Archive of SID

به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵
صفحه‌های ۸۹-۷۹

اثر ۱- متیل‌سیکلوپروپان و اتیلن بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک 'گرند 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 وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۰۳

چکیده

به منظور بررسی اثر تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان و اتیلن بر حفظ کیفیت و افزایش عمر گلجایی گل‌های میخک رقم 'گرنداسلم' آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه فیزیولوژی پس از برداشت دانشگاه تربیت مدرس در سال ۹۳-۱۳۹۲ 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 'گرند اسلم' گردید.

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

* نویسنده مسئول
Email: ahmadin@modares.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

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 فضای‌سبز و همچنین به صورت گل شاخه‌بریدنی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۴]. عمر گلجایی گل‌های شاخه بریدنی 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]. زمانی‌که 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 پایین‌دست منتقل می‌شود. بدین‌صورت، 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[1] و ای سی سی اکسیداز[2] گردید و بیان هر دو ژن ACS_1 و ACS_3 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 ضداکسیداسیونی در جهت کاهش اثر رادیکال‌های آزاد می‌باشند. این سازوکارها شامل بروز تغییراتی در میزان آنزیم‌های دفاعی گیاه نظیر پراکسیداز[3]، کاتالاز[4]، پلی‌فنل‌اکسیداز[5] و ترکیبات دیگری از جمله فنل‌ها می‌باشد [۳۵].

از آنجایی‌که 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

1. ACC- synthase
2. ACC-Oxidase
3. Peroxidase
4. Catalase
5. Polyphenol oxidase

www.SID.ir

Archive of SID

سیام تیمار شده با ۱-متیل‌سیکلوپروپان به مدت ۸ ساعت حداکثر مقدار آنتوسیانین‌ها را تا روز دوازدهم از عمر انباری داشتند [۱۰]. کاربرد ۱-متیل‌سیکلوپروپان 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 آنتی‌اکسیدانتی را افزایش داد [۱۲].

باتوجه به نقش ۱-متیل‌سیکلوپروپان به عنوان یک ماده بازدارنده عمل اتیلن و متعاقباً بهبود دهنده عمر پس از برداشت، هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی کارایی ۱-متیل‌سیکلوپروپان و واکنش میخک شاخه‌بریدنی رقم 'گرنداسلم' در تیمار با ۱-متیل‌سیکلوپروپان و اتیلن است. در این مطالعه، رفتار گل شاخه‌بریدنی تیمار شده با ۱-متیل‌سیکلوپروپان 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 'گرنداسلم'[1] 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 آبگیری 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 گلجای به مدت ۲۴ ساعت داخل اتاقک شیشه‌ای ۲۰۰ لیتری تحت تیمار ماده ۱-متیل‌سیکلوپروپان با نام تجاری اسمارت فرش[2] با غلظت‌های صفر، ۰/۵، 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 همیلتون 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 گلجای روی میز آزمایشگاه قرار گرفتند. تمامی مراحل انجام آزمایش در شرایط محیطی دمای ۲±۲۰ 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

www.SID.ir

Archive of SID

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].

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

فرمول (۱)

در این رابطه، A663 و A646 به‌ترتیب 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 ($\varepsilon = 33000$ $mol^2\ cm^{-1}$) 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 به‌وسیله 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 ۱/۶)، 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 ۱/۶)، هیدروژن پراکسید ۱۰ mM و عصاره آنزیمی تهیه گردید. فعالیت کاتالاز باتوجه به روند تجزیه هیدروژن پراکسید و درنتیجه کاهش جذب، در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجیده و به‌صورت 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 ۵۰ mM HEPES-KOH (pH ۸/۷)، حاوی EDTA سدیمی ۱/۰ mM عصاره‌گیری شد. همگنای حاصل به

www.SID.ir

Archive of SID

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

بافر HEPES-KOH ۵۰ mM با pH ۸/۷ حاوی EDTA سدیمی ۰/۱ mM، Na_2CO_3 ۵۰ mM با pH ۲/۱۰، L-methionine ۱۲ mM، Nitro Blue Tetrazolium (NBT) ۷۵ µM، Riboflavin 1 µM و عصاره آنزیمی به مقدار مناسب یک واحد فعالیت SOD به عنوان مقدار آنزیمی درنظر گرفته شد که منجر به مهار ۵۰ درصدی نیتروبلو تترازولیوم (NBT) در ۵۶۰ نانومتر می‌شود [۹]. جذب مخلوط واکنش با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری میزان پروتئین

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول کل از روش برادفورد (۱۹۷۶) استفاده شد. به این منظور، میزان جذب یک میلی‌لیتر از معرف برادفورد به همراه ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی پس از مخلوط شدن کامل در طول موج ۵۹۵ نانومتر ثبت گردید. میزان پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه با استفاده از منحنی درجه‌بندی سرم آلبومین گاوی (BSA) محاسبه شد [۵].

نتایج و بحث

ماندگاری یکی از ویژگی‌های پراهمیت پس از برداشت گیاهان زینتی به‌ویژه گل‌های شاخه‌بریدنی است که به وسیله اتیلن کاهش می‌یابد. کاهش اثرات نامطلوب اتیلن، روشی مناسب جهت افزایش طول عمر پس از برداشت گیاهان است و ترکیباتی از جمله ۱- متیل‌سیکلوپروپان به منظور کاهش اثرات اتیلن در باغبانی کاربرد گسترده‌ای دارند.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات تیمار ۱-متیل‌سیکلوپروپان بر صفات میخک رقم 'گرند اسلم' از جمله عمر گلجایی، مقدار کلروفیل برگ، آنتوسیانین‌های گلبرگ و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی از جمله پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز گلبرگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

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

متغیر	درجه آزادی	عمر گلجای	کلروفیل کل	آنتوسیانین	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز
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

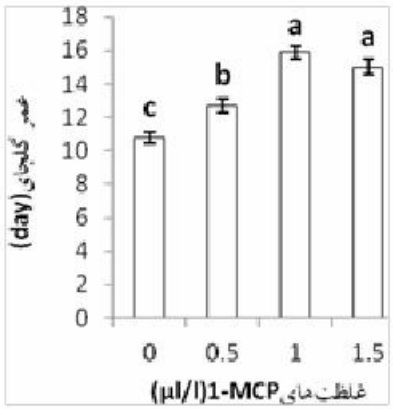
**، * و ns - به ترتیب معنی‌دار در سطح یک و پنج درصد و غیرمعنی‌دار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها در گل شاخه‌بریدنی میخک رقم 'گرند اسلم' نشان داد، افزایش غلظت ۱- متیل‌سیکلوپروپان باعث افزایش عمر گلجایی شد، به‌طوری‌که بالاترین عمر گلجایی (۸/۱۵ روز)

www.SID.ir

Archive of SID

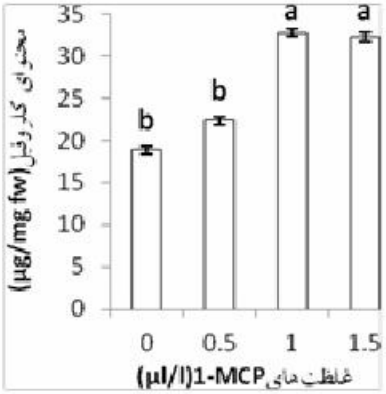
مربوط به تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان بود. براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار شاهد و غلظت ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان داشت، اگرچه با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نداشت (شکل ۱).



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 گل‌های شمعدانی گردید [۸]. همچنین تحقیقات بر روی گل‌های شاخه‌بریدنی 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 گل‌های شاخه‌بریدنی با استفاده از ۱- متیل‌سیکلوپروپان ناشی از بازدارندگی عمل اتیلن و متعاقباً جلوگیری از بیوسنتز اتیلن می‌باشد [۳۰ و ۳۲].

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها در صفت مقدار کلروفیل برگ نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل در روز دوازدهم بعد از اعمال تیمار مربوط به تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱-متیل‌سیکلوپروپان بود که براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل سیکلوپروپان نداشت، درحالی‌که با تیمار شاهد و ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان تفاوت معنی‌داری 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 می‌باشد که مهمترین عامل زردبرگی در گیاهان زینتی محسوب می‌شود. همسو با نتایج این آزمایش در مطالعه‌ای بر روی گل‌های شاخه‌بریدنی میخک خوشه‌ای، 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'[1] ممانعت نمود [۳۱]. در این مورد، اثر تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان به مسدود کردن گیرنده‌های اتیلن ارتباط داده می‌شود.

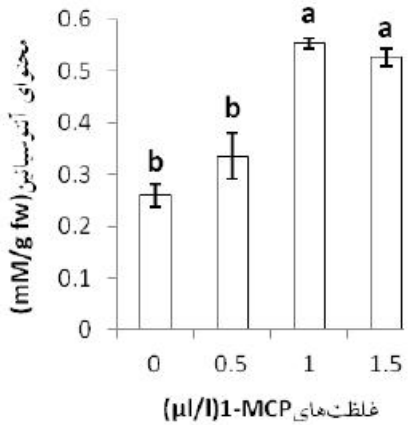
تیمار یک میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان

1. Isable

www.SID.ir

Archive of SID

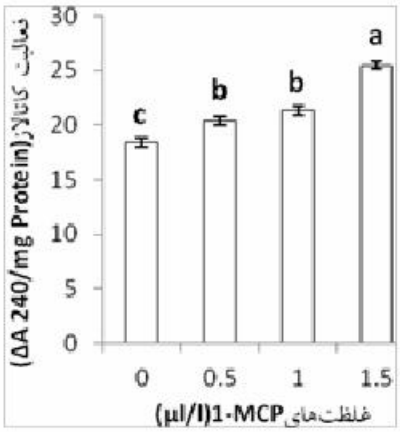
بیشترین مقدار آنتوسیانین‌های گلبرگ را در روز دوازدهم بعد از اعمال تیمار داشت. براساس آزمون LSD، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با تیمار ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان نداشت، درحالی‌که این تفاوت در سطح احتمال یک درصد با تیمار شاهد و ۰/۵ میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان معنی‌دار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



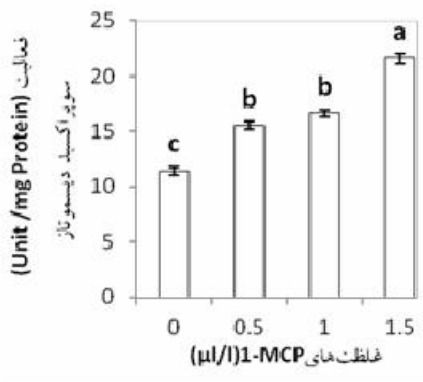
شکل ۳. اثر ۱- متیل‌سیکلوپروپان بر مقدار آنتوسیانین گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'

اثرات مثبت ۱- متیل‌سیکلوپروپان در ممانعت از عمل اتیلن خارجی، به تأخیر انداختن پیری و درنتیجه حفظ pH مناسب سلول عامل حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی آنتوسیانین‌ها برد. 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 براکته‌هاست [۱۸ و ۱۹]. ثابت ماندن آنتوسیانین‌ها ممکن است به این دلیل باشد که ۱- متیل‌سیکلوپروپان می‌تواند آسیب به غشاء را در محصولات تازه کاهش دهد [۱۷]. بنابراین کاربرد تجاری ۱- متیل‌سیکلوپروپان ممکن است کیفیت گل‌های میخک را تحت شرایط پس از برداشت افزایش دهد. طی 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- متیل‌سیکلوپروپان با غلظت ۱/۵ میکرولیتر بر لیتر به‌دست آمد که براساس آزمون LSD دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با سایر تیمارها برد (شکل‌های ۴، ۵ و ۶).



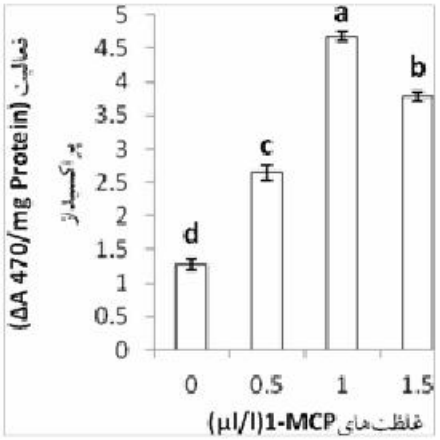
شکل ۴. اثر ۱- متیل‌سیکلوپروپان بر فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'



شکل ۵. اثر ۱- متیل‌سیکلوپروپان بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گلبرگ میخک رقم 'گراند اسلم'

www.SID.ir

Archive of SID



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

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

حفظ سطوح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در این آزمایش به واسطه کاهش تنش‌های اکسیداتیو توسط ۱- متیل‌سیکلوپروپان بود، جلوگیری از عمل و تولید اتوکاتالیزور اتیلن توسط ۱- متیل‌سیکلوپروپان و در نهایت جلوگیری از افزایش تنفس و دمای ناشی از آن باعث ایجاد شرایط دمایی مناسب جهت انجام فعالیت آنزیم‌های گیاهی گردید. فرآیند پیری گلبرگ با تغییرات متابولیکی و فیزیولوژیکی همراه است که منجر به مرگ گلبرگ می‌شود. پیری توسط بیان مجموعه‌ای از ژن‌های مرتبط با پیری آغاز می‌شود و در سطح متابولیکی به صورت فرآیندهایی اکسیداتیو متجلی گشته و اغلب فرآیندهای کاتابولیکی درگیر در پیری به طور غیرقابل برگشت افزایش می‌یابند [۶].

در غشاهای میکروسومال میخک مقدار زیادی سوپراکسید در طول پیری تولید می‌شود [۲۵]. در این آزمایش نیز افزایش رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اتیلن در گیاهانی که با صفر میکرولیتر بر لیتر ۱- متیل‌سیکلوپروپان تیمار شدند سبب آسیب به سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی و کاهش فعالیت آنزیم‌های دفاعی گردید، درحالی‌که در تیمار با غلظت‌های مختلف ۱- متیل‌سیکلوپروپان به دلیل کاهش اثرات اتیلن خارجی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بیشتر بود.

پراکسیداز کارکردهای بیولوژیکی متفاوتی از جمله سم‌زدایی پراکسید هیدروژن، بیوسنتز 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 رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن و جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های هیدروکسیل دارد [۳۶]. سوپراکسید دیسموتاز از جمله سوپراکسید دیسموتاز مس- روی، سوپراکسید دیسموتاز منگنز و سوپراکسید دیسموتاز برون‌سلولی 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 درنهایت پیری می‌شود و ۱- متیل‌سیکلوپروپان توانایی تأثیر بر فعالیت آنزیم‌هایی که اکسیژن فعال را حذف می‌کنند، دارد [۲۳].

مطابق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز) گلچه‌های گلایول تیمار شده با ۱- متیل‌سیکلوپروپان دیده شده است. به نظر می‌رسد این تیمار تنش‌های اکسیداتیو در گل‌های شاخه‌بریدنی را کاهش می‌دهد [۱۶] به عبارت دیگر، فعالیت این آنزیم‌ها به عنوان عاملی برای حفاظت سلول‌ها در برابر تنش‌های اکسیداتیو است [۴۰]. قابل ذکر است که حتی اگر سطوح اتیلن در پاسخ به ۱-متیل‌سیکلوپروپان کاهش یابد، فعالیت

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی افزایش خواهد یافت. همچنین، افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در گلبرگ‌های گل‌های گلدانی میخک رقم 'لایلک اُن پرپل'[1] تیمار شده با ۱- متیل‌سیکلوپروپان مشاهده گردید. تیمار ۱- متیل‌سیکلوپروپان 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[2] (*Asparagus officinalis*) ۱- متیل‌سیکلوپروپان 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- متیل‌سیکلوپروپان قادر به تأخیر در پیری و افزایش عمر گلجایی از طریق حفظ رنگدانه‌های فتوسنتزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در گل شاخه بریدنی میخک رقم 'گرند اسلم' است. ماده ۱-متیل‌سیکلوپروپان 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) Characterization of ethylene-induced organ abscission in F_1 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.

1. Lilac on purple
2. *Asparagus officinalis*

www.SID.ir

Archive of SID

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) Ethylen 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.

www.SID.ir

Archive of SID

28. Sahebjamei 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 characterictics 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.

www.SID.ir