

بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و میزان پروتئین در گل رز شاخه بریده رقم سنسیرو

سیده فرحناز طالبی^۱، سید نجم الدین مرتضوی^{۲*} و روح انگیز نادری^۳

۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه زنجان

۳، دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۷ - تاریخ تصویب: ۹۱/۳/۲۱)

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تاثیر سدیم نیتروپروساید و تیدیازورون بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و پروتئین گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو انجام شد. این آزمایش با دو فاکتور تیدیازورون (TDZ) در سه سطح (۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومول در لیتر) و سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان دهنده اکسیدنیتریک در چهار سطح (۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میکرومول در لیتر) به همراه ۲ درصد ساکارز بصورت پالسی در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در این آزمایش مقدار پروتئین و میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت شامل کاتالاز و پراکسیداز در برگ ها و گلبرگ های گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو مورد ارزیابی قرار گرفت. داده های بدست آمده توسط نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل گردید. نتایج نشان داد که ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیازورون بیشترین تاثیر را بر میزان پروتئین برگ ها، گلبرگ ها و فعالیت کاتالاز برگ ها داشت. تیمار ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید، میزان پروتئین برگ ها و گلبرگ ها و میزان فعالیت پراکسیداز برگ ها و تیمار ۶۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید کاتالاز گلبرگ ها را افزایش داد. بیشترین فعالیت کاتالاز برگ ها و گلبرگ ها و مقدار پروتئین برگ ها از تیمار ۴۰ میکرومول سدیم نیتروپروساید با ۲۰ میکرومول در لیتر تیدیازورون حاصل شد.

واژه های کلیدی: اکسید نیتریک، تیدیازورون، رز، عمر پس از برداشت

مقدمه

گل رز با نام علمی "*Rosa hybrida*" متعلق به خانواده گل سرخیان^۱ می باشد. این گل دارای ارزش اقتصادی بالایی در صنعت کشاورزی می باشد و رتبه اول را در بین گل های شاخه بریده از نظر سطح تولید و مصرف دارد که هم از لحاظ دارویی و هم از لحاظ زینتی از اهمیت بسیار بالایی برخوردارند (Butt, 2003). پیری پس از برداشت عامل محدودکننده در بازاریابی بسیاری از گونه های گل های شاخه بریده می باشد و تلاش های زیادی برای افزایش عمر پس از برداشت گل ها با استفاده از تیمارهای شیمیایی مختلف انجام گرفته

است (Bowyer et al., 2003). معمولاً عمر گلجایی گل های بریده رز کوتاه بوده و با علائمی مانند پژمردگی گلبرگ ها و برگ ها و خمیدگی گردن گل مشخص می شود (Ichimura et al., 1999). کربوهیدرات های محلول برای باز شدن گل ها مورد نیاز بوده چون رزها در مرحله غنچه برداشت و پس از جدا شدن از پایه مادری، به مقدار کربوهیدرات محلول نگهدارنده محدود شده و تیمار گل با ساکاروز به صورت تجاری عمر گلجایی گل های بریده را افزایش می دهد (Butt, 2003). اغلب عمر کوتاه این گل ها با استفاده از کربوهیدرات محلول افزایش می یابد (Ichimura et al., 2003). اکسیدنیتریک به عنوان پیام آور مهم دفاعی در گیاه در برابر پاتوژن های میکروبی شناخته شده است (Delledonne et al., 1998). اکسیدنیتریک در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی

1. Rosaceae

کاهش می‌دهد که این اثرات با فعالیت پایین لیپوکسیژناز و افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز همراه بود. تیدیا زورون به دلیل داشتن فعالیت شبه‌سایتوکینینی و ضد پیری، سنتز پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها را در سطح بالایی نگه می‌دارد (Macnish et al., 2010). Tang & Newton (2005) در بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز درگیر در تشکیل شاخه نابجا به طور مستقیم به وسیله تیدیا زورون در جنین‌های جنسی کاج شرقی (*Pinus strobus*) به این نتیجه رسیدند که جنین‌های کشت شده در محیط‌های کشت دارای تیدیا زورون، در مرحله القاء شاخه‌زایی دارای فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز پایینی بودند، در صورتی که در مرحله تمایز دایی مقدار فعالیت این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. زمانی که جنین‌های کاج در محیط‌های کشت بدون تیدیا زورون قرار گرفتند تغییری در فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده نشد.

Zavaleta-Mancera et al. (2007) در آزمایش‌های خود به این نتیجه رسیدند که استفاده از سایتوکینین‌ها در مقایسه با شاهد میزان پروتئین‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را افزایش و مقدار پراکسیدهدیدروژن را کاهش می‌دهد. سایتوکینین‌ها منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تاخیر فرایند پیری در میوه‌های خربزه می‌شوند (Lacan & Baccou, 1998). مهمترین هدف از انجام این پژوهش کاهش ضایعات پس از برداشت گل‌های شاخه بریده رز و افزایش عمر آنها از طریق کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بوده است. افزایش خصوصیات کیفی و عمر ماندگاری موجب استفاده بهتر و بیشتر مصرف‌کنندگان و سود بیشتر برای تولید کنندگان خواهد شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده و محل انجام پژوهش

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان و با هدف بررسی تاثیر اکسیدنیتریک و تیدیا زورون بر صفات کیفی و طول عمر گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو (*Rosa hybrid Cv. Sensiro*) انجام گرفت. گل‌های شاخه بریده مورد استفاده در این

معمول گیاه مانند بستن روزنه‌ها و رشد و نمو گیاهان دخالت دارد (Neill et al., 2002; Pagnussat et al., 2003; Guo et al., 2003). طبق گزارش Beligni et al. (2002) اکسیدنیتریک مانند آنتی‌اکسیدان عمل کرده و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در لایه‌های آلورون جو را به تاخیر می‌اندازد. Zeng et al. (2011) در بررسی اثرهای اکسیدنیتریک بر فرآیندهای فیزیولوژیک در گل‌های بریده میخک نتیجه گرفتند که سدیم‌نیتروپروپوساید صدمه به پروتئین‌ها را کاهش داده و منجر به افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در گلبرگ‌ها می‌شود. آنها همچنین بیان کردند که اکسیدنیتریک منجر به حفظ غشاء و متابولیسم آب، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و تاخیر در پیری گل‌های بریده میخک می‌شود. غلظت‌های پایین سدیم‌نیتروپروپوساید در ۲ رقم برنج میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پرواکسیداز و همچنین مقدار پروتئین را افزایش داده، اما غلظت‌های بالای این ماده میزان فعالیت آنزیم‌ها و مقدار پروتئین را کاهش می‌دهد (Abdel-Kader, 2007). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز سلول‌ها را از اثرات پراکسیدهدیدروژن محافظت می‌کنند و پراکسیدهدیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کنند (Kazemi et al., 2010). مطالعات Zhu et al. (2008) نشان داد که یک میکرومول در لیتر اکسیدنیتریک مقدار پراکسیدهدیدروژن در میوه‌های تیمار شده را کاهش و مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز در میوه‌های تیمار شده با دو میکرومول در لیتر اکسیدنیتریک مشاهده شد. استفاده از DETA/NO^۱ به عنوان آزادکننده اکسید-نیتریک ماندگاری هشت گل از جمله ژبربا و داوودی را در مقایسه با گل‌های نگهداری شده در آب مقطر را تا چند برابر افزایش داد (Badian et al., 2004). نتایج آزمایش Duan et al. (2009) نشان داد که تیمار میوه‌های لیچی با یک میلی‌مول سدیم‌نیتروپروپوساید به مدت ۵ دقیقه فعالیت آنتی‌اکسیدانت در بافت میوه لیچی در طول انبارداری را افزایش داده و پراکسیده شدن لیپید را

1. 2,2'-(hydroxynitrosohydrazino)-bisethanamine.

شاخص‌ها و روش‌های اندازه‌گیری

اندازه‌گیری پروتئین

اندازه‌گیری پروتئین محلول به روش Bradford (1976) و با استفاده از اسپکتروفوتومتر جاسکو مدل V-530 ساخت ژاپن انجام شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

آنزیم‌های مورد اندازه‌گیری در این آزمایش شامل میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برگ و گلبرگ-های رز می‌باشد. برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها از روش‌های ارائه شده توسط Aebi (1984) و Chance & Maehly (1955) با کمی تغییر استفاده شد. در این آزمایش به دلیل اینکه برگ‌های گل رز دارای فنول بالایی بودند ابتدا ۳ بار توسط اتانول ۶۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردیدند. بعد از پایان این مراحل عصاره‌گیری با استفاده از بافر فسفات‌سدیم انجام شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، تغییرات جذب به ترتیب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه و طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت دو دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر جاسکو مدل V-530 ساخت ژاپن قرائت گردید.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS، مقایسه میانگین‌ها و کلاسه-بندی بر اساس آزمون دانکن انجام پذیرفت.

نتایج

پروتئین برگ

آنالیز واریانس صفات مورد ارزیابی (جدول ۱) نشان داد که تاثیر تیدیاژورون و سدیم‌نیتروپروساید بر میزان پروتئین برگ به ترتیب در سطوح ۵ و ۱ درصد و نیز اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد در صفت اخیر معنی‌دار بوده است. طبق جداول ۲ و ۳ استفاده از ۴۰ میکرومول-درلیتر تیدیاژورون و سدیم‌نیتروپروساید به تنهایی میزان پروتئین برگ را به ترتیب ۹/۸۰ و ۱۵/۸۳ میلی‌گرم بر-گرم وزن تازه افزایش دادند و کمترین میزان پروتئین برگ مربوط به تیمار شاهد بود. همچنین تیمار ۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید به همراه ۲۰

آزمایش در مرحله غنچه یعنی در زمانی که کاسبرگ‌ها شروع به خمیدگی کرده و گلبرگ‌ها در حال باز شدن بودند از گیاهان مادری برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه گروه باغبانی منتقل شدند. شاخه‌های گل برداشت شده برای آزمایش یکدست، یکنواخت و هم‌اندازه بودند. برای آماده شدن گل‌های شاخه بریده ابتدا طول شاخه‌ها به اندازه ۴۵ سانتی‌متر برش داده شد که برای جلوگیری از انسداد آوندها و پژمردگی احتمالی این عمل در داخل آب انجام گرفت و سپس سه برگ مرکب شانه‌ای در قسمت بالای هر شاخه گل حفظ و بقیه برگ‌ها حذف شدند، خارهای قسمت پایین ساقه نیز با قیچی تیز حذف شدند. سپس شاخه‌های گل رز تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار گرفتند.

تیمارهای شیمیایی مورد استفاده به صورت پالسی

در این آزمایش از تیدیاژورون^۱ به عنوان فاکتور اول در سه سطح (۰، ۲۰، ۴۰ میکرومول‌درلیتر) استفاده شد. لازم به توضیح می‌باشد که این ماده به عنوان هورمون مورد استفاده قرار گرفت و برای انحلال آن در آب مقطر از سود ۰/۱ نرمال استفاده شد. فاکتور دوم، سدیم‌نیترو-پروساید^۲ به عنوان دهنده اکسیدنیتریک، در چهار سطح (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میکرومول‌درلیتر) استفاده شد. این ماده به راحتی در آب حل می‌شود. از آنجایی که گاز اکسیدنیتریک حاصله از ترکیب سدیم‌نیتروپروساید احتمالاً به گلبرگ‌ها آسیب می‌رساند، بعد از قرارگیری گل‌ها در ارلن‌های حاوی این ماده اطراف ساقه در قسمت دهانه توسط ترکیبات خمیری نانولین پوشانده شد. گل‌ها به مدت ۲۴ ساعت در این تیمارها قرار گرفتند.

تیمارهای شیمیایی مورد استفاده به صورت نگهدارنده

برای محلول‌های نگهدارنده از ۱ درصد ساکاروز به همراه ۳۰۰ پی‌پی‌ام ۸- هیدروکسی کوئینولین سولفات استفاده شد.

طرح آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و هر تیمار آزمایشی در هر تکرار شامل ۳ شاخه گل بریده رز، انجام شد.

1. TDZ; N-phenyl-N_-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea (Thidiazuron)
2. Sodium nitroprusside

می‌دهد که بیشترین میزان پروتئین گلبرگ در تیمار-های ۴۰ میکرومول درلیتر تیدیا زورون (۶/۴۵ میلی‌گرم-برگرم وزن تازه) و ۴۰ میکرومول درلیتر سدیم-نیتروپروساید (۱۳/۵۵ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) وجود دارد. میزان پروتئین گلبرگ در تیمار شاهد کاهش چشمگیری را نشان داد.

کاتالاز برگ

تأثیر سطوح مختلف تیدیا زورون و سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱).

میکرومول درلیتر تیدیا زورون میزان پروتئین برگ‌ها را افزایش داد (۲۰/۷۸ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) در حالی-که در تیمار شاهد مقدار آن ۲/۹۲ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه می‌باشد (جدول ۴).

پروتئین گلبرگ

جدول ۱ نشان داد که اثر سطوح مختلف تیدیا زورون و سدیم‌نیتروپروساید روی شاخص میزان پروتئین گلبرگ به ترتیب در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد معنی-دار است.

در صورتی که اثر متقابل این دو تیمار بر این صفت معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲ و ۳) نشان

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات مورد بررسی در گل‌های شاخه بریده رز

تغییرات	آزادی	منابع		میزان پروتئین برگ گلبرگ	میزان پروتئین کاتالاز برگ	فعالیت آنزیم کاتالاز برگ	فعالیت آنزیم گلبرگ پراکسیداز برگ
		درجه	میانگین مربعات				
تیدیا زورون (A)	۲		۰/۰۷۱*	۰/۰۳۴*	۰/۰۸۳*	۰/۰۲۹ ^{ns}	۰/۰۴۰ ^{ns}
سدیم‌نیتروپروساید (B)	۳		۰/۰۸۳**	۰/۰۶۶**	۰/۰۸۸*	۰/۰۵۵*	۰/۰۶۳**
اثر متقابل (A×B)	۶		۰/۰۵۲**	۰/۰۱۵ ^{ns}	۰/۰۶۵*	۰/۱۲**	۰/۰۳۰*
خطا	۲۴		۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۲۲	۰/۰۱۸	۰/۰۱۲
CV (درصد)	—		۴/۲۶	۳/۸۴	۶/۴۰	۴/۸۸	۳/۵۹

^{ns}، *، ** به ترتیب بیانگر عدم معنی دار بودن، معنی دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ می باشد.

در بین تیمارها، تیمار ۴۰ میکرومول درلیتر تیدیا زورون بیشترین میزان فعالیت کاتالاز برگ را (۰/۳۸) جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به خود اختصاص داد. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۰۰۷) جذب

در بین تیمارها، تیمار ۴۰ میکرومول درلیتر تیدیا زورون بیشترین میزان فعالیت کاتالاز برگ را (۰/۳۸) جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به خود اختصاص داد. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۰۰۷) جذب

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تیدیا زورون بر صفات بررسی شده

تیمار تیدیا زورون (میکرومول در لیتر)	پروتئین برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	پروتئین گلبرگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)
a ₁ =۰	۲/۸۴۲ c	۲/۵۱۰ c	۰/۰۰۷ b
a ₂ =۲۰	۵/۷۴۱ b	۴/۴۰۳ b	۰/۰۱۲ b
a ₃ =۴۰	۹/۸۰۴ a	۶/۴۵۹ a	۰/۰۳۸ a

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۵٪ می باشد.

درلیتر سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). تیمار ۲۰ میکرومول درلیتر تیدیا زورون به همراه ۶۰ میکرومول درلیتر سدیم‌نیتروپروساید (۰/۶۲) جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد

همچنین تیمار ۴۰ میکرومول درلیتر سدیم نیتروپروساید بیشترین تأثیر بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۲۸) جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) را داشت، در حالی که در بین تیمارهای شاهد، ۲۰ و ۶۰ میکرومول-

بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ را (۰/۰۸ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) به ترتیب نشان دادند (جدول ۴).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر سدیم نیتروپروساید بر صفات بررسی شده

سدیم نیتروپروساید (میکرومول در لیتر)	پروتئین برگ (میلی گرم بر گرم وزن تازه)	پروتئین گلبرگ (میلی گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)	پراکسیداز برگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)	کاتالاز گلبرگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)
b ₁ =۰	۲/۸۴۰ d	۲/۳۴۸ d	۰/۰۱۰ b	۰/۰۴۵ b	۰/۰۱۰ b
b ₂ =۲۰	۸/۷۲۹ c	۵/۴۹۲ c	۰/۰۱۳ b	۰/۳۷ a	۰/۱۵ ab
b ₃ =۴۰	۱۵/۸۳۰ a	۱۳/۵۵۰ a	۰/۰۴۸ a	۰/۴۸ a	۰/۲۶ a
b ₄ =۶۰	۱۲/۷۸۳ b	۱۰/۴۴۰ b	۰/۰۲۸ b	۰/۱۶ b	۰/۲۳ a

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۱٪ و ۵٪ می‌باشد.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیدیا زورون و سدیم نیتروپروساید بر صفات بررسی شده

اثر متقابل تیدیا زورون و سدیم نیتروپروساید	پروتئین برگ (میلی گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)	پراکسیداز برگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)	کاتالاز گلبرگ (جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)
a ₁ b ₁	۲/۹۲۳ l	۰/۰۸ f	۰/۰۸۴ i	۰/۰۱۵ g
a ₁ b ₂	۴/۶۹۶ j	۰/۱۰ f	۰/۳۵ gh	۰/۰۱۸ ef
a ₁ b ₃	۱۹/۹۰۵ g	۰/۱۵ ef	۰/۶۸ cd	۰/۰۵۷ a
a ₁ b ₄	۸/۸۴۳ i	۰/۱۳ ef	۰/۳۵ fg	۰/۰۲۳ de
a ₂ b ₁	۳/۷۰۴ k	۰/۰۹ f	۰/۲۷ gh	۰/۰۱۳ f
a ₂ b ₂	۱۴/۷۲۸ f	۰/۱۸ def	۰/۹۴ a	۰/۰۴۵ b
a ₂ b ₃	۲۰/۷۸۶ a	۰/۶۲ a	۰/۸۵ ab	۰/۰۵۷ a
a ₂ b ₄	۱۷/۷۴۶ c	۰/۴۰ bc	۰/۷۸ bc	۰/۰۳۴ c
a ₃ b ₁	۹/۸۹۳ h	۰/۱۱ f	۰/۱۵ hi	۰/۰۳۰ cd
a ₃ b ₂	۱۵/۷۶۵ e	۰/۲۵ de	۰/۵۶ df	۰/۰۴۷ b
a ₃ b ₃	۱۹/۸۰۰ b	۰/۵۱ ab	۰/۹۷ a	۰/۰۲۷ cde
a ₃ b ₄	۱۶/۷۵۸ d	۰/۲۹ cd	۰/۴۷ ef	۰/۰۲۵ cde

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۱٪ و ۵٪ می‌باشد.

پراکسیداز برگ

نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان می‌دهد که تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل تیدیا زورون و سدیم نیتروپروساید به ترتیب در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ معنی‌دار بود. در صورتی که غلظت‌های مختلف تیدیا زورون تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت.

بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ از تیمار ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیا زورون به همراه ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید به دست آمد که به ترتیب برابر ۰/۴۸ و ۰/۹۷ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین بود.

اما بین تیمارهای ۲۰ و ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳ و ۴).

کاتالاز گلبرگ

تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان می‌دهد که تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم نیتروپروساید و اثر متقابل تیدیا زورون و سدیم نیتروپروساید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ به ترتیب در سطوح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار است. در این آزمایش با توجه به جدول ۳، تیمارهای ۴۰ و ۶۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید به ترتیب با ۰/۲۶ و ۰/۲۳ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ را نشان می‌دادند. در صورتی که فعالیت این

گیاهی را به تاخیر می‌اندازد (Richmond & Lang, 1957). نتایج این آزمایش با یافته‌های (Pak & Van Doorn, 2005) در گل زنبق نیز کاملاً مطابقت دارد. افزایش غلظت تیدیا زورون میزان فعالیت کاتالاز برگ‌ها را افزایش داد، اما تاثیر معنی‌دار بر میزان پراکسیداز برگ‌ها و کاتالاز گلبرگ‌ها نداشت. طبق نظر (Nill, 2002) et al. هنگام پیری تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش و باعث اکسیده شدن پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع و DNA شده و از این طریق موجب افزایش نشت-الکترولیت غشاء و در نهایت آسیب و مرگ سلول‌ها می‌شود و استفاده از سایتوکینین‌ها موجب جوان ماندن سلول‌ها و بافت‌های گیاهی شده و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تاثیر گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش و مرگ سلول‌ها را به تاخیر می‌اندازد که با نتایج این آزمایش مشابهت دارد. (Zavaleta-Mancera et al., 2007) گزارش دادند که پیری برگ با تولید گونه‌های فعال اکسیژن در ارتباط است و سایتوکینین‌ها با تنظیم این فرایند وضعیت اکسیداتیو را به تاخیر می‌اندازند. همچنین سایتوکینین‌ها سلول را از آسیب اکسیداتیو محافظت کرده، مانع پراکسیده شدن اسیدهای چرب در غشاء شده (Scandalios, 2005) و از گسستگی لیپیدهای غشاء که منجر به مرگ سلول می‌شود جلوگیری می‌کنند (Srivalli & Khanna-Chopra, 2004).

در این آزمایش مصرف سدیم‌نیتروپروساید موجب افزایش پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها شد (جدول ۳)، که علت تاثیر بیشتر به دلیل تاثیر آن بر کاهش تولید اتیلن، حفظ پروتئین و محافظت از سلول‌ها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد (Leshem & wills, 1998). نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش مصرف سدیم‌نیتروپروساید میزان فعالیت کاتالاز برگ‌ها و گلبرگ‌ها و پراکسیداز برگ‌ها نیز افزایش می‌یابد.

یافته‌های (Zhang et al., 2007) و (Beligni et al., 2002) نشان داد که سدیم‌نیتروپروساید به عنوان آزادکننده اکسیدنیتریک بوده و موجب افزایش سطح سنتز پروتئین، m-RNA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود. بطوریکه غلظت‌های پایین سدیم‌نیتروپروساید مقدار پراکسیده‌یدروژن را در برگ‌ها افزایش داده (Zhu et al., 2008) و از غشاء سلولی در مقابل گونه‌های

آنزیم در تیمار شاهد (۰/۱۰) جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در حداقل خود بود. در مورد اثر متقابل تیدیا زورون و سدیم‌نیتروپروساید تیمارهای ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیا زورون به تنهایی و ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیا زورون به همراه ۲۰ میکرومول در لیتر سدیم‌نیتروپروساید هر دو با مقدار ۰/۰۵۷ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیشترین میزان فعالیت این آنزیم را نشان دادند و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با ۰/۰۱۵ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بود (جدول ۴).

پراکسیداز گلبرگ

میزان فعالیت این آنزیم به دلیل بالا بودن میزان آنتوسانین در گلبرگ‌های گل بریده رز قابل سنجش نبود. در این مورد حتی شستشو با اتانول نیز کمکی به اندازه‌گیری این آنزیم در گلبرگ‌ها نکرد.

بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت تیدیا زورون مقدار پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها افزایش یافته اما غلظت‌های پایین تاثیری بر مقدار پروتئین نداشت (جدول ۲). (Zavaleta-Mancera et al., 2007) با استفاده از سایتوکینین‌ها موجب افزایش پروتئین کل در برگ‌های برنج شدند. (Woodson, 1991) Brant & نیز نشان دادند که مصرف سایتوکینین در گیاهان و گل‌ها موجب افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و از این طریق ماندگاری گل‌ها را افزایش می‌دهد. بنابراین تیدیا زورون بخاطر داشتن خاصیت سایتوکینینی، موجب جوان شدن سلول‌های گیاهی از طریق مقابله با تولید اتیلن شده و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را با سنتز پروتئین، اسید-سالیسیلیک و کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن به تاخیر انداخته و از این طریق ماندگاری گل‌های شاخه بریده شب‌بو را افزایش می‌دهد (Ferrante et al., 2009).

از طرف دیگر تیدیا زورون موجب حفظ ساختمان ریبوزوم‌ها که محل سنتز پروتئین‌هاست شده و سطح RNA را بالا نگه می‌دارد و از این طریق هم سنتز پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد. همچنین تیدیا زورون با ممانعت از فعالیت پروتئازها، پیری سلول‌ها و بافت‌های

پراکسیداز و کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش می دهد (Zeng et al., 2011).

از آنجائیکه سدیم نیتروپروساید آنزیم های آنتی اکسیدانت را تحریک و مانع از پراکسیده شدن لیپیدها شده و فعالیت جاروب گری گونه های فعال اکسیژن در گل های بریده را افزایش می دهد (Zeng et al., 2011) و این یافته ها با نتایج آزمایش اخیر کاملا مطابقت دارد.

در همین راستا مصرف توام تیدیازورون و سدیم نیتروپروساید میزان پروتئین برگ ها و گلبرگ ها را همانند مصرف جدا از هم آن ها افزایش داد. تیمار گیاه با سائتوکنین و نیترات، بیان و فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز را تحریک کرده (Planchet et al., 2006) و منجر به افزایش تولید اکسیدنیتریک در گیاهان شده است (Tun et al., 2001). بنابراین طبق نتایج این آزمایش استفاده از این دو ترکیب در اکثر صفات تاثیر بیشتری را بدنبال داشته، بطوری که این افزایش در فعالیت کاتالاز برگ ها و گلبرگ ها و نیز در فعالیت پراکسیداز برگ ها چشم گیرتر بوده است. علت این افزایش را می توان به عمل تشدیدکنندگی اثر این دو ماده نسبت داد، که در اثرات اصلی هر کدام بطور جداگانه آورده شد.

فعال اکسیژن محافظت می کند، در صورتی که غلظت های بالای آن مقدار پراکسیدهیدروژن را کاهش داده و موجب آسیب پذیر شدن غشاء سلولی می شود (Tu et al., 2003). اکسیدنیتریک میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گل های بریده میخک را افزایش داده و در دفع مسمومیت پراکسید هیدروژن در گل ها نقش اساسی دارد (Zeng et al., 2011). استفاده از اکسید نیتریک فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت را از برداشت تا پیری به طور متناوب در گل های بریده گلابول و سوسن (Panavas & Rubinstein, 1998) و آفتابگردان (Sairam et al., 2004) کاهش می دهد. این اختلافات ممکن است به دلیل حساسیت مختلف ایزوآنزیم های آنتی اکسیدانت ها در گیاهان مختلف و یا بافت های سلولی محیطی باشد. از سوی دیگر فعالیت های آنزیمی برای دفع مسمومیت پراکسیدهیدروژن زمانی افزایش می یابد که این آنزیم ها توانایی جاروب رادیکال سوپراکسید ناشی از صدمات را داشته باشند (Zeng et al., 2011).

همچنین پژمردگی گلبرگ ها در گل های بریده با حضور گونه های اکسیژن فعال محرک پراکسیده شدن لیپید در ارتباط بوده و غلظت مالون دی آلدید را افزایش داده و سیستم جاروب گری گونه های اکسیژن فعال را از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز،

REFERENCES

1. Abdel-kader, D. Z. E- A. (2007). Role of nitric oxide on iron homoestasis, chlorophyll biosynthesis and antioxidants system in Two Wheat Cultivars. *American Journal of plant physiology*, 2(4), 237- 250.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-12.
3. Badian, D., Wills, R. B. H. & Bowyer, M. C. (2004). Use of a nitric oxide donor compound to extend vase life of cut flowers. *Hort Science*, 39, 1371- 1372.
4. Beligni, M. V., Fath, A., Bethke, P. C., Lamattina, L. & Jones, R. L. (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiology*, 129, 1642-1650
5. Bowyer, M. C. & Wills, R. B. H. (2003). Delaying postharvest senescence of cut flowers. *RIRAC publication N*, 03/51.
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 248-59.
7. Butt, S. J. (2003). A Review on prolonging the vase life of Roses. *Pakistan Rose Annual*. Published by Pakistan National Rose Society, pp, 49-53.
8. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
9. Delledonne, M., Xia, Y., Dixon, R. A. & Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394, 585-588.
10. Duan, X. W., You, Y. L. G., Su, X. G., Qu, H. X., Joyce, D. C. & Jiang, Y. M. (2009). Influence of the nitric oxide donor, sodium nitroprusside, on lipid peroxidation and anti-oxidant activity in pericarp tissue of Logan fruit. *Horticultural Science and Biotechnology*, 82(3), 467-473.

11. Ferrante, A., Mensuali-Sodi, A. & Serra, G. (2009). Effect of thidiazuron and gibberellic acid on leaf yellowing of cut stock flowers. *Central European Journal of Biology*, 4(4), 461–468.
12. Guo, F-Q., Okamoto, M. & Crawford, N. M. (2003). Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science*, 302, 100-103.
13. Ichimura, K., Kawabata, Y., Kishimoto, M., Goto, R. & Yamada, K. (2003). Shortage of soluble carbohydrates is largely responsible for short vase life of cut 'Sonia' rose flowers. *Horticultural Science*, 72, 292-298.
14. Kazemi, N., Khavari-Nejad, R. A., Fahimi, H., Saadatmand, S. & Nejad-Sattari, T. (2010). Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of *Brassica napus* L. under nickel stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 402–407.
15. Lacan, D. & Baccou, J. C. (1998). High levels of antioxidant enzymes correlate with delayed senescence in nonnetted muskmelon fruits. *Planta*, 204, 377–82.
16. Leshem, Y. Y. & Wills, R. B. H. (1998). Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biology Plant*, 41, 1-100.
17. Macnish, A. J., Jiang, C. Z. & Reid, M. S. (2010). Treatment with thidiazuron improves opening and vase life of iris flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 56, 77-84.
18. Neill, S., Desikan, R., Clarke, A. & Hancock, J. T. (2002). Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology*, 128, 13-16.
19. Pagnussat, G. C., Lanteri, M. L. & Lamattina, L. (2003). Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acid-induced adventitious rooting process. *Plant Physiology*, 132, 1241-1248.
20. Pak, C. & Van Doorn, W. G. (2005). Delay of iris flower senescence by protease inhibitors. *New Phytologist*, 165, 473–480.
21. Panavas, T. & Rubinstein, B. (1998). Oxidative events during programmed cell death of day lily (*Hemerocallis* hybrid) petals. *Plant Science*, 133, 125-138.
22. Planchet, E., Sonoda, M., Zeier, J. & Kaiser, W. M. (2006). Nitric oxide (NO) as an intermediate in the cryptogein-induced hypersensitive response-a critical re-evaluation, *Plant Cell and Environment*, 29, 59–69.
23. Richmond, A. E. & Lang, A. (1957). Effect of kinetin on protein content and survival of detached xanthium leaves. *Science*, 125, 650-651.
24. Sairam, R. K., Singh, D. V. & Srivastava, G. C. (2004). Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages. *Biology Plant*, 47, 61-66.
25. Scandalios, J. G. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defences. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38, 995–1014.
26. Srivalli, B. & Khanna-Chopra, R. (2004). The developing reproductive 'sink' induces oxidative stress to mediate nitrogen mobilization during monocarpic senescence in wheat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 325, 198–202.
27. Tang, W & Newton, R. J. (2005). Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 760-769.
28. Tu, J., Shen, W. B. & Xu, L. L. (2003). Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. *Acta Botany Science*, 9, 1055- 1062.
29. Woodson, W. R. & Brant, A. S. (1991). Role of the gynoecium in cytokinin induced carnation petal senescence. *Journal of American Society Horticulture Science*, 116, 676 - 679.
30. Zavaleta-Mancera, H. A., Lopez-Delgado, H., Loza-Taverac, H., Mora-Herrerab, M., Trevilla-García, C., Vargas-Suañez, M. & Oughame, H. (2007). Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *Plant Physiology*, 164, 1572—1582.
31. Zeng, C. L., Liu, L. & Xu, G. Q. (2011). The physiological responses of carnation cut flowers to exogenous nitric oxide. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 424- 430.
32. Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X. & Tan, M. (2007). Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytologist*, 175, 36–50.
33. Zhu, S., Sun, L., Liu, M. & Zhou, J. (2008). Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. *Science of Food and Agriculture*, 88, 2324- 2331.