بررسی تغییر فعالیت آنزیمی و پرولین در گل‌های گلدانی برخی ارقام میخک مینیاتوری (*Dianthus caryophyllus* L.) تحت تنش اتیلن

مهناز کریمی[1*]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۱۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۴)

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی نقش اتیلن و تیمارهای ممانعت کننده از تولید و عمل اتیلن در ماندگاری گل‌های گلدانی میخک به اجرا در آمد. بدین منظور، ابتدا گل‌های گلدانی میخک با غلظت‌های مختلف آمینو اُکسی استیک اسید (AOA)، بنزیل آدنین (BA) و ۱- متیل سیکلوپروپان (1-MCP) تیمار شدند. سپس، تیمار اتفن (برای ایجاد تنش) به‌صورت محلول‌پاشی روی گل‌های پیش‌تیمار شده اعمال گردید. نتایج نشان داد که کمترین ماندگاری گل در ارقام سیلور پینک و لیلک ان پرپل (به‌ترتیب ۵ و ۶ روز) مربوط به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن بود. بیشترین ماندگاری (۱۱/۵۰ روز) مربوط به رقم لیلک ان پرپل بود. تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP در هر دو رقم مورد بررسی مؤثرترین تیمار در جلوگیری از تأثیر اتفن بر کاهش ماندگاری گل‌ها بود. همچنین، کمترین میزان اتیلن تولیدی و بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل‌هایی مشاهده گردید که قبل از اعمال تنش، با ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP پیش‌تیمار شده بودند. بیشترین میزان تجمع پرولین مربوط به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن و حداکثر میزان فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن و پیش‌تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA بود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، بازدارنده‌های اتیلن، اتفن، ماندگاری گل

مقدمه

پیری گل‌های میخک همانند سایر گیاهان فرازگرا (Climacteric) با افزایش در میزان اتیلن همراه است. قرار گرفتن گل‌ها در معرض اتیلن خارجی، تولید و آزادسازی اتیلن و تغییرات فیزیکی و شیمیایی در لیپیدهای غشاهای گلبرگ‌های در حال پیر شدن را تحریک می‌کند (۵). اتیلن باعث پژمردگی زودتر، از بین رفتن رنگ گل‌ها، ریزش گلبرگ‌ها و زرد شدن برگ‌ها می‌شود (۲۷). اتیلن خارجی (برون‌زاد، Exogenous) می‌تواند باعث بروز پاسخ‌های مختلفی در بافت گیاه شود. در یک آزمایش، قرار دادن گل‌های میخک در معرض اتیلن باعث افزایش تولید خودبخودی اتیلن گردید و پیری و پژمردگی گلبرگ‌ها را تسریع نمود (۳۴).

اتفن (۲- کلرو اتیل فسفونیک اسید)، رایج‌ترین ترکیب آزاد کننده اتیلن است که به طور گسترده‌ای در باغبانی کاربرد دارد.

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.karimi@sanru.ac.ir, Karimi.sanru@gmail.com

در بررسی راید و وو (۲۹) و سرک و همکاران (۳۲)، گل‌های بریدنی اطلسی به‌مدت ۱۲ ساعت در معرض تیمار اتیلن (با غلظت ۱-۱۲ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند. سپس، تیمار ۶ ساعته 1-MCP اعمال گردید. این ماده از اثر تیمار اتیلن جلوگیری کرد. هان و میلر (۸) نقش اتیلن را در کیفیت پس از برداشت گل‌های بریدنی سوسن شرقی مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی، تیمار گل، غنچه و برگ با اتیلن خارجی با غلظت ۱۰ نانولیتر در لیتر، در کاهش عمر گل‌جایی، باز شدن غنچه و توسعه زردی برگ مؤثر نبود. یامان و همکاران (۳۸) در پژوهشی روی گل‌های بریدنی کاتلیا به این نتیجه دست یافتند که تیمار یک میکرولیتر در لیتر اتیلن به‌مدت ۲۴ ساعت، باعث افزایش فعالیت آنزیم ACC (آمینو سیکلوپروپان ۱-کربوکسیلیک اسید، Aminocyclopropane-1- carboxylic acid) اکسیداز و کاهش ACC گردید. در این بررسی، عمر گل‌جایی از ۷/۵ روز به ۴ روز کاهش یافت.

در میان بازدارنده‌های بیوسنتز اتیلن، AOA (Amino-oxyacetic acid) بازدارنده سنتز اتیلن بوده و از فعالیت آنزیم ACC سنتاز جلوگیری می‌کند و مانع تبدیل SAM (S-adenosyl methionine) به ACC می‌گردد (۱۴). این ماده برای جلوگیری از تولید اتیلن درون‌زا مؤثر می‌باشد و پژمردگی گل‌ها را به تأخیر می‌اندازد. هانتر و همکاران (۱۲) اظهار داشتند که تیمار کوتاه‌مدت گل‌های بریدنی اُرکیده با ۵ میلی‌مولار AOA باعث افزایش عمر گل‌جایی می‌گردد. غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA عمر گل‌جایی میخک مینیاتوری و فعالیت آنزیم α-آمیلاز را افزایش داد (۱۳-۳۷). 1-MCP و دیگر سیکلوپروپان‌ها از اثر اتیلن برون‌زاد در گل‌ها، از جمله افتادن گل و جوانه، ریزش برگ و پیری گل جلوگیری می‌کنند. لذا، برای کنترل پیری در گل‌ها کاربرد دارند (۳۱ و ۳۲) تیمار با 1-MCP به طور قابل توجهی عمر گل‌جایی کاتلیا آلیانس (*Cattleya alliances*) را افزایش داد (۳۸).

هدف از مطالعه حاضر، بررسی نقش تیمارهای بازدارنده اتیلن (AOA ، 1-MCP و BA) در جلوگیری از تأثیر اتیلن برون‌زاد (تنش اتیلن) در کاهش کیفیت گل‌های گلدانی میخک مینیاتوری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و نوع طرح آزمایشی

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل، بر پایه طرح کاملاً تصادفی، با سه فاکتور شامل: دو رقم میخک گلدانی، تیمارهای تنش اتیلن (اتفن در چهار سطح) و پیش‌تیمارهای بازدارنده تولید اتیلن [غلظت‌های مختلف BA (بنزیل آدنین)، AOA (آمینو اکسی استیک اسید) و 1-MCP (۱- متیل سیکلوپروپان] با ۴ تکرار به اجرا در آمد. قلمه‌های ارقام سیلور پینک (Silver pink) و لیلک ان پرپل (Lilac on purple) میخک گلدانی (*Dianthus caryophyllus* L.) پس از ریشه‌دار شدن و رسیدن به مرحله گل‌دهی (زمانی که گل‌های باز به یک سوم اندازه نهایی رسیده بودند) با مواد BA (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر)، AOA (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و 1-MCP (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) تیمار شدند. دو تیمار BA و AOA به صورت محلول‌پاشی اعمال گردیدند. برای تیمار 1-MCP (اتیل بلاک، ۰/۱۴ درصد) گلدان‌ها در داخل سطل‌های ۵۰ لیتری قرار گرفتند. پودر 1-MCP بعد از توزین به داخل فالکونی‌هایی که در قسمت داخلی درب سطل‌ها تعبیه شده بود، ریخته شد (به منظور خارج شدن گاز 1-MCP از داخل فالکون، شیاری در آن ایجاد شد). بعد از بستن درب سطل‌ها، برای تبدیل 1-MCP به حالت گازی، با استفاده از پیپت، آب گرم به داخل فالکون‌ها تزریق گردید و درب آن‌ها سریعاً بسته شد. بعد از اعمال پیش تیمارهای ذکر شده، تنش اتیلن با اتفن (کلرو اتیل فسفونیک اسید) در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) به صورت محلول‌پاشی روی گلدان‌های پیش‌تیمار شده انجام گرفت. صفاتی چون ماندگاری گل‌ها، سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، سنجش فعالیت آنزیم α- آمیلاز، تولید اتیلن و محتوای پرولین، یک روز بعد از اعمال تنش، مورد بررسی قرار گرفت.

محاسبه طول عمر گل‌های گلدانی

ماندگاری گل‌های گلدانی از زمان اعمال تیمارهای شیمیایی تا زمانی که ۵۰٪ از گل‌های یک گلدان از بین رفته (پژمرده شده، ریزش کرده و یا تغییر رنگ داده) و بازارپسندی خود را از دست دادند، برحسب روز محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان تولید اتیلن

برای اندازه‌گیری میزان تولید اتیلن، گل مربوط به هر تیمار از ساقه جدا شد و بعد از وزن کردن در داخل شیشه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار گرفت (درب پلاستیکی شیشه‌های مذکور قبل از انجام آزمایش سوراخ شده و سرپوش پلاستیکی در محل سوراخ‌ها قرار داده شد). شیشه‌های حاوی نمونه به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۲۲ درجه سلسیوس به‌منظور تولید اتیلن نگهداری شدند. بعد از ۲ ساعت، با استفاده از سرنگ، گاز موجود در شیشه به داخل ونوژکت (شیشه‌های خلأ، Venoject) تزریق گردید. در نهایت، مقدار یک میلی‌لیتر از گاز داخل ونوژکت‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Shimadzu GC-7AM, Japan) مجهز به ستون آلومینا و گاز حامل هلیم تزریق گردید.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

کاتالاز (CAT, EC 1. 11.1.6): مقدار ۰/۲ گرم نمونه منجمد در ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی‌مولار (pH = ۶/۸) عصاره‌گیری گردید. عمل همگن کردن به‌مدت ۱۵ دقیقه و با دور ۱۵۰۰۰ در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس صورت گرفت. سپس، محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده گردید. تجزیه آب اکسیژنه (H_2O_2) با کاهش در جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به وسیلهٔ دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل 6405 UV/ Vis, Jenway) بررسی شد. میزان H_2O_2 موجود در مخلوط واکنش با استفاده از ضریب خاموشی (H_2O_2) محاسبه گردید (۲).

سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC 1.15.1.1): مقدار ۰/۲ گرم نمونه منجمد با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۰/۱ گرم پلی‌وینیل پولی‌پیرولیدین و pH برابر۷ رقیق شد. همگن‌های حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و بخش رویی برای سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز مورد استفاده قرار گرفت (۷).

پراکسیداز (POD, EC 1.11.1.7): فاز همگن حاصل از استخراج نمونه گلبرگ، به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۲-۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی، بافر فسفات، محلول گایاکول و پراکسید با غلظت نهایی ۲۸ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت نهایی ۵ میلی‌مولار در طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. فعالیت آنزیمی به صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (۶).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز (EC 3.2.1.1): برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز از روش پلامر (۲۷) استفاده شد. فاز بالایی از نمونه استخراج شده از بافت گلبرگ، پس از سانتریفیوژ، به درون لوله آزمایش منتقل شده و رسوبات باقی‌مانده نیز با افزودن ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات، به‌مدت ۲ ساعت روی شیکر قرار داده شد. در نهایت، به مخلوط حاصل ۳ میلی‌لیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از سرد شدن لوله‌ها، یک میلی‌لیتر تارتارات سدیم پتاسیم به آن افزوده و فعالیت آنزیم در طول موج ۵۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

سنجش غلظت پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین، از روش بیتز و همکاران (۱) استفاده شد. دو میلی‌لیتر از عصاره‌های صاف شده نمونه گلبرگ به لوله‌های درب‌دار منتقل گردید و به تمام لوله‌ها مقدار ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه شد. پس از بستن درب لوله‌ها، به‌مدت یک ساعت در آب ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از سرد کردن

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در گل‌های گلدانی طی اعمال تنش اتیلن

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		ماندگاری گل‌ها	تولید اتیلن	پرولین	پراکسیداز	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز	آلفا-آمیلاز
تیمار (A)	۹	۹۴/۷۱**	۴۸۱/۶۱**	۲۰/۷۷**	۶۲/۴۵**	۰/۱۷**	۲۸۵/۹۳**	۱۳۵/۲۰**
رقم (B)	۱	۱۱۱/۳۲*	۱۴۲۸۱/۳**	۴۹/۳۰**	۲۹۹/۶۹**	۰/۴۴**	۶۹۰/۳۱**	۱۱۸۹/۶۵**
A×B	۹	۰/۵۱^{ns}	۹۴/۱۹**	۰/۷۶*	۷/۱۲**	۰/۰۷**	۱۷/۷۸**	۱۹/۸۲**
خطا	۵۷	۰/۴۸	۰/۷۸	۰/۲۵	۰/۵۷	۰/۰۰۳	۰/۸۹	۰/۲۷
ضریب تغییرات (٪)		۶/۳۱	۴/۰۰	۸/۹۹	۹/۰۱	۵/۲۳	۴/۹۸	۹/۴۳

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

لوله‌ها، به هر کدام مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گشت و به مدت ۱۵ تا۲۰ ثانیه لوله‌ها با شیکر تکان داده شدند. سرانجام، فاز رویی را که حاوی پرولین محلول در تولوئن بوده برداشته و همزمان با نمونه‌های استاندارد در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار گرفت و اعداد در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. غلظت پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تازه بیان شد.

تجزیه‌ی آماری داده‌ها

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون LSD تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

ماندگاری گل‌ها

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر تیمار و رقم بر ماندگاری گل‌ها معنی‌دار است. در جدول ۲، میانگین اثر رقم، تیمار و اتفن بر ماندگاری گل‌های گلدانی میخک نشان داده شده است. مؤثرترین تیمار شیمیایی در افزایش ماندگاری گل‌ها مربوط به تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP بود. در بین دو رقم مورد بررسی، بیشترین ماندگاری (۱۱/۵۰ روز) مربوط به رقم لیلک ان پرپل بود. در گل‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف اتفن، غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با اتفن ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش کیفیت گل‌ها نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول ۲). بنابراین، با توجه به عدم اختلاف معنی‌دار تیمار شاهد با اتفن ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، در ادامه آزمایش، برای بررسی دیگر صفات تنها از اتفن ۳۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردید.

نتایج حاصل از اثر متقابل رقم و تیمار (پیش‌تیمارهای شیمیایی+اتفن ۳۰) بر وضعیت ماندگاری گل‌های گلدانی میخک طی اعمال تنش اتیلن در جدول ۳ خلاصه گردیده است. کمترین ماندگاری گل در ارقام سیلور پینک و لیلک ان پرپل (به‌ترتیب ۵ و ۶ روز) مربوط به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن بود. تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP در هر دو رقم مورد بررسی مؤثرترین تیمار در جلوگیری از تأثیر اتفن در کاهش ماندگاری گل‌ها بود. پیش‌تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA نقش مؤثری در حفظ کیفیت گل‌ها در برابر تیمار اتفن نداشتند.

تغییر در میزان تولید اتیلن طی اعمال پیش‌تیمارهای AOA، BA، 1-MCP و اتفن ۳۰

یک روز بعد از اعمال پیش‌تیمارها و تنش اتفن، میزان تولید اتیلن اندازه‌گیری شد. اتیلن تولیدی در دو رقم از گل‌های گلدانی در جدول ۳ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری بین تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن و شاهد در میزان اتیلن تولیدی در هر دو رقم مورد بررسی وجود داشت. کمترین میزان اتیلن

جدول ۲. میانگین اثر رقم، تیمار و اتفن بر ماندگاری گل‌های گلدانی میخک (غلظت تیمارهای BA، AOA و اتفن، میلی‌گرم در لیتر و تیمار 1-MCP میکرولیتر در لیتر می‌باشد)

		ماندگاری گل‌ها (روز)
رقم	سیلور پینک	۹/۰۰b*
	لیلک ان پیرپل	۱۱/۵۰a
تیمار شیمیایی	شاهد	۸/۰۰d
	بنزیل آدنین ۱۰	۸/۲۵d
	بنزیل آدنین ۲۰	۹/۰۰cd
	بنزیل آدنین ۳۰	۱۰/۵۰c
	آمینو اکسی استیک اسید ۵۰	۸/۰۰d
	آمینو اکسی استیک اسید۱۰۰	۱۰/۵۰c
	آمینو اکسی استیک اسید۱۵۰	۱۲/۵۰b
	۱- متیل سیکلوپروپان ۰/۶	۱۶/۲۵a
	۱- متیل سیکلوپروپان ۱/۲	۱۳/۵۰b
تیمار اتفن	شاهد	۹/۲۵a
	۱۰	۹/۵۰a
	۲۰	۹/۲۵a
	۳۰	۸/۰۰b

* در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

در گل‌هایی بود که قبل از اعمال تنش، با ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP تیمار شده بودند. به‌غیر از تیمار مذکور، ۱/۲ میکرولیتر در لیتر 1-MCP و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA نیز مؤثرتر از تیمارهای دیگر در جلوگیری از تأثیر تنش اعمال شده بودند. در همه تیمارهای مورد بررسی، سیلور پینک اتیلن بیشتری نسبت به لیلک ان پرپل تولید کرد، به‌طوری که این میزان در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن برای ارقام مذکور به‌ترتیب ۴۳ و ۳۶/۵ نانولیتر بر گرم وزن تر در ساعت بود.

تغییر در میزان تجمع پرولین

طبق نتایج به‌دست آمده (جدول ۳) بیشترین میزان تجمع پرولین مربوط به تیمار اتفن بود. تیمار مذکور تفاوت معنی‌داری با تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOAنداشت. حداقل میزان پرولین در پیش‌تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP اندازه‌گیری شد. در پیش‌تیمارهای ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA و ۱/۲ میکرولیتر در لیتر 1-MCP نیز میزان تجمع پرولین کم بود. در همه تیمارهای مورد بررسی، سیلور پینک پرولین بیشتری نسبت به لیلک ان پرپل داشت، به‌طوری که این میزان در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن برای ارقام مذکور به‌ترتیب ۹/۵۰ و ۷/۸۷ میکروگرم بر گرم وزن تر بود.

تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

پراکسیداز (POD): میزان فعالیت آنزیم POD در هر رقم و بسته به نوع تیمار متفاوت بود (جدول ۴). حداکثر فعالیت در گل‌هایی مشاهده شد که قبل از اعمال تیمار اتفن با ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP تیمار شده بودند. تفاوت معنی‌داری بین پیش‌تیمارهای ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA و ۱/۲ میکرولیتر در لیتر 1-MCP در فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده نشد. کمترین میزان فعالیت مربوط به تیمار اتفن ۳۰ و پیش

جدول ۳. اثر متقابل رقم و تیمار بر برخی صفات مورد بررسی در گل‌های گلدانی میخک مینیاتوری طی اعمال تنش اتیلن (غلظت تیمارهای BA، AOA و اتفن، میلی‌گرم در لیتر و تیمار 1-MCP میکرولیتر در لیتر می‌باشد)

رقم	تیمار	ماندگاری گل‌ها (روز)	تولید اتیلن (nl/g FW h)	پرولین (µg/g FW)
سیلور پینک	شاهد	۷/۵۰ h*	۳۲/۵۰ c	۷/۲۵ b
	اتفن ۳۰	۵/۰۰ i	۴۳/۰۰ a	۹/۵۰ a
	بنزیل آدنین ۱۰+ اتفن ۳۰	۶/۲۵ hi	۳۶/۵۰ b	۸/۳۷ a
	بنزیل آدنین ۲۰+ اتفن ۳۰	۷/۰۰ h	۳۶/۷۵ b	۹/۹۵ a
	بنزیل آدنین ۳۰+ اتفن ۳۰	۹/۵۰ f	۲۷/۰۰ d	۷/۶۴ b
	آمینو اکسی استیک اسید ۵۰+ اتفن ۳۰	۶/۰۰ hi	۳۷/۰۰ b	۸/۷۴ a
	آمینو اکسی استیک اسید۱۰۰+ اتفن ۳۰	۹/۵۰ f	۲۴/۲۵ e	۷/۰۰ b
	آمینو اکسی استیک اسید۱۵۰+ اتفن ۳۰	۱۱/۰۰ de	۱۶/۵۰ f	۵/۰۰ d
	۱- متیل سیکلوپروپان ۰/۶+ اتفن ۳۰	۱۵/۰۰ b	۸/۷۵ i	۳/۲۵ e
	۱- متیل سیکلوپروپان ۱/۲+ اتفن ۳۰	۱۱/۲۵ de	۱۵/۷۵ f	۵/۱۰ c
لیلک ان پرپل	شاهد	۸/۰۰h	۲۵/۲۵ de	۶/۱۷ c
	اتفن ۳۰	۶/۰۰hi	۳۶/۵۰ b	۷/۹۸ b
	بنزیل آدنین ۱۰+ اتفن ۳۰	۷/۵۰ h	۳۶/۲۰ b	۷/۱۶ b
	بنزیل آدنین ۲۰+ اتفن ۳۰	۷/۵۰h	۳۴/۰۰ bc	۷/۲۷ b
	بنزیل آدنین ۳۰+ اتفن ۳۰	۱۱/۰۰ de	۱۶/۵۰ f	۷/۲۲ c
	آمینو اکسی استیک اسید ۵۰+ اتفن ۳۰	۶/۰۰ hi	۳۶/۲۵ b	۷/۶۰ b
	آمینو اکسی استیک اسید۱۰۰+ اتفن ۳۰	۱۰/۰۰ e	۱۷/۵۰ f	۵/۰۹ c
	آمینو اکسی استیک اسید۱۵۰+ اتفن ۳۰	۱۲/۰۰ c	۱۵/۷۵ f	۴/۳۷ d
	۱- متیل سیکلوپروپان ۰/۶+ اتفن ۳۰	۱۷/۲۵ a	۵/۷۵ j	۲/۲۵ f
	۱- متیل سیکلوپروپان ۱/۲+ اتفن ۳۰	۱۲/۵۰ c	۱۳/۵۰ h	۴/۵۰ d

* در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

تیمارهای ۱۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA بود.

کاتالاز (CAT): با توجه به جدول ۴، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن و شاهد در میزان فعالیت کاتالاز مشاهده نشد. بیشترین میزان فعالیت با ۱/۲۲ (سیلور پینک) و ۱/۳۲ (لیلک ان پرپل) نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP+ ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن مشاهده شد.

سوپراکسید دیسموتاز (SOD): فعالیت SOD نیز همانند POD در گل‌های تیمار نشده (شاهد) بیشتر از گل‌های تیمار شده با ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن بود. بیشترین فعالیت آنزیم مربوط به پیش‌تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP بود (جدول ۴).

فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز: با توجه به جدول ۴، فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن و پیش تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA در حداکثر بود. لیکن، این آنزیم فعالیت کمتری در گل‌های پیش‌تیمار شده با 1-MCP، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر BA داشت. به‌طور کلی، در بین ارقام، میزان فعالیت آنزیم در لیلک ان پرپل کمتر از سیلور پینک بود.

جدول ۴. اثر متقابل رقم و تیمار بر برخی از صفات مورد بررسی در گل‌های گلدانی میخک مینیاتوری طی اعمال تنش اتیلن (غلظت تیمارهای BA، AOA و اتفن، میلی‌گرم در لیتر و تیمار 1-MCP میکرولیتر در لیتر می‌باشد)

رقم	تیمار	پراکسیداز (nmol/min mg pro.)	کاتالاز (nmol/min mg pro.)	سوپراکسیددیسموتاز (U/mg pro.)	آلفا-آمیلاز (mg malt/g FW)
سیلور پینک	شاهد	۵/۴۱ e*	۰/۷۳ e	۱۱/۱۹ g	۱۵/۴۲ b
	اتفن۳۰	۳/۰۰ f	۰/۶۸ ef	۹/۰۰h	۱۹/۶۱ a
	بنزیل آدنین ۱۰+ اتفن ۳۰	۳/۲۵ f	۰/۷۲ e	۹/۶۰ h	۱۸/۲۳ a
	بنزیل آدنین ۲۰+ اتفن ۳۰	۵/۸۱ e	۰/۷۱ e	۹/۱۲ h	۱۹/۰۱ a
	بنزیل آدنین ۳۰+ اتفن ۳۰	۹/۴۱ c	۰/۹۳ c	۱۷/۸۳ f	۱۳/۲۶ c
	آمینو اکسی استیک اسید ۵۰+ اتفن ۳۰	۳/۱۲ f	۰/۶۷ ef	۱۰/۵۲ gh	۱۸/۹۹ a
	آمینو اکسی استیک اسید۱۰۰+ اتفن ۳۰	۷/۴۷ d	۰/۹۴ c	۱۷/۵۸ f	۱۳/۹۰ c
	آمینو اکسی استیک اسید۱۵۰+ اتفن ۳۰	۸/۹۲ cd	۱/۲۵ b	۲۳/۶۱ d	۱۳/۲۸ c
	۱- متیل سیکلوپروپان ۰/۶+ اتفن ۳۰	۱۰/۴۵ b	۱/۲۲ ab	۲۷/۴۱ b	۱۱/۱۱ d
	۱- متیل سیکلوپروپان ۱/۲+ اتفن ۳۰	۹/۸۰ c	۰/۹۹ c	۲۳/۲۱ d	۱۳/۸۸ c
لیلک ان پرپل	شاهد	۶/۶۱ e	۰/۸۴ cd	۱۱/۹۹ g	۱۴/۹۰ bc
	اتفن۳۰	۴/۵۲ f	۰/۷۲ d	۹/۲۴ h	۱۸/۰۰ a
	بنزیل آدنین ۱۰+ اتفن ۳۰	۴/۲۳ f	۰/۷۶ d	۹/۱۰ h	۱۸/۳۳ a
	بنزیل آدنین ۲۰+ اتفن ۳۰	۵/۱۴ f	۰/۷۹ d	۱۰/۸۱ gh	۱۸/۲۸ a
	بنزیل آدنین ۳۰+ اتفن ۳۰	۱۱/۳۰ b	۱/۰۰ b	۱۹/۵۰ e	۱۳/۵۰ c
	آمینو اکسی استیک اسید ۵۰+ اتفن ۳۰	۴/۸۵ f	۰/۷۶d	۱۰/۰۰ g	۱۸/۱۰ a
	آمینو اکسی استیک اسید۱۰۰+ اتفن ۳۰	۸/۱۱ c	۰/۹۹ c	۱۸/۵۸ e	۱۲/۱۱ c
	آمینو اکسی استیک اسید۱۵۰+ اتفن ۳۰	۱۱/۱۱ b	۱/۰۴ b	۲۵/۱۱ c	۱۲/۵۸ c
	۱- متیل سیکلو پروپان ۰/۶+ اتفن ۳۰	۱۲/۸۹ a	۱/۳۲ a	۲۹/۳۶ a	۱۰/۱۱ e
	۱- متیل سیکلو پروپان ۱/۲+ اتفن ۳۰	۱۱/۰۰ b	۱/۰۰ b	۲۵/۱۳ c	۱۲/۷۰ d

* در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

بحث

در بررسی حاضر، تیمار اتفن، پیری گل‌های دو رقم میخک گلدانی را تسریع کرد. این امر حاکی از آن است که هر دو رقم مورد بررسی، همانند ارقام دیگر میخک، گل‌هایی چون اُرکیده، نرگس، اطلسی و سیمبدیوم، حساس به اتیلن هستند (۱۲، ۱۸، ۲۵، ۲۸ و ۳۶). گرچه، در بین ارقام مورد بررسی، لیلک ان پرپل حساسیت کمتری نسبت به سیلور پینک نشان داد، که این پدیده می‌تواند مربوط به عامل ژنتیکی باشد. در پژوهش یامان و همکاران (۳۸) روی گل‌های بریدنی کاتلیا، تیمار یک میکرولیتر در لیتر اتیلن، عمر گل‌جایی را از ۷/۵ روز به ۴ روز کاهش داد. تیمار گل‌های بریدنی آلسترومریا با غلظت‌های مختلف اتفن باعث تسریع در ریزش گلبرگ‌ها گردید. در گزارشی دیگر، گل‌های اطلسی به‌مدت ۱۲ ساعت در معرض تیمار اتیلن (غلظت ۱-۱۲ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند. سپس، تیمار ۶ ساعته 1-MCP اعمال گردید. این ماده، از اثر تیمار اتیلن جلوگیری کرد (۲۹). نتایج مشابهی توسط سجلی و همکاران (۳۰) روی گل‌های بریدنی میخک گزارش شد. هان و میلر (۸) نقش اتیلن را در کیفیت پس از برداشت گل‌های بریدنی سوسن

شرقی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که تیمار گل، غنچه و برگ با اتیلن خارجی با غلظت ۱۰ نانولیتر در لیتر، در کاهش ماندگاری گل، باز شدن غنچه و توسعه زردی برگ مؤثر نبوده و در نتیجه تیمارهای بازدارنده اتیلن از جمله 1-MCP تأثیری در بهبود کیفیت گل‌ها نداشتند.

نتایج به‌دست آمده در این بررسی نشان داد که تیمارهای BA (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) و AOA (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در غلظت‌های کم تأثیری در حفظ کیفیت و ماندگاری گل‌های گلدانی میخک مینیاتوری ندارند. در پژوهشی روی گل‌های بریدنی ارکیده، به نقش مؤثر ۴۵ میلی‌گرم در لیتر AOA در حفظ کیفیت گل‌ها در برابر اعمال تنش اتیلن اشاره شده است که با یافته‌های نتایج بررسی حاضر مغایرت دارد (۱۸). AOA و BA به‌ترتیب در غلظت ۱۵۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر تأثیر معنی‌داری در جلوگیری از اثر تیمار اتفن در کاهش ماندگاری گل‌ها در ارقام گلدانی داشتند (جدول ۳). در بررسی حاضر، در پاسخ به تیمار اتفن، میزان تولید اتیلن افزایش نشان داد. این یافته مطابق با نتایج مولر و همکاران (۲۳) روی گل‌های بریدنی رُز بود. این محققین نشان دادند که افزایش اتیلن در گل‌های تحت تنش (تیمار اتیلن) به‌دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های ACC اکسیداز و سنتاز می‌باشد. در پژوهشی روی گل‌های بریدنی کاتلیا، تیمار یک میکرولیتر در لیتر اتیلن، باعث افزایش اتیلن شد. تیمار اتیلن خارجی در گل‌های بریدنی رُز باعث افزایش فعالیت آنزیم ACC اکسیداز، افزایش تولید اتیلن و کاهش عمر گل‌جایی گردید (۳۸).

در پژوهش حاضر روی گل‌های گلدانی، تفاوت در بین ارقام در پاسخ به تیمار اتفن مشاهده شد، به‌طوری که در رقم لیلک ان پرپل، اتیلن تولیدی کمتر بود. این نتایج مطابق با گزارش مولر و همکاران (۲۳) بود. آن‌ها، با مطالعه حساسیت دو رقم از رُزهای گلدانی به تیمار اتیلن خارجی، نشان دادند که رقم برنز (Bronze) اتیلن بیشتری نسبت به رقم وانیلا (Vanilla) در پاسخ به این تیمار تولید کرد. همچنین، در بررسی این پژوهشگران، تیمار 1-MCP از تولید خودبخودی اتیلن در پاسخ به تیمار اتیلن خارجی جلوگیری کرد. سیسلر و همکاران (۳۵) اظهار داشتند که 1-MCP می‌تواند از اثرهای القایی اتیلن خارجی در گیاه جلوگیری کند. در مطالعه فیلوسوف- هدس و همکاران (۲۶) تیمار گیاهان فیکوس با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 1-MCP از تأثیر منفی اتیلن خارجی در افزایش تولید اتیلن جلوگیری کرد. نتایج به‌دست آمده در بررسی حاضر نشان داد که پیش‌تیمارهای ۳۰ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱۰۰ و۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA مانع افزایش خودبخودی اتیلن در پاسخ به تیمار اتفن گردیدند. این نتایج مطابق با یافته‌های لرسلروُنگ و کتسا (۱۸) بود. در بررسی این محققین، گل‌های بریدنی اُرکیده پیش از تیمار با ۰/۴ میکرولیتر اتیلن، با AOA تیمار شدند. در این بررسی، تولید اتیلن نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. اگرچه AOA یک بازدارنده بیوسنتز اتیلن می‌باشد، اما این ماده ممکن است از تولید خودبخودی اتیلن (Autocatalytic ethylene production) از طریق کاهش فعالیت آنزیم ACC سنتاز جلوگیری کند. در نتیجه، اتیلن خارجی تأثیر کمتری در تسریع پیری خواهد داشت (۳۱). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش اثر اتیلن خارجی، در گل های تحت پیش‌تیمار 1-MCP گزارش شده است (۱۰).

در بررسی حاضر، با ایجاد تنش میزان پرولین افزایش نشان داد، به‌طوری که بیشترین مقدار پرولین در تیمار اتفن مشاهده گردید. لیکن در تیمارهایی که در به تأخیر انداختن پیری مؤثر بودند تجمع پرولین در حداقل میزان بود. در پژوهش یاکی‌موا و همکاران (۳۷) تیمار گل‌های بریدنی میخک مینیاتوری (ارقام رجینا و نسلدا) با AOA مانع افزایش پرولین گردید. این محققین، این امر را با به تأخیر افتادن تنش ناشی از پیری توسط تیمار مذکور مرتبط می‌دانند. پرولین، افزون بر نقشی که در تنظیم اسمزی دارد، به‌عنوان یک محافظ در شرایط تنش عمل می‌کند، از تغییر ماهیت پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند و نقش ذخیره‌کننده انرژی و غیر فعال کردن رادیکال‌های آزاد را بر عهده دارد. به‌دلیل اینکه پرولین می‌تواند ذخیره‌کننده انرژی و عامل‌های آمینی باشد نقش آن در مراحل بعد از تنش حائز

اهمیت است. در مرحله بازیابی، یعنی هنگامی که فعالیت عامل تنش‌زا متوقف می‌شود، پرولین به‌طور عمده به‌عنوان منبعی از انرژی، نیتروژن آلی و اکی‌والان‌های کاهشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تجزیه سریع پرولین در زمان برطرف شدن تنش ممکن است مقادیر مناسبی از عوامل احیا کننده را تولید نماید که این ترکیبات شرایط را برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری و تولید ATP لازم برای جبران خسارت ناشی از تنش و بازیافت ساختارهای آسیب دیده فراهم کنند (۹ و ۱۶). تغییر آنزیم آنتی‌اکسیدانی طی اعمال تنش اتیلن در گل‌های بریدنی و گلدانی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. لیکن تنش‌های محیطی به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر در آغاز پیری شناخته شده‌اند (۲۱). آن‌ها اغلب باعث القای تجمع انواع اکسیژن فعال (ROS) از قبیل H_2O_2 و O_2^- در گیاه می‌شوند (۳۳). تجمع ROSها، اکسیداسیون لیپیدهای غشا، آسیب غشا کلروپلاست و تغییرشکل ماکرومولکول‌ها را افزایش داده و منجر به کاهش فتوسنتز و مرگ سلول‌ها می‌شوند (۳، ۱۹ و ۲۴). به‌علاوه، ROS فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل SOD، CAT و POD را که نقش حفاظتی از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو را دارند، کاهش می‌دهند (۳). SOD تنها آنزیمی است که می‌تواند O_2^- را تجزیه کند. در حالی که H_2O_2 می‌تواند توسط CAT و POD هضم شود (۴ و ۲۲). لاریگادیر و همکاران (۱۷) اظهار داشتند که اتیلن در تولید ROSها دخالت دارد.

در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گل‌های گلدانی تیمار شده با اتفن کاهش یافت. این پدیده می‌تواند به دلیل اثرهای سمی ROSها باشد که باعث آسیب رساندن به فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند (۲۴). تیمار گل‌های داودی با ۱۰ میکرولیتر در لیتر اتیلن در طول انبارداری به طور معنی‌داری باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز گردید (۱۱). اتیلن از فرایند سم‌زدایی توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی جلوگیری کرده و فرایند پیری را تا مرگ سلول‌ها پیش می‌برد (۱۱). در بررسی حاضر، حداکثر فعالیت آنزیم‌های POD، CAT و SOD در پیش‌تیمار گل‌های گلدانی با ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی توسط 1-MCP ممکن است به دلیل توانایی این ماده در جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد سلولی باشد (۲۰). در گزارشی دیگر، به نقش مؤثر 1-MCP در القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره شده است (۱۰)

میانگین فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با هم داشت. تغییر آنزیم آلفا- آمیلاز طی اعمال تنش‌های محیطی در گل‌های بریدنی و گلدانی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. کویزوکا و همکاران (۱۵) گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در بافت‌های پیر و تحت تنش به شدت افزایش می‌یابد. در مطالعه حاضر، در پاسخ به پیش‌تیمارهای 1-MCP، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر AOA و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر BA فعالیت آنزیم در سطح کمتری نسبت به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن قرار گرفت. این پدیده می‌تواند به‌دلیل جلوگیری از تأثیر تنش ناشی از اتفن در این تیمارها باشد. در پژوهشی، یاکی‌موا و همکاران (۳۷) تأثیر تیمار AOA را بر میزان فعالیت آلفا- آمیلاز در میخک مینیاتوری مورد بررسی قرار دادند. در بررسی مذکور، در پاسخ به تیمار AOA فعالیت آنزیم آلفا- آمیلاز در سطح پایینی باقی ماند که حاکی از به تأخیر افتادن پیری توسط این تیمار بود.

نتیجه‌گیری

با جمع‌بندی یافته‌های این مطالعه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد:

۱- با کاهش میزان تنش‌های محیطی، از جمله تنش اتیلن، می‌توان به افزایش ماندگاری گل‌ها کمک شایانی نمود.

۲- در بین پیش‌تیمارهای مورد استفاده، ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP مؤثرترین پیش‌تیمار در برابر تأثیر منفی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن در کاهش ماندگاری گل‌ها بود.

۳- قرار گرفتن گل‌ها در معرض اتفن (به‌عنوان تیمار تنش اتیلن) سنتز و آزاد سازی اتیلن را افزایش داد.

۴- در پاسخ به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر اتفن، فعالیت

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش و آلفا- آمیلاز افزایش یافت.

۵- در گل‌های بریدنی و گلدانی تحت تنش، تجمع پرولین مشاهده شد. لیکن پیش‌تیمار ۰/۶ میکرولیتر در لیتر 1-MCP مانع افزایش پرولین گردید.

۶- در بین ارقام گلدانی، لیلک ان پرپل بیشترین ماندگاری گل را نسبت به سیلور پینک در برابر اعمال تنش اتفن نشان داد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در اجرای این پژوهش قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Bates, L.S., R.P. Waldern and I.D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
2. Cakmak, I. and W. Horst. 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). J. Plant Physiol. 83: 463-468.
3. Djanaguiraman, M., J.A. Sheeba, D.D. Devi and U. Bangarusamy. 2009. Cotton leaf senescence can be delayed by nitrophenolate spray through enhanced antioxidant defense system. J. Agron. Crop Sci. 195: 213-224.
4. Djanaguiraman, M., J.A. Sheeba, D.D. Devi, U. Bangarusamy and P.V.V. Prasad. 2010. Nitrophenolates spray can alter boll abscission rate in cotton through enhanced peroxidase activity and increased ascorbate and phenolics levels. J. Plant Physiol. 167: 1-9.
5. Dole, J.M. and H.F. Wilkins. 1999. Floriculture: Principles and Species. Prentice– Hall, Inc., New Jersey, 613 p.
6. Ghanati, F., A. Morita and H. Yokota. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by excess boron in Tabacco cell. Soil Sci. Plant Nutr. 48(3): 357-364.
7. Giannopolitis, C. and S. Ries. 1997. Superoxide desmutases. I. Occurrence in higher plants. J. Plant Physiol. 59: 309-314.
8. Han, S.S. and J.A. Miller. 2003. Role of ethylene in postharvest quality of cut oriental lily 'Stargazer'. Plant Growth Regul. 40: 213-222.
9. Hare, P.D. and W.A. Cress. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. Plant Growth Regul. 21: 79-102.
10. Hassan, F.A.S and S.A. Mahfouz. 2012. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the postharvest senescence of coriander leaves during storage and its relation to antioxidant enzyme activity. Sci. Hort. 141: 69-75.
11. Hodges, D.M. and C.F. Forney. 2000. The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. J. Exp. Bot. 51: 645-655.
12. Hunter, D.A., M. Yi, X. Xu and M.S. Reid. 2004. Role of ethylene in perianth senescence of daffodil (*Narcissus pseudonarcissus* L. 'Dutch Master'). Postharvest Biol. Technol. 32: 269-280.
13. Ketsa, S., A. Wisutiamonkul and W.G. van Doorn. 2006. Auxin is required for pollination-induced ovary growth in Dendrobium orchids. Funct. Plant Biol. 33: 887-892.
14. Khan, N.A. 2006. Ethylene Action in Plants. Springer, 206 p.
15. Koizuka, N., Y. Tanaka and Y. Morochashi. 1995. Expression of α-amylase in response to wounding in mung bean. Planta 195: 530-534.
16. Kuznet, V.I.V. and N.I. Shevyakova. 1999. Proline under stress. Biological role, metabolism and regulation. Russ. J. Plant Physiol. 46: 274-287.
17. Larrigaudiere, C., R. Vilaplana, Y. Soria and I. Recasens. 2004. Oxidative behaviour of Blanquilla pears treated with 1-methylcyclopropene during cold storage. J. Sci. Food Agric. 84: 1871-1877.
18. Lerslerwong, L. and S. Ketsa. 2008. Autocatalytic ethylene production by Dendrobium flowers during senescence induced by exogenous ethylene. Thai. J. Agric. Sci. 41(3-4): 91-99.
19. Liu, X. and B. Huang. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. Crop Sci. 40: 503-510.
20. MacLean, D.D., D.P. Murr and J.R. DeEll. 2003. A modified total oxyradical scavenging capacity assay for antioxidants in plant tissues. Postharvest Biol. Technol. 29: 183-194.
21. Martin, I. and M.S. Grotewiel. 2006. Oxidative damage and age–related functional declines. Mech. Ageing Dev. 127: 411-423.

22. Mates, J.M. 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species. Toxicol. 153: 83-104.
23. Muller, R., B.M. Stummann, E.C. Sisler and M. Serek. 2001. Cultivar differences in regulation of ethylene production in miniature rose flowers (*Rosa hybrida* L.). Gartenbauwissenschaft 66(1): 34-38.
24. Noctor, G. and C.H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 249-279.
25. Nukui, H., S. Kudo, A. Yamashita and S. Satoh. 2004. Repressed ethylene production in the gynoecium of long-lasting flowers of the carnation 'White Candle': Role of gynoecium in carnation flower senescence. J. Exp. Bot. 55: 641-650.
26. Philosoph-Hadas, S., O. Golan, I. Rosenberger, S. Salim, B. Kochanek and S. Meir. 2005. Efficiency of 1-MCP in neutralizing ethylene effects in cut flowers and potted plants following simultaneous or sequential application. Acta Hort. 669: 321-328.
27. Plummer, D. 1988. An introduction to practical biochemistry. *In:* Biochemical Education, McGraw-Hill, 16(2): 98-100.
28. Reid, M.S. 1985. Ethylene and abscission. Hort. Sci. 20: 45-50.
29. Reid, M.S. and M.J. Wu. 1992. Ethylene and flower senescence. Plant Growth Regul. 11: 37-43.
30. Seglie, L., K. Martina, M. Devecchi, C. Roggero, F. Trotta and V. Scariot. 2011. The effects of 1-MCP in cyclodextrin-based nanosponges to improve the vase life of *Dianthus caryophyllus* cut flowers. Postharvest Biol. Technol. 59: 200-205.
31. Serek, M., E.C. Sisler and M.S. Reid. 1995a. Effects of 1-MCP on the vase life and ethylene response of cut flowers. Plant Growth Regul. 16: 93-97.
32. Serek, M., G. Tamari, E.C. Sisler and A. Borochov. 1995b. Inhibition of ethylene-induced senescence symptoms by 1-methylcyclopropene, a new inhibitor of ethylene action. Physiol. Plant. 94: 229-232.
33. Sharma, P. and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regul. 46: 209-221.
34. Sisler, E.C. and S.F. Yang. 1984. Anti-ethylene effects of cis-2-butene and cyclic olefins. Phytochem. 23: 2765-2768.
35. Sisler, E., E. Dupille and M. Serek. 1996. Effect of 1-methylcyclopropene and methylenecyclopropene on ethylene binding and ethylene action on cut carnations. Plant Growth Regul. 18: 79-86.
36. Woltering, E.J. 1990. Interorgan translocation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and ethylene coordinates senescence in emasculated cymbidium flowers. Plant Physiol. 92: 837-845.
37. Yakimova, E., B. Atanassova and V.K. Toteva. 1997. Longevity and some metabolic events in postharvest spray–carnation (*D. Caryophyllus* F. Spray, Hort) flowers. Bulg. J. Plant Physiol. 23(3-4): 57-65.
38. Yamane, K., Y. Yamaki and N. Fujishige. 2004. Effects of exogenous ethylene and 1-MCP on ACC oxidase activity, ethylene production and vase life in *Cattleya alliances*. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 73(2): 128- 133.