دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی

**رساله**

**برای دریافت درجه دکتری در رشته مهندسی کشاورزی- علوم باغبانی (گرایش میوه‌کاری)**

عنوان

# ارزیابی میزان حساسیت به یخزدگی گل (در مراحل D و F فنولوژیک) در چند رقم هلو و ارتباط آن با سیستم‌های آنتی‌اکسیدان

استاد راهنما

**دکتر جعفرحاجی‌لو**

استاد مشاور

**دکترغلامرضا دهقان**

پژوهشگر

**شبنم فخیم رضایی**

**نام خانوادگی:** **فخیم رضایی** **نام:** **شبنم**

**عنوان پایان‌نامه:** **ارزیابی میزان حساسیت به یخ‌زدگی گل (در مراحل D و F فنولوژیک) در چند رقم هلو و ارتباط آن با سیستم‌های آنتی‌اکسیدان**

**استادان راهنما:** **دکتر جعفر حاجی‌لو**

**استاد مشاور:** **دکتر غلامرضا دهقان**

**مقطع تحصیلی:** دکتری **رشته:** علوم باغبانی **گرایش:** میوه‌کاری

**دانشگاه:** تبریز **دانشکده:** کشاورزی

**تاریخ فارغ التحصیلی:** **تعداد صفحه:**

**کلید واژه:** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسیداسیون لیپیدی، پلی فنل اکسیداز، تجمع پرولین، تنش یخ-زدگی، نشت مواد محلول، *Prunus persica* (L.) Batsch

**چکیده**

مطالعه حاضر جهت درک پاسخ شکوفه‌های هلو به تنش یخ‌زدگی و ارتباط بین خسارت یخ‌زدگی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان جهت ایجاد معیاری برای انتخاب ارقام مقاوم به یخ‌زدگی هلو انجام شد. بدین منظور، درصد تخمدان‌های خسارت‌دیده، نشت الکترولیت‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها (محتوای مالون د آلدئید)، محتوای پرولین و پروتئین، و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیدیسموتاز و پلی فنل اکسیداز) در دو مرحله فنولوژیکی شامل مرحله قبل از شکوفه‌دهی (D' Fleckinger) و مرحله تمام گل (F' Fleckinger) در هشت رقم هلو (کوثری، تک-دانه، انجیری عسلی، زودرس، مخملی، سفیدقرمز، حاج‌کاظمی و انجیری مالکی) تحت تاثیر دماهای انجماد (شامل ۲-، ۴- و ۶- درجه سانتی‌گراد برای مرحله D و ۱/۵-، ۲/۵- و ۳/۵- درجه سانتی-گراد برای مرحله F) مورد ارزیابی قرار گرفت.

شاخص حساسیت به یخ‌زدگی، نشت الکترولیت‌ها و پراکسیداسیون لیپیدی تمام ارقام مورد مطالعه به موازات کاهش دماهای تنش یخ‌زدگی افزایش یافت. تجمع پرولین در مرحله D به موازات کاهش دما افزایش یافت. اما، در مرحله F محتوای پرولین تنها در ارقام مخملی، سفیدقرمز و انجیری مالکی افزایش یافت. در سایر ارقام تجمع آن با دماهای انجماد متوسط افزایش یافت، درحالیکه در تنش یخ-زدگی شدیدتر تجمع آن کاهش یافت. مالون د آلدئید به عنوان شاخص تنش اکسیداتیو در شکوفه-های هر دو مرحله فنولوژیک تجمع پیدا کرد. اما، تنها در شکوفه‌های ارقام دارای خسارت ناشی از

تنش زیاد نظیر کوثری، تک‌دانه، انجیری عسلی و زودرس و تنها در مرحله F تغییرات آن معنی–دار بود. محتوای پروتئین در مرحله F افزایش یافت و یا بدون تغییر باقی ماند. بیشترین میزان پروتئین مربوط به رقم انجیری مالکی بود که کمترین میزان خسارت یخ‌زدگی را از خود نشان داد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در شکوفه‌های مرحله F برای ارقام انجیری مالکی، مخملی و سفیدقرمز به موازات کاهش دما افزایش یافت و یا بدون تغییر باقی ماند. درحالیکه، در سایر ارقام آنزیم‌های مذکور فعالیت خود را از دست دادند. فعالیت آنزیم‌های مذکور تنها در شکوفه‌های واقع در مرحله D رقم انجیری مالکی اقزایش یافت و یا بدون تغییر باقی ماند.

نتایج ما یک رفتار وابسته به ژنوتیپ را بین ارقام هلوی واجد آسیب کمتر و ارقام دارای آسیب بیشتر نشان داد. احتمالا، تفاوت در پاسخ آنزیم‌ها یکی از دلایل ممکن برای تفاوت در حساسیت به یخ-زدگی هشت رقم هلو می‌باشد. اگرچه، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان القا شده توسط تنش یخ‌زدگی این نظریه را که ارقام مقاوم به یخ‌زدگی در مقایسه با ارقام با مقاومت کمتر دفاع کارامدتری در برابر گونه‌های فعال اکسیژنی طی تیمارهای دمای زیر صفر حفظ می‌کنند، تایید کرد. ما نشان دادیم که، فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یک دلیل کافی برای مقاومت بیشتر در برابر تنش نیست و ممکن است رقمی با فعالیت کمتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان میزان مقاومت بیشتری را از خود نشان دهد. در واقع، بالانس بین تولید و تخریب گونه‌های فعال اکسیژن برای تعیین غلظت نسبی رادیکال-های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید بحرانی است، نه میزان فعالیت بیشتر آنزیمی. هم‌چنین، نتایج نشان داد که ارقامی با میزان فعالیت کمتر پلی فنل اکسیداز شاخص خسارت یخ‌زدگی کمتری از خود نشان دادند. بنابراین می‌توانیم میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را به عنوان شاخص مقاومت به تنش یخ‌زدگی پیشنهاد کنیم.

چکیده فارسی

**عنوان** ..... **صفحه**

مقدمه..... ۱

## فصل اول: بررسی منابع

۱-۱-کلیاتی در مورد هلو ..... ۳

۱-۱-۱-گیاهشناسی هلو..... ۴

۱-۱-۲-خاستگاه، پراکنش وتاریخچهٔ کشت و پرورش هلو ..... ۷

۱-۲- یخزدگی..... ۹

۱-۲- ۱- انواع یخزدگی ..... ۱۳

۱-۲- ۱- ۱- یخزدگی انتقالی (جبهه‌ای):..... ۱۳

۱-۲-۱-۲- یخزدگی تشعشعی..... ۱۳

۱-۳-مکانیسم‌های مقاومت گیاهان در برابر تنش یخزدگی ..... ۱۵

۱-۴- عوامل موثر بر مقاومت گل‌ها در برابر تنش یخزدگی ..... ۱۷

۱-۴-۱- ژنوتیپ..... ۱۷

۱-۴-۲-فنولوژی..... ۱۷

۱-۴-۳-وجود هسته‌های یخی..... ۱۸

۱-۴-۴-محتوای آب بافت..... ۱۹

۱-۴-۵- وضعیت تغذیه‌ای ..... ۲۰

۱-۵- فیزیولوژی خسارت یخزدگی ..... ۲۱

۱-۵-۱- خسارت سلولی..... ۲۱

۱-۵-۱-۱- یخزدگی درون سلولی (مستقیم) ..... ۲۱

۱-۵- ۱-۲- یخزدگی برون سلولی (غیرمستقیم) ..... ۲۱

۱-۵-۲- تغییرات آناتومیکی ناشی از یخزدگی..... ۲۳

۱-۵-۳- تغییرات مورفولوژیکی ناشی از یخزدگی..... ۲۴

۱-۵-۴-علایم ظاهری خسارت یخ‌زدگی در اندام‌های گیاه ۲۶
۱-۵-۵-تاثیر یخ‌زدگی بر سیستم‌های آنتی‌اکسیدان ۲۸
۱-۵-۵-۱-سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی ۲۹
۱-۵-۵-۲-سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی ۳۳
۱ ۱۲ تاثیر یخزدگی بر سیستم های دفاعی غیر آنتی اکسیدانی ۳۶
۱-۵-۶-۱- قندها ۳۷
۱-۵-۶-۲- پرولین ۳۸
۱-۵-۶-۳- گلایسین بتائین ۴۰
۱-۶-سوالات، فرضیات و اهداف پژوهش ۴۳

**فصل دوم: مواد و روش ها**

۲-۱- مواد گیاهی مورد مطالعه ۴۵
۲-۲- نمونه‌برداری و اعمال تیمارها ۴۵
۲-۳- شاخص‌های مورد بررسی و روش‌های اندازه‌گیری ۴۶
۲-۳-۱- ارزیابی درصد خسارت مورفولوژیک ناشی از تنش یخ‌زدگی ۴۶
۲-۳-۲- اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیت ۴۷
۲-۳-۳- سنجش پراکسیداسیون لیپیدی (اندازه گیری میزان مالون د آلدئید) ۴۸
۲-۳-۴- اندازه‌گیری غلظت پرولین آزاد ۴۸
۲-۳-۵- سنجش پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ۵۰
۲-۳-۵-۱- سنجش پروتئین کل ۵۰
۲-۳-۵-۲-سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز ۵۱
۲-۳-۵-۳-سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ۵۱
۲-۳-۵-۴-سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۵۱
۲-۳-۵-۵-سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ۵۲
۲-۴- تجزیه‌های آماری ۵۲

**فصل سوم : نتایج وبحث**

۳-۱-میزان خسارت مورفولوژیک ناشی از یخزدگی..... ۵۳
۳-۱-۱- میزان خسارت ناشی از یخزدگی در مرحله D فنولوژیک ..... ۵۳
۳-۱-۱-۱- میزان خسارت ناشی از یخزدگی در تخمدان‌های شکوفه‌های واقع در مرحلهD فنولوژیک ..... ۵۳
۳-۱-۱-۲- میزان خسارت ناشی از یخزدگی در کلاله‌های شکوفه‌های واقع در مرحله D فنولوژیک ۵۸
۳-۱-۱-۳- میزان خسارت ناشی از یخزدگی در گلبرگ‌های شکوفه‌های واقع در مرحلهD فنولوژیک ..... ۶۱
۳-۱-۲- میزان خسارت ناشی از یخزدگی در مرحله F فنولوژیک..... ۶۴
۳-۱-۲-۱-میزان خسارت ناشی از یخزدگی در تخمدان‌های شکوفه‌های واقع در مرحلهF فنولوژیک ..... ۶۴
۳-۱-۲-۲-میزان خسارت ناشی از یخزدگی در کلاله‌های شکوفه‌های واقع در مرحلهF فنولوژیک.... ۶۸
۳-۱-۲-۳-میزان خسارت ناشی از یخزدگی در گلبرگ‌های شکوفه‌های واقع در مرحله F فنولوژیک ۷۱
۳-۲- میزان خسارت غشاهای سلولی (نشت الکترولیت‌ها) تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۷۷
۳-۲-۱- درصد نشت الکترولیت‌ها در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۷۷
۳-۲-۲- درصد نشت الکترولیت‌ها در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۸۳
۳-۳- میزان خسارت اکسیداتیو (پراکسیداسیون لیپیدی) تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۹۰
۳-۳-۱- پراکسیداسیون لیپیدی در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۹۰
۳-۳-۲- پراکسیداسیون لیپیدی در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۹۲
۳-۴- انباشت مواد محلول..... ۹۸
۳-۴-۱- محتوای پروتئین کل تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۹۸
۳-۴-۱-۱- محتوای پروتئین کل در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۹۸
۳-۴-۱-۲- محتوای پروتئین کل در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۱۰۱
۳-۴-۲- محتوای پرولین آزاد کل تحت تاثیر تنش یخزدگی..... ۱۰۷

۳-۴-۲-۱- محتوای پرولین آزاد کل در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۰۷
۳-۴-۲-۲- محتوای پرولین آزاد کل در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۱۱
۳-۵- سیستم آنتیاکسیدانی آنزیمی ..... ۱۲۰
۳-۵-۱- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۲۰
۳-۵-۱-۱- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی.. ۱۲۰
۳-۵-۱-۲- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی .. ۱۲۳
۳-۵-۲- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۲۶
۳-۵-۲-۱- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۲۶
۳-۵-۲-۲- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۳۰
۳-۵-۳- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۳۴
۳-۵-۳-۱- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۳۴
۳-۵-۳-۲- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۳۸
۳-۵-۴- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۴۲
۳-۵-۴-۱- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۴۲
۳-۵-۴-۲- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تنش یخزدگی ..... ۱۴۶
۳-۵-۵- بررسی ارتباط بین فعالیت آنزیمهای آنتیاکسیدان تحت تنش در دو مرحله فنولوژیک ..... ۱۴۹
نتیجهگیری کلی ..... ۱۶۳
پیشنهادات ..... ۱۶۶
منابع ..... ۱۶۷
چکیده انگلیسی

## فهرست جداول

**عنوان ..... صفحه**

جدول ۱-۱- محدوده دماهای بحرانی در هلو.....۱۲
جدول۱-۲- مقادیر LT10 و LT90 در جونه های گل هلو.....۱۳
جدول ۳-۱-جدول تجزیه واریانس میزان خسارت ناشی از یخ‌زدگی در گلبرگ‌ها، کلاله‌ها و تخمدان‌ها در شکوفه‌های واقع در مرحله D و F فنولوژیک .....۵۴
جدول ۳-۲- دمای وقوع LT≥50 و LT≥10 برای تخمدان‌های ارقام مورد مطالعه در مرحله D فنولوژیک.....۵۶
جدول ۳-۳- دمای وقوع LT≥50 برای کلاله‌های ارقام مورد مطالعه در مرحله D فنولوژیک .....۵۹
جدول ۳-۴- دمای وقوع LT≥50 برای تخمدان‌های ارقام مورد مطالعه در مرحله F فنولوژیک.....۶۵
جدول ۳-۵- دمای وقوع LT≥50 برای کلاله‌های ارقام مورد مطالعه در مرحله F فنولوژیک .....۶۹
جدول ۳-۶-جدول تجزیه واریانس درصد نشت الکترولیت‌ها، پراکسیداسیون لیپیدی(میزان مالون د آلدئید)، محتوای پروتئین کل، محتوای پرولین آزاد کل، میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در مرحله D فنولوژیک.....۷۸
جدول ۳-۷-جدول تجزیه واریانس درصد نشت الکترولیت‌ها ، پراکسیداسیون لیپیدی (میزان مالون د آلدئید)، محتوای پروتئین کل، محتوای پرولین آزاد کل، میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در مرحله F فنولوژیک.....۷۹
جدول ۳-۸- ضرایب هم‌بستگی بین میزن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مرحله D فنولوژیک ....۱۴۹
جدول ۳-۹- ضرایب هم‌بستگی بین میزن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مرحله F فنولوژیک .....۱۴۹

## فهرست اشکال

عنوان..... صفحه

شکل۱-۱- بیان دیاگراماتیکی مکانیسم دهیدراسیون سلولی در دماهای انجماد.....۲۳

شکل ۱-۲- مسیرهای سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاهان..... ۳۱
شکل ۱-۳- مکان‌یابی درون‌سلولی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مختلف..... ۳۲
شکل ۱-۴- چرخه Haber-Weiss..... ۳۲
شکل ۱-۵- چرخه گلوتاتیون-آسکوربات..... ۳۵
شکل ۱-۶- مسیر متالولیک بیوسنتز پرولین در گیاهان..... ۳۹
شکل ۱-۷- تصویر شماتیک مسیر متابولیسم گلایسین بتائین..... ۴۱
شکل ۲-۱- تصویر شکوفه‌های هلو در مرحله A) D و B) F فلکینگر..... ۴۶
شکل ۲-۲- مادگی آسیب‌دیده (سمت راست) و سالم (سمت چپ) در شکوفه هلو..... ۴۷
شکل ۲-۳- منحنی استاندارد پرولین..... ۵۰
شکل ۳-۱- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد تخمدان‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۵۵
شکل ۳-۲- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد تخمدان‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۵۷
شکل ۳-۳- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد کلاله‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۵۸
شکل ۳-۴-میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد کلاله‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۶۰
شکل ۳-۵- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصدگلبرگ‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۶۱
شکل ۳-۶-میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصدگلبرگ‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۶۳
شکل ۳-۷- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (تخمدان‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۶۶
شکل ۳-۸-میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد تخمدان‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۶۷

شکل ۳-۹- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (کلاله‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک... ۶۸
شکل ۳-۱۰-میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد کلاله‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف... ۷۰
شکل ۳-۱۱- میزان خسارت ناشی از یخزدگی (گلبرگ‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک... ۷۲
شکل ۳-۱۲-میزان خسارت ناشی از یخزدگی (درصد گلبرگ‌های خسارت دیده) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف... ۷۳
شکل ۳-۱۳- میزان نشت الکترولیت‌ها (٪) تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک... ۸۰
شکل ۳-۱۴- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخزدگی در مرحله D فنولوژیک با مقادیر نشت الکترولیت‌ها... ۸۱
شکل ۳-۱۵-میزان نشت الکترولیت‌ها در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف... ۸۲
شکل ۳-۱۶- میزان نشت الکترولیت‌ها تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک... ۸۳
شکل ۳-۱۷- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخزدگی در مرحله F فنولوژیک با مقادیر نشت الکترولیت‌ها... ۸۴
شکل ۳-۱۸-میزان نشت الکترولیت‌ها در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف... ۸۵
شکل ۳-۱۹- میزان پراکسیداسیون لیپیدی (میزان مالون د آلدئید) تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف تحت عنوان تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک... ۹۱

شکل ۳-۲۰- میزان پراکسیداسیون لیپیدی (میزان مالون د آلدئید) تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه-های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۹۱
شکل ۳-۲۱- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخزدگی در مرحله D فنولوژیک با مقادیر پراکسیداسیون لیپیدی..... ۹۲
شکل ۳-۲۲- میزان پراکسیداسیون لیپیدی (میزان مالون د آلدئید) تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه-های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۹۳
شکل ۳-۲۳- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخزدگی در مرحله F فنولوژیک با مقادیر پراکسیداسیون لیپیدی..... ۹۴
شکل ۳-۲۴-میزان پراکسیداسیون لیپیدی (میزان مالون د آلدئید) در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمار-های دمایی مختلف..... ۹۵
شکل ۳-۲۵- محتوای پروتئین کل تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۹۹
شکل ۳-۲۶-محتوای پروتئین کل در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۰۰
شکل ۳-۲۷- محتوای پروتئین کل تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۱۰۲
شکل ۳-۲۸-محتوای پروتئین کل در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۰۳
شکل ۳-۲۹- محتوای پرولین آزاد کل تحت تاثیر تنش یخزدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۱۰۸
شکل ۳-۳۰- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخزدگی در مرحله D فنولوژیک با محتوای پرولین آزاد کل..... ۱۰۹

شکل ۳-۳۱-محتوای پرولین آزاد کل در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۱۰
شکل ۳-۳۲- محتوای پرولین آزاد کل تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۱۱۲
شکل ۳-۳۳- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله F فنولوژیک با محتوای پرولین آزاد کل..... ۱۱۲
شکل ۳-۳۴-محتوای پرولین آزاد کل در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۱۴
شکل ۳-۳۵- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۱۲۱
شکل ۳-۳۶- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله D فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۱۲۱
شکل ۳-۳۷- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۲۲
شکل ۳-۳۸- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۱۲۴
شکل ۳-۳۹- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله F فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۱۲۴
شکل ۳-۴۰- میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۲۵
شکل ۳-۴۱- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۱۲۷

شکل ۳-۴۲- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله D فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۱۲۷
شکل۳-۴۳- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۲۹
شکل ۳-۴۴- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۱۳۰
شکل ۳-۴۵- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله F فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۱۳۱
شکل ۳-۴۶- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۳۳
شکل ۳-۴۷- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۱۳۵
شکل ۳-۴۸- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله D فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز..... ۱۳۵
شکل ۳-۴۹- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۳۷
شکل ۳-۵۰- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک..... ۱۳۸
شکل ۳-۵۱- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله F فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم کاتالاز..... ۱۳۹

شکل ۳-۵۲- میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۴۱
شکل ۳-۵۳- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک..... ۱۴۳
شکل ۳-۵۴- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله D فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ..... ۱۴۳
شکل۳-۵۵- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله D فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۴۵
شکل ۳-۵۶- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تاثیر تنش یخ‌زدگی در شکوفه‌های گل ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک ..... ۱۴۷
شکل ۳-۵۷- منحنی رگرسیون و ضریب هم‌بستگی (Correlation coefficient=r) بین درصد خسارت ثبت شده در تخمدان‌های شکوفه‌های تحت تنش یخ‌زدگی در مرحله F فنولوژیک با میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ..... ۱۴۷
شکل ۳-۵۸- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شکوفه‌های ارقام مورد مطالعه هلو در مرحله F فنولوژیک تحت تاثیر تیمارهای دمایی مختلف..... ۱۴۸

رشد و عملکرد گیاهان در برخی موارد در معرض ناملایمات طبیعی از جمله تنش‌های دمای پائین، شوری، خشکی، غرقابی، گرما، تنش اکسیداتیو و سمیت عناصر سنگین متفاوتی قرار می‌گیرند (مهاجان و توتجا، ۲۰۰۵).

تمامی عوامل تنش فوق الذکر به عنوان مانعی در راستای رسیدن گیاهان به پتانسیل ژنتیکی خود و محدود نمودن تولید عمل می‌کنند. در واقع، تنش‌های غیرزیستی دلیل اصلی افت میزان محصول بوده و منجر به کاهش عملکرد گیاهان در حدود بیش از ۵۰٪ پتانسیل ژنتیکی گیاه می‌شوند. تنش‌های غیر زیستی سالانه از طریق افت عملکرد گیاهان منجر به از بین رفتن سرمایه‌ای در حدود صدها میلیون دلار می‌شوند (بری و همکاران، ۲۰۰۰).

یخزدگی یکی از تنش‌های محیطی مهمی است که منجر به ایجاد خسارت اقتصادی در گیاهان شده و گسترش گونه‌های وحشی و اهلی گیاهان را محدود می‌کند (پیرس، ۲۰۰۱). در مناطق معتدله، خسارت ناشی از یخزدگی بعد از برطرف شدن خواب و در زمان گلدهی (یخبندان بهاره) از اهمیت بیشتری در مقایسه با خسارت ناشی از یخبندان زمستانه برخوردار است. یخزدگی طی دوره‌های نموی مذکور منجر به کاهش شدید گلها و میوه‌ها و یا منجر به آسیب جزئی به میوه‌ها می‌شود که در نهایت منجر به خسارات اقتصادی در نتیجهٔ یخزدگی می‌شود. به‌طوریکه یک یخبندان شدید ممکن است کل میوه‌ها را از بین ببرد یا یخبندان ملایم میزان محصول را بطور قابل توجهی کاهش دهد (رودریگو، ۲۰۰۰؛ سکوزاوا و همکاران، ۲۰۰۳).

از طرفی، در مطالعات انجام یافته در زمینه عوامل موثر در یخزدگی مشخص شده است که تغییرات آب و هوایی منجر به افزایش احتمال یخبندان‌های بهاره می‌شود. چراکه گرم شدن جهانی هوا منجر به زودگلدهی در گونه‌های معتدله و افزایش حساسیت گلها به سرمازدگی شده و افزون بر این میزان مقاومت گیاهان به دماهای پائین بهار و مصرف ذخایر غذایی ناشی از دماهای بالای زمستان کاهش می‌یابد. درختان

میوه هسته‌دار از جمله هلو، معمولا در اوایل بهار –زمانیکه احتمال صدمات یخزدگی بیشتر است– شروع به شکوفایی می‌کنند. بنابراین، جوانه‌های گل هلو نسبت به یخزدگی بهاره بسیار حساس می‌باشند (اوزتکین، ۲۰۰۸).

در بین گیاهان باغی، هلو یکی از درختان میوه بسیار مهم با تولیدی معادل ۲۱،۵۳۰،۰۰۰ تن می‌باشد. بعلاوه, ایران یکی از مراکز مهم تولید هلو در جهان بوده و تقریبا ۵۰۰،۰۰۰ تن هلو در سال ۲۰۱۲ در ایران تولید شده است (فائو، ۲۰۱۲). با وجود این، ارقام هلو به دلیل گلدهی زودهنگام تا حدودی حساس به یخبندان‌های بهاره می‌باشند و در مناطق معتدله یخبندان بهاره می‌تواند منجر به کاهش تعداد جوانه‌ها، گلها و میوه‌ها و در نتیجه محدود نمودن تولید هلو شود (اوزتکین، ۲۰۰۸).

گزارشهای متعددی مبنی بر آنزیم‌های دخیل در متابولیسم‌های آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش یخزدگی وجود دارد (زانگ و همکاران، ۲۰۰۹). از طرفی، مطالعات متعددی در جهت تعیین ارقام حساس و مقاوم به یخزدگی از طریق مشاهدات ظاهری، ارزیابی نشت الکترولیت و درصد میوه‌بندی انجام یافته است. با وجود این، براساس بررسی منابع انجام یافته هیچ یک از مطالعات انجام‌یافته تا کنون نتایج حاصل از اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها و مشاهدات ظاهری را با میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در هلو مورد مقایسه قرار نداده است. در مورد ارقام محلی هلو، مطالعاتی در زمینه میزان مقاومت ارقام مختلف محلی هلو در برابر یخبندان زمستانه توسط آرین پویا و همکاران(۱۳۸۸) انجام یافته است. اما، در مورد یخبندان بهاره مطالعه ای در مورد ارقام محلی هلو وجود ندارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر ارزیابی پاسخ ارقام مختلف هلو به خسارت یخزدگی و ارتباط بین خسارت یخزدگی و فعالیت آنزیمی در ارقام هلو تحت تنش یخزدگی می‌باشد.

# فصل اول :
# بررسی منابع

**۱-۱-کلیاتی در مورد هلو**

هلو به عنوان رقیب سیب، برترین میوهٔ هسته‌دار در زمینهٔ سازش‌پذیری به طیف وسیعی از نواحی رشد و شرایط آب و هوایی متنوع به حساب می‌آید. دوره نونهالی کوتاه هلو را به عنوان یک درخت میوه زودبارده مطرح کرده است. بعلاوه اندازهٔ کوچک ژنوم و سهولت انجام تلاقی‌های کنترل‌شده آن را به یک سیستم مطلوب برای اصلاح‌گران و محققینی که بهبود میوه‌بندی درختان میوه را هدف قرار داده‌اند، تبدیل کرده است (بیه لینبِرگ و همکاران، ۲۰۰۹).

هلو به شرایط آب‌وهوایی مناطق معتدله و نیمه‌گرمسیری سازگار است. مناطق تولید تجاری آن بین عرضهای جغرافیایی ۳۰ و ۴۵ درجه شمال و جنوب واقع شده است (اسکورزا و اُکی، ۱۹۹۱). دماهای بین ۲۰- تا ۲۵- درجهٔ سانتی‌گراد باعث از بین رفتن جوانه‌های گل می‌شود و در دماهای زیر۳۰- درجهٔ سانتی-گراد به چوب درخت آسیب می‌رسد (جنیک، ۲۰۰۵). بسیاری از ارقام هلو به ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ ساعت دمای زیر ۷ درجهٔ سانتی‌گراد نیاز دارند و به سرماهای اوایل بهار بسیار حساس می‌باشند (هنکوک و اسکورزا ، ۲۰۰۸). دماهای پائین اواسط زمستان و یخبندان‌های بهاره تولید هلو را در مناطق معتدله محدود می‌کند و عدم برآورده شدن نیاز سرمایی جوانه‌های رویشی و زایشی تولید این محصول را در مناطق گرمسیری محدود می‌کنند (اسکورزا و اُکی، ۱۹۹۱، هنکوک و اسکورزا ، ۲۰۰۸).

علاوه بر دما، رطوبت نیز در کاشت هلو مهم است و مرغوب‌ترین میوه‌های هلو در مناطق با آب وهوای گرم و خشک تولید می‌شوند و این امر نواحی تولید تجاری آن را محدودتر می‌کند(هنکوک و اسکورزا، ۲۰۰۸؛ بیه لینبِرگ و همکاران، ۲۰۰۹). بیشتر ارقام هلو خودبارور می‌باشند اما جی.اچ.هِیل[1]، مارسان[2]، جوئن

1 -J.H.Hale
2 -Marsan

اِلبرتا[1]، هالبرتا[2]، کاندوکا[3]، چاینس‌کلینگ[4]، آلماراند[5]، کراوفورد[6] و جیانت[7] نیاز به دگرگرده‌افشانی دارند ( مک‌فارلین، ۱۹۹۵).

**۱-۱-۱-گیاهشناسی هلو**

هلو(*Prununs persica* (L.) Batsch) به زیرخانوادهٔ *Prunoideae* از خانوادهٔ *Rosaceae* تعلق دارد و همراه با بادام در زیرجنس *Amygdalus* از جنس*Prunus* طبقه‌بندی شده و توسط پوست هسته چین‌دار از سایر زیرگونه‌ها تشخیص داده می شود. (بیه لینبِرگ و همکاران، ۲۰۰۹). بیشتر هلوهای زراعی دیپلوئید بوده و دارای عدد پایه (X=۸) می‌باشند (بسی و مونت، ۲۰۰۸). گل‌های هلو به صورت منفرد و محوری در روی شاخه‌های یک‌ساله ظاهر می‌شوند و به رنگ صورتی، سفید و قرمز، مجاور یک جوانه چوب قرار می‌گیرند. اگرچه درختانی به فرم اسپار[8] نیز وجود دارند، اما به‌طور کلی اسپار کمی تولید می‌کنند. گل‌آغازی در تابستان سال قبل و روی شاخه‌های سال جاری صورت می‌گیرد (رسول‌زادگان، ۱۳۷۵؛ سیرینی‌واسان و همکاران، ۲۰۰۵). میوهٔ هلو از نوع شفت[9] بوده و شامل یک اپیدرم[10] نازک و یک مزوکارپ[11] گوشتی است که ممکن است جدا از اندوکارپ[12] سخت (هسته‌جدا)[13] یا به‌صورت چسبان[14] باشد. هر میوه معمولاً دارای یک بذر است. منحنی رشد میوهٔ هلو از نوع سیگموئید مضاعف می‌باشد (رسول‌زادگان، ۱۳۷۵؛ ایمانی، ۱۳۸۳؛ اسکورزا و اُکی، ۱۹۹۱؛ سیرینی‌واسان و همکاران، ۲۰۰۵).

---

1 -June Elberta
2 -Halberta
3-Candoka
4 -Chinese cling
5-Almarand
6-Crawford
7 -Giant
8 -Spur
9 -Drupe
10 -Epiderm
11 -Mesocarp
12 -Endocarp
13 -Freestone
14 -Clingstone

ارقام مختلف هلو از لحاظ رنگ پوست و گوشت و نیز شکل میوه تنوع وسیعی دارند. شکل میوه از نوک‌دار، گرد تا پهن و رنگ میوه از زرد، سـفید تا قرمز متفاوت است (سیرینی‌واسان وهمکاران، ۲۰۰۵؛ هنکوک و اسکورزا ، ۲۰۰۸؛ هومر و جنیک، ۲۰۰۹). به طور کلی دو نوع بافت گوشت میوه به نام‌های ذوب‌شونده[1] و لاستیکی [2] در هلو وجود دارد. تیپ گوشت لاستیکی به صورت هسته چسبان بوده و برای فرآوری به کار می‌رود، هرچند هم اکنون به دلیل قابلیت حمل و نقل آنها به صورت رسیده کاربرد آنها برای تازه‌خوری افـزایش یافته است (هومر و جنیک، ۲۰۰۹).

پنج گونه‌ای که می‌توان به آنها هلو اطلاق نمود، جهت برنامه‌های اصلاحی ارقام و پایه‌های هلو، به عنوان منبع مقاومت به حشرات، پاتوژنها و نماتدها مورد استفاده قرار می‌گیرند (بیه لینبِرگ وهمکاران، ۲۰۰۹). برخی مشخصات هر یک از گونه‌های مورد اشاره به شرح زیر می‌باشد:

❖ ***P. persica* (L.) Batsch**

نام عمومی این گونه، هلو[3] و یا مائوتائو[4] بوده و گونه‌ای است دیپلوئید با برگ‌های نوک‌تیز، بدون کرک و مضرس؛ گل‌ها از صورتی تا سفید و یا قرمز متفاوت است. میوه کرک‌دار یا بدون کرک، گوشتی با مزوکارپ بدون شکاف بوده و آندوکارپ آن کاملاً شیاردار می‌باشد (بسی و مونت، ۲۰۰۸؛ هنکوک و اسکورزا ، ۲۰۰۸).

❖ ***P. davidiana* (Carr.) Franch**

با نام عمومی هلوی کوهی[5] و یا شان‌تائو[6] گونه‌ای است وحشی، مقاوم به سرما و بومی چین که معمولاً به‌عنوان پایه در چین و به‌ندرت در سایر مناطق به کار می‌رود. اما زودگل بوده وحساسیت بالایی به نماتد دارد. درختی است بلند قامت (حدود۱۰ متر)، با برگ‌های کشیده و بی‌کرک و میوه‌ها بصورت هسته‌جدا با

1-Melting
2- Rubbery
3 -Peach
4- Maotao
5- Mountain peach
6- Shan tao