اثر اسید آمینه آرژینین بر عمر گلجایی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گل شاخه بریده نرگس شهلای پرپر (*Narcissus tazetta* L. cv. Shahla Double)

سجاد علی پور [۱]، افسون کامیاب [۱]، همایون فرهمند [۲]، فاطمه نصیبی [۳]
۱- دانشجویان کارشناسی ارشد بخش علوم باغبانی، دانشگاه شهید باهنر کرمان،کرمان، ایران. ۲ و۳- به ترتیب استادیاران بخش علوم باغبانی وگروه زیست شناسی دانشگاه شهید باهنرکرمان، کرمان، ایران.
*s_alipour63@yahoo.com

چکیده

این پژوهش برای بررسی اثر تیمار آرژینین بر عمر گلجایی گل های شاخه بریدهٔ گل نرگس، به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار با استفاده از آرژینین در ۳ غلظت (۷/۵،۵،۲/۵ میکرومولار) انجام شد. نتایج نشان داد که عمر گلجایی، به طور معنی داری تحت تأثیر آرژینین قرار گرفت به گونه ای که بیشترین عمر گلجایی (۱۰ روز) پس از تیمار آرژینین ۵ میکرومولارو کمترین آن(۷ روز) در تیمار شاهد به دست آمد. اگر چه همه تیمارها در مقایسه با شاهد طول عمر بیشتری را دارا بودند. هر سه غلظت آرژینین به طور معنی داری نسبت به شاهد باعث افزایش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX) شدند، اما بر فعالیت آنزیم های آسکوربات پراکسیداز(APX) و کاتالاز(CAT) تنها در غلظت های ۵ و ۷/۵میکرومولار موثر بود. آرژینین در غلظت ۵ میکرومولار بیشترین تاثیر را بر روی صفات اندازه گیری شده داشت.آرژینین در مسیر کاتابولیزمی خود قادر به تولید نیتریک اکسید، پلی آمین ها و پرولین می باشد. ممکن است برخی از اثرات مثبت آرژینین در نگهداری گل ها، مربوط به تولید این ترکیبات و خواص آنتی اکسیدانی آنها باشد که با سم زدایی رادیکال های آزاد اکسیژن، پیری را به تا خیر می اندازند.

کلمات کلیدی:آرژینین، نرگس پرپر، گایاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز ، کاتالاز،عمرگلجایی

مقدمه

گل نرگس (*Narcissus tazetta* . cv. Shahla double) گیاهی سوخ دار، تک لپه، علفی، و دارای عطر طبیعی از نرگس سانان می باشد(De Hertogh and Le Nard,1993). گل های شاخه بریدهٔ نرگس عمربسیارکمی داشته و جزء گل های با عمر کوتاه طبقه بندی می گردند (جوکار و ابوطالبی،۱۳۸۳). فرآیند پیری نتیجه یک سری تغییرات فیزیولوژیک و متابولیکی است که سرانجام به مرگ سلول، اندام و یا موجود زنده می انجامد.از بعد تغییرات متابولیک، پیری در نتیجه انجام فرآیندهای اکسیداتیو و کاتابولیک اتفاق می افتد(Ohe *etal*., 2005). انواع اکسیژن فعال بر خلاف اکسیژن اتمسفری از میل ترکیبی بسیار زیادی برای واکنش با تمامی بیومولکول های حیاتی سلول برخوردارند، به طوریکه این ترکیبات با پروتئین ها، لیپید ها،کربوهیدرات ها و اسید های نوکلئیک موجود در سلول وارد واکنش شده و تخریب پروتئین ها و غیر فعال شدن آنها، آسیب به غشاها، وتجزیه پلی ساکاریدها می گردد(Mittler, 2005). سلول های گیاهی برای مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال از یک سری مکانیزم های دفاعی برخوردارند که آنها را قادر می سازد تا با جمع آوری کامل انواع اکسیژن فعال واحیای آنها به آب از آسیب به بیومولکول های حیاتی پیشگیری نماید. مکانیزم های دفاعی سلول ازآنتی اکسیدان ها(مانند آسکوربات،گلوتاتیون،توکوفرول،کارتنوئیدها) وآنزیم های آنتی اکسیدان(مانند سوپراکسیداز دیسموتاز،کاتالاز،گلوتاتیون پراکسیداز وآسکوربات پراکسیداز) تشکیل شده است(Esfandiari *et al*., 2008). هدف از این پژوهش بررسی نقش اسید آمینه آرژینین به عنوان پیش ساز نیتریک اکسید، پلی آمین و پرولین در افزایش عمر گلجایی گل نرگس و اثر آن در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بوده است.

مواد و روش ها

برای انجام این پژوهش آزمایشی با ۴ تیمار و۳ تکرار در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی صورت گرفت. ساقه گل ها در زیر آب مقطر با تیغ استریل تیز به طول ۲۰ سانتی متر هم اندازه و محلول سازی به طور همزمان صورت گرفت. تیمارهای مورد استفاده شامل آرژینین در ۳ غلظت (۲/۵ ،۵ و ۷/۵ میکرومولار) و شاهد (آب مقطر) بودند. **عمر گلجایی :** زمان پژمرده شدن ۵۰ درصد از گل های گل آذین به عنوان انتهای عمر گلجایی در نظر گرفته شد .

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز(GPX): فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاول اندازه گیری شد. در این روش ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱درصد،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 اندازه گیری شد(Plewa *et al*,1991).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز(APX): فعالیت این آنزیم بر اساس روش(Nakano and Asada, 1981) اندازه گیری شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار(pH=7) ، 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 اندازه گیری شد.

سنجش فعالیت کاتالاز(CAT):سنجش فعالیت کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت(Dhindsab *et al*.,1981). بر اساس این روش مخلوط واکنش(۳میلی لیتر) شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار(pH =7)، آب اکسیژنه ۱۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع شد وکاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

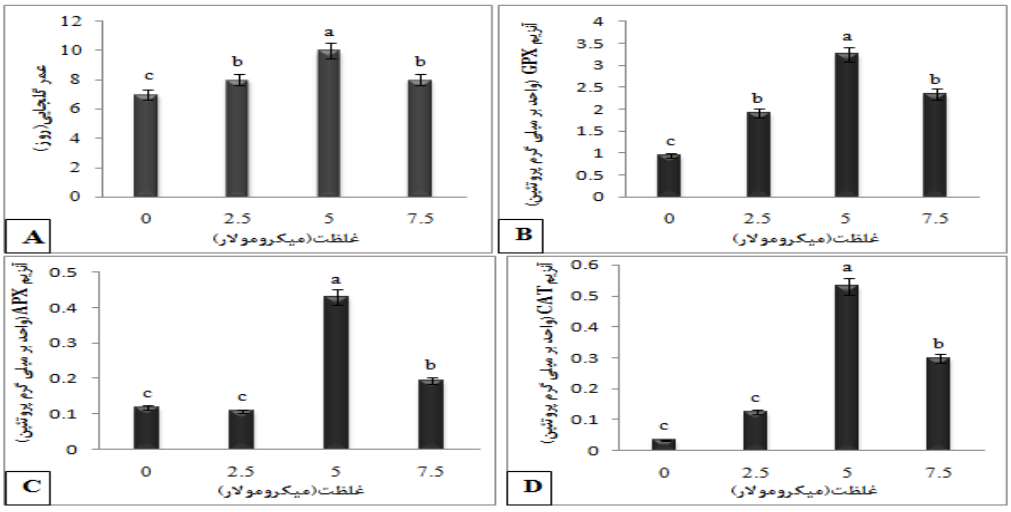
اثر غلظتهای مختلف آرژینین بر عمر گلجایی گل های نرگس:نتایج نشان داد که محلول های نگهداری حاوی غلظت های مختلف آرژینین به طور معنی داری عمر گلجایی گل های شاخه بریده نرگس را در مقایسه با گل های شاهد افزایش دادند (شکل ۱،A).

اثر غلظت های مختلف آرژینین بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز(GPX): اسید آمینه آرژینین در هر سه غلظت بکار برده شده بطور معنی داری نسبت به شاهد منجر به افزایش فعالیت آنزیم GPX که حداکثر فعالیت در غلظت ۵ میکرومولار دیده شد(شکل ۱،B).

اثر غلظت های مختلف آرژینین بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX):آرژینین در غلظت های ۵ و ۷/۵ میکرومولار باعث افزایش فعالیت آزیم APX نسبت به تیمار ۲/۵ میکرومولار و شاهد شد که در این بین غلظت ۵ میکرومولار به طور معنی داری باعث افزایش فعالیت این آنزیم شد(شکل ۱،C).

اثر غلظت های مختلف آرژینین بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز(CAT): نتایج نشان دادکه غلظت های ۵ و ۷/۵ میکرومولار به طور معنی داری سبب افزایش فعالیت این آنزیم آنتی اکسیدانی نسبت به تیمار شاهد و غلظت ۲/۵ میکرومولار شد که بیشترین فعالیت در غلظت ۵ میکرومولار و کمترین میزان فعالیت مربوط به غلظت ۲/۵ میکرومولار بود(شکل ۱،D).

شکل ۱:تاثیر اسید امینه آرژینین روی عمر گلجایی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان.



در این مطالعه کاربرد اسیدآمینه آرژینین باعث افزایش عمر گلجایی گل های نرگس گردید.که این افزایش با افزایش فعالیت آنزیم های آنزیم های گایاکول پراکسیداز آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز توام بود. از آنجایی که گونه های فعال اکسیژن یکی از عوامل مهم در پیری زودرس گلبرگ هاست و از سوی دیگر آنزیم هایGPX,CAT وAPX از آنزیم های آنتی اکسیدان مهم بوده و موجب خنثی شدن اثر سمی این گونه های فعال می شوند(Mortazavi *et al*.,2007). بنابراین به نظر می رسد نقش مثبت آرژینین در افزایش عمر گلجایی به دلیل افزایش فعالیت این آنزیم های آنتی اکسیدان باشد. در برخی مطالعات نیز گزارش شده است که استفاده از ترکیبات رها کننده نیتریک اکسید مانند SNP عمر گلجایی را در برخی گل ها افزایش داد ه است(Mansoori, 2012). یکی دیگر از اثرات احتمالی آرژینین در افزایش عمر گلجایی گل های نرگس می تواند به دلیل اثر ترکیبات حاصل از متابولیسم آرژینین در کاهش تولید اتیلن باشد. برای اثبات این مطلب و بررسی جزئیات این اثرات مطالعات بیشتر و عمیق تر در این زمینه لازم است. البته غلظت های کاربردی این اسید آمینه بسیار مهم است زیرا نیتریک اکسید، پرولین و پلی آمین های حاصل از آن دارای نقش های دوگانه اند به طوری که در غلظت های پایین باعث کاهش تنش می شوند در حالی که در غلظت های بالا این ترکیبات تنش زا هستند(Kumar *et al*., 2010).

Effects of arginin on vase-life and activity of antioxidant enzymes of *Narcissus tazetta* L. cv. Shahla Double cut flower.

S. Alipour[1*], A. Kamyab[1], H. Farahmand[2] and F.Nasibi[3]

1- MSc. Students, Dept. of Horticultural Sciences, Shahid Bahonar University, Kerman- Iran. 2,3-Professor assistant of Department of Horticultural Science and Department of Biology, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran, respectively.

*Email:s_alipour63@yahoo.com

Abstract

This research was conducted as CRD with three replications to investigate the effect of Arginin(2.5,5,7.5 µM) along with Concentration on *Narcissus* cut flowers. The results indicated that vase-life was significantly affected by Arginin, so as the highest vase-life (10 day) was obtained in 5µM and the lowest (7 day) in control. Also, all treatments increasedvase-life compared to control. All Arginin concentration significantly increased Guaiacol peroxidase (GPX) activity compared to control but the activity of Ascorbate peroxidase (APX) and Catalase (CAT) was only increased at 5 and 7.5 µM concentration. Arginin at 5µM increased all measured characteristics. Arginin in its catabolic pathway produce Nitric oxide, Polyamins and Proline. Some positive effects of Arginin in extending vase-life of cut flowers may be associated with the antioxidant properties of the mentioned enzymes which delay senescence by detoxifying free oxygen radicals.

منابع

جوکار، م؛ و ابو طالبی، ع. ۱۳۸۳. تأثیر مواد شیمیایی مختلف، زمان و نحوه برداشت و ساختار هیستولوژیک ساقه بر عمر پس از برداشت گل بریدنی نرگس بومی ایران(*Narcissus tazetta* L..). پایان نامه کارشناسی ارشد. گروه باغبانی دانشکده کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم.

De Hertogh, A. and M.Le Nard. 1993. The Physiology of Flower Bulbs. Elsevier Sci. Pub. Amsterdam,the Netherlands. 811 P.

Dhindsa RA. Plumb-Dhindsa P, Thorpe PA. 1981. Leaf senescence: correlated with increased permeability and lipid proxidation, and decreases levels of superoxide dismutase and catalase .J. Exp . Bot., 126: 93-101

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.

Kumar, N., Pal, M., Singh A, Kumar Sairam, R., Srivastava, G. C., 2010. Exogenous proline alleviates oxidative stress and increases vase life in rose (*Rosa hybrida* L. 'Grand Gala'). Sci. Hort. 127, 79-85.

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

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

Mortazavi, S.N., R., Naderi .A., Khalighi, M. Babalar, and H.Allizadeh, 2007. The effect of cytokinin and calcium on cut flower quality in Rose (*Rosahybrid* cv. Illona). J. Food, Agric. and Environ. (JFAE). 5: 3 & 4: 1459-0263.

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.

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

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.