Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 48, No 3, Autumn 2017 (715-722)
DOI: 10.22059/ijhs.2017.200527.941

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۸، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۶ (ص ۷۲۲-۷۱۵)

ارزیابی بیان ژن ACO و فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تأثیر اسیدسالیسیلیک و عصارۀ گیاهی در دو رقم گل شاخه بریدنی میخک مینیاتوری

محمدحسن حیدری علمدارلو[۱]، حسین مرادی[۲*]، مهناز کریمی[۲] و ولی‌اله قاسمی عمران[۲]
۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۲/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/٦/۱٦)

چکیده

میخک یکی از مهم‌ترین گل‌های شاخه بریدنی جهان است. طول عمر کوتاه این گل باعث کاهش ارزش اقتصادی آن می‌شود. به کمک برخی از مواد می‌توان ماندگاری گل‌های بریدنی را افزایش داد. بنابراین آزمایشی برای افزایش عمر گل‌های بریدنی با استفاده از تیمار هورمونی سالیسیلیک اسید و عصارۀ گیاهی انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی با ده تیمار (غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید، عصارۀ مرزه و شاهدانه) و چهار تکرار با دو رقم گل بریدنی میخک مینیاتوری انجام شد. عامل‌هایی مانند عمرگلجایی، آنزیم پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) کاتالاز و میزان بیان نسبی ژن ACC اکسیداز (ACO) ارزیابی شد. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد، اثر متقابل تیمار و رقم در عمرگلجایی مؤثر بوده و رقم spectro عمر گلجایی بیشتری نسبت به رقم pretty tessino داشت. در تیمار سالیسیلیک اسید ۱۵۰ppm عمر گلجایی و فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتر و بیان نسبی ژن ACO کمتر از دیگر تیمارها و شاهد بود. تیمارهای عصارۀ گیاهی مرزه و شاهدانه در غلظت‌های بالا افزون بر تأثیر مثبت در عمرگلجایی و فعالیت آنزیم کاتالاز، بیان شدن ژن ACO را کاهش داد. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از این تیمارها می‌تواند مکمل و یا جایگزین مناسبی برای تیمارهای شیمیایی دیگر باشد.

واژه‌های کلیدی: سالیسیلیک اسید، عصارۀ شاهدانه، عصارۀ مرزه، عمرگلجایی.

ACO gene expression and catalase activity under the influence of salicylic acid and plant extracts in two miniatures Carnation cut flowers

Mohammad Hassan Heydari Alamdarlou[1], Hossein Moradi[2*], Mahnaz Karimi[2] and Vali-ollah Ghasemi Omran[2]
1, 2. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University, Sari, Iran
(Received: Feb. 27, 2016 - Accepted: Sep. 6, 2016)

ABSTRACT

Carnation is one of the most important cut flowers in the world. The flower is to reduce the economic value due to its short vase life. Some materials can be used to help increase the vase life of cut flowers. According to this, using salicylic acid hormone and plant extracts treatment increased the shelf life of cut flowers. Factorial experiment based on a completely randomized design was conducted with 10 treatments (Different concentrations of salicylic acid, Savory and hemp extracts) and four replications with two varieties of miniature carnation. Factors such as vase life, antioxidant enzymes catalase and the relative gene expression ACC oxidase (ACO) were evaluated. Results showed that the interaction of treatments and cultivars was effective in vase life. Spectro cultivar vase life was more than a pretty tessino cultivar. Salicylic acid at 150ppm increased vase life and catalase activity. In addition, this treatment decreased relative ACO gene expression more than the other treatments and control. Savory and hemp extract treatments at high concentrations increased vase life as well as catalase activity, but ACO expression decreased. So it seems that the use of these treatments can be complementary or good alternative to other chemical treatments.

Keywords: Hemp extract, Savory extract, Salicylic acid, Vase life.

* Corresponding author E-mail: moradiho@yahoo.com

مقدمه

امروزه پرورش و عرضهٔ گل‌ها و گیاهان زینتی به‌عنوان یک حرفه در زیرمجموعهٔ بخش کشاورزی جایگاه و ارزش خاصی دارد. در شرایطی که سالانه بیش از ۱۰۰ میلیارد دلار انواع گل و گیاهان زینتی در جهان تولید و دادوستد می‌شود، سهم کشورمان از این بازار تنها ۲/۱ درصد است که تناسبی با ظرفیت‌ها و توانمندی‌های کشور ندارد (Agricultural statistics, 2008). میخک اصطلاحی است که برای گیاهان گروه *Dianthus caryophyllus* L. به کار می‌رود. این گیاه به‌عنوان گل زینتی در باغ‌ها و صنعت گل‌های شاخه بریدنی استفاده می‌شود. در سدهٔ نوزدهم کشت تجاری میخک به‌طور گسترده در فرانسه که شامل تولید در فضای آزاد و گلخانه بود، صورت گرفت. پس از انتقال ذخایر توارثی (ژرم پلاسم) این گیاه به ایالات‌متحدهٔ آمریکا، بهنژادی و پرورش میخک برای بازار گل‌های شاخه بریدنی رونق یافت (Galbally & Galbally, 1997). این گیاه زینتی یکی از مهم‌ترین و پرفروش‌ترین گل‌های شاخه بریدنی جهان است. این گل طول عمر کوتاهی دارد که این مسئله تولید، فروش و صادرات پس از برداشت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Doel & Wilkins, 1999). میخک به لحاظ جذابیت و درآمد خوبی که دارد، جایگاه مناسبی را در بین گل‌های بریدنی پیداکرده است. لذا ضروری است به تولید، حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری آن توجه بیشتری داشت. توجه به این مسائل باعث افزایش خرید و درنتیجه تولید و صادرات بیشتر این گل خواهد شد. پیری یک عامل محدودکننده در بازاریابی بیشتر گل‌ها است و تلاش‌های فراوانی صورت گرفته است که با استفاده از اعمال تیمارهای مختلف ماندگاری گل‌ها را افزایش دهند (Da Silva, 2003; Halevy & Mayak, 1979). میخک یک گیاه فراز گرا (کلیماتریک) بوده و گاز اتیلن باعث تسریع مراحل نموی و پیری آن می‌شود (Woltering & Van Doorn, 1988). افزون بر این، گل میخک به تجمع باکتری‌ها در انتهای ساقه و محلول گلجایی که باعث انسداد آوندی و کاهش عمر گلجایی می‌شود، بسیار حساس است (Van Doorn *et al*., 1991). از سویی طولانی بودن عمر گلجایی گل‌های شاخه بریده در بازارپسندی آن‌ها نقش به‌سزایی دارد. بنابراین تیمارهایی که باعث افزایش عمر گلجایی و حفظ کیفیت گل‌ها می‌شوند جایگاه ویژه‌ای دارند. استفاده از مواد نگه‌دارنده در محلول گلجایی یکی از روش‌های متداول برای افزایش طول عمر گل‌ها است (Van Doorn, 1998). اسانس‌ها مواد مؤثرهٔ برخی از گیاهان دارویی هستند که بسیار طبیعی، ایمن و تجزیه‌پذیر هستند. اسانس‌ها با توجه به داشتن غلظت بالای ترکیب‌های فنولی، خاصیت ضد میکروبی دارند (Bounatirou *et al*., 2007). از جمله این ترکیب‌ها می‌توان تیمول، کارواکرول و اورژنول را نام برد (Lambert *et al*., 2001; Mihajilov *et al*., 2010). خواص ضد میکروبی اسانس‌ها باعث کاهش میزان باکتری‌ها در محلول گلجایی و آوندها شده و از این راه از انسداد آوندی جلوگیری می‌کنند (Solgi *et al*., 2009). Solgi *et al*. (2009) در نتایج بررسی‌های خود اعلام کردند که استفاده از اسانس‌های آویشن باغی و شیرازی و همچنین مواد مؤثرهٔ آن‌ها در محلول نگه‌دارندهٔ گل شاخه بریدنی ژربرا (*Grbera jamesonii*) باعث افزایش عمر گلجایی آن شد. Bayat *et al*. (2011) تأثیر اتانول و اسانس گیاهی آویشن، زنیان و مرزه را در افزایش عمر گلجایی گل بریدهٔ میخک بررسی کردند، اسانس‌ها در همهٔ غلظت‌ها باعث افزایش عمر گل شاخه بریدهٔ میخک شدند و دراین‌بین سهم اسانس گیاهی مرزه از اسانس‌های دیگر بیشتر بود. سالیسیلیک اسید به‌عنوان هورمون گیاهی باعث اثرگذاری فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بسیار در گیاهان می‌شود. سالسیلات‌ها به‌طورمعمول با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) و تقویت سامانهٔ پاداکسندگی یاخته‌ای، پیری را در گل‌ها به تأخیر می‌اندازند (Sood *et al*., 2006). نتایج به‌دست‌آمده از کاربرد پس از برداشت سالیسیلیک اسید روی گلایول (*Galadiolus grandiflora cv. Wings sensation*)، بالاترین میزان وزن تر، آنزیم پاداکسندگی، مقاومت غشا و در نتیجه تأخیر در پیری گلبرگ را نشان داد (Hatamzadeh *et al*., 2012). Hashemi *et al*. (2012) در نتایج آزمایشی روی گل

ژربرا (*Gerbera jamesoni*) دریافتند، در بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید، غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آن با کاهش پژمردگی گلبرگ، pH محلول نگه‌دارنده و رشد ریز جانداران (میکروارگانیسم‌ها)، بهترین تأثیر را روی افزایش جذب محلول نگه‌دارنده، مواد جامد محلول برگ، قطر ساقه و عمر گلجایی داشت. Park *et al.* (1992) در پژوهشی ژن‌های کدکنندهٔ ACC سنتتاز (*DcACS1*، *DcACS2* و *DcACS3*) و یک ژن کدکنندهٔ ACC اکسیداز (*DcACO1*) از میخک را شناسایی کردند. In *et al.* (2013) در نتایج پژوهشی نشان دادند، تیمار اتیلن به مدت ۱۲ ساعت و یا بیشتر از آن باعث کاهش سطح mRNA ژن‌های گیرنده (*DcETR1*، *DcERS1* و *DcERS2*) و ژن‌های *DcCTR* در میخک می‌شود. همچنین بیان کردند که تیمار اتیلن به مدت ۱۲ ساعت و بیشتر از آن باعث افزایش ژن‌های زیست‌ساخت (بیوسنتز)کنندهٔ اتیلن *DcACS1* و *DcACO1* در میخک می‌شود. امروزه هنوز اطلاعات کافی دربارهٔ تأثیر کاربرد اسانس‌ها در افزایش عمر گلجایی گل شاخه بریدهٔ میخک در دسترس نیست به همین منظور تأثیر سالیسیلیک اسید، عصارهٔ گیاهی مرزه و شاهدانه بر برخی از ویژگی‌های ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی)، فعالیت آنزیم پاداکسندگی کاتالاز و ارتباط آن با بیان ژن ACC اکسیداز (ACO) که در القاء پیری نقش دارد بررسی شد.

مواد و روش‌ها

گل بریدنی میخک (رقم Spectro و Pretty tessino) که در مرحلهٔ برداشت و نحوهٔ انتقال به آزمایشگاه در شرایط یکسان و همسانی قرار داشتند، تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای انجام آزمایش در آغاز شاخه‌های گل به ارتفاع یکسان (حدود ۳۰ سانتی‌متر) بریده شدند به این صورت که برای بریدن ساقهٔ هر شاخه گل درون آب قرارگرفته و بریده شد تا از ایجاد حباب هوا در آوندهای ساقه جلوگیری شود. زاویهٔ برش گل‌ها اریب بود و یک‌سوم از برگ‌های پایینی ساقهٔ گل قطع شدند (برای قرارگیری آسان در شیشه تیمار و جلوگیری از پوسیدگی و تجمع عامل‌های بیماری‌زا). پس از برش، شاخه‌ها به‌صورت دائم در تیمارهای تعیین‌شده قرار گرفتند. اتاق محل قرار گرفتن گل‌ها در طول آزمایش به‌طور دائم کنترل شد. این شرایط شامل اندازه‌گیری دمای محل توسط دماسنج کمینه در همهٔ مدت شبانه‌روز، نور مناسب و رطوبت ثابت بود. دمای اتاق کنترل در طول آزمایش ۲۳±۲ °C بود، نور اتاق ۱۵ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه (نور لازم با لامپ‌های مهتابی که به مدت ۱۲ ساعت در طول شبانه‌روز روشن بودند، تأمین شد) و رطوبت محیط که در حدود ۷۵ درصد بود. صفات مورد اندازه‌گیری شامل عمر گلجایی، آنزیم پاداکسندگی کاتالاز و بیان نسبی ژن ACC اکسیداز (ACO) بودند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کامل تصادفی در ده تیمار و چهار تکرار و با دو رقم گل بریدنی (رقم spectro و pretty tessino) به اجرا درآمد. تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش شامل شاهد (آب مقطر)، سالسیلیک اسید (SA) در سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام، عصارهٔ گیاهی شاهدانه در سه سطح ۵۰ ، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام و عصارهٔ گیاهی مرزه در سه سطح ۷۵ ، ۱۰۰ و ۱۲۵ قسمت در میلیون (پی‌پی‌ام) هستند.

سنجش آنزیم پاداکسندگی کاتالاز

۰/۲ گرم از نمونهٔ گلبرگ از پیش منجمد شده در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH =۶/۸) عصاره گیری شد. عمل همگن کردن به مدت پانزده دقیقه و با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس صورت پذیرفت. سپس محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. تجزیهٔ آب‌اکسیژنه با کاهش در جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتر) بررسی شد. فعالیت آنزیمی به‌صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Cakmak & Horst, 1991).

استخراج RNA کل از گلبرگ

محتوای RNA کل از گلبرگ‌ها با استفاده از ترایزول شرکت اینویتروژن استخراج و برای حذف آلودگی

DNA، نمونه‌ها توسط محلول DNase فاقد RNase، تیمار شدند. غلظت RNA کل با استفاده از طیف‌سنج نوری با اندازه‌گیری در جذب ۲۶۰ نانومتر تعیین شد.

تجزیهٔ بیان ژن ACO

تجزیهٔ بیان ژن با استفاده از روش Real-time RCR انجام شد. لازم به بیان است ژن اکتین (Actin) به‌عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. بدین منظور محتوای RNA با استفاده از روش نسخه‌برداری معکوس (RT-PCR) و توسط کیت ساخت (سنتز) cDNA شرکت BIONEER برای تهیهٔ cDNA استفاده شد. جفت آغازگر (پرایمر)های تخصصی ACO و Actin به‌ترتیب بر پایهٔ توالی ژن کدکنندهٔ *DcACO1* (AB042320.1) و *DcACT1* (AY007315.1) در گل میخک طراحی شد (جدول۱). Maxima SYBR ۲X Green/ROX qPCR Master Mix، آغازگرها، cDNA و آب بدون RNase ذوب شده، به دمای محیط رسانده و پس از یک اسپین کوتاه (short spin)، آمادهٔ استفاده شدند. مخلوط واکنش بنابر جدول ۲ آماده و به‌خوبی توسط پایپت هم زده شد و مقادیر مشخصی از

مخلوط آماده‌شده به چاهک‌ها انتقال یافت. cDNAهای رقیق‌شده به میزان ۱ میکرولیتر به چاهک‌های حاوی مخلوط واکنش اضافه شد. دستگاه CFX™ Thermal Cycler شرکت BIO RAD بنابر جدول ۳ برنامه‌ریزی شد. چاهک‌ها پس از سانتروفیوژ کوتاه چند ثانیه‌ای که به‌منظور از بین بردن حباب‌های تشکیل‌شده در چاهک‌ها صورت گرفت به درون دستگاه منتقل شدند. تجزیهٔ منحنی ذوب و الکتروفورز ژل آگارز برای بررسی اختصاصی بودن آن‌ها انجام شد. در نهایت سیگنال‌های فلورسنت در هر مرحلهٔ بسپارزایی (پلیمریزاسیون) در دستگاه CFX™ Thermal Cycler شرکت BIO RAD گردآوری شد. مقادیر آستانه‌ای (C_T) توسط نرم‌افزار داخلی دستگاه بنابر رابطهٔ $۲^{-(\Delta\Delta CT)}$ با مقادیر آستانه‌ای ژن اکتین و ژن ACO به‌دست‌آمده از cDNA همسان به‌عنوان الگو محاسبه شد.

داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه‌وتحلیل و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد. همچنین مقایسهٔ میانگین صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده در این بررسی به نقش مؤثر سالیسیلیک اسید ۱۰۰ppm و ۱۵۰ppm، عصارهٔ شاهدانه ۱۵۰ppm و عصارهٔ مرزه ۱۰۰ppmدر افزایش عمر گلجایی هر دو رقم گل بریدنی استفاده‌شده در این پژوهش دلالت دارد (شکل ۱). عمر پس از برداشت گل‌های بریدنی، اغلب در نتیجهٔ انسداد انتهای ساقه و آوندهای چوبی توسط میکروب‌ها، انسداد فیزیولوژیک و وجود هوا در آوندهای چوبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، که باعث جذب نکردن آب و یا ترشح آنزیم‌های خارج یاخته‌ای می‌شود که می‌تواند به دیوارهٔ یاخته‌ای لوله‌های آوندی آسیب برساند (Damunupola *et al*., 2010). ریزجانداران که در ظرف‌های آب رشد می‌کنند شامل باکتری‌ها، مخمرها و انواع کپک‌ها هستند که باعث بسته شدن آوند چوبی و کاهش کیفیت گل‌های بریدنی می‌شوند.

جدول ۱. جفت پرایمرهای تخصصی استفاده‌شده برای Real-time PCR

Table 1. Specific primers used for Real-Time PCR

Gene	Accession number	Forward primer	Reverse primer	Cycle
DcACO1	AB042320.1	TTGATTGGGAGAGCACCTTC	TCAATCTGGGCTGCAAACTC	40
DcACT1	AY007315.1	ACTATGAGCAGGAGCTCGAAAC	ATCATCGATGGCTGGAAGAG	40

جدول ۲. مواد استفاده‌شده برای Real-time PCR

Table 2. The material used for Real-time PCR

Material	Concentration
Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix X۲	1X
Forward primer	1µl
Reverse primer	1µl
cDNA	1µl
Nuclease free water	Until 10µl

تأثیر منفی ریزجانداران را در کاهش عمر گلجایی گل‌های بریدنی به مسدودکنندگی ساقه و تولید ترکیب‌های سمی نسبت می‌دهند. از سویی ریزجانداران در تولید اتیلن درون‌زا مؤثر بوده و به این روش نیز در کاهش عمر گلجایی گل‌های بریدنی نقش ایفا می‌کنند (Abraham *et al*., 1982; van Doorn & Witte, 1991). به نظر می‌رسد وجود ترکیب‌های ضد میکروبی در عصاره‌های گیاهی مرزه و شاهدانه باعث کاهش رشد ریزجانداران و در نتیجه کاهش انسداد آوندی و در نهایت افزایش عمر گلجایی شده باشد. Kazemi *et al.* (2011) در نتایج بررسی‌های خود اعلام کردند که محلول نگه‌دارندهٔ گل بریدنی ژربرا که حاوی سالیسیلیک اسید ۱/۵ میلی‌مولار بود عمر گلجایی و کیفیت گل را توسعه داد. آنان همچنین بیان کردند که سالیسیلیک اسید با تأثیر ضد میکروبی باعث کاهش جمعیت ریزجانداران و افزایش جذب محلول شد. این گزارش‌ها تأثیر ضد میکروبی این هورمون را در افزایش کیفیت و عمر گلجایی نشان می‌دهند که نتایج آن با نتایج این پژوهش همسو است.

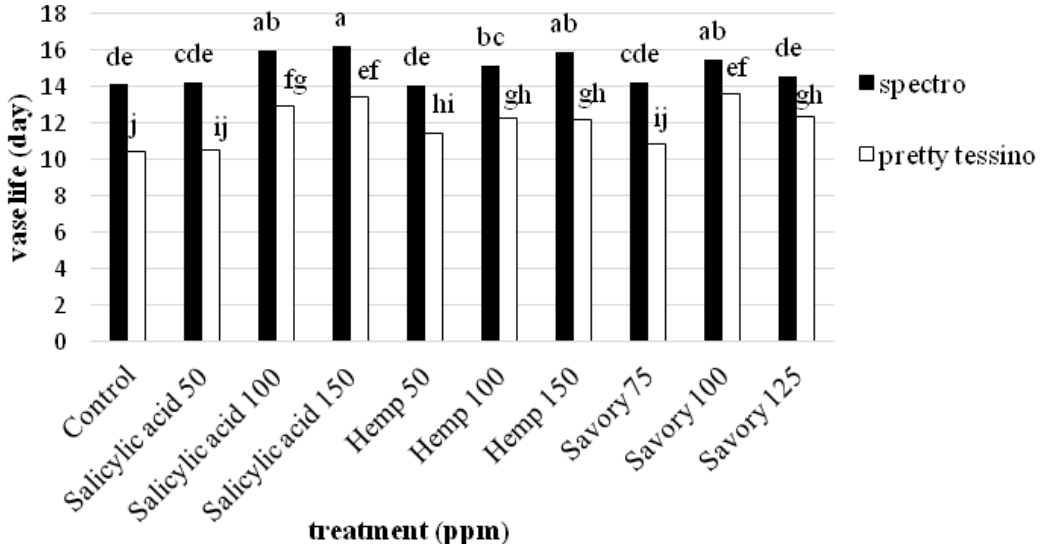
فعالیت عادی سوخت‌وساز یاخته‌ای در شرایط رشد به‌طور منظم منجر به تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌شود. بنابراین یاخته‌ها بالا رفتن میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌صورت کنترل نشده را احساس می‌کنند و از آن به‌عنوان یک سازوکار انتقال پیام برای فعال کردن پاسخ‌های محافظتی استفاده می‌کنند (Moller & Sweetlove, 2010). آنزیم کاتالاز که تا حدودی در همهٔ موجودهای زنده یافت می‌شود. از دسته پروتئین‌های آهن‌دار به‌شمار می‌آید و هنگامی در یاخته‌های گیاهی و جانوری وارد عمل می‌شود که میزان مادهٔ پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در محیط یاخته‌ای زیاد باشد. این آنزیم ساختار پروتئینی پورفیرینی چهارتایی با آهن داشته که وظیفهٔ شکستن ترکیب‌های رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن را دارد. کاتالاز، پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Du *et al*., 2008; Yang & Poovaiah; 2002). این آنزیم گیاهان را در برابر تنش‌های محیطی محافظت می‌کند فعالیت آنزیم کاتالاز در حضور فسفیت پتاسیم بالا می‌رود. آنیون فسفیت از پاسخ‌های گیاهی به کمبود فسفات مانند ساخت فسفاتاز اسیدازها، فسفودی‌استرازها و نوکلئوتیدها جلوگیری می‌کند (Ávila *et al*., 2013). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده که بیشترین فعالیت آنزیم در هر دو رقم مربوط به تیمار سالیسیلیک ۱۵۰ppm و شاهدانه ۱۵۰ppm در مرحلهٔ نزدیک به پیری گل بریدنی میخک بود می‌توان به نقش مؤثر تیمارهای صورت پذیرفته پی برد (شکل ۲).

Kim *et al.* (2008) در نتایج بررسی‌های خود تأیید کردند که کاتالاز یکی از آنزیم‌های پاداکسندهٔ کلیدی در سامانهٔ دفاعی یاخته است. این آنزیم با شکستن هیدروژن پراکسید (H_2O_2) به آب و اکسیژن، از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند. Sylvestre *et al.* (1989) نیز در گزارشی اعلام کردند در فرآیند نمو گلبرگ‌های میخک، با آغاز پراکسیداسیون محتوای اتیلن افزایش یافت و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز افزایش پیدا کرد و همچنین تیمار گل-های بریدنی میخک با مواد بازدارندهٔ اتیلن باعث تأخیر در فرایند پراکسیداسیون خواهد شد. به‌نظر می‌رسد کاربرد سالیسیلیک اسید به‌عنوان بازدارندهٔ فعالیت اتیلن و همچنین عصاره‌های گیاهی به‌عنوان بازدارندهٔ احتمالی تولید اتیلن نقش مؤثری در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز داشته است.

نتایج شکل ۳ نشان داد، در تیمار سالیسیلیک اسید در هر دو رقم گل بریدنی میخک مینیاتوری بیان نسبی ژن ACO نسبت به دیگر تیمارها میزان کمتری بود.

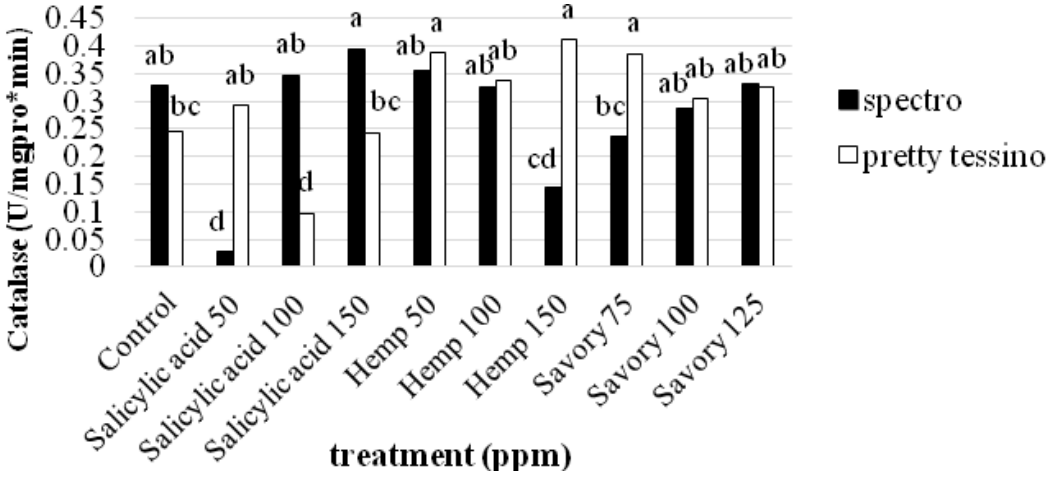
ACC در حضور اکسیژن و توسط بافت‌های مختلف به اتیلن تبدیل می‌شود. ACC سنتاز (ACS) که آنزیم کاتالیزکنندهٔ تبدیل AdoMet به ACC به شمار می‌رود در انواعی از بافت‌های گیاهان مختلف شناسایی شده است. ACC سنتاز یک آنزیم سیتوزولی بی‌ثبات به شمار می‌رود. میزان این آنزیم، تحت تأثیر عامل‌های محیطی مانند زخم شدن، تنش خشکی، غرقاب و اکسین تنظیم می‌شود. ازآنجاکه ACC سنتاز به میزان خیلی کم (۰/۰۰۰۱ درصد از کل پروتئین گوجه‌فرنگی رسیده) وجود دارد و از سویی ترکیبی ناپایدار است، خالص‌سازی آنزیم برای تجزیه‌های

بیوشیمیایی دشوار است. ACC اکسیداز آخرین مرحلهٔ زیست‌ساخت اتیلن را کاتالیز می‌کند و این مرحله، مرحلهٔ تبدیل ACC به اتیلن است. سالیسیلیک اسید به‌عنوان هورمون گیاهی باعث اثرگذاری فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چند در گیاهان می‌شود. سالسیلات‌ها به‌طورمعمول با افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی و تقویت سامانهٔ پاداکسندگی یاخته‌ای، پیری را در گل‌ها به تأخیر می‌اندازند (Sood *et al.*, 2006). همچنین گزارش کردند که سالیسیلیک اسید از پیری با کاهش فعالیت ACC اکسیداز از تبدیل ACC به اتیلن، جلوگیری می‌کند (Raskin, 1992). بنابراین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده و همچنین گزارش‌های اعلام‌شده، می‌توان به این نتیجه رسید که سالیسیلیک اسید با تأثیر در فعالیت ACC اکسیداز (ACO) باعث کاهش تبدیل ACC به اتیلن شده و در نهایت از پیری گل تا حدودی جلوگیری کند.



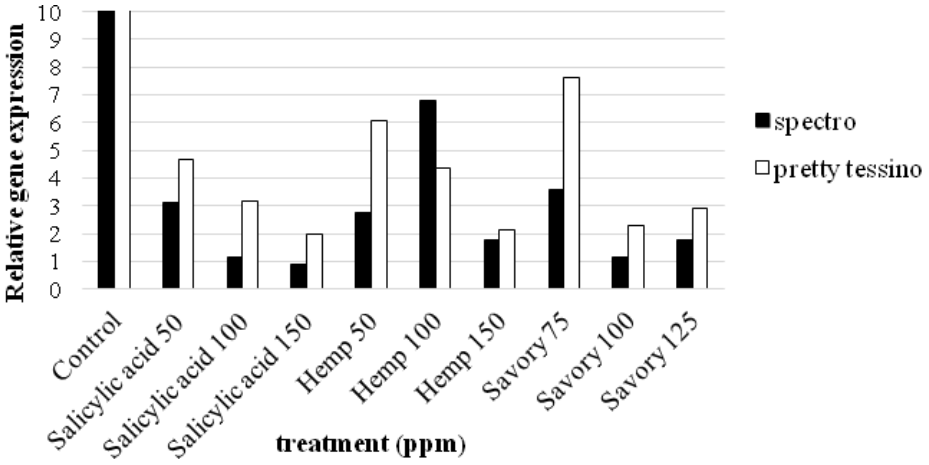
شکل ۱. اثر متقابل تیمار و رقم بر عمر گلجایی گل بریدنی میخک مینیاتوری

Figure 1. Interaction of treatment and cultivar effect on the vase life of miniature carnations cut flowers



شکل ۲. اثر متقابل تیمار و رقم بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

Figure 2. Interaction of treatments and Cultivar effect on the activity of catalase



شکل ۳. اثر متقابل تیمار و رقم بر بیان نسبی ژن ACO

Figure 3. The interaction of treatment and Cultivar effect on relative gene expressio

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و مولکولی دو رقم گل بریدنی میخک مینیاتوری طی تیمار با عصاره‌های گیاهی مرزه و شاهدانه و هورمون سالیسیلیک اسید بررسی شد. همهٔ صفات مورد بررسی به‌نوعی با افزایش یا کاهش عمر گلجایی مرتبط هستند. شناخت و ارزیابی این ویژگی‌ها، به مدیریت کیفیت پس از برداشت گل‌های بریدنی کمک شایانی می‌کند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به‌نظر می‌رسد استفاده از عصاره‌های گیاهی در محلول نگه‌دارندهٔ گل‌های بریدنی به علت وجود ترکیب‌های فنولی بالا و طبیعی بودن جایگزین یا مکمل مناسب و ارزان‌تری برای مواد شیمیایی برای جلوگیری از رشد ریزجانداران در محلول گلجایی باشد. همچنین استفاده از سالیسیلیک اسید در محلول گلجایی افزون بر افزایش عمر گلجایی با تأثیرگذاری در فعالیت آنزیم کاتالاز و همچنین فعالیت ACC اکسیداز در کاهش میزان تولید اتیلن نهایی نقش داشته و به دنبال آن فرآیند پیری را به تأخیر انداخته است.

REFERENCES

1. Abraham, H., Halevy, H. & Shimon, M. (1982). Senescence and postharvest physiology of cut flowers. *Horticultural Reviews*, 10, 8-123.
2. Agricultural statistics. (2008). *Department of Agriculture*. (in Farsi)
3. Ávila, F. W., Faquin, V., da Silva Lobato, A. K., Ávila, P. A., Marques, D. J., Silva Guedes, E. M., & Tan, D. K. Y. (2013). Effect of phosphite supply in nutrient solution on yield, phosphorus nutrition and enzymatic behavior in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. *Australian Journal of Crop Science*, 7(5), 713.
4. Bayat, H., Azizi, M., Shuor, M. & Vahdati, N. (2011). The effect of ethanol and Essential Oil to increased vase life of carnation cut flowers (*Dianthus caryophyllus* cv. Yellow Candy). *Journal of Horticultural Science*, 25(4), 384-390. (in Farsi)
5. Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, L., Rejeb, M. N., Neffati, M., ... & Pedro, L. G. (2007). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian Thymus capitatus Hoff. et Link. *Food Chemistry*, 105(1), 146-155.
6. Cakmak, I. & Horst, W. J. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (Glycine max). *Physiologia Plantarum*, 83(3), 463-468.
7. Da Silva, J. A. T. (2003). The cut flower: postharvest considerations. *Biological Sciences*, 110, 24-27.
8. Damunupola, J. W., Qian, T., Muusers, R., Joyce, D. C., Irving, D. E. & Van Meeteren, U. (2010). Effect of S-carvone on vase life parameters of selected cut flower and foliage species. *Postharvest biology and technology*, 55(1), 66-69.
9. Doel, J. M. & Wilkins, H. F. (1999). *Floriculture: principles and species*. Prentic-Hall, Inc. New Jersy. 613p.

10. Du, Y. Y., Wang, P. C., Chen, J. & Song, C. P. (2008). Comprehensive functional analysis of the catalase gene family in Arabidopsis thaliana. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(10), 1318-1326.
11. Galbally, J. & Galbally, E. (1997). *Carnations and Pinks for garden and greenhouse*. Timber Press, Portland Oregon, USA. 310P.
12. Halevy, A. H. & Mayak, S. (1997). Senescence and postharvest physiology of cut flower. Part 1. *Horticulture Review*, 1, 204-236.
13. Hashemi, M., Mirdehghan, S. H., Farahmand, H. & Dashti, H. (2012). The effect of salicylic acid and methyl jasmonate on quality of vase life of cut flowers gerbera. *Journal of Horticultural Science*, 26(3), 311-320. (in Farsi)
14. Hatamzadeh, A., Hatami, M. & Ghasemnezhad, M. (2012). Efficiency of salicylic acid delay petal senescence and extended quality of cut spikes of Gladiolus grandiflora cv ‘wing’s sensation’. *African Journal of Agricultural Research*, 7(4), 540-545.
15. In, B. C., Binder, B. M., Falbel, T. G. & Patterson, S. E. (2013). Analysis of gene expression during the transition to climacteric phase in carnation flowers (Dianthus caryophyllus L.). *Journal of Experimental Botany*, 64(16), 4923-4937.
16. Kazemi, M. & Shokri, K. (2011). Role of salicylic acid in decreases of membrane senescence in cut lisianthus flowers. *Journal of World Applied Sciences*, 13, 142-146.
17. Kim, B. Y., Kim, H. J., Lee, K. S., Seo, S. J. & Jin, B. R. (2008). Catalase from the white-spotted flower chafer, Protaetia brevitarsis: cDNA sequence, expression, and functional characterization. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 149(1), 183-190.
18. Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J. & Nychas G. J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 453-462.
19. Mihajilov-krstev T., Radnovic D., Kitic D., Stojanovic-Radic Z. & Zlatkovic B. (2010). Antimicrobial activity of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains. *Archives of Biological Sciences*, 62, 159-166.
20. Moller, I. M. & Sweetlove, L. J. (2010). ROS signalling–specificity is required. *Trends in Plant Science*, 15(7), 370-374.
21. Park, K. Y., Drory, A. & Woodson, W. R. (1992). Molecular cloning of an 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase from senescing carnation flower petals. *Plant Molecular Biology*, 18(2), 377-386.
22. Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 43(1), 439-463
23. Solgi, M., Kafi, M., Taghavi, T. S. & Naderi, R. (2009). Essential oils and silver nanoparticles (SNP) as novel agents to extend vase-life of gerbera (*Gerbera jamesonii* cv.‘Dune’) flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 53(3), 155-158.
24. Sood, S., Vyas, D. & Nagar, P. K. (2006). Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species. *Scientia Horticulturae*, 108(4), 390-396.
25. Sylvestre, I., Droillard, M. J., Bureau, J. M. & Paulin, A. (1989). Effects of the ethylene rise on the peroxidation of membrane lipids during the senescence of cut carnations. *Plant Physiology and Biochemistry*, 27, 407-13.
26. Van Doorn, W. G. (1998). Effects of daffodil flowers on the water relations and vase life of roses and tulips. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123(1), 146-149.
27. van Doorn, W. G. & de Witte, Y. (1991). Effect of dry storage on bacterial counts in stems of cut rose flowers. *HortScience*, 26(12), 1521-1522.
28. van Doorn, W. G., Zagory, D., de Witte, Y. & Harkema, H. (1991). Effects of vase-water bacteria on the senescence of cut carnation flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 1(2), 161-168.
29. Woltering, E. J. & Van Doorn, W. G. (1988). Role of ethylene in senescence of petals-morphological and taxonomical relationships. *Journal of Experimental Botany*, 39(11), 1605-1616.
30. Yang, T. & Poovaiah, B. W. (2002). Hydrogen peroxide homeostasis: activation of plant catalase by calcium/calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(6), 4097-4102.