



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵

صفحه‌های ۷۹-۸۹

اثر ۱- متیل‌سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک 'گرنده اسلم'

اعظم رنجبر^۱، نوراله احمدی^{۲*}

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۰۳

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۷

چکیده

به منظور بررسی اثر تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان و اتیلن بر حفظ کیفیت و افزایش عمر گلجایی گل‌های میخک رقم 'گرنده اسلم' آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۲-۹۳ انجام شد. ابتدا گل‌های شاخه‌بریدنی با چهار سطح صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان به مدت ۲۴ ساعت تیمار شدند و سپس به مدت ۱۶ ساعت در معرض غلظت یک میکرولیتر بر لیتر اتیلن قرار گرفتند. تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان اثر معنی داری بر عمر گلجایی، ویژگی‌های بیوشیمیایی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت داشت. بیشترین عمر گلجایی و مقدار کلروفیل برگ و آنتوسیانین‌های گلبرگ مربوط به تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان بود، هرچند که با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان با غلظت یک میکرولیتر بر لیتر مشاهده شد، درحالی‌که بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز به‌ترتیب در تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر و تیمار شاهد مشاهده شد. به‌طورکلی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۱- متیل‌سیکلوپروپان به عنوان یک بازدارنده عمل اتیلن سبب افزایش عمر گلجایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل شاخه‌بریدنی میخک رقم 'گرنده اسلم' گردید.

کلیدواژه‌ها: پراکسیداز، پیری، سوپراکسید دیسموتاز، کلروفیل، محلول گلجای

۱. مقدمه

گل میخک (*Dianthus caryophyllus*) یکی از مهمترین گل‌های شاخه‌بریدنی است که در مقیاس تجاری در سراسر جهان کشت می‌شود و به عنوان گیاه زینتی، در باغ‌ها و فضای سبز و همچنین به صورت گل شاخه‌بریدنی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۴]. عمر گلجایی گل‌های شاخه‌بریدنی از ویژگی‌های بسیار مهم در ارزیابی کیفیت محصول است که بستگی به عوامل ژنتیکی و محیطی دارد [۲۹]. اتیلن به عنوان یک هورمون گیاهی نقش بارزی را در تنظیم فرآیند پیری اکثر اندام‌های گیاهی از جمله گل‌ها بازی می‌کند و در اکثر گل‌ها پژمردگی همراه با خود تنظیمی تولید اتیلن است [۳۷]. زمانی که گیاهان در معرض اتیلن (درون‌زاد و یا برون‌زاد) قرار می‌گیرند، مولکول اتیلن توسط گیرنده‌های اتیلن دریافت می‌شوند و سپس سیگنال توسط ژن‌های فعال در مسیر، به پایین دست منتقل می‌شود. بدین صورت، اتیلن سبب تحریک رونویسی ژن‌های بیان شونده تحت تیمار اتیلن می‌گردد و سبب بروز عوارض فیزیولوژیکی در اندام‌های رویشی و زایشی گیاه می‌شود [۱]. در این رابطه، در برخی از گیاهان نظیر رز مینیاتوری، شمعدانی و بگونیا، حضور پیش از موعد اتیلن بر پیری گل‌ها اثر قابل توجهی دارد و این امر منجر به کاهش عمر گل می‌گردد [۲ و ۲۹]. تیمار اتیلن خارجی در گلبرگ‌های گل رز باعث افزایش قابل توجهی در تولید اتیلن، فعالیت آنزیم ای سی سی سینتاز^۱ و ای سی سی اکسیداز^۲ گردید و بیان هر دو ژن ACS₁ و ACS₃ را تحریک کرد [۲۴]، اگرچه ژن‌های دریافت‌کننده اتیلن متأثر از تیمار اتیلن خارجی نبود [۲].

به‌طورکلی، پیری در گل‌ها با افزایش نفوذپذیری غشاهای سلولی در اثر حمله گونه‌های اکسیژن فعال تسریع می‌شود که معمولاً با کاهش پروتئین و اسیدهای نوکلئیک

در اثر فعالیت پروتئازها و نوکلئازهای مختلف همراه است [۴]. فرآیند پیری یک فرآیند اکسیداتیو نیز می‌باشد که در آن گونه‌های اکسیژن فعال و سیستم آنتی‌اکسیدانتی دخالت دارند. کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی به عنوان دلیلی بر پیری در گونه‌های مختلف گیاهی ذکر شده است [۶]. علاوه بر این، به دلیل افزایش تولید اتیلن طی دوره پیری، مرگ سلولی در این مرحله تسریع می‌یابد [۱۳]. گیاهان نیز دارای سازوکارهای ضد اکسیداسیونی در جهت کاهش اثر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سازوکارها شامل بروز تغییراتی در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه نظیر پراکسیداز^۳، کاتالاز^۴، پلی‌فنل اکسیداز^۵ و ترکیبات دیگری از جمله فنل‌ها می‌باشد [۳۵].

از آنجایی که پیری پس از برداشت عامل محدودکننده در عرضه محصول و همچنین بازارپسندی بسیاری از گل‌های شاخه‌بریدنی می‌باشد، امروزه کاربرد روش‌هایی که استفاده از آن‌ها ضریب اطمینان بالایی داشته باشد، از اهمیت خاصی برخوردار است. در رابطه با کاربرد ۱- متیل‌سیکلوپروپان به عنوان ترکیب ضد عمل اتیلن، ثابت شده است که این ترکیب در رقابت با اتیلن برای کسب جایگاه در سطح گیرنده‌های اتیلن، می‌تواند در جلوگیری از پاسخ اتیلن مؤثر باشد [۲۹]. ۱- متیل‌سیکلوپروپان از ریزش گلبرگ در شمعدانی جلوگیری کرده است، هرچند که میزان کارایی آن به شرایط حمل و نقل، دمای انبار و تعداد دفعات کاربرد بستگی دارد [۸]. در مطالعه‌ای بر روی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک خوشه‌ای، تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان در همه غلظت‌ها، تولید اتیلن را کاهش داد و متعاقب آن فرآیند تخریب کلروفیل در مقایسه با گیاهان شاهد به تأخیر افتاد [۳]. گل‌های لاله

3. Peroxidase
4. Catalase
5. Polyphenol oxidase

1. ACC- synthase
2. ACC-Oxidase

اثر ۱- متیل سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک 'گرنند اسلم'

سیام تیمار شده با ۱- متیل سیکلوپروپان به مدت ۸ ساعت حداکثر مقدار آنتوسیانین‌ها را تا روز دوازدهم از عمر انباری داشتند [۱۰]. کاربرد ۱- متیل سیکلوپروپان روی گیاهان سویا، مقدار پراکسید هیدروژن را در مقایسه با گیاهان تیمار نشده کاهش داد، همچنین تولید اتیلن و رادیکال‌های آزاد را کاهش و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد [۱۲].

باتوجه به نقش ۱- متیل سیکلوپروپان به عنوان یک ماده بازدارنده عمل اتیلن و متعاقباً بهبود دهنده عمر پس از برداشت، هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی کارایی ۱- متیل سیکلوپروپان و واکنش میخک شاخه‌بریدنی رقم 'گرننداسلم' در تیمار با ۱- متیل سیکلوپروپان و اتیلن است. در این مطالعه، رفتار گل شاخه‌بریدنی تیمار شده با ۱- متیل سیکلوپروپان در دو سطح فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار سطح تیمار و سه تکرار، در سال ۹۳-۱۳۹۲ اجرا گردید. گل‌های شاخه‌بریدنی میخک رقم 'گرننداسلم' براساس شاخص‌های استاندارد در مرحله قلم‌مویی از گلخانه‌ی تجاری واقع در شهرستان پاکدشت برداشت شدند. گل‌ها بلافاصله به آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند.

به منظور آبیگری مجدد، ساقه‌های گل به مدت یک ساعت در داخل آب قرار گرفتند. سپس گل‌های سالم، هم‌اندازه و عاری از علائم پژمردگی به منظور اعمال تیمار انتخاب گردیدند. شاخه‌های گل درون ظروف گلجایی به مدت ۲۴ ساعت داخل اتاقک شیشه‌ای ۲۰۰ لیتری تحت

تیمار ماده ۱- متیل سیکلوپروپان با نام تجاری اسمارت فرش^۲ با غلظت‌های صفر، ۵/۰، ۱ و ۵/۱ میکرولیتر بر لیتر قرار گرفتند. پس از یک ساعت تهویه با درزگیری مجدد درب محفظه شیشه‌ای، با تزریق اتیلن با استفاده از سرنگ همپلتون به درون اتاقک‌ها، گیاهان در معرض اتیلن با غلظت یک میکرولیتر بر لیتر به مدت ۱۶ ساعت قرار گرفتند [۱۱]. پس از باز نمودن درب اتاقک‌های شیشه‌ای، ظروف گلجایی روی میز آزمایشگاه قرار گرفتند. تمامی مراحل انجام آزمایش در شرایط محیطی دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۵-۶۰ درصد، شدت نور ۱۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی انجام گردید [۱۱] و در زمان مورد نظر نمونه‌برداری لازم برای ارزیابی صفات و ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی صورت پذیرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAT-C (نسخه ۲/۱۰) انجام و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطوح احتمال یک درصد انجام گردید. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

عمر گلجایی

دوام گل‌های شاخه‌بریدنی یکی از مهمترین معیارها برای ارزیابی عمر پس از برداشت ارقام جدید قلمداد می‌شود. در این پژوهش، عمر گلجایی عبارت است از مدت زمانی- که گل بتواند کیفیت خود را از لحاظ بازارپسندی حفظ کند که با شروع مرحله پیری گل و از بین رفتن ارزش زینتی گل‌ها، این زمان پایان می‌یابد. علائم پیری در میخک شامل لوله‌ای شدن حاشیه گلبرگ‌ها و پژمردگی آن‌ها می‌شود [۳۳]. در این آزمایش، دوام گل‌ها براساس روز به صورت فاصله زمانی پس از پایان تیمار گل‌ها تا زمانی‌که گل‌ها ارزش زینتی خود را از دست دادند، محاسبه گردید.

1. *Dianthus caryophyllus* cv. Grand Slam

2. Smart Fresh

اندازه‌گیری کلروفیل برگ

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل، ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از برگ‌های میخک از هر واحد آزمایشی توزین و با استفاده از ازت مایع درون هاون چینی پودر شد. سپس نمونه‌های پودر شده داخل لوله‌های فالکن ریخته شد و به هر کدام از لوله‌ها ۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شد و نیز به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار با ۶۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. سپس، میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل BIO-RAD در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۶ نانومتر قرائت شد [۲۷].

$$\begin{aligned}\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) &= 12/5A_{663} - 2/79A_{646} \\ \text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/ml}) &= 21/51A_{646} - 5/1A_{663} \\ \text{Total Chlorophyll } (\mu\text{g/ml}) &= \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}\end{aligned}$$

فرمول (۱)

در این رابطه، A₆₄₆ و A₆₆₃ به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۶ نانومتر است.

اندازه‌گیری آنتوسیانین‌های گلبرگ

میزان ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت گلبرگ در سه میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول و کلریدریک اسید به نسبت ۹۹ به ۱) به صورت کاملاً نرم سائیده شد. سپس، عصاره حاصل به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. محلول رویی به مدت یک شب در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد. جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۵۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 33000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) محاسبه گردید [۲۱].

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بافت گلبرگ در سه میلی‌لیتر

بافر فسفات سدیم ۲۵ mM (pH ۸/۶) در هاون سرد شده به وسیله ازت مایع تا همگن شدن نمونه‌ها کاملاً سائیده شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۲۵ mM (pH ۸/۶)، گایاکول ۲۸ mM، هیدروژن پراکسید ۵ mM و عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه‌ها در طول زمان یک دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیم به صورت دلتای جذب ۴۷۰ نانومتر به ازای میلی‌گرم پروتئین بیان گردید [۲۸].

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بافت گلبرگ در سه میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ mM (pH ۸/۶) عصاره‌گیری و مخلوط اخیر به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. از محلول رو شناور برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. سپس مخلوط واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۲۵ mM (pH ۸/۶)، هیدروژن پراکسید ۱۰ mM و عصاره آنزیمی تهیه گردید. فعالیت کاتالاز با توجه به روند تجزیه هیدروژن پراکسید و در نتیجه کاهش جذب، در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجیده و به صورت دلتای جذب ۲۴۰ نانومتر به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. کلیه مراحل استخراج آنزیمی روی یخ انجام گرفت [۷].

استخراج و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم بافت گلبرگ در سه میلی‌لیتر بافر mM HEPES-KOH ۵۰ (pH ۸/۷)، حاوی EDTA سدیمی ۱/۰ mM عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل به

اثر ۱- متیل سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گل های شاخه بریدنی میخک 'گرند اسلم'

مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردید. بخش رو شناور حاصل برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت. ترکیب واکنش در حجم نهایی سه میلی لیتر به شکل زیر است:

بافر ۵۰ mM HEPES-KOH با pH ۸/۷ حاوی EDTA سدیمی ۱/۰ mM، ۵۰ mM Na₂CO₃ با pH ۲/۱۰، ۱۲ mM methionine Nitro Blue Tetrazolium (NBT)، ۷۵ μM Riboflavin 1 μM و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصدی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در ۵۶۰ نانومتر می شود [۹]. جذب مخلوط واکنش با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.

اندازه گیری میزان پروتئین

برای اندازه گیری پروتئین محلول کل از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده شد. به این منظور، میزان جذب یک میلی لیتر از معرف برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره

آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. میزان پروتئین برحسب میلی گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی درجه بندی سرم آلبومین گاوی (BSA) محاسبه شد [۵].

نتایج و بحث

ماندگاری یکی از ویژگی های پراهمیت پس از برداشت گیاهان زینتی به ویژه گل های شاخه بریدنی است که به وسیله اتیلن کاهش می یابد. کاهش اثرات نامطلوب اتیلن، روشی مناسب جهت افزایش طول عمر پس از برداشت گیاهان است و ترکیباتی از جمله ۱- متیل سیکلوپروپان به منظور کاهش اثرات اتیلن در باغبانی کاربرد گسترده ای دارند.

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثرات تیمار ۱- متیل سیکلوپروپان بر صفات میخک رقم 'گرند اسلم' از جمله عمر گلجایی، مقدار کلروفیل برگ، آنتوسیانین های گلبرگ و همچنین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی از جمله پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گلبرگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه برای رقم 'گرند اسلم'

متغیر	درجه آزادی	عمر گلجایی	کلروفیل کل	آنتوسیانین	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز
تیمار	۳	۱۶/۰۲۸**	۱۴۷/۹۱۵**	۰/۰۶۳**	۶/۱۱**	۲۶/۳۸**	۵۲/۳۷**
خطا	۸	۰/۴۴۰	۲/۲۷۸	۰/۰۰۱	۰/۰۵۰	۰/۷۲۵	۱/۴۷
ضریب تغییرات (%)		۴/۸۸	۶/۵۰	۵/۶۸	۷/۲۸	۳/۹۷	۷/۴۵

***، * و ns - به ترتیب معنی دار در سطح یک و پنج درصد و غیر معنی دار

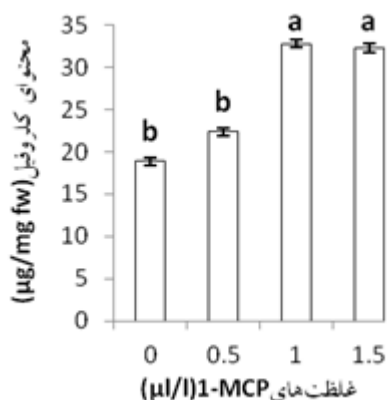
افزایش غلظت ۱- متیل سیکلوپروپان باعث افزایش عمر گلجایی شد، به طوری که بالاترین عمر گلجایی (۸/۱۵ روز)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها در گل شاخه بریدنی میخک رقم 'گرند اسلم' نشان داد،

به زراعی کشاورزی

دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵

تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان بود که براساس آزمون LSD تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان نداشت، درحالی که با تیمار شاهد و ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان تفاوت معنی داری را نشان داد (شکل ۲).

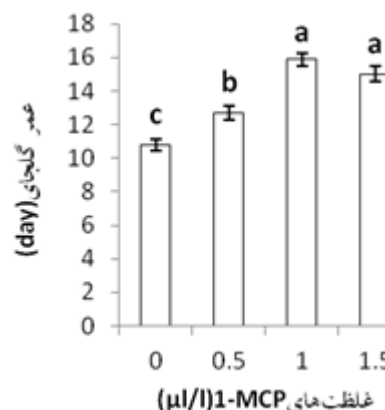


شکل ۲. اثر ۱-متیلسیکلوپروپان بر مقدار کلروفیل برگ میخک رقم 'گراند اسلم'

اثرات ۱-متیلسیکلوپروپان در حفظ محتوای کلروفیل ناشی از بازدارندگی عمل اتیلن و متعاقباً جلوگیری از بیوسنتز اتیلن می باشد که مهمترین عامل زردبری در گیاهان زینتی محسوب می شود. همسو با نتایج این آزمایش در مطالعه ای بر روی گل های شاخه بریدنی میخک خوشه ای، تیمار ۱-متیلسیکلوپروپان، تولید اتیلن را کاهش و متعاقب آن تخریب کلروفیل را در مقایسه با گیاهان شاهد به تأخیر انداخت [۳]. همچنین، ۱-متیلسیکلوپروپان از شروع زرد برگی در داوودی و شمعدانی رقم 'ایزبل' ممانعت نمود [۳۱]. در این مورد، اثر تیمار ۱-متیلسیکلوپروپان به مسدود کردن گیرنده های اتیلن ارتباط داده می شود.

تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان

مربوط به تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان بود. براساس آزمون LSD تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار شاهد و غلظت ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان داشت، اگرچه با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱-متیلسیکلوپروپان تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد نداشت (شکل ۱).



شکل ۱. اثر ۱-متیلسیکلوپروپان بر عمر گلجای میخک رقم 'گراند اسلم'

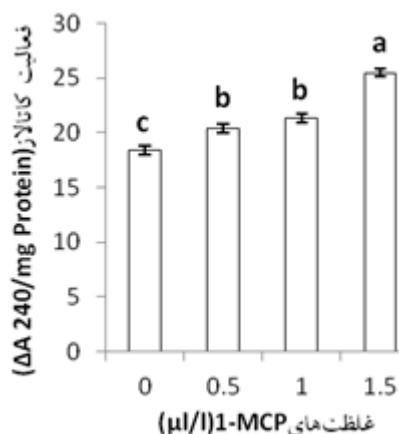
تیمار با ۱-متیلسیکلوپروپان در این آزمایش از طریق جلوگیری از عمل اتیلن خارجی باعث افزایش عمر گلجایی گردید. همسو با نتایج حاصل از این آزمایش، ۱-متیلسیکلوپروپان با جلوگیری از عمل اتیلن خارجی سبب افزایش عمر گل های شمعدانی گردید [۸]. همچنین تحقیقات بر روی گل های شاخه بریدنی لاله، این استنباط نیز وجود دارد که ۱-متیلسیکلوپروپان با جلوگیری از تولید اتیلن داخلی نیز سبب حفظ کیفیت گردیده است [۱۰]. بنابراین، افزایش عمر گلجایی گل های شاخه بریدنی با استفاده از ۱-متیلسیکلوپروپان ناشی از بازدارندگی عمل اتیلن و متعاقباً جلوگیری از بیوسنتز اتیلن می باشد [۳۰ و ۳۲].

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها در صفت مقدار کلروفیل برگ نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل در روز دوازدهم بعد از اعمال تیمار مربوط به

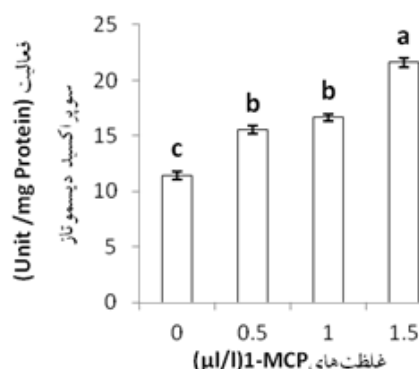
اثر ۱- متیل سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک 'گراند اسلم'

پیری pH واکوئلی افزایش می‌یابد که با افزایش pH آنتوسیانین‌ها قبل از تخریب بی‌رنگ می‌شود [۳۸]. همچنین، تخریب آنتوسیانین‌ها به وسیله فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز اتفاق می‌افتد [۱۴].

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، حداکثر فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در تیمار ۱- متیل سیکلوپروپان با غلظت ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر به دست آمد که براساس آزمون LSD دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با سایر تیمارها بود (شکل‌های ۴، ۵ و ۶).

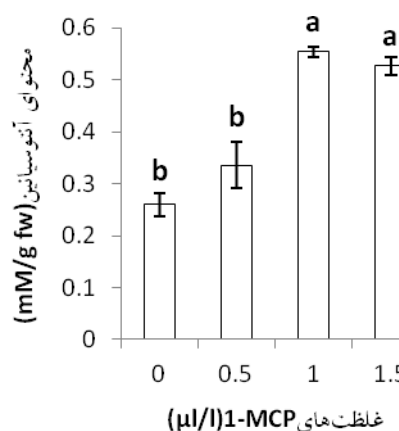


شکل ۴. اثر ۱- متیل سیکلوپروپان بر فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'



شکل ۵. اثر ۱- متیل سیکلوپروپان بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'

بیشترین مقدار آنتوسیانین‌های گلبرگ را در روز دوازدهم بعد از اعمال تیمار داشت. براساس آزمون LSD، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل سیکلوپروپان نداشت، درحالی‌که این تفاوت در سطح احتمال یک درصد با تیمار شاهد و ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل سیکلوپروپان معنی‌دار بود (شکل ۳).



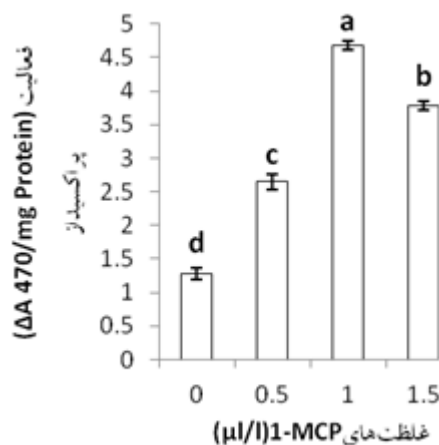
شکل ۳. اثر ۱- متیل سیکلوپروپان بر مقدار آنتوسیانین گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'

اثرات مثبت ۱- متیل سیکلوپروپان در ممانعت از عمل اتیلن خارجی، به تأخیر انداختن پیری و در نتیجه حفظ pH مناسب سلول عامل حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی آنتوسیانین‌ها بود. گل‌های لاله سیام تیمار شده با ۱- متیل سیکلوپروپان به مدت هشت ساعت حداکثر مقدار آنتوسیانین‌ها را تا روز دوازدهم از عمر انباری داشتند [۱۰]. به طور معمول، تخریب رنگدانه‌های آنتوسیانین بعد از برداشت به دلیل از بین رفتن عملکرد غشاء پراکته‌هاست [۱۸ و ۱۹]. ثابت ماندن آنتوسیانین‌ها ممکن است به این دلیل باشد که ۱- متیل سیکلوپروپان می‌تواند آسیب به غشاء را در محصولات تازه کاهش دهد [۱۷]. بنابراین کاربرد تجاری ۱- متیل سیکلوپروپان ممکن است کیفیت گل‌های میخک را تحت شرایط پس از برداشت افزایش دهد. طی

در گیاهانی که با صفر میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل سیکلوپروپان تیمار شدند سبب آسیب به سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی و کاهش فعالیت آنزیم های دفاعی گردید، درحالی که در تیمار با غلظت های مختلف ۱- متیل سیکلوپروپان به دلیل کاهش اثرات اتیلن خارجی میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت بیشتر بود.

پراکسیداز کارکردهای بیولوژیکی متفاوتی از جمله سم زدایی پراکسید هیدروژن، بیوستز لیگنین، سیگنالینگ هورمونی و پاسخ به تنش را دارد [۱۵]. کاتالاز به عنوان عامل بیولوژیکی مهمی است که عملکرد اصلی آن در فرایند متابولیسم اکسیژن فعال است و نقش مهمی در آزادسازی رادیکال های آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن و جلوگیری از تشکیل رادیکال های هیدروکسیل دارد [۳۶]. سوپراکسید دیسموتاز از جمله سوپراکسید دیسموتاز مس- روی، سوپراکسید دیسموتاز منگنز و سوپراکسید دیسموتاز برون سلولی نقش مهمی در مهار سوپراکسید دارند [۲۶]. در واقع پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در نگهداری تعادل متابولیسم اکسیژن در بافت گیاهی نقش دارند [۴۱]. اکسیژن فعال باعث پراکسیداسیون لیپید و خسارت به غشای سلول و در نهایت پیری می شود و ۱- متیل سیکلوپروپان توانایی تأثیر بر فعالیت آنزیم هایی که اکسیژن فعال را حذف می کنند، دارد [۲۳].

مطابق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، افزایش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانتی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز) گلچه های گلیول تیمار شده با ۱- متیل سیکلوپروپان دیده شده است. به نظر می رسد این تیمار تنش های اکسیداتیو در گل های شاخه بریدنی را کاهش می دهد [۱۶]. به عبارت دیگر، فعالیت این آنزیم ها به عنوان عاملی برای حفاظت سلول ها در برابر تنش های اکسیداتیو است [۴۰]. قابل ذکر است که حتی اگر سطوح اتیلن در پاسخ به ۱- متیل سیکلوپروپان کاهش یابد، فعالیت



شکل ۶. اثر ۱- متیل سیکلوپروپان بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'

همچنین، تیمار ۱- متیل سیکلوپروپان با غلظت یک میکرولیتر بر لیتر بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشت که براساس آزمون LSD تفاوت معنی داری در سطح احتمال یک درصد با سایر تیمارها داشت.

حفظ سطوح فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت در این آزمایش به واسطه کاهش تنش های اکسیداتیو توسط ۱- متیل سیکلوپروپان بود، جلوگیری از عمل و تولید اتوکاتالیزور اتیلن توسط ۱- متیل سیکلوپروپان و در نهایت جلوگیری از افزایش تنفس و دمای ناشی از آن باعث ایجاد شرایط دمایی مناسب جهت انجام فعالیت آنزیم های گیاهی گردید. فرآیند پیری گلبرگ با تغییرات متابولیکی و فیزیولوژیکی همراه است که منجر به مرگ گلبرگ می شود. پیری توسط بیان مجموعه ای از ژن های مرتبط با پیری آغاز می شود و در سطح متابولیکی به صورت فرآیندهایی اکسیداتیو متجلی گشته و اغلب فرآیندهای کاتابولیکی درگیر در پیری به طور غیرقابل برگشت افزایش می یابند [۶].

در غشاهای میکروسومال میخک مقدار زیادی سوپراکسید در طول پیری تولید می شود [۲۵]. در این آزمایش نیز افزایش رادیکال های آزاد ناشی از تنش اتیلن

اثر ۱- متیل سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک 'گرند اسلم'

- Characterization of ethylene-induced organ abscission in F₁ breeding lines of miniature roses (*Rosa hybrida* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 52: 260-266.
3. Asil MH, Karimi M and Zakizadeh H (2013) 1-MCP improves the postharvest quality of cut spray carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) 'Optima' flowers. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 54(1): 58-62.
 4. Barth C, De Tullio M and Conklin PL (2006) The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. *Journal of Experimental Botany*. 57(8): 1657-1665.
 5. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
 6. Buchanan-Wollaston V (1997) The molecular biology of leaf senescence. *Journal of Experimental Botany*. 48(2): 181-199.
 7. Cakmak I and Horst WJ (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*. 83: 463-468.
 8. Cameron AC and Reid MS (2001) 1-MCP blocks ethylene-induced petal abscission of *Pelargonium peltatum* but the effect is transient. *Postharvest Biology and Technology*. 22: 169-177.
 9. Chance B and Maehly A (1955) Methods in enzymology. SP Colowick, NO Kaplan, Eds. 2: 764 pp.
 10. Chutichudet P, Chutichudet B and Boontiang K (2010b) Effect of 1-MCP fumigation on vase life and other postharvest qualities of siam tulip (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) cv. laddawan. *International Journal of Agricultural Research*. 5(1): 1-10.
- آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش خواهد یافت. همچنین، افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبرگ‌های گل‌های گلدانی میخک رقم 'لایلیک آن پرپل' تیمار شده با ۱- متیل سیکلوپروپان مشاهده گردید. تیمار ۱- متیل سیکلوپروپان سبب کاهش پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های سوپراکسید (آنیون پراکسید) در مقایسه با گیاهان شاهد شد [۲۰] که این کاهش ممکن است ناشی از سطوح پایین تولید اتیلن و مهار پراکسید هیدروژن و آنیون پراکسید توسط آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز باشد [۲۲].
- در مارچوبه^۲ (*Asparagus officinalis*) ۱- متیل سیکلوپروپان از طریق تأثیر بر بیوسنتز، انتقال سیگنال و عمل اتیلن پیری را به تأخیر می‌اندازد، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز نیز می‌توانند از تشکیل اتیلن جلوگیری کنند [۳۹]. تیمار ۱- متیل سیکلوپروپان قادر به تأخیر در پیری و افزایش عمر گلجایی از طریق حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل شاخه بریدنی میخک رقم 'گرند اسلم' است. ماده ۱- متیل سیکلوپروپان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از عمل اتیلن خارجی و تنش‌های زیستی در گل‌های شاخه‌بریدنی جلوگیری کرده است و فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در سطوح مطلوب حفظ کرده است.

منابع

1. Ahmadi N, Mibus H and Serek M (2008) Isolation of an ethylene induced putative nucleotide laccase in miniature roses (*Rosa hybrida* L). *Journal of Plant Growth Regulation*. 27: 320-330.
2. Ahmadi N, Mibus H and Serek M (2009)
 1. Lilac on purple
 2. *Asparagus officinalis*

11. Daneshi Nergi MA and Ahmadi N (2014) Effects of 1-MCP and ethylene on postharvest quality and expression of *senescence*-associated genes in cut rose cv. Sparkle. *Scientia Horticulturae*. 166: 78-83.
12. Djanaguiraman M, Prasad P and Al-Khatib K (2011) Ethylene perception inhibitor 1-MCP decreases oxidative damage of leaves through enhanced antioxidant defense mechanisms in soybean plants grown under high temperature stress. *Environmental and Experimental Botany*. 71(2): 215-223.
13. Ebeles FB, Morgan PW and Saltveit ME (1992) Ethylene in plant biology. 2nd ed. Academic press, NewYork.
14. Francis FJ (1989) Food colorant. Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 28: 273-314.
15. Gao C, Wang Y, Liu G, Wang C, Jiang J and Yang C (2010) Cloning of ten peroxidase (POD) genes from *Tamarix hispida* and characterization of their responses to abiotic stress. *Plant Molecular Biology Reporter*. 28(1): 77-89.
16. Hassan F and Ali E (2014) Protective effects of 1-methylcyclopropene and salicylic acid on senescence regulation of gladiolus cut spikes. *Scientia Horticulturae*. 179: 146-152.
17. Hershkovitz V, Saguy SI and Pesis E (2005) Postharvest application of 1-MCP to improve the quality of various avocado cultivars. *Postharvest Biology and Technology*. 37(3): 252-264.
18. Jiang YM and Chen F (1995) A study on polyamine change and browning of fruit during cold storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *Postharvest Biology and Technology*. 5(3): 245-250.
19. Jiang Y, Duan X, Joyce D, Zhang Z and Li J (2004) Advance in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. *Food Chemistry*. 88(3): 443-446.
20. Karimi M (2014) Change in ethylene production and ACC content of potted carnation in response to anti-ethylene treatments. *International Journal of Biosciences*. 4(8): 116-123.
21. Krizek DT, Kramer GF, Upadhyaya A and Mirecki RM (1993) UV-B response of cucumber seedlings grown under metal halide and high pressure sodium/deluxe lamps. *Physiologia Plantarum*. 88: 350-358.
22. Larrigaudiere C, Vilaplana R, Soria Y and Recasens I (2004) Oxidative behaviour of Blanquilla pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84(14): 1871-1877.
23. Li Z, Wang L, Wang W and Zhu Y (2007) Physiological effect and application of 1-MCP on delaying fruit senescence. *Plant Physiology Communications*. 43: 201-206.
24. Ma N, Tan H, Liu X, Xue J, Li Y and Gao J (2006) Transcriptional regulation of ethylene receptor and CTR genes involved in ethylene-induced flower opening in cut rose (*Rosa hybrida*) cv. Samantha. *Journal of Experimental Botany*. 57(11): 2763-2773.
25. Mayak S, Legge RL and Thompson JE (1983) Superoxide radical production by microsomal membranes from senescing carnation flowers: an effect on membrane fluidity. *Phytochemistry*. 22(6): 1375-1380.
26. Miao L and St Clair DK (2009) Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 47(4): 344-356.
27. Richardson AD, Duigan SP and Berlyn GP (2002) An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*. 153: 185-194.

28. Sahebamei H, Abdolmaleki P and Ghanati F (2007) Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension cultured tobacco cells. *Bioelectromagnetics*. 28: 42-47.
29. Seglie L, Martina K, Devecchi D, Roggero C, Trotta F and Scariot V (2011) The effects of 1-MCP in cyclodextrin-based nanosponges to improve the vase life of *Dianthus caryophyllus* cut flowers. *Postharvest Biology and Technology*. 59: 200-205.
30. Serek M, Jones RB and Reid MS (1994) Role of ethylene in opening and senescence of *Gladiolus* sp. flowers. *Journal American Society for Horticultural Science*. 119: 1014-1019.
31. Serek M, Praducki A and Sisler EC (1998). Inhibitors of ethylene action affect final quality and rooting of cuttings before and after storage. *HortScience*. 33: 153-155.
32. Serek M and Sisler EC (2001) Efficacy of inhibitors of ethylene binding in improvement of the postharvest characteristics of potted flowering plants. *Postharvest Biology and Technology*. 23: 161-166.
33. Singh K (1994) Effects of spermidine, IAA, ACC and ethylene on petal longevity in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Phyton*. 34: 309-313.
34. Singh H, Hallan V, Raikhy G, Kulshrestha S, Sharma M, Ram R, Garg I and Zaidi A (2005) Characterization of an Indian isolate of carnation mottle virus infecting carnations. *Current Science*. 88: 594-601.
35. Staskawicz BJ, Ausubel FM, Baker BJ, Ellis JG and Jones JD (1995) Molecular genetics of plant disease resistance. Science-New York Then Washington. Pp. 661-661.
36. Spanou CI, Veskoukis AS, Stagos D, Liadaki K, Aligiannis N, Angelis A, Skaltsounis AL, Anastasiadi M, Haroutounian SA and Kouretas D (2012) Effects of Greek legume plant of extracts on xanthine oxidase, catalase and *superoxide dismutase* activities. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 68(1): 37-45.
37. Yang SF and Hoffman NE (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 35: 155-189.
38. Zhang Z, Pang X, Ji Z and Jiang Y (2001) Role of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. *Food Chemistry*. 75(2): 217-221.
39. Zhang P, Zhang M, Wang S and Wu Z (2012) Effect of 1-methylcyclopropene treatment on green asparagus quality during cold storage. *International Agrophysics*. 26(4): 407-411.
40. Zhou Q, Ma C, Cheng S, Wei B, Liu X and Ji S (2014) Changes in antioxidative metabolism accompanying pitting development in stored blueberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 88: 88-95.
41. Xie M, Zhang J and Xie J (2003) Relationships between some physio-biochemical changes and *senescence* during storage in bitter gourd. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*. 24(4): 716-719.