

اثر دمای پایین و تیمارهای بازدارنده اتیلن روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و اتیلن تولیدی در میخک مینیاتوری (*Dianthus caryophyllus* L.)

مهناز کریمی*

گروه باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۴/۳۰)

چکیده:

این پژوهش به منظور بررسی دمای پایین و تیمارهای بازدارنده اتیلن بر عمر گلجایی، میزان اتیلن تولیدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به اجرا در آمد. گل‌های تیمار شده با آمینو اکسی استیک اسید، بنزیل آدنین و ۱- متیل سیکلو پروپان در دو دمای ۲ و ۴ درجه سانتی گراد انبار گردیدند. بعد از گذشت ده روز انبارداری خشک گل‌ها به داخل آب مقطر منتقل شدند. طبق نتایج بدست آمده متوسط عمر گلجایی در دمای ۲ و ۴ درجه سانتی گراد بعد از ده روز انبارداری خشک به ترتیب ۱۵ و ۱۱/۵ روز بود. گل‌های پیش تیمار شده با ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر (۶ ساعت) 1-MCP در هر دو دما بیشترین عمر گلجایی را نشان دادند. شرایط دمایی تاثیر معنی داری بر کاهش تولید اتیلن در گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری داشت. به طوری که میانگین تولید اتیلن در دو دمای ۲ و ۴ درجه سانتی گراد به ترتیب ۲/۳۵ و ۴/۱۱ نانو لیتر بر گرم وزن تر در ساعت بود. کمترین اتیلن تولیدی در گل‌های پیش تیمار شده با ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر (۶ ساعت) 1-MCP مشاهده گردید. حداکثر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مربوط به دمای ۴ درجه سانتی گراد بود. فعالیت هر سه آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز روند افزایشی نشان داد و در روز سوم بیشتر از روز اول نمونه برداری بود. افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گل‌های تیمار شده با ۱- متیل سیکلو پروپان مشاهده شد.

کلمات کلیدی: آمینو اکسی استیک اسید، بنزیل آدنین، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، ۱- متیل سیکلو پروپان، عمر گلجایی

مقدمه:

اتیلن بوده و از فعالیت آنزیم ACC (۱- آمینو سیکلو پروپان
۱- کربوکسیلیک اسید) سنتز ممانعت می‌کند (Khan, 2006).
AOA برای جلوگیری از تولید اتیلن درون زا مؤثر می‌باشد و
پژمردگی گل‌ها را به تأخیر می‌اندازد (Paliyath et al., 2008).
Lerslerwong و Ketsa (۲۰۰۸) گزارش کردند، تیمار کوتاه
مدت ۵ میلی مولار AOA عمر گلجایی ارکیده را افزایش داد.
تیمار گل‌های بریدنی آنتوریم با BA (بنزیل آدنین) به غلظت
۲۰ میلی گرم در لیتر، باعث کاهش حساسیت به سرمازدگی و

پیری گل‌ها با تخریب و زوال مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی
و بیوشیمیایی همراه است. اتیلن نقش مهمی در تنظیم پیری
گل‌ها داشته و با پیری گل‌ها میزان تولید آن افزایش می‌یابد
(Ketsa and Rugkong, 2000). اتیلن باعث پژمردگی زودتر،
از بین رفتن رنگ گل‌ها، ریزش گلبرگ‌ها و زرد شدن برگ‌ها
می‌شود (Cameron and Reid, 2001) در میان بازدارنده‌های
بیوسنتز اتیلن AOA (آمینو اکسی استیک اسید) بازدارنده سنتز

مواد و روش‌ها:

در این پژوهش گل‌های میخک مینیاتوری رقم‌های Aragon و Erueka جهت مطالعه از گلخانه‌ای تجاری تهیه شدند. گل‌ها در مرحله‌ای که حداقل اولین گل از ۶ تا ۸ غنچه موجود روی ساقه باز بود، برداشت شدند و سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو رقم (Aragon و Erueka)، دو دما (۲ و ۴ درجه سانتی‌گراد)، ۱۳ تیمار (تیمار شاهد و غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA)، آمینو اکسی استیک اسید (AOA) و ۱- متیل سیکلو پروپان (1-MCP) و با ۴ تکرار به اجرا در آمد.

جهت انجام آزمایش ساقه‌ی گل‌های بریدنی بعد از توزین به مدت ۱۲ ساعت در داخل محلول‌های AOA (در سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر)، BA (در سه سطح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد (آب مقطر) قرار گرفتند. تیمار 1-MCP (۳ سطح ۰/۴۸، ۰/۷۲ و ۰/۹۶ میکرو لیتر در لیتر و مدت زمان ۳ و ۶ ساعت) به صورت گازی اعمال گردید. بعد از انجام پیش تیمارهای ذکر شده گل‌های بریدنی در داخل کیسه‌های پلاستیکی بسته بندی شده و در دو دمای ۲ و ۴ درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور به مدت ده روز نگهداری شدند. بعد از گذشت ده روز گل‌ها در داخل آب مقطر و در آزمایشگاه با دمای $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۷۵٪ و شدت نوری معادل ۱۵ میکرو مول بر متر مکعب بر ثانیه قرار گرفتند. عمر گلجایی، تولید اتیلن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد بررسی قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT, EC 1. 11.1.6):

۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار ($\text{pH} = 6/8$) عصاره‌گیری گردید. عمل همگن کردن به مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گردید. تجزیه آب اکسیژنه با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل 6405 UV/ Vis, Jenway، ساخت انگلستان) بررسی شد. فعالیت آنزیمی به صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد. برای سنجش پروتئین از

افزایش عمر گلجایی گردید. 1-MCP (۱- متیل سیکلو پروپان) و دیگر سیکلو پروپان‌ها از اثر اتیلن برون‌زاد در گل‌ها از جمله افتادن گل و جوانه، ریزش برگ و پیری گل ممانعت می‌کنند، لذا برای کنترل پیری در گل‌ها کاربرد دارند (Serek et al., 1996).

در مطالعه Darras و همکاران (۲۰۱۰) غلظت ۱۰ نانو لیتر در لیتر 1-MCP باعث افزایش عمر گلجایی و کاهش نسبت تنفس گل‌های بریدنی شب بو گردید. Chutichudet و همکاران (۲۰۱۰) اثر مثبت تیمار 1-MCP را در افزایش کیفیت پس از برداشت گل‌های بریدنی لاله با تاثیر این ماده در ممانعت از اثر اتیلن نشان دادند. دمای محیط مهمترین عامل موثری در کیفیت پس از برداشت گل‌های بریدنی می‌باشد (Ranwala and Miller, 2005). در دمای پایین نسبت تنفس، مصرف کربوهیدرات‌ها و سایر مواد ذخیره‌ای در بافت گیاه کاهش می‌یابد (Ranwala and Miller, 2005). گل‌ها اتیلن کمتری تولید کرده و حساسیت به حضور اتیلن در اتمسفر محیط کاهش می‌یابد (Song and Peng, 2004). دمای پایین همچنین از دست دادن آب و گسترش میکروارگانیسم‌ها را کند می‌کند (Song and Peng, 2004). دمای مناسب برای نگهداری گل‌های بریدنی بر اساس نوع، گونه گیاهی، مرحله نموی و روش انبارداری متفاوت می‌باشد (Vieira and Brigida; 2009). نگهداری گل‌های بریدنی مناطق حاره در دمای خیلی پایین ممکن است باعث رنگ‌زدایی و ناتوانایی غنچه‌ها برای باز شدن پس از انبار و ایجاد لکه‌های نکروتیک روی برگ‌ها و گلبرگ‌ها شود (Vieira and Brigida; 2009). نتایج بررسی Zencirkiran (۲۰۰۲) نشان داد که گل‌های فریزیا (*Freesia refracta*) می‌تواند به صورت مرطوب در دمای ۰-۵/۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۴ روز و شرایط خشک برای ۲۱ روز نگهداری شوند. نگهداری طولانی‌تر از مدت مذکور منتج به کاهش در عمر گلدانی و نامرغوب شدن و کاهش کیفیت گل‌ها گردید (Zencirkiran, 2002). نقش انبارداری خشک بر ماندگاری گل‌ها کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (Vieira et al., 2012). هدف از مطالعه حاضر بررسی نقش تیمارهای مختلف شیمیایی و دمایی در حفظ کیفیت و ماندگاری گل‌های میخک مینیاتوری می‌باشد.

نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیمی به صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Ghanati et al., 2002). برای محاسبه فعالیت آنزیم از ضریب خاموشی ۲۶/۶ لیتر در میکرومول در سانتی متر استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان تولید اتیلن: برای این منظور گل مربوط به هر تیمار از ساقه جدا شد و بعد از وزن کردن در داخل شیشه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار گرفت (درب‌های پلاستیکی شیشه‌های مذکور قبل از انجام آزمایش سوراخ شده و سرپوش‌های پلاستیکی در محل سوراخ‌ها قرار گرفت). شیشه‌های حاوی نمونه به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به منظور تولید اتیلن نگهداری شدند. در نهایت میزان اتیلن تولید شده توسط دستگاه دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل شیماتزو (Shimatzu) ژاپن قرائت شد.

تجزیه آماری داده‌ها: داده‌های حاصل برای فاکتورهای مختلف در طول آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD (حداقل تفاوت معنی‌دار) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

به منظور جلوگیری از تکرار مطالب و تسهیل در امر تجزیه و تحلیل به هنگام ارائه مطالب تیمارهای مورد استفاده (در شکل‌ها) با علائم اختصاری نشان داده شده‌اند که عبارتند از:

AOA150: آمینو اکسی استیک اسید ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر
MCP0.48,6h: متیل سیکلو پروپان ۰/۴۸ میکرو لیتر در لیتر به مدت ۶ ساعت

MCP0.72,6h: متیل سیکلو پروپان ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر به مدت ۶ ساعت

MCP0.96,3h: متیل سیکلو پروپان ۰/۹۶ میکرو لیتر در لیتر به مدت ۳ ساعت

نتایج و بحث:

با توجه به کثرت تیمارهای اعمال شده و در برخی مواقع عدم تفاوت معنی دار آن‌ها نسبت به هم دیگر نتایج حاصل از میانگین اثرات این تیمارها برای صفت عمر گلجایی (جدول ۱) با استفاده از تجزیه خوشه بر اساس رویه وارد مورد بررسی قرار

روش بردفورو استفاده شد (Bradford, 1976). میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش با استفاده از ضریب خاموشی ($\epsilon = 0.28 \text{ mMol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) محاسبه گردید (Cakmak and Horst, 1991).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC

1.15.1.1): نمونه بافت در داخل یک هاون و در حضور نیتروژن مایع آسیاب شد و به دمای ۸۰ - درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. ۰/۲ گرم نمونه منجمد با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۰/۱ گرم پلی‌وینیل پولی پیرولیدین (PVPP) و pH برابر ۷ رقیق شد. همگن‌های حاصل در دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و بخش روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت (Giannopolitis and Ries, 1997). محلول واکنش شامل، بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۱۰/۲، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیترو بلوترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار و ریوفلاوین ۲ میکرومولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰٪ احیای نوری نیتروبلوترازولیوم می‌گردد. فعالیت این آنزیم به صورت واحد آنزیم بر میلی‌گرم پروتئین به شرح زیر محاسبه شد.

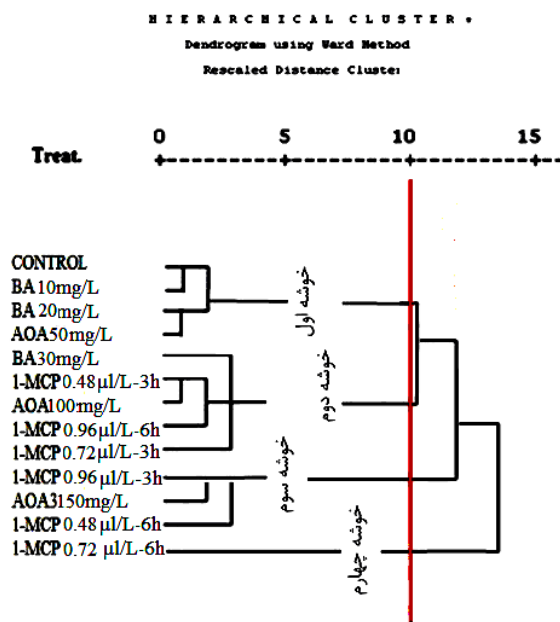
سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD, EC 1.11.1.7):

۰/۲ گرم از بافت تازه گلبرگ در نیتروژن مایع آسیاب شد و در بافر پتاسیم فسفات ۰/۰۲ مولار با pH ۶/۸ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد عصاره گیری گردید. سپس همگن حاصل در دور ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴-۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول روئی جهت اندازه‌گیری فعالیت پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر فسفات، محلول گایاکول و پراکسید با غلظت نهائی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهائی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰

جدول ۱- تغییر در عمر گلجایی پس از اعمال تیمارهای شیمیایی و اتمام دوره انبارداری خشک

عمر گلجایی (روز)	تیمارهای شیمیایی	
۵/۰۰ ^{h*}	شاهد	
۱۰/۰۰ ^e	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۴۸ میکرو لیتر در لیتر	۳ ساعت
۱۳/۰۰ ^c	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر	
۱۳/۲۵ ^{bc}	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۹۶ میکرو لیتر در لیتر	
۱۴/۲۵ ^b	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۴۸ میکرو لیتر در لیتر	
۱۷/۰۰ ^a	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر	
۱۲/۰۰ ^d	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۹۶ میکرو لیتر در لیتر	
۶/۵۰ ^g	آمینوآکسی استیک اسید ۵۰ میلی گرم در لیتر	۶ ساعت
۱۱/۰۰ ^d	آمینوآکسی استیک اسید ۱۰۰ میلی گرم در لیتر	
۱۲/۵۰ ^{bc}	آمینوآکسی استیک اسید ۱۵۰ میلی گرم در لیتر	
۵/۵۰ ^g	بنزیل آدنین ۱۰ میلی گرم در لیتر	
۷/۵۰ ^f	بنزیل آدنین ۲۰ میلی گرم در لیتر	
۹/۰۰ ^e	بنزیل آدنین ۳۰ میلی گرم در لیتر	

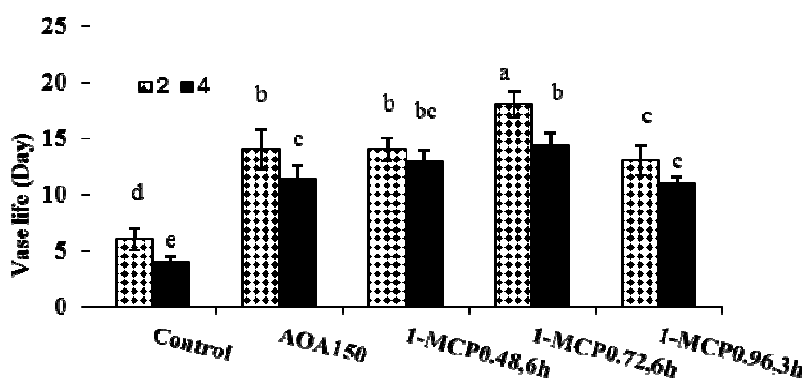
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با هم دارند



شکل ۱- خوشه‌بندی میانگین تیمارهای اعمال شده برای صفت عمر گلجایی

خوشه سوم و چهارم تیمارهای 1-MCP؛ AOA 150 mg/L و 1-MCP 0.96 μl/L-3h و 0.48 μl/L-6h از خوشه سوم و تیمار 1-MCP 0.72 μl/L-6h از خوشه چهارم، انتخاب و

گرفت. نتایج حاصل در ۴ خوشه به شرح زیر (شکل ۱) مشخص گردید، بر این اساس علاوه بر شاهد، بهترین سطوح در مجموع تیمارهای مورد بررسی (از نظر عمر گلجایی) از



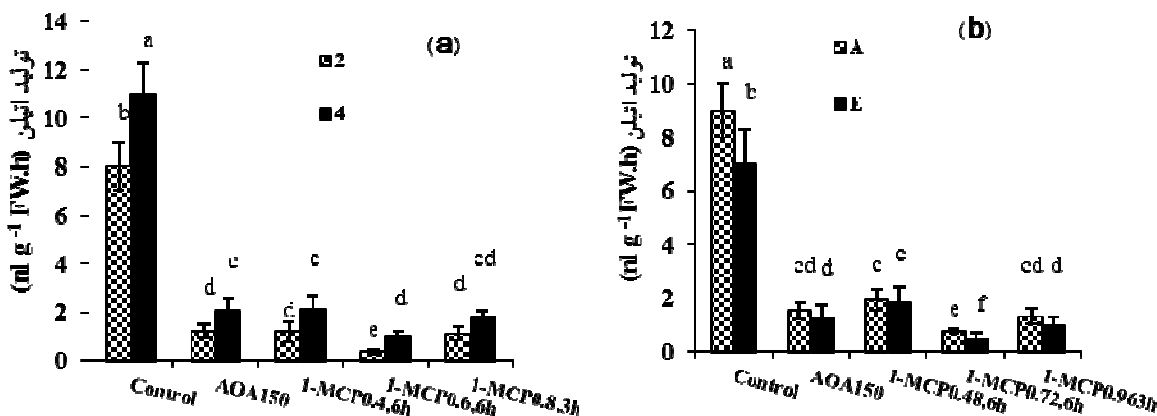
شکل ۲- تاثیر تیمارهای شیمیایی در دمای ۲°C و ۴°C بر عمر گلجایی. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار می باشد.

(Nowak and Rudnicki, 1990; Zencirkiran, 2002; Sanino, 2004; Vieira *et al.*, 2012). در بررسی حاضر دمای ۲ درجه سانتی‌گراد بهتر از دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در به تاخیر انداختن پیری گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری عمل نمود. در پژوهش کریمی و حسن‌پور (۱۳۸۷) نگهداری گل‌های بریدنی لیلیوم در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش عمر گلجایی گردید. در گزارشی دیگر دمای ۱/۵ درجه سانتی‌گراد بهترین دما برای نگهداری گل‌های بریدنی داووی شناخته شد (Vieira and Brigida; 2009). در بررسی ویت‌هاکا و همکاران (Waithaka *et al.*, 2001) گل‌های بریدنی مریم در داخل ورقه‌های پلی‌اتیلنی بسته بندی شده و به مدت ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ روز در دماهای صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ قرار گرفتند. این محققین گزارش کردند دمای صفر و ۵ درجه سانتی‌گراد تاثیر معنی‌داری در افزایش ماندگاری گل‌ها داشته‌است. در بررسی مذکور انبارداری خشک موثرتر از انبارداری مرطوب در افزایش عمر گلجایی گل‌های بریدنی مریم عمل نمود. دلیل این پدیده افزایش میزان تنفس در انبارداری مرطوب ذکر گردید. بررسی‌های زنسیرکران (Zencirkiran, 2002) نشان داد گل‌های فرزیا می‌توانند به صورت مرطوب در دمای ۰/۵-۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ روز و در شرایط خشک ۲۱ روز نگهداری شوند. بر اساس شکل ۲ پیش‌تیمار گل‌های بریدنی قبل از انتقال به دمای پایین تاثیر معنی‌داری در افزایش ماندگاری گل‌ها داشت. بطوریکه تیمار ۶ ساعت، ۰/۷۲ میکرو

برای بررسی تاثیر آن‌ها روی مجموع صفات مورد بررسی در این بخش از آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

عمر گلجایی: عمر گلجایی در هر رقم و بسته به نوع تیمار در هر دو دما متفاوت بود. دمای ۲ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری در افزایش طول عمر گل‌های میخک مینیاتوری موثر بوده است. در شکل ۲ میانگین‌های دو فاکتور دما و تیمارهای شیمیایی بر ماندگاری گل‌ها نشان داده شده است. باتوجه به شکل اعمال تیمارهای شیمیایی در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد موجب افزایش طول عمر بیشتری نسبت به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گردید. تیمار ۶ ساعت، ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP در هر دو دما بیشترین عمر گلجایی (در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد ۱۸ روز و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ۱۵/۵۰ روز) را باعث شد (شکل ۲). کمترین عمر گلجایی مربوط به شاهد بود. در بین دو رقم مورد بررسی متوسط عمر گلجایی در 'Aragon' و 'Erueka' به ترتیب ۱۱ و ۱۳ روز بود.

عمر گلجایی گل‌های بریدنی پس از جدا شدن از گیاه مادری بسیار محدود خواهد بود. این پدیده به دلیل خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی این گیاهان می‌باشد. دمای پایین در برخی از گل‌ها یکی از بهترین تیمارها جهت کاهش فعالیت‌های فیزیولوژیکی و تخریب‌های پاتولوژیکی می‌باشد. دمای کم میزان تنفس، تولید اتیلن، تجزیه برخی از آنزیم‌ها و از دست دادن آب بافت‌ها را کاهش می‌دهد



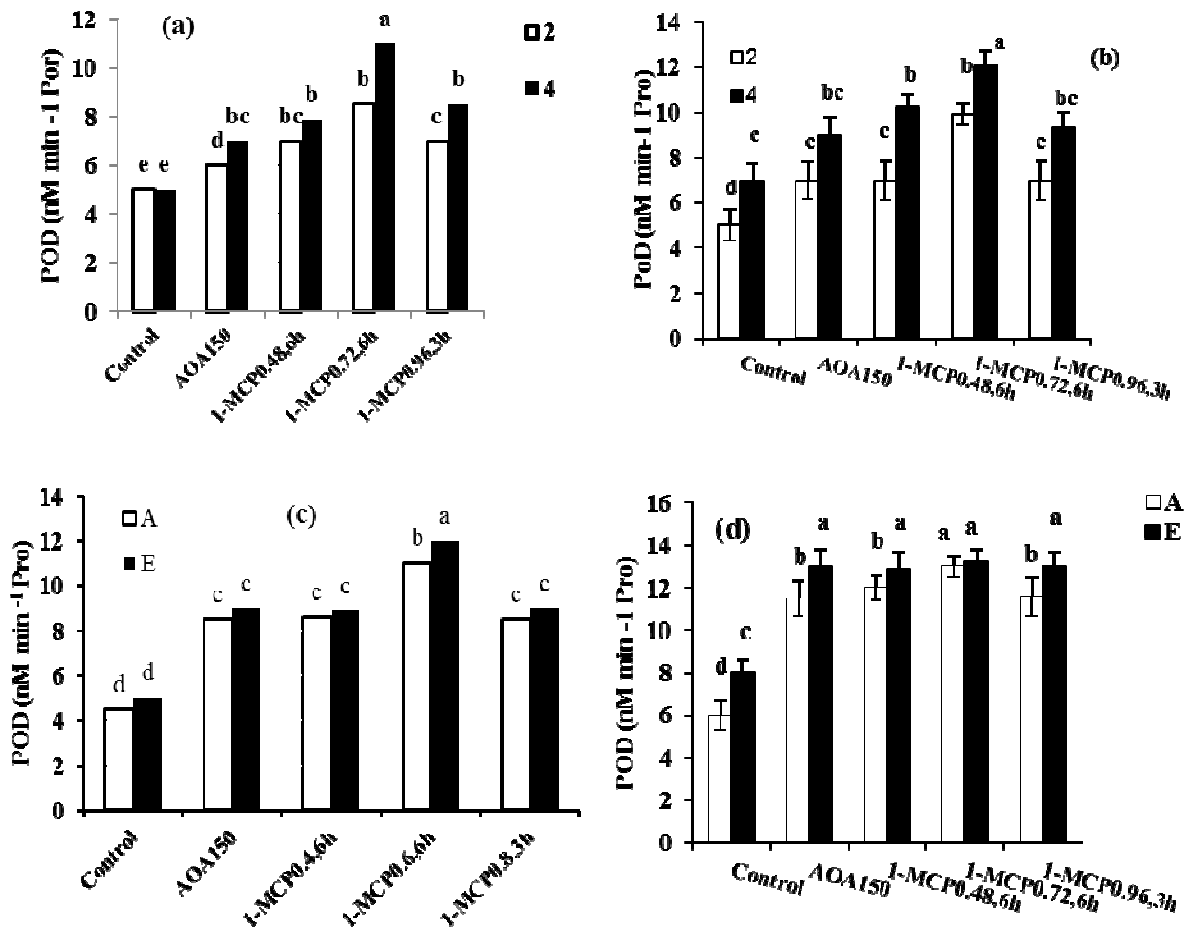
شکل ۳- اثر تیمارهای شیمیایی و دما (۲) (□) و ۴ (■) درجه سانتی‌گراد) بر میزان تولید اتیلن (a). اثر تیمارهای شیمیایی و رقم (Aragon و Erueka) بر میزان تولید اتیلن (b). حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

۰/۹۶ (۳ ساعت) میکرو لیتر در لیتر 1-MCP مشاهده نشد (شکل ۳). در بررسی Song و Peng (۲۰۰۴) روی گل‌های بریدنی لیلیوم، در دمای پایین، گل‌ها اتیلن کمتری تولید کردند و حساسیت به حضور اتیلن در اتمسفر محیط، کاهش یافت. در مطالعه حاضر پیش‌تیمار گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری قبل از انتقال به دمای پایین تاثیر معنی‌داری در افزایش ماندگاری گل‌ها داشت. تیمارهای 1-MCP و AOA به‌عنوان بازدارنده از عمل و تولید اتیلن نقش موثری در کاهش اتیلن تولیدی داشتند. حسن و حافظ (Hassan and Mahfouz, 2012) نیز نتایج مشابهی مبنی بر کاهش تولید اتیلن در دمای پایین و تحت پیش‌تیمار 1-MCP گزارش کردند.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD): میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در روزهای اول (بلافاصله بعد از اتمام دوره انبارداری خشک) و سوم بعد از انبارداری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در بیشتر پیش‌تیمارهای اعمال شده میانگین فعالیت آنزیم در 'Erueka' بیشتر از 'Aragon' بود. حداکثر فعالیت در روز اول نمونه‌برداری (بعد از اتمام دوره انبارداری) با ۱۱/۵ (Erueka) و ۱۰ (Aragon) نانو مول بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین مربوط به تیمار ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر 1-MCP بود. تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مورد بررسی در میزان فعالیت آنزیم POD در هر دو دمای مورد بررسی وجود داشت.

لیتر در لیتر 1-MCP در هر دو دما بیشترین عمر گلجایی را باعث شد. در بررسی سجلی و همکاران (Seglie et al., 2011) تیمار ۰/۵ میلی گرم در لیتر 1-MCP باعث افزایش عمر گلجایی میخک گردید. نتایج مشابهی توسط چاتیچادت و همکاران (Chutichudet et al., 2010) مبنی بر به تاخیر افتادن پیری در گل‌های لاله توسط تیمار 1-MCP گزارش شده است. تیمار مذکور ماندگاری گل‌های استکانی را نیز افزایش داد (Serek et al., 1996).

تولید اتیلن: میزان تولید اتیلن بلافاصله بعد از اتمام دوره انبارداری خشک مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. اتیلن تولیدی در هر دو دما و تحت تاثیر تیمارهای مورد استفاده کاهش چشم‌گیری نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۳). در بین دو رقم مورد بررسی 'Erueka' اتیلن کمتری نسبت به 'Aragon' تولید کرد. شرایط دمایی تاثیر معنی‌داری بر کاهش تولید اتیلن در گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری داشت. بطوریکه میانگین تولید اتیلن در دمای ۲ و ۴ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۲/۳۵ و ۴/۱۱ نانو لیتر بر گرم وزن تر در ساعت بود. در بین پیش‌تیمارهای اعمال شده تیمار ۶ ساعت و با غلظت ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر 1-MCP تاثیر بیشتری در مقایسه با تیمار شاهد در کاهش اتیلن تولیدی داشت. تفاوت معنی‌داری بین سه تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر AOA، ۰/۴۸ (۶ ساعت) و



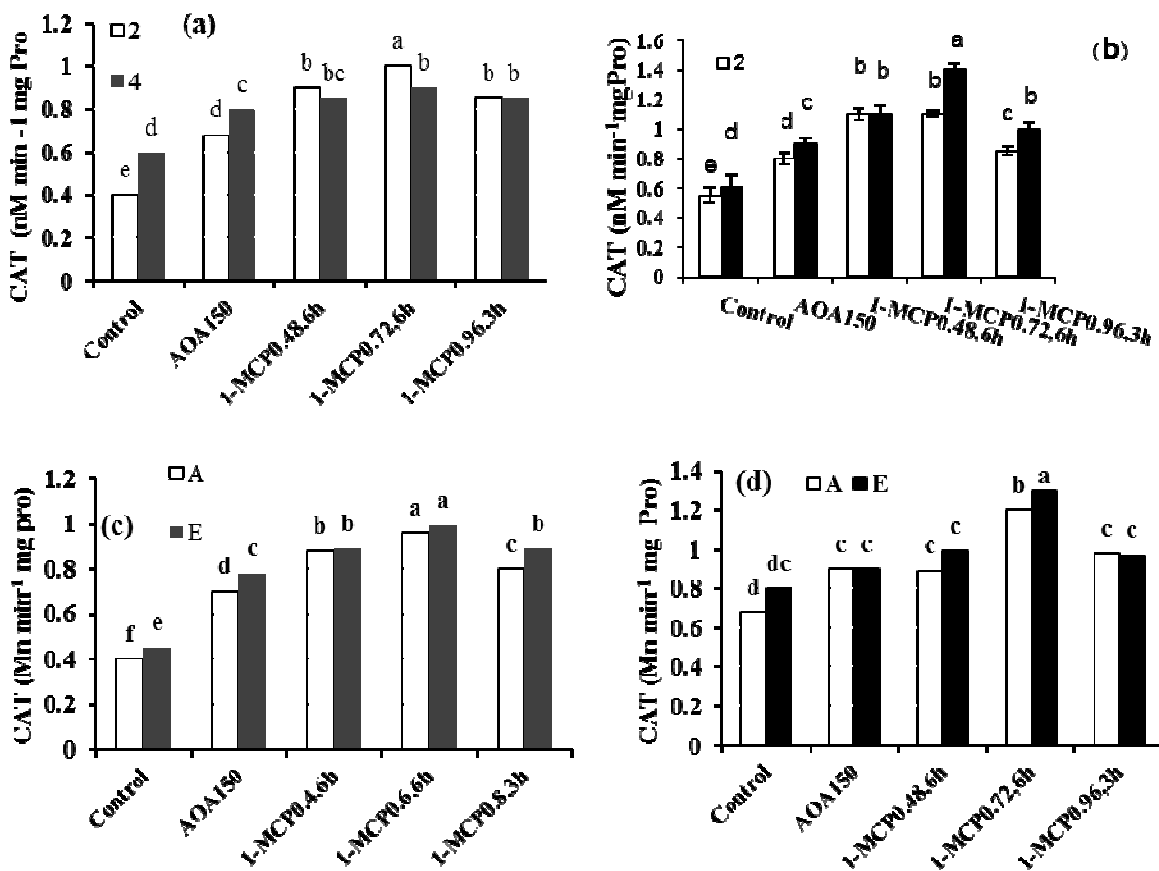
شکل ۴- تاثیر تیمارهای شیمیایی و دمای ۲ (□) و ۴ (■) درجه سانتی‌گراد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز اول (a) و سوم (b) تاثیر تیمارهای شیمیایی و رقم (□ Aragon و ■ Eruka) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز اول (c) و سوم (d) بعد از اتمام دوره انبارداری خشک. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

مختلف نشان داده شده است. با توجه به این شکل می‌توان اظهار داشت بیشترین فعالیت در همه پیش تیمارهای اعمال شده مربوط به دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد بود. در این دما حداکثر و حداقل فعالیت آنزیم با ۱/۸ و ۰/۹۲ نانولیتتر بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در تیمارهای ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP و شاهد مشاهده شد. در بین دو رقم مورد بررسی فعالیت آنزیم در 'اریکا' بیشتر از 'Aragon' در همه تیمارها بود (شکل ۵، c و d).

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD): فعالیت SOD همانند آنزیم‌های CAT و POD روند افزایشی نشان داد و در،

حداکثر فعالیت آنزیم مربوط به پیش تیمار ۶ ساعت، ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد بود (شکل ۴، a و b). تفاوت معنی‌داری بین سه تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر AOA و ۰/۹۶ و ۰/۴۸ میکرو لیتر در لیتر I-MCP در روزهای اول و سوم نمونه‌برداری مشاهده نشد. اثر متقابل تیمار و رقم نیز بر میزان فعالیت آنزیم معنی‌دار بود (شکل ۴، c و d). در روز سوم، فعالیت آنزیم در هر دو رقم مورد بررسی افزایش نشان داد.

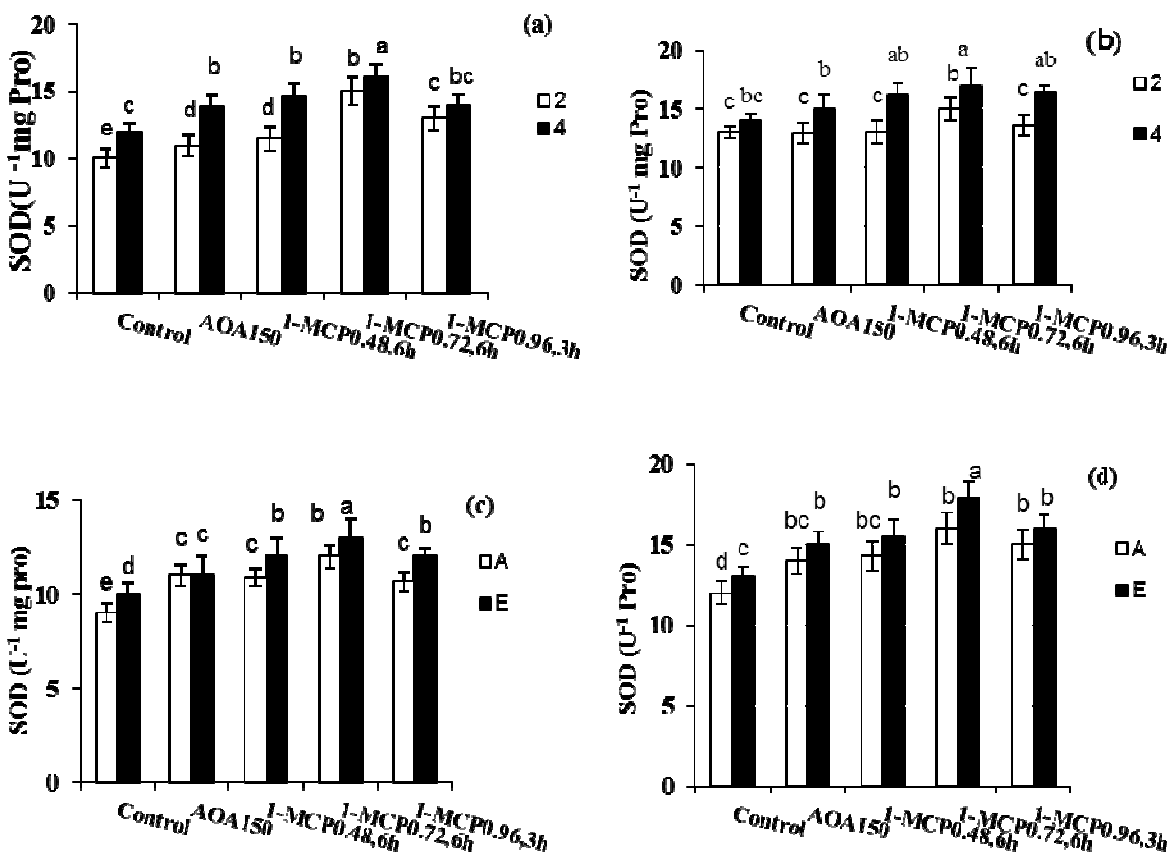
فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): در شکل (۵، a و b) مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل دو فاکتور دما و تیمارهای



شکل ۵- تاثیر تیمارهای شیمیایی و دمای ۲ (□) و ۴ (■) درجه سانتی‌گراد بر فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در روز اول (a) و سوم (b) تاثیر تیمارهای شیمیایی و رقم (■ Eruka و □ Aragon) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در روز اول (c) و سوم (d) بعد از اتمام دوره انبارداری خشک. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

در مطالعه حاضر میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و POD در دمای ۲ درجه‌سانتی‌گراد و در روز اول بعد از انبارداری خشک کمتر از دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد و روز سوم اندازه‌گیری بود. این نتیجه می‌تواند به دلیل تولید کمتر رادیکال‌های آزاد در دمای پایین و یا کلا متابولیسم کمتر در دمای پایین باشد (Pennycooke *et al.*, 2005). با کاربرد تیمار دمایی و بررسی اثر آن بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل اطلسی مشاهده شد که فعالیت در دماهای کمتر کاهش می‌یابد (Pennycooke *et al.*, 2005). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دماهای پایین گزارش شده است (Hassan and Mahfouz, 2012). در مطالعه حاضر، هر سه آنزیم مورد بررسی در گل‌های بریدنی تیمار شده با

روز سوم بیشتر از روز اول نمونه‌برداری بود. حداکثر فعالیت آنزیم در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد و مربوط به تیمار ۶ ساعت ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP بود. لیکن تفاوت معنی‌داری بین سه تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر AOA و ۰/۹۶ و ۰/۴۸ میکرو لیتر در لیتر I-MCP در روزهای اول و سوم نمونه‌برداری مشاهده نشد (شکل ۶، a و b). مقایسه میانگین داده‌های فعالیت SOD در دو رقم از گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری نشان داد که در 'Eruka' این میزان بیشتر از 'Aragon' است (شکل ۶، c و d). در هر دو رقم مورد بررسی حداکثر فعالیت با ۱۷/۹ ('Eruka') و ۱۶ ('Aragon') واحد بر میلی‌گرم پروتئین مربوط به تیمار ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP در روز سوم نمونه‌برداری بود.



شکل ۶- تاثیر تیمارهای شیمیایی و دمای ۲ (□) و ۴ (■) درجه سانتی‌گراد بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در روز اول (a) و سوم (b) تاثیر تیمارهای شیمیایی و رقم (■ Erueka و □ Aragon) بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در روز اول (c) و سوم (d) بعد از اتمام دوره انبارداری خشک. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشد.

انبارداری خشک گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری در دماهای پایین نقش موثری در حفظ کیفیت و افزایش عمر گلجایی دارد و امکان صادرات گل‌ها به مناطق دور دست را امکان‌پذیر می‌کند. دمای ۲ موثرتر از ۴ درجه سانتی‌گراد در حفظ کیفیت گل‌ها در هر دو رقم و همه پیش‌تیمارهای بکار رفته بود. بیشترین عمر گلجایی در گل‌هایی مشاهده گردید که قبل از نگهداری در دمای پایین به مدت ۶ ساعت با غلظت ۰/۷۲ میکرو لیتر در لیتر I-MCP تیمار شده بودند. در دماهای پایین (۲ و ۴ درجه سانتی‌گراد) میزان تولید اتیلن به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش نشان داد. در دمای ۲ درجه سانتی‌گراد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (CAT، POD و SOD) کمتر از دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود.

I-MCP فعالیت بیشتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند. لارجیا دیر و همکاران (Larrigaudiere *et al.*, 2004) گزارش کردند، افزایش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان تیمار شده با I-MCP ممکن است به دلیل کاهش تولید اتیلن و افزایش تجزیه O_2^- و H_2O_2 باشد. مک‌لین و همکاران (MacLean *et al.*, 2003) اظهار داشتند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان توسط I-MCP ممکن است به دلیل توانایی این ماده در ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد سلولی باشد.

نتیجه‌گیری کلی:

به طور خلاصه، نتایج کاربردی این پژوهش شامل موارد زیر می‌باشد:

منابع:

- of Horticultural Sciences and Biotechnology 75: 149-153.
- Khan, N. A. (2006) Ethylene Action in Plants. Springer 206 P.
- Paliyath, G., Murr, D. P. Handa, A. K. and Lurrie, S. (2008) Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetable and Flowers. Wiley Black Well Publishing, 482p.
- Pennycooke, J. C., Cox, S. and Stushnoff, C. (2005) Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x* hybrid). Environmental and Experimental Botany 53:225-232.
- Rudnicki, R. M., Nowak, J. and Goszczynska, D. M. (1991) Cold storage and transpiration conditions for cut flowers, cutting and potted plants. Acta Horticulturae 298:225-231.
- Ranwala, A. P. and Miller, W. B. (2005) Effect of cold storage on postharvest leaf and flower quality of potted Oriental, Asiatic and LA- hybrid lily cultivars. Scientia Horticulturae 105: 383- 392.
- Sanino, A. (2004) Conservação de tomate (*Lycopersicon esculentum*) 'Debora', submetido a diferentes condições de resfriamento e aquecimento intermitente. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual de Campinas, p. 63.
- Seglie, L., Martina, K., Devecchi, M. C., Roggero, F., Trotta and Scariot, V. (2011) The effects of 1-MCP in cyclodextrin-based nanospheres to improve the vase life of Dianthus caryophyllus cut flowers. Postharvest Biology and Technology 59: 200–205.
- Serek, M., Sisler, E. and Reid, M. (1996) Ethylene and the post harvest performance of miniature rose. Acta Horticulturae 424: 145-149.
- Song, L. L. and Peng, Y. H. (2004) Effect of cold storage on sensitivity of cut lily to ethylene. Journal of Horticulture Science and Biotechnology 79: 723-728.
- Vieira, M. R. S. and Brigida, S. (2009) Storage of cut chrysanthemums at different cutting temperatures. Pesquisa Agropecuaria Tropical 4:356-359.
- Vieira, M. R. S., Medeiros, D. S., Costa P. N., Santos, C.M.G., Paes, R.L., Fernandez, L.M.S., Oliveira, N.G., Allan, A. and Silva, F. (2012) Effect of refrigeration on post-harvest flowers. African Journal of Biotechnology 11: 13065-13068.
- Waithaka, K., Reid M. S. and Dodge, L. L. (2001) Cold storage and flower keeping quality of cut tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). Journal of Horticultural Science and Biotechnology 76: 271-275.
- Yee, D. A. and Tissue, D. T. (2005) Relationships between Non-structural Carbohydrate Concentration and Flowering in a Subtropical Herb, *Heliconia caribaea* (Heliconiaceae). Caribbean Journal of Science 41: 243-249.
- Zencirkiran, M. (2002) Cold storage of *freesia refracta* "cordula". New Zealand Journal of crop and Horticultural Science 30: 171- 174.
- کریمی. م، و حسن‌پور اصیل م. (۱۳۸۷) اثر تیمارهای شیمیایی و دمایی بر طول عمر گل بریدنی سوسن (*Lilium longiflorum* L.). دانش کشاورزی ۱۸: ۸۲-۶۹.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annual Review Biochemistry 72:248-254.
- Cameron, A. C. and Reid, M. S. (2001) 1-MCP blocks ethylene-induced petal abscission of Pelargonium peltatum but the effect is transient. Postharvest Biology and Technology 22:169-177.
- Cakmak, I. and Horst, W. (1991) Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glysin max*). Plant Physiology 83:463-468.
- Chutichudet, P., Chutichudet, B. and Boontiang, K. (2010) Effect of 1-MCP fumigation on vase life and other postharvest qualities of Siam Tulip (*Curcuma aeruginosa Roxb*) cv. Laddawan. International Journal Agriculture Research 5: 1- 10.
- Darras, A. I., Ioannidou, A. A. and Pompodakis, N. E. (2010) Evaluation and improvement of post-harvest performance of cut Viburnum tinus inflorescence. Scientia Horticulturae 124: 376-380.
- Ghanati, F, Morita, A. and Yokota, H. (2002) Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in *Tabacco* cell. Soil Science and Plant Nutrition 48: 357-364.
- Giannopolitis, C. and Ries, S. (1997) Superoxide desmutase. I. Occurrence in higher plant. Plant Physiology 59: 309-314.
- Hassan, F. A. S. and Mahfouz, S. A. (2012) Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the postharvest senescence of coriander leaves during storage and its relation to antioxidant enzyme activity. Scientia Horticulturae 141: 69–75.
- 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: 1871–1877.
- Lerslerwong, L. and Ketsa, S. (2008) Autocatalytic ethylene production by *Dendrobium* flowers during senescence induced by exogenous ethylene. Thai Journal of Agricultural Science 41: 91-99.
- MacLean, D. D., Murr, D. P. and DeEil, J. R. (2003) A modified total oxyradical scavenging capacity assay for antioxidants in plant tissues. Postharvest Biology and Technology 29: 183–194.
- Nowak, J. and Rudnicki, R. M. (1990) Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens and potted plant. Portland, Timber Press, p. 210.
- Ketsa, S. and Rugkong, A. (2000) Ethylene production senescence and ethylene sensitivity *Dendrobium* 'Pompador' flowers following pollination. Journal

