فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۰، خرداد و تیرماه ۱۴۰۳ صفحه: ۳۹۷-۴۱۲
https://doi.org/10.22034/13.60.397

مقاله پژوهشی

اثر کاربرد اسید سالسیلیک، ضدیخ و روغن سویا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و اسمولیت‌های آلی گل گیلاس رقم "سیاه تکدانه مشهد" در شرایط تنش سرما

حسین سرتیپ، علی‌اکبر شکوهیان*، اسماعیل چمنی و علیرضا قنبری
گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۰۹، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۸/۰۱)

چکیده
به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد اسید سالسیلیک، ضدیخ و روغن سویا، بر مقاومت به سرمای گل گیلاس رقم "سیاه تکدانه دانه مشهد" آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه فاکتور {(اسید سالیسیلیک: صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار)، (ضدیخ طبیعی تیوفر: صفر، ۲/۵ و ۵ قسمت در ۱۰۰۰) و (روغن سویا: صفر، ۲/۵ و ۵ قسمت در۱۰۰۰)} و در چهار تکرار در یک باغ تجاری واقع در شهرستان سرعین در سال‌های ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات سه جانبه فاکتورها بر میزان پرولین در سطح احتمال ۵ درصد و بر کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار هستند. بیشترین میزان پرولین (۷۰/۸۵ درصد نسبت به شاهد) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار به‌همراه روغن سویا (۵ قسمت در ۱۰۰۰) و محلول‌پاشی ۵ قسمت در ۱۰۰۰ ضدیخ تیوفر مشاهده شد. اثرات دو جانبه اسید سالسیلیک و روغن سویا بر گلایسین بتائین در سطح احتمال ۱ درصد و بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت داشتند. بیشترین تجمع گلایسین بتائین (۲۷/۲۷ درصد بیشتر نسبت به تیمار شاهد) و همچنین بیشترین میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (۳۶/۸۴ درصد بیشتر نسبت به تیمار شاهد) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ قسمت در ۱۰۰۰) حاصل شد. با توجه به مشاهدات این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که استفاده همزمان از تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۳ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ قسمت در ۱۰۰۰) و محلول‌پاشی ۵ قسمت در ۱۰۰۰ ضدیخ طبیعی تیوفر در گل‌های گیلاس می‌تواند در افزایش برخی از شاخص‌های مهم مقاومت به سرمای گیلاس (پرولین، کربوهیدرات و پروتئین) در برابر تنش سرما مؤثر واقع شود.

واژه‌های کلیدی: القای مقاومت، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بتائین گلایسین، سرمازدگی، گیلاس

مقدمه
تنش‌های محیطی در گیاهان سبب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی می‌شوند که این تغییرات، بر رشد و مقدار محصول تأثیر منفی می‌گذارند (Javadian *et al.*, 2010). تنش سرما از بین تنش‌های غیرزنده، به‌دلیل کاهش محصول و محدودیت در پراکنش جغرافیایی گیاهان، اهمیت زیادی دارد (Matuk *et al.*, 2008). خسارت ناشی از سرما در مراحل حساس رشد و نمو گیاه، یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد گیاهان در سراسر جهان است (Yang *et al.*, 2011) که بیشترین خسارت اقتصادی به محصولات کشاورزی ناشی از

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: shokouhiana@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

خسارت سرمازدگی بهاره بوده است (EI-Tayeb, 2005). بنابراین هر عاملی که موجب به تأخیر انداختن روند نمو جوانه‌ها در بهار شود، می‌تواند سبب مصونیت آنها از سرمای بهاره شود. برای این منظور اقدامات زیادی را می‌توان انجام داد. یکی از راهکارها، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله جیبرلین، اسید سالیسلیک و اتفن است که می‌توانند در کاهش خسارت سرمای بهار مؤثر باشند. مکانیسم تأخیر گلدهی با استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد، توقف تقسیم سلولی و تأخیر در نمو جوانه‌های گل و کاهش در رشد است (معین‌راد، ۱۳۸۸).

اسید سالیسلیک (SA) یا اورتو هیدروکسی بنزوئیک اسید یک فیتوهورمون از فنولیک‌های طبیعی مهم هستند که باعث عکس‌العمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شود. این ماده همانند یک آنتی‌اکسیدانت غیرآنزیمی نقش مهمی دارد (EI-Tayeb, 2005). این ماده در واکنش‌های دفاعی گیاه به تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، سرما و گرما نقش دارد (Yuan and Lin, 2008). همچنین اسید سالیسلیک تأثیر خود را بر فتوسنتز از طریق بسته‌شدن روزنه، کاهش تعرق، سنتز کلروفیل، ممانعت از بیوسنتز اتیلن و جذب و انتقال عناصر غذایی اعمال می‌کند (Ghai *et al*., 2002).

به‌نظر می‌رسد که اسید سالسیلیک در مقاومت به تنش سرما از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم پراکسید هیدروژن، زمینه کاهش خسارت سرما و افزایش تحمل گیاه به سرما را فراهم می‌آورد. نقش حفاظتی اسید سالسیلیک در برابر آسیب سرمایی در گیاهان مختلف مانند هلو (*Prunus persica*) (Cao *et al*., 2010)، زردآلو (*Prunus armeniaca*) (Guo *et al*., 2007) و انار (*Punica granatum*) (Sayyari *et al*., 2009) گزارش شده است. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در مرحله گلدهی روی دو رقم زردآلو نشان داد که غلظت ۲ میلی‌مولار این تنظیم‌کننده رشد توانست خسارت ظاهری سرمازدگی را کاهش دهد (Alirezaie noghondar *et al*., 2013). در تحقیقی بین چند رقم زردآلو و هلو تحت تأثیر دماهای دیررس بهاره نشان داده شد که در هنگام رکود جوانه‌های درختان زردآلو مقاومت بیشتر و هنگام بازشدن گل‌ها مقاومت کمتری از جوانه‌های ارقام هلو داشتند (Szymajda *et al*., 2013). Luo و همکاران (۲۰۱۴) بیان نمودند که محلول‌پاشی اسید سالسیلیک روی نشاهای گیاه *Plukenetia volubilis* L. منجر به افزایش میزان پرولین و قندهای محلول گردید و به‌نظر می‌رسد از این طریق موجب بهبود تحمل به سرما در گیاهان تحت تنش شد.

ترکیبات تجاری مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله مواد ضدتعرق و ضدیخ نیز برای افزایش مقاومت به سرما یا تأخیر در شکستن رکود جوانه‌های محصولات باغی به‌کار می‌روند (Mahmoudzade *et al*., 2012). روش دیگر برای کاهش خسارت سرمای بهاره استفاده از ضدیخ طبیعی (Natural Plant Antifreeze) است. این مواد یا به‌صورت سد مکانیکی جلوگیری از تشکیل کریستال‌های یخ روی بافت‌های گیاهی حساس عمل می‌کنند یا سامانه‌های مقاومت به سرما در گیاه را فعال می‌کنند (Wilson, 2001). ضدیخ طبیعی، نقطه انجماد را در گیاهان پایین‌تر آورده (۸–۷ درجه) و بر این اساس کمک می‌کند تا از گیاهان در مقابل سرما و یخ‌زدگی محافظت شود. عملکرد مواد ضدیخ در کاهش اثرات تنش‌ها به غلظت و مرحله رشد گیاه بستگی دارد. به‌طوری‌که غلظت بسیار کم (۰/۰۱ در هزار) و بسیار بالای آن (۱۰۰ در هزار) منجر به افزایش حساسیت و کاهش مقاومت گیاهان به تنش‌های غیرزیستی می‌شود (Miura and Tad, 2014).

از ضدیخ طبیعی تیوفر، کراپ‌آید و فوسنوترن در باغ‌های بادام (*Prunus dulcis*) (Mahmoudzadeh and Imani, 2011)، گیلاس (*Prunus cerasus*) (Haji vand *et al*., 2015) و زرد آلو (Mahmoudzade *et al*., 2012) به‌عنوان ضدیخ استفاده شده است.

رحمتی و حاجی‌وند (۱۳۹۷) گزارش کردند که بوته‌های انگور رقم قرمز بی‌دانه تیمارشده با مواد ضدیخ نه تنها از نظر میزان مواد جامد محلول، وزن خشک و عملکرد بلکه از نظر اسمولیت‌های تنظیم اسمزی مانند پرولین و گلایسین بتائین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به بوته‌های شاهد به صورت معنی‌داری برتر بودند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

کاربرد روغن سویا در دوره خواب گیاه ضمن تغییر در ترکیب هوای داخل جوانه و محدودکردن تبادل‌های گازی، در به تأخیر انداختن زمان بازشدن جوانه‌ها مؤثر است (Dami and Beam, 2004). تأثیر روغن سویا در به تأخیرانداختن گلدهی در درختان مختلفی نظیر ارقام هلو (Cervantes *et al*., 2004; pend Reighard, 2008)، ارقام مختلف انگور (*Vitis vinifera*) (Gastier, 2003; Qrunfleh, 2010)، زردآلو (علیزاده و همکاران، ۱۳۷۹) و بلوبری (Dennis *et al*., 2003; Deyton *et al*., 2005) گزارش شده است.

گیلاس با نام علمی *Prunus avium* L. از تیره Rosaceae، زیر تیره Prunoideae و جنس Prunus یکی از محصولات مهم باغبانی کشور محسوب می‌شود.

با وجود آسان و ارزان‌بودن استفاده از این مواد بـرای باغداران، اطلاعات اندکی در خصوص تأثیر این مواد در کنترل سـرمازدگی در باغات وجود دارد. بنابراین پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، روغن سویا و ضدیخ طبیعی تیوفر بر شاخص‌های مقاومت به سرمای جوانه‌های زایشی گیلاس تحت دمای ۴- درجه سانتی‌گراد اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر کاربرد اسید سالسیلیک، ضدیخ و روغن سویا بر تحمل به سرمای گیلاس رقم سیاه تکدانه مشهد آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه فاکتور اسید سالیسیلیک (صفر، ۱/۵ و ۳ میلی‌مولار)، ضدیخ طبیعی تیوفر (صفر، ۲/۵ و ۵ قسمت در ۱۰۰۰) و روغن سویا (صفر، ۲/۵ و ۵ قسمت در ۱۰۰۰) در چهار تکرار و در طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۸ در یک باغ تجاری واقع در شهرستان سرعین، روستای کرده‌ده اجرا شد. این تیمارها به صورت محلول‌پاشی در سه نوبت (زمان تورم جوانه، غنچه و بازشدن کامل گل) انجام گرفت. ۷۲ ساعت بعد از اعمال آخرین مرحله تیمارهای آزمایشی، شاخه‌ها حاوی گل از درختان باغ گرفته شده و در کیسه‌های پلاستیکی همراه با فلاسک حاوی یخ به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه باغبانی و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه محقق اردبیلی منتقل شدند. شاخه‌ها در پارچه‌های مرطوب و در داخل فویل آلومینیوم پیچیده و سپس در داخل کیسه‌های پلاستیکی قرار گرفتند. کیسه‌های پلاستیکی حاوی شاخه‌ها در حمام اتیلن¬گلیکول به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد تیمار شدند. نمونه‌ها از انکوباتور خارج شده و در دمای اتاق ۲۱±۱° C به مدت ۲۴ ساعت قرار داده و سپس نمونه‌های هر تیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند. دمای محیط با توجه به اینکه در دو سال متفاوت انجام شده است از اداره هواشناسی شهرستان سرعین جمع‌آوری و در جدول ۱ آورده شده است.

اندازه‌گیری میزان گلایسین بتائین به روش Grieve و Grattan (۱۹۸۳) صورت گرفت. میزان پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. به‌منظور سنجش غلظت پروتئین‌های محلول کل از روش Bradford (۱۹۷۹) استفاده شد. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول کل گل، از روش Khochert (۱۹۷۸) استفاده گردید.

فعالیت پراکسیداز به روش تست گایاکول و تبدیل آن به تتراگایاکول به انجام رسید. تتراگایاکول تشکیل‌شده در واکنش، بیشینه جذبی را در ۴۷۰ نانومتر نشان می‌دهد. یک واحد فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تشکیل ۱ میکرولیتر تتراگایاکول در یک دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (Zhi-You *et al*., 2003).

فعالیت آنزیم کاتالاز به‌وسیله کاهش در جذب پراکسید هیدروژن در ۲۴۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل: U-3900H، شرکت سازنده: Hitach، کشور سازنده: ژاپن) اندازه‌گیری شد. یک واحد فعالیت آنزیم کاتالاز به‌عنوان مقدار آنزیم مورد نیاز برای تجزیه ۱ میکرولیتر سوبسترای پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در نظر گرفته شده است (Khanizadeh *et al*., 2000).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش ممانعت واکنش بسته به O_2^- توسط آنزیم اندازگیری شد. در این روش سوپراکسید به روش فتولیز ریبوفلاوین تولید می‌گردد. سپس O_2^-، نیتروبلو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

جدول ۱- میانگین دمای ماهانه در طی آزمایش- سال‌های ۹۹-۱۳۹۸

سال	فروردین (درجه سانتی‌گراد)	اردیبهشت (درجه سانتی‌گراد)	خرداد (درجه سانتی‌گراد)
۱۳۹۸	۶/۸	۱۲/۱	۱۸/۴
۱۳۹۹	۶/۱	۱۲	۱۹/۷

تترازولیوم کلرید (Nitro Blue Tetrazolium Chloride) را به ترکیب ارغوانی دی‌فرمازان احیا می‌کند. این روش براساس توانایی سوپراکسید در ممانعت از احیائ نیتروبلو تترازولیوم کلرید است. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری از پروتئین آنزیم است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیائ نیتروبلو تترازولیوم کلرید می‌شود. برای ثبت فعالیت این آنزیم میزان جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد.

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ انجام گرفت و میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر ساده سال بر میزان گلایسین بتائین، پرولین، کربوهیدرات و پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار گردید. همچنین اثرات ساده تیمارها بر همه صفات مورد بررسی به استثنای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای روغن سویا و ضدیخ تیوفر و آنزیم پراکسیداز در تیمار ضدیخ تیوفر در سطح احتمال ۱ درصد از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری بودند. اثرات دو جانبه اسید سالسیلیک و سال بر میزان پرولین در سطح احتمال ۵ درصد و بر میزان کربوهیدرات در سطح احتمال ۱ درصد تفاوت داشتند. اثرات دو جانبه سالیسیلیک اسید و روغن سویا به استثنای پرولین و آنزیم پراکسیداز بر تمامی صفات مورد بررسی در این تحقیق اثرگذار بودند و اثرات دو جانبه اسید سالسیلیک و ضدیخ طبیعی بر میزان گلایسین بتائین و کربوهیدرات در سطح احتمال ۵ درصد و بر میزان پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد از تفاوت معنی‌داری برخوردار بودند. همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات دو جانبه روغن سویا و ضدیخ تیوفر بر کربوهیدرات در سطح احتمال ۵ درصد و بر پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. براساس نتایج اثرات سه جانبه تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات پرولین در سطح احتمال ۵ درصد و بر میزان کربوهیدرات و پروتئین در سطح احتمال ۱ درصد از نظر آماری داری تفاوت معنی‌داری هستند (جدول ۲).

بیشترین میزان پرولین (۰/۷۲۱ میکرومول بر گرم) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۳ میلی‌مولار) به‌همراه روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰) و محلول‌پاشی ۵ در ۱۰۰۰ ضدیخ طبیعی تیوفر مشاهده شد. کمترین میزان پرولین (۰/۴۲۲ میکرومول بر گرم) نیز در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۲). نتایج نشان داد که بیشترین مقدار پرولین (۰/۶۹۵ میکرومول بر گرم) در سال زراعی ۱۳۹۹ و در تیمار محلول‌پاشی ۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک حاصل شد که با تیمار محلول‌پاشی ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالسیلیک در سال ۱۳۹۹ در یک گروه آماری مشترک قرار گرفتند و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۱).

با توجه به نتایج به‌دست آمده چنین استنباط می‌شود که محلول‌پاشی با تیمارهای آزمایشی موجب تغییراتی در صفات فیزیولوژیکی گیاه شده است که شرایط مناسب‌تری را برای مواجه با تنش سرما فراهم ساخته است که این تغییرات را می‌توان با انباشت پرولین در تحقیق حاضر مشاهده کرد. انباشت اسیدآمینه پرولین در بسیاری از گیاهان در عکس‌العمل به تنش‌های محیطی مانند تنش سرما و خشکی به مقدار زیادی افزایش می‌یابد و باعث تثبیت غشای سلولی در هنگام سرما می‌شود (Rhodes *et al.*, 2000).

با توجه به اینکه در هنگام شروع فعالیت جوانه‌های گل گیلاس، دمای هوا در سال ۱۳۹۹ نسبت به سال ۱۳۹۸ پایین‌تر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل اسید سالسیلیک، روغن سویا و ضدیخ تیوفر بر میزان گلایسین بتائین و فعالیت‌های بیوشیمیایی در گل گیلاس در طی دو سال

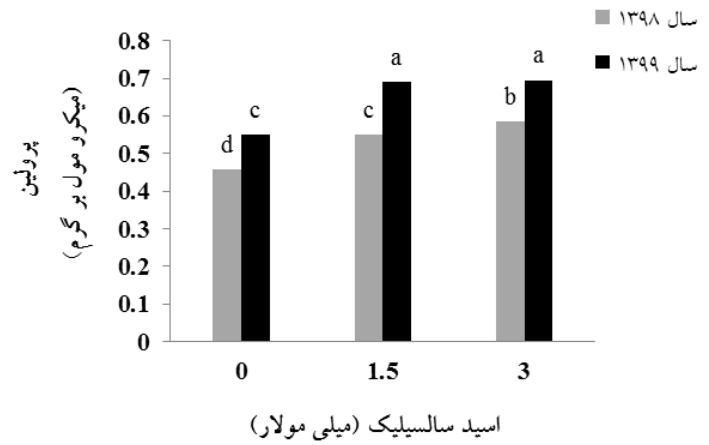
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		گلایسین بتائین	پرولین	کربوهیدرات	پروتئین	پراکسیداز	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز
تکرار	۳	۰/۰۷۹	۰/۰۰۰۸	۰/۳۲	۳۲/۴۹	۰/۰۰۱	۰/۳۴	۰/۰۰۰۹
سال (A)	۱	۱/۱۹**	۰/۷۲**	۳۳/۴۳**	۱۷۶/۵۲**	۰/۰۰۰۰۲ns	۰/۳ns	۰/۰۱۲**
خطای اصلی	۳	۰/۰۲۷	۰/۰۰۰۱	۰/۱۳	۴۳/۱۲	۰/۰۰۰۳	۰/۰۳۷	۰/۰۰۰۱
سالیسیلیک اسید (B)	۲	۰/۸۸**	۰/۴**	۸/۰۶**	۳۰۱۲/۴۵**	۰/۰۰۲**	۱۷/۳۶**	۰/۰۷۹**
روغن سویا (C)	۲	۰/۴۷**	۰/۱۵**	۳/۷۹**	۱۸۹۷/۵**	۰/۰۰۰۵**	۱۱/۸۶**	۰/۰۰۲ns
ضدیخ (D)	۲	۰/۱۷**	۰/۰۶**	۱/۸۸**	۴۶۶/۲**	۰/۰۰۰۲ns	۲/۰۹**	۰/۰۰۰۴ns
(B) × (A)	۲	۰/۰۰۳ns	۰/۰۱*	۰/۲۴**	۳/۸۲ns	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۱۴ns	۰/۰۰۱ns
(C) × (A)	۲	۰/۰۰۶ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۶ns	۱/۸۴ns	۰/۰۰۰۰۱ns	۰/۰۷۷ns	۰/۰۰۰۵ns
(D) × (A)	۲	۰/۰۲ns	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۳ns	۰/۳۱ns	۰/۰۰۰۰۴ns	۰/۱۱۶ns	۰/۰۰۱ns
(C) × (B)	۴	۰/۰۶**	۰/۰۰۳ns	۰/۲۷**	۴۷/۵۳**	۰/۰۰۰۱ns	۰/۳۷*	۰/۰۰۴*
(D) × (B)	۴	۰/۰۳*	۰/۰۰۳ns	۰/۱۱*	۴۹/۴۷**	۰/۰۰۰۲ns	۰/۲۷ns	۰/۰۰۲ns
(D) × (C)	۴	۰/۰۲ns	۰/۰۰۲ns	۰/۱۲*	۷۷/۰۷**	۰/۰۰۰۴ns	۰/۳۴ns	۰/۰۰۲ns
(C) × (B) × (A)	۴	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۱ns	۰/۶۷ns	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۱۸ns	۰/۰۰۰۴ns
(D) × (B) × (A)	۴	۰/۰۰۶ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۷ns	۰/۵۷ns	۰/۰۰۰۰۵ns	۰/۰۲۵ns	۰/۰۰۲ns
(D) × (C) × (A)	۴	۰/۰۱۷ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۴ns	۰/۴۹ns	۰/۰۰۰۰۴ns	۰/۰۳۲ns	۰/۰۰۲ns
(D) × (C) × (B)	۸	۰/۰۲ns	۰/۰۰۷*	۰/۲۹**	۴۰/۳۳**	۰/۰۰۰۲ns	۰/۱۴ns	۰/۰۰۲ns
(D) × (C) × (B) × (A)	۸	۰/۰۰۶ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۹ns	۱/۴۸ns	۰/۰۰۰۰۳ns	۰/۰۴۴ns	۰/۰۰۰۹ns
خطای فرعی	۱۵۶	۰/۰۱۳	۰/۰۰۳	۰/۰۴	۱۲/۱۷	۰/۰۰۰۰۹	۰/۱۵	۰/۰۰۱
C.V	–	۹/۶۳	۹/۱۱	۶/۸۱	۷/۶۵	۵/۵۸	۷/۵۵	۵/۱۸

****، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱، ۵ و عدم معنی‌داری است.**

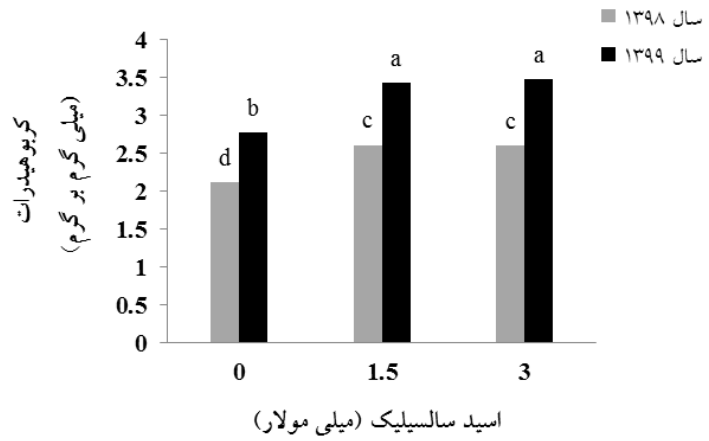
بوده است، به نظر می‌رسد در پاسخ به تنش دمای پایین، درخت گیلاس تجمع پرولین را در جوانه گل افزایش داده و به‌طورکلی، برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از تنش دمای پایین، مجموعه‌ای از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیلاس فعال شده است.

پرولین یک اسیدآمینه محلول در آب است که افزایش این اسمولیت در سلول‌ها باعث تنظیم اسمزی و کاهش پتانسیل آب و کاهش نقطه انجماد آب در شیره سلولی آنها شده و مقاومت آنها به تنش سرمازدگی را افزایش می‌دهد و بدین ترتیب میزان خسارت سرمازدگی به بافت‌ها گیاهی کاهش می‌یابد (Verbruggen and Hermans, 2008). افزایش میزان پرولین در درختان زردآلو و گیلاس با استفاده از مواد ضدیخ در شرایط آب و هوایی شاهرود و قزوین گزارش شده است (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳؛ Haji vand *et al.*, 2015). طریق الاسلامی و همکاران (۱۳۹۶) نیز گزارش کردند که بیشترین میزان پرولین در گیاه ذرت در تیمار با اسید سالسیلیک مشاهده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل سال و اسید سالسیلیک بر میزان پرولین



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل سال و اسید سالسیلیک بر میزان کربوهیدرات

گردید. Haji vand و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که ضد یخ‌های تیوفر و کراپ اید باعث بهبود محتوای اسمولیت‌ها در طول تنش سرما شد.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول (۳/۷۳ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک ۳ میلی‌مولار به همراه روغن سویا ۵ در ۱۰۰۰ و محلول‌پاشی ۵ در ۱۰۰۰ ضدیخ طبیعی تیوفر مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۷۲ درصدی نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است که بیشترین مقدار کربوهیدرات (۳/۴۸ میلی‌گرم بر گرم) در سال زراعی ۱۳۹۹ و در تیمار محلول‌پاشی ۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به دست آمد (شکل ۲).

رابطه مستقیم بین افزایش مقدار قند و مقاومت به سرما در گیاهان چوبی و علفی نیز مشاهده شده است (Eris *et al.*, 2007; Grieve and Grattan, 1983). در این شرایط نشان داده شده که افزایش در میزان مواد جامد محلول سلولی، نقطه انجماد شیره سلولی را پایین آورده و با کاهش میزان آب سلولی منجر به سازگارشدن به سرما می‌شود. محلول‌پاشی همزمان با ترکیب اسید سالسیلیک و بتائین گلایسین در کاهش پتانسیل اسمزی و ایجاد مقاومت در گیاهان ذرت تأثیر بیشتری داشت (Aldesuquy *et al.*, 2013). عبادی و همکاران (۱۳۹۸) گزارش کردند کاربرد اسید سالسیلیک در سال اول و دوم منجر به افزایش کربوهیدرات‌های محلول در درختان انگور شد.

تجمع قندها با تیمار هورمون اسید سالسیلیک افزایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان پرولین، کربوهیدرات و پروتئین

تیمار			پرولین (میکرومول بر گرم)	کربوهیدرات (میلی‌گرم بر گرم)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم)
اسید سالسیلیک (شاهد)	روغن سویا (شاهد)	تیوفر (شاهد)	۰/۴۲۲^{k}	۲/۱۷^{j}	۲۳/۶۲^{m}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۴۶۸^{jk}	۲/۳۷^{hij}	۲۸/۶۸^{l}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۴۹۳$^{h-k}$	۲/۴۱$^{h-j}$	۳۹/۸۲^{jk}
	روغن سویا (۲/۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۴۷۸^{ijk}	۲/۲۸^{ij}	۳۷/۹۷^{k}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۵$^{f-j}$	۲/۶۲$^{d-j}$	۴۲/۴۴^{hij}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۴$^{g-j}$	۲/۴۷$^{f-j}$	۴۳/۲$^{g-j}$
	روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۴۸۷$^{h-k}$	۲/۴۸$^{f-j}$	۳۹/۷۱^{jk}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۵۵$^{f—j}$	۲/۶$^{d-j}$	۴۴/۴۹$^{f-i}$
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۴$^{g-j}$	۲/۶۶$^{d-j}$	۴۳/۳۶$^{g-j}$
اسید سالسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار)	روغن سویا (شاهد)	تیوفر (شاهد)	۰/۵۴$^{g-j}$	۲/۵۹$^{e-j}$	۴۲/۴۴^{hij}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۴۳$^{g-j}$	۲/۷۴$^{c-i}$	۴۲/۵۳^{hij}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۸۲$^{d-h}$	۲/۷۷$^{c-i}$	۴۶/۴$^{e-h}$
	روغن سویا (۲/۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۵۹۳$^{c-g}$	۲/۸۶$^{c-h}$	۴۷/۴۹$^{c-f}$
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۴۱$^{a-f}$	۳/۱۶^{bcd}	۵۲/۵۳^{ab}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۷۰۵^{ab}	۳/۵۴^{ab}	۵۴/۰۸^{a}
	روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۶۶$^{a-e}$	۳/۱۱$^{b-e}$	۵۳/۲۴^{ab}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۶۸$^{a-d}$	۳/۲۹^{abc}	۵۴/۰۹^{a}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۷۵$^{a-d}$	۳/۱۳$^{b-e}$	۵۳/۶۹^{ab}
اسید سالسیلیک (۳ میلی‌مولار)	روغن سویا (شاهد)	تیوفر (شاهد)	۰/۵۶۱$^{f-j}$	۲/۳۹^{hij}	۴۱/۸۶^{ijk}
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۴$^{a-f}$	۲/۹۷$^{c-f}$	۴۵/۳۶$^{f-i}$
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۵۷۲$^{e-i}$	۲/۷۷$^{c-i}$	۴۷/۰۴$^{d-g}$
	روغن سویا (۲/۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۶۴۳$^{a-f}$	۲/۹۶$^{c-g}$	۵۰/۳۱$^{a-d}$
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۴۳$^{a-f}$	۳/۱$^{b-e}$	۵۱/۱۱^{abc}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۸۶^{abc}	۳/۲۷^{abc}	۵۱/۶۲^{ab}
	روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰)	تیوفر (شاهد)	۰/۶۱۸$^{b-g}$	۳/۰۷$^{b-e}$	۴۹/۹۶$^{b-e}$
		تیوفر (۲/۵ در ۱۰۰۰)	۰/۶۸۱^{abc}	۳/۰۷$^{b-e}$	۵۱/۶۴^{ab}
		تیوفر (۵ در ۱۰۰۰)	۰/۷۲۱^{a}	۳/۷۳^{a}	۵۲/۸۴^{ab}

حروف یکسان در هر ستون نشانه عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن است.

می‌یابد و افزایش قندها و ایجاد شیب اسمزی در گیاهان به مقاومت در برابر شرایط تنش سرما کمک می‌کند. در تحقیقی، بیشترین میانگین قندهای محلول در غلظت ۰/۱۲۵ مول بر لیتر اسید سالسیلیک به دست آمد (افشاری و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج مشابهی مبنی بر افزایش میزان مواد جامد محلول گیلاس سیاه مشهد (Sedighi *et al.*, 2011)، آلو قطره طلا

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

(Shokrollah *et al*., 2011)، انگور فلیم (Champa *et al*., 2014) و تامسون (Marzouk and Kassem, 2011) با استفاده از اسید سالسیلیک گزارش شده است. در سال دوم با توجه به افزایش در میـزان مواد جامد محلول سلولی، نقطه انجماد شیره سـلولی را پـایین آورده و با کاهش میزان آب سلولی منجر به سازگارشدن به سرما مـی‌شـود. در این مطالعه، تجمع کربوهیدرات‌های محلول در گل گیلاس در پاسخ به دمای پایین در سال دوم و با محلول‌پاشی اسید سالسیلیک مشاهده شد که با گزارش مبنی بر تجمع قندهای محلول در گونه‌های مختلف گیاهی در پاسخ به دمای پایین مطابقت داشت (Adams *et al*., 2013). به‌علاوه، افزایش میزان قندهای محلول در سال دوم تحقیق نسبت به سال اول، احتمالاً به‌دلیل ذخیره بیشتر قندهای محلول در سال اول بوده است که گیاه در شروع رشد سال بعد این ذخایر ذخیره‌شده را به بخش زایشی انتقال داده تا گیاه با افزایش تجمع محلول‌های سازگار مانند کربوهیدرات‌های محلول، در پاسخ به دمای پایین شروع فصل رشد، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش دمای پایین ایجاد کند.

با توجه به نتایج جدول میانگین اثرات متقابل سه جانبه (جدول ۳)، بیشترین میزان پروتئین‌های محلول (۵۴/۰۹ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰) و محلول‌پاشی ۲/۵ در ۱۰۰۰ ضدیخ طبیعی تیوفر مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد (۲۳/۶۲ میلی‌گرم بر گرم) اختلاف ۱۲۹ درصدی نشان داد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار پروتئین‌های محلول در سال زراعی ۱۳۹۹ با مقدار ۴۶/۵۱ میلی‌گرم بر گرم نسبت به سال ۱۳۹۸ با مقدار ۴۴/۷ میلی‌گرم بر گرم دارای برتری است (جدول ۴).

ترکیبات تجاری مانند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله مواد ضدیخ و ضدتعرق برای افزایش مقاومت به سرما یا تأخیر در شکستن رکود جوانه‌های محصولا باغی بکار می‌روند (Mahmoudzade *et al*., 2012). گزارش شده است که در هلو، اسید سالسیلیک از طریق تحریک تولید پروتئین‌های شوک حرارتی و القای سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، خسارت سرمازدگی را کاهش داد (Wang *et al*., 2006). ضدیخ‌های طبیعی علاوه بر تأثیر روی سرعت متابولیسم و ساختار غشاهای زنده، با ایجاد پایداری و تعادل انواع خاص اسیدهای چرب، سیالیت غشار را تنظیم می‌نماید تا پروتئین‌ها و نیز آنزیم‌های درون آن بتوانند بخوبی نقش خود را ایفا کنند. Pirinc و Alas (۲۰۲۱) گزارش کردند که استفاده از ضدیخ طبیعی باعث افزایش پروتئین در گیاه کاهو شد.

به نظر می‌رسد ترکیب ضدیخ استفاده‌شده در این تحقیق با افزایش میزان پروتئین‌ها باعث افزایش میزان مقاومت به سرما می‌شود. ترکیبات ضدیخ ابتدا از طریق کاهش نقطه انجماد در گیاه، سپس به دنبال جذب باکتری و ترکیبات معدنی همراه رستی سیانین، اگزالواستیک و اسید پیرورویک، مولکول‌های بزرگی را تشکیل می‌دهند که دارای ساختار پیچیده‌ای هستند. ترکیب رستی سیانین حاوی مس است که واکنش‌های بیوشیمیایی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به تولید گلیکوپروتئین شده که این پروتئین موجب افزایش تحمل به سرما در گیاه می‌شود (Venkatesh and Dayananda, 2008). یکی از دلایل افزایش پروتئین در سال دوم (۱۳۹۹) نسبت به سال اول (۱۳۹۸)، افزایش میزان گلایسین بتائین گل‌های گیلاس است که نقش اسمولیت‌هایی مانند گلایسین بتائین محافظت از ساختار پروتئین و جلوگیری از تخریب پروتئین‌های موجود و زدودن گونه‌های فعال اکسیژن است که در نهایت می‌تواند به گیاه در تحمل تنش سرما کمک کند (Ashraf and Foolad, 2007).

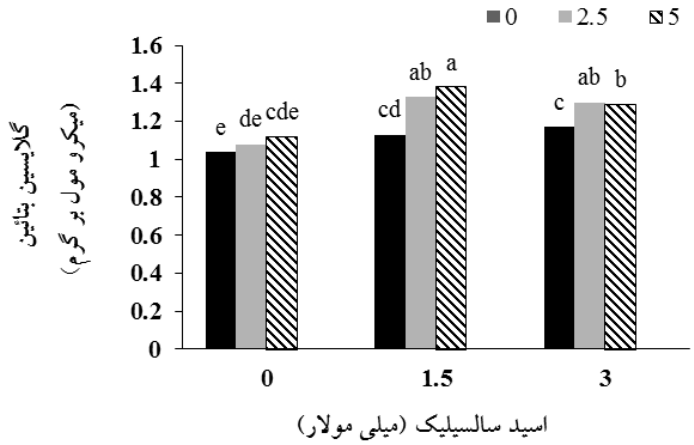
بیشترین تجمع گلایسین بتائین (۱/۳۸ میکرومول بر گرم) در گیلاس در تیمار اسید سالیسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰) مشاهده شد (شکل ۳). مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از آن است که در تیمار متقابل اسید سالسیلیک در ضدیخ طبیعی تیوفر بیشترین تجمع گلایسین بتائین نیز در تیمار محلول‌پاشی ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالسیلیک به همراه محلول‌پاشی ۵ در ۱۰۰۰ ضدیخ تیوفر حاصل شد و کمترین میزان در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۴). نتایج

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

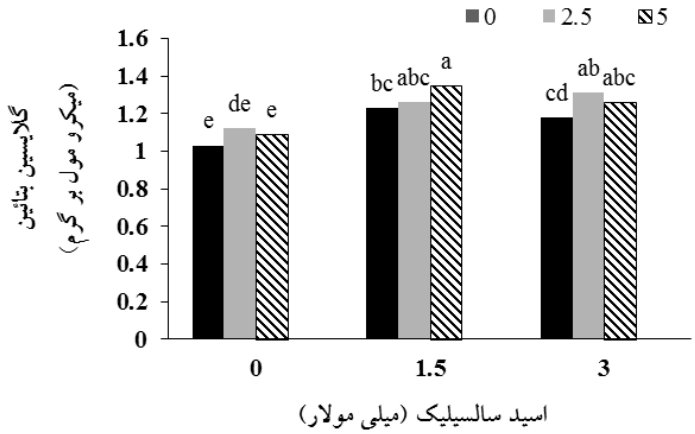
جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات ساده سال بر میزان گلایسین بتائین، پروتئین و سوپراکسید دیسموتاز

سال	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم)	گلایسین بتائین (میکرومول بر گرم)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین)
۱۳۹۸	۴۴/۷^{b}	۱/۱۳^{b}	۰/۷۶۲^{a}
۱۳۹۹	۴۶/۵۱^{a}	۱/۲۸^{a}	۰/۷۴۷^{b}

حروف یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن است.



شکل ۳- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک و روغن سویا بر میزان گلایسین بتائین

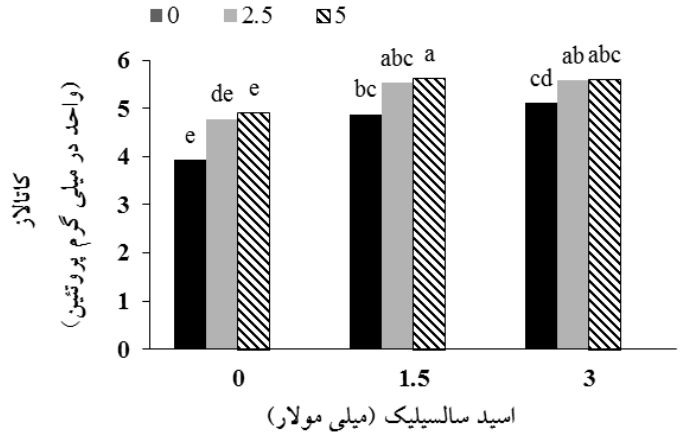


شکل ۴- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالسیلیک و ضدیخ تیوفر بر میزان گلایسین بتائین

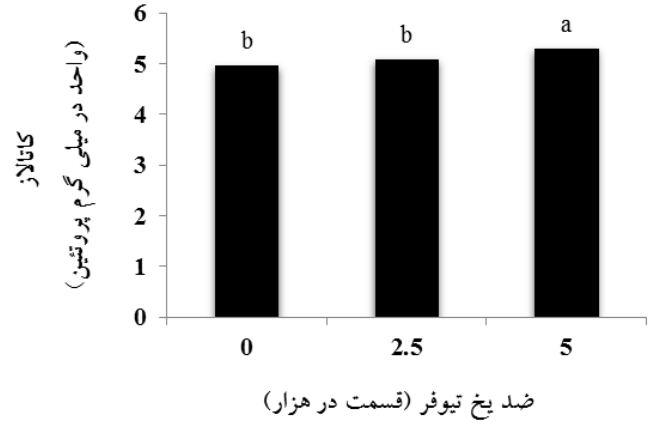
نشان داد که بیشترین میزان گلایسین بتائین (۱/۲۸ میکرومول بر گرم) در سال زراعی ۱۳۹۹ مشاهده گردید (جدول ۴).

احتمالاً یکی از دلایل افزایش میزان گلایسین بتائین اندام گل در سال دوم تحقیق حاضر (۱۳۹۹) نسبت به سال اول (۱۳۹۸)، پایین‌بودن دمای هوا در زمان شروع فعالیت رشد درخت گیلاس در سال دوم بوده است که گلایسین بتائین یکی از محافظت‌کننده‌های اسمزی است که در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی از جمله دمای پایین در گیاه تجمع می‌یابد. یکی از روش‌های افزایش تحمل به سرما و یخزدگی در گیاهان استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از قبیل اسید سالسیلیک است که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]



شکل ۵- اثر متقابل محلول‌پاشی اسید سالسیلیک و روغن سویا بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز



شکل ۶- اثر ساده محلول‌پاشی ضدیخ تیوفر بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

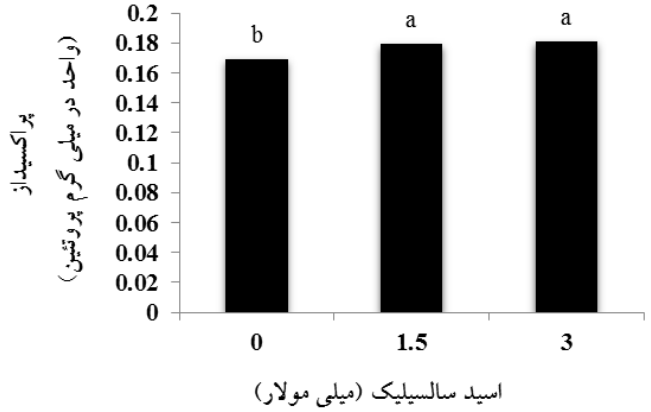
عامل مهمی در القای واکنش‌های حمایتی گیاه در برابر انواع تنش‌ها هستند (Kosova *et al*., 2010). اثر اسید سالسیلیک در تجمع اسمولیت‌های آلی نظیر گلایسین بتائین، پرولین و قند در بعضی از گیاهان در شرایط تنش‌زا گزارش شده است (Aldesuquy *et al*., 2013).

بیشترین میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی کاتالاز (۵/۶۳ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ در ۱۰۰۰) حاصل شد (شکل ۵). نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۵/۲۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار محلول‌پاشی ۵ در ۱۰۰۰ ضدیخ تیوفر مشاهده شد که با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان داد (شکل ۶).

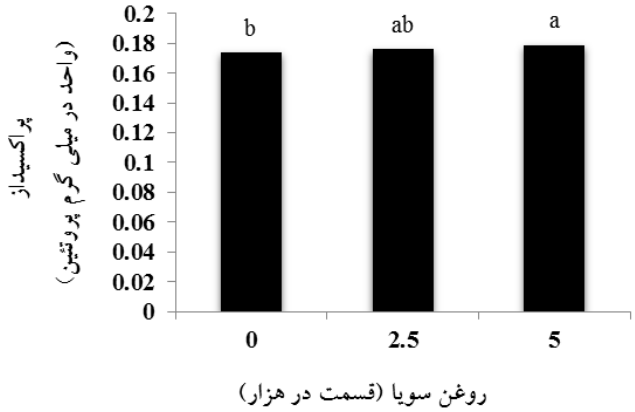
نتایج نشان داد که با افزایش میزان غلظت محلول‌پاشی اسید سالسیلیک فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر شده است ولی تیمار محلول‌پاشی ۳ میلی‌مولار اسید سالسیلیک با تیمار ۱/۵ میلی‌مولار آن اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند (شکل ۷). مقایسه میانگین دادها نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۱۷۹ واحد در میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار محلول‌پاشی ۵ در ۱۰۰۰ روغن سویا بوده و کمترین آن با میانگین (۰/۱۷۴ واحد در میلی‌گرم پروتئین) در تیمار شاهد است (شکل ۸).

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سال ۱۳۹۹ نسبت به سال ۱۳۹۸ کاهش یافته است (جدول ۳). همچنین بیشترین فعالیت این آنزیم (۰/۷۸۵ واحد در میلی‌گرم

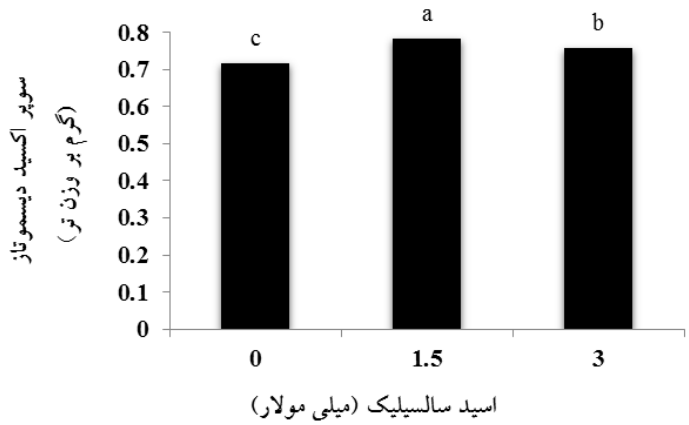
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]



شکل ۷- اثر ساده محلول‌پاشی اسید سالسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز



شکل ۸- اثر ساده محلول‌پاشی روغن سویا بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز



شکل ۹- اثر ساده محلول‌پاشی اسید سالسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

پروتئین) در تیمار محلول‌پاشی ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالسیلیک به دست آمد (شکل ۹).

نقش اسید سالسیلیک در کنترل سرمازدگی را به توانایی آن در القای سیستم آنتی‌اکسیدان و برخی از پروتئین‌های شوک

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

حراراتی نسبت می‌دهند. گفته می‌شود که کاربرد اسید سالسیلیک در وضعیت دمای کم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را بیشتر فعال می‌کند و از این طریق تحمل در برابر تنش سرمازدگی را افزایش می‌دهد (Wang *et al.*, 2006). رحمتی و حاجی‌وند (۱۳۹۷) گزارش کردند که میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در بوته‌های انگور قرمز بی‌دانه با کاربرد مواد ضدیخ نسبت به تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد تیوفر، کراپ اید و اسید سالسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در درختان پسته شد (Haji vand *et al.*, 2021).

پراکسیدازها از جمله آنزیم‌هایی هستند که نقش زیادی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی و سرما دارند. نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت پراکسیداز است که با نتایج حاجی‌زاده و صفخانی (۱۳۹۶) همخوانی دارد. کاربرد اسید سالیسیلیک، روغن سویا و ضدیخ طبیعی تیوفر در این پژوهش با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و به دنبال آن با خنثی‌کردن گونه‌های اکسیژن واکنشگر از اثرات مخرب این ترکیبات جلوگیری کرده است. احتمالاً تنظیم‌کننده‌های رشد استفاده‌شده در این تحقیق نقش زیادی در پایداری غشاء جوانه‌های گیلاس داشته و باعث ثبات غشاء و جلوگیری از آسیب سرمازدگی شده است.

اسید سالسیلیک باعث بالارفتن توان سیستم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود (Popova *et al.*, 2008). Farooq و همکاران (۲۰۰۸) روی ذرت، Karlidag و همکاران (۲۰۰۹) روی توت‌فرنگی و Tao و همکاران (۲۰۰۹) روی خیار تخفیف اثرات سرما توسط اسید سالسیلیک را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز گزارش کردند.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، مصرف همزمان اسید سالسیلیک، روغن سویا و ضدیخ طبیعی تیوفر از طریق بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی، اسمولیت‌های تنظیم اسمزی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، سبب افزایش شاخص‌های مقاومت به سرمای گیلاس شدند. درختان گیلاس تیمارشده با این ترکیبات نه‌تنها از نظر کربوهیدرات‌های محلول و اسمولیت‌های تنظیم اسمزی مانند پرولین و گلایسین بتائین بلکه از نظر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نسبت به درختان شاهد به‌صورت معنی‌داری برتر بودند. از آنجا که افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول و اسمولیت‌های تنظیم اسمزی و آنزیم‌ها مورد بررسی در این پژوهش منجر به افزایش مقاومت به سرما می‌شوند، لذا استفاده از تیمار محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک (۳ میلی‌مولار) به همراه روغن سویا (۵ قسمت در هزار) و ضدیخ طبیعی تیوفر (۵ قسمت در ۱۰۰۰) به عنوان یک روش آسان و ارزان در افزایش شاخص‌های مقاومت به سرما در درختان گیلاس توصیه می‌شود.

منابع

افشاری، حسین، زاهدی، راحله، پروانه، طاهره، و زاده باقری، مسعود (۱۳۹۳). تأثیر اسید سالیسیلیک بر سطوح پرولین، قندهای محلول و نشت یونی دو رقم زردآلو تحت تنش سرما. *مجله به‌زراعی کشاورزی*، ۱۶، ۱۳۸-۱۲۷. https://doi.org/10.22059/jci.2014.51947

حاجی‌زاده، حنیفه، و صفخانی، شهلا (۱۳۹۶). بررسی اثر سالیسیلیک اسید در جلوگیری از آسیب سرما در گوجه‌فرنگی گیلاسی (*Lycopersicun esculentum* cv. Messina). *نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۳۱، ۵۳۲-۵۱۷. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v31i3.51793

رحمتی، میترا، و حاجی‌وند، شکرالله (۱۳۹۷). تأثیر مواد ضدیخ در شرایط باغی بر مواد بیوشیمیایی مؤثر در مقاومت به سرمای انگور. *نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، ۳۲، ۱۷۰-۱۵۹. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i1.64047

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

کافی، محمد، طریق الاسلامی، محسن، نظامی، احمد، و ضرغامی، رضا (۱۳۹۶). تأثیر اسید سالسیلیک در بهبود خسارت تنش سرمازدگی در هیبرید ذرت سینگل کراس ۴۰۰ (*Zea mays* L.). *مجله فرایند و کارکرد گیاهی*، ۱۹، ۲۹۲-۲۸۱. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-520-fa.html

عبادی، علی، عباسی کاشانی، اسماء، فتاحی مقدم، محمدرضا، و شکرپور، مجید (۱۳۹۸). اثر تیمار اسید سالسیلیک بر تحمل یخزدگی زمستانه در انگور شاهانی. *مجله علوم باغبانی ایران*، ۵۰، ۹۳۳-۹۱۱. https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.270202.1544

علیزاده، فریبرز، گرگوریان، وازگین، و ولی‌زاده، مصطفی (۱۳۷۹). بررسی اثرهای مقادیر مختلف روغن سویا بر زمان گلدهی زردآلو. *مجله علوم و فنون باغبانی ایران*، ۱، ۶۴-۵۵. https://sid.ir/paper/80865/fa

معین‌راد، حمید (۱۳۸۸). اثر اتفن بر سهولت برداشت محصول بادام و کارایی آن در تأخیر گلدهی. *مجله به‌زراعی کشاورزی*، ۱۱، ۷۴-۶۵. https://doi.org/10.1001.1.83372008.1388.11.2.7.9

Adams, W. W., Muller, O., Cohu, C. M., & Demmig-Adams, B. (2013). May photoinhibition be a consequence, rather than a cause, of limited plant productivity? *Photosynthesis research*, *117*, 31-44. https://doi.org/10.1007/s11120-013-9849-7

Aldesuquy, H. S., Abbas, M. A., Abo-Hamed, S. A., & Elhakem, A. H. (2013). Does glycine betaine and salicylic acid ameliorate the negative effect of drought on wheat by regulating osmotic adjustment through solutes accumulation?. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, *9*, 5-22.

Alirezaie noghondar, M., Bayat, H., & Nemati, H. (2013). Effect of salicylic acid on alleviating of electrolyte leakage and flower organ damage in apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. 'Shahroudi') under artiicial cold stress. *Notulae Scientia Biologicae*, *5*, 1-5. https://doi.org/10.15835/nsb518352

Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, *59*, 206-216. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006

Bates, L. S., Waldren, S. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water– stress studies. *Plant and Soil*, *39*, 205-207. https://link.springer.com/article/10.1007/BF00018060

Bradford, M. M. (1979). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Journal of Analytical Biochemistry*. *4*(72), 248. https://doi.org/ 10.1006/abio.1976.9999

Cao, S., Hu, Z., Zheng, Y., & Lu, B. (2010). Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Journal of Postharvest Biological Technology*, *58*, 93-97. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.05.010

Cervantes, F. R., Jimenez, A. L., Cortes Flores, J. I., Gardea Bejar, A. A., Hernandez, R. A., & Hernandez, H. G. (2004). Soybean oil as bloom delayer in low chilling peaches. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *27*, 77-84. https://doi.org/10.22059/jci.2015.55186

Champa, W. A., Gill, M. I., Mahajan, B. V. C., & Arora, N. K. (2014). Preharvest salicylic acid treatments to improve quality and postharvest life of table grapes (*Vitis vinifera* L.) cv. flame seedless. *Journal of Food and Science Technology*, *52*, 3607-3616. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1422-7

Dami, I. & Beam, B. A. (2004). Response of grapevines to soybean oil application. *American Journal of Enology and Viticulture*, *55*(3), 269-275. https://doi.org/10.5344/ajev.2004.55.3.269

Dennis, E., Deyton, D., Carl, D., & Sams, C. E. (2003). Evaluation of wintertime sprays of soybean oil to delay flower bud phenology and thin fruit of rabbit eye and southern high bush blueberries. *Plant Science*, *1*, 1-4. https://doi.org/10.22059/jci.2015.55186

Deyton, D., Sams, C. E., Ballington, J., & Cummins, C. (2005). Bloom delay and fruit thinning of blueberry with soybean oil. *Horticultural Science*, *40*, 1057 (Abstract). https://doi.org/10.22084/ppt.2017.22111

El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grains to the interactive e.ect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, *45*, 215-224. https://doi.org/10.1007/s10725-005-4928-1

Eris, A., Gulen, E., Barut, E., & Cansey, A. (2007). Annual patterns of total soluble sugars and proteins related to cold hardiness in olive (*Olea europaea* L. cv. Gemlik). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *82*, 597 604. https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512279

Farooq, M., Aziz, T., Basra, S. M. A., Cheema, M. A., & Rehman, H. (2008). Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *Journal Agronomy and Crop Science*, *194*, 161-168. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00300.x

Gastier, T. W. (2003). Soybean oil may help grape ride frosty weather. *Ohio Fruit ICM News*, *7*, 1-4. https://doi.org/10.5344/ajev.2004.55.3.269

Ghai, N., Setia, R. C., & Setia, N. (2002). Effect of paclobutrazol and salicylic acid on chlorophyll content, hill activity

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

and yield components in *Brescia napus* L. (cv.GSL-1). *Phytomorphology*, *52*, 83-87. ID: 101486409

Grieve, C. M. & Grattan, R. (1983). Rapid assay for determination of water soluble quaternary-amino compounds. *Plant and Soil*, *70*, 303-307. https://link.springer.com/article/10.1007/BF02374789

Guo, S., Yang, Q., Yang, X., Liu, Y., Qi, J., & Bi, Y. (2007). Effects of salicylic acid on cold resistance during flowering period and fruit sitting rate in Apricot. *Science and Technology*, *4*, 107-116. https://doi.org/10.22059/ijhs.2019.270202.1544

Haji vand, S., Mohebi, S., & Bakhshi Khanki, Gh. (2015). The effects of amino acid and other anti-freeze compounds on the induction of resistance to cold in sweet cherry. Proceedings of the 2nd Symposium on New Issues in Agriculture. Tehran. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i1.64047

Haji vand, S., Kashanizadeh, S., & Javanshah, A. (2021). Effects of different antifreeze chemicals on late spring frost in pistachio. *Biology of Extracellular Matrix*, *259*, 91-102. https://doi.org/10.1007/s00709-021-01638-w

Javadian, N., Karimzadeh, G., Mahfoozi, F., & Ghanati, F. (2010). Cold-induced changes of enzymes, proline, carbohydrates, and chlorophyll in wheat. *Russian Journal of Plant Physiology*, *57*, 540-547. https://doi.org/10.22059/ijfcs.2021.318439.654802

Karlidag, H., Yildirim, E., & Turan, M. (2009). Exogenous applications of salicylic acid affect quality and yield of strawberry grown under antifrost heated greenhouse conditions. *Journal Plant Nutrition Soil Science*, *172*, 270 276. https://doi.org/10.1002/jpln.200800058

Khanizadeh, S., Brodeur, C., Granger, R., & Buszard, D. (2000). Factor associated with winter injury to apple trees. *International Society for Horticultural Science*, *514*, 179-192. https://doi.org/:10.13031/2013.34895

Khochert, G. (1987). Carbohydrate Determination by Phenol-solphoric Acid Methods. The Handbook of Physiological Methods", Hellebust, JA and Garigie, JS. Cambridge University Press, London. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001

Kosova, K., Prasil, I. T., Vitamvas, P., Dobrev, P., Motyka, V., & Flokova, K. (2012). Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. *Journal of Plant Physiology*, *169*, 567-576. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.12.013

Luo, Y. L., Su, Z. L., Bi, T. J., Cui, X. L., & Lan, Q. Y. (2014). Salicylic acid improves chilling tolerance by affecting antioxidant enzymes and osmoregulators in sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). *Journal of Botany*, *37*, 357-363. https://doi.org/10.1007/s40415-014-0067-0

Mahmoudzade, O. & Imani, A. (2011). Effect of some of anti frost on morphology, anatomy and proline of selective almond cultivars flower buds. *International Journal of Nuts and Related Sciences*, *2*, 35-40. https://doi.org/10.22034/jon.2011.515746

Mahmoudzade, O., Faroughi, D., & Imani, A. (2012). The effect of some chemical compounds on the frost injury of apricot under West Azerbaijan conditions. Second National Conference on climate change and its impact on agriculture and the environment. Urmia, agricultural research center, West Azerbaijan. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i1.64047

Marzouk, H. A. & Kassem, H. A. (2011). Improving yield, quality, and shelf life of Thompson seedless grapevine by preharvest foliar applications. *Scientia Horticulturae*, *130*, 425-430. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.07.013

Matuk, A., Rey, P., & Rorat, T. (2008). The organdependent abundance of a Solanum lipid transfer protein is up-regulated upon osmotic constraints and associated with cold acclimation ability. *Journal of Experimental Botany*, *59*, 2191-2203. https://doi.org/10.1093/jxb/ern088

Miura, K. & Tad, K. (2014). Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, *5*(4) 1-12. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00004

Pirinc, V. & Alas, E. (2021). The effects of applying natural plant antifreeze under low temperature conditions on lettuce (*Lactuca sativa* L.) yield and quality. *Applied Ecology and Environmental Research*, *19*, 2963-2970. https://doi.org/10.15666/aeer/1904_29632970

Popova, L., Maslenkova, L., Yordanova, R., Krantev, A., Szalai, G., & Janda, T. (2008). Salicylic acid protects photosynthesis against cadmium toxicity in pea plants. *Plant Physiology*, *34*, 133-148. https://www.researchgate.net/publication/261472818

Qrunfleh, I. M. (2010). Delaying Bud Break in 'Edelweiss' Grapevines to Avoid Spring Frost Injury by NAA and Vegetable Oil Applications. Ph.D. thesis. University of Nebraska-Lincoln. America. https://www.researchgate.net/publication/228391355

Reighard, G. (2008). Manipulating flower bud density and bloom in peach. *Acta Horticulturae*, *727*, 345-351. https://doi.org/10.22059/jci.2015.55143

Rhodes, D., Verslues, P. E., & Sharp, R. E. (2000). Role of aminoacids in abiotic stress resistance. *Plant Physiology*, *46*, 141-149. https://doi.org/ 10.4161/psb.21949

Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M., & Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Journal of Postharvest Biology Technology*, *53*, 152-154. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.03.005

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

Sedighi, A., Gholami, M., Sarikhani, H., & Ershadi, A. (2011). The effect of GA and SA on the ripening time, anthocyanin and ethylene content of Sweet sherry var. Siah-e-Mashhad. *Journal of Horticultural Sciences, 26*(2), 141-146. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i1.64041

Shokrollah, S., Hajiloo, J., Zare, F., Taabatabaie, J., & Naghshibandi Hasani, R. (2011). The effect of cacl2 and SA on the quantitative characters and shelf life of plum var Ghatre Tala. *Journal of Food Research*, *22*, 76-85. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v32i1.64047

Szymajda, M., Pruski, K., Zurawicz, E., & Sitarek, M. (2013). Freezing injuries to flower buds and their influence on yield of apricot (*Prunus armeniaca* L.) and peach (*Prunus persica* L.). *Canadian Journal of Plant Science, 93*, 191-198. https://doi.org/10.4141/cjps2012-238

Tao, L., Hong, F., Xin, S., Lin, D. Q., Fan, Z., Guo, L. H., & Hui, L. H. (2010). The alternative pathway in cucumber seedlings under low temperature stress was enhanced by salicylic acid. *Plant Growth Regulation, 60*, 35-42.

Venkatesh, S. & Dayananda, C. (2008). Properties, potentials, and prospects of antifreeze proteins. *Critical Reviews in Biotechnology*, *28*, 57-82. https://doi.org/ 10.1080/07388550801891152

Verbruggen, N. & Hermans, C. (2008). Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, *35*, 753-9. https://doi.org/10.1007/s00726-008-0061-6

Wang, L., Chen, S., Kong, W., Li, S., & Archbold, D. D. (2006). Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during cold storage. *Postharvest Biology & Technology*, *41*, 244-251. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.04.010

Wilson, S. (2001). Frost Management in Cool Climate Vineyards. Final report to grape and wine research and Development Corporation. University of Tasmania.

Yang, H., Wu, F., & Cheng, G. (2011). Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Journal of Food Chemistry, 127*, 1237-1242. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.011

Yuan, S. & Lin, H. H. (2008). Role of salicylic acid in plant abiotic stress. *Zeitschrift fur Naturforschung, 63*, 313-320. https://doi.org/10.1515/znc-2008-5-601

Zhi-You, Y., Xia, L., Ling-Hao, L., Xing, G., & Tian-Li, Y. (2003). Effects of temperature and sevsral chemicals on metabolic changes during dormancy release in NJ72 nectariane. *Agricutural Sciences in China*, *2*, 549-555. https://doi.org/10.3390/plants13071041

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]

The effect of using salicylic acid, antifreeze and soybean oil on the activity of antioxidant enzymes and organic osmolytes of sweet cherry " Siahe Takdane Mashhad" flower under cold stress conditions

Hossein Sartip, Ali Akbar Shokouhian*, Esmail Chamani and Ali Reza Ghanbari

Department of Horticultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
(Received: 2023/01/29, Accepted: 2023/10/23)

Abstract

In order to investigate the effect of using salicylic acid, antifreeze and soybean oil, on the cold resistance of the flower of the sweet cherry tree cultivar "Siah Tak Daneh Mashhad", a factorial experiment in the form of a randomized complete block design with 3 factors (salicylic acid: zero, 1.5 and 3 mM), (natural antifreeze: zero, 2.5 and 5 per 1000) and (soybean oil: zero, 2.5 and 5 per 1000) and in 4 repetitions was conducted in a commercial garden located in Sarein city in 2018 and 2019. The results of the variance analysis of the data showed that the three-way effects of factors on proline are significant at the 5% probability level and on soluble carbohydrates and protein at the 1% probability level. The highest amount of proline (70.85% compared to the control) was observed in the treatment of salicylic acid foliar spraying 3 mM along with soybean oil (5/1000) and Thiofer antifreeze (5/1000 foliar treatment). The bilateral effects of salicylic acid and soybean oil on glycine betaine were different at the 1% probability level and on the activity of the catalase enzyme at the 5% probability level. The highest accumulation of glycine betaine (27.27% compared to the control) and also the highest activity of the antioxidant enzyme catalase (36.84% compared to the control) in salicylic acid (1.5 mM) foliar treatment with soybean oil (5 in 1000) were obtained. According to the observations of this research, it can be concluded that the use of salicylic acid foliar treatment (3 mM) along with soybean oil (5/1000) and 5/1000 foliar treatment of Thiofer natural antifreeze in flower buds. It is a suitable solution to increase the cold resistance indices of cherries against cold stress.

Keywords: Induction of resistance, Antioxidant enzymes, Glycine betaine, Frostbite, Sweet cherry

Corresponding author, Email: shokouhiana@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-05]