نشریه علوم باغبانی ایران
دوره ۴۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳ (ص۱۹۵-۱۸۵)

بررسی آثار فیزیولوژیک برخی اسانس‌های گیاهی در مقایسه با ۸-هیدروکسی‌کوئینولین در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* L.)

صادق کاظمی[1]، معظم حسن‌پور اصیل[2*] و محمود قاسم‌نژاد[2]
۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد ۲. دانشیاران گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۲۱ـ تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده

به‌منظور بررسی آثار فیزیولوژیک برخی اسانس‌های گیاهی در مقایسه با ۸-هیدروکسی‌کوئینولین در گل بریدهٔ لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* L.)، آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارها عبارت بود از ۸-هیدروکسی‌کوئینولین، اسانس میخک هندی (*Pittosporum undudatum*) و اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در دو غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و اسانس آویشن شیراز (*Zataria multiflora*) در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر که همراه با ساکارز ۳درصد استفاده شدند و سه تیمار آب‌مقطر، اتانول ۵۰۰ پی‌پی‌ام و ساکارز ۳درصد به‌منزلهٔ تیمارهای شاهد در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد ۸-هیدروکسی‌کوئینولین در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین ماندگاری (۱۸/۴ روز) را در مقایسه با تیمارهای شاهد (آب‌مقطر ۱۰/۳، اتانول ۱۰/۸ و ساکارز ۱۲/۱) داشت. در بین اسانس‌های گیاهی، اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و اسانس آویشن شیراز در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با میانگین ۱۵/۸، ۱۵/۶ و ۱۵/۵روز اختلاف معناداری را با تیمارهای شاهد داشتند. اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر کلروفیل کل داشته است. ۸-هیدروکسی‌کوئینولین و اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب بیشترین تأثیر را بر میزان آنتوسیانین، پروتئین، مالون‌دی‌آلدئید و آنزیم‌ها داشتند. با توجه به نتایج حاصله، استفاده از اسانس‌های گیاهی به جای ترکیبات شیمیایی می‌تواند راه مؤثری برای بهبود ماندگاری در گل‌های شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس باشد.

واژه های کلیدی: آنزیم، پروتئین، کلروفیل، لیزیانتوس.

مقدمه

لیزیانتوس با نام علمی *Eustoma grandiflorum* L. متعلق به خانوادهٔ جنتیاسه است (Cho *et al*., 2001). گل‌آذین لیزیانتوس چندین گل باز و جوانه دارد که ماندگاری هر گل و میزان بازشدن جوانه‌ها عامل مهمی در افزایش عمر گلدانی گل‌آذین است (Shimizu & Ichimura, 2010). در سال‌های اخیر استفاده از ترکیبات طبیعی همچون اسانس‌های گیاهی به‌منزلهٔ ایده‌ای جدید در کنترل آلودگی‌های باکتریایی و قارچی و کاهش ضایعات پس از برداشت محصولات باغبانی ازجمله میوه‌ها، سبزیجات و گل‌ها مطرح شده است و تلاش‌های گسترده‌ای در زمینهٔ شناسایی و کشف ترکیبات طبیعی سالم و کاربرد آنها در فناوری پس از برداشت محصولات باغبانی در حال انجام است و پژوهش‌های زیادی مضرات استفاده از ترکیبات شیمیایی را به‌وضوح نشان داده است. آغاز هیدرولیز ترکیب‌های یاخته‌ای مانند پروتئین و کربوهیدرات‌ها به‌منزلهٔ نشانه‌های فرایند پیری، در پاسخ به نبود قندهای آزاد مصرف‌شده در تنفس است. این نظریه با مشاهدهٔ به تأخیر افتادن کاهش و تجزیهٔ پروتئین‌ها بر اثر استفادهٔ خارجی قندها، تأیید شده است (Ferrante *et al*., 2007). مقدار قند یکی از عوامل مهم در تعیین ماندگاری گل‌های شاخه‌بریده است بنابراین هر چه درصد مواد کربوهیدرات‌ها بیشتر باشد، ماندگاری گل نیز افزایش می‌یابد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد با

تلفن: ۰۹۱۱۱۳۹۴۳۳۱
E-mail: hassanpurm@guilan.ac.ir

گذشت زمان و سوق پیداکردن گل‌های شاخه‌بریده به سمت پیری، میزان مواد جامد محلول کاهش می‌یابد. کاهش میزان مواد جامد محلول در هنگام پیری به‌دلیل تجزیه و استفاده از کربوهیدرات درونی گیاه است (Karimi *et al*., 2008). پژوهشگران توانستند با کاربرد اسانس اکالیپتوس، رزماری، بادرنجبویه و درخت چای فعالیت پراکسیدازی سبزی‌های برگی همچون اسفناج، کاهو و کلم را کاهش دهند (Ponce *et al*., 2004). یکی از بهترین منابع آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های گیاهی است (Dormana *et al*., 2003). ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آنهاست که آنها را قادر به خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش‌کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه است (Ghahfarokhi Ghaderi *et al*., 2001). بجاست تا با شناسایی و کاربرد جایگزین‌های طبیعی، علاوه بر افزایش ماندگاری گل‌های بریده که مهم‌ترین مسئله در این صنعت است از سلامت محصولات عرضه‌شده نیز اطمینان حاصل شود. هدف از اجرای پژوهش حاضر بررسی آثار فیزیولوژیک اسانس‌های گیاهی در مقایسه با ۸-هیدروکسی کوئینولین و کاربرد آنها در محلول‌های نگهدارندهٔ گل‌های شاخه‌بریده لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی گل بریدهٔ لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* L.) رقم مائورین‌بلو (Maurine Blue) که به‌دلیل داشتن رنگ آبی از بازارپسندی خوبی برخوردار است اما ماندگاری پس از برداشت کوتاهی دارد؛ اجرا شد. گل‌های استفاده‌شده از یک گلخانهٔ تجاری واقع در پاکدشت در صبح زود برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ساقهٔ گل‌ها در زیر آب و با یک تیغ استریل به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر به‌صورت مورب قطع شدند تا از ورود هوا به داخل آوندهای ساقه و انسداد آوندی جلوگیری شود. اسانس‌های میخک هندی، رزماری و آویشن شیراز استفاده‌شده در این پژوهش به‌صورت خالص از شرکت زردبندـ تهران و سایر مواد شیمیایی به‌کاررفته از شرکت مرک خریداری شدند. با توجه به آزمایش‌های انجام‌شده در زمینهٔ مقدار قند بهینه در محلول‌های نگهدارندهٔ گل‌های بریدنی لیزیانتوس، ساکارز ۳درصد استفاده شد (Cho *et al*., 2001). تیمارهای استفاده‌شده عبارت بودند از: آب‌مقطر (DW) [1](شاهد)، اتانول (E)[2] ۵۰۰ پی‌پی‌ام برای حل‌کردن اسانس‌ها (شاهد)، ساکارز ۳٪ (3%)[3] (شاهد)، ۸-هیدروکسی‌کوئینولین[4] (HQ)، اسانس میخک هندی (Essential oil of Australian Cheesewood)(EO-P) و اسانس رزماری[5] (Rosmary oil) (EO-R) در دو غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکارز ۳درصد و اسانس آویشن شیراز[6] (Zataria oil) (EO-Z) در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه ساکارز ۳درصد استفاده شدند. در هر یک از گلدان‌ها ۲۵۰ میلی‌لیتر از هر یک از محلول‌ها ریخته شد و گل‌ها در هر یک از تیمارها به‌صورت کوتاه‌مدت (۲۴ ساعت) و جداگانه در داخل محلول‌ها قرار گرفتند. گل‌ها در شرایط کنترل‌شده با دمای ۲±۲۳ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد تحت شرایط نور ۱۵ میکرومول بر مترمربع با استفاده از لامپ‌های مهتابی سفید و تنگستن با طول دورهٔ نوری ۱۲ ساعت نگهداری شدند. صفات بررسی‌شده شامل:

ماندگاری گل

زمانی که ۵۰درصد گل‌ها پژمرده شدند، پایان ماندگاری گل‌های لیزیانتوس در نظر گرفته شد. برای این کار گل‌ها به‌صورت روزانه بازدید شدند.

اندازه‌گیری کلروفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش آرنون استفاده شد (Arnon, 1949). ۰/۲ گرم بافت برگ را در هاون کوبیده و ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰درصد اضافه کرده و پس از سانتریفیوژ کلروفیل a و b به‌ترتیب در طول موج‌های

1. Distilled water
2. Ethanol
3. Sucrose
4. 8-Hydroxyquinolin
5. *Rosmarinus officinalis*
6. *Zataria multiflorum*

۶۴۵ و ۶۶۳ با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل PG Instrument + T80 اندازه‌گیری و توسط فرمول زیر محاسبه شد.

Chla = [12.7 (D663) – 2.69 (D645)]
Chlb= [22.9 (D645) – 4.68 (D663)]
ChlT= chla + chlb

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه شد.

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید

ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر از عصارهٔ تهیه‌شده را با ۵۰۰ میکرولیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰درصد حاوی ۰/۵درصد تیوباربیوتیک اسید (TBA) اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد و نمونه‌ها بلافاصله در سطح یخ سرد شد و سپس نمونه‌ها مجدداً در دور ۱۰ هزار (rpm) به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مادهٔ قرمزرنگ مالون‌دی‌آلدئید- تیوباربیوتیک اسید (MDA - TBA) تولیدشده در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل PG Instrument + T80 اندازه‌گیری شد و جذب سایر رنگیزه‌های اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و سپس از این مقدار کم شد. برای تعیین غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155mM^{-1}\ cm^{-1}$ برحسب نانومول بر گرم وزن تر طبق فرمول زیر محاسبه شد (Heath & Packer, 1969).

غلظت مالون دی آلدئید(نانو مول بر گرم وزن تر) = $\frac{(A532-A600)}{155} \times 1000$

اندازه‌گیری کاتالاز (CAT)

بررسی میزان فعالیت کاتالاز با بررسی کاهش مقدار H2O2 در ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= 7) و H2O2 ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی در یک حجم ۳ میلی‌لیتر بود. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل $cm^{-1}39.4\ Mm^{-1}$ محاسبه و برحسب یک واحد (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف‌شده در دقیقه) به‌ازای میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Aebi, 1984).

اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز(POD)

برای اندازه‌گیری این آنزیم از بافر گایاکول ۴۵ میلی‌مولار و بافر آب اکسیژنه ۲۲۵ میلی‌مولار استفاده شد که در دمای پایین ۴۷۵ میکرولیتر هر یک از بافرها را با ۵۰ میکرولیتر عصاره مخلوط و در طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر PG Instrument + T80 خوانده شد (In *et al*., 2007). فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز محاسبه شد و فعالیت آنزیم درنهایت برحسب میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز = $\frac{OD}{min} \div 13.3$

اندازه‌گیری میزان پروتئین

برای سنجش پروتئین ابتدا محلول برادفورد تهیه شد و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول برادفورد با ۵۰ میکرولیتر عصاره مخلوط و به‌مدت ۱۵دقیقه در تاریکی قرار داده شد و درنهایت در طول موج ۵۹۵ نانومیر قرائت شد (Bradford, 1976).

آنتوسیانین کل

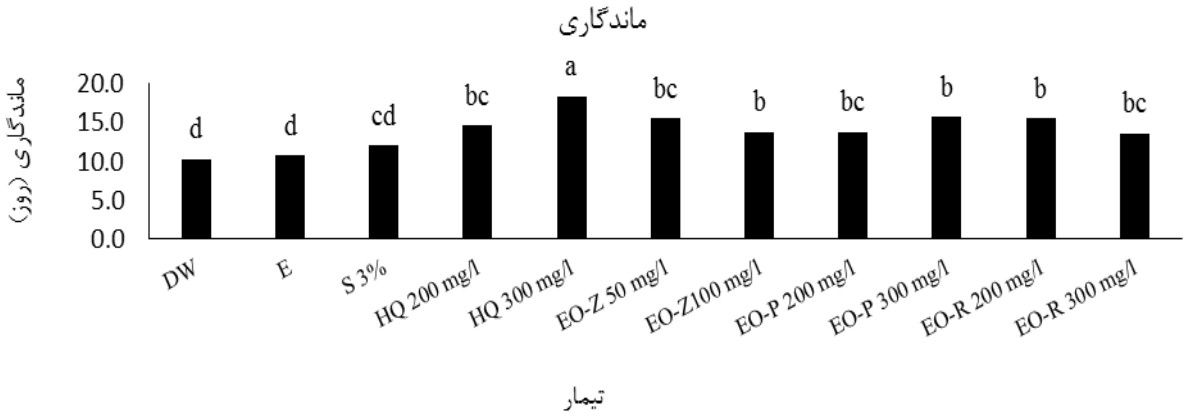
برای اندازه‌گیری آنتوسیانین کل در گلبرگ‌ها از روش اختلاف جذب در pHهای مختلف استفاده شد. حلال استفاده‌شده برای استخراج آنتوسیانین متانول اسیدی (متانول به نسبت حجمی ۱ به ۱ با کلریدریک اسید) بود. آنتوسیانین در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل PG Instrument + T80 اندازه‌گیری شد (Wrolstad, 1976).

نتایج و بحث

ماندگاری

با توجه به نتایج جدول تجزیهٔ واریانس؛ ماندگاری در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو برای تیمارهای مختلف اعمال شده در سطح احتمال ۱درصد معنادار

است (جدول۱). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از شکل۱ می‌توان بیان داشت که کاربرد اسانس‌ها در محلول‌های نگهدارنده سبب افزایش ماندگاری گل‌های بریده می‌شود. در بین تیمارهای اعمال‌شده ۸-هیدروکسی‌کوئینولین در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین ماندگاری (۱۸/۴ روز) را در مقایسه با تیمارهای شاهد (آب‌مقطر ۱۰/۳، اتانول ۱۰/۸ و ساکارز ۱۲/۱) داشت (شکل۱). در بین اسانس‌های گیاهی اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و آویشن شیراز در سطح ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با میانگین ۱۵/۸، ۱۵/۶ و ۱۵/۵ روز اختلاف معناداری با تیمارهای شاهد داشتند (شکل۱).



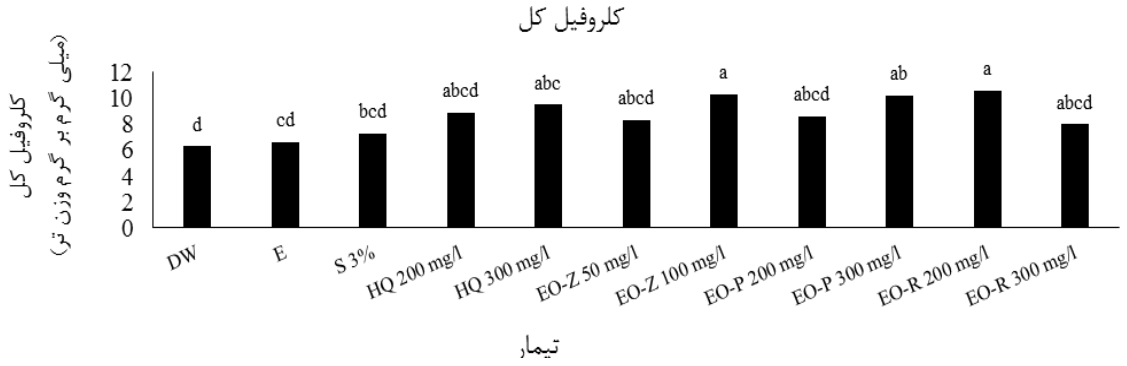
شکل۱. تأثیر اسانس‌های گیاهی در مقایسه با ۸-هیدروکسی‌کوئینولین بر ماندگاری گل بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو
DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی
EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز
ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

ماندگاری گل‌های شاخه‌بریده را براساس صفات ظاهری مثل پژمردگی گلبرگ‌ها، برگ‌ها و خم‌شدن ساقه ارزیابی می‌کنند. ماندگاری گل‌های بریده بیش از هر چیزی تحت‌تأثیر جذب آب قرار می‌گیرد. مهم‌ترین اثر تیماری بررسی‌شده در افزایش ماندگاری به‌دلیل خاصیت باکتری‌کشی آنهاست زیرا استفاده از ساکارز به‌تنهایی تأثیر مثبتی بر ماندگاری گل نداشت و این امر احتمالاً به‌دلیل فراهم‌کردن شرایط مناسب برای رشد باکتری‌ها و قارچ‌هاست. آثار منفی میکروارگانیسم‌ها در کاهش ماندگاری گل‌های بریده را به باکتری‌های مسدودکنندهٔ ساقه، تولید ترکیبات سمی و تولید اتیلن درون‌زا نسبت می‌دهند که در کاهش ماندگاری و کیفیت گل‌های شاخه‌بریده نقش بسزایی دارد. ضیایی موحد و همکاران طی پژوهشی بر روی گل‌بریده ژربرا که از غلظت‌های مختلف عصاره و اسانس میخک هندی استفاده شده بود نشان دادند که اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ و عصارهٔ میخک هندی در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر ماندگاری گل بریدهٔ ژربرا داشت(Ziyaei Movahed *et al*., 2010). در این آزمایش نیز اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با سایر اسانس‌ها تأثیر بیشتری بر ماندگاری داشت.

کلروفیل کل

نتایج نشان داد که میزان کلروفیل در سطح احتمال ۱درصد برای تیمارهای اعمال‌شده در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو معنادار است (جدول۱). میزان کلروفیل برای تیمارهای شاهد کمتر از سایر تیمارها بود، اما در سایر تیمارها مقدار کلروفیل بیشتر بود و کمتر کاهش یافت. مقدار کلروفیل کل در دو تیمار اسانس رزماری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر و اسانس آویشن شیراز در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین

و تیمارهای آب‌مقطر و اتانول کمترین کلروفیل را داشتند (شکل۲).



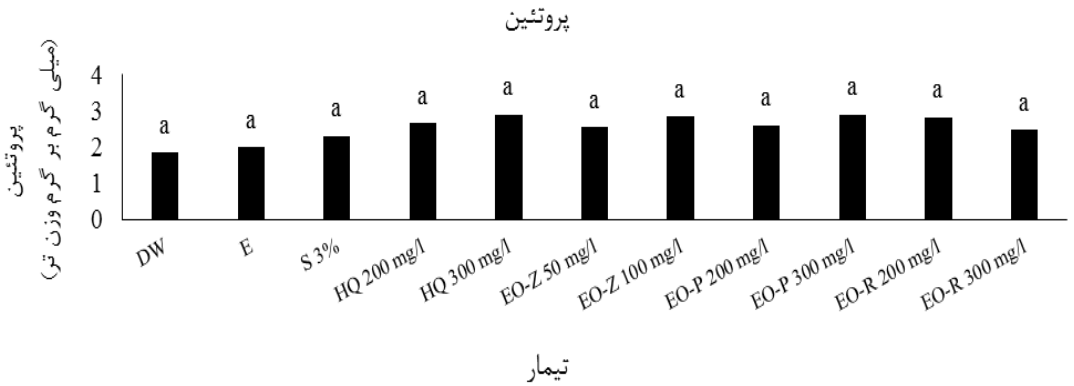
شکل۲. تغییرات مقدار کلروفیل کل در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو
DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی
EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز
ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

اصولاً پیری برگ با کاهش کلروفیل همراه است کاهش کلروفیل برگ گل‌های بریدنی هم‌زمان با پیری می‌تواند ناشی از تخریب کلروفیل، کاهش هورمون‌های درونی گیاه یا برهم‌خوردن تعادل بین آنها و همچنین تجمع بیش از حد قند در برگ‌ها باشد. تنش آبی ناشی از جداشدن شاخهٔ گل از گیاه مادری و انسداد آوندها توسط باکتری‌ها، سبب افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست می‌شود و تخریب مولکول کلروفیل و غشای کلروپلاست را در پی دارد که خود منجر به کاهش فتوسنتز و رشد می‌شود که سبب کاهش معناداری در محتوای کلروفیل کل شد. با توجه نتایج به‌دست‌آمده، این که تیمارهای شاهد کمترین میزان کلروفیل را داشتند، احتمالاً به‌دلیل فقدان مواد آنتی‌اکسیدانی و فعالیت زیاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن بوده است و این در حالی است که اسانس‌های گیاهی ترکیبات فنولی دارد که خاصیت آنتی‌رادیکالی دارند. مهم‌ترین اثر اسانس‌ها در حفظ کلروفیل به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی آنهاست. افزایش کلروفیل دلیل بر فعال‌بودن سلول‌ها و افزایش تولید مواد قندی است و افزایش مواد قندی از طریق تنظیم فشار اسمزی و تنفس موجب کاهش از دست رفتن کلروفیل می‌شود (Lise *et al*., 2004).

پروتئین کل

براساس نتایج به‌دست‌آمده میزان پروتئین در سطح احتمال ۵درصد برای تیمارهای اعمال‌شده معنادار است (جدول۱). با توجه به شکل۳ میزان پروتئین به‌تدریج کاهش نشان می‌دهد، ولی این کاهش در تیمارهای شاهد بیشتر است. بیشترین میزان پروتئین در دو تیمار ۸-هیدروکسی‌کوئینولین و اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر؛ و کمترین میزان پروتئین در تیمارهای شاهد مشاهده شد. بیشترین میزان پروتئین در غلظت‌های بالاتر اسانس‌ها مشاهده شد (شکل۳). محتوای پروتئین به میزان اختلاف بین سنتز و تجزیهٔ آن بستگی دارد. کمبود کربوهیدرات‌ها در سلول‌های گیاهی موجب تخریب پروتئین‌ها می‌شود به‌طوری‌که پروتئین‌ها به‌منزلهٔ سوبسترای تنفسی استفاده می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد گلبرگ‌های گیاه سندرسونیا که با ساکارز تیمار شده‌اند سطح آنزیم پلی‌پپتیداز آن نسبت به تیمارهای شاهد بسیار کمتر بود (Van Doorn *et al*., 2004). کاهش میزان پروتئین در زمان پیری در برخی گونه‌ها بسیارکم و در برخی بیشتر است. آغاز هیدرولیز ترکیب‌های یاخته‌ای مانند پروتئین و کربوهیدرات‌ها به‌منزلهٔ نشانه‌های فرایند پیری، در پاسخ به نبود قندها آزاد مورد مصرف در تنفس است. این نظریه با مشاهدهٔ به تأخیرافتادن کاهش و تجزیهٔ پروتئین‌ها بر اثر استفادهٔ خارجی قندها تأئید شده است (Ferrante *et al*., 2007). موادی که بتوانند از تجزیهٔ پروتئین‌ها جلوگیری کنند قادر به افزایش ماندگاری خواهند بود. Eason و همکاران (2002) نشان دادند که کاربرد اسیدجیبرلیک از طریق تأخیر در فعالیت آنزیم

پروتئاز و تجزیهٔ پروتئین‌ها، فرایند پیری گل‌های ساندرسونیا را به تأخیر انداخته و سبب افزایش عمر پس از برداشت این گل می‌شود.



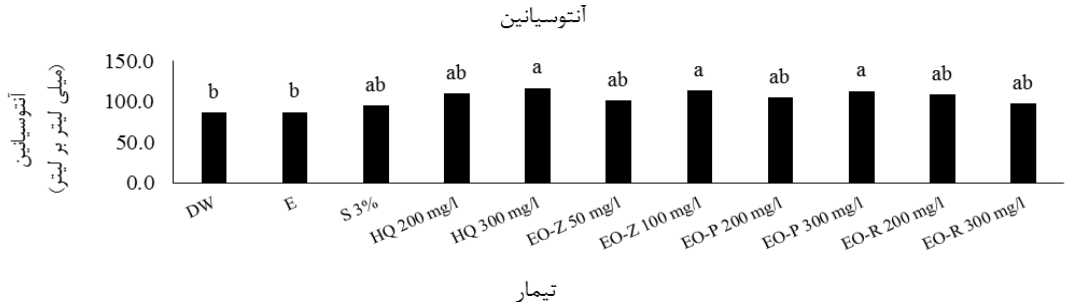
شکل۳. تغییرات میزان پروتئین کل در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو
DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی
EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز
ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

پس می‌توان نتیجه گرفت که اسانس‌های گیاهی از طریق کاهش روند تجزیهٔ پروتئین‌ها، عمر پس از برداشت را افزایش می‌دهند و نسبت به تیمارهای شاهد، پروتئین آن‌ها کمتر کاهش می‌یابد. رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین و اسیدآمینه‌ها می‌شود و همچنین میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها دارد و سبب اکسید آن‌ها می‌شود. از آنجا که پروتئین‌ها خود به‌منزلهٔ سوبسترا در میتوکندری به دنبال قندها برای تولید انرژی استفاده می‌شوند، می‌توانند موجب افزایش ماندگاری گل‌های بریده شوند. درنهایت می‌توان نتیجه گرفت که اسانس‌های گیاهی خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد که این خاصیت ناشی از وجود ترکیبات فنولیک است و مانع تخریب ساختار پروتئین می‌شود، زیرا یکی از عواملی که می‌تواند به ساختار پروتئین‌ها آسیب وارد کند رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (Rajasekaran *et al*., 2002).

آنتوسیانین

با توجه به جدول تجزیهٔ واریانس (جدول۱) میزان آنتوسیانین در تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۱درصد معنادار است. با توجه به مقایسهٔ میانگین داده، میزان آنتوسیانین کاهش نشان می‌دهد، ولی این کاهش در تیمارهای شاهد بیشتر است. تیمار ۸-هیدروکسی‌کوئینولین در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار و دو تیمار شاهد آب‌مقطر و اتانول کمترین مقدار آنتوسیانین را داشتند. در میان اسانس‌های گیاهی، اسانس میخک هندی در سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و آویشن شیراز در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایر اسانس‌ها تأثیر معناداری بر میزان آنتوسیانین داشت و مقدار آن کمتر کاهش یافت و سایر تیمارها اختلاف معناداری نداشتند (شکل۴).

آنتوسیانین‌ها رنگدانه‌های قابل حل در آب هستند و در واکوئل سلول‌های اپیدرمی گلبرگ‌ها تجمع پیدا می‌کنند. این ترکیبات در گونه‌های مختلف دامنهٔ رنگی از قرمز تا بنفش دارد و ظاهر بسیار زیبا با الگوهای متفاوت ایجاد می‌کند (Meng *et al*., 2004). پژوهش‌های قبلی نشان داد که میزان آنتوسیانین گل لیزیانتوس از مرحلهٔ جوانه تا بازشدن کامل گل افزایش می‌یابد (Ishimura & Korenga, 1998). این رنگدانه‌ها نقش مهمی در سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان ایفا می‌کنند. کاهش این ترکیبات سبب حساسیت گل‌ها به تنش اکسیداتیو و درنهایت پیری گلبرگ‌ها می‌شود (Sakihama *et al*., 2002).



شکل۴. تغییرات میزان آنتوسیانین در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو

DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی

EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز

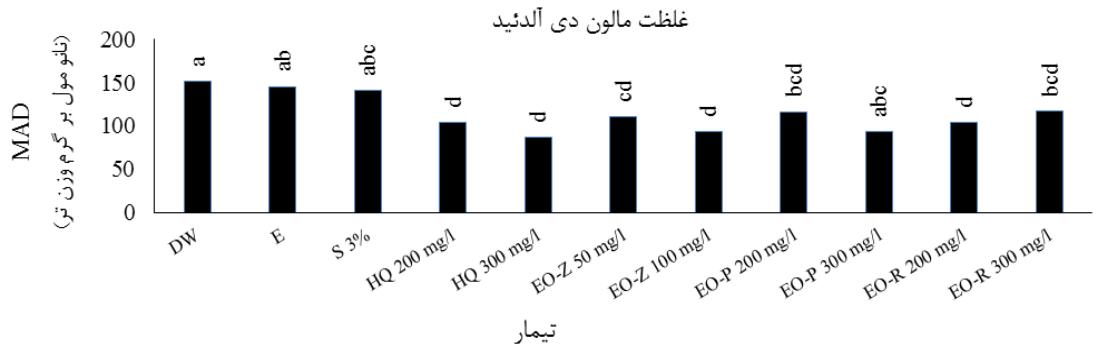
ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

یکی از عوامل مهم در سنتز آنتوسیانین‌ها وجود ساکارز است. ساکارز با ایجاد فشار اسمزی در جذب آب مؤثر است و سبب ایجاد فشار تورژسانس در سلول‌ها می‌شود و درنتیجه تنش ناشی از کمبود آب کاهش می‌یابد و رادیکال‌های آزاد اکسیژن کمتری تولید می‌شود و به دنبال آن از نشت محتویات سلولی جلوگیری می‌شود. اسانس‌های گیاهی با داشتن ترکیبات فنلی از تخریب آنتوسیانین‌ها در سلول‌های گیاهی جلوگیری به عمل می‌آورند.

پراکسیداسیون لیپید

غلظت مالون‌دی‌آلدئید برای تیمارهای مختلف اعمال‌شده در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو در سطح احتمال ۱درصد معنادار است (جدول۱). مالون‌دی‌آلدئید که محصول پراکسیده‌شدن لیپیدها است غلظت آن در تیمارهای شاهد نسبت به سایر تیمارها در سطح بالاتری قرار دارد. با توجه به شکل۵ غلظت مالون‌دی‌آلدئید در تیمارهای شاهد نسبت به سایر تیمارها افزایش نشان می‌دهد. با توجه به مقایسهٔ میانگین داده‌ها ۸-هیدروکسی کوئینولین در هر دو سطح و اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید را داشتند. تیمارهایی با کمترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید بیشترین ماندگاری را داشتند و در سه تیمار آب‌مقطر، اتانول و ساکارز بیشترین غلظت مالون‌دی‌آلدئید و کمترین ماندگاری را نیز به همراه داشتند. MAD یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدهای غشاست. تجمع MAD تخریب غشای پلاسمایی را سرعت می‌بخشد. میزان این ماده به‌منزلهٔ شاخص مقاومت فیزیولوژیک و پیری محسوب می‌شود (Geng *et al.*, 2009). گونه‌های اکسیژن فعال‌شده می‌توانند به‌واسطهٔ آسیب اکسیداتیو به چربی، پروتئین و نوکلئیک اسیدها در متابولیسم طبیعی ایجاد مشکل کنند. زمانی که در گیاهان تعادل میان ایجاد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر و فعالیت خنثی‌سازی آنها توسط آنتی‌اکسیدان‌ها از بین می‌رود و درنتیجه پدیده‌ای بروز می‌کند که به آن آسیب اکسیداتیو گویند که منجر به تخریب ساختار غشا می‌شود (Parida & Das, 2005). هنگامی که گل‌های شاخه‌بریده در معرض تنش آبی ناشی از انسداد آوندها قرار می‌گیرند، معمولاً ساختار لیپیدهای خود را تغییر می‌دهند. پراکسیداسیون القاشده در غشاهای لیپیدی در این شرایط نشان‌دهندهٔ آسیب در سطح سلولی است و سطح مالون‌دی‌آلدئید تولیدشده طی این فرایند به‌منزلهٔ یک شاخص از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفته شده است. در این پژوهش، افزایش معنادار در مقدار مالون دی آلدئید به‌علت افزایش در پراکسیداسیون لیپیدهاست. در این پژوهش، به‌طورکلی اسانس‌ها در غلظت بالا سبب کاهش معنادار مقدار مالون‌دی‌آلدئید شده است. نقش اسانس‌ها در حفاظت گیاهان در مقابل پراکسیداسیون لیپیدها به‌منزلهٔ نوعی مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی است که از ساختار غشای سلولی محافظت می‌کنند. این گروه از ترکیبات طبیعی خواص آنتی‌اکسیدانی، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های

آزاد اکسیژن، پایداری دیوارهٔ سلولی و غشا دارند. درواقع اکسیداسیون ترکیبات اشباع‌نشده اسیدهای چرب منجر به تولیداتی مانند پراکسیداسیون لیپید می‌شود (Bradley & Min, 1992).

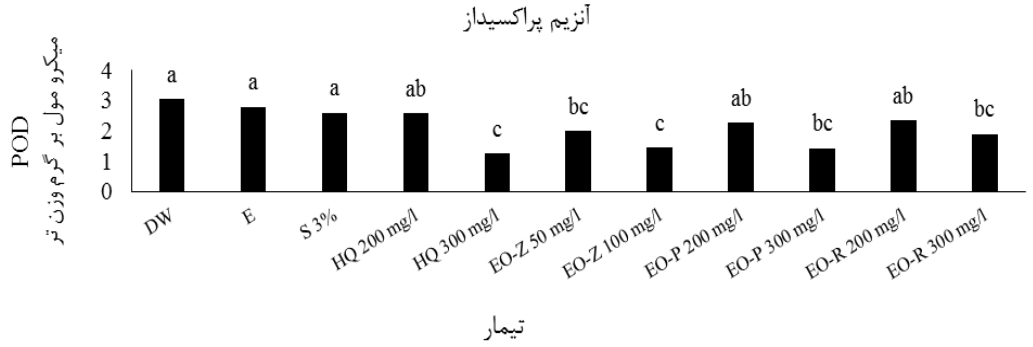


شکل۵. تغییرات میزان مالون‌دی‌آلدئید در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو
DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی
EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز
ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز برای تیمارهای مختلف اعمال‌شده در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم 'مائورین‌بلو' در سطح احتمال ۱درصد معنادار است (جدول۱). بیشترین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در تیمارهای شاهد به‌ترتیب آب‌مقطر، اتانول و ساکارز وجود داشت. در میان تیمارها؛ ۸-هیدروکسی کوئینولین و اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را به دنبال داشتند (شکل۶). کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در سه تیمار ۸-هیدروکسی‌کوئینولین و اسانس میخک هندی در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه اسانس آویشن شیراز در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل۷). در میان تیمارهای اعمال‌شده در تیمارهای شاهد بیشترین فعالیت این آنزیم مشاهده شد که به دنبال آن کمترین ماندگاری را نیز داشتند (شکل‌های ۶ و ۷). وقتی شاخه‌های گل از گیاه مادری جدا و در محلول‌های گلجایی نگهداری می‌شوند دچار تنش به‌ویژه تنش آبی می‌شوند و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها در چنین شرایطی به وجود می‌آید (Xiaozhong & Huang. 2002). ۸-هیدروکسی کوئینولین از طریق کاهش این تنش و کمک در جذب آب موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و درنتیجه، کاهش اکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌شود و از این طریق از پژمردگی گل‌ها جلوگیری می‌کند. ترکیبات فنولیک از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است که در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی دارد و از ساختار غشا محافظت می‌کند. گونه‌های فعال اکسیژن عامل اصلی پراکسیداسیون لیپید در ساختار غشای سلولی هستند (Upadhyaya & Panda. 2004). اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت زیادی به اکسیژن دارند و به‌سرعت اکسید می‌شوند و از آنجا که غشای سلولی نوعی غشای فسفولیپید است واکنش اکسیژن با آن سبب تخریب غشای سلولی می‌شود. اسانس‌های گیاهی با پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن سبب کاهش در اکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. فعال‌بودن سلول‌ها خود دلیل بر فعال‌بودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و درنتیجه پایداری غشای سلول‌هاست (Palma *et al*., 2002). فعال‌بودن این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت هم مانع بیوسنتز اتیلن و هم از خسارت عوامل بیرونی جلوگیری می‌کند و از این طریق موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن به‌دست‌آمده از تجزیهٔ هیدروژن پراکساید از طریق فعال‌ساختن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود. از آنجایی که گونه‌های اکسیژن آزاد به‌دست‌آمده از تجزیهٔ هیدروژن پراکساید یکی از

مهم‌ترین عوامل در پیری زودرس گلبرگ‌هاست و از سوی دیگر آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از آنتی‌اکسیدان‌هاست و سبب خنثی‌شدن اثر سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. بنابراین، فعالیت این آنزیم‌ها از این طریق از پیری گلبرگ‌ها ممانعت می‌کنند (Mortazavi *et al*., 2007).

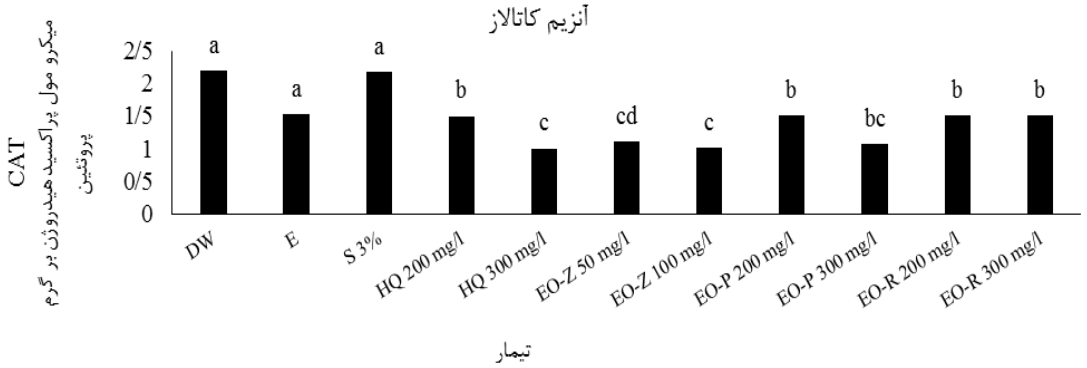


شکل۶. تغییرات میزان آنزیم پراکسیداز در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو

DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی

EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز

ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.



شکل۷. تغییرات میزان آنزیم کاتالاز در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو

DW: آب‌مقطر، E: اتانول، S: ساکارز، HQ: هیدروکسی‌کوئینولین، EO-P: اسانس میخک هندی

EO-R: اسانس رزماری، EO-Z: اسانس آویشن شیراز

ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معناداری در سطح احتمال ۱درصد آزمون توکی نشان ندادند.

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که به‌طور مؤثری از اکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری می‌کنند. امروزه در صنعت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای به تأخیرانداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود، اما به‌دلیل آثار بد تغذیه‌ای و سرطان‌زا بودن این ترکیبات و نیز تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، کاربرد آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Frankel, 1991). ویژگی آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً ناشی از قدرت احیاکنندگی و ساختار شیمیایی آن‌هاست که آنها را قادر به خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد، تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی و خاموش‌کردن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه‌گانه است (Ghaderi Ghahfarokhi *et al*., 2001). قدرت مهارکنندگی اسانس‌ها به تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل و وزن مولکولی ترکیبات فنلی بستگی دارد و ترکیبات فنلی با وزن مولکولی پایین‌تر؛ گروه‌های هیدروکسیل راحت‌تر در دسترس قرار می‌گیرند درنتیجه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات

فنلی به ساختار شیمیایی آنها بستگی دارد (Ghaderi Ghahfarokhi *et al*., 2001).

جدول۱. تجزیهٔ واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر صفات فیزیولوژیک در گل شاخه‌بریدهٔ لیزیانتوس رقم مائورین‌بلو

	میانگین مربعات							
منبع تغییرات	عمر گلجایی	آنتوسیانین	کلروفیل کل	پروتئین کل	مالون‌دی‌آلدئید	آنزیم پراکسیداز	آنزیم کاتالاز
تیمار	۳۳/۲۷**	۳۳۸/۷۸**	۶/۴۹**	۰/۳۸*	۱۴۵۵/۲۵**	۰/۰۱۴**	۰/۵۱**
خطای آزمایش	۱/۲۶	۵۳/۲۸	۰/۷	۰/۰۵۸	۹۳/۰۹	۰/۰۰۰۶۸	۰/۰۱
CV	۸/۰۱	۷/۰۷	۹/۷	۹/۵	۸/۴۱	۸/۶	۹/۱۱

**، *، ns به‌ترتیب معناداری در سطح احتمال ۱درصد، ۵درصد و معنادارنبودن.

نتیجه‌گیری نهایی

اسانس‌های گیاهی در مقایسه با ۸-هیدروکسی‌کوئینولین اثر معناداری بر صفات اندازه‌گیری‌شده دارند.

از طرفی میزان ترکیبات اسانس‌ها به شرایط محیطی، خاک و تغذیه در هنگام رشد و نمو بستگی دارد و به این دلیل نمی‌توان نتیجهٔ ثابتی برای آنها تصور کرد. اسانس رزماری برخلاف اسانس آویشن شیراز و میخک هندی در غلظت کمتر از تأثیر بیشتر برخوردار بود.

اسانس‌های گیاهی به‌واسطهٔ داشتن ترکیبات مختلف فنولی که خاصیت آنتی‌رادیکالی دارند در مقایسه با تیمارهای شاهد موجب شد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کمتری به وجود آید.

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro*. *Methods of Enzymatic Analysis*, *Academic Press, New York*, 105, 121-126.
2. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 4, 1-150.
3. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 248-254.
4. Bradley, D. E. & Min, D. B. (1992). Single oxygen oxidation of foods. *Cat Review Food Science Nutrition*, 31, 211-236.
5. Cho, M. S., Celikel F. G., Dodge, L. & Reid, M. S. (2001). Sucrose enhances the postharvest quality of cut flower of *Eustoma grandiflorum* (Raf) shinn. *Acta Horticulturae*, 543, 304-315.
6. Dormana, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R. & Tikkanen, M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extacts from selected lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83, 242-255.
7. Eason, J.R. (2002). *Sandersonia aurantiaca*: an evaluation of postharvest pulsig solutions to maximize cut flower quality. *Horticultural Science*, 30, 27-279.
8. Ferrante, A., Alberici, A. & Antonacci, S. (2007). Effect of promoter and inhibitors of phenyalanine Ammonia-Lyase Enzyme on stem bending of cut Gerbera Flowers. *Acta Horticulturae*, 755, 471-473.
9. Frankel, E.N. (1991). Recent advances in lipid oxidation. A review. *Journal of Food & Agriculture Science,* 54, 495- 511.
10. Geng, X. M., Liu, J., Guo Lu, J., Hu, F. R. & Okubu, H. (2009). Effect of cold storage and different pulsing treatment on postharvest quality of cut OT lilly Mantissa flowers. *Postharvest Biology & Technology*, 54, 41-45.
11. Ghaderi Ghahfarokhi, M., Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A. R. & Alami, M. (2011). Evaluation of antioxidant activity, reducing power and free radical scavenging of different extract of *Artemisia annua* L**.** *Journal on Plant Science Researches*, 21, 46-57.
12. Heath, R. & Packer, L. (1969). Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemmistry*, 125, 189-198.
13. In, B. C., Motomura, K., Doi, M. & Mori, G. (2007). Multivariente analysis of relation between preharvest environmental factor, postharvest morphological and physiological and factors and vase life of cut Asomi Red Roses. *Journal of Japanese Society for Horticulture Science*, 76, 66-72.
14. Ichimura, K. & Korenaga, M. (1998). Improvement of vase life and petal color expression in several cultivar of cut Eustuma flowers using sucrose with 8-hydroxyquinoline sulfate**.** *Bulletin of the National Research Institute of Vegetables*, *Ornamental Plant of Tea Japaness*, 13, 31-39.

15. Karimi, M., Hassanpur Asil, M., Samieezadeh Lahiji, H. & Talesh Sassani, S. (2008). Effect of temperature and various chemical treatments to extend the life of cut flowers of Lilium cv Pisa. *Journal of Science & Technology of Agriculture & Natural Resources,* 12, 1-9. (In Farsi).
16. Lise, A., Michelle, H. & Serek, M. (2004). Reduced water availability improves drought tolerane of potted miniature roses: Is the ethylene pathway involved. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 99, 95-105.
17. Meng, X. & Wang, X. (2004). Relation of flower development and anthocyanin accumulation in Gerbera hybrid. *Journal Horticultural Science Biotechnology*, 79 (1), 131-137.
18. Mortazavi, S.N., Naderi, R., Khalighi, A., Babalar, M. & Allizadeh, H. (2007). The effect of cytokinin and calcium on cut flower quality in Rose (*Rosa hybrida* cv. Illona). *Journal of Food Agriculture & Environment,* 53(4), 1459-1466.
19. Palma, J.M., Sandalio, L.M., Corpas, F.J., Romero, M.C., McCarthy, I. & Río, L.A. (2002). Plant proteases, protein degradation, and oxidative stress: role of peroxisomes. *Plant Physiology & Biochemistry*, 40, 521-530.
20. Parida, A. k. & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. *Exotoxicology & Environmental Safety*, 60, 324-349.
21. Ponce, A. G., Del Valle, C. E. & Roura, S. I. (2004). Natural essential oils as reducing agents of proxidase activity in leafy vegetables. *Food Science & Technology*, 37, 199-204.
22. Rajasekaran, L., Stiles, A. R. & Caldwell, C.D. (2002). Stand establishment in processing carrots: Effects of various temperature regimeson germination and the role of salicylates inpromoting germination at low temperatures**.** *Canadian Journal of Plant Science*, 82, 443–450.
23. Sakihama, Y., Michael, F., Cohen, S., Grace, C. & Hideo, Y. (2002). Plant phenolic antioxidant and peroxidase activities: phenolic induced oxidative damage mediated by metal in plants. *Toxicology*, 177, 67-80.
24. Shimizu-Yumoto, H. & Ichimura, K. (2010). Combination puls treatment of 1-naphthalenacetic acid and AVG greatly improve postharvest life in cut Eustoma flower. *postharvest Biology & Technology*, 56, 104-107.
25. Upadhyaya, H. & Panda, S. K. (2004). Responses of *Camellia Sinensis* to drought and rehydration. *Biology of Plants,* 48, 597-600.
26. Van Doorn, W. G., Monic, A. S. & Tomassen, M. (2004). Daffodia flower delay sensecense in cut Iris flowers. *Phytochemistry*, 65, 571-577.
27. Wrolstad, R. E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. *Oregon State University Agricultural Experiment Station,* 624, 1-17.
28. Xiaozhong, L. & Huang, B. (2002). Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress: leaf senescence and antioxidant metabolism dep. *of Botany & Microbiology*, *University of Oklahoma, Crop Science*, 42, 466-472.
29. Ziyaei Movahed, Z., Kafi, M., Khalighi, A., Azizi M., & Sharifi, R. (2010). Investigation of the possibility in replacing natural ingredients (essential oil and extracts of Australian Cheesewood) instead of anti-bacterial chemicals ingredients in preservative solution of the Gerbera cut flower. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41, 337-345. (In Farsi).