مطالعه ارتباط الگوی باردهی منظم میوه با میزان فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز در انبه (*Mangifera indica* L)

منصوره شمیلی[1]* ، علیرضا طلائی[2] و محمد رضا فتاحی مقدم[3]

۱*- نویسنده مسؤول: استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه هرمزگان (shamili@ut.ac.ir)

۲و۳- به ترتیب استاد ودانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۵

چکیده

انبه یکی از میوه های مهم مناطق گرمسیر دنیا می‌باشد، سال آوری یکی از مشکلات اساسی در تولید میوه انبه محسوب می‌شود. غربالگری دانهال های فاقد تناوب باردهیِ حاصل از تلاقی های کنترل شده، نیاز به مشاهده رفتار فنوتپی گیاه در مرحله بلوغ دارد. به منظور بررسی ارتباط فعالیت پلی فنل اکسیدازها در مرحله نونهالی با الگوی باردهی درخت انبه بالغ، آزمایشی در سال ۱۳۸۸-۱۳۸٦ در شهرستان میناب انجام گردید. در این آزمایش هشت ژنوتیپ انبه با سابقه مشخص از نظر باردهی (فاقد تناوب یا دارای تناوب) انتخاب شدند. پیوندک مربوط به هر ژنوتیپ بر همان ژنوتیپ پیوند شد. پس از رشد سرشاخه های جدید از پیوندک (٦۰ روز پس از انجام پیوند)، فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین فعالیت آنزیمی کم و نظم باردهی همبستگی وجود دارد به طوری که فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز در ژنوتیپ های منظم بار نسبت به ژنوتیپ های سال آور کمتر بود. همچنین بین فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز با تعداد میوه در درخت همبستگی (به ترتیب ۰/۸٦- و ۰/۷٤- =r) مشاهده شد که می تواند به عنوان شاخصی در غربالگری زود هنگام دانهال¬های انبه مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه ها: انبه، باردهی نامنظم، پلی فنل اکسیداز، فعالیت آنزیمی

مقدمه

انبه یکی از مهم ترین میوه های گرمسیری است که از چهار قرن پیش وارد ایران شده است (امامی، ۱۳۸۰). این گیاه با داشتن ۱۶۰۰ رقم شناخته شده در هندوستان، یکی از غنی ترین ژرم پلاسم های گیاهی دنیا را دارا می‌باشد(چادها و پال[1]، ۱۹۸۶). سال آوری[2] یا باردهی نامنظم درطول سال های مختلف (سال آور[3] و سال نیاور[4])، به عنوان مشکلی رایج در بسیاری از درختان میوه مهم از قبیل سیب ، پسته، زیتون، مرکبات و انبه گزارش شده است (ولا و همکاران[5]، ۲۰۰۳).

تحقیقات نشان داده که رقابت بین میوه های در حال رشد و جوانه های گل برای دریافت متابولیتها و مواد غذایی عامل مهمی در ایجاد سال آوری در انبه می‌باشد (لیو و همکاران[6]، ۲۰۰۵؛ نیک و همکاران[7]، ۱۹۵۹). مطالعات انجام شده در زمینه ارتباط گلدهی انبه با تغییرات فصلی هیدرات های کربن و نیتروژن شاخه های، حاکی از بالا بودن میزان نشاسته، قند کل و نسبت کربن به نیتروژن در شاخه های و نقش آنها در آغازش جوانه

1- Chadha & Pal
2- Alternate bearing
3- On-year
4- Off-year

5- Vela *et al.*
6- Lio *et al.*
7- Naik *et al.*

های گل است. به همین دلیل است که با حلقه برداری از شاخه های در سال نیاور می‌توان میزان آغازش جوانه های گل را افزایش داده و گیاه را به گلدهی وادار کرد (لیو و همکاران، ۲۰۰۵). به گزارش چادها و پال (۱۹۸۶) در حین تمایز جوانه های گل انبه بر میزان اسیدهای آمینه آرژنین و گلوتامیک اسید نیز افزوده می‌شود.

اکثر فعالیت های انجام شده در زمینه سال آوری انبه بر کنترل و تعدیل آن متمرکز بوده است (چادها و پال، ۱۹۸۶؛ شارما و سینگ[1]، ۱۹۶۵؛ عثمان و همکاران[2]، ۲۰۰۱؛ ولا و همکاران، ۲۰۰۳؛ وانگ و همکاران[3]، ۲۰۰۷). کاربرد انواع تنظیم کننده‌های رشد حاکی از مفید بودن آنها جهت انگیزش گل در انبه است، به عنوان مثال کاربرد هر هفته یا دو هفته یک بار اتفن ۲۰۰-۱۲۵ پی‌پی‌ام (یک ماه قبل از آغازش گل‌ها در زمستان) باعث گل انگیزی زودتر در رقم 'کاراباِ'[4] در کشور هندوستان شده است (چادها و پال، ۱۹۸۶).

ای-سی-سی-ال[5] (حاوی ۱/۸ درصد ۶-بنزیل آدنین و ۰/۱۸ درصد جیبرلین $GA_{4,7}$)، پروجیب[6] (حاوی ۴ درصد جیبرلین GA_3)، رتااین[7] (دارای ۱۵ درصد آمینو وینیل گلایسین)[8] و آپوجی[9] (حاوی ۲۷ درصد پروهگزادیون کلسیم)، از جمله ترکیباتی هستند که در سال نیاور به عنوان محرک گل انگیزی در انبه به کار می‌روند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۷). دود دادن به شاخه‌های انبه نیز به منظور تولید گل و میوه خارج از فصل به کار می‌رود (چادها و پال، ۱۹۸۶).

کاربرد کند کننده‌های رشد از قبیل کلورمکوات[10]، دامینوزاید[11]، یونیکونازول[12] و پاکلوبوترازول[13]، (چند ماه قبل از گل‌دهی) نشان داده که پاکلوبوترازول تنها ترکیبی است که بر زمان گلدهی درخت اثر دارد و باعث زودتر ظاهر شدن گل‌ها از ۲۸ روز پس از کاربرد (۱۰ گرم برای هر درخت) تا ۳۵ روز پس از کاربرد (۲۰ گرم برای هر درخت) می‌شود (چادها و پال، ۱۹۸۶).

محلول پاشی با نیترات پتاسیم ۶ درصد و متانل ۵۰ درصد در سال نیاور (۲ بار در بهار)، نشان داد که نیترات پتاسیم در انبه می‌تواند باعث افزایش گل‌انگیزی شود، ولی متانل نتایج متناقضی به همراه داشت (ولا و همکاران، ۲۰۰۳).

حذف جوانه‌های گل در سالِ آور به صورت نسبی باعث کنترل سال آوری می‌شود. در این روش گاهی نصف یا اکثر گل‌ها حذف می‌شوند. علاوه بر آن حذف میوه‌ها در مرحله ای که به اندازه نخود هستند (۱۰-۵ میلی متر) نیز تاثیر مشابهی دارد (شارما و سینگ، ۱۹۶۵). علاوه بر آن کنترل و متعادل ساختن روش هایی کشت از جمله تغذیه، آبیاری و شخم زدن زمین نیز به منظور کاهش شدت گل و میوه در ارقامِ سال آور به کار می‌رود (وانگ و همکاران، ۲۰۰۷). با وجودی که با انجام تلاقی¬های هدفمند می‌توان بر حل مشکل تناوب باردهی در انبه امیدوار بود، اما این عمل وقت گیر و پر هزینه است. ضمن این که ممکن است گیاه حاصله فاقد تمام صفات مطلوب کمی و کیفی والدین خود باشد (عثمان و همکاران، ۲۰۰۱).

از آنجا که در مدیریت سال آوری یک تکنیک به تنهایی نمی‌تواند جوابگو باشد و تلفیقی از روش‌های مختلف نتیجه مطلوب را به همراه دارد، لذا برخی محققین امکان شناسایی ژنوتیپ های فاقد تناوب باردهی را در گونه های مختلف درختان میوه مدنظر قرار داده اند که یافته های همبستگی معنی داری بین میزان بی نظمی باردهی با برخی از خصوصیات رشدی، بیوشیمیایی و

1- Sharma & Singh
2- Usman *et al.*
3- Wang *et al.*
4- Caraba
5- ACCL(N-(Phenylmethyl)-1 H-Purine-6-amine)
6- ProGibb
7- Retain
8- Amino Vinyl Glicine (AVG)
9- Apogee
10- Chlormequat
11- Daminozide
12- Uniconazole
13- Paclobutrazol

فیزیولوژیک آشکار ساخته است (چادها و پال، ۱۹۸۶؛ موخرجی و همکاران[1]، ۱۹۸۶؛ نیک و همکاران، ۱۹۵۹؛ پیلای و همکاران[2]، ۲۰۰۵؛ روزنکرانس و همکاران[3]، ۱۹۹۸؛ روسوس و همکاران[4]، ۲۰۰۴).

نتیجه تحقیق روزنکرانس و همکاران (۱۹۹۸) ، بر تاثیر سال آوری بر ذخایر عناصر غذایی در درختان پسته، گویای این مطلب بوده است که میزان جذب و ذخیره ازت و نشاسته درختان بالغ، در سال آور و نیاور با یکدیگر متفاوت است. همچنین بررسی میزان پلی آمین های اسپرمین، اسپرمیدین و پوترسین در سه اندام شاخه، برگ و گل های در سال های آور و نیاور در این گیاه حاکی از بالا بودن مقدار پلی آمین های ذکر شده در سال آور در اندام زایشی بود که با اندازه گیری میزان اسپرمیدین برگ و اسپرمین جوانه گل، امکان پیش بینی احتمال ریزش جوانه گل تا ۹۳ درصد امکان پذیر گردید (روسوس و همکاران، ۲۰۰۴).

در مطالعه پیلای و همکاران (۲۰۰۵)، اشاره شده که میزان عنصر بُر در مراحل مختلف رشد نخل خرما به عنوان شاخصی از الگوی سال آوری آن است. در سالِ آور، مقدار این عنصر در وزن تر گیاه بیشتر از ۳/۵ میلی گرم در کیلوگرم و در سالِ نیاور کمتر از این میزان بود. در واقع درختان در سالِ کم بار میزان زیادی از این عنصر را از خاک جذب نمی‌کنند و شاید کمبود این عنصر هدایت کننده گیاه به سمت سال آوری باشد. همچنین نسبت عنصر پتاسیم به بر در مرحله رسیدن میوه در سال آور و نیاور با یکدیگر تفاوت داشت. درختان در سال نیاور نسبت پتاسیم به بُر بالای ۲۵۰۰ پی پی ام را در مرحله خلال داشتند و به این ترتیب محلول پاشی بُر در سال هایی که انتظار وقوع سال آوری می‌رفت، توانست این پدیده را کنترل کند.

هر چند اشاره شده که امکان غربالگری ژنوتیپ های دارای صفت تناوب باردهی یا فاقد آن در انبه با استفاده از الگوی رشد شاخه در فصل میوه‌دهی امکان پذیر است (چادها و پال، ۱۹۸۶)، اما نتایج این روش می تواند تحت تاثیر شرایط محیطی و نوع ژنوتیپ تغییر نماید (موخرجی و همکاران، ۱۹۸۶). این الگو در انواع پاکوتاه و پر رشد انبه متفاوت است. همچنین بسته به این که پایه یا پیوندک به کار رفته پر رشد یا محدود رشد باشند نیز نتایج متفاوتی حاصل خواهد شد. علاوه بر آن رسیدن به مرحله باردهی درخت نیز مستلزم صرف زمان زیاد می‌باشد و در نتیجه نمی‌تواند به عنوان یک معیار انتخاب دانهال فاقد تناوب باردهی در مراحل اولیه رشد و یا در زمان احداث نهالستان مورد استفاده قرار گیرد (نیک و همکاران، ۱۹۵۹).

در انبه از اکسین به عنوان یکی از مواد رشد گیاهی ممانعت کننده از گل انگیزی و محرک رشد میوه نام برده شده است. میزان اکسین در ارقام فاقد تناوب در سالهای متوالی کمتر از انواع دارای تناوب باردهی گزارش شده است (چادها و پال، ۱۹۸۶؛ ولا و همکاران، ۲۰۰۳). آنزیم پلی فنل اکسیداز در تشکیل اسید آمینه تریپتوفان (پیش ماده ایندول استیک اسید) مؤثر است و در نتیجه به طور غیرمستقیم در تشکیل اکسین در گیاه انبه نقش دارد (شارما[5]، ۱۹۹۹). این آنزیم به میزان زیادی در بسیاری از گیاهان وجود دارد و دو ترکیب اورتو-دی فنل[6] با فعالیت کرسولاز[7] و اورتو-کوئینون[8] با فعالیت کاتکولاز[9] دو شکل عمده آن در گیاهان هستند (لیو و همکاران[10]، ۲۰۰۵؛ والرو و همکاران[11]، ۲۰۰۵؛ وانگ و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش های حاکی از آن است که میزان پلی فنل اکسیدازها همچنین با وقوع ناهنجاری

1- Mukherji *et al.*
2- Pillay *et al.*
3- Rosecrance *et al.*
4- Roussos *et al.*

5- Sharma
6- O-diphenol
7- Cresolase
8- O-quinone
9- Catecholase
10- Lio *et al.*
11-Valero *et al.*

بدشکلی گل آذین انبه[1] ارتباط مستقیم دارند (شارما و همکاران[2]، ۲۰۰۱؛ شارما و همکاران، ۲۰۰۰؛ ولا و همکاران، ۲۰۰۳).

نتایج تحقیق شارما و همکاران (۲۰۰۰)، حاکی از ارتباط منفی بین مقدار فعالیت این آنزیم های و ترکیبات فنلی در زمان تشکیل گل آذین بود. ارتباط بین میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز و ترکیبات فنلی به عنوان یک شاخص جهت تخمین میزان ظهور علائم بدشکلی گل آذین در انبه به کار رفته است و ارقامی که ترکیبات فنلی بیشتر و پلی فنل اکسیداز کمتری داشته اند، به عنوان ارقامی که با احتمال کمتری به این ناهنجاری مبتلا خواهند شد، معرفی شده اند (شارما و همکاران، ۲۰۰۱).

با توجه به اهمیت غذایی و ارزش اقتصادی بالای انبه، افزایش شناخت جنبه های به نژادی آن می‌تواند گامی موثر در پیشبرد برنامه های توسعه آن باشد. از آنجا که دوره نونهالی طولانی در انبه و عدم وجود شاخص های موثر در غربالگری هیبریدهای حاصل از برنامه¬های به نژادی باعث می‌شود که تولید کننده یک زمانی طولانی را در انتظار ظهور صفات مرتبط با سال آوری باشد (شارما، ۱۹۹۹؛ شارما و سینگ، ۱۹۶۵)، هدف از این آزمایش ایجاد مبنایی برای انتخاب زودهنگام دانهال‌های فاقد تناوب باردهی در دوران نونهالی بود.

مواد و روش های

این آزمایش در سال های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۸ در مرکز تحقیقات کشاورزی میناب واقع در استان هرمزگان انجام شد. بدین منظور تعداد هشت ژنوتیپ بالغ (۱۰ ساله) موجود و مستقر در نهالستان آزمایشی مرکز (خاک مزرعه)، با سابقه مشخص باردهی (منظم یا متناوب) که بر پایه "لانگرا[3]" پیوند شده بودند انتخاب شده و پیوندک هر ژنوتیپ روی پایه خودش پیوند زده شد. از آن جا که ژنوتیپ های نامبرده فاقد نام شناخته شده توسط باغداران بودند با اعداد یک تا هشت شماره گذاری شدند. بر اساس سابقه تولید و باردهی ژنوتیپها که توسط کارشناسان مرکز در طول ۱۰ سال ثبت شده بود، شماره یک تا چهار نمونه¬های فاقد تناوب و ژنوتیپ های پنج تا هشت ژنوتیپ های دارای تناوب بودند.

با توجه به شرایط آب و هوایی استان هرمزگان پیوند در زمان حداکثر رشد گیاه و فعال بودن لایه زاینده، یعنی ۱۵ شهریور تا ۱۵ آبان و همچنین ۱۵ فروردین تا اوایل اردیبهشت ماه انجام گردید.

سپس ۶۰ روز پس از انجام پیوند، زمانی که شاخه رشد یافته از پیوندک به طول ۳۰ سانتی متر رسید، نمونه-گیری از سرشاخه های جدید رشد یافته از پیوندک جهت سنجش میزان آنزیم انجام شد. استخراج آنزیم بر اساس روش شارما و همکاران (۲۰۰۱) و ارزیابی فعالیت آنزیم‌های کرسولاز و کاتکولاز به روش لیو و همکاران (۲۰۰۵) و شارما (۲۰۰۰) به شرح زیر انجام شد:

مرحله اول) پنج سانتی متر از سرشاخه تازه روئیده از هر پیوندک برداشت شده و پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان استفاده در نیتروژن مایع قرار داده شد.

مرحله دوم) نمونه های در آزمایشگاه و روی ظرف حاوی یخ در هاون چینی خرد شده و سپس حدود یک گرم از نمونه خرد شده با ۵ میلی لیتر از بافر فسفات ۱۰mM (pH:۷) ، در یک همزن (مدل گُلدی-جی تی- ۱۱۳- سی جی[4]) به مدت ۱۵ ثانیه کاملاً مخلوط شدند.

مرحله سوم) مخلوط حاصله از کاغذ صافی واتمن گذرانیده، به فالکون تیوب ۱۵ میلی لیتر منتقل گردید و در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید.

مرحله چهارم) روشناور به دقت جدا شده و رسوب باقی مانده در ۵ میلی لیتر تریتون ایکس ۱۰۰ [5] (۱/۵

1- Mango malformation
2- Sharma *et al*
3- Langra
4- Goldi-GT-113-CG
5- Triton-X 100

درصد) حل شده و مجددا ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید.

مرحله پنجم) پس از جداسازی روشناور، رسوب حاصل در سولفات آمونیوم حل و سپس به مدت نیم ساعت روی ظرف حاوی یخ قرار داده شد. عصاره بدست آمده به منظور تخمین میزان فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

مرحله ششم) به ازای هر میلی لیتر عصاره آنزیمی، سه میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ mM (pH: ۷/۳) اضافه شد. سپس به این مخلوط یک میلی لیتر از سوبسترا اضافه گردید. ترکیب ۴-متیل-کاتکول[1] ۳۰ mM (محصول شرک مرک[2]) که در بافر استات سدیم ۱۰ mM (pH: ۴/۵) تهیه شده بود، به عنوان سوبسترا به منظور سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتکولاز استفاده گردید.

مرحله هفتم) فعالیت کل آنزیم کاتکولاز با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل سی ای- ۲۵۰۱[3]) و در طول موج ۴۰۰ نانومتر قرائت شد.

مرحله هشتم) مقدار فعالیت کل کرسولاز با روش مشابه ارزیابی شد، ولی ماده ۴-متیل-فنل[4] محصول شرکت مرک، که در بافر فسفات ۱۰mM (pH: ۷/۰) تهیه شده بود، به عنوان سوبسترا استفاده گردید.

در همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی، تعداد میوه هر درخت در سایر سرشاخه های مسن گیاه مادری نیز به منظور ارزیابی ارتباط بین فعالیت آنزیم های و تعداد میوه‌ها شمارش گردید (شارما و همکاران، ۲۰۰۱).

آزمایش مورد نظر به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار (چهار درخت با نمونه گیری در چهار جهت جغرافیایی در هر درخت) طراحی گردید. الگوی باردهی ژنوتیپ های (دارای تناوب یا فاقد آن) و سال باردهی (پربار یا کم بار) به عنوان فاکتورهای اصلی در نظر گرفته شدند. مقایسه میانگین های با استفاده از آزمون دانکن در سطح یک و پنج درصد انجام شد. همچنین همبستگی ساده بین فعالیت آنزیم های و تعداد میوه در درخت محاسبه گردید. پس از حصول اطمینان از وجود همبستگی بین صفات مذکور، ارتباط آنها با استفاده از رابطه رگرسیونی به صورت کمی تبدیل گردید. تجزیه داده های در این تحقیق با استفاده ازنرم افزار SPSS (16.0) و SAS (9.1) صورت گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مختلف نشان داد که تاثیر نوع ژنوتیپ و سال (پربار یا کم بار) بر صفات اندازه گیری شده معنی دار است (جدول ۱)، به طوری که بین میزان بار درخت در سال پر بارو کم بار، همچنین میزان فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز اختلاف معنی دار مشاهده گردید. اندازه گیری آنزیم های پلی فنل اکسیداز (کاتکولاز و کرسولاز) از نمونه های سرشاخه های انبه نشان داد که میزان فعالیت آنزیم های در ژنوتیپ های دارای تناوب باردهی، بیشتر از ژنوتیپ های فاقد تناوب بود (جدول ۲).

محاسبه ضرایب همبستگی ساده بین شاخص های اندازه گیری شده حاکی از وجود همبستگی معنی دار بین میزان فعالیت دو آنزیم (۰/۸۲) در سال آور و نیاور بین میزان فعالیت آنزیم کاتکولاز و کرسولاز با بار درخت در سال نیاور (به ترتیب ۰/۷۴- و ۰/۸۶-) بود (جدول ۳).

1- 4-Methyl Catechol (4MC)
2- Merck
3- CE-2501
4- 4- Methyl Phenol (P-Cresol)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تعداد میوه و میزان فعالیت کل کاتکولاز و کرسولاز در ژنوتیپ های انبه دارای تناوب باردهی و فاقد تناوب باردهی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		تعداد میوه	میزان فعالیت کاتکولاز	میزان فعالیت کرسولاز
الگوی باردهی ژنوتیپ	۱	۵۷۰۶**	۵/۸۴**	۱/۹۲**
سال باردهی	۱	۹۲۲۱**	۳/۲۸	۲/۰۵
الگوی باردهی ژنوتیپ × سال	۱	۵۷۴۷**	۲/۳۴	۰/۱۵
اشتباه	۸	۵۴۳۲	۰/۸۹	۱/۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۲۰/۸۹	۱۵/۵۷	۸/۸۴

* معنی دار در سطح ۵٪ ** معنی دار در سطح ۱٪

با بررسی ارتباط سه شاخص میزان فعالیت کاتکولاز، کرسولاز و تعداد میوه در سال نیاور میتوان ارتباط معکوس بین تعداد میوه و میزان فعالیت آنزیم¬های مذکور را مشاهده نمود (اشکال ۱ و ۲).

شناخته شده ترین نقش آنزیم پلی فنل اکسیداز قهوه ای شدن بافت میوه های و سبزیجات است اما تاثیراتی از قبیل ارتباط آنها با گلدهی نیز در انبه، آناناس، موز، زعفران و تنباکو گزارش شده است (شی و همکاران[1]، ۲۰۰۱). در انبه بالا بودن میزان آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز باعث افزایش سنتز اکسین شده و تعادل هورمونی موجود در جوانه های را به سمت بازدارنده های گل انگیزی پیش می‌برند. از آن جا که برهمکنش بین محرک‌ها و بازدارنده‌ها است که تعیین می‌کند جوانه های موجود بر شاخه‌های گیاه انبه گل بدهند و یا به حالت رویشی باقی بمانند، در ارقام دارای تناوب باردهی فعالیت بالای آنزیم های مذکور باعث گل انگیزی ناچیز یا فقدان گل در سال نیاور می‌گردد. در حالی که در ارقام فاقد تناوب باردهی به دلیل این که فعالیت آنزیمی کمتری دارند و یا مکانیسم هایی برای غیرفعال کردن آنزیم های در زمان گل انگیزی اعمال می‌کنند، انگیزش گل های در آنها دارای الگوی منظمی است (شی و همکاران، ۲۰۰۱).

از آنجا که آنزیم های ذکر شده در تمام سنین در سرشاخه های انبه تولید می شوند، میتوان در همان سال اول در خزانه با اندازه گیری آنها، برآوردی از الگوی باردهی ژنوتیپ های موجود داشت.

بدین ترتیب در ترکیب پایه و پیوندک ترکیباتی به کار خواهند رفت که در زمان بلوغ الگویی منظم بار داشته باشند. در مورد ژنوتیپ های مسنی که در باغ مستقر هستند نیز می توان علاوه بر سایر روش های ذکر شده، با تنظیم فعالیت این دو آنزیم آثار منفی آن بر گلدهی تا حدی کنترل نمود.

1- Shi *et al.*

جدول ۲- مقایسه میانگین تعداد میوه در سال آور ونیاور، فعالیت کاتکولاز و کرسولاز در ژنوتیپ های انبه دارای تناوب باردهی و فاقد تناوب باردهی

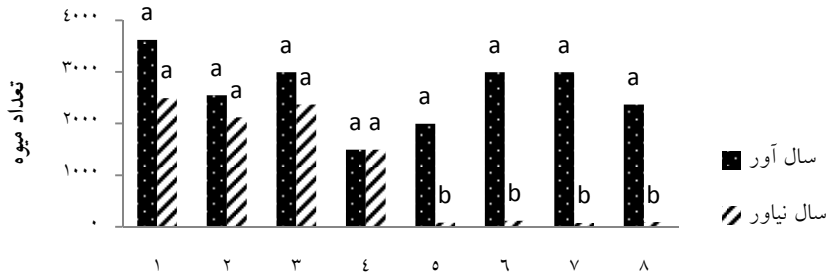
	ژنوتیپ	میانگین تعداد میوه در سال آور (عدد)	میانگین تعداد میوه در سال نیاور (عدد)	میانگین میزان فعالیت کاتکولاز در سال آور (میلی مولار در دقیقه)	میانگین میزان فعالیت کاتکولاز در سال نیاور (میلی مولار در دقیقه)	میانگین میزان فعالیت کرسولاز در سال آور (میلی مولار در دقیقه)	میانگین میزان فعالیت کرسولاز در سال نیاور (میلی مولار در دقیقه)
فاقد تناوب	ژنوتیپ ۱	۳۶۲۵ a	۲۵۰۰ a	۱/۰۶۸ d	۱/۱۱۱ d	۰/۵۸۵ c	۰/۶۱۴ d
	ژنوتیپ ۲	۲۵۵۰ a	۲۱۲۵ a	۰/۹۸۰ d	۱/۰۳۸ d	۰/۶۰۰ c	۰/۷۰۲ d
	ژنوتیپ ۳	۳۰۰۰ a	۲۳۷۵ a	۰/۹۹۴ d	۱/۰۸۲ d	۰/۵۲۶ d	۰/۵۲۶ d
	ژنوتیپ ۴	۱۵۰۰ a	۱۵۰۰ a	۱/۰۳۸ d	۱/۱۱۱ d	۰/۶۲۹ c	۰/۶۴۳ d
دارای تناوب	ژنوتیپ ۵	۲۰۰۰ a	۸۷/۵ b	۳/۲۹۳ a	۲/۷۰۵ a	۱/۱۹۹ a	۱/۲۴۳ b
	ژنوتیپ ۶	۳۰۰۰ a	۱۲۵ b	۲/۳۵۳ c	۲/۰۶۲ b	۱/۱۴۱ b	۱/۱۸۵ b
	ژنوتیپ ۷	۳۰۰۰ a	۷۷/۵ b	۲/۱۶۰ c	۱/۶۰۹ c	۱/۰۳۸ b	۱/۰۸۲ c
	ژنوتیپ ۸	۲۳۷۵ a	۱۰۰ b	۲/۷۸۰ b	۲/۰۹۱ b	۱/۲۲۸ a	۱/۳۳۱ a

در هر ستون میانگین¬های دارای حروف نامشابه بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ هستند

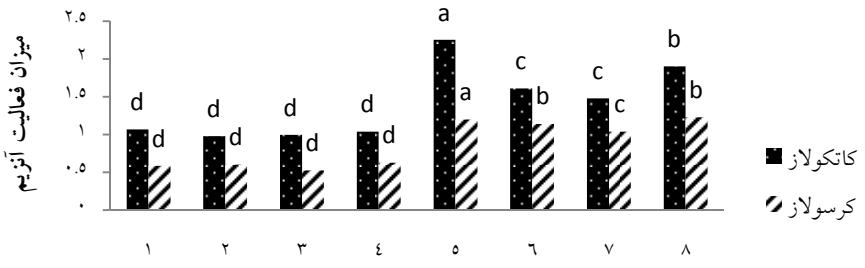
جدول۳- همبستگی بین آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز با میزان بار درخت انبه

	فعالیت کاتکولاز	فعالیت کرسولاز	تعداد میوه در سال آور	تعدادمیوه درسال نیاور
کاتکولاز	۱			
کرسولاز	۰/۸۲**	۱		
تعداد میوه در سال آور	۰/۶۳	۰/۰۸۹	۱	
تعدادمیوه درسال نیاور	-۰/۷۴**	-۰/۸۶**	۰/۲۴	۱

**, * به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪



شکل ۱- تعداد میوه تولید شده انبه در دو سال آور و نیاور در ژنوتیپ های انبه فاقد تناوب باردهی (۱ تا ٤) و دارای تناوب باردهی (۵ تا ۸)



شکل ۲- میزان فعالیت دو آنزیم کاتکولاز و کرسولاز در سال آور در ژنوتیپ¬های انبه فاقد تناوب باردهی (۱ تا ٤) و دارای تناوب باردهی (۵ تا ۸)

از جمله ترکیباتی که به عنوان بازدارنده یا کند کننده فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز در بافت های گیاهی عنوان شده اند می‌توان به سدیم ال-آسکوربیک اسید[1]، سدیم متا بی سولفیت[2]، سدیم دی اتیل دی تیوکربنات[3]، نمک کلرید سدیم[4]، گلایسین[5]، ال-سیستئین[6] و بتامرکاپتواتانول[7]، دی اکسید گوگرد[8] و تیوره آ[9] اشاره کرد. از بین سایر ترکیبات، اسید اسکوربیک با غلظت یک میلی مولار بیشترین تاثیر را داشته و پس از آن می‌توان به بتامرکاپتواتانول ۱/۵ میلی مولار و یا ال-سیستئین دو میلی مولار اشاره کرد که حتی تا ۸۰ درصد فعالیت آنزیم را کنترل می‌کنند. گلایسین در غلظت های بالای ۲۵ میلی مولار توانسته است تا ۵۵٪ از فعالیت آنزیم را کنترل کند (دینگ و همکاران[10]، ۱۹۹۸؛ شی و همکاران، ۲۰۰۱؛ ولا و همکاران، ۲۰۰۳). هر چند دی اکسید گوگرد به عنوان بهترین ترکیب در کنترل فعالیت این گروه آنزیمی شناخته شده است اما به دلیل اثرات سوء زیست محیطی، محدودیت هایی در مصرف این ترکیب در گیاهان وجود دارد (دینگ و همکاران، ۱۹۹۸).

از طرفی برخی عناصر و ترکیبات درون گیاه اثر فزاینده بر فعالیت این آنزیم های دارند. به عنوان مثال سدیم دو دسیل سولفات[11] عامل اصلی فعال شدن پلی فنل اکسیداز در بافت میوه انبه است (ولا و همکاران، ۲۰۰۳.

محلول پاشی با این ماده در غلظت یک میلی مولار باعث افزایش ۵۵/۶ درصد آنزیم و در غلظت ۲۵ میلی مولار تا ۱۳۰/۶ درصد افزایش را باعث می‌شود. کلرید مس ۱/۵ میلی مولار و کربامید[12] ۱۰ میلی مولار به ترتیب ۲۹/۶ و ۱۵/۷ درصد افزایش فعالیت آنزیم را باعث می‌شوند. در سایر گیاهان عناصر فلزی از قبیل کلسیم، منیزیم و منگنز این نقش را بر عهده دارند (گومز لوپز[13]، ۲۰۰۲).

در نتیجه کاربرد هر تیماری که بتواند باعث افزایش میزان مواد گوگردی درون گیاه شود، همچنین مدیریت تغذیه در زمان گل انگیزی یا قبل از آن و تلاش در جهت پایین نگه داشتن عناصری مثل کلسیم، منیزیم، منگنز و مس که نقش محرک این آنزیم را بر عهده دارند، می‌تواند راهکار مفیدی در برنامه ریزی تولید منظم درخت انبه باشد (دینگ و همکاران، ۱۹۹۸؛ شی و همکاران، ۲۰۰۱).

داده های حاصل از این آزمایش به منظور بدست آوردن یک مدل ریاضی در پیش بینی نظم باردهی انبه مورد استفاده قرار گرفت اما روابط خطی حاصله ضریب رگرسیونی پایینی داشتند. با توجه به محدود بودن تعداد حالت های سال آوری و مشاهده فقط به دو حالت (الگوی باردهی منظم و الگوی باردهی یک سال در میان) امکان یافتن یک رابطه ریاضی به منظور برآورد میزان تعداد میوه احتمالی در سال های پربار یا کم بار و یا اختلاف بین تعداد میوه محقق نگردید.

با وجود این همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم کاتکولاز و تعداد میوه می‌تواند به عنوان شاخصی در غربالگری زودهنگام دانهال های منظور گردد. بدین ترتیب که در صورت سنجش آنزیم و فعالیت کم آن (۱/۰۲۴ میلی مولار در دقیقه یا کمتر) در بافت های گیاه نونهال می‌توان الگوی باردهی فاقد تناوب را در ژنوتیپ مربوطه انتظار داشت. همچنین با توجه به این که فرم کرسولاز آنزیم پلی فنل اکسیداز ناپایدارتر از فرم کاتکولاز آن می‌باشد، اندازه گیری و سنجش آن در

1- Sodium meta L- Ascorbic Acid
2- Sodium bisulfit
3- Sodium Diethyl Dithiocarbonate
4- Sodium chloride
5- Glycine
6- L-Cysteine
7- Beta mercaptoethanol
8- Sulfur dioxide
9- Tiourea
10- Ding *et al.*
11- Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)
12- Carbamide peroxide
13- Gomez-Lopez

شرایط آزمایشگاه به سختی و با دقت کمتری صورت می‌گیرد.

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم های کاتکولاز و کرسولاز حاکی از بالا بودن فعالیت این آنزیم های در ژنوتیپ های دارای تناوب باردهی بود. با توجه به همبستگی بالای بین فعالیت دو آنزیم، با افزایش فعالیت هر یک میزان فعالیت دیگری نیز افزایش می‌یابد، اما میزان فعالیت کاتکولاز در همه ژنوتیپ های بالاتر از محتوای کرسولاز بود. در تحقیقات قبلی نیز میزان فعالیت کرسولاز کمتر از کاتکولاز بوده است که این امر ناشی از ناپایداری فرم کرسولاز و تجزیه آن در زمان استخراج عصاره می‌باشد (شارما، ۱۹۹۹). علاوه بر آن در بافت های انبه آنزیم پلی فنل اکسیداز بیشتر به فرم کاتکولاز مشاهده می شود (شارما و همکاران، ۲۰۰۱).

از آنجا که همبستگی مشاهده شده بین فعالیت دو آنزیم مذکور بسیار بالا بود (r= +۰/۸۲)، اندازه گیری کاتکولاز به تنهایی می‌تواند نتایج رضایت بخشی را به همراه داشته باشد. همچنین مستقل بودن کارکرد دو آنزیم ذکر شده از سال باردهی حاکی از آن است که می توان از آن به عنوان شاخصی که تحت تاثیر نوع ژنوتیپ قرار می گیرد، نام برد.

منابع

۱. امامی، س. ۱۳۸۰. کشت و پرورش انبه. ناشر دفتر تولید برنامه های ترویجی و انتشارات فنی. ص ۲۵.

2. Chadha, K.L., and Pal, R.N. 1986. CRC hand book of flowering, *Mangifera indica* L. CRC Press., 5: 211-230.

3. Ding, C.K., Chachin, K., Ueda, Y., and Imahori, Y. 1998. Purification and properties of polyphenol oxidase from loquat fruit. Journal Agriculture Food Chem, 46: 4144-4149.

4. Gomez-Lopez, V.M. 2002. Some biochemical properties of polyphenol oxidase from two varieties of avocado. Food Chem, 77: 163–169.

5. Lio, H.X., Jiang, W.B., and Luo, Y.B. 2005. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. Postharvest Biology Technology, 35: 263–269.

6. Mukherji, S.K., Singh, R.N., Majumder, P.K., and Sharma, D.K. 1968. Present position regarding breeding of mango (*Mangifera indica* L.) in India. Euphytica, 17: 462-467.

7. Naik, K.C., Bluianga Roa, C., and Raman, V.S. 1959. Problems in crop improvement in mango. Indian Journal Horticulture, 15: 159-167.

8. Pillay, A.E., Williams, J.R.., Mardi, M.O. E.l., Hassan, S.M., and Al-Hamdi, A. 2005. Boron and the alternate-bearing phenomenon in the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Journal Arid Enviro., 62: 199-207.

9. Rosecrance, R.C., Weinbann, S.A., and Brown, P.H. 1998. Alternate bearing affects nitrogen, phosphorus, potassium and starch storage pools in mature pistachio trees. Annuals Botany , 82: 463-470.

10. Roussos, P., Constantine, A., Pontikis, A., and Zoti, M. A. 2004. The role of free polyamines in the alternate-bearing of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Pontikis). Trees Structure and Function , 18: 61–69.

11. Sharma, R.R. 1999. Catecholase and Cresolase activity as a biochemical index for screening mango seedling at nursery stage for bearing behavior in their future reproductive life. PGR Newsletter, 133: 31-34.

12. Sharma, R.R., and R.N. Singh. 1965. Self incompatibility in mango. Horticulture Repo. 15: 108-118.

13. Sharma, R.R., Goswami, A.M., Singh, C.N., Chhonkar, O.P., and Singh, G. 2001. Catecholase and cresolase activities and phenolic content in mango at panicle initiation. Science Horticulture, 87: 147-151.

14. Sharma, R.R., Singh, C.N., Chhonkar, O.P., Goswami, A.M., and Singh, S.K. 2000. Polyphenol oxidase activity as an index for screening mango. PGR Newsletter. 124: 41-43.

15. Shi, Ch., Dai, Y., Xia, B., Xu, X., Xie, Y., and Liu, Q. 2001. The purification and spectral properties of polyphenol oxidase from *Nicotina tabacum*L. Plant Mol. Biol. Reporter, 19: 381-382.

16. Usman, M., Fatima, B., and Jaskani, M.J. 2001. Review: Breeding in mango. Journal Agriculture and Biology, 4: 522–526.

17. Valero, E., Varon, R., and Garcia-Carmona, F. 1990. Inhibition of grape poly phenol oxidase by several natural aliphatic alcohols. Journal Agriculture Food Chem. 38: 1097-1100.

18. Vela, G., Leond, M., Garcia, H.S., and Delacruz, J. 2003. Polyphenol oxidase activity during ripening and chilling stress in Manila mangoes. Journal Horticulture Science Biotechnology, 78: 104–107.

19. Wang, J., Jiang, W.O., Wang, B., Liu, S., Gong, Z., and Luo, Y. 2007. Partial properties of polyphenol oxidase in mango (*Mangifera indica* L. CV. Tainong pulp). Journal Food Biology Chem, 31: 45–55.