

بررسی رخدادهای فیزیولوژیکی و آنزیمی در هنگام پیری گل مریم تحت تأثیر سالیسیلیک اسید و نیتروپروساید سدیم

فرزانه کریمپور^۱، محمدرضا صالحی سلمی^{۱*}، سامان آبدانان مهدی زاده^۲ و خسرو مهدی خاقلو^۳

^۱گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ^۲گروه مکانیک بیوسیستم دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ^۳گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید چمران اهواز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۳/۲۲)

چکیده

پژوهش‌های اخیر نشان دادند که اسید سالیسیلیک و نیتریک اکسید، به عنوان سیگنال‌های مولکولی درون گیاهی عمل می‌کنند. در این پژوهش، نقش تنظیمی نیتریک اکسید و اسید سالیسیلیک در حین پیری گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) بررسی شد. کاربرد بیرونی نیتروپروساید سدیم به عنوان رهاکننده نیتریک اکسید و همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک می‌تواند فرایند پیری گل را به تأخیر می‌اندازد. گل‌های بریده شده مریم در محلول‌های اسید سالیسیلیک (۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) و نیتروپروساید سدیم (۱۰ میلی مولار) جهت بررسی پیری و نمو گل، کاهش/افزایش، کربوهیدرات‌های محلول، میزان پروتئین، پراکسیداسیون لیپیدها، نگهداری شدند. تمامی این صفات توسط اسید سالیسیلیک و نیتروپروساید سدیم به صورت مثبت تحت تأثیر قرار گرفتند. محلول‌های حاوی اسید سالیسیلیک سبب کاهش معنی‌داری در تجزیه کربوهیدرات‌های محلول (۲۱٪) و افزایش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز (۹٪) و آسکوربات پراکسیداز (۳۹٪) شدند. به طور کلی پراکسیداسیون لیپید در گل‌ها، در مدت زمان پیری گل‌ها (۳/۰۷ نانومول بر گرم وزن تر) افزایش یافت. گرچه نیتروپروساید سدیم سبب به تأخیر افتادن پراکسیداسیون لیپید (۲/۶۷ نانومول بر گرم وزن تر) در زمان پیری گل‌ها در مقایسه با نمونه‌های شاهد شد. به طور کلی مشخص گردید که کاربرد اسید سالیسیلیک و نیتروپروساید سدیم عمر گل‌های بریده مریم را از طریق بهبود توانایی حذف گونه‌های فعال اکسیژن (به واسطه فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات) و همچنین از طریق تنظیم بهتر کربوهیدرات‌های محلول و تجزیه پروتئین‌های کل، طولانی کرد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، پژمردگی، پراکسیداسیون لیپید، رادیکال‌های آزاد

مقدمه

گل به مجموعه‌ای از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مانند تجزیه پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدهای غشاء، ریزش گل، تغییر رنگ، زرد شدن برگ یا کاهش وزن وابسته می‌باشد (Buchanan-Wollaston et al., 2003). گرچه پیری مرحله نهایی نموی است ولی می‌تواند توسط عوامل زنده و

واژه پیری از واژه‌های لاتین به معنی رشد نکردن (Senescere) گرفته شده است و فرآیندهایی را که پس از بلوغ فیزیولوژیکی در سطح ماکروسکوپی منجر به مرگ یک گیاه کامل، اندام یا بافت می‌شود، را در برمی‌گیرد (Yamada et al., 2009). پیری

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: mrsalehisalmi@gmail.com

غیرزنده مانند نور، دما، مواد غذایی، اتیلن، عوامل بیماری‌زا، گرده‌افشانی و دیگر فاکتورها تسریع شود (van Doorn and Woltering et al., 2005). در بسیاری از گونه‌های گیاهی اتیلن پیری گل‌ها را تسریع می‌کند (Boller, 1991). استفاده از مواد ضدپیری یک روش متعارف برای به تأخیر انداختن پیری گل‌ها می‌باشد. این مواد سبب کنترل سنتز اتیلن، کنترل توسعه عوامل بیماری‌زا، حفظ تعادل آبی و تنفس و همچنین حفظ رنگ گل‌ها می‌شوند (Halevy and Mayak, 1981). محلول‌های ضدپیری قابل‌استفاده برای گل‌ها، به‌طورمعمول ترکیبی از ساکارز، یک ماده اسیدی‌کننده، یک ماده بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها و همچنین یک بازدارنده فعالیت یا سنتز اتیلن می‌باشد (Vahdati et al., 2012). دو ماده رایج ضدپیری گل‌ها اسید سالیسیلیک و نیتروپروپیل سدیم است.

اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی ساده است که به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد درونی در نظر گرفته می‌شود (Luo et al., 2011). این هورمون در تنظیم بسیاری از فرایندهای مرتبط با رشد و نمو گیاهان مشارکت دارد و می‌تواند از فعالیت ACC اکسیداز جلوگیری کند (Hassan and Ali, 2014). نقش آن در کاهش پیری جلوگیری از تنش اکسیداتیو است، که مانع از فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی می‌شود و سبب کاهش سرعت روند پیری می‌شود (Asghari and Soleimani, 2010). همچنین این ترکیب پراکسیداسیون لیپید را از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌دهد و بنابراین تحت تنش‌های مختلف، غشاء پایداری خود را حفظ می‌کند (Hassan and Ali, 2014).

نیتروپروپیل سدیم یک مولکول پیام‌رسان حیاتی است و در بسیاری از فرایندهای مرتبط با رشد و نمو گیاه دخالت دارد (Ahmad et al., 2016). این ترکیب با محیط‌زیست سازگار است و برای جلوگیری از پیری گل‌های مختلف، مؤثر واقع شده است (Naing et al., 2017). این ماده شیمیایی سبب جلوگیری از فعالیت و سنتز اتیلن در گیاهان می‌شود (Dwivedi et al., 2016). به‌تازگی ادعا شده است که نیتروپروپیل سدیم همان‌طور که با کاهش بیان ژن‌های وابسته

به پیری می‌تواند عمر گل‌های گلیول را افزایش دهد، با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌تواند به عمر آن‌ها بیافزاید (Naing et al., 2017). هم‌چنین مشاهده شده است نیتروپروپیل سدیم با جلوگیری از فعالیت ACC اکسیداز، که در تولید اتیلن دخیل است، عمر گل‌های بریده رز را افزایش می‌دهد (Liao et al., 2013).

گل مریم با نام علمی *Polianthes tuberosa* L. گیاه زینتی، پیازی و بومی مکزیک می‌باشد (Kumar et al., 2010). این گیاه متعلق به تیره آگاواسه (Agavaceae) است و به‌دلیل رایحه خوشبوی آن، همواره مورد توجه در صنعت عطرسازی بوده است (Mohammadi et al., 2012). گل مریم یکی از گل‌های بریده عمده در ایران است و به‌صورت گسترده در بسیاری از مناطق گل‌کاری ایران کشت می‌شود و صادرات آن رو به افزایش است (Jowkar and Salehi, 2005). گرچه گل مریم به‌عنوان یک گل صادراتی مهم به شمار می‌آید، اما باز شدن ناقص گلچه‌ها در طول ساقه گل‌دهنده، ریزش پیش از موعد یا تکامل نیافتن گلچه‌های انتهایی و طول عمر کوتاه گلچه‌های باقی‌مانده، می‌تواند سبب جلوگیری از تولید تجاری آن شود (Hassanpour et al., 2011). درنتیجه تأخیر در پیری و باز شدن گلچه‌های باقی‌مانده روی خوشه، نقش مهمی در فیزیولوژی پس از برداشت و ارزش این گل دارا است. بنابراین راهکارهایی که قادرند پیری این گل را به تأخیر اندازند، از دیدگاه تجاری اهمیت والایی دارند (Ezhilmathi et al., 2007). هدف از این پژوهش بررسی فرآیندهای فیزیولوژیکی و آنزیمی در زمان پیری گل می‌باشد، همچنین سعی شده است اثر دو ماده ضدپیری اسید سالیسیلیک و نیتروپروپیل سدیم در فرآیندهای فیزیولوژیکی این گیاه بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی رویدادهای فیزیولوژیکی در هنگام پیری گل مریم و اثرات تیمارهای اسید سالیسیلیک و نیتروپروپیل سدیم آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (۶ مشاهده‌ای) در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه

فیزیولوژی گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد.

برای این پژوهش گل‌های مریم از گلخانه تجاری تولید کننده گل مریم شاخه بریده تهیه شدند. گل‌هایی با ارتفاع یکسان که دارای دو گلچه پایینی باز بودند، به عنوان گل‌های مناسب انتخاب شد. به منظور سرعت بخشی بر پروسه پیری، گل‌ها از بوته جدا گردیده و به شرایط آزمایشگاهی با دمای ۲۵ درجه و رطوبت نسبی ۷۰٪ منتقل گردیدند. بی‌درنگ گل‌های بریده‌شده در سه نوع محلول (فاکتور اصلی) شامل اسید سالیسیلیک (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر)، نیتروپروپیل سدیم (۱۰ میکرومولار) و تیمار شاهد (بدون تنظیم‌کننده رشد) قرار گرفتند. به منظور مشابه بودن شرایط گل بریده با شرایط عادی در تمامی محلول‌های مورد استفاده از ساکارز ۵٪ استفاده گردید. لازم به ذکر است غلظت‌های بیان شده برای تنظیم کننده‌های رشدی، از پیش آزمایش انجام شده به دست آمده است. جهت بررسی روند رویدادهای فیزیولوژیکی در هنگام پیری گل مریم، اندازه‌گیری (فاکتور فرعی) در زمان‌های مختلف صورت گرفت. فاکتور فرعی شامل زمان‌های اندازه‌گیری (صفر، ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش) بود.

کربوهیدرات‌های محلول: ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه درون لوله شیشه‌ای قرار داده شد. به نمونه ۵ میلی‌لیتر اسید کلریک ۲/۵ نرمال افزوده و در حمام آب جوش به مدت ۳ ساعت نگه داشته شد، تا هیدرولیز گردد. سپس برای خنثی‌سازی، در لوله کربنات سدیم جامد خنثی ریخته شد. در نهایت حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سانتیفریوژ گردید. محلول بلانک ۱ میلی‌لیتر آب مقطر در نظر گرفته شد. ۱ میلی‌لیتر محلول فنول به همه لوله‌ها اضافه گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۶٪ به هر لوله اضافه شد و خوب تکان داده شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، محتویات لوله‌ها تکان داده شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس گذاشته شد، در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شدند و در نهایت با استفاده از نمودار استاندارد، مقدار کربوهیدرات های موجود در لوله به دست آمد (Dubois et al., 1965).

پراکسیداسیون لیپیدها: میزان پراکسیده شدن لیپیدها بر اساس غلظت مالون دی‌آلدئید تولید شده مورد سنجش قرار گرفت. به ۰/۵ گرم بافت گلبرگ آسیاب شده ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید اضافه گردید. عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه با ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ گردید. در مرحله بعد به ۱ میلی‌لیتر محلول حاصل از سانتیفریوژ، ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد، حاوی ۰/۵ درصد تیوبارتیوریک اسید، اضافه شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد و سپس نمونه‌ها به سرعت سرد گردید. پس از این مرحله، مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط سانتیفریوژ شد. در نهایت جذب محلول رویی حاصل از سانتیفریوژ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و جذب سایر رنگیزه‌ها در ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و از این مقدار کم گردید. مقدار مالون‌دی‌آلدئید (با ضریب خاموشی ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی‌متر) که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست، محاسبه گردید (Heath and Packer, 1968).

میزان کاروتنوئید: ۰/۱ گرم بافت از نمونه گلبرگ جدا و به قطعات کوچک ۲ تا ۳ میلی‌متری تقسیم شد. قطعات در ظروف شیشه‌ای تیره حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ قرار گرفتند. ظروف حاوی نمونه در شرایط تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند، تا کاروتنوئید بافت خارج گردد. میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

میزان پروتئین: به این منظور ۲۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده در ۸۰ میکرولیتر بافر استخراج رقیق شد و ۵ میلی‌لیتر معرف کوماسی بلو به آن اضافه شد و سپس ورتکس انجام و پس از گذشت ۵ دقیقه میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. از بافر استخراج به عنوان بلانک استفاده گردید. غلظت پروتئین در نمونه با توجه به جذب نمونه با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد (Bradford, 1976).

فعالیت آنزیم کاتالاز: مبنای این روش اندازه‌گیری کاهش

از بین رفتن پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر می‌باشد. مخلوط واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، هیدروژن پراکسید ۱۵ میلی مولار و عصاره پروتئینی به میزان ۲۰ میکرولیتر بود. کاهش سطح پراکسید هیدروژن با استفاده از ضریب خاموشی $cm^{-1}M^{-1}$ ۳۶ اندازه‌گیری شد و نتایج بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین بیان شد (Aebi, 1974).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: ۰/۱ میلی‌لیتر مخلوط

واکنش شامل بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۰/۱ میلی مولار پراکسید هیدروژن، ۰/۵ میلی مولار آسکوربات و ۱۵ میکرولیتر عصاره پروتئینی بود. واکنش با اضافه کردن پراکسید هیدروژن شروع شد و اکسیداسیون آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $cm^{-1}mM^{-1}$ ۲/۸ اندازه‌گیری شد (Jebara et al., 2005).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: برای اندازه‌گیری

فعالیت این آنزیم به ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم که حاوی ۱۹ میلی گرم متیونین، ۶۱ میلی گرم نیتروبلوتترازولیم، ۷۹ میلی گرم ریبوفلاوین و ۳/۳ میلی گرم EDTA بود، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. واکنش با قرار دادن نمونه‌ها در معرض نور آغاز و پس از ۱۰ دقیقه بی‌درنگ جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر حسب یک واحد در دقیقه به ازای میلی گرم پروتئین محاسبه شد (Lin and Kao, 1999).

تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۵ انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2013 رسم گردید.

نتایج و بحث

کربوهیدرات‌های محلول بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر زمان و اثر نوع محلول بر میزان کربوهیدرات‌های گل مریم در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود،

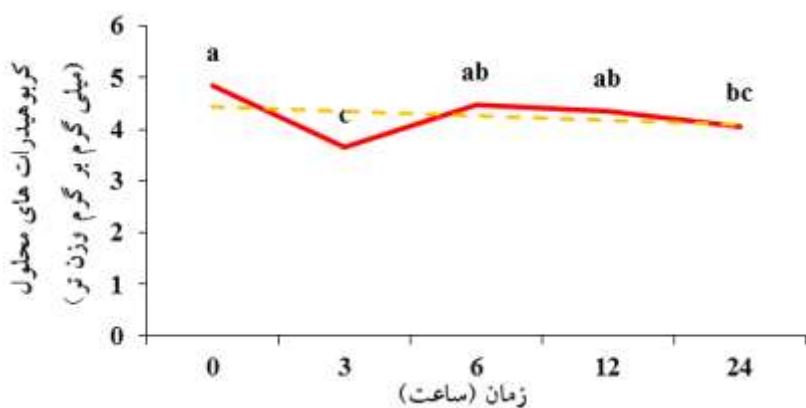
ولی برهمکنش نوع محلول و زمان معنی‌دار نبود (جدول ۱). پس از قرارگیری گل‌های بریده در محلول‌ها، میزان کربوهیدرات‌های محلول روندی کاهشی داشت. به‌طوریکه ۳ ساعت پس از شروع آزمایش، میزان آن به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت و به کم‌ترین میزان خود (۳/۶۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) رسید، پس‌از آن تا ۶ ساعت پس از شروع آزمایش کمی افزایش یافت، که این افزایش اندک می‌تواند به سبب جذب ساکارز موجود در محلول باشد. اما از ۶ ساعت پس از شروع آزمایش تا پایان ساعت ۱۲م روند کاهشی خود را ادامه داد. با بررسی نوع محلول مشخص شد که بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در گلبرگ (۴/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به ساعت صفر بود. با این‌حال با میزان کربوهیدرات‌های محلول در ۶ و ۱۲ ساعت پس از شروع آزمایش از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱). مقایسه بین محلول‌های نشان داد که بیشترین افت میزان کربوهیدرات‌های محلول گلبرگ مربوط به تیمار شاهد (۳/۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. تیمار با اسید سالیسیلیک به حفظ کربوهیدرات‌ها کمک نمود، به‌طوریکه بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در تیمار با اسید سالیسیلیک (۴/۷۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. همچنین تیمار با نیتروپروپوساید سدیم نسبت به شاهد توانست محتوای کربوهیدرات‌ها را در گل‌ها به نحو مطلوبی حفظ نماید (جدول ۲).

از آنجایی که پیری فرایندی وابسته به شدت گرفتن تنفس و کاهش سوبسترای تنفسی محصول است، بنابراین تأخیر در پیری به‌منزله حفظ بیشتر سوبستراهای تنفسی به‌ویژه کربوهیدرات‌ها می‌باشد. پیری گل به تغییرات وضعیت کربوهیدرات‌ها در گلبرگ‌ها وابسته است و ارتباط مستقیمی میان غلظت قندها و ماندگاری گل وجود دارد (Ichimura et al., 1999). با توجه به اینکه کربوهیدرات‌ها جهت انجام فعالیت‌های تنفسی گل‌ها مورد نیاز می‌باشند. از طرف دیگر، کاهش آن‌ها موجب مصرف سایر مواد جایگزین مانند پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه خواهد شد، که این امر فرایند پیری را تحریک می‌کند. تأثیر کربوهیدرات‌ها در تأخیر فرایند

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر نوع محلول، زمان و برهم کنش آنها بر ویژگی‌های کربوهیدرات‌های محلول، پراکسیداسیون لیپیدها، کاروتنوئید، پروتئین کل، آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز

میانگین مربعات							
منابع تغییرات	درجه آزادی	کربوهیدرات-های محلول	پراکسیداسیون لیپیدها	کاروتنوئید	پروتئین کل	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
زمان	۴	۱/۸۱**	۰/۴۲**	۰/۰۰۲**	۳/۵۳**	۲/۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}
محلول	۲	۴/۰۱**	۰/۴۰**	۰/۰۰۳**	۰/۱۸ ^{ns}	۲۰/۰۰۳*	۱/۰۰۰۳**
زمان × محلول	۸	۰/۴۲ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۱۵**	۰/۳۵ ^{ns}	۱/۸۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{ns}
خطا	۳۰	۰/۳۴	۰/۰۶	۰/۰۰۰۱۷	۰/۶۰	۳/۱۵	۰/۰۰۰۶
ضریب تغییرات (درصد)		۱۳/۶۱	۸/۸	۸/۰۳	۹/۶۱	۸/۷۰	۷/۴۸

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ درصد، ۱ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۱- اثر پیری بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ آزمون مقایسه میانگین دانکن می‌باشند.

جدول ۲- جدول مقایسه میانگین اثر نوع محلول بر ویژگی‌های کربوهیدرات‌های محلول، پراکسیداسیون لیپیدها و کاروتنوئید، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز

نوع محلول	کربوهیدرات‌های محلول	پراکسیداسیون لیپیدها	کاروتنوئید	آسکوربات پراکسیداز	کاتالاز
اسید سالیسیلیک	۴/۷۹ ^a	۲/۵۹ ^b	۰/۰۴۸ ^b	۱/۲۲ ^a	۲۱/۱۳ ^b
نیتروپروپیل سدیم	۴/۲۶ ^b	۲/۶۷ ^b	۰/۰۵۰ ^b	۱/۱۵ ^b	۲۱ ^b
شاهد	۳/۷۵ ^c	۲/۹۰ ^a	۰/۰۵۶ ^a	۰/۷۴ ^c	۱۹/۰۷ ^a

در هر ستون، اعدادی با حروف متفاوت بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار می‌باشند.

پیری با تأخیر در تجزیه پروتئین‌ها، ریبونوکلیک اسیدها، نگهداری سلامت غشاء و وظایف میتوکندری‌ها است (Halevy and Mayak, 1981). کربوهیدرات‌های محلول در بستن مؤثر می‌باشند (Marousky, 1971). همچنین در گلبرگ‌ها روزنه‌ها و کاهش میزان از دست رفتن آب گل‌های شاخه بریده و حفظ آب، ایجاد تعادل آبی و حفظ تورژسانس گلبرگ‌ها

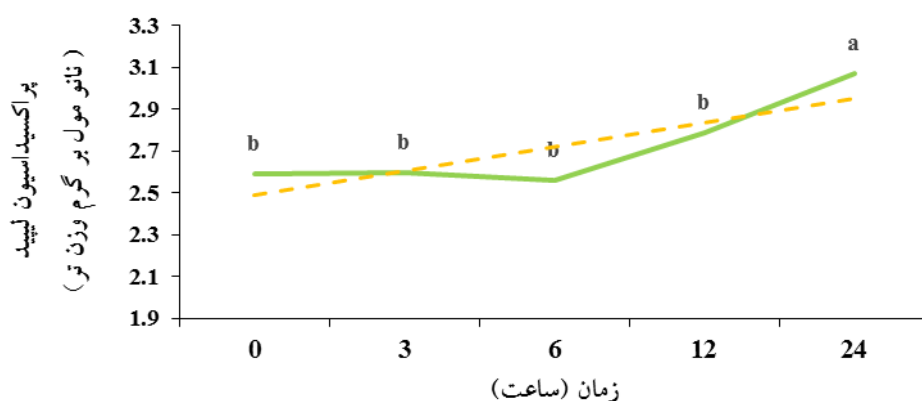
پراکسیداسیون لیپیدها افزایش یافت. بیشترین میزان پراکسیداسیون لیپیدها (۳/۰۷ نانومول بر گرم وزن تر) در ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش مشاهده شد که با تمامی ساعات از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری بود. (شکل ۲).

همچنین بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها مربوط به نوع محلول، بیشترین و کمترین میزان مالون‌دی‌آلدئید تولیدشده، به ترتیب در گل‌های شاهد (۲/۹۰ نانومول بر گرم وزن تر) و گل‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک (۲/۵۹ نانومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد، که میان آنها از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود داشت. هم‌چنین تیمار گل‌ها با نیتروپروپیل سدید همانند تیمار با اسید سالیسیلیک سبب کاهش تجمع مالون‌دی‌آلدئید شد. میزان محصول تولیدی پراکسیداسیون لیپیدها در تیمار نیتروپروپیل سدید، ۲/۶۷ نانومول بر گرم وزن تر بود که با تیمار اسید سالیسیلیک از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۲).

پراکسیداسیون لیپیدها باعث افزایش نفوذپذیری غشاء و پژمردگی گل‌ها می‌شود، که به‌طور معنی داری در مرحله پیری گل‌ها افزایش می‌یابد. یکی از ترکیباتی که در نتیجه پراکسیداسیون غشای سیتوپلاسمی ایجاد می‌شود، مالون‌دی‌آلدئید است. به‌طور معمول از مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی از پیری و مقاومت فیزیولوژیکی استفاده می‌کنند (حاتمی و همکاران، ۱۳۸۸). افزایش نفوذپذیری غشاء در مرحله پیری باعث از دست دادن بیشتر محتوای آب گلبرگ‌ها می‌شود. بنابراین، حفظ آب گلبرگ با تیمارهای مختلف نقش مهمی در جلوگیری از پیری دارد. نیتروپروپیل سدید سبب رهاسازی نیتریک اکسید می‌شود. نیتریک اکسید منجر به بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی در کاهش اثرات اکسیداسیون حاصل از تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان می‌شود (Abuqamar et al., 2017). Shabanian و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که نیتروپروپیل سدید سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ یکپارچگی غشای پلاسمایی در زمان نگهداری دو رقم از گل ژربرا شد، به‌گونه‌ای که میزان مالون‌دی‌آلدئید اندازه‌گیری شده آنها در مقایسه با نمونه‌های شاهد کمتر بود که با نتایج

اصلی‌ترین دلیل تولید فشار تورژسانس لازم جهت باز شدن کامل گل‌ها می‌باشند (گرایلو و همکاران، ۱۳۹۳). از این‌رو استفاده از تیمارهایی که به حفظ و افزایش کربوهیدرات‌ها کمک می‌کند، سبب تأخیر در پیری می‌گردد (van Doorn, 2001). تیمار اسید سالیسیلیک احتمالاً مانع فعالیت سیستم آنزیمی هیدرولیزکننده پلی‌ساکاریدها شده و از سوی دیگر تشکیل پلی‌ساکاریدها را تسهیل می‌کند (Khodary, 2004). تحقیقات نشان داده در گیاه گوجه‌فرنگی طی تنش اکسایشی، مقدار تجمع قندها با تیمار اسید سالیسیلیک افزایش یافت (Inze and van Montague, 1995). طبق نتایج حاصل از پژوهش فرهنگ‌مهر و همکاران (۱۳۹۲) تیمار گل‌های رز رقم 'گرند پریکس' با اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میکرومولار، افزایش ترکیبات قندی مشاهده شد، که با نتایج پژوهش کنونی مطابقت داشت. Bayat و Aminifard (۲۰۱۷) بیان داشتند که سالیسیلیک اسید با جلوگیری از تجزیه کربوهیدرات‌ها در گل‌های بریده لیلیوم، ژربرا، السترومریا، رز و مریم توانست سبب افزایش عمر گل شود. طبق نظر van Doorn و Cruz (۲۰۰۰) تورژسانس عامل زنده‌مانی و فعالیت سلول‌هاست که خود نشان از جذب و دفع و فعالیت یک ارگانیسم یا سلول است. در این راستا مصرف اسید سالیسیلیک نیز موجب افزایش میزان کلروفیل از طریق افزایش فعالیت سلولی بوده است و افزایش کلروفیل دلیل بر فعال بودن سلول‌ها و افزایش تولید مواد قندی آنها می‌باشد. افزایش مواد قندی از طریق تنظیم تنفس و فشار اسمزی موجب کاهش پیری گل‌ها شده است (Lise et al., 2004).

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها نشان داد که اثر نوع محلول و اثر زمان در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار است، اما برهمکنش نوع محلول و زمان بر پراکسیداسیون لیپیدها معنی‌دار نبود (جدول ۱). با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها، به‌طور کلی از زمان شروع آزمایش تا ۶ ساعت پس از شروع آزمایش میزان تغییرات پراکسیداسیون لیپیدها ناچیز بود و دارای روندی کاهش بود، پس از آن تا پایان بیست و چهار ساعت به‌تدریج میزان



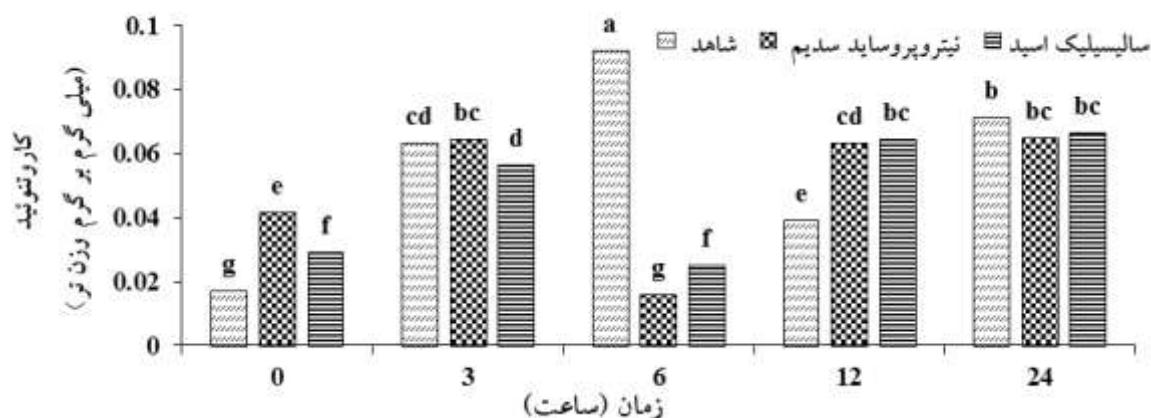
شکل ۲- اثر پیری بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ آزمون مقایسه میانگین دانکن می‌باشند.

بیشترین میزان خود (۰/۰۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) رسید (شکل ۴). همچنین نتایج نشان داد که اسید سالیسیلیک و نیتروپروپوساید سدیم سبب افزایش میزان کاروتنوئیدها شدند (جدول ۲). کاروتنوئیدها به‌عنوان حامی رنگیزه‌های غیرفتوستنتزی و فتوستنتزی شناخته شده‌اند که می‌توانند اکسیژن یکتایی را به اکسیژن سه‌تایی تبدیل کرده و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده، نقش آنتی‌اکسیدانی از خود بروز دهند (Inze and van Montagu, 1995) و کمترین تأثیر را در حین پیری گل دارد. مشخص گردید در هنگام پیری گل سوسن، میزان کاروتنوئیدها تا روز پنجم ثابت باقی ماند (فرهودی و همکاران، ۱۳۹۷).

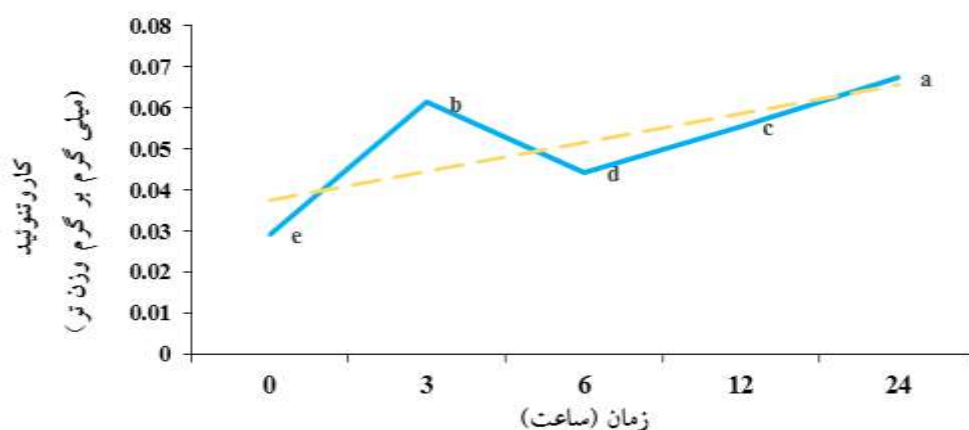
نتایج تجزیه واریانس مربوط به میزان پروتئین کل در جدول ۱ ارائه شده است. طبق نتایج به‌دست‌آمده، اثر زمان بر میزان پروتئین کل در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اما اثر ساده نوع محلول و برهمکنش زمان و نوع محلول بر میزان پروتئین کل معنی‌دار نبود. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان پروتئین کل (۹/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به ساعت صفر بود که با سایر زمان‌ها (۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش)، از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بود. میزان پروتئین کل از ابتدای آزمایش تا ساعت آخر اندازه‌گیری به‌تدریج کاهش یافت و در ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش به پایین‌ترین میزان خود (۷/۵۱ میلی‌گرم بر

پژوهش کنونی مطابقت داشت. همچنین افزودن اسید سالیسیلیک به محلول نگهدارنده منجر به کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شود، که این امر می‌تواند به واسطه فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و به‌دنبال آن خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد، که به‌طور معمول در زمان پیری افزایش می‌یابند. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گرایلو و همکاران (۱۳۹۳) بر گل‌های بریده رز رقم 'یلو ایسلند' که با اسید سالیسیلیک (۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) تیمار شده بودند، مطابقت داشت.

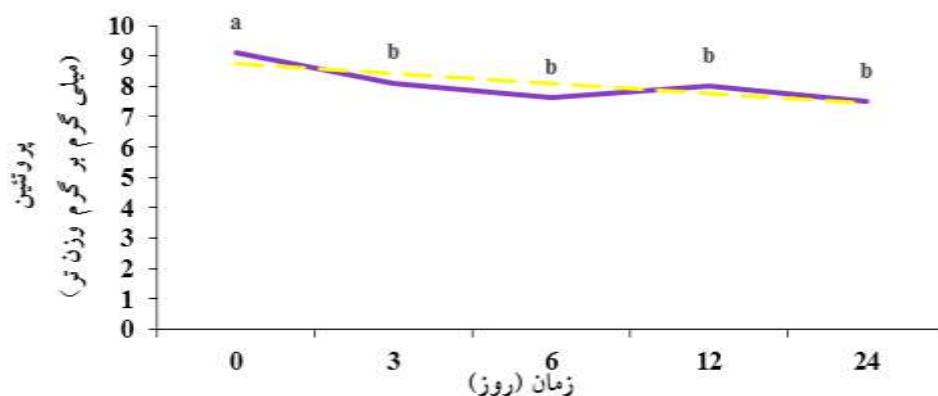
جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش نوع محلول و زمان بر میزان کاروتنوئید در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. همچنین اثرات ساده زمان و نوع محلول بر میزان کاروتنوئیدها نیز معنی‌دار بود (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) پس از گذشت ۶ ساعت از شروع آزمایش در گل‌های شاهد بود. کمترین میزان کاروتنوئیدها با گذشت ۶ ساعت از شروع آزمایش در گل‌های مریم تحت تیمار نیتروپروپوساید سدیم مشاهده شد (شکل ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، در ساعت صفر کمترین میزان کاروتنوئید گل‌ها (۰/۰۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود و از ۶ ساعت پس از شروع آزمایش تا ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش به‌تدریج روندی صعودی را نشان داد، به‌گونه‌ای که در ساعت آخر به



شکل ۳- برهمکنش نوع محلول و زمان بر میزان کاروتنوئید در گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ آزمون مقایسه میانگین دانکن می‌باشند.



شکل ۴- اثر ساده زمان (ساعت) بر میزان کاروتنوئید در گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ آزمون مقایسه میانگین دانکن می‌باشند.



شکل ۵- اثر پیری بر میزان پروتئین کل در گل شاخه بریده مریم (*Polianthes tuberosa* L.). حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ آزمون مقایسه میانگین دانکن می‌باشند.

گرم وزن تر) رسید (شکل ۵). یکی از تغییرات مهم در زمان پیری گیاهان، تجزیه پروتئین

(۲۱/۱۳) میکرومول در دقیقه بر میلی گرم پروتئین) مربوط به گل های تیمار شده با اسید سالیسیلیک بود، که با نمونه های شاهد از نظر آماری دارای تفاوت معنی داری بود، درحالی که با تیمار نیتروپروساید سدیم از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشت. به علاوه کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۱۹/۰۷ میکرومول در دقیقه بر میلی گرم پروتئین) مربوط به نمونه های شاهد بود (جدول ۲).

طبق نتایج مندرج در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر ساده زمان و برهمکنش نوع محلول و زمان بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی دار نبود. اما اثر ساده نوع محلول بر میزان فعالیت این آنزیم در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. کمترین و بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب در تیمار شاهد (۰/۷۴ میکرومول در دقیقه بر میلی گرم پروتئین) و تیمار اسید سالیسیلیک (۱/۲۲ میکرومول در دقیقه بر میلی گرم پروتئین) مشاهده شد، که میان تیمار شاهد و تیمار اسید سالیسیلیک تفاوت معنی داری وجود داشت (جدول ۲). همچنین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار نیتروپروساید سدیم (۱/۱۴ میکرومول در دقیقه بر میلی گرم پروتئین) افزایش یافت، که از نظر آماری با سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشت. به طور کلی تیمار گل های مریم با اسید سالیسیلیک و نیتروپروساید سدیم منجر به جلوگیری از کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز شد. همچنین بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر ساده نوع محلول، زمان و برهمکنش آنها بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی دار نبودند (جدول ۱).

آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز یکی از کارآمدترین سیستم هایی حفاظت سلولی در برابر رادیکال های آزاد هستند (Bowler et al., 1992). این آنزیم ها به طور عمده در سیتوزول، میتوکندری و پراکسیزوم ها هستند و منجر به جاروب رادیکال های آزاد و در نتیجه بهبود مقاومت گیاه در برابر تنش های زنده و غیرزنده، که خود عامل تولید رادیکال های آزاد می باشند، می گردد. رادیکال های آزاد محصول متابولیسم هوازی اند و شامل ترکیباتی مانند

ها می باشد. تجزیه پروتئین گلبرگ در گیاهان زیتنی تکلیف مانند آلسترومریا (Wagstaff et al., 2002)، گلابول (Pak et al., 2005) و زنبق (Azeez et al., 2007) مشاهده شده است. تجزیه پروتئین ها در بسیاری از گونه های گیاهی توسط فعالیت پروتئین های خاصی صورت می پذیرد (Zhang, 2008). به علاوه گونه های فعال اکسیژن می توانند با پروتئین ها واکنش نشان داده و سبب تجزیه آنها شوند (Abri et al., 2013). یکی از نشانه های مهم تخریب غشاء، تجزیه پروتئین ها می باشد. تداوم ناپایداری غشاء که همراه با پیری است، ممکن است به دلیل کاهش عملکرد پروتئین های غشاء باشد. پیری گلبرگ با تجزیه بیوفیزیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی همراه می باشد. کاهش میزان پروتئین، سیالیت لیپید در غشاء و افزایش فعالیت پروتئاز سبب پیری و زوال می گردد (Arora et al., 2007). میزان بالای رادیکال های آزاد مانند سوپراکسید ($O^{\cdot -}$) و هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) در گیاهان باعث ایجاد تنش اکسایشی در بیومولکول هایی مانند پروتئین ها و لیپیدها می گردد و پیری را تشدید می کنند (Youwei et al., 2008). نتایج آزمایش کنونی که نشان دهنده کاهش میزان پروتئین پس از جداسازی از گیاه مادری است، با نتایج آزمایش انجام شده توسط Nikkhah Bahrami و همکاران (۲۰۱۳) همخوانی داشت. بر اساس نتایج پژوهش ذکر شده که روی گل های لیزیانتوس صورت پذیرفت، در مدت زمان نگهداری گل ها، به تدریج میزان پروتئین ها کاهش یافت. با مصرف درونی کربوهیدرات ها، پروتئین های نامحلول به تدریج به عنوان مواد تنفسی در پیری مورد استفاده قرار می گیرند (Olley et al., 1996).

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر نوع محلول بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. اما اثر ساده زمان و برهمکنش نوع محلول و زمان بر میزان فعالیت این آنزیم از نظر آماری معنی دار نبود (جدول ۱). با توجه به نتایج به دست آمده، فعالیت آنزیم کاتالاز در گل های مریم که با اسید سالیسیلیک و نیتروپروساید سدیم تیمار شده بودند، نسبت به گل های شاهد افزایش یافت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده ها، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

می‌شود. نقش نیتروپرووساید سدیم در افزایش فعالیت و القا بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در بسیاری از تنش‌های غیرزنده نیز گزارش شده است (نصیبی و همکاران، ۱۳۹۰). در آزمایش انجام شده توسط Ataï و همکاران (۲۰۱۵)، در گل‌های لیزیانتوس تیمار شده با اسید سالیسیلیک، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز فعالیت بیشتری بروز دادند که وابسته به تجمع پایین‌تر هیدروژن پراکسید در مدت زمان نگهداری آنها بود. تیمار اسید سالیسیلیک سبب افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد که این امر رادیکال‌های آزاد اکسیژن را از بین می‌برد و این‌گونه سبب کاهش سطح مالون‌دی‌آلدئید شده، آسیب وارده به غشای سلول کم می‌شود و پیری به تأخیر می‌افتد.

نتیجه‌گیری کلی

پیری گل‌ها مدلی جالب برای مطالعه در گیاهان به‌شمار می‌رود. پیری به سادگی قابل مشاهده می‌باشد، گاهی اوقات به صورت تغییر رنگ است و توسط محرک‌های ساده‌ای مانند گرده‌افشانی، اتیلن و دوره نوری تغییر می‌یابد. این فرآیند از مسائل مهمی است که صنعت گلکاری با آن مواجه می‌باشد. پیری گل بر تمامی فرایندهایی که بلوغ فیزیولوژیکی گیاه را دنبال می‌کنند و منجر به مرگ یک گیاه کامل، یک بافت یا یک سلول می‌شود، دلالت دارد و در واقع آخرین مرحله نمو گیاهی را نشان می‌دهد. الگوی پیری گل می‌تواند بر اساس تفاوت در مشارکت اتیلن طبقه‌بندی شود، برخی از گل‌ها مانند مریم، پیری وابسته به اتیلن را نشان می‌دهند. در این پژوهش مشخص شد با شروع فرآیند پیری، تجزیه پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها افزایش پیدا کرد و میزان آنها در گلبرگ کاسته شد. همچنین میزان پراکسیداسیون لیپیدها و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز افزایش پیدا کرد، با این وجود در میزان کاروتنوئیدها و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تغییر پیدا نکرد. همچنین مشخص گردید که تنظیم‌کننده‌های رشدی همانند اسید سالیسیلیک و نیتروپرووساید سدیم می‌توانند در فرآیند پیری تأخیر ایجاد نمایند.

سوپراکسیدها، پراکسید، اکسیژن اتمی و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند و طی واکنش‌های انتقال الکترون در میتوکندری، کلروپلاست و پراکسیزوم‌ها تولید می‌گردند و در صورتی که غلظت آنها تنظیم نگردد، موجب آسیب به پروتئین، غشاء و DNA می‌گردند (Davey et al., 2005). بنابراین افزایش این آنزیم‌ها در گیاه موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد (Dat et al., 2000). با افزایش پیری، پراکسید هیدروژن در گلبرگ‌ها تجمع می‌یابد (Hossain et al., 2006). آنزیم کاتالاز به علت داشتن ویژگی سم‌زدایی، میزان پراکسید هیدروژن را کنترل می‌کند (Kumar et al., 2010). با توجه به گفته Hodges و Forney (۲۰۰۰)، بر اساس نوع پیری، کاهش یا افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در سلول انتظار می‌رود. به عنوان مثال در آزمایشی با توسعه فرایند پیری در گلبرگ‌های سوسن یک‌روزه فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت (Panavas and Rubinstein, 1998). همچنین در آزمایش منصوری و همکاران (۱۳۹۴)، کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۷۵ میکرومولار منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گل‌های بریده ژبرار رقم 'پینک الگانس' گردید، که در نهایت سبب محافظت از سلول‌ها شد. همچنین Alaey و همکاران (۲۰۱۱) بیان کردند، تیمار گل‌های شاخه بریده رز با اسید سالیسیلیک میزان فعالیت این آنزیم را نسبت به گل‌های شاهد افزایش می‌دهد. آن‌ها پیشنهاد کردند که کاربرد پس از برداشت اسید سالیسیلیک از طریق بهبود ظرفیت حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن که به فعالیت آنزیم کاتالاز مرتبط است و همچنین با بهبود تنظیم تعادل آبی، عمر گل‌های رز طولانی‌تر خواهد شد. با توجه به اینکه فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط تنش نیز افزایش می‌یابد، Promyou و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک میزان فعالیت این آنزیم را در گل آنتوریوم تحت شرایط سرمازدگی افزایش داد. در پژوهشی دیگر علی‌پور و همکاران (۱۳۹۳) بیان داشتند که تیمار گل‌های مریم با نیتروپرووساید سدیم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

منابع

- حاتمی، م.، حاتم‌زاده، ع. و قاسم‌نژاد، م. (۱۳۸۸) نقش آسکوربیک اسید در کنترل پراکسیده شدن لیپیدها و به تأخیر انداختن پیری در گل‌های بریده رز رقم 'رویال کلاس'. مجله زیست‌شناسی ایران ۴: ۶۰۵-۵۹۹.
- علی‌پور، س.، نصیبی، ف. و فرهنگ‌مهر، ن. (۱۳۹۳) بررسی اثر غلظت‌های متفاوت سدیم نیتروپروساید سدیم (SNP) بر صفات فیزیولوژیکی و افزایش عمر گلجایی گل شاخه بریده مریم (*Polianthes tuberosa* L.). مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۵: ۹۱۴-۹۰۴.
- فرهنگ‌مهر، ن.، نیاکان، م. و زارعی، ح. (۱۳۹۳) اثر اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر دوام گل و شاخص‌های فتوسنتز گل شاخه بریده رز رقم Grand prix. نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران ۹: ۵۸-۴۸.
- فروودی، ن.، صالحی سلمی، م.، ر.، یاری، ف. و شهبازی، ا. (۱۳۹۷) بررسی اثر خشک و تر انبارمانی گل بریدنی سوسن دورگه در شرایط اتمسفر تغییر یافته. مجله فن آوری تولیدات گیاهی. در حال انتشار.
- گرایلو، س.، قاسم‌نژاد، م. و شیر، م. ع. (۱۳۹۳) تأثیر تیمار کوتاه مدت سالیسیلیک اسید در به تأخیر انداختن پیری گل‌های شاخه بریده رز (*Rosa hybrida*) رقم یلوآیسلند. مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۲: ۳۰۹-۲۹۹.
- منصوری، م.، شور، م.، تهرانی‌فر، ع. و سلاح‌ورزی، ی. (۱۳۹۴) بررسی تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و تیماین بر گل ژربرا رقم پینک الگانس. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی) ۱: ۱۲۷-۱۳۳.
- نصیبی، ف.، یعقوبی، م. م. و منوچهری کلاتری، خ. (۱۳۹۰) مقایسه اثر پیش تیمار نیتروپروساید سدیم و آرژنین بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum*) تحت تنش کم آبی. مجله زیست‌شناسی ایران ۶: ۱۳۲-۱۲۱.
- Abri, F., Ghasemnezhad, M., Hasansajedi, R. and Bakhshi, D. (2013) Effect of Ascorbic acid on vase life and petal senescence in cut rose flowers (*Rosa hybrid*) cv. royal class. Journal of Agricultural and Environmental Science 13: 38-43.
- AbuQamar, S., Moustafa, K. and Tran, L. S. (2017) Mechanisms and strategies of plant defense against *Botrytis cinerea*. Critical Reviews in Biotechnology 37: 262-274.
- Aebi, H. (1974) Catalases. In: Methods of Enzymatic Analysis II (ed. Bergmeyer H. U.) Pp. 673-684. Academic Press, New York.
- Ahmad, P., Abdel Latef, A. A., Hashem, A., Abd Allah, E. F., Gucel, S. and Tran, L. S. (2016) Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea. Frontiers in Plant Science 7: 347-353.
- Alaey, M., Babalar, M., Naderi, R. and kafi, M. (2011) Effect of pre and postharvest salicylic acid treatment on physiochemical attributes in relation to vase life of Rose cut flowers. Postharvest Biology and Technology 61:91-94.
- Arora, A.V., Singh, S. S., Sindhu, D. N. and Voleti, S. R. (2007) Oxidative stress mechanisms during flower senescence. Plant Stress Global Science Books, New Phytologist 165: 473-480.
- Asghari, M. and Aghdam, M. S. (2010) Impact of salicylic acid on postharvest physiology of horticultural crops. Trends in Food Science and Technology 21: 502-509.
- Ataai, D., Naderi, R. and Khandan-Mirkohi, A. (2015) Delaying of postharvest senescence of Lisianthus cut flowers by salicylic acid treatment. Journal of Ornamental Plants 5: 67-74.
- Azeez, A., Sane, A. P., Bhatnagar, D. and Nath, P. (2007) Enhanced expression of serine proteases during floral senescence in Gladiolus. Journal of Phytochemistry 68: 1352-1357.
- Bayat, H. and Aminifard, M. H. (2017) Salicylic acid treatment extends the vase life of five commercial cut flowers. electronic Journal of Biology 13: 67-72.
- Boller, T. (1991) Ethylene in pathogenesis and disease resistance. In: The Plant Hormone Ethylene (eds. Mattoo, A. K., Suttle, J. C.) Pp.293-314. CRC Press.
- Bowler, C., van Montague, M. and Inze, D., (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 43: 83-116.

- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Buchanan-Wollaston, V., Earl, S., Harrison, E., Mathas, E., Navab-Pour, S., Page, T. and Pink, D. (2003) The molecular analysis of plant senescence genomics approach. *Plant Biotechnology Journal* 1: 3-22.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., van Montagu, M., Inze, D. and van Breusegem, F. (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences* 57: 779-795.
- Davey, M. W., Stals, E., Panis, B., Keulemans, J. and Swennen, R. L. (2005) High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. *Analytical Biochemistry* 347: 201-207.
- Dubois, M., Giles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Dwivedi, S. K., Arora, A., Singh, V. P., Sairam, R. and Bhattacharya, R. C. (2016) Effect of sodium nitroprusside on differential activity of antioxidants and expression of SAGs in relation to vase life of gladiolus cut flowers. *Scientia Horticulturae* 210: 158-165.
- 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 Regulation* 51: 99-108.
- Halevy, A. H. and Mayak, M. (1981) Senescence and postharvest physiology of cut flowers. *Horticultural Review* 3: 59-112.
- Hassan, F. A. S. and Ali, E. F. (2014) Protective effects of 1-methylcyclopropene and salicylic acid on senescence regulation of gladiolus cut spikes. *Scientia Horticulturae* 179: 146-152.
- Hassanpour Asil, M., Roein, Z. and Abbasi, J. (2011) Response of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) to gibberellic acid and benzyl adenine. *Horticulture, Environment and Biotechnology* 52: 46-51.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hodges, D. M. and Forney, C. H. F. (2000) The effects of ethylene depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *Journal of Experimental Botany* 51: 645-655.
- Hossain, Z., Mandal, A. K. A., Datta, S. K. and Biswas, A. K. (2006) Decline in ascorbate peroxidase activity- a prerequisite factor for tepal senescence in *Gladiolus*. *Journal of Plant Physiology* 163: 186-194.
- Ichimura, K., Kojima, K. and Goto, R. (1999) Effect of temperature, 8-hydroxy quinoline sulphate and sucrose on the vase life of cut roses flowers. *Postharvest Biology and Technology* 15: 33-40.
- Inze, D. and van Montague, M. (1995) Oxidative stress in plant. *Current Opinion in Biotechnology* 6:153-158.
- Jebara, S., Jebara, M., Limam, F. and Elarbi Aouani, M. (2005) Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 162: 929-936.
- Jowkar, M. M. and Salehi, H. (2005) Effects of different preservatives on the vase life of cut Tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) flowers at usual home conditions. *Acta Horticulturae* 669: 411-416.
- Khodary, S. F. A. (2004) Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 6: 5-8.
- Kumar, A., Kumar, S. and Chandra, S. (2010) Vase life studies in tuberose cv. Shringar as affected by postharvest handling treatments. *Asian Journal of Horticulture* 5: 7-10.
- Liao, W. B., Zhang, M. L. and Yu, J. H. (2013) Role of nitric oxide in delaying senescence of cut rose flowers and its interaction with ethylene. *Scientia Horticulturae* 155: 30-38.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Lin, C. C. and Kao, C. H. (1999) NaCl induced changes in ionically bounds peroxidase activity in roots of rice seedlings. *Plant and Soil* 216:147-53.
- Lise, A., Michelle, H. and Serek, M. (2004) Reduced water availability improves drought tolerance of potted miniature roses: Is the ethylene pathway involved. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 99: 95-105.
- Luo, Z., Chen, C. and Xie, J. (2011) Effect of salicylic acid treatment on alleviating postharvest chilling injury of 'Qingnai' plum fruit. *Postharvest Biology and Technology* 62:115-120.
- Marousky, F. J. (1971) Inhibition of vascular blockage and increased moisture retention in cut roses induced by pH, 8-hydroxyl quinolone citrate and sucrose. *Journal of the American Society for Horticulture Science* 96: 38-41.
- Mohammadi, M., Hashem abadi, D. and Kaviani, B. (2012) Effect of cobalt chloride on vase life and postharvest quality of cut tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *European Journal of Experimental Biology* 2: 2130-2133.

- Naing, A. H., Lee, K., Arun, M., Lim, K. B. and Kim, C. K. (2017) Characterization of the role of sodium nitroprusside (SNP) involved in long vase life of different carnation cultivars. *BMC Plant Biology* 17:149.
- Nikkhak Bahrami, S., Zakizadeh, H., Hamidoghli, Y. and Ghasemnezhad, M. (2013) Salicylic acid retards petal senescence in cut *Lisianthus (Eustoma grandiflorum 'Miarichi Grand White')* flowers. *Horticulture, Environment and Biotechnology* 54: 519-523.
- Olley, C. M., Joyce, D. C. and Irving, D. E. (1996) Changes in sugar, protein, respiration, and ethylene in developing and harvested geraldton waxflower (*Chamelaucium uncinatum*) flowers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 24: 143-150.
- Pak, C. and van Doorn, W. G. (2005) Delay of iris flower senescence by protease inhibitors. *Journal of New Phytologist* 165: 473-480.
- Panavas, T. and Rubinstein, B. (1998) Oxidative events during programmed cell death of daylily petals. *Plant Science* 133: 125-138.
- Promyou, S., Ketsa, S. and van Doorn, W. (2012) Salicylic acid alleviates chilling injury in anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) flowers. *Postharvest Biology and Technology* 64: 104-110.
- Shabanian, S., Nasr Esfahani, M., Karamian, R. and Phan Tran, L. (2018) Physiological and biochemical modification by postharvest treatment with sodium nitroprusside extend vase life of cut flowers of two gerbera cultivars. *Postharvest Biology and Technology* 137: 1-8.
- Vahdati Mashhadian, N., Tehranifar, A., Bayat, H. and Salehvarzi, Y. (2012) Salicylic acid and citric acid treatments improve the vase life of cut chrysanthemum flowers. *Journal of Agricultural Science Technology* 14: 879-887.
- Van Doorn, W. G. (2001) Role of soluble carbohydrates in flower senescence: a survey. *Acta Horticulturae* 543: 179-183.
- Van Doorn, W. G. and Woltering, E. J. (2005) Many ways to exit? Cell death categories in plants. *Trends in Plant Science* 10: 117-122.
- Van Doorn, W. G. and Cruz, P. (2000) Evidence for a wounding-induced xylem occlusion in stems of cut chrysanthemum flowers. *Postharvest Biology and Technology* 19: 73-83.
- Wagstaff, C., Leverentz, M. K., Griffiths, G., Thomas, B., Chanasut, U., Stead, A. D. and Rogers, H. J. (2002) Cysteine protease gene expression and proteolytic activity during senescence of *Alstroemeria* petals. *Oxford Journals* 53: 233-240.
- Yamada, T., Ichimura, K., Kanekatsu, M. and van Doorn, W. G. (2009) Homologs of genes associated with programmed cell death in animal cells are differentially expressed during senescence of *Ipomoea nil* petals. *Plant and Cell Physiology* 50: 610-625.
- Youwei, Z., Jinlian, Z. and Yonghong, P. (2008) A comparative study on the free radical scavenging activities of some fresh flowers in southern China. *LWT-Food Science and Technology* 41:1586-1591.
- Zhang, S. H. (2008) Investigations into senescence and oxidative metabolism in gentian and petunia flowers. PhD. Thesis, Zanterbury University, New Zealand.