letters are significantly different at the 5% level of Duncan's statistical test.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس در رقم تبرزه دما و تنظیم کننده‌های رشد هیچ کدام تاثیری بر نشت یونی، میزان پرولین و آنزیم کاتالاز نداشتند. تنظیم کننده‌های رشد اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم تبرزه داشتند ولی دما تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در این رقم نداشت. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار با نیم میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در رقم تبرزه مشاهده گردید (شکل۵) در رقم تبرزه تیمار با نیم میلی‌مولار اسید سالیسیلیک پنج برابر فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به شاهد افزایش داد.

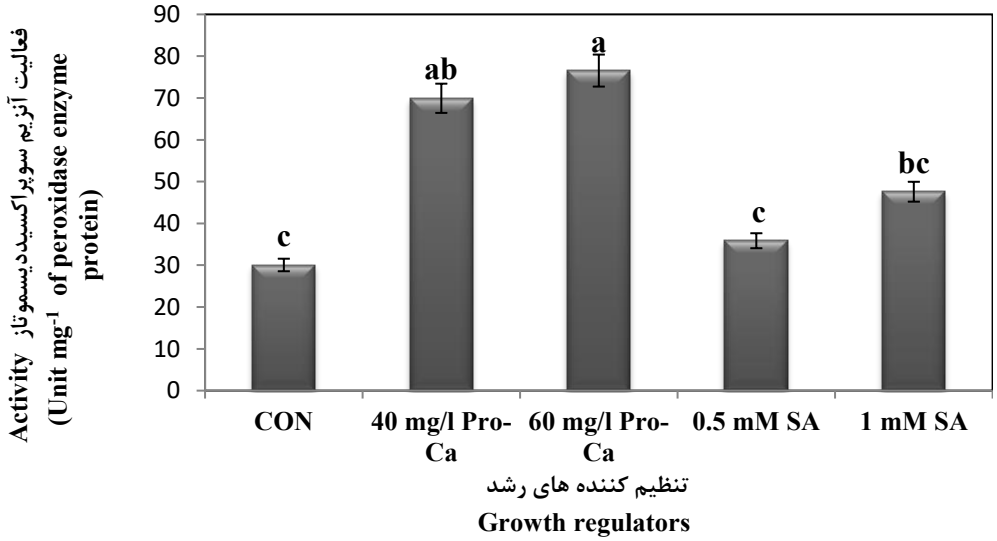
[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]




شکل ۵- اثر تنظیم کننده‌های رشد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در زردآلوی رقم تبرزه. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح پنج درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند..

Fig. 5. The effect of growth regulators on peroxidase enzyme activity in apricot cultivar "Tabarzeh". Columns with different letters are significantly different at the 5% level of Duncan's statistical test.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تنظیم کننده‌های رشد اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد در رقم تبرزه داشتند. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار با پروهگزادیون کلسیم مشاهده شد. اما تیمار با اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد نیز میزان فعالیت آنزیم سوپراکسد دیسموتاز را افزایش داد (شکل ۶).




شکل ۶- اثر تنظیم کننده‌های رشد بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در زردآلوی رقم تبرزه. ستون های دارای حروف متفاوت در سطح پنج درصد آزمون آماری دانکن تفاوت معنی داری دارند.

Fig. 6. The effect of growth regulators on superoxide dismutase enzyme activity in apricot cultivar "Tabarzeh". Columns with different letters are significantly different at the 5% level of Duncan's statistical test.

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

## بحث

در پژوهش حاضر کاهش دما تا ۳- درجه سلسیوس، باعث خسارت به مادگی و کاهش در میزان جوانه‌زنی دانه گرده در زردآلوی رقم تبرزه شده است. گل‌ها در مقایسه با سایر اندام‌ها نسبت به دماهای پایین حساس‌تر می‌باشند و دماهای پایین‌تر به مدت طولانی، خسارت بیش‌تری را به آنها وارد می‌کند (Rodrigo, 2000). این خسارت می‌تواند ناشی از افزایش تنفس بی‌هوازی نسبت به تنفس هوازی باشد که باعث انباشته شدن مواد سمی شده و در پایان ایجاد خسارت می‌کند (Probesting, 1978). نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد پروهگزادیون کلسیم و اسیدسالیسیلیک باعث کاهش خسارت ناشی از درجه حرارت پایین شده است. گزارش شده است که خسارت یخزدگی (طبیعی و مصنوعی) به طور معنی‌داری در برگ‌های سیب و در شاخه‌های دارای گل به علت تیمار با پروهگزادیون کلسیم (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) کاهش یافت. همچنین نقش محافظتی تیمار پروهگزادیون کلسیم در گل‌های درختان میوه بعد از وقوع یخزدگی طبیعی مشاهده شده است (Albrecht *et al*., 2004). تیمار اسیدسالیسیلیک باعث مقاومت به سرما در ذرت و گندم (Janda *et al*., 1999) و موز (Kang *et al*., 2003) شده است. در بسیاری از گونه‌های گیاهی ثابت شده است که تاثیرات محافظتی ایجاد شده به وسیله اسید سالیسیلیک به دلیل تنظیم بالای ظرفیت آنتی اکسیدانی است. نتایج به دست آمده از گیاه موز نشان داده که پیش تیمار اسید سالیسیلیک می‌تواند به طور مستقیم یا غیرمستقیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در طول تنش سرمازدگی فعال کند که منجر به فعال‌سازی آنزیم‌های SOD، CAT و APX گردیده، اما تاثیری روی فعالیت آنزیم POX نداشت. تیمارهایی که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را افزایش می‌دهند، همچنین باعث مقاومت به سرمازدگی خواهند شد (Kang & Saltveit, 2002). سناراتنا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کرده‌اند که کاهش خسارت غشا در گیاهان تحت تنش سرمازدگی به دلیل کاربرد بیرونی اسید سالیسیلیک می‌تواند به تحریک سیستم آنتی اکسیدانی مربوط باشد که گیاه را از خسارت تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند. همچنین حساسیت فعالیت‌های مختلف سلولی به دما یکسان نیست. حد کشنده دما از مشخصات خاص یک گونه است که بسته به اندام و بافت تغییر می‌کند. انتقال الکترون یکی از محدودیت‌های مهم ناشی از تنش سرما است که دمای وقوع آن بستگی به محدوده دمایی دارد که لیپیدهای غشای کلروپلاست در آن فعال هستند. تشکیل یخ در مقایسه با درجه حرارت عاملی است که بیش‌تر باعث ایجاد تنش می‌شود (Mirmohammadi Meybodi *et al*., 2004).

عقیم ماندن دانه گرده در درجه‌حرارت‌های پایین در دوره گلدهی، عامل اصلی ضعف بذرها و میوه‌ها در درجه‌حرارت‌های سرد می‌باشد. در گندم یخزدگی در طی گلدهی ممکن است موجب عقیمی، سقط جنین، از بین رفتن ریشک‌ها و پرچم‌های تازه خارج شده از گیاه شود (Mirmohammadi Meybodi *et al*., 2004).

کاربرد بیرونی اسید سالیسیلیک باعث تحریک جوانه‌زنی بذر می‌شود (Rajasekaran *et al.,* 2002). بر طبق گزارش اسید سالیسیلیک می‌تواند باعث مهار فعالیت آنزیم CAT شود. کاهش فعالیت آنزیم CAT منجر به افزایش $H_2O_2$ شده که برای بافت‌های گیاه سمی است، اما می‌تواند جوانه‌زنی برخی از بذرها را بهبود بخشد (Nun *et al*., 2003). این امکان وجود دارد که اسید سالیسیلیک و ۲-۶ دی هیدروکسی بنزوئیک اسید جوانه‌زنی بذر را از طریق بیوسنتز ژیبرلین تحریک کنند و به عنوان القا کنندگان ترموژن عمل نمایند (Shah, 2003). در گیاهان حساس به سرمازدگی افزایش پرولین به حدی نیست که موجب افزایش مقاومت به سرما شود مگر اینکه مقادیر زیادی پرولین قبل از تنش افزوده شود. البته افزایش پرولین سلولی همیشه موجب افزایش مقاومت به سرما نمی‌شود (Chen & Li, 2002). افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در بافت دانهال‌های سیب تیمار شده با پروهگزادیون کلسیم در مقابل پاراکوآت مشاهده شده است. پاراکوآت یک علف کش است که سنتز رادیکال‌های آزاد را در بافت گیاه تحریک می‌کند. همچنین خسارت کم‌تر در بافت گیاهان تیمار شده با پروهگزادیون کلسیم در مقایسه با شاهد تاثیر مثبت این ماده را در برابر تنش اکسیداتیو نشان می‌دهد (Rademacher, 2000). اسید سالیسیلیک نیم میلی‌مولار در دانهال‌های موز، مقاومت به سرمازدگی ( دو و پنج درجه‌سلسیوس) را از طریق افزایش در فعالیت آنزیم‌های SOD، APX و CAT تحریک کرده اما تاثیری روی فعالیت آنزیم POX نداشته است (Kang *et al*., 2003).

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

## نتیجه‌گیری

خسارت یخزدگی بعنوان یکی از عوامل قهری طبیعت خسارت های قابل توجه و جبران ناپذیری به باغدران وارد می کنند. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تاثیر دو تنظیم‌کننده رشد بر میزان مقاومت به یخزدگی شکوفه‌های زردآلوی رقم تبرزه انجام شد. نتایج نشان داد که به طورکلی، کاربرد اسید سالیسیلیک و پروهگزادیون کلسیم، برای افزایش مقاومت به یخزدگی شکوفه‌های زردآلو نتایج مثبتی را نشان داده است.

## منابع References


Albrecht, E., Schmitz-Eiberger, M., Barauckmann, M., Rademacher, W. & Noga, G. (2004). Use of prohexadion-calcium, vitamin E, and Glycerin for the reduction of frost injury in apple (*Malus domestica*) flowers and leaves. Journal of Europea. *Journal. Horticultural Science, 69*(2), 59 – 65

Banin Sogvar, O., Razavi, F., Rabiei, V. & Gohari, G. (2020). Postharvest application of L-cysteine to prevent enzymatic browning of “Stanley” plum fruit during cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(10), e14788 .

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248 – 254.

Bekheta, M.A., Abdelhamid, M.T. & El-Morsi, A.A. (2009). Physiological response of *Vicia faba* to Prohexadion-Calcium under saline conditions. *Planta Daninha*, *27*, 769 - 779.

Chen, P. W. & Li, P. H. (2002). Membrane stabilization by abscisic acid under cold aids proline in alleviating chilling injury in maiz. *Plant Cell and Environment*, *25*, 955 – 962.

Gunes, N. T. (2006). Frost hardiness of some Turkish apricot cultivars during the bloom period. *Horticultural Science*, *41*, 310 – 312.

Ghamsari, Li., Keyhani, E. & Golkhoo, Sh. (2007). Kinetics properties of guaiacol peroxidase activity in crocus sativus L. corn during rooting . *Iranian Biomedical Journal*, *11*(3), 137 – 146.

Giannopolities C.N.& Ries, S.K. (1997). Superoxide dismutase. I. Occurence in higher plants. *Plant Physiology*, *59*, 309-314.

Hormaza, J. I., Yamane, H. & Rodrigo, J. (2007). Apricot. In: Ch. Kole (ed.). Genome mapping and molecular breeding in plants. Springer. pp: 171-187.

Horvath, E., Szalai, G. & Janda, T. (2007). Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth Regulation. 26*, 290 – 300.

He, Y., Liu, Y., Cao, W., Huai, M., Xu, B. & Huang, B. (2005). Effect of salicylic acid on heat tolerance associated with antioxidant metabolism in kentuky bluegrass. *Crop Science, 45*, 988 – 995.

Hayat, Q., Hayat, Sh., Irfan, M. & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. *Environmental and Experimental Botany*, *68*, 14 - 25.

Hajilou, J., Grigorian, V., Natamieh, A. and Valizadeh, M. (2000). The effect of different temperatures on the germination of pollen grains of three varieties of apricot (short article). *Iranian Journal of Horticultural Sciences and Techniques, 1*, 83-90. (In Persian)

Janda, T., Szalai, G., Tari, I. & Paldi, E. (1999). Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta*, *208*, 175 – 180.

Kang, S., Motosug, H., Yonemori, K. & Sugiuria, A. (1998). Freezing injury to persimmon (*Diospyros kaki Thunb*) and four other diospyros species deacclimation in the spring as related to bud development. *Scientia Horticulturae*, *77*, 33 – 43.


[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

Kang, H. M. & Saltveit, M. E. (2002). Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid . *Physiologia Plantarum*, *115*, 571 – 576.

Kang, G., Wang, Ch., Sun, G. & Wang, Zh. (2003). Salicylic acid changes activities of $H_2O_2$-metabolizing enzymes and increase the chilling tolerance of banana seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, *50*, 9 – 15.

Knight, H. & Knight, M. R. (2001). Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. *Trends Plant Science, 6*, 262–267.

Mirmohammadi Meybodi, S. A. M. and Turkesh Esfahani, S. (2004). Physiological and racial aspects of cold and freezing stresses of agricultural plants. First edition. Golban Publishing. 223 pages. (In Persian).

Nun, N. B., Plakhine, D., Joel, D. M. Mayer, A. M. (2003). Changes in the activity of the alternative oxidase in Orobanche seeds during conditioning and their possible physiological function. *Phytochemistry*, *64*, 235 – 241.

Probesting, E. L. (1978). Adapting cold hardiness concepts to decidious fruit culture. In: P. H. Li and A. Sakai (eds). Plant cold hardiness and freezing stress. Macmillan Publishing Company. pp: 267 – 281.

Poirier, M., Lacointe, A. & Ameglio, T. (2010). A semi-physiological model of cold hardening and dehardening in walnut stem. *Tree Physiology*, *30*, 1555-1569.

Rodrigo, G. (2000). Spring frost in deciduous fruit trees-morphological damage and flower hardiness. *Scientia Horticulturae*, *85*, 155 – 173.

Rajasekaran, L. R., Stiles, A., Surette, M. A., Sturz, A. V., Blake, T. J., Cahdwell, C. & Nowak, J. (2002). Stand establishment technologies for processing carrots: Effects of various temperatures regimes on germination and the role of Salicylates in promoting germination at low temperatures. *Canadian Jornal of Plant Science*, *82*, 443 – 450.

Rademacher, W. (2000). Growth retardants: effects on gibberellins biosynthesis and other metabolic pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *51*, 501 – 531.

Roosens, N.H., Al Bitar, F., Loenders, K., Angenon, G. & Jacobs, M. (2002). Overexpression of ornithine-δ-aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants. *Molecular Breeding*, *9*, 73-80.

Shah, J. (2003). The salicylic acid loop in plant defense. *Current Opinion Plant Biology*, *6*, 365 – 371.

Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, *30*, 157 – 161.

Sahragard, N. ۲۰۰۷. Frostbite and ice nucleating bacteria in plants. Publications of the Educational Technology Service Office of the Agricultural Research, Education and Extension Organization. 116 pages. (In Persian)

Schreiber, S.G., Hamann, A., Hacke, U.G. & Thomas, B.R. (2013). Sixteen years of winter stress: an assessment of cold hardiness, growth performance and survival of hybrid poplar clones at a boreal planting site. *Plant, Cell and Environment*, *36*, 419-429

Tayfi-Nasrabadi, H. (2008). Catalytic properties of catalases from kohlrabi (*Brassica oleracea* gongylodes). *African Journal of Biotechnology*, *7*(4), 472 – 475.

Tadjvar, Y., Fotouhi Ghazvini, R., Hamidoghli, Y., & Sajedi, R. H. (2011). Physiological and biochemical responses of page mandarin on citrange rootstock to low temperature stress. *Iranian Journal of Plant Biology*, *3*(9), 1- 12.

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

Viti, R., Bartolin, S. & Andreini, L. (2010). Flower bud frost tolerance of several Italian apricot genotypes. *European Journal of Horticultural Science*,*75*(5), 185 -192.

Wang, L.H., Li, X.X., Su, Z.K. & Ren, H.X. (2009). The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress. *Biologia Plantarum*, *53*(3), 545 – 552.

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 26 (2): 125-136 (2025)
Research article

# The Effect of Different Concentrations of Salicylic Acid and Prohexadione Calcium on Freezing Resistance of Blossoms in Apricot Cultivar "Tabarzeh"

**Jafar Hajilo[1], Soheila Mohammadrezakhani[2*] and Zahra Safari[1]**

1. Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, East Azerbaijan, Iran
2. South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Jiroft, Iran.
* Corresponding Author, Email: (Smohammadrezakhani@yahoo.com)

This research was conducted to investigate the effect of two growth regulators on freezing resistance of apricot blossoms in cultivar Tabarzeh. The experiment was carried out as a factorial experiment with three temperature treatments (0, -1.5, and -3°C) and two kinds of growth regulators [prohexadione calcium (40 and 60 mg/L) and salicylic acid (0.5 and 1 mM)] with a control, based on a completely randomized design with three replications. Some traits, such as, intact pistil, pollen germination, electrolyte leakage percentage, and also, the concentration of free proline and antioxidant enzymes activities (catalase, peroxidase, superoxide dismutase) were evaluated. Regarding the damaged pistils, the results showed a significant difference between temperatures and growth regulators in studied cultivar. The percentage of intact pistils at the temperature of -3°C has decreased threefold compared to 0 °C. Pollen germination percentage was decreased by low temperatures and increased by growth regulators. The applied treatments had no effect on the rate of electrolyte leakage and proline concentration. In general, the positive effects of salicylic acid and prohexadione calcium applications in freezing resistance of apricot blossoms have been shown by the results.
**Keywords**: Antioxidant, Freezing, Germination, Resistance, Treatment.

[ Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-09 ]