بررسی کنترل رشد باکتری‌های ساقهٔ گل‌های شاخه بریده رز ('Dolce vita') با استفاده از مواد نگهدارنده

عطیه اورعی[۱*]، تکتم اورعی[۱]، مهناز کیانی[۲] و ابراهیم گنجی مقدم[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲۸)

چکیده

با توجه به اهمیت اقتصادی که طول عمر گل‌های شاخه بریده دارد، در این آزمایش اثرات نانوذرات نقره، تیوسولفات نقره، هیدروکسی کوئینولین و یک ماده طبیعی شامل تیمول بر عمر پس از برداشت و تعداد باکتری‌های ساقه گل رز رقم 'دلس ویتا ('Dolce vita')' مورد بررسی قرار گرفت. گل‌های شاخه بریده به آزمایشگاهی با دمای۱ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵ ±۶۰ درصد انتقال یافتند. گل‌های شاخه بریده به‌صورت تیمار کوتاه مدت با محلول‌های نانوذرات نقره (Silver nanoparticle (SNP)) با غلظت‌های (۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر)، تیوسولفات نقره (Silver Thiosulfate (STS)) (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار)، ۸- هیدروکسی کوئینولین سولفات (Hydroxy quinoline sulfate (HQS)) (۵۰، ۱۰۰و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و اسانس تیمول (Thymol) (۵۰ ،۱۰۰ و۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) حاوی ۵ درصد ساکارز تیمار شدند. آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۸ تکرار، هر تکرار شامل یک گل انجام شد. با توجه به نتایج، تمامی تیمارها بر طول عمر گل‌ها و کاهش تعداد باکتری‌های ساقه اثر مثبتی داشتند به‌طوری‌که هیچ باکتری در تیمارهای نانوذرات نقره با غلظت‌های ۵ و۱۰ میلی‌گرم در لیتر یافت نشد. بیشترین میانگین طول عمر (۱۹ روز) در تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به‌دست آمد. با در نظر گرفتن نتایج و جنبه‌های اقتصادی و کاربردی مواد مورد آزمایش، تیمار نانوذرات نقره را می‌توان در جهت افزایش عمر گلجای رز رقم' دلس ویتا'مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، تیوسولفات نقره، هیدروکسی کوئینولین سولفات، اسانس تیمول، عمرگلجای

۱. دانش آموختگان کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیروان

۲. استادیار زراعت، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: atiyeh_oraee@yahoo.com

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.13.20.8]

مقدمه

صنعت پرورش گل به یکی از مهم‌ترین صنایع مطرح دنیا از لحاظ ایجاد اشتغال و کسب درآمد تبدیل شده است و در حال حاضر سالانه بیش از صد میلیارد دلار انواع گل و گیاهان زینتی در دنیا مورد داد وستد قرار می‌گیرد. رزها در تولید مواد دارویی و غذایی هم کاربرد دارند، اما مهم‌ترین کاربرد گل رز به‌عنوان گل شاخه بریده است (۳). امروزه کاربرد مواد نگهدارنده افزایش یافته است. اما یک محلول نگهدارنده ضرورتاً باید حاوی دو جزء قند و میکروب‌کش باشد. قند ماده اولیه تنفس را مهیا می‌کند، در حالی‌که میکروبکش‌ها از بسته شدن بافت‌های هادی جلوگیری می‌نمایند (۱۶). ساکارز نسبت به کربوهیدرات‌های دیگر بیشترین و اصلی‌ترین قند قابل انتقال در گل رز است (۱). ساکارز از طریق کنترل تولید ماده خشک و تنفس (۷)، تأخیر در کاهش تورژسانس و حفظ دیواره سلولی (۵) و حفظ رنگ گلبرگ (۲) عمر پس ازبرداشت گل رز را افزایش می‌دهد. میکروارگانیسم‌ها سبب انسداد آوندها (۱۸)، آسیب آنزیمی به سیستم آوندی گیاه در نتیجهٔ تولید متابولیت‌های سمی میکروبی، تحریک تولید اتیلن در گل‌ها و جلوگیری از جذب آب و در نتیجه فساد و زوال گل‌ها می‌شوند (۱۹).

نانوذرات نقره به‌عنوان ماده ضد باکتریایی سبب تغییرات غشاء سلول‌های باکتری می‌گردد و از تکثیر DNA آنها جلوگیری می‌کند که منجر به مرگ آنها می‌گردد (۱۲). تیوسولفات نقره در ساقه گل‌های شاخهٔ بریده سیال بوده و به آسانی به‌سمت جام گل حرکت می‌کند و علاوه بر خاصیت ضد اتیلنی (۱۱) دارای فعالیت ضد میکروبی دربافت‌های گیاهی و محلول نگهدارنده می‌باشد (۱۷). ۸- هیدروکسی کوئینولین سولفات نیز ماده‌ای ضد میکروبی و ضد باکتریایی است (۱۸) که به تنهایی اثر کمی بر عمر گل‌های شاخه بریده و تولید اتیلن دارد (۹). در بین مواد مؤثره طبیعی، تیمول از مهم‌ترین اجزای اسانس‌های گیاهی است که در دستهٔ مونوترپن‌های فنولیک قرار دارد که عمل ضد باکتریایی بسیاری از اسانس‌ها در نتیجهٔ وجود این ماده می‌باشد (۱۳). عمل ضد میکروبی اسانس‌ها هم‌چنین می‌تواند با غیرفعال کردن بعضی آنزیم‌ها شامل آنزیم‌های دخیل در تولید انرژی و سنتز اجزای ساختمانی در ارتباط باشد (۸). در این پژوهش با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف مواد باکتری کش شیمیایی و طبیعی بر کنترل رشد باکتری‌ها و در نتیجه افزایش ماندگاری گل شاخه بریده رز اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش درآزمایشگاه پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گرفت. گل‌های بریدهٔ رز رقم 'دلس ویتا' از گلخانهٔ تجاری واقع در جاده کلات خریداری گردید. گل‌ها پس از برداشت در آب قرار گرفتند و سریعاً به محل آزمایش منتقل شدند. دمای محیط نگهداری گل‌ها در تمامی روزهای آزمایش ۱±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی محیط نیز به میزان ۵±۶۰ بود. تهویهٔ محیط نگهداری گل‌ها نیز به‌طور مرتب انجام می‌شد. تیمارهای آزمایش به‌صورت کوتاه مدت انجام شدند به‌طوری‌که گل‌ها با نانوذرات نقره به‌مدت ۲۴ ساعت با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر (ظرف حاوی نانوذرات نقره از شرکت نانوسید تهیه گردید به‌طوری‌که حاوی ۴۰۰۰ پی پی ام در لیتر ماده مؤثر بود و برای تهیه غلظت‌های مورد نیاز از فرمول $N_1V_1=N_2V_2$ استفاده شد)، تیوسولفات نقره به غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌مدت ۲ ساعت (برای ساخت تیوسولفات نقره به محلول استوک ۰/۱ مولار تیوسولفات سدیم و ۰/۱ مولار نیترات نقره نیاز است به‌طوری‌که محلول اولی شامل ۱/۵۸ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و محلول استوک دومی شامل ۱/۷ گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر آب مقطر است. برای آماده‌سازی محلول تیوسولفات نقره باید نسبت ۱:۴ بین نقره و تیوسولفات برقرار باشد، به‌طوری‌که برای تهیه ۰/۵ میلی‌مولار محلول تیوسولفات نقره به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استوک اول و ۲ میلی‌لیتر از محلول استوک دوم نیاز است. و برای تهیه ۲۴۰۰ سی سی (هر بطری حاوی ۳۰۰ سی سی به تعداد ۸ عدد) ۱۲ سی سی از نیترات نقره را به ۴۸ سی سی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.13.20.8]

تیوسولفات سدیم اضافه و حجم را به ۲۴۰۰ می‌رسانیم، اسانس تیمول به غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۲۴ ساعت (شرکت سیگما) و هیدروکسی کوئینولین سولفات در ۳ غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۵ ساعت تیمار شدند. تمام محلول‌ها حاوی ۵% ساکارز بودند. گل‌های رز شاهد نیز در تیمار حاوی ۵% ساکارز به‌مدت ۲۴ قرار گرفتند. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی، شامل ۱۳ تیمار و ۸ تکرار انجام شد. خمیدگی گردن گل‌های شاخه بریده به‌عنوان پایان عمرماندگاری آنها در نظر گرفته شد (۷) و تعداد باکتری‌های ساقه در روزهای سوم و هفتم اندازه‌گیری شد.

جهت شمارش باکتری‌ها از محیط کشت آگار غذائی (NA (Nutrient Agar)) استفاده گردید. با توجه به این‌که در شمارش باکتری‌های موجود در یک نمونه معمولاً تعداد باکتری‌ها آنقدر افزایش می‌یابد که با دستگاه کلونی شمار به راحتی قابل شمارش نمی‌باشند و یا در شمارش آنها ممکن است خطای زیادی صورت پذیرد، نیاز به تهیهٔ سری رقت می‌باشد. برای تهیهٔ سری رقت چند لولهٔ آزمایش برداشته و داخل هر یک ۹ میلی‌لیتر از محلول سرم فیزیولوژیک اضافه و در اتوکلاو قرار داده شدند. بعد از بیرون آوردن آنها از اتوکلاو، از نمونهٔ آزمایشی مورد نظر، ۱ میلی‌لیتر برداشته و در داخل لولهٔ آزمایش اول ریخته شد. لولهٔ آزمایش به‌مدت حدود ۵ دقیقه بر روی دستگاه ورتکس(Vortex) قرار گرفت. سپس از لولهٔ آزمایش اول ۱ میلی‌لیتر برداشته و در داخل لولهٔ آزمایش دوم ریخته و بر روی دستگاه ورتکس قرارداده شد. این مرحله ۵ تا ٦ بار تکرار گردید.

برای اندازه‌گیری تعداد باکتری‌های ساقه ابتدا قطعات ساقه وزن شده و سپس برای حذف باکتری‌های سطحی سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. این قطعات با فشار له شده و با استفاده از اسکالپل به قطعات ریز تقسیم شدند. ده برابر وزن قطعات ساقه محلول ۰/۸۵ درصد NaCl استریل به ظرف محتوی قطعات اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه با شدت ورتکس شدند. مخلوط به‌مدت یک دقیقه در ۱۵۰۰ دور در دقیقه برای ته‌نشین شدن ذرات سانتریفیوژ و از محلول رویی برای تهیه غلظت‌های سریالی 10^{-2} تا 10^{-6} استفاده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده به سطح پتری‌دیش‌های محتوی محیط کشت آگار غذایی منتقل و به خوبی در سطح محیط پخش شد. به محیط‌های کشت برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک نیستاتین (Nistatin) اضافه گردید. پتری‌دیش‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تعداد باکتری‌ها در محیط اصلی با استفاده از ضریب رقت محاسبه شد و داده‌های حاصل براساس واحدهای تشکیل‌دهنده کلونی در میلی‌لیتر محلول نگهدارنده محاسبه شد (۱۴).

Cfu= تعداد کلونی شمارش شده/

ضریب رقت× مقدار نمونه استفاده شده برای تلقیح پتری دیش

نتایج

اثر تیمارهای مختلف بر تعداد باکتری‌های ساقه در زمان‌های مختلف در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. تیمارهای نانوذرات نقره با غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه را در کاهش میانگین تعداد باکتری‌های ساقه نشان دادند و در طول هفت روز تفاوت معنی‌داری در بین جمعیت باکتری‌ها مشاهده نگردید، به‌طوری‌که بیشترین عمرگلجای در گل‌های تیمار شده با ۱۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره حاصل گردید. در تیمار با تیوسولفات نقره به‌ترتیب با افزایش غلظت از ۰/۵ به ۲ میلی‌مولار میانگین تعداد باکترهای محلول نگهدارنده کاهش یافت و عمر پس از برداشت گل‌ها نیز افزایش یافت به‌طوری‌که ماندگاری انها از ۱۱/۸۳ روز به ۱۴/۸۳ روز رسید. هم‌چنین با افزایش غلظت هیدروکسی کوئینولین سولفات تعداد باکتری‌ها نیز کاهش یافت و در بین تیمار گل‌ها با این ماده کمترین باکتری در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به میزان $6/63\times10^{3}$ مشاهده گردید. با گذشت زمان میانگین تعداد باکتری‌ها در ساقه افزایش یافت و بیشترین تعداد باکتری

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.13.20.8]

جدول۱. مقایسه میانگین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در بین تیمارهای مختلف

تیمار	غلظت	عمر پس از برداشت (روز)	تعداد باکتری انتهای ساقه در روز سوم (Cfu/ml^{-1})	تعداد باکتری انتهای ساقه در روز هفتم (Cfu/ml^{-1})
شاهد		۷/۶۷ j	۹/۱۷× ۱۰^{۵}e	۶/۴۰×۱۰^{۶}a
نانوذرات نقره	۲/۵ mg L^{-1}	۱۵/۸۳ c	> ۳۰t	۵/۶۷×۱۰^{۲}s
	۵ mg L^{-1}	۱۷/۰۰ b	> ۳۰t	> ۳۰t
	۱۰ mg L^{-1}	۱۹/۰۰ a	> ۳۰t	> ۳۰t
تیوسولفات نقره	۰/۵ Mm	۱۱/۸۳fg	۱/۷۱×۱۰^{۴}o	۲/۴۳×۱۰^{۵}g
	۱ Mm	۱۳/۱۷e	۱/۱۰×۱۰^{۴}p	۱/۸۳×۱۰^{۵}j
	۲ Mm	۱۴/۸۳ d	۲/۱۶×۱۰^{۳}r	۳/۶۱×۱۰^{۴}m
۸- هیدروکسی کوئینولین سولفات	۵۰ mg L^{-1}	۹/۶۷ i	۸/۶۳×۱۰^{۵}f	۵/۲۷×۱۰^{۶}b
	۱۰۰ mg L^{-1}	۱۰/۸۳ gh	۵/۴۷×۱۰^{۴}k	۹/۶۰×۱۰^{۵}d
	۲۰۰ mg L^{-1}	۱۲/۶۷ ef	۶/۶۳×۱۰^{۳}q	۲/۳۰×۱۰^{۵}h
اسانس تیمول	۵۰ mg L^{-1}	۱۱/۸۳ fg	۱/۷۴×۱۰^{۴}n	۲/۴۳×۱۰^{۵}g
	۱۰۰ mg L^{-1}	۱۳/۱۷ e	۱/۲۷×۱۰^{۴}p	۱/۸۵×۱۰^{۵}i
	۲۰۰ mg L^{-1}	۱۱/۰۰ gh	۵/۱۸×۱۰^{۴}l	۹/۶۳×۱۰^{۵}c

†: در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند در سطح ۵% آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوتی ندارند.

به‌ترتیب در محلول شاهد در روز هفتم (۶/۴۰×۱۰^{۶})، هیدروکسی کوئینولین (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) در روز هفتم (۵/۲۷×۱۰^{۶}) و کمترین تعداد باکتری در تیمار نانوذرات نقره در غلظت‌های مختلف در روزهای سوم و هفتم (۳۰ >) مشاهده شد. در بین تیمارهای اسانس تیمول، تیوسولفات نقره و هیدروکسی کوئینولین سولفات بالاترین ماندگاری گل‌ها در گل‌های تیمارشده با تیوسولفات نقره ۲ میلی‌گرم در لیترحاصل شد. (جدول۱).

بحث

تاکنون آزمایش‌های بسیاری به منظور بررسی عوامل مؤثر بر طول عمر گل‌های بریده انجام شده است. براساس نتایج حاصل از این آزمایش‌ها چندین عامل در افزایش طول عمر گل‌های شاخه بریده مؤثر می‌باشند که از جملهٔ آنها می‌توان به افزایش عمر گلجای و کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها اشاره نمود. در آزمایش حاضر با بررسی نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها و مقایسهٔ میانگین آنها مشخص گردید که تیمارهای کاربردی در افزایش طول عمر گل‌های بریده ی رز رقم 'دلس ویتا' با تأثیر مثبت بر روی هر یک از موارد ذکر شده، مؤثر واقع شده‌اند. تمامی تیمارها سبب کاهش تعداد باکتری‌ها شدند، در مجموع مشخص گردید که تیمارهای نانوذرات نقره در تمام غلظت‌های کاربردی نسبت به تیمارهای دیگر مؤثرتر بودند به‌طوری‌که در تیمار نانوذرات نقره ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر هیچ باکتری در انتهای ساقه دیده نشد و میانگین طول عمر گل‌ها ۱۷ و ۱۹ روز بود. نتایج به‌دست آمده با نتایج لو و همکاران (۱۰) همخوانی دارد. در بین تیمارهای اسانس تیمول، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان بهترین تیمار مشخص شد که با نتایج سلگی و همکاران (۱۵) همخوانی دارد. تیمار ۲ میلی‌مولار تیوسولفات نقره با میانگین عمر گل ۱۴/۸۳ بعد از نانوذرات نقره بهترین اثر را از خود نشان داد که این نتایج با نتایج چمنی و همکاران (۴) مطابقت داشت.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.13.20.8]

منابع مورد استفاده

1. Bieleski, R. L. 1977. Accumulation of sorbitol and glucose by leaf slices of rosaceae. *Australian Journal of Plant Physiology* 4: 1-24.
2. Bosma, T. and J. Dole. 2002. Postharvest handling of cut *Campanula medium* flowers. *Horticulture Science* 37: 954-958.
3. Butt, S. J. 2003. A Review on Prolonging the Vase Life of Roses. Pakistan Rose Annual Pub., Pakistan National Rose Society, pp. 49-53.
4. Chamani, E., M. Arshad and Y. Pourbeyrami. 2009. Response of variouse cut lisianthus cultivars to silver thiosulfate treatment. *Journal of Food Agriculture and Environment* 7: 746-748.
5. Donoghue, E. M., S. D. Somerfield and J. A. Heyes. 2002. Vase solutions containing sucrose result in change to cell walls of sandersonia (*Sandersonia aurantiaca)* flowers. *Postharvest Biology and Technology* 26: 94-285.
6. Zhu, H. 2010. Strategies to improve the post harvest characteristics of the cut rose flower: Botrytis susceptibility, transgenic resistance and differental gene expression during the onest of the bent neck and petal bluing. North carolina state university, North Carolina.
7. Hojati, Y., A. Khalighi and A. R. Farokhzad. 2007. Chemical treatments of Eustoma cut flower cultivars for enhanced vase life. *Journal of Agriculture and Social Sciences* 3: 75-78.
8. Lambert, R. J. W., P. N. Sjandamis, P. J. Coote and G. J. E. Nychas. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91: 453-462.
9. Liao, L. J., K. L. Huang, W. S. Chen and Y. M. Cheng. 2000. Postharvest life of cut rose flowers as affected by silver thiosulfate and sucrose. *Botanical Bulletin Academica Sinica* 41: 299-303.
10. Lu, P., J. Coa, S. He, J. Liu, H. Li, G. Cheng, Y. Ding and D. C. Joyce. 2010. Nano- silver pulse treatments improve water relations of cut Rose cv. Movie Star flowers. *Postharvest Biology and Technology* 57:196-202.
11. Macnish, A. J., D. C. Joyce, D. E. Irvin and A. H. Wearing. 2004. A simple sustained release device for the ethylene binding inhibitor 1-MCP. *Postharvest Biology and Technology* 32: 321-338.
12. Maneerung, T., S. Tokura and R. Rujiravanit. 2008. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydrate Polymer* 72: 43-51.
13. Miguel, G., M. Simoes, A. C. Figueiredo, J. Barroso, L. G. Pedro and L. Carvalho. 2004. Composition and antioxidant activities of the essential oils of *Thymus caespititius, Thymus camphorates* and *Thymus mastichina*. *Food Chemistry* 86: 183-188.
14. Siddiqui, Z. A. 2007. Biocontrol of *Alternaria triticina* by plant growth promoting rhizobacteria on wheat. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40: 301-308.
15. Solgi, M., M. Kafi, T. S. Taghavi and R. Naderi. 2009. Essential oils and silver nanoparticles (SNP) as novel agents to extend vase-life of gerbera (*Gerbera jamsonii* cv. Dune) flowers. *Postharvest Biology and Technology* 53: 155-158.
16. Sujatha, A., V. Singh and T. V. R. S. Sharma. 2003. Effect of chemical preservatives on enhancing vase-life of gerbera flowers. *Journal of Tropical Agriculture* 41: 56-58.
17. Torre, S. and T. Fjeld. 2001. Water loss and post-harvest characteristics of cut roses grown at high or moderate relative air humidity. *Scientia Horticulturae* 89: 217-226.
18. Van Doorn, W. G. 1997. Water relations of cut flowers. *Horticultural Reviews* 18: 1-85.
19. Van Doorn, W. G., Y. De Witte and H. Harkema. 1995. Effect of high number of exogenous bacteria on the water relation and longevity of cut carnation flowers. *Postharvest Biology and Technology* 6: 111-119.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-04-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1393.4.13.20.8]