Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 48, No 1, Spring 2017 (123-131)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.117424.709

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۶ (ص ۱۳۱-۱۲۳)

تأثیر تیمار هیدروژن پراکسید در بهبود کیفیت پس از برداشت گل شاخه‌بریدهٔ آلسترومریا

امین صادقی[۱]، فاطمه نصیبی[۲*]، همایون فرهمند[۳] و فخرالسادات حسینی[٤]
۱ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲ و ٤. دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۲/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/٦/۲۰)

چکیده

در این بررسی آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار برای بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکسید (۲۰۰،٤۰۰،٦۰۰ میکرومولار) بر عمر گلجایی (vase life) و بهبود کیفیت پس از برداشت گل شاخه‌بریدهٔ آلسترومریا انجام شد. همهٔ غلظت‌های به‌کاررفتهٔ هیدروژن پراکسید (H_2O_2) عمر گلجایی را افزایش داد که بیشترین عمر گلجایی در تیمار هیدروژن پراکسید ٦۰۰ میکرومولار مشاهده شد که هفت روز بیشتر از گل‌های شاهد بود. هیدروژن پراکسید همچنین باعث کاهش پژمردگی گلچه‌ها، میزان MDA و کاهش هدررفت آب در مقایسه با گل‌های شاهد شد. درحالی‌که فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز وگایاکول پراکسیداز را در گلبرگ‌ها افزایش داد. فعالیت آنزیم کاتالاز تنها در تیمار ٦۰۰ میکرومولار افزایش معنی‌دار داشت. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد که هیدروژن پراکسید فعالیت این آنزیم را در گلبرگ‌ها به میزان معنی‌داری نسبت به گل‌های شاهد کاهش داده است. داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، کاربرد هیدروژن پراکسید برون‌زا در غلظت‌های بهینه به‌عنوان یک مولکول سیگنال عمل کرده و از راه کاهش پراکسیداسیون لیپید، القاء فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) و جلوگیری از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز باعث افزایش عمر گلجایی و بهبود کیفیت پس از برداشت گل آلسترومریا شد.

واژه‌های کلیدی: **آنزیم‌های پاداکسنده، پراکسیداسیون لیپید، عمر گلجایی، هیدروژن پراکسید.**

Effect of hydrogen peroxide treatment on improvement of the postharvest quality of cut *Alstroemeria* cut flowers

Amin Sadeghi[1], Fatemeh Nasibi[2*], Homayoun Farahmand[3] and Fakhrosadat Hosseni[4]
1, 3. M. Sc. Students and Associated Professor, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran
2, 4. Associated Professor and Former M. Sc. Student, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

(Received: May 9, 2015 - Accepted: Sep. 11, 2015)

ABSTRACT

In this study a CRD experiment with three replications was carried out to assess the effect of different concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) (200, 400 and 600 µM) on the improvement of vase life and postharvest quality of cut *Alstroemeria* flowers. All of applied hydrogen peroxide concentration increased the vase life of cut flowers. The highest vase-life was obtained in 600 µM H_2O_2 which increased vase-life for 7 extra days in comparison with control flowers. Hydrogen peroxide also decreased the floral wilting, MDA content and water loss of flowers compared to control flower, while increased the ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase enzymes activity. Catalase activity increased significantly only in 600 µM H_2O_2 treatment. Polyphenol oxidase activity assay in petal showed that hydrogen peroxide decreased the activity of this enzyme significantly in comparison with control flowers. Data of this research showed that the application of exogenous hydrogen peroxide in optimal concentration act as signal molecule and through decrease of lipid peroxidation, induction of the antioxidant enzymes activity and the inhibition of polyphenol oxidase activity increased the vase life and postharvest quality of cut *Alstroemeria* flowers.

Keywords: Antioxidant enzymes, hydrogen peroxide, lipid peroxidation, vase life.

* Corresponding author E-mail: nasibi2002@yahoo.com Tel: +98 913 242 5631; +98 3433222066

مقدمه

پیری پس از برداشت، یکی از محدودیت‌های نگهداری گل‌های شاخه‌بریده است و تلاش‌های زیادی برای افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده انجام شده است. این مسئله باعث افزایش زمان بازارپسندی گل‌ها شده و از لحاظ اقتصادی بسیار اهمیت دارد. در بررسی‌های چندی، گزارش شده است که برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تنظیم پیری گل‌ها دخالت دارند و تغییر در سطوح این ترکیب‌ها به‌عنوان یک پیام تنظیم‌کننده در پدیدهٔ پیری عمل کرده و ممکن است آن را با تأخیر بیندازد (Serek & Reid, 1997; Singh *et al.*, 2008; Emongor, 2004). افزایش گونه‌های اکسیژن فعال یکی از تغییرپذیری‌های شیمیایی مهم است که در پدیدهٔ پیری رخ می‌دهد (Fu & Huang, 2001). الکترون‌های نشت کرده از زنجیرهٔ انتقال الکترون می‌توانند با اکسیژن مولکولی حاصل از سوخت‌وساز (متابولیسم) طبیعی گیاه، ترکیب‌شده و تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل کند. این گونه‌های اکسیژن سمی و بسیار واکنش‌پذیرند و در نبود سازوکارهای حفاظتی می‌توانند سوخت‌وساز طبیعی یاخته را به میزان زیادی مختل کنند (Smirnoff, 1993). این رادیکال‌ها از راه پراکسیداسیون لیپیدها و درنتیجه تخریب غشاء (Beligni & Lamattina, 1999)، تخریب پروتئین‌ها (Yussefian *et al.*, 2001)، غیرفعال کردن آنزیم‌ها (Tian & Li, 2006)، از بین بردن رنگیزه‌ها (Loggini, 1999) و اختلال در عملکرد DNA (Tian & Li, 2006) تنش ثانویهٔ اکسایشی (اکسیداتیو) ایجاد می‌کنند که منجر به آسیب جدی به ساختارهای یاخته‌ای و در نهایت مرگ می‌شود. گیاهان در رویارویی با اثرگذاری زیانبار تولید گونه‌های اکسیژن فعال سازوکارهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که شامل سازوکارهای آنزیمی و غیر آنزیمی است که یاخته را توانمند می‌سازد تا با گردآوری انواع گونه‌های اکسیژن فعال و احیای آن‌ها به آب از آسیب به ساختارهای اساسی پیشگیری کند (Chen *et al.*, 2004).

در گیاهان هیدروژن پراکسید (H_2O_2) یکی از اصلی‌ترین و با ثبات‌ترین گونه‌های اکسیژن فعال است که عملکردهای آن در فرآیندهای اساسی گیاه مانند نمو، سوخت‌وساز و برابری به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاه گزارش شده است (Bienert *et al.*, 2006; Ślesak *et al.*, 2007). برخلاف آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید از گونه‌های بدون بار الکتریکی است و به دلیل پایداری به نسبت بالایی که دارد می‌تواند از غشاء عبور کند و به‌عنوان یک پیامبر ثانویه در مسیرهای انتقال سیگنال طولانی فاصله شناخته شده است که می‌تواند منجر به سازگاری گیاهان به شرایط تنش شود (Vranová *et al.*, 2002). تحقیقات نشان داده است، هیدروژن پراکسید به‌طور مستقیم در تنظیم بیان ژن‌های چندی درگیر در فعالیت‌های دفاعی گیاه و مسیرهای مرتبط مانند آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان)، پروتئین‌های دفاعی و عامل‌های نسخه‌برداری نقش دارد (Delauney & Verma, 1993). در سال ۲۰۰۵ این فرضیه مطرح شد که هیدروژن پراکسید در پاسخ به تیمار با برخی مواد سیگنالینگ نیز تولید می‌شود و می‌تواند منجر به ساخت و یا فعال شدن عامل‌های رونویسی شود که فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده را القا می‌کنند (Agraval *et al.*, 2005). این در حالی است که سطوح بالای هیدروژن پراکسید به‌طورمعمول در یاخته ایجاد سمیت می‌کند و باعث آسیب به یاخته‌های گیاهی می‌شود (Li *et al.*, 2011). در گیاه ذرت اضافه کردن هیدروژن پراکسید به محلول غذایی، منجر به افزایش تحمل به نمک از راه فعالیت پاداکسنده‌ها و کاهش پراکسیداسیون چربی‌های غشا شده است (Gondim *et al.*, 2010).

گل آلسترومریا یکی از انواع محبوب گل‌های شاخه‌بریده است که به وفور در ایران استفاده می‌شود. این گل در آغاز در خانوادهٔ سوسن‌سانان[1] طبقه‌بندی شده بود و پس از آن در خانوادهٔ نرگس‌سانان[2] قرار گرفت، امروزه گیاه‌شناسان این گیاه را در خانوادهٔ خود یعنی Alstroemeriaceae قرار داده‌اند. گیاهی تک‌لپه،

1. Liliaceae
2. Amarilidaceae

یک‌ساله یا چندساله حساس به سرما که در مناطق گرمسیری به‌صورت علفی دائمی است آلسترومریا بومی آمریکای جنوبی است و در کشورهای پرو، کلمبیا، اکوادور، مکزیک، برزیل، آرژانتین و شیلی یافت می‌شود و حدود ۹۰ گونه دارد (Ghasemi Ghahsare & Kafi, 2005).

تأثیر هیدروژن پراکسید به‌عنوان یک مولکول سیگنالینگ در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است اما اطلاعات محدودی در مورد تأثیر این ماده در افزایش عمر گلجایی و بهبود کیفیت پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده در دست است. لذا هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکسید در افزایش عمر گلجایی و ارتباط آن با برخی فراسنجه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل آنزیم‌های پاداکسنده در گل‌های شاخه‌بریدهٔ آلسترومریا بود. در این پژوهش تأثیر هیدروژن پراکسید بر پژمردگی گل آلسترومریا و فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی سعی شد گل‌های هم‌اندازه و همسان خریداری شود. شاخهٔ همهٔ گل‌ها در زیرآب باز برش شد و طول ساقه در همهٔ گل‌ها نزدیک به ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی انجام گرفت. برای هر تیمار شش شاخه گل در نظر گرفته شد. این شاخه‌های گل درون ظرف‌های پلاستیک حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر از محلول‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار هیدروژن پراکسید قرار گرفت. این غلظت‌ها در آزمایش‌های مقدماتی بهینه شدند. در این آزمایش آب مقطر به‌عنوان محلول شاهد استفاده شد.

عمر گلجایی و گلچهٔ پژمرده

پس از ده روز هنگامی‌که گل‌های شاهد پژمرده شدند، شمار گلچهٔ پژمرده شمارش شد. پایان عمر گلجایی (vase life) هنگامی در نظر گرفته شد که گلبرگ‌های گل پژمرده شدند و ارزش بازارپسندی خود را از دست دادند.

سنجش میزان کاهش وزن گل‌ها

برای سنجش میزان کاهش وزن گل‌ها در دو دوره، روز اول آزمایش و روز دهم که همان روز پایانی آزمایش بود اندازه‌گیری شد و آنگاه کاهش وزن تیمارها برحسب درصد ثبت شد. یعنی وزن اولیهٔ گل‌ها ۱۰۰درصد لحاظ شد و میزان اختلاف وزن روز اول و روز آخر آزمایش (روز دهم) به‌عنوان درصد کاهش وزن لحاظ شد.

سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا

اندازه‌گیری غلظت مالون دآلدئید (MDA) به روش Heath & Packer (1968) انجام شد. بنابر این روش ۰/۲ گرم از بافت گلبرگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصارهٔ به‌دست‌آمده با استفاده از دستگاه سانتریفوژ به مدت پنج دقیقه در g × ۵۰۰۰ سانتریفوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ناشی از سانتریفوژ، ۵ میلی‌لیتر محلول TCA ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد . مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجهٔ سلسیوس حمام آب گرم گرما داده شد. سپس بی‌درنگ در حمام یخ سرد و دوباره مخلوط به مدت ده دقیقه در g × ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. مادهٔ مورد نظر در این طول‌موج کمپلکس قرمزرنگ MDA-TBA است. جذب دیگر رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این میزان کسر شد. برای محاسبهٔ MDA از ضریب خاموشی معادل ۱۵۵×۱۰^{۵} mM^{-1} Cm^{-1} استفاده شد و نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری برحسب میکرومول برگرم وزن تر محاسبه و ارائه شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها

تهیهٔ عصارهٔ پروتئینی

۵۰۰ میلی‌گرم از بافت گلبرگ در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) ۱ درصد و EDTA ۱

میلی مولار بود، سائیده شد. همهٔ مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰× g و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت کاتالاز بر پایهٔ کاهش جذب هیدروژن پراکسید در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (Dhindsa *et al.*, 1981). مخلوط واکنش (۳میلی‌لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH =۷)، هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. با افزودن هیدروژن پراکسید به مخلوط، واکنش آغاز و کاهش در جذب هیدروژن پراکسید در مدت سی ثانیه در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد. برای محاسبهٔ واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل ۴۰ $mM^{-1} Cm^{-1}$ استفاده شد.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX)

در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH =۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، هیدروژن پراکسید ۰/۱ میلی مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر پایهٔ اکسایش (اکسیداسیون) آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبهٔ واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل ۲/۸ $mM^{-1} Cm^{-1}$ استفاده شد (Nakano & Asada, 1981).

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX)

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از پیش مادهٔ گایاگول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۱ درصد،۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسایش گایاکول در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری شد. میزان تتراگایاکول تولیدشده با استفاده از ضریب خاموشی معادل ۲۵/۵ $mM^{-1} Cm^{-1}$ محاسبه شد (Plewa *et al.*, 1991).

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO)

در این روش از پیروگالل به‌عنوان پیش مادهٔ آنزیم استفاده شد. در این واکنش مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتربافر پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر و پس از سه دقیقه خوانده شد. ضریب خاموشی استفاده‌شده برای محاسبهٔ واحد آنزیمی معادل ۶/۲ $mM^{-1} Cm^{-1}$ بوده است (Nicoli *et al.*, 1991).

سنجش میزان پروتئین کل

برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ پروتئینی افزوده شد و به‌شدت تکان (ورتکس) داده شد. پس از پنج دقیقه جذب آن با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه شد (Bradford, 1976).

تجزیهٔ آماری

این پژوهش بر پایهٔ طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده‌های پژوهش، با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه شد و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

پیری در گل‌ها همراه با تغییر در نفوذپذیری غشاء، نشت یون‌ها، تنظیم آنزیم‌های پاداکسنده، تخریب پروتئین، لیپید، کربوهیدرات‌ها، نوکلئیک اسید و نداشتن تعادل هورمون‌های گیاهی همراه است (Buchanan-Wollaston *et al.*, 200). گل‌های شاخه‌بریده عمر کوتاهی داشته و این مسئله یکی از

چالش‌ها و محدودیت‌های صنعت تولید گل در جهان است لذا کاربرد ترکیب‌های برون‌زا برای تأخیر در پیری گل‌های شاخه‌بریدهٔ اهمیت اقتصادی ویژه‌ای در این زمینه دارد. تاکنون گزارش‌های چندی مبنی بر استفاده از ترکیب‌های برون‌زا مانند بازدارنده‌های اتیلن، قندها و ترکیب‌های ضد میکروبی برای افزایش عمر گلجایی وجود دارد (Shimizu & Ichimura, 2009; Huang & Chen, 2002). در سال‌های اخیر مشاهده شده است که استفاده از برخی از ترکیب‌ها که نقش سیگنالینگ در گیاهان دارند مانند سالیسیلیک اسید (Zamani *et al.*, 2011)، نیتریک اکسید (Mostofi *et al.*, 2010) و یا هیدروژن سولفید (Zhang *et al.*, 2011) می‌توانند باعث افزایش کیفیت پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریده شوند. هیدروژن پراکسید یکی از گونه‌های اکسیژن فعال است که برخلاف دیگر گونه‌های اکسیژن فعال، غیر رادیکالی و بدون شارژ است و به دلیل ثبات و انتشار قابل ملاحظهٔ آن از عرض غشاء به‌عنوان یک مولکول سیگنالینگ در گیاهان شناخته شده است که به‌عنوان پیامبر ثانویه باعث جریان Ca^{2+}، تغییر پروتئین و بیان ژن می‌شود (Bienert *et al.*, 2006). افزون بر این مشاهده شده است که هیدروژن پراکسید در بسیاری از فرایندهای گیاهی مانند برابری و دفاع در برابر تنش‌های گیاهی و نمو نیز دخالت دارد (Ślesak *et al.*, 2007). داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد که هیدروژن پراکسید در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و۶۰۰ میکرومولار عمر گلجایی را نسبت به شاهد افزایش داد. بالاترین عمر گلجایی (۱۷ روز)، در تیمار هیدروژن پراکسید۶۰۰ میکرومولار مشاهده شد که در مقایسه با شاهد، هفت روز افزایش یافت (جدول۱). این بررسی نشان داد، هیدروژن پراکسید در همهٔ غلظت‌های به‌کاررفته، درصد گلچه‌های پژمرده را نسبت به شاهد کاهش داد که در این بین غلظت ۶۰۰ میکرومولار، ۶۲ درصد گلچه‌های پژمرده را نسبت به شاهد کاهش داد و بیشترین اثرگذاری را داشت (جدول۱). کاربرد هیدروژن پراکسید در محلول گلجایی همچنین باعث کاهش هدررفت آب در گل‌های شاخه‌بریدهٔ آلسترومریا شد. همهٔ شاخه‌های گل تیمارشده با H_2O_2 در همهٔ غلظت‌ها کاهش وزن کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند، در این بین کمترین میزان کاهش وزن مربوط به تیمار هیدروژن پراکسید۶۰۰ میکرومولار بود (جدول۱). این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده از فراسنجه‌های اکسایشی (اکسیداتیو) گل‌ها همخوانی داشت. این اثرگذاری هیدروژن پراکسید می‌تواند به دلیل ارتباط آن با هورمون ABA و القاء بسته شدن روزنه باشد که در بررسی‌های پیشین نیز گزارش شده است (Liao *et al.*, 2012). در برخی بررسی‌ها از این اثرگذاری هیدروژن پراکسید برای افزایش تحمل به تنش خشکی استفاده شده است (Liao *et al.*, 2012). البته در این آزمایش مشاهده شد که باوجودی که ساقهٔ گل‌ها در زمان‌های متناوب در زیرآب باز برش شدند اما ساقهٔ گل‌هایی که در محلول گلجایی حاوی هیدروژن پراکسید بودند استحکام و تازگی بیشتری داشتند و له شدگی ساقه و بسته شدن مجاری آوندی در این گل‌ها به میزان کمتری مشاهده شد که این امر نیز می‌تواند باعث بهبود روابط آبی و جلوگیری از کاهش وزن گل شود. به نظر می‌رسد که هیدروژن پراکسید به دلیل داشتن خاصیت ضدعفونی از رشد باکتری‌ها در محلول گلجایی و اثر آن‌ها در بستن مجاری آوندی جلوگیری کرده باشد.

جدول ۱. تأثیر هیدروژن پراکسید بر عمر گلجایی، کاهش وزن و گلچهٔ پژمردهٔ گل شاخه بریدهٔ آلسترومریا

Table 1. Effect of hydrogen peroxide on vase life, loss of weight and floral wilting of *Alstroemeria* cut flower

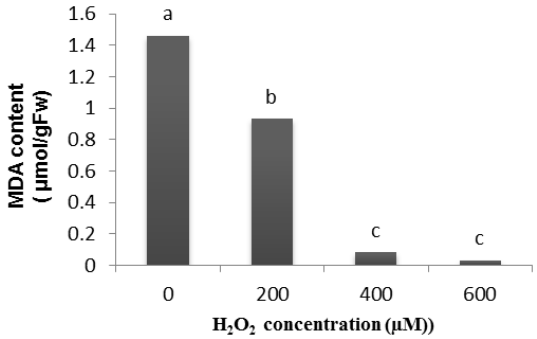
Treatments (Micromolar)	Vase life (Day)	Loss of weight (%)	Floral wilting (%)
Hydrogen peroxide(200)	10.33c	12.13 [b]	34 [b]
Hydrogen peroxide(400)	15.66 [b]	14.9 [b]	41.33 [b]
Hydrogen peroxide(600)	17.66 [a]	5.56 [c]	18 [c]
Control	10 [d]	21.13 [a]	80 [a]

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بین تیمارها می باشد.

Different letters in each column indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

تغییر در پایداری غشاهای زیستی (بیولوژی) یکی از نشانه‌های آسیب‌رسانی به یاخته‌ها بوده که در شرایط تنش یا فرآیند پیری تسریع می‌یابد، به همین دلیل سنجش مالون دآلدئید به‌عنوان محصول ناشی از

پراکسایش لیپیدهای غشایی یکی از شاخص‌های تنش در گیاهان به شمار می‌آید (Farooq & Azam, 2006). اندازه‌گیری میزان مالون دآلدئید در بافت گلبرگ‌های گل آلسترومریا نشان داد، هیدروژن پراکسید در همهٔ غلظت‌های به‌کاررفتهٔ پراکسایش لیپیدها را در یاخته‌های گلبرگ کاهش داد (شکل۱) که خود می‌تواند دلیلی بر نقش هیدروژن پراکسید در حفظ تمامیت غشاء یاخته‌ای و جلوگیری از نشت یون و پیری گلبرگ‌ها باشد. نقش هیدروژن پراکسید در کاهش MDA در گیاه گندم (He *et al.*, 2009) و ذرت (Gondim *et al.*, 2010) در شرایط تنش شوری نیز گزارش شده است. گونه‌های اکسیژن فعال در نتایج نداشتن تعادل بین تولید و هدف آن‌ها از یاخته ایجاد می‌شوند و وجود آن‌ها باعث آسیب زیاد به اجزاء مختلف یاخته می‌شود (Mittler, 2002).



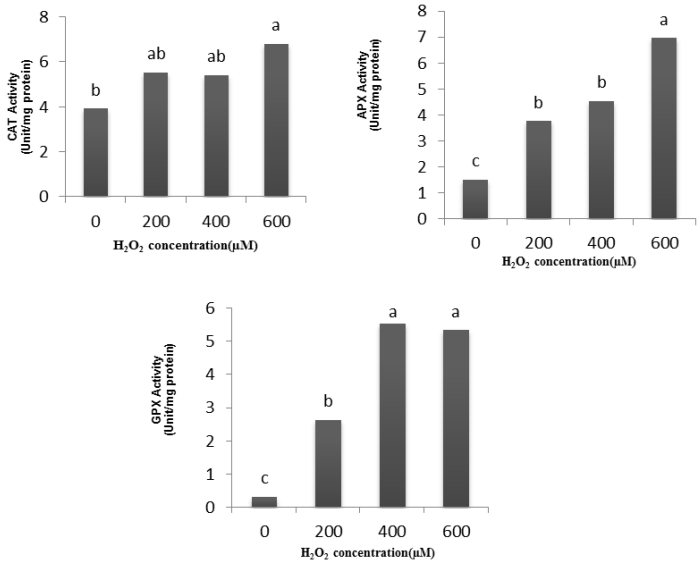
شکل ۱. تأثیر تیمارهای مختلف هیدروژن پراکسید بر مقدار مالون دآلدئید در گل شاخه بریده آلسترومریا

Figure 1. Effect of different treatments of hydrogen peroxide on MDA content in *Alstroemeria* cut flower

گزارش شده است که در گل‌ها، پیری گلبرگ با تولید پیوسته و سریع رادیکال‌های آزاد مرتبط است و یکی از راه‌هایی که یاخته‌ها برای رویارویی با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال در پیش می‌گیرند افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده از جمله کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز است (Nasibi, 2011). مشاهده شده است که افزایش فعالیت این آنزیم‌ها پیری گل‌ها را به تأخیر انداخته است (Kumar *et al.*, 2010). در این پژوهش برای بررسی نقش هیدروژن پراکسید بر سامانهٔ پاداکسندگی آنزیمی، فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX اندازه‌گیری شد.

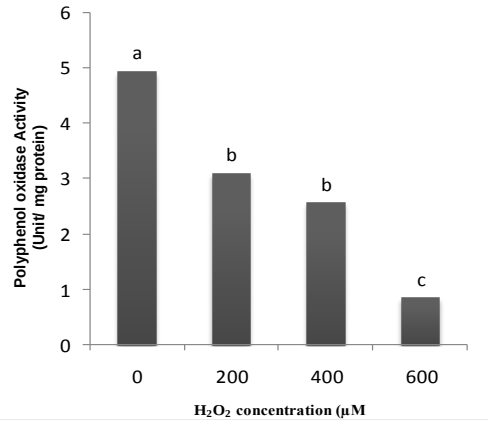
هیدروژن پراکسید در غلظت‌های مختلف نقش به سزایی در افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده به‌ویژه APX و GPX داشته است و این مؤید نقش این مولکول سیگنالینگ در القاء فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده و جلوگیری از آسیب‌های اکسایشی ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد است. البته غلظت ۶۰۰ میکرومولار هیدروژن پراکسید بیشترین تأثیر را در افزایش فعالیت این آنزیم‌ها داشت (شکل ۲). مقایسهٔ این داده‌ها با داده‌های به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری عمر گلجایی نشان‌دهندهٔ نقش پاداکسندگی هیدروژن پراکسید در به تأخیر انداختن پیری گل‌ها است. نقش هیدروژن پراکسید در القاء فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده در گیاهان مختلف در شرایط تنش‌های غیرزیستی نیز گزارش شده است (Wahida *et al.*, 2007; Ashfaque *et al.*, 2014).

آنزیم پلی فنل اکسیداز یکی از آنزیم‌های یاخته‌ای است که با اکسایش فنل‌ها ایجاد رنگ قهوه‌ای می‌کند که در مورد گل‌های شاخه‌بریده باعث کاهش کیفیت و بازارپسندی آن‌ها می‌شود. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده، آنزیم PPO بالاترین میزان فعالیت را در گلبرگ‌های گل‌های شاهد داشت و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار هیدروژن پراکسید ۶۰۰ میکرومولار مشاهده شد. H_2O_2 در هر سه غلظت ۲۰۰ و ۴۰۰ و ۶۰۰ میکرومولار به ترتیب ۵۶درصد و ۶۵درصد و ۷۵ درصد فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد کاهش داد (شکل۳). کاهش فعالیت این آنزیم نیز می‌تواند یکی از دلایل افزایش کیفیت پس از برداشت گل‌های شاخه‌بریدهٔ آلسترومریا در شرایط تیمار با هیدروژن پراکسید باشد.



شکل ۲. تأثیر تیمارهای مختلف هیدروژن پراکسید بر میزان آنزیم‌های پاداکسندگی در گل شاخه بریده آلسترومریا

Figure 2. Effect of different treatments of hydrogen peroxide on antioxidant enzymes in *Alstroemeria* cut flower



شکل ۳. تأثیر تیمارهای مختلف هیدروژن پراکسید بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گل شاخه بریده آلسترومریا

Figure 3. Effect of different treatments of hydrogen peroxide on polyphenol oxidase enzyme activity in *Alstroemeria* cut flower

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی داده‌های به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، کاربرد برون‌زای هیدروژن پراکسید در غلظت‌های بهینه به‌عنوان یک مولکول سیگنال عمل کرده و با کاهش پراکسایش لیپید، فعال کردن سامانهٔ پاداکسندگی و جلوگیری از فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز باعث افزایش عمر گلجایی و بهبود کیفیت پس از برداشت گل آلسترومریا می‌شود. ازآنجایی‌که هیدروژن پراکسید بدون اثرگذاری زیست‌محیطی است، می‌تواند جایگزین خوبی برای ترکیب‌هایی باشد که برای افزایش عمر گلجایی استفاده می‌شوند و پسماندهای آن‌ها اثرگذاری سوء زیست‌محیطی دارد.

REFERENCES

1. Agarwal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Tyagi, A. & Meena, R. C. (2005). Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Science*, 169, 559-570.
2. Ashfaque, F., Iqbal, M., Khan, R. & Khan, N. (2014). Exogenously applied H_2O_2 promotes proline accumulation, water relations, photosynthetic efficiency and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Annual Research & Review in Biology*, 4, 105-120.

3. Beligni, M. V. & Lamattina, L. (1999). Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. *Planta*, 208, 337-344.
4. Bienert, G. P., Schjoerring, J. K. & Jahn, T. P. (2006). Membrane transport of hydrogen peroxide. *Biochemistry and Biophysic Acta*, 1758, 994-1003.
5. Bradford, M. N. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Biochemistry*, 72, 248-254.
6. Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navab-pour, S., Page, T. & Pink, D. (2003). The molecular analysis of plant senescence a genomics approach. *Plant Biotechnology Journal*, 1, 3-22.
7. Chen, H., McCarig, B., Melotto, M., Yang He, S. & Howe, G. A. (2004). Regulation of plant arginase by wounding, Jasmonate and the phytotoxin coronatine. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 45998-46007.
8. Delauney, A. J. & Verma, D. P. (1993). Proline biosynthesis and degradation in plants. *Plant Journal*, 4, 215-223.
9. Dhindsa, R. S., Dhinds, D. & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101.
10. Emongor, V. E. (2004). Effects of gibberellic acid on post-harvest quality and vase life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonnii*). *Agronomy*, 3, 191-195.
11. Farooq, S. & Azam, F. (2006). The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. *Journal of Plant Physiol*ogy, 163, 629-637.
12. Fu, J. & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidant and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45, 105-114.
13. Ghasemi Ghahsare, M. & Kafi, M. (2005). *Scientific and practical floriculture*. Publications Golbon Isfahan, Iran. 312 p. (in Farsi)
14. Gondim, F., Gomes-Filho, E., Lacerda, C., Prisco, Tarquinio, J., Azevedo Neto, A. & Marques, E. (2010). Pre-treatment with H_2O_2 in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22(2), 103-112
15. He, L., Gao, Z. & Li, R. (2009). Pretreatment of seed with H_2O_2 enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 8, 6151-6157.
16. Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Journal of Archive Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
17. Huang, K. L. & Chen, W. S. (2002). BA and sucrose increase vase life of cut *Eustoma* flower. *Horticultural Science*, 37, 547-549.
18. Kumar, N., Pal, M., Singh, A., Sairam, R. & Srivastava, G. C. (2010). Exogenous proline alleviates oxidative stress and increase vase life in rose (*Rosa hybrida* L. 'Grand Gala'). *Scientia Horticulturae*, 127, 79-85.
19. Li, J. T., Qui, Z. B., Zhang, X. W. & Wang, L. S. (2011). Exogenous hydrogen peroxide can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 33, 835-842.
20. Liao, W., Zhang, M., Huang, G. & Yu, J. (2012). Hydrogen peroxide in the vase solution increases vase life and keeping quality of cut oriental × trumpet hybrid lily 'Manissa'. *Scientia Horticulturae*, 139, 32-38.
21. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences*, 7, 405-410.
22. Mostofi, Y. P., Rasooli, R., Naderi, Gh., Marandi, B. & Shafiee, M. (2010). Study the effect of nitric oxide and tidiazorone on vase life and some quality characteristics of *Dianthus* cut flower. *Horticultural Journal*, 41, 310-308. (in Farsi)
23. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
24. Nasibi, F. (2011). Effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on oxidative damages induced by drought stress in tomato plant. *Journal of Plant Biology*, 9, 63-74. (in Farsi)
25. Nicoli, M. C., Elizable, B. E., Piotti, A. & Lerici, C. R. (1991). Effect of sugar and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. *Journal of Food Biochemistry*, 15, 169-184.
26. Plewa, M. J., Smith, S. R. & Wanger, E. D. (1991). Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research*, 247, 57-64.
27. Serek, M. & Reid, M. S. (1997). Use of growth regulators for improving the postharvest quality of ornamentals. *Perishables Handling*, 92, 7-8.
28. Shimizu-Yumoto, H. & Ichimura, K. (2009). Abscisic acid, in combination with sucrose, is effective as a pulse treatment to suppress leaf damage and extend foliage vase-life in cut *Eustoma* flowers. *Journal of Horticultural Sciences and Biotechnology*, 84, 107-111.

29. Singh, A., Kumar, J. & Kumar, P. (2008). Effects of plant growth regulators and sucrose on post harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. *Plant Growth Regulation*, 55, 221-229.
30. Ślesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S. & Miszalski, Z. (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signaling in response to environmental stresses. *Acta Biochemical*, 54, 39-50.
31. Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytology*, 125, 27-58.
32. Tian, X. & Li, Y. (2006). Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, 50, 775-778.
33. Vranová, E., Inzé, D. & Van Breusegem, F. (2002). Signal transduction during oxidative stress. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1227-1236.
34. Wahida, A., Perveena, M., Gelania, S. & Basrab, S. (2007). Pretreatment of seed with H_2O_2 improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology*, 164, 283-290.
35. Youssefian, S., Nakamura, M., Orudgev, E. & Kondo, N. (2001). Increased cysteine biosynthesis capacity of transgenic tobacco over expressing an O-acetylserine (thiol) lyase modifies plant responses to oxidative stress. *Plant Physiology*, 126, 1001-1011.
36. Zamani, S., Kazemi, M. & Aran, M. (2011). Postharvest life of cut rose flowers as affected by salicylic acid and glutamin. *World Applied Sciences Journal*, 12, 1621-1624.
37. Zhang, H., Hu, S. L., Zhang, Z. J., Hu, L. Y., Jiang, C. X., Wei, J., Liu, J., Wang, H. L. & Jiang, S. T. (2011). Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 251-257.