مجله علوم باغبانی ایران
دوره ۴۴، شماره ۳، ۱۳۹۲ (۳۶۶-۳۵۹)

بررسی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت و میزان پروتئین در گل رز شاخه بریده رقم سنسیرو

سیده فرحناز طالبی[۱]،سید نجم الدین مرتضوی[۲] * و روح انگیز نادری[۳]
۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه زنجان
۳، دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۷ - تاریخ تصویب: ۹۱/۳/۲۱)

چکیده

آزمایشی به منظور بررسی تاثیر سدیم‌نیتروپروساید و تیدیازورون بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو انجام شد. این آزمایش با دو فاکتور تیدیازورون(TDZ) در سه سطح (۰، ۲۰ و۴۰ میکرومول‌درلیتر) و سدیم‌نیتروپروساید(SNP) به عنوان دهنده اکسیدنیتریک در چهار سطح (۰، ۲۰، ۴۰ و۶۰ میکرومول‌درلیتر) به همراه ۲ درصد ساکارز بصورت پالسی در سه تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. در این آزمایش مقدار پروتئین و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل کاتالاز و پراکسیداز در برگ‌ها و گلبرگ‌های گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌های بدست آمده توسط نرم افزارSPSS تجزیه وتحلیل گردید. نتایج نشان داد که ۴۰ میکرومول‌در-لیتر تیدیازورون بیشترین تاثیر را بر میزان پروتئین برگ‌ها، گلبرگ‌ها و فعالیت کاتالاز برگ‌ها داشت. تیمار ۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید، میزان پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها و میزان فعالیت پراکسیداز برگ‌ها و تیمار ۶۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید کاتالاز گلبرگ‌ها را افزایش داد. بیشترین فعالیت کاتالاز برگ‌ها و گلبرگ‌ها و مقدار پروتئین برگ‌ها از تیمار ۴۰ میکرومول‌سدیم‌نیتروپروساید با ۲۰ میکرومول‌در لیترتیدیازورون حاصل شد.

واژه های کلیدی: اکسید نیتریک، تیدیازورون، رز، عمر پس از برداشت

مقدمه

گل رز با نام علمی *"Rosa hybrida"* متعلق به خانواده گل سرخیان[۱] می‌باشد. این گل دارای ارزش اقتصادی بالایی در صنعت کشاورزی می باشد و رتبه اول را در بین گل‌های شاخه بریده از نظر سطح تولید و مصرف دارد که هم از لحاظ دارویی و هم از لحاظ زینتی از اهمیت بسیار بالایی برخوردارند (Butt, 2003). پیری پس از برداشت عامل محدودکننده در بازارپسندی بسیاری از گونه‌های گل‌های شاخه بریده می‌باشد و تلاش‌های زیادی برای افزایش عمر پس از برداشت گل‌ها با استفاده از تیمارهای شیمیایی مختلف انجام گرفته است (Bowyer et al., 2003). معمولا عمر گلجایی گل‌های بریده رز کوتاه بوده و با علائمی مانند پژمردگی گلبرگ‌ها و برگ‌ها و خمیدگی گردن گل مشخص می‌شود (Ichimura et al., 1999). کربوهیدرات‌های محلول برای باز شدن گل‌ها مورد نیاز بوده چون رزها در مرحله غنچه برداشت و پس از جدا شدن از پایه مادری، به مقدار کربوهیدرات محلول نگهدارنده محدود شده و تیمار گل با ساکاروز به صورت تجاری عمر گلجایی گل-های بریده را افزایش می‌دهد (Butt, 2003). اغلب عمر کوتاه این گل‌ها با استفاده از کربوهیدرات محلول افزایش می‌یابد (Ichimura et al., 2003). اکسیدنیتریک به عنوان پیام‌آور مهم دفاعی در گیاه در برابر پاتوژن‌های میکروبی شناخته شده است (Delledonne et al., 1998). اکسیدنیتریک در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی

1. Rosaceae

* نویسنده مسئول: سید نجم الدین مرتضوی تلفن: ۰۹۱۲۱۴۱۹۳۰۴ E-mail: mortazavi46@yahoo.com

معمـــول گیـــاه ماننـد بستـــن روزنه‌ها و رشد و نمو گیاهان دخالت دارد (Neill et al., 2002; Pagnussat et al., 2003; Guo et al., 2003). طبق گزارش Beligni et al.(2002) اکسیدنیتریک مانند آنتی‌اکسیدان عمل کرده و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول در لایه‌های آلورون جو را به تاخیر می‌اندازد. Zeng et al. (2011) در بررسی اثرهای اکسیـدنیتریـک بر فرآیندهای فیزیولوژیک در گـــل‌هـــای بـــریـده میخـک نتیجـــه گرفتنـد کـــه سدیم‌نیتروپروسایـد صدمه به پروتئین‌ها را کاهش داده و منجر به افزایش فعالیت سوپـراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در گلبرگ‌ها می‌شود. آن‌ها همچنین بیان کردند که اکسیدنیتریک منجر به حفظ غشاء و متابولیسم آب، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و تاخیر در پیری گل‌های بریده میخک می‌شود. غلظت‌های پایین سدیم‌نیتروپروساید در ۲ رقم برنج میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پرواکسیداز و همچنین مقدار پروتئین را افزایش داده، اما غلظت‌های بالای این ماده میزان فعالیت آنزیم‌ها و مقدار پروتئین را کاهش می‌دهد (Abdel- Kader, 2007). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز سلول‌ها را از اثرات پراکسیدهیدروژن محافظت می‌کنند و پراکسیدهیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کنند(Kazemi et al., 2010). مطالعات Zhu et al., (2008) نشان داد که یک میکرومول‌درلیتر اکسیدنیتریک مقدار پراکسیدهیدروژن در میوه‌های تیمار شده را کاهش و مقدار فعالیت آنزیم-های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز را افزایش می‌دهد. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز در میوه‌های تیمار شده با دو میکرومول‌درلیتر اکسیدنیتریک مشاهده شد. استفاده از DETA/NO [1] به عنوان آزادکننده اکسید-نیتریک ماندگاری هشت گل از جمله ژربرا و داوودی را در مقایسه با گل‌های نگهداری شده در آب مقطر را تا چند برابر افزایش داد (Badian et al., 2004). نتایج آزمایش Duan et al. (2009) نشان داد که تیمار میوه-های لیچی با یک میلی‌مول‌سدیم‌نیتروپروساید به مدت ۵ دقیقه فعالیت آنتی‌اکسیدانت در بافت میوه لیچی در طول انبارداری را افزایش داده و پراکسیده شدن لیپید را کاهش می‌دهد که این اثرات با فعالیت پایین لیپوکسیژناز و افزایش فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز و کاتالاز همراه بود. تیدیازورون به دلیل داشتن فعالیت شبه‌سایتوکنینی و ضد پیری، سنتز پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها را در سطح بالایی نگه می‌دارد (Macnish et al., 2010). Tang & Newton (2005) در بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز درگیر در تشکیل شاخه نابجا به طور مستقیم به وسیله تیدیازورون در جنین‌های جنسی کاج شرقی(*Pinus strobus)* به این نتیجه رسیدند که جنین‌های کشت شده در محیط‌های کشت دارای تیدیازورون، در مرحله القاء شاخه‌زایی دارای فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز پایینی بودند، در صورتی که در مرحله تمایززدایی مقدار فعالیت این آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. زمانی که جنین‌های کاج در محیط‌های کشت بدون تیدیازورون قرار گرفتند تغییری در فعالیت این آنزیم‌ها مشاهده نشد.

Zavaleta-Mancera et al., (2007) در آزمایش‌های خود به این نتیجه رسیدند که استفاده از سایتوکنین‌ها در مقایسه با شاهد میزان پروتئین‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را افزایش و مقدار پراکسیدهیدروژن را کاهش می‌دهد. سایتوکنین‌ها منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تاخیر فرایند پیری در میوه‌های خربزه می‌شوند (Lacan & Baccou, 1998). مهمترین هدف از انجام این پژوهش کاهش ضایعات پس از برداشت گل‌های شاخه بریده رز و افزایش عمر آن‌ها از طریق کاهش آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بوده است. افزایش خصوصیات کیفی و عمر ماندگاری موجب استفـــاده بهتـــر و بیشتـــر مصرف‌کنندگان و سود بیشتر برای تولید کنندگان خواهد شد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد استفاده و محل انجام پژوهش

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشـاورزی دانشگاه زنجان و با هدف بررسی تاثیر اکسیدنیتریک و تیدیازورون بر صفات کیفی و طول عمر گل شاخه بریده رز رقم سنسیرو (*Rosa hybrid* Cv. Sensiro) انجام گرفت. گل‌های شاخه بریده مورد استفاده در این

1 . 2,2'-(hydroxynitrosohydrazino)-bisethanamine.

آزمایش در مرحله غنچه یعنی در زمانی که کاسبرگ‌ها شروع به خمیدگی کرده و گلبرگ‌ها در حال باز شدن بودند از گیاهان مادری برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه گروه باغبانی منتقل شدند. شاخه‌های گل برداشت شده برای آزمایش یکدست، یکنواخت و هم‌اندازه بودند. برای آماده شدن گل‌های شاخه بریده ابتدا طول شاخه‌ها به اندازه ۴۵ سانتی‌متر برش داده شد که برای جلوگیری از انسداد آوندها و پژمردگی احتمالی این عمل در داخل آب انجام گرفت و سپس سه برگ مرکب شانه‌ای در قسمت بالای هر شاخه گل حفظ و بقیه برگ‌ها حذف شدند، خارهای قسمت پایین ساقه نیز با قیچی تیز حذف شدند. سپس شاخه‌های گل رز تحت تاثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار گرفتند.

تیمارهای شیمیایی مورد استفاده به صورت پالسی

در این آزمایش از تیدیازورون[1] به عنوان فاکتور اول در سه سطح (۰، ۲۰، ۴۰ میکرومول‌درلیتر) استفاده شد. لازم به توضیح می‌باشد که این ماده به عنوان هورمون مورد استفاده قرار گرفت و برای انحلال آن در آب مقطر از سود ۰/۱ نرمال استفاده شد. فاکتور دوم، سدیم‌نیترو-پروساید[2] به عنوان دهنده اکسیدنیتریک، در چهار سطح (۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میکرومول‌درلیتر) استفاده شد. این ماده به راحتی در آب حل می‌شود. از آنجایی که گاز اکسیدنیتریک حاصله از ترکیب سدیم‌نیتروپروساید احتمالا به گلبرگ‌ها آسیب می‌رساند، بعد از قرارگیری گل‌ها در ارلن‌های حاوی این ماده اطراف ساقه در قسمت دهانه توسط ترکیبات خمیری نانولین پوشانده شد. گل‌ها به مدت ۲۴ ساعت در این تیمارها قرار گرفتند.

تیمارهای شیمیایی مورد استفاده به صورت نگهدارنده

برای محلول‌های نگهدارنده از ۱ درصد ساکاروز به همراه ۳۰۰ پی‌پی‌ام ۸- هیدروکسی‌کوئینولین‌سولفات استفاده شد.

طرح آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار و هر تیمار آزمایشی در هر تکرار شامل ۳ شاخه گل بریده رز، انجام شد.

1. TDZ; N-phenyl-N_-l,2,3-thiadiazol-5-ylurea (Thidiazuron)
2 . Sodium nitroprusside

شاخص‌ها و روش‌های اندازه گیری

اندازه گیری پروتئین

اندازه‌گیری پروتئین محلول به روش Bradford (1976) و با استفاده از اسپکتروفتومتر جاسکو مدل V-530 ساخت ژاپن انجام شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

آنزیم‌های مورد اندازه‌گیری در این آزمایش شامل میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برگ و گلبرگ-های رز می‌باشد. برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها از روش‌های ارائه شده توسط Aebi (1984) و Chance & Maehly (1955) با کمی تغییر استفاده شد. در این آزمایش به دلیل اینکه برگ‌های گل رز دارای فنول بالایی بودند ابتدا ۳ بار توسط اتانول ۶۰درصد به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردیدند. بعد از پایان این مراحل عصاره‌گیری با استفاده از بافر فسفات‌سدیم انجام شد.

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، تغییرات جذب به ترتیب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه و طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت دو دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر جاسکو مدل V-530 ساخت ژاپن قرائت گردید.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS، مقایسه میانگین‌ها و کلاسه-بندی بر اساس آزمون دانکن انجام پذیرفت.

نتایج

پروتئین برگ

آنالیز واریانس صفات مورد ارزیابی (جدول۱) نشان داد که تاثیر تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید بر میزان پروتئین برگ به ترتیب در سطوح ۵ و ۱ درصد و نیز اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱ درصد در صفت اخیر معنی‌دار بوده است. طبق جداول۲ و ۳ استفاده از ۴۰ میکرومول-درلیتر تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید به تنهایی میزان پروتئین برگ را به ترتیب ۹/۸۰ و ۱۵/۸۳ میلی‌گرم بر-گرم وزن تازه افزایش دادند و کمترین میزان پروتئین برگ مربوط به تیمار شاهد بود. همچنین تیمار ۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید به همراه ۲۰

میکرومول‌درلیتر تیدیازورون میزان پروتئین برگ‌ها را افزایش داد (۲۰/۷۸ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) در حالی‌که در تیمار شاهد مقدار آن ۲/۹۲ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه می‌باشد(جدول۴).

پروتئین گلبرگ

جدول۱ نشان داد که اثر سطوح مختلف تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید روی شاخص میزان پروتئین گلبرگ به ترتیب در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد معنی‌دار است.

در صورتی که اثر متقابل این دو تیمار بر این صفت معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین‌ها (جداول۲ و ۳) نشان می‌دهد که بیشترین میزان پروتئین گلبرگ در تیمار‌های ۴۰ میکرومول‌درلیتر تیدیازورون (۶/۴۵ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) و۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید (۱۳/۵۵ میلی‌گرم‌برگرم وزن تازه) وجود دارد. میزان پروتئین گلبرگ در تیمار شاهد کاهش چشمگیری را نشان داد.

کاتالاز برگ

تاثیر سطوح مختلف تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول۱).

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارها بر صفات مورد بررسی در گل‌های شاخه بریده رز

منابع		درجه	میانگین مربعات			
تغییرات	آزادی	میزان پروتئین برگ	میزان پروتئین گلبرگ	فعالیت آنزیم کاتالاز برگ	فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ	فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ
تیدیازورون (A)	۲	۰/۰۷۱*	۰/۰۳۴*	۰/۰۸۳*	۰/۰۲۹ ns	۰/۰۴۰ ns
سدیم‌نیتروپروساید (B)	۳	۰/۰۸۳**	۰/۰۶۶**	۰/۰۸۸*	۰/۰۵۵*	۰/۰۶۳**
اثر متقابل (A×B)	۶	۰/۰۵۲**	۰/۰۱۵ ns	۰/۰۶۵*	۰/۱۲**	۰/۰۳۰*
خطا	۲۴	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۲۲	۰/۰۱۸	۰/۰۱۲
CV (درصد)	--	۴/۲۶	۳/۸۴	۶/۴۰	۴/۸۸	۳/۵۹

ns ،* ،** به ترتیب بیانگر عدم معنی دار بودن، معنی دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ می باشد.

در بین تیمارها، تیمار ۴۰ میکرومول‌درلیتر تیدیازورون بیشترین میزان فعالیت کاتالاز برگ را (۰/۰۳۸ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به خود اختصاص داد. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ(۰/۰۰۷ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) مربوط به تیمار شاهد بود که با تیمار ۲۰ میکرومول‌درلیتر تیدیازورون اختلاف معنی‌داری نشان نداد(جدول۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تیدیازورون بر صفات بررسی شده

تیمار تیدیازورون (میکرومول‌در لیتر)	پروتئین برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	پروتئین گلبرگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)
a_1=۰	۲/۸۴۲ c	۲/۵۱۰ c	۰/۰۰۷ b
a_2=۲۰	۵/۷۴۱ b	۴/۴۰۳ b	۰/۰۱۲ b
a_3=۴۰	۹/۸۰۴ a	۶/۴۵۹ a	۰/۰۳۸ a

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۵٪ می‌باشد.

همچنین تیمار۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم نیتروپروساید بیشترین تاثیر بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۲۸ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) را داشت، در حالی که در بین تیمارهای شاهد، ۲۰ و ۶۰ میکرومول‌درلیتر سدیم نیتروپروساید تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(جدول۳). تیمار ۲۰ میکرومول درلیتر تیدیازورون به همراه ۶۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید (۰/۶۲ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد

(۰/۰۸ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ را نشان دادند (جدول۴).

جدول۳- مقایسه میانگین اثر سدیم‌نیتروپروساید بر صفات بررسی شده

سدیم‌نیتروپروساید (میکرومول در لیتر)	پروتئین برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	پروتئین گلبرگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	پراکسیداز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز گلبرگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)
$b_{1=}$۰	۲/۸۴۰ d	۲/۳۴۸d	۰/۰۱۰ b	۰/۰۴۵b	۰/۰۱۰ b
$b_{2=}$۲۰	۸/۷۲۹ c	۵/۴۹۲ c	۰/۰۱۳ b	۰/۳۷ a	۰/۱۵ ab
$b_{3=}$۴۰	۱۵/۸۳۰ a	۱۳/۵۵۰ a	۰/۰۴۸ a	۰/۴۸ a	۰/۲۶ a
$b_{4=}$۶۰	۱۲/۷۸۳ b	۱۰/۴۴۰ b	۰/۰۲۸ b	۰/۱۶ b	۰/۲۳ a

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۱٪و ۵٪ می‌باشد.

جدول۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید بر صفات بررسی شده

اثر متقابل تیدیازورون و سدیم-نیتروپروساید	پروتئین برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)	کاتالاز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	پراکسیداز برگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز گلبرگ (جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)
a_1b_1	۲/۹۲۳ l	۰/۰۸ f	۰/۰۸۴ i	۰/۰۱۵ g
a_1b_2	۴/۶۹۶ j	۰/۱۰ f	۰/۳۵ gh	۰/۰۱۸ ef
a_1b_3	۱۹/۹۰۵ g	۰/۱۵ ef	۰/۶۸ cd	۰/۰۵۷ a
a_1b_4	۸/۸۴۳ i	۰/۱۳ ef	۰/۳۵ fg	۰/۰۲۳ de
a_2b_1	۳/۷۰۴ k	۰/۰۹ f	۰/۲۷ gh	۰/۰۱۳ f
a_2b_2	۱۴/۷۲۸ f	۰/۱۸ def	۰/۹۴ a	۰/۰۴۵ b
a_2b_3	۲۰/۷۸۶ a	۰/۶۲a	۰/۸۵ ab	۰/۰۵۷ a
a_2b_4	۱۷/۷۴۶ c	۰/۴۰ bc	۰/۷۸ bc	۰/۰۳۴ c
a_3b_1	۹/۸۹۳ h	۰/۱۱ f	۰/۱۵ hi	۰/۰۳۰ cd
a_3b_2	۱۵/۷۶۵ e	۰/۲۵ de	۰/۵۶ df	۰/۰۴۷ b
a_3b_3	۱۹/۸۰۰ b	۰/۵۱ ab	۰/۹۷ a	۰/۰۲۷ cde
a_3b_4	۱۶/۷۵۸ d	۰/۲۹ cd	۰/۴۷ ef	۰/۰۲۵ cde

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آن‌ها در سطح ۱٪و ۵٪ می‌باشد.

پراکسیداز برگ

نتایج ارائه شده در جدول۱ نشان می‌دهد که تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید به ترتیب در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱درصد بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ معنی‌دار بود. در صورتی که غلظت‌های مختلف تیدیازورون تاثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت.

بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ از تیمار ۴۰ میکرومول‌درلیتر سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل ۴۰ میکرومول‌درلیتر تیدیازورون به همراه ۴۰ میکرومول‌در-لیتر سدیم‌نیتروپروساید به دست آمد که به ترتیب برابر ۰/۴۸ و ۰/۹۷ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بود. اما بین تیمارهای ۲۰ و ۴۰ میکرومول در لیتر سدیم نیتروپروساید اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کمترین مقدار آن مربوط به تیمار شاهد بود (جداول ۳و۴).

کاتالاز گلبرگ

تجزیه واریانس داده ها(جدول۱) نشان می‌دهد که تاثیر غلظت‌های مختلف سدیم‌نیتروپروساید و اثر متقابل تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ به ترتیب در سطوح احتمال ۱درصد و ۵ درصد معنی‌دار است. در این آزمایش با توجه به جدول۳، تیمارهای ۴۰ و ۶۰ میکرومول‌درلیتر سدیم-نیتروپروساید به ترتیب با ۰/۲۶ و ۰/۲۳ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز گلبرگ را نشان می‌دادند. در صورتی که فعالیت این

آنزیم در تیمار شاهد (۰/۰۱۰ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در حداقل خود بود. در مورد اثر متقابل تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید تیمارهای ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیازورون به تنهایی و ۴۰ میکرومول در لیتر تیدیازورون به همراه ۲۰ میکرومول در لیتر سدیم‌نیتروپروساید هر دو با مقدار۰/۰۵۷ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیشترین میزان فعالیت این آنزیم را نشان دادند و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با ۰/۰۱۵ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بود(جدول۴).

پراکسیداز گلبرگ

میزان فعالیت این آنزیم به دلیل بالا بودن میزان آنتوسانین در گلبرگ‌های گل بریده رز قابل سنجش نبود. در این مورد حتی شستشو با اتانول نیز کمکی به اندازه‌گیری این آنزیم در گلبرگ‌ها نکرد.

بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با افزایش غلظت تیدیازورون مقدار پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها افزایش یافته اما غلظت‌های پایین تاثیری بر مقدار پروتئین نداشت(جدول۲). Zavaleta-Mancera et al. (2007) با استفاده از سایتوکنین‌ها موجب افزایش پروتئین کل در برگ‌های برنج شدند. Woodson (1991) & Brant نیز نشان دادند که مصرف سایتوکنین در گیاهان و گل‌ها موجب افزایش میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و از این طریق ماندگاری گل‌ها را افزایش می‌دهد. بنابراین تیدیازورون بخاطر داشتن خاصیت سایتوکنینی، موجب جوان شدن سلول-های گیاهی از طریق مقابله با تولید اتیلن شده و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول را با سنتز پروتئین، اسید-سالیسیلیک و کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن به تاخیر انداخته و از این طریق ماندگاری گل‌های شاخه بریده شب‌بو را افزایش می‌دهد (Ferrante et al., 2009). از طرف دیگر تیدیازورون موجب حفظ ساختمان ریبوزوم‌ها که محل سنتز پروتئین‌هاست شده و سطح RNA را بالا نگه می‌دارد و از این طریق هم سنتز پروتئین‌ها را افزایش می‌دهد. همچنین تیدیازورون با ممانعت از فعالیت پروتئازها، پیری سلول‌ها و بافت‌های گیاهی را به تاخیر می‌اندازد (Richmond & Lang, 1957). نتایج این آزمایش با یافته‌های Pak & Van Doorn, 2005) در گل زنبق نیز کاملا مطابقت دارد. افزایش غلظت تیدیازورون میزان فعالیت کاتالاز برگ‌ها را افزایش داد، اما تاثیر معنی‌دار بر میزان پراکسیداز برگ‌ها و کاتالاز گلبرگ‌ها نداشت. طبق نظر Nill (2002) et al. هنگام پیری تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش و باعث اکسیده‌شدن پروتئین‌ها، اسیدهای چرب غیر اشباع و DNA شده و از این طریق موجب افزایش نشت-الکترولیت غشاء و در نهایت آسیب و مرگ سلول‌ها می-شود و استفاده از سایتوکنین‌ها موجب جوان ماندن سلول‌ها و بافت‌های گیاهی شده و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تاثیر گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش و مرگ سلول‌ها را به تاخیر می‌اندازد که با نتایج این آزمایش مشابهت دارد. Zavaleta-Mancera et al. (2007) گزارش دادند که پیری برگ با تولید گونه‌های فعال اکسیژن در ارتباط است و سایتوکنین‌ها با تنظیم این فرایند وضعیت اکسیداتیو را به تاخیر می‌اندازند. همچنین سایتوکنین‌ها سلول را از آسیب اکسیداتیو محافظت کرده، مانع پراکسیده شدن اسیدهای چرب در غشاء شده (Scandalios, 2005) و از گسستگی لیپیدهای غشاء که منجر به مرگ سلول می‌شود جلوگیری می‌کنند(Srivalli & Khanna-Chopra, 2004).

در این آزمایش مصرف سدیم‌نیتروپروساید موجب افزایش پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها شد(جدول۳)، که علت تاثیر بیشتر به دلیل تاثیر آن بر کاهش تولید اتیلن، حفظ پروتئین و محافظت از سلول‌ها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد(Leshem & wills, 1998). نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش مصرف سدیم‌نیتروپروساید میزان فعالیت کاتالاز برگ‌ها و گلبرگ‌ها و پراکسیداز برگ‌ها نیز افزایش می‌یابد.

یافته‌های Zhang et al. (2007) و Beligni et al. (2002) نشان داد که سدیم‌نیتروپروساید به عنوان آزادکننده اکسیدنیتریک بوده و موجب افزایش‌سطح سنتز پروتئین، m-RNA و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود.

بطوریکه غلظت‌های پایین سدیم‌نیتروپروساید مقدار پراکسیدهیدروژن را در برگها افزایش داده (Zhu et al., 2008) و از غشاء سلولی در مقابل گونه‌های

فعال اکسیژن محافظت می‌کند، در صورتی که غلظت‌های بالای آن مقدار پراکسیدهیدروژن را کاهش داده و موجب آسیب‌پذیر شدن غشاء سلولی می‌شود (Tu et al., 2003). اکسیدنیتریک میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گل‌های بریده میخک را افزایش داده و در دفع مسمومیت پراکسید هیدروژن در گل‌ها نقش اساسی دارد(Zeng et al., 2011). استفاده از اکسید نیتریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را از برداشت تا پیری به طور متناوب در گل‌های بریده گلایول و سوسن(Panavas & Rubinstein, 1998) و آفتابگردان (Sairam et al., 2004) کاهش می‌دهد. این اختلافات ممکن است به دلیل حساسیت مختلف ایزوآنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت‌ها در گیاهان مختلف و یا بافت‌های سلولی محیطی باشد. از سوی دیگر فعالیت‌های آنزیمی برای دفع مسمومیت پراکسیدهیدروژن زمانی افزایش می‌یابد که این آنزیم‌ها توانایی جاروب رادیکال سوپراکسید ناشی از صدمات را داشته باشند (Zeng et al., 2011).

همچنین پژمردگی گلبرگ‌ها در گل‌های بریده با حضور گونه‌های اکسیژن فعال محرک پراکسیده‌شدن لیپید در ارتباط بوده و غلظت مالون‌دی‌آلدهید را افزایش داده و سیستم جاروب‌گری گونه‌های اکسیژن فعال را از طریق ممانعت از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز کاهش می‌دهد (Zeng et al., 2011).

از آنجائیکه سدیم‌نیتروپروساید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را تحریک و مانع از پراکسیده‌شدن لیپیدها شده و فعالیت جاروب‌گری گونه‌های فعال اکسیژن در گل‌های بریده را افزایش می‌دهد (Zeng et al., 2011) و این یافته‌ها با نتایج آزمایش اخیر کاملا مطابقت دارد.

در همین راستا مصرف توام تیدیازورون و سدیم‌نیتروپروساید میزان پروتئین برگ‌ها و گلبرگ‌ها را همانند مصرف جدا از هم آن‌ها افزایش داد. تیمار گیاه با سایتوکنین و نیترات، بیان و فعالیت آنزیم نیترات‌ردوکتاز را تحریک کرده (Planchet et al., 2006) و منجر به افزایش تولید اکسیدنیتریک در گیاهان شده است (Tun et al., 2001). بنابراین طبق نتایج این آزمایش استفاده از این دو ترکیب در اکثر صفات تاثیر بیشتری را بدنبال داشته، بطوری که این افزایش در فعالیت کاتالاز برگ‌ها و گلبرگ‌ها و نیز در فعالیت پراکسیداز برگ‌ها چشم گیرتر بوده است. علت این افزایش را می‌توان به عمل تشدیدکنندگی اثر این دو ماده نسبت داد، که در اثرات اصلی هر کدام بطور جداگانه آورده شد.

REFERENCES

1. Abdel-kader, D. Z. E- A. (2007). Role of nitric oxide on iron homoestasis, chlorophyll biosynthesis and antioxidants system in Two Wheat Cultivars. *American Journal of plant physiology*, 2(4), 237- 250.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–12.
3. Badian, D., Wills, R. B. H. & Bowyer, M. C. (2004). Use of a nitric oxide donor compound to extend vase life of cut flowers. *Hort Science*, 39, 1371- 1372.
4. Beligni, M. V., Fath, A., Bethke, P. C., Lamattina, L. & Jones, R. L. (2002). Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. *Plant Physiology*, 129, 1642-1650
5. Bowyer, M. C. & Wills, R. B. H. (2003). Delaying postharvest senescence of cut flowers. *RIRAC publication* N, 03/51.
6. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annual Review of Biochemistry*, 72, 248–59.
7. Butt, S. J. (2003). A Review on prolonging the vase life of Roses. *Pakistan Rose Annual.* Published by Pakistan National Rose Society, pp, 49-53.
8. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764–775.
9. Delledonne, M., Xia, Y., Dixon, R. A. & Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394, 585-588.
10. Duan, X. W., You, Y. L. G., Su, X. G., Qu, H. X., Joyce, D. C. & Jiang, Y. M. (2009). Influence of the nitric oxide donor, sodium nitroprusside, on lipid peroxidation and anti- oxidant activity in pericarp tissue of Logan fruit. *Horticultural Science and Biotechnology*, 82(3), 467-473.

11. Ferrante, A., Mensuali-Sodi, A. & Serra, G. (2009). Effect of thidiazuron and gibberellic acid on leaf yellowing of cut stock flowers. *Central European Journal of Biology*,4(4), 461–468.
12. Guo, F-Q., Okamoto, M. & Crawford, N. M. (2003). Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science*, 302, 100-103.
13. Ichimura, K., Kawabata, Y., Kishimoto, M., Goto, R. & Yamada, K. (2003). Shortage of soluble carbohydrates is largely responsible for short vase life of cut ' Sonia' rose flowers. *Horticultural Scince*, 72, 292-298.
14. Kazemi, N., Khavari-Nejad, R. A., Fahimi, H., Saadatmand, S. & Nejad-Sattari, T. (2010). Effects of exogenous salicylic acid and nitric oxide on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in leaves of Brassica napus L. under nickel stress. *Scientia Horticulturae*, 126, 402–407.
15. Lacan, D. & Baccou, J. C. (1998). High levels of antioxidant enzymes correlate with delayed senescence in nonnetted muskmelon fruits. *Planta*, 204, 377–82.
16. Leshem, Y. Y. & Wills, R. B. H. (1998). Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a navel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biology Plant*, 41, 1-100.
17. Macnish, A. J., Jiang, C. Z. & Reid, M. S. (2010). Treatment with thidiazuron improves opening and vase life of iris flowers. *Postharvest Biology and Technolog*, 56, 77-84.
18. Neill, S., Desikan, R., Clarke, A. & Hancock, J. T. (2002). Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiology*, 128, 13-16.
19. Pagnussat,G. C., Lanteri, M. L. & Lamattina, L. (2003). Nitric oxide and cyclic GMP are messengers in the indole acetic acidinduced adventitious rooting process. *Plant Physiology*, 132, 1241-1248.
20. Pak, C. & Van Doorn, W. G. (2005). Delay of iris flower senescence by protease inhibitors. *New Phytologist*, 165, 473–480.
21. Panavas, T. & Rubinstein, B. (1998). Oxidative events during programmed cell death of day lily (Hemerocallis hybrid) petals. *Plant Scince*, 133, 125-138.
22. Planchet, E., Sonoda, M., Zeier, J. & Kaiser, W. M. (2006). Nitric oxide (NO) as an intermediate in the cryptogein-induced hypersensitive response-a critical re-evaluation, *Plant Cell and Environment*, 29, 59–69.
23. Richmond, A. E. & Lang, A. (1957). Effect of kinetin on protein content and survival of detached xanthium leaves. *Science*, 125, 650-651.
24. Sairam, R. K., Singh, D. V. & Srivastava,G. C. (2004). Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ayes. *Biology Plant*, 47, 61-66.
25. Scandalios, J. G. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defences. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38, 995–1014.
26. Srivalli, B. & Khanna-Chopra, R. (2004). The developing reproductive 'sink' induces oxidative stress to mediate nitrogen mobilization during monocarpic senescence in wheat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 325,198–202.
27. Tang, W & Newton, R. J. (2005). Peroxidase and catalase activities are involved in direct adventitious shoot formation induced by thidiazuron in eastern white pine (*Pinus strobus* L.) zygotic embryos. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43, 760-769.
28. Tu, J., Shen, W. B. & Xu, L. L. (2003). Regulation of nitric oxide on the aging process of wheat leaves. *Acta Botany Scince*, 9, 1055- 1062.
29. Woodson, W. R. & Brant, A. S. (1991). Rol the gynoeciumin cytokinin induced carnetion petal senescence. *Jornal of American Socity Horteculture Scince*, 116, 676 - 679.
30. Zavaleta-Mancera, H. A., Lo´pez-Delgadob, H., Loza-Taverac,H.,Mora-Herrerab, M., Trevilla-Garcı´ad, C., Vargas-Sua´rezc, M. & Oughame, H. (2007). Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *Plant Physiology*, 164, 1572—1582.
31. Zeng, C. L., Liu, L. & Xu, G. Q. (2011). The physiological responses of carnation cut flowers to exogenous nitric oxide. *Scintia Horticulturae*, 127(3), 424- 430.
32. Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X. & Tan, M. (2007). Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. *New Phytologist*, 175, 36–50.
33. Zhu, S., Sun, L., Liu, M. & Zhou, J. (2008). Effect of nitric oxide on reactive oxygen species and antioxidant enzymes in kiwifruit during storage. *Science of Food and Agriculture*, 88, 2324- 2331.