

ارزیابی محتوای نسبی آب، پراکسیداسیون لیپیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل شاخه بریده مریم (رقم پر پر) در پاسخ به کاربرد ملاتونین

خانی شاکرمی^۱، بهمن زاهدی^{۱*}، عبدالحسین رضایی نژاد^۱، صادق موسوی فرد^۱ و محمد حسین عظیمی^۲
^۱گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران، ^۲گروه ژنتیک و به نژادی، پژوهشکده گل و گیاهان زینتی، محلات، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۴/۱۹)

چکیده

گل مریم یکی از گل‌های پیازی معطر در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر ملاتونین روی برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی گل شاخه بریده مریم، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۱۵ شاخه گل در هر تکرار اجرا شد. ملاتونین (در غلظت‌های صفر و ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر به مدت چهار ساعت) به صورت پیش تیمار استفاده شد. تیمار ملاتونین مانع کاهش محتوای آب نسبی، مانع افزایش نشت الکترولیت و میزان مالون‌دی‌آلدهید در بافت‌ها (برگ و گلبرگ‌ها) نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین ملاتونین باعث افزایش میزان آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در روز ششم نگهداری گل‌ها نسبت به روزهای سوم و صفر شد. فعالیت پراکسیداز در تیمار شاهد و در روزهای سوم و ششم کاهش نشان داد. در حالی که در تیمار ملاتونین فعالیت این آنزیم افزایش یافت. میزان کاتالاز بافت‌ها در روز سوم دوره نگهداری افزایش و در روز ششم کاهش نشان داد. با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که ملاتونین احتمالاً در کاهش تنش‌های اکسیداتیو و کاهش اکسیداسیون لیپید کمک کرده و باعث تاخیر در مرحله پیری در گل مریم شود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مالون‌دی‌آلدهید، محتوای آب نسبی، ملاتونین، نشت یونی.

مقدمه

گل‌های شاخه بریده بعد از گلایل و رز مقام سوم را دارد (آزادی و همکاران، ۱۳۹۷). کشت و کار آن در استانهای خوزستان، اصفهان، مرکزی و تهران (وضعیت اقلیمی بسیار مناسب) انجام می‌شود (شور و همکاران، ۱۳۸۹. علیپور و همکاران، ۱۳۹۳).

کیفیت ظاهری، رنگ سفید، عطر، باز شدن گلچه‌ها و عمر گلجائی بالا از عوامل کلیدی در انتخاب گل مریم توسط مصرف کننده است (اکبری و تهرانی فر، ۱۳۸۸). گل مریم در زمان برداشت دارای تعداد محدودی گلچه‌های باز می‌باشد، بنابراین پس از برداشت، باز شدن گلچه‌های بسته در گل آذین

گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) متعلق به خانواده خنجری سانان (Agavaceae)، بومی مکزیک، گل آذین خوشه‌ای و از گل‌های پیازی معطر در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌باشد. در جنس پولیانتیس ۱۳ گونه وجود دارد که تنها گونه توپروسا به عنوان گل شاخه بریده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Dole and Wilkins, 1999). گل مریم علاوه بر ارزش زینتی در صنایع دارویی و آرایشی بهداشتی هم کاربرد دارد (Barba-Gonzalez et al., 2012). این گیاه در مقیاس وسیعی از آسیا کشت می‌شود. از نظر بیش‌ترین میزان تولید در بین

سالیسیلیک، اسید آسکوربیک و ساکارز (Asif et al., 2016) در جهت افزایش عمر گلجایی گل شاخه بریده مریم استفاده شده‌اند. امروزه استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، جهت حفظ و افزایش کیفیت گل‌ها کاربرد بسیاری پیدا کرده است و یکی از این هورمون‌ها می‌تواند ملاتونین باشد.

ملاتونین (N-acetyl-5-methoxytryptamine)، یک ایندول امین طبیعی است و از نظر ساختاری با ترکیبات مهم دیگر مثل تریپتوفان، ایندول استیک اسید، سروتونین و غیره مرتبط است. ملاتونین ابتدا در سال ۱۹۵۸ در غده صنوبری توسط Lerner و همکارانش کشف شد و به نظر می‌رسید منحصر به حیوانات است، اما مطالعات در مورد وجود ملاتونین در گیاهان از سال ۱۹۹۵ شروع و نشان داده شد که به طور گسترده‌ای در سلسله گیاهی هم وجود دارد (Gao et al., 2016; Zhang et al., 2018). ملاتونین نقش‌های فیزیولوژیکی متنوعی در گیاهان انجام می‌دهد. از جمله به عنوان نشانگر تاریکی، تنظیم کننده رشد گیاهی، خشی سازی رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یا غیرآنزیمی، جلوگیری از غیر فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان درون سلولی، مهار تولید رادیکال‌های آزاد، خاصیت جاروب کنندگی (خاصیت آنتی‌اکسیدانی) رادیکال‌های آزاد (گونه‌های اکسیژن فعال و نیتروژن، رادیکال هیدروکسیل، رادیکال اکسیژن، رادیکال پروکسیل، پراکسید هیدروژن، آنیون پروکسی نترات و اکسید نیتریک) به منظور حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو درونی و محیطی، محرک (Promoter) رشد، محرک ریشه‌دهی، عامل ریشه دهی، تاخیر در پیری و حفاظت سلولی (Cytoprotection) (Tan et al., 2010; Arnao, 2014). شواهد نشان می‌دهد که تنش‌های محیطی باعث افزایش ملاتونین در گیاهان می‌شوند و کاربرد ملاتونین می‌تواند باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیر زنده شود. گیاهان قادرند ملاتونینی که به صورت برون‌زای استعمال شده را برای سنتز درون سلولی، در بافت‌های خود ذخیره کنند. کاربرد ملاتونین بستگی به غلظت آن دارد به طوری که در خردل وحشی غلظت پایین (۰/۱ میلی مول)

و کاربرد ترکیبات کند کننده فرآیند پیری از اهمیت زیادی برخوردارند (Davis, 1988). محصولات گیاهی پس از برداشت هنوز زنده‌اند و تنفس و تعرق را ادامه داده (مصرف مواد ذخیره شده) اما فتوسنتز مختل شده در نتیجه این محصولات پس از برداشت به سمت زوال و پیری گرایش دارند (راحی، ۱۳۸۹).

حفظ کیفیت و توسعه عمر گلجایی گل‌های شاخه بریده، زمینه‌های مهم در تحقیقات گلکاری است (جعفرخانی کرمانی و همکاران، ۱۳۸۷). پیری در گل‌های بریده به وسیله عوامل متعددی از جمله تنش آبی، فرآیندهای اکسیداتیو، کاهش کربوهیدرات‌ها، وجود میکروارگانیسم، تولید اتیلن و غیره تسریع می‌شود. پیری گل‌ها بعد از برداشت یکی از محدودیت‌های عمده در بسیاری از گل‌های شاخه بریده است و هر عاملی که فرآیندهای تخریبی و فیزیولوژیکی را غیر فعال یا آنها را به تأخیر اندازد، می‌تواند سبب بهبود عمر گلجایی گل‌های شاخه بریده گردد (مشاهیری و حسن‌پور اصیل، ۱۳۹۶). علی‌پور و همکاران، (۱۳۹۳). از لحاظ تغییرات متابولیک، پیری در نتیجه انجام فرآیندهای اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن اتفاق می‌افتد (Taiz and Zeiger, 2010). گونه‌های فعال اکسیژن یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های مرگ برنامه ریزی شده سلول و پیری در گیاهان هستند (Zhang et al., 2016; Zhang et al., 2018; Gao et al., 2016). تا کنون تیمارهای مختلف پس از برداشت از جمله کاربرد اسید جیبرلیک و بنزیل آدنین (شور و همکاران ۱۳۸۴، خیری و همکاران، ۱۳۹۰)، کاربرد محلول‌های نگهدارنده از قبیل تیوسولفات نقره، اسید سیتریک، نترات نقره و ساکارز (جوکار و صالحی، ۱۳۸۵)، سدیم نیتروپروساید یا نانو سیلور (علی‌پور و همکاران، ۱۳۹۳)، اسید سالیسیلیک و تیمین (باباربیع و همکاران، ۱۳۹۷)، اسید جیبرلیک و تیوسولفات نقره (Abbasi and Asil, 2011)، اسید هیومیک و نانو سیلور (Beni et al., 2013)، نانو سیلور و ساکارز (Bahrehmand et al., 2014)، محلول‌های نگهدارنده مثل ساکارز، نترات نقره، هیپوکلرید سدیم، هیدروکسی کینولین سولفات و اسید سیتریک (Naznin et al., 2015) و اسید

تامین ATP کافی درون سلولی، که از طریق فعالیت آنزیم‌های Cytochrome c oxidase (CCO)، Ca-ATPase، H-ATPase و سوکسینات دهیدروژناز (SDH) که در طی نگهداری در انبار سرد تولید می‌شوند، باشد. با توجه به پژوهش Aghdam و همکاران (۲۰۱۹) در مورد اثر ملاتونین در پس از برداشت گل آنتوریوم بیان شد که کاربرد ملاتونین باعث کاهش خسارت سرمزدگی در گل‌های شاخه بریده آنتوریوم در طی نگهداری در انبار سرد می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که ملاتونین ممکن است در تنظیم پیری گیاه شرکت کند. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات کاربرد ملاتونین در عمر پس از برداشت گل مریم در شرایط معمولی است.

مواد و روش‌ها

آزمایش اولیه‌ای با هدف بررسی بهترین غلظت ملاتونین در پنج سطح (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) و سه زمان (۲، ۴ و ۶ ساعت) به صورت تیمار ضربانی (Pulse-treatment) بر عمر گلجایی و خصوصیات پس از برداشت گل مریم انجام شد. نتایج نشان داد که بهترین غلظت برای افزایش عمر گلجایی ۲۵۰ میکرومولار به مدت ۴ ساعت است. بنابراین، غلظت مذکور انتخاب و برای این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت (داده‌ها گزارش نشده‌اند).

این آزمایش در پژوهشکده ملی گل و گیاهان زینتی (محلات) در سال ۱۳۹۷ و به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و پانزده شاخه گل در هر تکرار اجرا شد. تیمارها شامل ملاتونین در دو سطح (۰ و ۲۵۰ میکرومولار) به مدت ۴ ساعت و رقم پرپر گل مریم استفاده شد. گل‌های مریم مورد نیاز این آزمایش، اوایل صبح و در مرحله‌ای که دو گلچه پایینی باز شده بودند برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه پس از برداشت پژوهشکده ملی گل و گیاهان زینتی انتقال یافتند در آزمایشگاه ابتدا چند سانتی‌متر پایین شاخه‌ها در زیر آب قطع گردید سپس درون سطل آب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت شش ساعت نگهداری شده تا به حداکثر محتوای آب نسبی برسند. بعد از آن تمام شاخه‌ها به طول ۶۰ سانتی‌متر برش داده شدند

باعث تحریک رشد ریشه و غلظت بالای آن (۱۰۰ میلی مول) بازدارنده رشد است. ملاتونین یک مولکول آب دوست و آب گریز (Amphiphatic) است و به راحتی از غشای سلول وارد سیتوپلاسم و فضای زیر سلولی می‌شود (Zhang et al., 2015).

نقش احتمالی ملاتونین در ارتباط با پیری برگ توسط Arnao و Hernandez-Ruiz (۲۰۰۹) مورد بررسی قرار گرفت و بیان کردند که تیمار برگ‌های گیاه جو در تاریکی با ملاتونین منجر به تأخیر در پیری برگ و کاهش تخریب کلروفیل می‌شود. مطالعات Wang و همکاران (۲۰۱۳) و Shi و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که حفاظت از کلروفیل، شامل کنترل پیری در برگ‌های سیب با میانجیگری ملاتونین ایجاد شده است. در بررسی خسارت گونه‌های فعال اکسیژن به کلروپلاست، محققین تصور می‌کنند که ملاتونین ممکن است تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کرده و در نتیجه تخریب کلروفیل کاهش یافته و فرآیند پیری به تأخیر بی‌افتد (Gao et al., 2016). Wang و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند که کاربرد ملاتونین بیان ژن‌های تخریب کننده کلروفیل [Senescence-associated pheide a oxygenase (PaO) و SAG 12] gene را متوقف کرده و همچنین باعث افزایش چرخه اسید آسکوربیک و گلوکاتیون می‌شود در نتیجه موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و تأخیر در پیری برگ‌های درخت سیب می‌شود. علاوه بر این، نتایج تحقیقات مبتنی بر متابولومیک و پروتئومیک توانایی ملاتونین در تأخیر پیری برگ را نشان داد (Wang et al., 2014).

بر اساس مطالعه Aghdam و Fard (۲۰۱۶) تیمار ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر ملاتونین منجر به کاهش پوسیدگی در میوه‌های توت‌فرنگی (در اثر تجمع پراکسید هیدروژن و افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) شد. مطالعه انجام شده توسط Jannatizadeh و همکاران (۲۰۱۹) در مورد کاربرد ملاتونین در پس از برداشت میوه گوجه‌فرنگی در طی نگهداری در انبار سرد نشان داد که کاهش آسیب‌های سرمزدگی در میوه‌های گوجه‌فرنگی در پاسخ به کاربرد ملاتونین ممکن است در اثر

بلافاصله توزین گردیدند و بدین ترتیب وزن تورژسانس آنها ثبت شد. سپس نمونه‌ها در آون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند و دوباره توزین گردیدند و وزن خشک آنها ثبت شد. مقدار آب نسبی برگ برحسب درصد و با استفاده از فرمول زیر بدست آمد.

$$RWC\% = [(W_f - W_d) / (W_t - W_d)] \times 100$$

W_d : وزن خشک برگ، W_t : وزن تورژسانس برگ و W_f : وزن تازه برگ

سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: برای سنجش آنزیم کاتالاز (CAT) از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) استفاده شد. سه دهم گرم نمونه (برگ و یا گلبرگ) با ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم هموژن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۴۰۰ میکرولیتر بافر و ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه با ۳۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (uv-1800 spectrophotometer) قرائت شد. میزان فعالیت بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{میزان فعالیت کاتالاز} = [(A_{100} - A_{40}) \times V_t] / E \times V_s$$

$A_{100} - A_{40}$: اختلاف میزان جذب در ثانیه ۱۰۰ و ۴۰ در طول موج ۲۴۰ نانومتر، V_t : حجم کل نمونه داخل کووت، E : ضریب خاموشی H_2O_2 و V_s : حجم روشناور.

سنجش آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase (APX): فعالیت این آنزیم با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. یک دهم گرم نمونه (برگ و یا گلبرگ) با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر هموژن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج بدون اسید آسکوربیک و ۳۰۰ میکرولیتر بافر محتوی اسید آسکوربیک و ۳ میکرولیتر آب اکسیژنه با ۵۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (uv-1800 spectrophotometer) قرائت شد. میزان فعالیت بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

و از نظر طول هم اندازه شدند سپس برگ‌های پایینی حذف شدند و پس از توزین در ظروف ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی آب مقطر قرار داده شدند. برای جلوگیری از تبخیر سطحی و تجزیه نوری دهانه ظروف با فویل آلومینیومی مسدود شد. بررسی صفات مورد نظر در روزهای صفر، سه و شش انجام شد. دمای آزمایشگاه 18 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد و شدت نور ۱۰ میلی‌مولار بر متر مربع در ثانیه تأمین شد. در این آزمایش شاخص‌های فیزیولوژیکی (نشت یونی و محتوای آب نسبی) و بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدئید) مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده‌های حاصل از آزمایش با کمک نرم افزارهای آماری Excel و GraphPad.Prism.8 انجام شد.

اندازه‌گیری میزان نشت یونی (Electrolyte leakage (EL): نشت یونی با روش Promyou و همکاران (۲۰۱۲) مورد ارزیابی قرار گرفت. ۱۰ عدد دیسک به قطر ۱۵ میلی‌متر با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن از برگ‌ها و گلبرگ‌های ۳ شاخه گل جدا و پس از شستن با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل ۵۰ میلی‌لیتر محلول چهار دهم مولار مانیتول قرار گرفت و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به مدت سه ساعت به هم زده شد و سپس هدایت الکتریکی محلول (L_1) اندازه‌گیری گردید. سپس محلول به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شده و هدایت الکتریکی آن (L_2) اندازه‌گیری گردید. نشت یونی بر اساس نسبت L_1 به L_2 و بر اساس درصد بیان گردید.

اندازه‌گیری محتوای آب نسبی (Relative water content (RWC): مقدار آب نسبی برگ بر اساس روش Sanchez و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. برای اندازه‌گیری این شاخص، از هر شاخه‌ی گل سه برگ انتخاب و از هر برگ و یا گلبرگ یک دیسک به قطر ۱۵ میلی‌متر با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن تهیه شد. نمونه‌های گیاهی پس از توزین در داخل ویال‌های آب به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از این مدت نمونه‌ها از آب بیرون آورده شدند و پس از قرار دادن روی کاغذ واتمن

مالون‌دی‌آلدهید برحسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$\text{MDA} = 6.45(\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56(\text{OD}_{450})$$

OD: میزان جذب در طول موج مورد نظر

نتایج

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، محتوای آب نسبی بافت‌ها (برگ و گلبرگ‌ها) از روز صفر تا روز ششم روند کاهشی نشان داد اما این تغییرات در تیمار ملاتونین نسبت به تیمار شاهد آهسته‌تر صورت گرفت. بیش‌ترین درصد محتوای آب نسبی برگ‌ها و گلبرگ‌ها به ترتیب در روز صفر (۸۷/۶)، (۸۹/۶) و کم‌ترین آن در روز ششم (۷۳/۷)، (۷۳/۹) در تیمار شاهد بود. اختلاف بین میانگین‌ها در روز سوم و ششم معنی‌دار بود و تیمار ملاتونین در همین روزها نسبت به تیمار شاهد بیش‌تر بود (شکل ۱ A, B).

میانگین داده‌ها نشان داد که تغییرات نشت یونی (نشت الکترولیت) تحت تاثیر کاربرد ملاتونین قرار گرفتند. ملاتونین باعث شد که نشت یونی در برگ‌ها در روزهای سوم و ششم افزایش پیدا نکند در حالیکه در تیمار شاهد نشت الکترولیت افزایش یافت. همچنین نشت یونی گلبرگ‌ها در تیمار ملاتونین و شاهد در روزهای سوم و ششم افزایش یافت اما این افزایش در تیمار ملاتونین نسبت به تیمار شاهد کم‌تر بود (شکل ۲ A, B). میانگین نشت یونی در برگ‌ها نسبت به گلبرگ‌ها دارای درصد کم‌تری بود. اختلاف بین تیمارها، در روزهای سوم و ششم معنی‌دار بود.

محتوای مالون‌دی‌آلدهید الگوهای مشابهی را در برگ و گلبرگ‌ها نشان داد. اختلاف بین میانگین مالون‌دی‌آلدهید در روز سوم و ششم در تیمار ملاتونین و شاهد معنی‌دار بود. با این حال میزان مالون‌دی‌آلدهید در طی روزهای آزمایش در تیمار ملاتونین و شاهد به طور پیوسته افزایش نشان داد (شکل ۳ A, B).

نتایج نشان داد که تیمار ملاتونین اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز برگ و گلبرگ‌ها دارد. فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ‌ها و گلبرگ‌ها

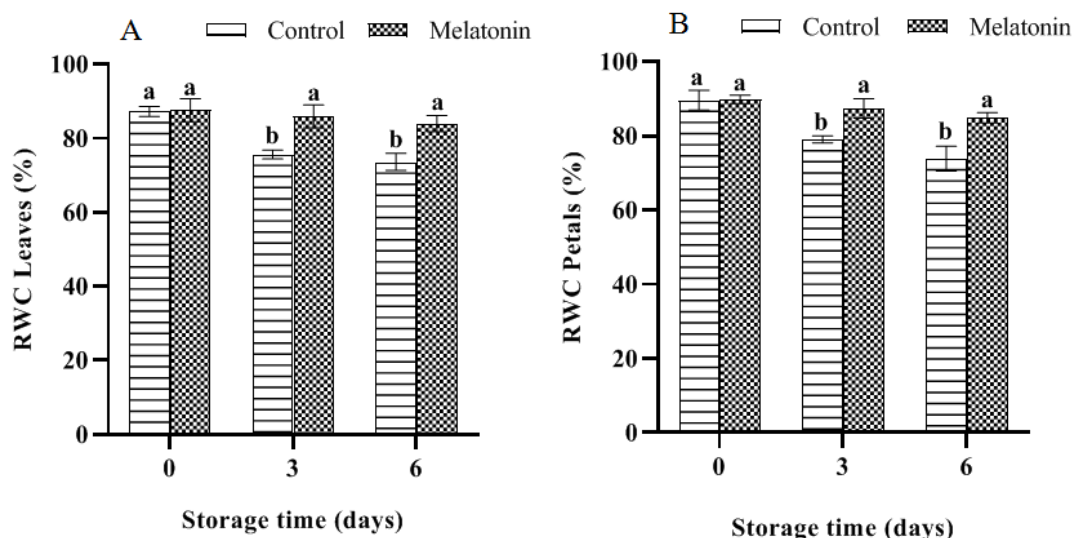
$[(A_{100} - A_{40}) \times Vt] / E \times Vs$ = میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز
 $A_{100} - A_{40}$: اختلاف میزان جذب در ثانیه ۱۰۰ و ۴۰ در طول موج ۲۹۰ نانومتر، Vt : حجم کل نمونه داخل کووت، E : ضریب تحزیه آسکوربات و Vs : حجم روشناور.

سنجش پراکسیداز Peroxidase (POD): برای استخراج آنزیم پراکسیداز از روش MacAdam و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. سه دهم گرم نمونه (برگ و یا گلبرگ) با ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر هموزن شد. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. ۱۲۰۰ میکرولیتر بافر و ۵۰ میکرولیتر آب اکسیژنه و ۵۰ میکرولیتر گایاکول با ۵۰ میکرولیتر از روشناور در طول موج ۴۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (uv-1800 spectrophotometer) قرائت شد. میزان فعالیت بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

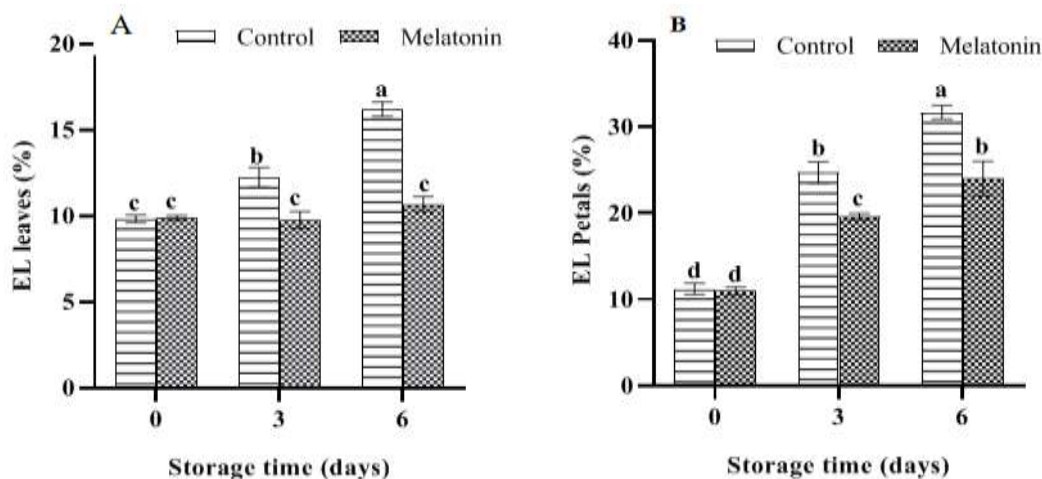
$$[(A_{100} - A_{40}) \times Vt] / E \times Vs = \text{میزان فعالیت پراکسیداز}$$

$A_{100} - A_{40}$: اختلاف میزان جذب در ثانیه ۱۰۰ و ۴۰ در طول موج ۴۷۵ نانومتر، Vt : حجم کل نمونه داخل کووت، E : ضریب خاموشی گایاکول و Vs : حجم روشناور.

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید (MDA) Malondialdehyde: اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از تیوباریتوریک اسید به عنوان معرف و بر اساس روش Wang و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد. بدین منظور یک گرم از بافت گیاه (برگ و یا گلبرگ) با استفاده از نیتروژن مایع و در هاون چینی خرد شد، و سپس ۵ میلی لیتر از محلول نیم درصد تیوباریتوریک اسید (حل شده در تری کلرو استیک اسید) به آن اضافه و در فالكون ریخته شد. به منظور انجام واکنش، فالكون‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند پس از این مدت، بلافاصله با استفاده از یخ سرد شدند. مخلوط در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جذب روشناور در سه طول موج ۴۵۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (uv-1800 spectrophotometer) قرائت شد و سپس میزان



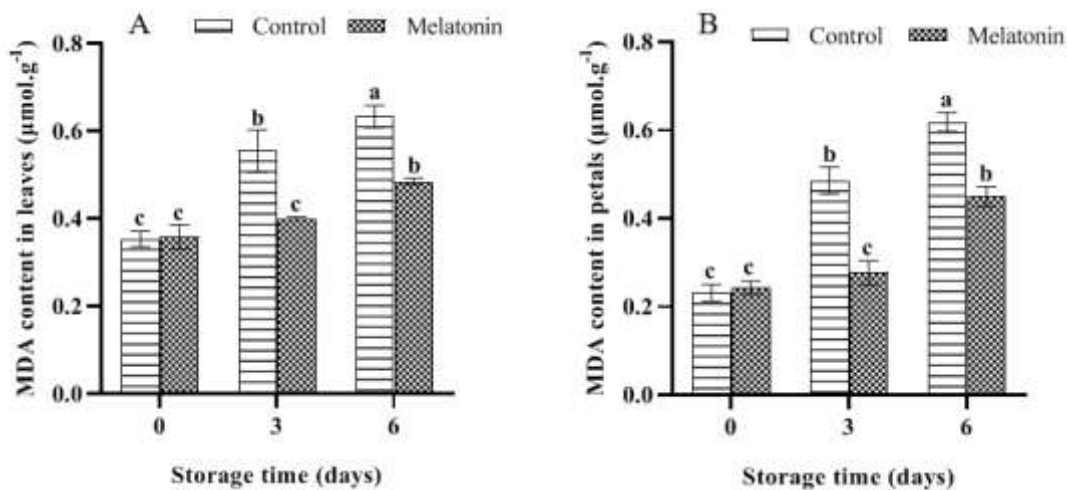
شکل ۱- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی محتوای آب نسبی برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).



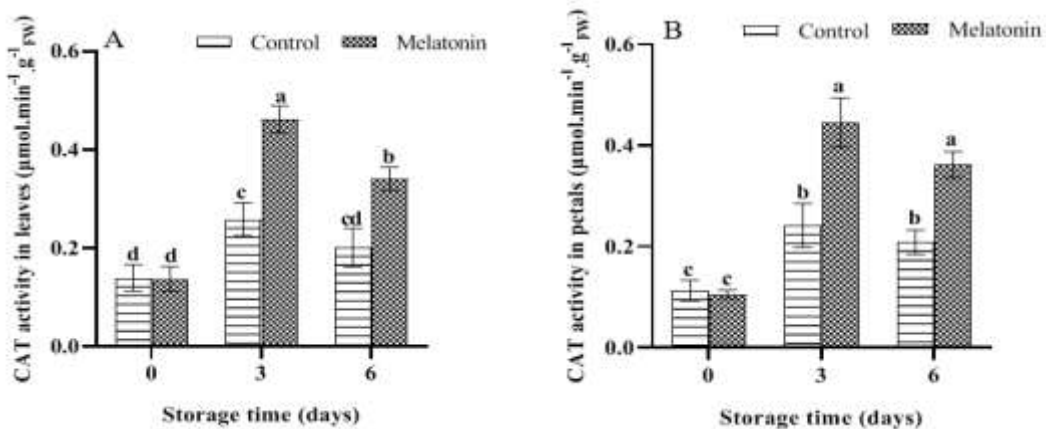
شکل ۲- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی نشت یونی برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

داد اما این افزایش در تیمار ملاتونین بیش‌تر بود. بیش‌ترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ و گلبرگ‌ها در روز ششم دوره نگهداری و کم‌ترین آنها در روز صفر بود (شکل ۵ (A,B)). روند تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ‌ها در تیمار شاهد از روز صفر تا ششم کاهش و در تیمار ملاتونین افزایش نشان داد به طوریکه بیش‌ترین فعالیت این آنزیم به ترتیب در روز ششم در تیمار ملاتونین ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)

الگوی مشابهی را نشان داد به طوریکه بیش‌ترین میزان فعالیت کاتالاز برگ‌ها و گلبرگ‌ها به ترتیب در روز سوم و در تیمار ملاتونین ($0.462\ \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$)، ($0.446\ \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) و کم‌ترین آن در تیمار شاهد و در روز صفر ($0.138\ \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) ایجاد شد (شکل ۴ (A,B)). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمارهای شاهد و ملاتونین از روز صفر تا ششم افزایش نشان



شکل ۳- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی مالون‌دی‌آلدئید برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).



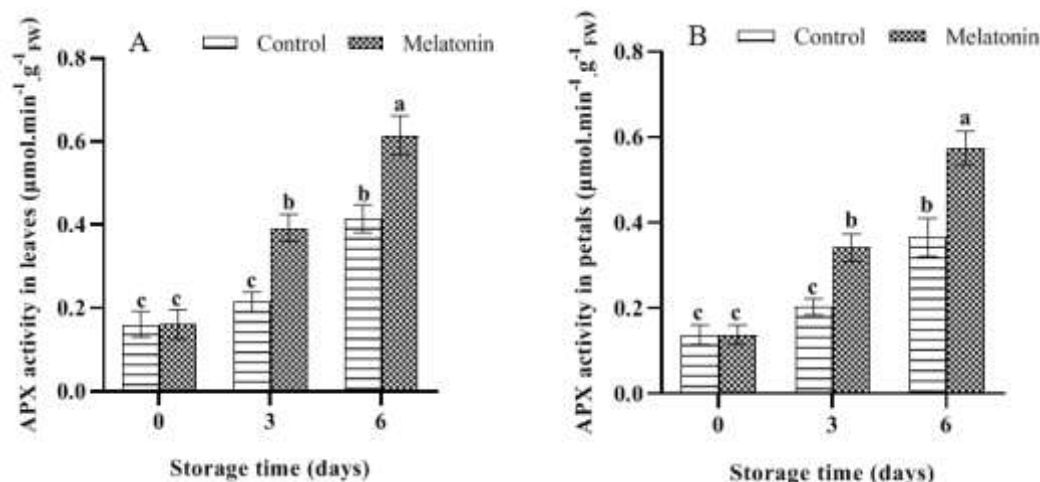
شکل ۴- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی فعالیت کاتالاز برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

فیزیولوژیکی مورد آزمایش تاثیر معنی‌داری داشت. پیری در گل‌های بریده منجر به کاهش کیفیت، پژمردگی برگ و گلبرگ و غیره می‌شود. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که تیمار با ملاتونین به طور معنی‌داری باعث افزایش محتوای آب نسبی و کاهش نشت یونی شده و باعث تاخیر در توسعه پیری گل بریده مریم در طی نگهداری در دمای 18 ± 2 درجه سانتی‌گراد می‌شود. نتایج این تحقیق با نتایج Arnao و Hernandez-Ruiz (۲۰۰۹) و Wang و همکاران (۲۰۱۲) روی گیاه جو و درخت سیب و موثر بودن ملاتونین در مورد افزایش میزان کلروفیل

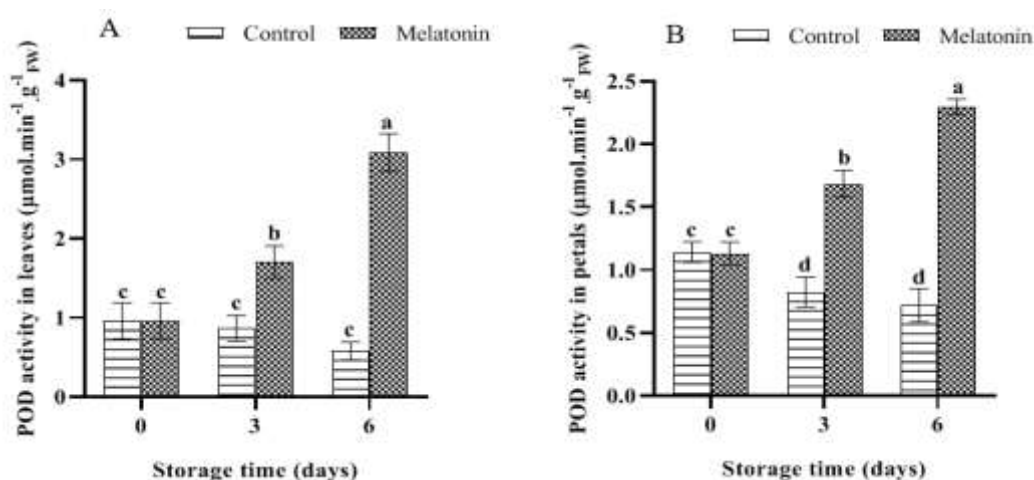
و کم‌ترین آن در تیمار شاهد ($0.58 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) (شکل A۶). تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز گلبرگ‌ها مشابه برگ‌ها بود اما بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در روز ششم در تیمار ملاتونین ($2.30 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) و کم‌ترین آن در روز سوم در تیمار شاهد ($0.69 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW}$) (شکل B۶) حاصل شد.

بحث

در این پژوهش تیمار ملاتونین بر تمامی شاخص‌های



شکل ۵- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی فعالیت آسکوربات پراکسیداز برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).



شکل ۶- A و B به ترتیب: اثر ملاتونین روی فعالیت پراکسیداز برگ و گلبرگ‌ها در گل شاخه بریده مریم نوارهای عمودی نشان دهنده میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، بر اساس آزمون LSD فاقد اختلاف معنی‌داری هستند ($P < 0.05$).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی یکی از شاخص‌های بافت‌های پیر محسوب می‌شود که یا توسط گونه‌های فعال اکسیژن و یا به وسیله آنزیم‌های اکسید کننده لیپیدها (مانند لیپوکسیژناز) کاتالیز شده و منجر به تولید لیپید هیدروپراکسیدها از اسیدهای چرب اشباع نشده، می‌شوند. لیپید هیدروپراکسیدها به طور اتوماتیک تجزیه شده و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند. رادیکال‌های آزاد می‌توانند واکنش زنجیره‌ای پراکسیداسیون لیپیدها را شروع کنند

مطابقت دارد. با این حال، کاربرد ملاتونین با غلظت ۵۰ میکرومول در لیترب به مدت ۲ ساعت، به طرز چشمگیری باعث توسعه رنگ و نرم شدن میوه گوجه‌فرنگی در مرحله سبز رسیده شد (Sun و همکاران، ۲۰۱۵). واکنش‌های متفاوت به کاربرد ملاتونین در این مطالعه و مطالعه Sun و همکاران (۲۰۱۵) احتمالاً به دلیل تفاوت گونه‌های گیاهی، مراحل بلوغ و یا شرایط مختلف تیمار (مثل غلظت و مدت زمان) باشد.

آنها، به عنوان بخشی از مکانیسم کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و تاخیر در پیری در بسیاری از محصولات باغبانی می‌باشد. به عنوان مثال، کاربرد ملاتونین به منظور تاخیر در پیری گل بریده آنتوریوم، باعث افزایش فعالیت همزمان سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود (Aghdam, 2015). نتایج ما با نتایج Wang و همکاران مطابقت دارد (۲۰۱۲) آنها بیان کردند تاخیر در پیری برگ‌های جدا شده سیب در تیمار ملاتونین، ممکن است مرتبط با سطوح پایین گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش آسکوربات پراکسیداز، مونودی هیدروآسکوربات ردوکتاز، دی هیدروآسکوربات ردوکتاز و فعالیت گلوکاتایون ردوکتاز و همچنین افزایش بیان ژن‌های کد کننده این آنزیم‌ها باشد.

علیپور و همکاران (۱۳۹۳) دریافتند که سدیم نیتروپروساید باعث فعالیت آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز (نقش اینها شرکت در جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن و مهار پراکسیداسیون لیپیدهاست) می‌شود، و به همین دلیل منجر به تاخیر در پیری گل بریده مریم می‌شود.

در این مطالعه، افزایش همزمان فعالیت پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز منجر به کاهش سطوح مالون‌دی‌آلدید در گل‌های بریده مریم تیمار شده با ملاتونین در هر دو بافت (برگ و گلبرگ) شد. این نتایج نشان می‌دهد که قرار گرفتن در معرض ملاتونین ممکن است برای حفظ تعادل متابولیسم گونه‌های فعال اکسیژن از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گل بریده مریم، که منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و تاخیر در پیری می‌شود، مفید باشد.

نتیجه‌گیری کلی

ملاتونین یکی از هورمون‌های مورد استفاده در سال‌های اخیر به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان در گیاهان می‌باشد. در این مطالعه نتایج حاصل از کاربرد ملاتونین (۲۵۰ میکرولیتر در لیتر به مدت چهار ساعت) در گل‌های بریده مریم منجر به افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش نشت الکترولیت و میزان مالون‌دی‌آلدید شد. به نظر می‌رسد که کاربرد ملاتونین احتمالاً

(Blokchina *et al.*, 2003; Shewfelt and del Rosario, 2000) مالون‌دی‌آلدید از محصولات اکسیداسیون لیپیدها است و به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها مورد استفاده قرار می‌گیرد. نشت یونی بالا و افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدید نشان دهنده آسیب به غشای سلولی است و ممکن است منجر به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن شود که این گونه‌های فعال اکسیژن باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غیر اشباع غشای سلولی می‌شوند (Aghdam, 2015). نشت الکترولیت پایین و کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدید در گل‌های بریده مریم در پاسخ به کاربرد ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر ملاتونین نشان دهنده یکپارچگی و سلامت غشاء سلولی است. پایداری غشای سلولی ممکن است با نقش مستقیم ملاتونین در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن و یا نقش غیر مستقیم آن در جلوگیری از افزایش گونه‌های فعال اکسیژن باشد. در مطالعه Ma و همکاران (۲۰۱۶) حفظ پایداری غشای سلولی در اثر غلظت پایین مالون‌دی‌آلدید ذکر شده است. ملاتونین احتمالاً در کاهش تنش‌های اکسیداتیو (به وسیله غیر فعال کردن گونه‌های فعال اکسیژن) و کاهش اکسیداسیون لیپیدهای اشباع نشده کمک می‌کند. از این رو، مقاومت لیپیدهای اشباع نشده در برابر اکسیداسیون با استفاده از کاربرد ملاتونین به ظرفیت جمع‌آوری گونه‌های فعال اکسیژن، و توانایی جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن بستگی دارد (Jannatizadeh *et al.*, 2019).

سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی یک مسیر اصلی برای کنترل تولید گونه‌های فعال اکسیژن است، بنابراین بخشی از پراکسیداسیون لیپیدها را تنظیم می‌کند. مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند. در میان آنها، سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل کرده و باعث حفاظت سلول از تنش اکسیدانت شود، در حالی که کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز آنزیم‌هایی هستند که منجر به تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شوند (Foyer, 1994; Mittler, 2002). فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نقش هماهنگ

در کاهش تنش‌های اکسیداتیو و کاهش اکسیداسیون لیپیدهای اشباع نشده کمک می‌کند. از این رو، مقاومت لیپیدهای اشباع نشده در برابر اکسیداسیون با استفاده از کاربرد ملاتونین به ظرفیت جمع آوری گونه‌های فعال اکسیژن، و توانایی جلوگیری از تولید گونه‌های فعال اکسیژن بستگی دارد.

منابع

- اکبری، ر. و تهرانی فر، ع. (۱۳۸۸) بررسی اثر دما و زمان انبارداری پیاز، روی رشد رویشی و زایشی گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی. جلد ۱۶. ۳: ۱۱۹-۱۳۳.
- آزادی، پ.، خرازی، س. م.، نالوسی، ا. و حسین پور، آ. (۱۳۹۷) آمار و اقتصاد گل و گیاهان زینتی در ایران و جهان. انتشارات تایماز، تهران.
- باباریع، م.، زارعی، ح.، بادلی، س. و ملازاده، و. (۱۳۹۷) تأثیر اسید سالیسیلیک و تیامین بر گلدهی و صفات ریخت شناختی گل شاخه بریده مریم در دو نظام آبکشتی و کشت در خاک. علوم باغبانی ایران. دوره ۴۹. ۱: ۲۴۱-۲۳۱.
- جعفرخانی کرمانی، م.، جوکار، ا. و حبشی، ع. ا. (۱۳۸۷) مروری بر روش‌های بهنژادی مدرن گل و گیاهان زینتی. ژنتیک نوین. دوره سوم، ۳: ۱۴-۵.
- جوکار، م. م. و صالحی، ح. (۱۳۸۵) تاثیر محلول‌های نگهدارنده مختلف بر عمر گلجایی گل بریده مریم گل درشت محلات. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. سال دهم. ۳: ۳۰۸-۲۹۹.
- خیری، ع.، خلیقی، ا.، مستوفی، ی. و نادری، ر. (۱۳۹۰) تأثیر غلظت‌های مختلف جیبرلین و ۶-بنزیل آدنین روی خصوصیات کمی و کیفی گل مریم رقم پرپر. مجله به زراعی کشاورزی. دوره ۱۳. ۱: ۲۰-۹.
- شور، م.، تهرانی فر، ع. و خشنود یزدی، ا. (۱۳۸۹) اثر برخی عناصر غذایی کم مصرف بر صفات کمی گل مریم رقم دابل. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۲۴. ۱: ۴۵-۵۲.
- شور، م.، خلیقی، ا.، امیدبیگی، ر. و نادری، ر. (۱۳۸۴) اثر اسید جیبرلیک و ۶-بنزیل آدنین بر روی صفات کمی گل مریم *Polianthes tuberosa* L. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. سال دوازدهم. ۳: ۴۴-۳۸.
- علیپور، س.، نصیبی، ف. و فرهنگ، ه. (۱۳۹۳) بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید (SNP) بر صفات فیزیولوژیکی و افزایش عمر گلجایی گل شاخه بریده مریم (*Polianthes tuberosa* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۷. ۵: ۹۱۴-۹۰۴.
- مشاهیری، ی. و حسن پور اصیل، م. (۱۳۹۶) بررسی اثرات اسید جیبرلیک و اسید هیومیک بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و عمر گلجایی گل شاخه بریدنی نرگس. نشریه پژوهش‌های گیاهی. جلد ۲۴. ۴: ۹۲-۷۹.
- ویلس، ر.، گلاسون، ب. م.، گراهام، د. و جويس، د. (۱۳۸۹) فیزیولوژی پس از برداشت. مقدمه‌ای بر فیزیولوژی و جابجایی میوه، سبزی‌ها و گیاهان زینتی. ترجمه راحمی، م. انتشارات دانشگاه شیراز.

- Abbasi, J. and Asil, H. M. (2011) Study on Prolonging the vase life of tuberose cut flowers (*Polianthes tuberosa* L.). South western Journal of horticulture, biology and environment 2: 157-165.
- Aghdam, M. S., Jannatizadeh, A., Nojaded, M. S. and Ebrahimzadeh, A. (2019) Exogenous melatonin ameliorates chilling injury in cut anthurium flowers during low temperature storage. Postharvest Biology and Technology 148: 184-191.
- Aghdam, M.S. and Fard, J.R. (2016) Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits *Fragaria × ananassa* cv. Selva by enhancing GABA shunt activity. Food Chem 221, 1650-1657.
- Aghdam, M.S., Naderi, R., Sarcheshmeh, M.A.A. and Babalar, M. (2015) Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ -aminobutyric acid (GABA) treatments. Postharvest Biol. Technol 110: 70-76.

- Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J. (2006) The Physiological Function of Melatonin in Plants. *Plant Signaling and Behavior* 1, 3: 89-95.
- Arnao, M.B. and Hernandez-Ruiz, J. (2013) Growth conditions determine different melatonin levels in *Lupinus albus* L. *Journal of Pineal Research* 55: 149-155.
- Asif, M., Ahmad, I., Qasim, M. and Ahmad, R. (2016) Effect of pulsing with various preservatives on postharvest performance of cut *Polianthes tuberosa* L. Single spikes. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 53, 2: 331-338.
- Bahreghmand, S., Razmjoo, J. and Farahmand, H. (2014) Effects of Nano-silver and sucrose applications on cut flower longevity and quality of Tuberose (*Polianthus tuberosa*). *International Journal of Horticultural Science and Technology* 1, 1: 67-77.
- Barba-Gonzalez, R., Rodriguez-Dominguez, J. M., Castaneda-Saucedo, M. C., Rodriguez, A., Van Tuyl, J. M. and Tapia-Campos, E. (2012) Mexican Geophytes I. The Genus *Polianthes*. *Floriculture and Ornamental Biotechnology* 122-130.
- Beni, A. M., Hatamzadeh, A., Nikbakht, A., Ghasemnezhad, M. and Zarchini, M. (2013) Improving Physiological Quality of Cut Tuberose (*Polianthes tuberosa* cv. Single) Flowers by Continues Treatment with Humic Acid and Nano-Silver Particles. *Journal of Ornamental Plants (Journal of Ornamental and Horticultural Plants)* 3, 3: 133-141.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. (2003) Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany* 91:179-194.
- Chance, B. and Maehly, A. (1955) Assay of catalases and peroxidases 2: 764-775
- Davis, P. J. (1988) Plant hormones and their role in plant growth and development. Kluwer Academic Publishers.
- Dole, J. M. and Wilkins, H. F. (1999) Floriculture principles and species. Prentice-Hall Inc.
- Foyer, C.H., Lelandais, M. and Kenert, K.J. (1994) Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92: 696-717.
- Gao, H., Zhang, Z. K., Chai, H. K., Cheng, N., Yang, Y., Wang, D. N., Yang, T., and Cao, W. (2016) Melatonin treatment delays postharvest senescence and regulates reactive oxygen species metabolism in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology* 118, 103-110.
- Jannatizadeh, A., Aghdam, M. S., Luo, Z. and Razavi, F. (2019) Impact of Exogenous Melatonin Application on Chilling Injury in Tomato Fruits During Cold Storage. *Food and Bioprocess Technology* 12, 5:741-750.
- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., and Mori, W. (1958) Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *Journal of the American Chemical Society* 80, 10. 2587-2587.
- Ma, Q., Zhang, T., Zhang, P. and Wang, Z. Y. (2016) Melatonin attenuates postharvest physiological deterioration of cassava storage roots. *Journal of Pineal Research* 60, 4: 424-434.
- MacAdam, J. W., Nelson, C. J. and Sharp, R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*. 99, 3: 872-878.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science* 7, 9: 405-410.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology* 22, 5: 867-880.
- Naznin, A., Hossain, M. M., Ara, K. A., Islam, M. M. and Mocarroma, N. (2015) Effect of different preservatives on vase life of Tuberose. *Journal of Ornamental Plants* 5, 2: 105-113.
- Posmyk, M. M., and Janas, K. M. (2009) Melatonin in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 31, 1-11.
- Promyou, S., Ketsa, S. and Doorn, W. G. V. (2012) Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology and Technology* 64: 104-110.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D. X., Reiter, R. J., Zhang, H., and Chan, Z. (2015) Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L). Pers.] by exogenous melatonin. *Journal of experimental botany* 66, 3: 681-694.
- Sanchez, F. J., Manzanares, M., de Andres, E. F., Tenorio, J. L. and Ayerbe, L. (1998) Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research* 59: 225-235.
- Shewfelt, R.L. and del Rosario, B.A. (2000) The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *HortScience* 35: 570-575.
- Sun, Q., Zhang, N., Wang, J., Zhang, H., Li, D., Shi, J., Li, R., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S. and Guo, Y. D. (2015) Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life. *Journal of Experimental Botany* 66, 3: 657-668.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology*. 5nd Ed, Sinauer Associates Inc., Sunderland.
- Tan, D. X., Hardeland, R., Manchester, L. C., Paredes, S. D., Korkmaz, A., Sainz, R. M., Mayo, J. C. and Fuentes-Broto, L. (2010) The changing biological roles of melatonin during evolution: from an antioxidant to signals of darkness, sexual selection and fitness. *Biological Reviews* 85: 607-623.
- Wang, F., Z. B., Sun, Z. and Zhu, C. (2009) Relationship between proline and Hg²⁺-induced oxidative stress in a tolerant rice mutant. *Archives of environmental contamination and toxicology* 56: 723-731.

- Wang, P., Sun, X., Xie, Y., Li, M., Chen, W., Zhang, S., Liang, D. and Ma, F. (2014) Melatonin regulates proteomic changes during leaf senescence in *Malus hupehensis*. *Journal of Pineal Research* 57:291–307.
- Wang, P., Yin, L.H., Liang, D., Li, C., Ma, F.W. and Yue, Z.Y. (2012) Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate-glutathione cycle. *Journal of Pineal Research* 53: 11-20.
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S. and Guo, Y. (2015) Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *Journal of Experimental Botany* 66, 3: 647-656.
- Zhang, Y., Huber, D. J., Hu, M., Jiang, G., Gao, Z., Xu, X., Jiang, Y. and Zhang, Z. (2018) Melatonin delays postharvest browning in Litchi fruit by enhancing anti-oxidative processes and oxidation repair. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66, 28: 7475-7484.

Evaluation of Relative water content, lipids peroxidation and Antioxidant enzymes activity of Tuberose cut flower (*Polianthes tuberosa* cv. Double) in response to melatonin application

Khani Shakarami¹, Bahman Zahedi^{1*}, Abdolhossein Rezaei Nejad¹, Sadegh Mousavi-fard¹ and Mohammad Hossein Azimi²

¹Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

²Department of Genetic and Breeding, Flower and Ornamental Plants Research Institute, Mahallat, Iran.

(Received: 06/05/2019, Accepted: 10/07/2019)

Abstract

Tuberose flower is one of the aromatic bulbous flowers in tropical and subtropical regions. In order to study the effects of exogenous melatonin on some physiological parameters of cut flower Tuberose, an experiment was performed base on a completely randomized design (CRD) with three replicates and 15 flowers per replication. Melatonin (in concentrations of 0 and 250 $\mu\text{L.L}^{-1}$ for 4 hours) was used as pulse-treatment. Melatonin treatment compared to the control prevented the decrease of relative water content, the increase of electrolyte leakage, and malondialdehyde concentrations in the tissues (leaves and petals). In addition, melatonin increased the amount of ascorbate peroxidase and peroxidase activities in the 6th day of storage compared to 3rd and 0th days. Peroxidase activity decreased in control treatment on 3rd and 6th days, respectively. While the activity of this enzyme was increased in melatonin treatment. The catalase activity content of the tissues (leaves and petals) increased on 3rd day of storage and decreased on the 6th day. Therefore, it seems that melatonin can reduce oxidative stress and the lipids peroxidation and delays process of senescence in Tuberose flower.

Key words: Antioxidant enzymes, Malondialdehyde, Relative water content, Melatonin, Electrolyte leakage.

Corresponding author, Email: Zahedi.b@lu.ac.ir