بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید (SNP) بر صفات فیزیولوژیکی و افزایش عمر گلجایی گل شاخه بریده مریم (*Polianthes tuberosa* L.)

سجاد علیپور[۱]، فاطمه نصیبی[۲*] وهمایون فرهمند[۱]

[۱] کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

[۲] کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۳

چکیده

گل مریم یکی از مهمترین گل‌های شاخه بریدنی در ایران و جهان است. برای بررسی تأثیر سدیم نیتروپروساید (SNP) روی پارامترهای کمی و کیفی گل مریم، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. سدیم نیتروپروساید (SNP) در سه غلظت (۰، ۱ و ۱۰ میکرومولار) استفاده شد. بالاترین عمر گلجایی در تیمار سدیم نیترو پروساید ۱ میکرومولار مشاهده شد که عمر گلجایی را نسبت به تیمار شاهد ۳ روز افزایش داد. بیشترین میزان درصد باز شدن گلچه‌ها نیز در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار به‌دست آمد. سدیم نیتروپروساید در هر دو غلظت، درصد گلچه پژمرده، درصد ریزش گلچه و کاهش وزن شاخه گل را نسبت به شاهد کاهش داد. کمترین میزان نشت یونی نیز در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار به ست آمد که ۱/۵ برابر نشت یونی را نسبت به شاهد کاهش داد. یافته‌های این پژوهش بیانگر این است که در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ و ۱۰ میکرومولار که عمر گلجایی افزایش یافته است، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) افزایش، اما فعالیت کاتالاز (CAT) فقط در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار داشت، در حالی که فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO) و فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) به میزان معنی‌داری کاهش یافت. بنابراین به نظر می‌رسد این ترکیب با کاهش رادیکالهای آزاد اکسیژن، حفظ تمامیت غشاء، افزایش سنتز ترکیبات فنلی و کاهش فعالیت آنزیم PPO، باعث افزایش کیفیت پس از برداشت گل مریم شده است.

واژه‌های کلیدی: سدیم نیتروپروساید، عمر گلجایی، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، گل مریم.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۴۱-۳۲۰۲۰۷۰، پست الکترونیکی: nasibi2002@yahoo.com

مقدمه

گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) گیاهی چند ساله از خانواده آگاواسه (Agavaceae) می‌باشد و یکی از مهمترین گل‌های شاخه بریده خوشبو در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بوده که بومی مکزیک است (۲۲) و دارای ۱۳ گونه می‌باشد (۲۹). مشابه بسیاری از گل‌های خوشه‌ای، گل‌های مریم هنگام برداشت دارای تعداد محدودی گلچه‌های باز می‌باشد، بنابراین طول عمر پس از برداشت و باز شدن گلچه‌های باقیمانده در خوشه گل از اهمیت زیادی برخوردار است و ترکیباتی که بتوانند فرایند پیری را کند کرده و باز شدن گلچه‌ها را تشویق کنند از نظر اقتصادی دارای اهمیت هستند. از لحاظ تغییرات متابولیک، پیری در نتیجه انجام فرایندهای اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن اتفاق می‌افتد (۲۸). انواع گونه‌های اکسیژن فعال بر خلاف اکسیژن اتمسفری از میل ترکیبی بسیار زیادی برای واکنش با تمامی ماکرو مولکولهای زیستی سلول برخوردارند، به طوری که این ترکیبات با پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلول واکنش داده و سبب تخریب پروتئین‌ها و غیر فعال

شدن آنزیم‌ها، آسیب به غشاها و تجزیه پلی‌ساکاریدها می‌گردند (۲۷). سلولهای گیاهی برای مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال، از یک سری مکانیزم‌های دفاعی برخوردارند که آنها را قادر می‌سازد تا با جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال از آسیب به ساختارهای اساسی سلول پیشگیری نماید. مکانیزم‌های دفاعی سلول شامل آنتی‌اکسیدانهای غیر آنزیمی (مانند آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول، کارتنوئیدها) و آنزیم‌های آنتی اکسیدان (مانند سوپراکسیداز دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز) می‌باشد (۱۸). نیتریک اکسید (NO)، یک رادیکال گازی به نسبت پایدار است که توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) از L- آرژینین تولید می‌شود. دو مکانیزم احتمالی برای نقش NO در مقابله با تنش‌ها پیشنهاد شده است: ۱) نیتریک اکسید ممکن است با ربایش مستقیم گونه‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال سوپراکسید، به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با تولید رادیکال پروکسی نیتریت که سمیت بسیار کمتری نسبت به رادیکالهای آزاد اکسیژن دارد صدمه وارده به سلولها را کاهش دهد. ۲) نیتریک اکسید می‌تواند به‌عنوان یک مولکول پیامبر (Signalling molecule) باعث تغییر در بیان برخی ژنهای دفاعی گردد (۲۴). گزارش شده است که نیتریک اکسید با تبدیل سوپراکسید به پراکسید هیدروژن این آنیون را از سلول حذف می‌کند و از طرف دیگر با القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل آسکوربات پراکسیداز (APX)، سمیت آب اکسیژنه را نیز کاهش می‌دهد (۲۳). نیتریک اکسید در غلظت‌های بالا می‌تواند با O^-_2 ترکیب شده، رادیکال پراکسی نیتریت $ONOO^-$ را تولید کند و گزارش شده است که مقدار زیاد این رادیکال باعث تخریب لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۴). بنابراین باور بر این است که NO دارای نقش دوگانه است، سمی یا حفاظتی، و این بستگی به غلظت آن، نوع گیاه، بافت گیاهی، سن گیاه و نوع تنش وارده به گیاه دارد (۴). البته نقش نیتریک اکسید در کند کردن و به تأخیر انداختن فرایند پیری در برخی میوه‌ها، سبزی‌ها و گل‌های شاخه بریده گزارش شده است (۱۲). به‌عنوان مثال نقش سدیم نیتروپروساید در افزایش عمر پس از برداشت گل میخک (۳)، انگور سفید بی‌دانه (۱) و میوه توت فرنگی(۲) گزارش شده است. لشم و ویلز (۱۹۹۸) گزارش کردند که نیتریک اکسید به‌عنوان عامل تنظیم کننده رشد و نمو گیاهی با کاهش تولید اتیلن می‌تواند فرایند پیری را به تأخیر بیندازد. بادیان و همکاران (۲۰۰۴) نیز نشان دادند که عمر گلجایی هشت گونه گل شاخه بریده با استفاده از محلول نگهدارنده حاوی NO/EDTA افزایش یافته که البته اثر آن بر هشت گونه گل یکسان نبوده، به طوری که در ژربرا بیشترین تأثیر و در داوودی کمترین تأثیر را داشته است. اطلاعات محدودی در مورد اثر نیتریک اکسید بر افزایش عمر گلجایی و میزان باز شدن گل در گل‌های خوشه‌ای مانند مریم در دست است. هدف از این مطالعه بررسی اثر نیتریک اکسید در افزایش عمر گلجایی، ریزش گل و ارتباط آن با برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گل‌های شاخه بریده مریم است. در این پژوهش همچنین اثر نیتریک اکسید بر تعداد ریزش گلچه، گلچه‌های باز و فعالیت آنزیم PPO و PAL نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

در این مطالعه سعی شد گل‌های هم اندازه و مشابه خریداری گردد. شاخه تمام گل‌ها در زیر آب باز برش و طول ساقه در تمام گل‌ها تقریبا ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد. برای هر تیمار ۶ شاخه گل در نظر گرفته شد. این شاخه‌های گل در درون ظروف پلاستیک حاوی ۵۰۰ میلی لیتر از محلولهای ۱ و۱۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید قرار گرفت. آب مقطر به‌عنوان شاهد (غلظت صفر میکرومولار SNP) استفاده شد. پس از ۷ روز زمانی که گل‌های شاهد پژمرده شدند، تعداد گلچه‌های باز، گلچه پژمرده و میزان

ریزش گلچه‌ها محاسبه گردید. از هر تیمار سه شاخه گل به‌عنوان سه تکرار برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مورد نظر برداشته شد. بقیه شاخه‌ها تا پایان عمر گلجایی آنها نگهداری شدند. پایان عمر گلجایی زمانی در نظر گرفته شد که گلبرگ‌های گل پژمرده شدند و ارزش بازارپسندی خود را از دست دادند. برای سنجش میزان کاهش وزن، وزن گل‌ها در سه مرحله روز اول آزمایش، روز سوم و روز ششم که همان روز پایانی آزمایش بود اندازه‌گیری شد و بعد کاهش وزن تیمارها بر حسب درصد ثبت شد. یعنی وزن اولیه گل‌ها ۱۰۰ درصد لحاظ شد و میزان اختلاف وزن روز اول و روز آخر آزمایش (روز ششم) به‌عنوان درصد کاهش وزن لحاظ گردید. محتوای نسبی آب بر اساس روش ویوترلی (۳۸) و نشت یونی گلبرگ‌ها بر اساس روش سولیوان و روس (۳۷) اندازه‌گیری شد.

سنجش فعالیت آنزیم‌ها: تهیه عصاره پروتئینی: ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه گلبرگ در ۵ میلی لیتر 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. تمام مراحل استخراج در یخ انجام an. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در g× ۵۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام شد (۱۵). مخلوط واکنش (۳ میلی لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH =۷)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل $۴۰\ mM^{-1}\ Cm^{-1}$ استفاده گردید.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH =۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل $۲/۸\ mM^{-1}\ Cm^{-1}$ استفاده شد (۲۸).

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX): فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاگول اندازه‌گیری شد. در این روش ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (۳۲). مقدار تتراگایاکول تولید شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل $۲۵/۵\ mM^{-1}\ Cm^{-1}$ محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO): در این روش از پیروگالل به‌عنوان پیش ماده آنزیم استفاده شد. در این واکنش مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر و بعد از ۳ دقیقه خوانده شد. ضریب خاموشی استفاده شده برای محاسبه واحد آنزیمی معادل $۶/۲\ mM^{-1}\ Cm^{-1}$ بوده است (۳۰).

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL): برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL، ۱ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۰/۵ میلی لیتر فنیل آلانین ۱۰ میلی مولار، ۰/۴ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط شدند و به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. واکنش با

اضافه کردن ۰/۵ میلی لیتر کلریدریک اسید ۶ مولار متوقف شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید (۱۴). برای محاسبه سینامیک اسید تولید شده از منحنی استاندارد سینامیک اسید استفاده شد.

سنجش مقدار پروتئین کل: برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی لیتر معرف بیوره ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی افزوده شد و بسرعت با همزن آزمایشگاهی مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین محاسبه گردید (۱۱).

تحلیل آماری: این پژوهش بر اساس طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. داده‌های پژوهش، با استفاده از نرم‌افزار SAS تحلیل شد و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر عمر گلجایی گل‌های مریم: نتایج نشان داد که سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار عمر گلجایی را نسبت به شاهد به میزان معنی‌داری افزایش داد. بالاترین عمر گلجایی (۱۰ روز)، در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار مشاهده شد که در مقایسه با شاهد (۷ روز)، ۳ روز افزایش یافت (جدول ۱).

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر درصد گلچه باز، گلچه پژمرده و ریزش گل‌های مریم: مطالعه حاضر نشان داد که درصد گلچه‌های باز تنها در گل‌های تیمار شده با سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار معنی‌دار گردید که باعث افزایش ۵۴ درصدی گلچه باز نسبت به شاهد شد. همچنین در بین دو تیمار سدیم نیتروپروساید، غلظت ۱ میکرومولار به میزان زیادی درصد گلچه پژمرده را کاهش داد که نسبت به تیمار شاهد ۱/۵ برابر کاهش معنی‌دار نشان داد. درصد ریزش گل در تمام گل‌هایی که در محلولهای حاوی SNP بودند به میزان معنی‌داری کمتر از گلهای شاهد بود. تیمار با SNP ریزش گل را از حدود ۱۳ درصد در گیاهان شاهد به ۵-۲ درصد در گلهای تیمار شده با SNP رساند. کمترین میزان ریزش گلچه در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار دیده شد.

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر درصد کاهش وزن و محتوای نسبی آب گل‌های مریم: تمام شاخه‌های گل تیمار شده با SNP در هر دو غلظت کاهش وزن کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند که در این میان کمترین مقدار کاهش وزن مربوط به تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار بود. البته افزایش محتوای نسبی آب در غلظت ۱۰ میکرومولار نسبت به شاهد معنی‌دار بود (جدول ۲).

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان نشت یونی گل‌های مریم: سدیم نیتروپروساید در هر دو غلظت به‌کار رفته درصد نشت یون‌ها را به میزان معنی‌داری کاهش داد، که کمترین میزان نشت یونی در غلظت ۱ میکرومولار به‌دست آمد که در مقایسه با شاهد نشت یونی‌ها را ۱/۵ برابر کاهش داد (جدول ۲).

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX): نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم نشان داد که تیمار گل‌ها با سدیم نیتروپروساید باعث افزایش معنی‌دار فعالیت GPX نسبت به شاهد گردید. البته اثر سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار بیشتر از ۱۰ میکرومولار بود (شکل ۱).

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): فعالیت این آنزیم نیز در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار بیشترین افزایش را در مقایسه با تیمار ۱۰ میکرومولار داشت (شکل ۲). البته SNP در غلظت ۱۰ میکرومولار هم به میزان معنی‌داری فعالیت این آنزیم را در مقایسه با شاهد افزایش داد اما

میزان افزایش آنها کمتر از غلظت ۱ میکرومولار این ترکیب بود.

جدول ۱- مقایسه میانگین تأثیر SNP بر عمر گلجایی و گلچه باز، گلچه پژمرده و ریزش گلچه گل مریم

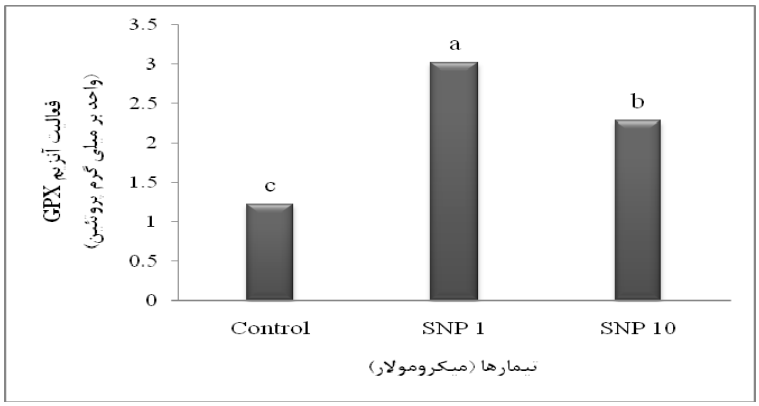
سدیم نیتروپروساید (میکرومولار)	عمر گلجایی (روز)	گلچه باز (درصد)	گلچه پژمرده (درصد)	ریزش گلچه (درصد)
۱	۱۰/۳۳ a	۳۴/۹۶ a	۸/۵ b	۲/۹c
۱۰	۸ b	۲۵/۷۳b	۱۶/۲ a	۴/۷۶ bc
صفر	۷ c	۲۲/۶۶b	۱۹/۶۳a	۱۳/۳۳a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.

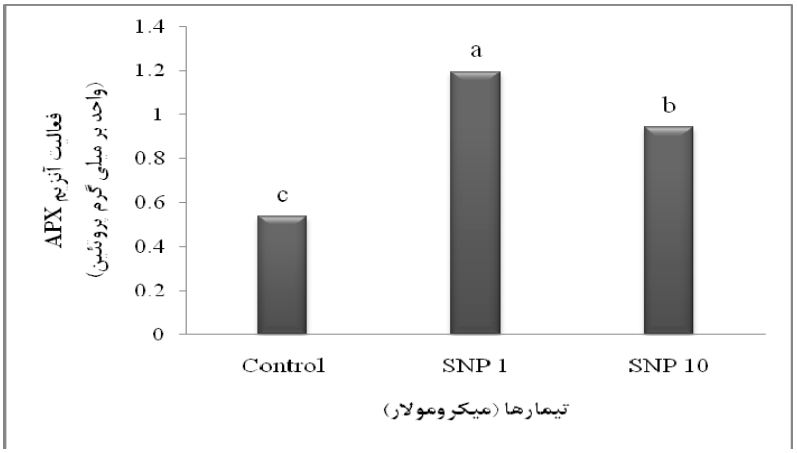
جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر SNP بر کاهش وزن، محتوی نسبی آب و نشت یونی گل مریم

سدیم نیتروپروساید (میکرومولار)	کاهش وزن (درصد)	محتوای نسبی آب (درصد)	نشت یونی (درصد)
صفر	۲۰/۲a	۷۸/۲b	۸۷/۳۳a
۱	۴/۸۶c	۸۰/۳۳ab	۳۳/۶۶c
۱۰	۱۲/۲۶b	۸۱/۵۳a	۵۴/۶b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشند.



شکل ۱- تأثیر سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گل مریم

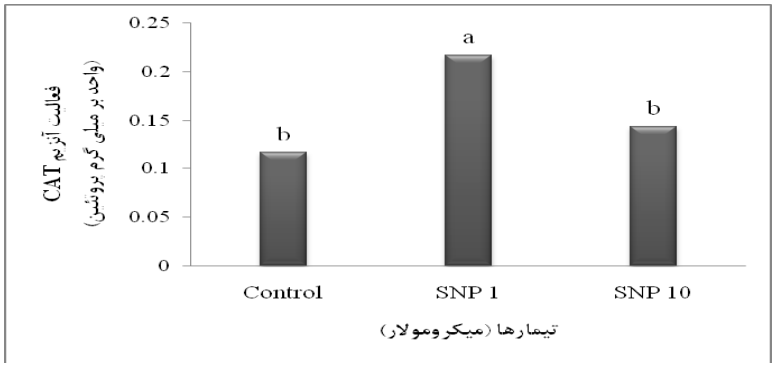


شکل ۲- تأثیر سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گل مریم

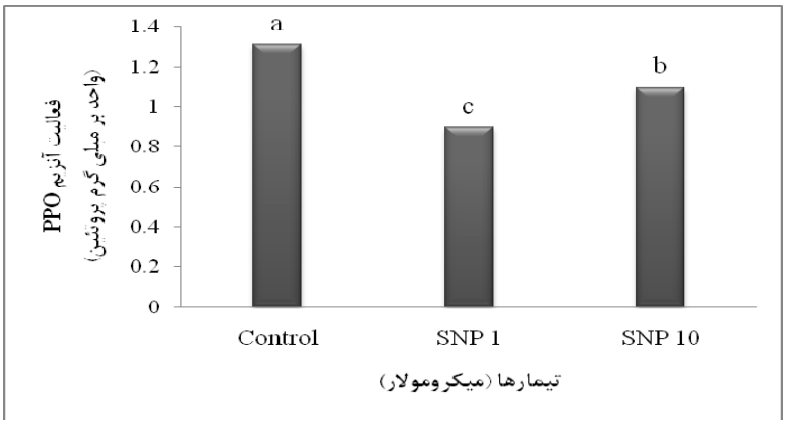
اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): نتایج این بررسی نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز تنها در غلظت ۱ میکرومولار SNP نسبت به شاهد معنی‌دار بود و در غلظت ۱۰ میکرومولار تفاوت معنی‌داری با گل‌های شاهد نداشت (شکل ۳). سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد به میزان ۹۰٪ افزایش داد.

اثر غلظت‌های مختلف SNP بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز (PPO): بر اساس نتایج به‌دست آمده، آنزیم PPO بالاترین میزان فعالیت را در گل‌های شاهد داشت. کمترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار دیده شد. SNP در هر دو غلظت ۱ و ۱۰ میکرومولار به‌ترتیب ۴۷٪ و ۲۴٪ فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد به میزان معنی‌داری کاهش داد (شکل ۴).

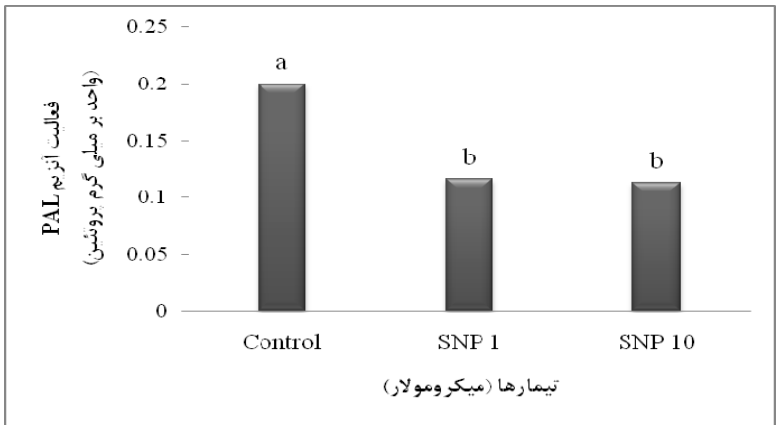
اثر غلظت‌های مختلف ترکیبات آنتی‌اکسیدان بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL): با توجه به داده‌های حاصل از اندازه‌گیری آنزیم PAL بیشترین فعالیت این آنزیم در گل‌های شاهد بود، در حالی که هر دو غلظت سدیم نیترو پروساید فعالیت این آنزیم را نسبت به شاهد به میزان معنی‌داری از لحاظ آماری کاهش داد (شکل ۵).



شکل ۳- تأثیر سدیم نیتروپروساید بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز در گل مریم



شکل ۴- تأثیر سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در گل مریم



شکل ۵- تأثیر سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در گل مریم

بحث

یکی از محدودیت‌های نگهداری گل‌های شاخه بریده پس از برداشت پیری است، تلاش‌های زیادی برای افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده انجام شده است. این مسئله باعث افزایش زمان بازارپسندی گل‌ها گردیده و از لحاظ اقتصادی بسیار اهمیت دارد. به‌طوری‌که با تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن در فرایند پیری آسیب اکسیداتیو رخ می‌دهد که این نشان‌دهنده ناتوانی دفاع آنتی اکسیدانی گیاه در این مرحله است (۲۱). نیتریک اکسید یک مولکول گازی شکل است که در سالهای اخیر به‌عنوان یک مولکول آنتی اکسیدان در گیاهان شناخته شده است (۳۶). البته این اثر نیتریک اکسید وابسته به غلظت بوده و در غلظت‌های بالاتر NO، تنش نیتروزاتیو می‌تواند به صورت همکاری با تنش اکسیداتیو خسارتهای بیشتری را ایجاد نماید (۹). در این بررسی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که سدیم نیتروپروساید در غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار باعث افزایش عمر گلجایی گل‌های شاخه بریده مریم نسبت به گل‌های شاهد شده است. این یافته‌ها با نتایج (Bowyer *et al.*,2003; Chang li *et al*., 2011; Mansouri,2011) روی گل‌های شاخه بریده میخک و داوودی همخوانی داشت. پیری گلبرگ‌های گل شاخه بریده با پدیده‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی همراه است که از آن جمله بهم خوردن تعادل آبی گیاه و از دست رفتن آب گیاه است که منجر به پژمردگی گلبرگ‌ها می‌شود. در این پژوهش تیمارهای ۱ و ۱۰ میکرومولار سدیم نیتروپروساید علاوه بر افزایش عمر گلجایی موجب کاهش از دست رفتن آب و میزان نشت یون گردیدند که نقش سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار در این پدیده بیشتر از سدیم نیتروپروساید ۱۰ میکرومولار بود که همین مسئله موجب کاهش تعداد گلچه‌های پژمرده در گل‌های تیمار شده با سدیم نیتروپروساید در مقایسه با گل‌های شاهد گردید. حفظ تعادل آبی گل‌های شاخه بریده منجر به افزایش گلچه‌های باز بر روی گل‌های تیمار شده با سدیم نیتروپروساید نیز گردید. در تیمار سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار میزان گلچه‌های باز تا حدود ۵۴ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. با توجه به اینکه گل مریم جزء گل‌های خوشه‌ای می باشد، بنابراین باز شدن گلچه‌ها بر روی خوشه و جلوگیری از پژمردگی آنها به میزان زیادی بازارپسندی و عمر پس از برداشت آن را افزایش می‌دهد. علاوه بر این نتایج نشان داد که میزان ریزش گل نیز در گل‌های تیمار شده با سدیم نیتروپروساید نسبت به شاهد کاهش چشمگیری داشت. به طور کلی در این پژوهش مشخص شد که تیمار گل‌های شاخه بریده مریم با سدیم نیتروپروساید، تقریبا در تمام پارامترهای مربوط به پیری تأثیر داشته است. گزارش شده است که نیتریک اکسید با مهار فعالیت آنزیم ACC اکسیداز و جلوگیری از تولید اتیلن، واکنش با گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و القا بیان ژنهای مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث تأخیر در فرایند پیری می‌گردد (۸،۲۲،۲۰). در برخی مطالعات نیز گزارش شده است که در فرایند پیری در گل‌های شاخه بریده فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مثل CAT و APX افزایش می‌یابد (۱۳،۷،۱۲). هرچند در برخی دیگر گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاهش می‌یابد (۱۹،۳۳). در این آزمایش برای بررسی نقش نیتریک اکسید بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد آن از طریق این آنزیم‌ها در افزایش عمر پس از برداشت گل شاخه بریده مریم، فعالیت آنزیم‌های CAT، GPX و APX در گلبرگ‌های این گل اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که تیمار گل‌های شاخه بریده با سدیم نیتروپروساید باعث افزایش فعالیت هر سه آنزیم در مقایسه با گل‌های شاهد شد؛ که در مورد فعالیت آنزیم‌های مذکور نیز اثر سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار بیشتر از سدیم نیتروپروساید ۱۰ میکرومولار بود. البته نقش سدیم نیتروپروساید در افزایش فعالیت و القا بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بسیاری از تنش‌های غیر زیستی نیز گزارش شده است (۵). در این مطالعه به نظر می‌رسد که سدیم نیتروپروساید با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث افزایش عمر پس از برداشت گل شاخه بریده مریم گردیده است. آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز یکی از آنزیم‌های اصلی و از اولین آنزیم‌های مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌هاست. در این بررسی فعالیت این آنزیم در گل‌های شاخه بریده شاهد بالا بوده و تیمار گل‌ها با سدیم نیتروپروساید باعث کاهش فعالیت این آنزیم شده است. در مورد نقش سدیم نیتروپروساید بر فعالیت آنزیم PAL نتایج متعدد و متناقضی وجود دارد. برای نمونه، دوآن و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که تیمار سدیم نیتروپروساید باعث کاهش فعالیت PAL در میوه لونگان ((Longan (*Dimocarpus longan*)) در زمان انبارداری گردیده که با نتایج ما در این بررسی همخوانی دارد، اما بر خلاف آن در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش خشکی سدیم نیتروپروساید فعالیت PAL را افزایش داد (۵). آنزیم پلی فنل اکسیداز از آنزیم‌هایی است که مهار فعالیت آن در نگهداری میوه‌ها و گل‌ها اهمیت فراوان دارد. تیمار گل‌های شاخه بریده مریم با سدیم نیتروپروساید باعث کاهش فعالیت این آنزیم گردید که در این مورد اثر سدیم نیتروپروساید ۱ میکرومولار در کاهش فعالیت این آنزیم بیشتر از اثر سدیم نیتروپروساید ۱۰ میکرومولار بود. از آنجایی که این آنزیم با اکسیداسیون فنل‌ها ایجاد پوسیدگی و رنگ قهوه‌ای در گلبرگ‌ها و میوه‌ها می‌کند. بنابراین، کاهش فعالیت این آنزیم نیز می‌تواند یکی از دلایل افزایش عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده مریم تیمار شده با نیتریک اکسید باشد.

نتیجه‌گیری کلی

تیمار گل‌های شاخه بریده مریم با نیتریک اکسید عمر گلجایی این گل‌ها را افزایش داده است که غلظت پایین‌تر سدیم نیترپروساید در این بررسی اثر بیشتری داشته و با بالا رفتن غلظت سدیم نیتروپروساید اثر مثبت آن کاهش یافت. در این بررسی به نظر می‌رسد که نیتریک اکسید از طریق واکنش مستقیم با گونه‌های فعال اکسیژن و یا از طریق افزایش بیان ژن‌ها و یا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با حفظ ساختارهای سلول فرایند پیری را به تأخیر انداخته است. سدیم نیتروپروساید همچنین با کاهش فعالیت آنزیم‌های PAL و PPO نیز توانسته است عمر پس از برداشت و کیفیت گل‌های شاخه بریده مریم را حفظ کند و از تغییر رنگ و پوسیدگی گلبرگ‌ها جلوگیری نماید. البته برخی اثرات NO در این مطالعه می‌تواند مربوط به اثر بازدارندگی نیتریک اکسید بر تولید اتیلن باشد که در این آزمایش مورد بررسی قرار نگرفته است و ان‌شاالله در بررسی‌های بعدی حتما نقش نیتریک اکسید در تولید اتیلن مورد مطالعه و تحقیق قرار خواهد گرفت.

منابع

۱- اصغری، م و خمیری ثانی، م .۱۳۸۹. تاثیر کاربرد پس از برداشت پوتریسین و نیتریک اکسید بر برخی خواص کیفی و محتوای فنلی کل میوه انگور رقم سفید بی دانه. مجله پژوهش های صنایع غذایی. جلد ۳. شماره ۲. صفحه۷۲ -۶۱.

۲- عبدالهی، ر.، اصغری، م. و اسمعیلی، م. ۱۳۸۹. تأثیر نیتریک اکسید و پوتریسین برخواص کیفی و عمر پس از برداشت میوه توت فرنگی رقم'سلوا'. مجله پژوهش های صنایع غذایی. جلد ۳. شماره ۱. ۱۷۶-۱۹۰ صفحه.

۳- مستوفی ،ی.، رسولی، پ.، نادری، ر.، مرندی، غ و شفیعی، م. ۱۳۸۹. بررسی اثر اکسید نیتریک و تیدیازورون بر طول عمر و برخی صفات کیفی گل بریده میخک. (*Dianthus caryophyllus* cv. Nelson). مجله علوم باغبانی ایران. دوره ۴۱. شماره ۴. ۳۰۱-۳۰۸ صفحه.

۴- نصیبی، ف . ۱۳۹۰ . بررسی اثر غلظت های متفاوت نیتروپروسایدسدیم(SNP) در تخفیف صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی درگیاه گوجه فرنگی . مجله زیست شناسی گیاهی. سال سوم، شماره نهم، صفحه ۶۳-۷۴.

۵- نصیبی، ف.، یعقوبی، م.م و منوچهری کلانتری، خ. ۱۳۹۰. مقایسه اثر پیش تیمار سدیم نیترو پروساید و آرژینین بر برخی پاسخهای فیزیولوژیکی گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicun esculentum*) تحت تنش کم آبی. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۴. شماره ۶. ۱۲۱-۱۳۲ صفحه.

6- Badiyan, D., Wills, R.B.H and Bowyer, M.C. 2004. Use of a nitric oxide donor compound to extend the vase life of cut flowers. Hort. Science.39: 1371-1372.

7- Baker, J.E., Lalang, C.Y., Lieberman, M., Hardonberg, R. 1977. Delay of senescence incarnation by a rhizobitoxine analog and sodium benzoate. Hortic. Sci. 12: 28–39.

8- 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 Physiol. 129: 1642–1650.

9- Beligni, M.V., Lamattina, L .1999. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues. Planta. 208: 337-344.

10- Bowyer, M.C., Wills, R.B.H., Badiyan, D and Ku V. 2003. Extending the postharvest life of carnations with nitric oxide comparison of fumigation and in vivo delivery. Postharvest Biol. Technol. 30: 281–286.

11- Bradford, MN .1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254.

12- Chang, Li., Liu, L., and Guo, X. 2011. The physiological responses of carnation cut flower to exogenous nitric oxide. Sci. Horti.127: 424-430.

13- Chakrabarty, D., Chatterjee, J and Datta, S.K. 2007. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in chrysanthemum florets. Plant Growth Regul. 53: 107-115.

14- D'cunha, GB., Satyanarayan, V. and Nair, P.M.1996. Purification of phenylalanine ammonialyase from *Rhodotorulag lutinis*. Phytochem. 42: 17-20.

15- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhinds, D and Thorpe, T.A. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. J. Exp. Bot. 32: 93-101.

16- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu, H., Li, Y and Jiang, Y. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. Food Chem. 104: 571–576.

17- Emongor, V.E. 2004 . Effects of gibberellic acid on post-harvest quality and vase-life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonnii*). Agron. 3: 191-195.

18- Esfandiari, E., Mahboob, S.A and Shekari, F. 2008. Destructive effect of active oxygen species, plant defense mechanisms and it's necessary .10th Agronomy and Plant Breeding Congress. Iran, Karaj. pp: 1-22.

19- Ezhilmathi, K., Singh, V.P., Arora, A and Sairam, R.K. 2007. Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of Gladiolus cut flowers. Plant Growth Regul. 51: 99–108.

20- Guo, F.Q., and Crawford, N.M. 2005. Arabidopsis nitric oxide synthase1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative

damage and dark-induced senescence. Plant Cell 17: 3436–3450.

21- Howard, T. 2013 . Senescence, ageing and death of the whole plant. New phytol 197: 696-711.

22- Huang, K.T., and Kao C.H. 2005. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by hydrogen peroxide. Bot. Bull. Acad. Sin. 46: 21–28.

23- Kopyra, M. and Gwozdz, E.A. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. Plant Physiol. Biochem. 41: 1011-1017.

24- Lamattina , L., Garcia-Mata, C., Graziano, M and Pagnussat, G. 2003. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule .Ann .Rev. Plant. Biol. 54: 109-136.

25- Leshem, Y.Y and Wills, R. 1998. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. Biol. Plant. 41: 1-10.

26- Mansouri, H. 2012. Salicylic acid and sodium nitroprusside improve postharvest life of Chrysanthemums. Sci. Hort. 145: 29-33.

27- Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Tends Plant Sci 7: 405-410.

28- Nakano, Y and Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. Plant. Cell. Physiol. 22: 867-880.

29- Naz, S., Aslam, F., Ilyas, S., Shahzadi, K and Tariq, A. 2012. In vitro propagation of tuberose (*Polianthes tubrosa* L.). J. Med. Plants Res 6: 4107- 4112.

30- Nicoli, M.C., Elizable, B. E., Piotti, A and Lerici, C. R. 1991. Effect of sugar and maillard reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. J Food Biochem.15: 169-184.

31- Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., Yoshimura, K and Shigeoka, S. 2005. Decline in leaf photooxidative stress tolerance with age in tobacco. Plant Sci. 168: 1487-1493.

32- Plewa, M.J., Smith, S. R and Wanger, E. D. 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Mutat Res. 247: 57-64.

33- Sairam, R.K., Singh, D.V Srivastava, G.C. 2003. Changes in activities of antioxidant enzymes in sunflower leaves of different ages. Biol. Plant 47: 61-66.

34- Singh, A., Kumar, J and 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 Regul 55: 221-229.

35- Serek, M., and Reid, M.S. 1997. Use of growth regulators for improving the postharvest quality of ornamentals. Perishables Handling. 92: 7-8.

36- Shapiro, A.D. 2005 . Nitric oxide signaling in plants. Vitam. Horm.72: 339-398.

37- Sullivan, C.Y and Ross, W.M. 1979. Selection for drought and heat resistance in grain sorghum. In: Mussel, H and R.C Staoles (eds.) Stress Physiology in Crop Plants. John Wiley and Sons, New York: 263-281.

38- Wheutherley P.E. 1950. Studies in water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. New phytol 49: 81-87.

Effect of different concentrations of sodium nitroprusside on physiological characteristics and the vase-life of cut flowers of tuberose *(Polianthes tuberosa* L.)

Ali Pour S.[1], Nasibi F.[2] and Farahmand H.[1]

[1] **Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, I.R. of Iran**

[2] **Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, I.R. of Iran**

Abstract

Polianthes (*Polianthes tuberosa* L.) is one of the most important cut flower worldwide and in Iran. A CRD-based factorial experiment was conducted to evaluate the effect of SNP on qualitative and quantitative parameters of this popular cut flower. Sodium nitroprusside was used at 1 and 10 µM along with control (distilled water). The highest vase-life was obtained with 1µm which increased vase-life for three extra days compared to the control. The highest percent of floret opening was also gained with 1µM SNP. The percents of flower wilting, flower abscission, and flower stem weight reduction decreased at both concentrations of SNP. The lowest electrolyte leakage was found in 1µm SNP and a 1.5 fold decrease was observed compared to the control. The findings of the present research showed that vase-life increased at both concentrations of SNP. Meanwhile, activity of antioxidant enzymes such as GPX and APX increased at both concentrations but the activity of CAT increased only at 1 µM. However, the activity of PPO and PAL enzymes significantly decreased at both concentrations. Therefore, it seems that this compound improved postharvest quality by reducing free radicals of oxygen, conserving membrane integrity, increasing the synthesis of phenolic compounds and decreasing the activity of PPO.

Key words: SNP, Vase-life, Polianthes, Antioxidant enzymes.