



تأثیر اسپرمیدین و سالیسیلیک اسید بر میزان پلی آمین‌های داخلی، فعالیت آنزیم‌های شکارکننده رادیکال‌های آزاد و میزان تخریب اکسیداتیو لیپیدها در گل بریدنی رز رقم "بلک‌مجیک"

رضا نعمت اله ثانی^۱، سیدحسین نعمتی^۲، محمود شور^۳، محمد فرجادی شکیب^۳

دریافت: ۹۷/۱۰/۳۰ پذیرش: ۹۷/۱۲/۸

چکیده

گل رز یکی از مهمترین گیاهان زینتی می‌باشد که به دلیل دارا بودن گل‌های زیبا و رنگ‌های متنوع، امروزه دارای رتبه نخست در تولید و صادرات گل‌های بریدنی است. کمیت و کیفیت در ارقام این گل به شدت تابع شرایط محیطی و تغذیه‌ای بوده و کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد قبل و پس‌از برداشت یکی از روش‌های متداول در افزایش کیفیت و دوام این گل می‌باشد. لذا در این پژوهش، گل بریدنی رز رقم "بلک‌مجیک" قبل‌از برداشت با اسپرمیدین (۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) و پس‌از برداشت با سالیسیلیک اسید (۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر) مورد تیمار قرار داده و کیفیت پس‌از برداشت آن از جنبه‌های بیوشیمیایی مختلف همچون میزان پلی‌آمین‌های داخلی (اسپرمیدین، اسپرمین و پوترسین)، فعالیت آنزیم‌های شکارکننده رادیکال‌های آزاد (همچون سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز) و میزان تخریب اکسیداتیو لیپیدها (از طریق میزان بیومارکر تخریبی مالون‌دی‌آلدئید تولید شده) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد اسپرمیدین و سالیسیلیک اسید موجب افزایش میزان پروتئین‌های محلول، بهبود فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در گلبرگ‌های گل بریدنی رز رقم "بلک‌مجیک" گردید. افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تنش اکسیداتیو نیز موجب کاهش تخریب لیپیدها و کاهش میزان بیومارکر تخریبی مالون‌دی‌آلدئید تولید شده گردید. از سوی دیگر میزان پلی‌آمین‌های درونی اسپرمیدین، اسپرمین و پوترسین نیز به طور معنی‌داری از کاربرد خارجی اسپرمیدین و سالیسیلیک‌اسید متأثر گردیدند.

واژه‌های کلیدی: اسپرمین، بیومارکر تخریبی، پلی فنل اکسیداز، پوترسین، سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز، مالون‌دی‌آلدئید

نعمت اله ثانی، ر.، س.ح. نعمتی، م. شور و م. فرجادی شکیب. ۱۳۹۹. تأثیر اسپرمیدین و سالیسیلیک اسید بر میزان پلی‌آمین‌های داخلی، فعالیت آنزیم‌های شکارکننده رادیکال‌های آزاد و میزان تخریب اکسیداتیو لیپیدها در گل بریدنی رز رقم "بلک‌مجیک". مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ۴۲: ۲۵۴-۲۳۸.

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس بین الملل دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران- مسئول مکاتبات: nemati@um.ac.ir

۳- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

مقدمه

رز با نام علمی *Rosa hybrid L.* گیاهی چند ساله و بومی مناطق مختلف نیمکره شمالی می‌باشد. این گل با دامنه وسیعی از عادات رشد در آسیا، شمال آفریقا و آمریکای شمالی و اروپا یافت می‌گردد (آندرسون، ۲۰۰۶). گل رز به عنوان یک گیاه زینتی-دارویی جهت کاربردهای مختلفی همچون گلدانی، فضای آزاد، عرق‌گیری و شاخه بریده دارد (مرتضوی و همکاران، ۲۰۰۷). جنس رز حدود ۱۴۰ گونه دارد که بیش از ۲۰۰۰۰ رقم آن نتیجه دوره‌گیر و انتخاب گونه‌های جدید هستند. تعداد ۹۵ گونه رز از آسیا، ۱۸ گونه از آمریکای شمالی و بقیه از اروپا و آفریقا منشا گرفته‌اند (رشیدی، ۱۳۸۷). در آمریکا این گل در حدود ۴۰٪ کل گل‌های بریدنی در ایالات متحده را به خود اختصاص داده و در کشورهای دیگر نیز اهمیت خاص خود را دارد (آگوا، ۲۰۰۴). در ایران نیز گل رز یکی از مهمترین گل‌های شاخه بریده بوده و رتبه نخست تجارت در بین گل‌های گلدانی و بریدنی را به خود اختصاص داده است. تاکنون مطالعات مختلفی در مورد عمر و دوام گل بریدنی رز در جهان صورت گرفته است. کیفیت و کمیت گل رز تابع شرایط مختلف از جمله عوامل اکولوژیک نظیر دما، رطوبت، خاک و سطح آنزیم‌های موثر بر پیری گل می‌باشد که در مجموع مطالعه این عوامل می‌تواند در بهبود کیفیت و کمیت گل گلدانی و بریدنی رز موثر باشد.

پیری فرآیند پس از بلوغ فیزیولوژیکی می‌باشد و منتهی به مرگ کل گیاه، اندام، بافت یا سلول می‌شود. پیری موجب در گل‌ها و برگ‌های گیاهان موجب تغییرات مشخصی شده که به صورت ژنتیکی و توسط عوامل محیطی در طی نمو کنترل می‌گردد (بوخانان-ولاستون و همکاران، ۲۰۰۳). در گلبرگ‌ها پیری به واسطه فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بسیار تنظیم شده‌ای رخ می‌دهد که افزایش در فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز، تخریب ماکرومولکول‌ها، افزایش فعالیت تنفسی و از دست رفتن یکپارچگی غشاء بخشی از آن‌ها می‌باشند (مایاک و همکاران، ۱۹۸۳). گونه‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS) از جمله عوامل دیگر مهمی هستند که روند پیری را سرعت می‌بخشند (دهیندا و همکاران، ۱۹۸۱). رادیکال‌های آزاد، با تخریب غشای سلولی سبب تحریک و از بین رفتن عملکرد انتخابی و هوشمند سلول‌ها می‌شوند. تحقیقات نشان داده است که گونه‌های فعال اکسیژن مانند O_2^- ، H_2O_2 و تولیدات ثانویه آن و

نیز رادیکال هیدروکسیل (OH) باعث تخریب پروتئین‌ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها شده و منتهی به پیری می‌شود (تامپسون و همکاران، ۱۹۸۷؛ آرورا و همکاران، ۲۰۰۲). پروچازکوا و همکاران (۲۰۰۱) نیز رادیکال‌های آزاد را مسوول تخریب پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و رنگیزه‌های گلبرگ در گل‌ها هنگام پیری گزارش نموده‌اند.

اجزای سیستم حفاظتی آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی به عنوان حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و آن‌ها را به گونه‌هایی با فعالیت پایین تبدیل می‌نمایند (سولخا، ۲۰۰۹). حفاظت آنتی‌اکسیدانی گیاهی دخیل در کنترل پیری به دو دسته مهم غیر آنزیمی و آنزیمی تقسیم می‌گردد. در مکانیزم حذف رادیکال‌های آزاد غیر آنزیمی ترکیباتی مثل کاروتنوئیدها، اسکوربیک اسید و فلاونوئیدها (شونر و کراوس، ۱۹۹۰) و در سیستم‌های آنزیمی، آنزیم‌هایی همچون کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز دخیل می‌باشند (بولر و همکاران، ۱۹۹۳؛ آسادا، ۱۹۹۲؛ اسکندالیوس، ۱۹۹۳؛ فویر، ۱۹۹۳). امروزه نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در حذف رادیکال‌های آزاد و افزایش عمر گل‌ها محرز می‌باشد. گزارش‌های متعددی بسیاری از فرایندهای پیری گل را با روابط میان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تفسیر نموده‌اند. به عنوان مثال افزایش میزان پراکسید شدن لیپیدها^۲ ناشی از تغییرات در افزایش فعالیت لیپوکسیژناز و در نتیجه تغییر در غلظت مالون‌دی‌آلدئید تعریف می‌شود (لورتنز و همکاران، ۲۰۰۲). افزایش در پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء توسط سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید تعیین می‌شود. که همراه با افزایش میزان آنزیم لیپوکسیژناز می‌باشد. در گل‌های لیلیوم و گلابول گزارش شده است که فعالیت لیپوکسیژناز موجب افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید شده و در نتیجه پیری را القاء می‌نماید (پانواس و روبینستین، ۱۹۹۸؛ اژیلمازی و همکاران، ۲۰۰۷).

در بررسی تنش اکسیداتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها در مطالعه‌ای بر روی گلچه‌های گل داوودی رقم "مگی"^۳ نتایج نشان داد که غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و پراکسیداسیون لیپید از مرحله گلچه جوان تا مرحله پیری افزایش می‌یابد. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز از مرحله گلچه جوان تا مرحله بلوغ افزایش، و بعد از آن کاهش یافتند (دبایسیس و همکاران، ۲۰۰۷). پیری گل‌ها در گلابول رقم "اسنوپرنسس"^۴ در چهار مرحله اختیاری نمودی شامل مرحله ۱

2 Lipid peroxidation

3 *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. Maghi

4 Snow princess

1 Reactive Oxygen Species

گیاه، نوع کاربرد و غلظت SA بستگی دارد (هوروات و همکاران، ۲۰۰۷).

در تحقیقی بر روی گل رز شاخه بریده گونه *R. baccarat* زمانی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که سالیسیلیک اسید در ترکیب با گلوتامین موجب کاهش فعالیت آنزیم ای-سی-سی اکسیداز^۴، کاهش میزان مالوندی‌آلدهید و در نتیجه بهبود پایداری غشاء و عمر گل می‌گردد. در مطالعه دیگری علایی و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید قبل و بعد از برداشت گل رز پرداختند. آنها دریافتند تیمار سالیسیلیک اسید عمر گلجایی در گل‌های شاخه بریده رز را از طریق افزایش ظرفیت حذف گونه‌های فعال اکسیژن توسط فعالیت آنزیم کاتالاز و همچنین تنظیم بهتر تعادل آب بهبود می‌بخشد. گرایلو و قاسمزاده (۲۰۱۱) کاربرد سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پیری گلبرگ‌های گل رز شاخه بریده رقم "یلوآیلند"^۵ را بررسی نمودند. آنها دریافتند که کاربرد سالیسیلیک اسید موجب تأخیر در پیری گل‌های شاخه بریده رز از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش میزان مالوندی‌آلدهید می‌گردند. به طور مشابه، اژیلماقی و همکاران، (۲۰۰۷) در مطالعه خویش بر روی گل‌های شاخه بریده گلابول رقم "گرین ویلو"^۶ دریافتند که 5-SSA^۷ عمر گل را از طریق فعالیت سیستم حذف گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌دهد. در نتیجه کاربرد این ترکیب، فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز کاهش، پراکسیداسیون لیپیدها کمتر، پایداری غشاء و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز افزایش یافت. حاتم‌زاده و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند سالیسیلیک اسید در گلابول رقم "وینگ سنسیشن"^۸ موجب تأخیر پیری گلبرگ و همچنین افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز می‌گردد. در گل‌های شاخه بریده میخک کاظمی و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند تیمار سالیسیلیک اسید موجب بهبود پایداری غشاء، کاهش محتوای مالوندی‌آلدهید و فعالیت ای-سی-سی اکسیداز و در نتیجه افزایش عمر گلجایی می‌گردد. در پژوهش دیگری گل‌های شاخه بریده میخک نیز کاظمی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند کاربرد سالیسیک اسید نیز ضمن افزایش عمر گلجایی، موجب کاهش فعالیت ای-سی-سی اکسیداز، پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذ پذیری غشاء و محتوای مالوندی‌آلدهید می‌گردند. در گل‌های شاخه بریده

(نصف باز)، مرحله ۲ (تمام گل)، مرحله ۳ (شروع پژمردگی)، مرحله ۴ (۵۰٪ پژمردگی) و مرحله ۵ (کاملاً پژمرده) با در نظر گرفتن تغییرات در وزن تر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و پایداری غشاء مورد مطالعه قرار گرفت. پراکسیداسیون لیپیدها در طی پیری افزایش نشان داد که این افزایش در ارتباط نزدیک با افزایش تخریب غشاء و کاهش شاخص درصد پایداری غشاء همراه بود. فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در طی زمان نشان داده شد که حداکثر فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در مرحله ۵ ثبت شد. فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز در مرحله ۵۰٪ پژمردگی افزایش و سپس به طور معنی‌داری کاهش یافت (حسین و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در طی نمو گل در دو گونه رز *Rosa* و *Rosa bourboniana* و *damascena* از مرحله غنچه کوچک (مرحله ۱) تا مرحله تمام گل (مرحله ۸) انجام شد. نتایج نشان داد که در هر دو گونه، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در مرحله تمام گل پایین‌تر بود. فعالیت آنزیم‌های لیپوکسیژناز و اینورتاز^۱ در این مرحله بیشتر بود. مطالعه سود و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که پراکسیداسیون لیپید که نفوذپذیری غشاء را القاء می‌کند، می‌تواند نتیجه فعالیت بالاتر لیپوکسیژناز در مرحله تمام گل باشد.

سالیسیلیک اسید^۲ (SA) یا ارتو-هیدروکسی بنزوئیک اسید^۳ که در گیاهان عالی از مسیر شیکمیت-پروپانویید مشتق می‌شود (استیچرز و همکاران، ۱۹۹۷) و در تمامی سلسله‌های گیاهی یافت می‌شود، به مدت طولانی به عنوان یک مولکول سیگنال در القاء مکانیسم‌های دفاعی در گیاهان شناخته می‌گردد (حلیم و همکاران، ۲۰۰۶). نقش سالیسیلیک اسید به عنوان یک مولکول کلیدی در مسیر انتقال سیگنال در پاسخ به تنش‌ها مطالعه گردیده است. مطالعات نشان داد که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید می‌تواند از گیاهان در برابر انواع مختلف تنش‌های غیر زیستی مانند دمای بالا یا پایین، فلزات سنگین و سایر موارد حمایت نماید. در این خصوص نتایجی که تاکنون منتشر گردیده نشان می‌دهد که تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید منجر به افزایش تحمل نسبت به تنش‌های غیر زنده در نتیجه افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتیو می‌شود (حیات و همکاران، ۲۰۰۹). تأثیر کاربرد خارجی SA به فاکتورهای متعدد از قبیل گونه، مرحله نمو

4 ACC-Oxidase
5 Yellow Island
6 Green Willow
7 5-Sulfosalicylic acid
8 Wing's Sensation

1 Invertase
2 Salicylic Acid
3 Ortho-Hydroxybenzoic Acid

است. سود و نگر (۲۰۰۳) تنها به بررسی تغییرات میزان پلی‌آمین‌های درونی پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین در فرم‌های آزاد^۵، توام^۶ و متصل^۷ در طی نمو گل در دو گونه *Rosa bourboniana* و *Rosa damascena* از مرحله غنچه کوچک تا مرحله تمام‌گل^۸ اقدام نمودند و دریافتند که میزان پلی‌آمین‌ها در گلبرگ‌های *R. bourboniana* نسبت به *R. damascena* پائین‌تر بود. در *R. damascena* میزان اسپرمیدین و پوترسین در مراحل ابتدایی نمو گل بالاتر و در مرحله تمام گل غلظت فرم آزاد پوترسین نسبت به بقیه پلی‌آمین‌ها بالاتر بود. این درحالی بود که در *R. bourboniana* در طی مراحل ابتدایی نمو گل میزان پلی‌آمین‌ها یکسان و در مرحله تمام گل، غلظت اسپرمیدین آزاد نسبت به بقیه پلی‌آمین‌ها بالاتر بود.

یکی از جدیدترین روش‌های افزایش ماندگاری گل‌های شاخه بریده و گلدانی، استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر سالیسیلیک اسید و پلی‌آمین‌ها می‌باشد. طبق بررسی‌های صورت گرفته، تاکنون مطالعه‌ای به بررسی تأثیر همزمان کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین بر روی گل بریدنی رز و تأثیر آنها در کارایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شکارکننده رادیکال آزاد و ممانعت آنها از تخریب اکسیداتیو لیپیدها در گل رز صورت نگرفته است. لذا در این پژوهش به بررسی این عوامل بر محتوای پروتئین و سطوح پلی‌آمین‌های مختلف در گل بریدنی رز تجاری رقم "بلک میجیک" پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

گل‌های بریدنی مورد استفاده از بوته‌های رز هیبرید^۹ ۴ ساله رقم "بلک میجیک"^{۱۰} پرورشی در گلخانه اتوماتیک با دمای روزانه 24 ± 2 و شبانه 16 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 70 ± 5 - ۶۰ درصد و شدت نور ۳۲ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه برداشت گردید. گل‌ها در ابتدای صبح و از شاخه‌های ۹۰-۷۰ سانتی‌متر توسط قیچی باغبانی برداشت گردیدند. مرحله برداشت گل‌ها مرحله برداشت تجاری باز شدن دو گلبرگ بیرونی بود.

داوودی نیز زمانی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند سالیسیلیک اسید به طور مشابه موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذ پذیری غشاء و محتوای مالون‌دی‌آلدهید می‌گردند.

در گیاهان ترکیبات الیفاتیکی با وزن مولکولی کم به نام پلی‌آمین‌ها وجود دارند. پلی‌آمین‌ها ترکیبات شبه هورمونی‌اند که در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعددی از قبیل جنین‌زایی، مقاومت در برابر تنش‌ها، تقسیم سلولی، طویل شدن سلولی، اندام‌زایی، تشکیل ریشه، فرآیند گلدهی، رسیدن میوه، رشد لوله‌گرده و پیری دخالت دارند (انثی‌عشری و خسروشاهی، ۱۳۸۷؛ کروزی و همکاران، ۲۰۰۰). مهمترین پلی‌آمین‌ها در گیاهان شامل پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین می‌باشند (لیو و همکاران، ۲۰۰۶). مارتین تانگوی (۲۰۰۱) نقش‌های متعددی در رشد، پیری و همچنین پاسخ به تنش‌های محیطی برای پلی‌آمین‌ها ذکر نموده که عمدتاً از طریق حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند. از سوی دیگر سود و نگر (۲۰۰۳) مکانیسم بازداشتن پیری توسط پلی‌آمین‌ها را به احتمال مربوط به بازداشتن سنتز اتیلن بوسیله بازداشتن فعالیت آنزیم‌های سی‌سی‌سی سنتتاز^۱ دانسته‌اند. همچنین مطالعات نشان داده است که پلی‌آمین‌ها قادر به حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند که این امر موجب حفظ سیالیت غشاء و همچنین به تأخیر انداختن فعالیت لیپوکسیژناز می‌گردد. یک نقش پلی‌آمین‌ها در ممانعت از فعالیت DNase و RNase می‌باشد (تاسونی و همکاران، ۲۰۰۶).

مطالعات انجام شده بر روی کاربرد پلی‌آمین‌ها در گل‌های بریدنی محدود بوده است. ناهد و همکاران (۲۰۱۰) تأثیر پوترسین بر گلدهی گلابول^۲ را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که پوترسین موجب افزایش تعداد گلچه‌های گلابول از ۵ عدد به ۱۴/۳۳ عدد و وزن تر گلچه‌ها از ۱۶/۴۳ گرم به ۳۳ گرم می‌گردد. تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین بر تأخیر پیری در گل‌های شاخه بریده میخک^۳ رقم "ریکو"^۴ را مورد بررسی قرار دادند. آنها دریافتند کاربرد اسپرمیدین بیشترین تأخیر در پیری گل و همچنین تأخیر ۵ روزه در تخریب DNA را موجب می‌گردد. به طور مشابه ای لی و همکاران (۱۹۹۷) نیز دریافتند که اسپرمیدین پیری گل‌های میخک را به تأخیر انداخته و تولید اتیلن را در گلبرگ‌ها کاهش می‌دهد. به طور کلی، تاکنون مطالعات اندکی در مورد تأثیر پلی‌آمین‌ها بر روی عمر و دوام گل بریدنی رز صورت پذیرفته

5 Free
6 Conjugated
7 Bound
8 Full Bloom
9 *Rosa hybrid* L.
10 Black Magic

1 ACC Synthase
2 *Gladiolus grandiflorum* L.
3 *Dianthus caryophyllus*
4 Reiko

هموژنیزه گردید. مجموعه هموژنیزه شده به مدت ۱ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی با دور ۹۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. پس از خروج از سانتریفیوژ، محلول استخراج برگ جهت سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید.

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسمو تاز

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسمو تاز بر اساس باز داشتن احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولوم^۱ به روش فریدوویچ و بایر (۱۹۸۷) اندازه گیری شد. در این روش ۱ میلی لیتر از محلول محتوی ۵۰ میلی مول پتاسیم فسفات بافر (با pH 7.8)، ۹/۹ میلی مول متیونین، ۵۷ میکرومول نیترو بلوتترازولوم و ۰/۲۵ درصد حجمی Triton X-100 تهیه و به یک تیوب شیشه ای کوچک اضافه و ۲۰ میکرو لیتر از محلول عصاره اضافه گردید. واکنش با اضافه کردن ۱۰ میکرو لیتر محلول ربیوفلاوین (با غلظت ۴/۴ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) و قرار دادن تیوب ها در جعبه حاوی ۲ لامپ فلورسنت به مدت ۷ دقیقه آغاز گردید. نمونه شاهد، با استفاده از بافر به جای نمونه تعیین شد. جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت گردید و نمونه شاهد به عنوان بلانک استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسمو تاز بر اساس واحد بر میلی گرم وزن خشک بیان گردید. یک واحد آنزیم سوپراکسیددیسمو تاز، به صورت مقداری از آنزیم که نیاز است ۵۰٪ بازدارندگی احیاء نیتروبلوتترازولوم را در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام دهد، تعریف می شود.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز

اندازه گیری فعالیت این آنزیم بر اساس روش آبی (۱۹۸۴) یعنی کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت پذیرفت. به این منظور ۰/۳ میلی لیتر از محلول واکنش شامل ۵۰ میلی مول بافر پتاسیم فسفات (با pH 7.0)، ۱۲/۵ میلی مول پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرو لیتر از محلول محتوی آنزیم و نیز آب مقطر برای به حجم رسانی اضافه شدند. سپس H_2O_2 اضافه گردیده و کاهش در جذب بعد از یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم بر اساس حجمی از H_2O_2 تخریبی با رجوع به منحنی استاندارد غلظت شناخته شده از H_2O_2 سنجش شد.

سنجش آنزیم پلی فنل اکسیداز

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی گل های شاخه بریده رز با فاکتورهای پلی آمین اسپرمیدین و اسید سالسیک انجام گردید. تعداد ۱۵ گیاه رقم مذکور ۱۰ روز قبل از برداشت با غلظت های ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسپرمیدین محلول پاشی گردید. سپس نمونه گل ها، برداشت و پس از انتقال به آزمایشگاه در زیر آب جاری به اندازه تقریبی 40 ± 5 سانتیمتر به صورت اریب برش خورده و تا قبل از تیمار بعدی درون آب مقطر سترون قرار داده شدند. گل های نگه داری شده در آب مقطر توسط غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر) به صورت فروبری تیمار و جهت ارزیابی و نمونه برداری با ۹ تکرار درون آب مقطر سترون قرار داده شدند.

در طی مدت آزمایش، برخی شاخص های بیوشیمیایی همچون محتوی پروتئین کل، پلی آمین های اسپرمین، پوترسین و اسپرمیدین و همچنین برخی آنزیم های شکارکننده رادیکال آزاد و متابولیت های متأثر از فعالیت آن ها همچون مالون دی آلدئید مورد بررسی قرار گرفت. باتوجه به طول عمر مناسب گل های این رقم، بدین منظور پنج روز پس از تیمار اسید سالسیلیک و قبل از پژمرده شدن، نمونه برداری از گلبرگ انجام شد و نمونه های گیاهی با نیتروژن مایع منجمد و تا هنگام آنالیز در فریزر ۸۰- نگه داری شدند.

میزان پروتئین

برای سنجش میزان پروتئین از روش بردفورد (۱۹۷۶) با استفاده از معرف بیوره استفاده گردید. در این روش ۵ میلی لیتر معرف بیوره در لوله آزمایش ریخته و سپس ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره پروتئینی افزوده و سریع به هم زده شد. پس از ۵ دقیقه جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت گردید. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین مشخص گردید.

تهیه محلول عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ها

تهیه محلول عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم ها بر اساس روش حسین و همکاران (۲۰۰۶) انجام گردید. در این روش بافر استخراج که شامل فسفات سدیم یک دهم مول با pH=6 به همراه دو دهم درصد (حجم به حجم) تریتون X-100، ۳۰ گرم بر لیتر پلی ونیل فسفات، یک میلی مول فنیل متیل سولفونیل فلورید و ۵ میلی مول سیستین می باشد، تهیه گردید. سپس نیم گرم گلبرگ در ۱۰ میلی لیتر بافر استخراج ریخته و

شدن پلی آمین ها از حالت ترکیب جفتی نگه داری شدند. سپس رسوبات با dansyl-chloride (3mg mL⁻¹ of acetone) مخلوط و با تولوئن استخراج شدند و با HPLC سنجش شدند که دارای ستون (Spherisorb ODS2, 5 μM C18 particle diameter, 4.66250mm) پلی آمین های استاندارد نیز بکار رفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

داده های بدست آمده در نرم افزار Excel وارد شده و سپس تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵٪ ارزیابی گردیدند و نتایج حاصله توسط نرم افزار Excel به نمودار تبدیل شد.

نتایج و بحث

محتوای پروتئین کل

همانطور که در شکل یک مشاهده می گردد، تیمار گل های رز رقم "بلک میچیک" قبل از برداشت با اسپرمیدین و پس از برداشت با سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی دار محتوی پروتئین کل در گلبرگ های گل های تیمار شده گردید. این افزایش در سالیسیلیک اسید شاهد (صفر) با افزایش غلظت اسپرمیدین به طور معنی دار افزایش یافت. لیکن در سطوح بالاتر سالیسیلیک اسید، افزایش غلظت اسپرمیدین موجب افزایش معنی دار پروتئین کل در همه غلظت های اسپرمیدین محلول پاشی شده نگردید. بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی گرم در لیتر + اسپرمیدین ۱۰۰ میلی گرم در لیتر به میزان ۱۷/۵۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک و کمترین میزان آن در تیمار شاهد به میزان ۶/۳۳ میلی گرم بر گرم وزن خشک مشاهده گردید.

آنزیم پل فنول اکسیداز بر اساس روش کار و میشر (۱۹۷۶) اندازه گیری گردید. در این روش از پیروگالل به عنوان پیش ماده آنزیم استفاده گردید. در این واکنش مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر بافر پتاسیم (۵۰ میلی لیتر با pH 7.0)، ۲۰۰ میکرولیتر پیروگال ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم استخراج شده بود. جذب نمونه ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر و بعد از ۳ دقیقه خوانده و از ضریب خاموشی استفاده شد. برای محاسبه، واحد آنزیمی معادل $672 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ در نظر گرفته شد.

میزان مالون دی آلدئید

پروتئین عصاره گیری شده توسط روش حسین و همکاران (۲۰۰۶)، در محلول ۴۰ درصد وزن به حجمتری کلرواستیک اسید (TCA) رسوب داده شد. سنجش مالون دی آلدئید بر اساس چگالش یک مولکول مالون دی آلدئید با دو مولکول تیوبارباتیوریک اسید^۱ (TBA) در حضور احیاءگر جهت افزایش حساسیت انجام پذیرفت و با جذب UV تولید کروموزن^۲ کرد. ترکیب TBA+MDA بر اساس روش Bird و همکاران (۱۹۸۳) به وسیله HPLC انجام شد. در دستگاه کروماتوگرافی مایع، ستون 5 mm Supelcosil LC-18 reversed phase column (30 × 4.6 mm) مورد استفاده قرار گرفت. برنامه Hewlett+Packard بوده و فاز متحرک از ۱۵٪ متانول در آب دوبار تقطیر که از فیلتر ۰/۵ میکرومتر (Millipore, Bedford, MA) با سرعت جریان ۲ میلی لیتر در دقیقه عبور گردید، انجام پذیرفت. استاندارد MDA+TBA با استفاده از تترائوکسی پروپان^۳ تهیه شد و پیک نمونه و استاندارد در ۵۴۰ نانومتر قرائت گردید.

میزان پلی آمین ها

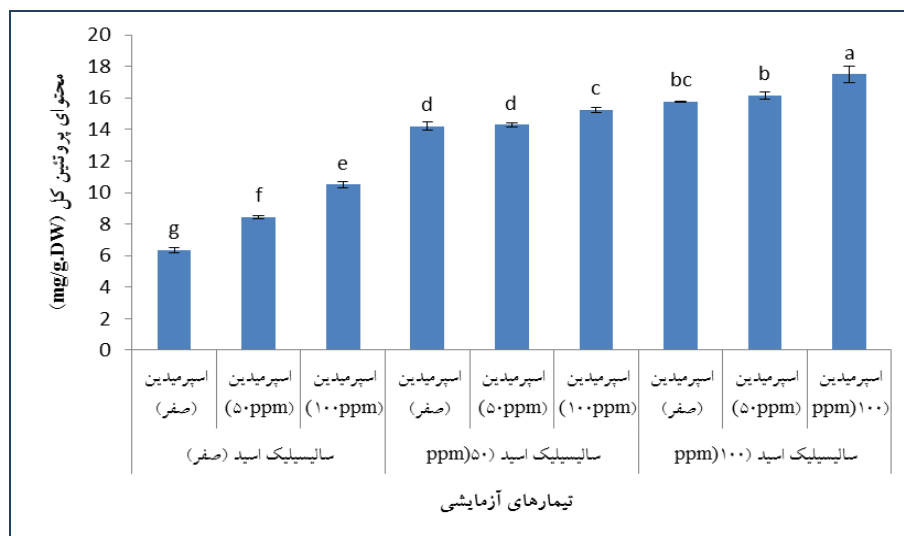
آنالیز پلی آمین ها بر اساس روش Tassoni و همکاران (۲۰۰۰) انجام پذیرفت. در حدود ۰/۱۵ گرم وزن تر از پودر گلبرگ ها با ۱۰ قسمت سرکلریک اسید^۴ (PCA) سرد ۴ درصد حجمی به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفته و به مدت ۳۰ min در دمای ۴۸ °C در سرعت ۲۰/۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. رسوبات ۳ بار شسته شدند و در محلول تازه PCA مخلوط شدند. سپس محلول رویی در 6N HCL در ویال های مقاوم به حرارت در دمای ۱۱۰ °C به مدت ۲۰ ساعت به منظور جدا

1 Thiobarbituric acid

2 Chromogen

3 Tetraethoxypropane

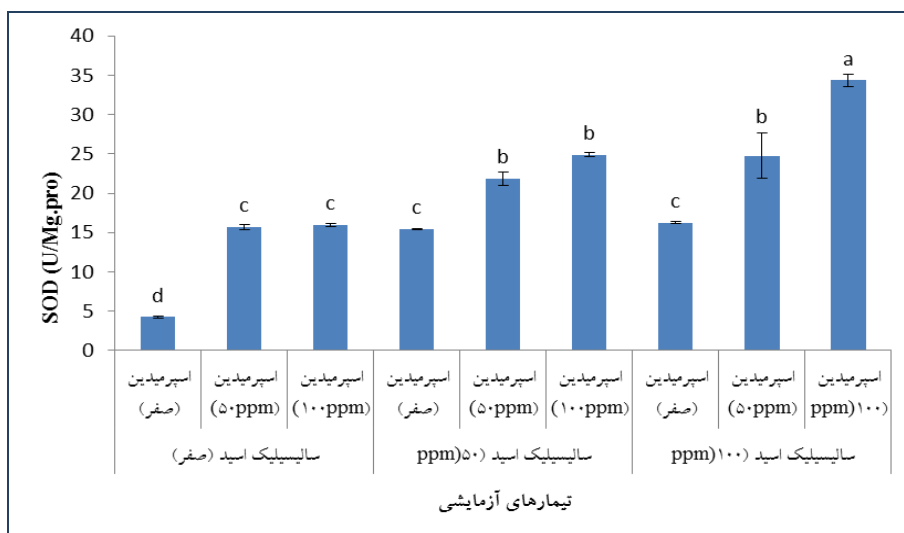
4 Perchloric acid



نمودار ۱- تأثیر تیمارهای سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین بر میزان پروتئین کل در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند

فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز
محلول پاشی گل‌های رز قبل‌از برداشت با اسپرمیدین موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در کلیه تیمارها گردید (نمودار ۲). همچنین کاربرد سالیسیلیک اسید موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در همه تیمارها گردید. از سوی دیگر کاربرد سالیسیلیک اسید به تنهایی اثر فزاینده کاربرد اسپرمیدین را جبران نمود. کاربرد

سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین اثر هم افزایی داشته به نحوی که بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز در تیمار سالیسیلیک اسید ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر + اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به میزان ۳۴/۳۳ واحد در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان در تیمار شاهد به میزان ۴/۲۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین مشاهده گردید.

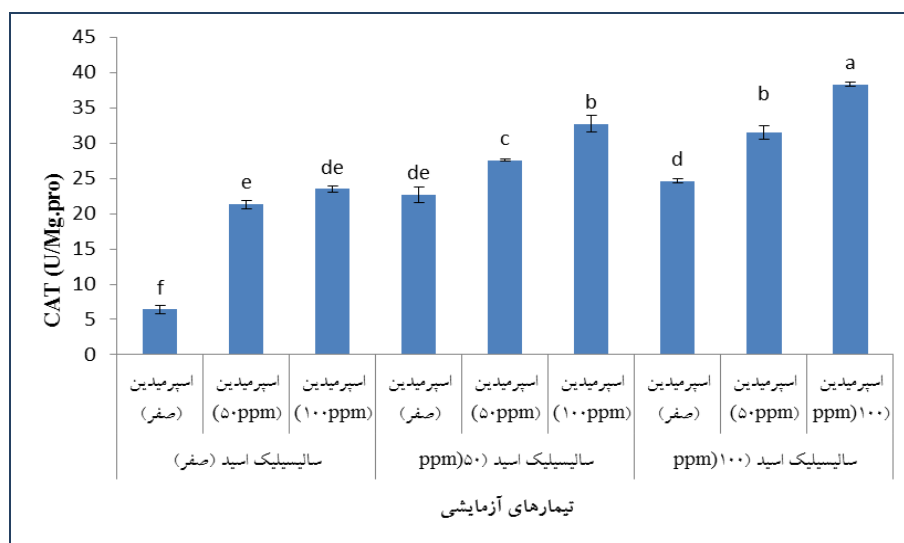


نمودار ۲- تأثیر تیمارهای سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند

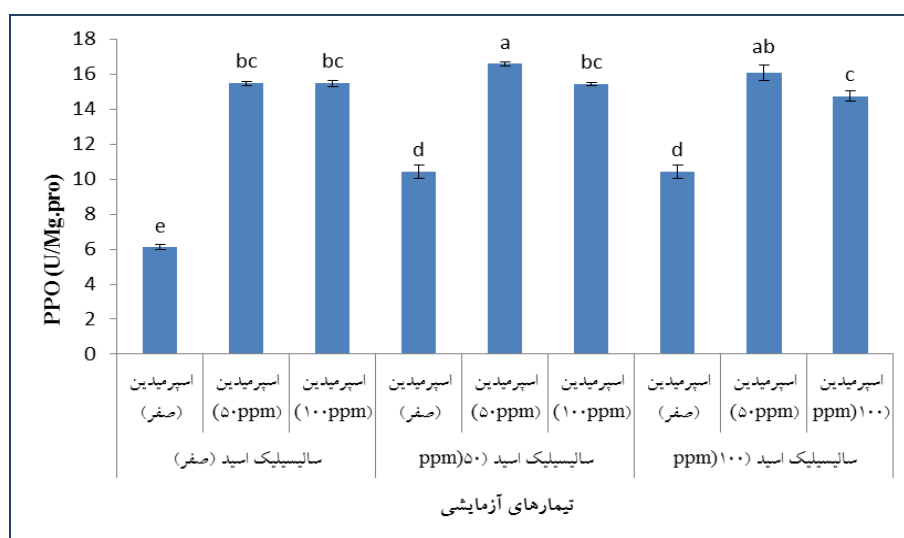
فعالیت آنزیم کاتالاز

کاربرد اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در گل‌های تیمار شده گردید (نمودار ۳). بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در گلبرگ گل‌های تیمار شده با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین با میانگین ۳۸/۲۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان در گل‌های تیمار شاهد با میانگین ۶/۴

واحد در میلی‌گرم پروتئین مشاهده گردید. در هر سطح تیماری سالیسیلیک اسید، با افزایش غلظت اسپرمیدین میزان فعالیت آنزیم نیز افزایش یافت. افزایش در فعالیت آنزیم با افزایش غلظت اسپرمیدین در تیمار سالیسیلیک اسید شاهد (عدم کاربرد سالیسیلیک اسید) معنی‌دار نبود، لیکن در تیمارهایی که گل‌ها با سالیسیلیک اسید نیز تیمار شده بودند، معنی‌دار بود.



نمودار ۳- تأثیر تیمارهای سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند



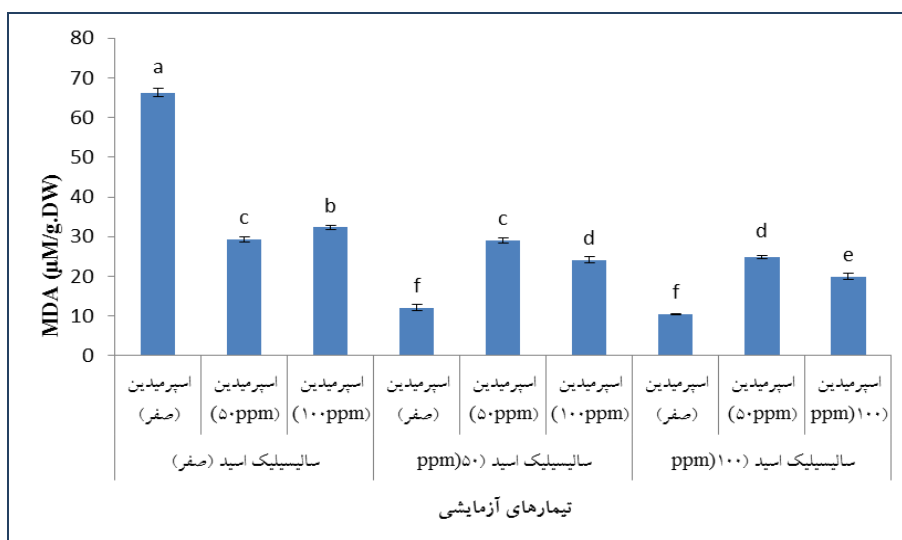
نمودار ۴- تأثیر تیمارهای سالیسیلیک اسید و اسپرمیدین بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

همانطور که در نمودار چهار مشاهده می‌گردد، تیمار اسپرمیدین و سالیسیلیک‌اسید هرکدام به تنهایی موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مجیک" گردیدند. در بین سطوح مختلف اسپرمیدین و همچنین سالیسیلیک‌اسید، غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بهینه‌ترین غلظت و بیشترین میزان فعالیت را به خود اختصاص داد. درکل بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک‌اسید + ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین با میانگین ۱۶/۵۶ واحد در میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت آن در تیمار شاهد با میانگین ۶/۱ واحد در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد.

محتوای مالون‌دی‌آلدئید

کاربرد اسپرمیدین قبل‌از برداشت موجب کاهش معنی‌دار میزان بیومارکر تخریبی مالون‌دی‌آلدئید در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مجیک" گردید (نمودار ۵). از سوی دیگر کاربرد پس‌از برداشت سالیسیلیک‌اسید نیز موجب کاهش مالون‌دی‌آلدئید گردید. میزان کاهش مالون‌دی‌آلدئید با افزایش غلظت سالیسیلیک‌اسید معنی‌دار بود. بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در گلبرگ‌های تیمار شاهد به میزان ۶۶/۳۰ میکرومول بر گرم وزن خشک و کمترین میزان آن در گل‌های تیمار شده با ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک‌اسید (بدون تیمار اسپرمیدین) به ترتیب به میزان‌های ۱۰/۴۰ و ۱۲/۰۶ میکرومول بر گرم وزن خشک مشاهده گردید.

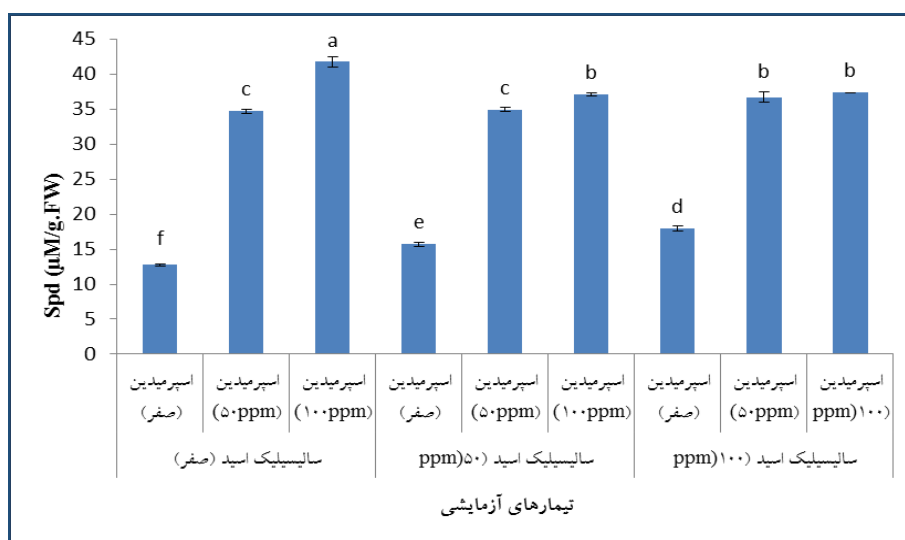


نمودار ۵- تأثیر تیمارهای سالیسیلیک‌اسید و اسپرمیدین بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مجیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

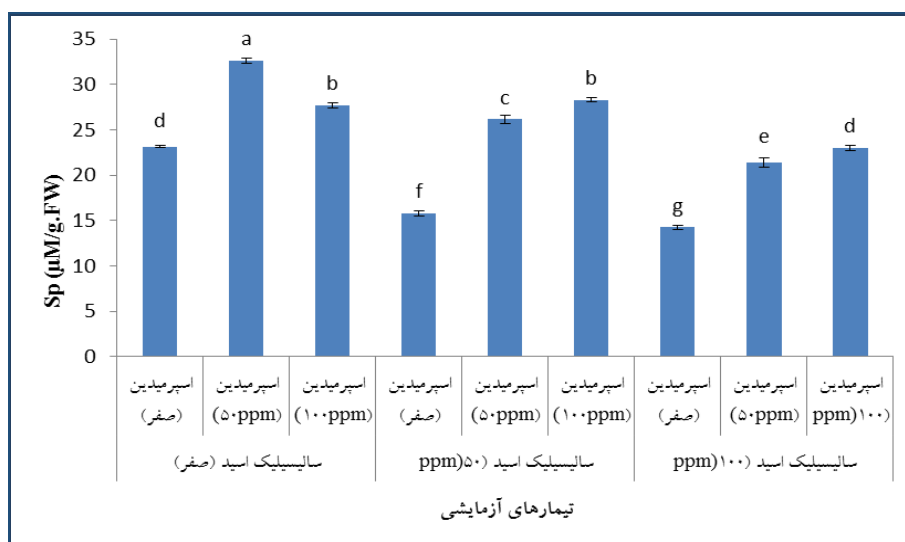
میزان پلی‌آمین اسپرمیدین

کاربرد قبل‌از برداشت اسپرمیدین خارجی موجب افزایش معنی‌دار اسپرمیدین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مجیک" گردید (نمودار ۶). همچنین کاربرد پس‌از برداشت سالیسیلیک‌اسید نیز موجب افزایش میزان اسپرمیدین درونی گردید. لیکن

بیشترین میزان پلی‌آمین اسپرمیدین در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین بدون کاربرد پس‌از برداشت اسید سالیسیلیک به میزان ۴۱/۷۳ میکرومول بر گرم وزن تر و کمترین میزان آن در تیمار شاهد به میزان ۱۲/۷۶ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده گردید.



نمودار ۶- تأثیر تیمارهای قبل از برداشت اسپرمیدین و پس از برداشت سالیسیلیک اسید بر میزان اسپرمیدین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند



نمودار ۷- تأثیر تیمارهای قبل از برداشت اسپرمیدین و پس از برداشت سالیسیلیک اسید بر میزان اسپرمیدین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند

میزان پلی‌آمین اسپرمین

میزان اسپرمین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک" با کاربرد اسپرمیدین خارجی افزایش یافت (نمودار ۷). از سوی دیگر میزان اسپرمین درونی با محلول‌پاشی پس از برداشت کاهش معنی‌داری یافت. به نحوی که بیشترین میزان پلی‌آمین اسپرمین در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین و بدون تیمار با سالیسیلیک اسید به میزان ۳۲/۶۳ میکرومول بر گرم وزن تر و کمترین میزان آن در تیمار سالیسیلیک اسید بدون کاربرد

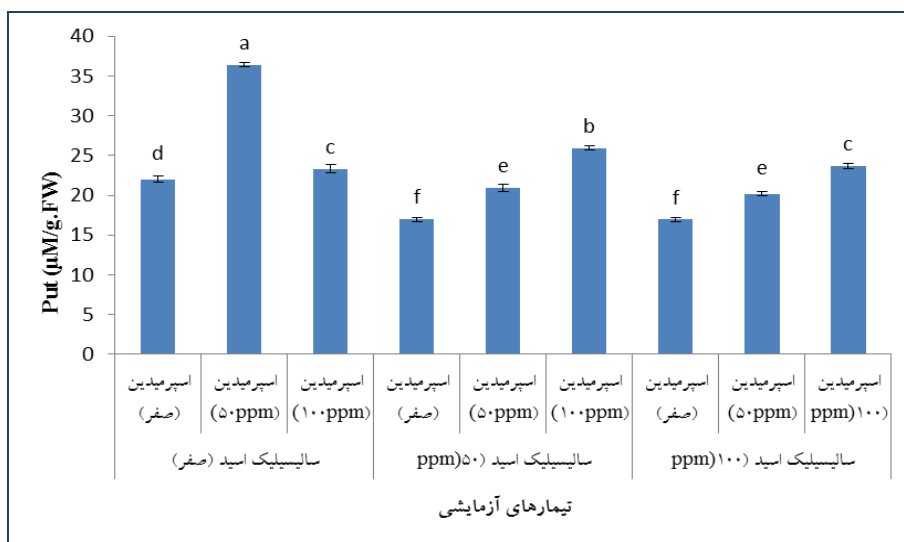
اسپرمیدین به میزان ۱۴/۲۶ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده گردید.

میزان پلی‌آمین پوترسین

کاربرد خارجی اسپرمیدین موجب افزایش پوترسین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مچیک" گردید (نمودار ۸). با افزایش غلظت سالیسیلیک‌اسید محلول‌پاشی شده، میزان پوترسین درونی به صورت معنی‌داری افزایش یافت. میزان پوترسین درونی در تیمار اسپرمیدین بدون محلول‌پاشی

تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک‌اسید بدون محلول‌پاشی قبل‌از برداشت اسپرمیدین به ترتیب به میزان‌های ۱۶/۹۳ و ۱۶/۹۳ میکرومول بر گرم وزن‌تر به دست آمد.

سالیسیلیک‌اسید از الگوی مشخص پیروی نکرد به نحوی که بیشترین میزان پلی‌آمین پوترسین در گل‌های تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین بدون محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید به میزان ۳۶/۳۶ میکرومول بر گرم وزن‌تر و کمترین میزان آن در



نمودار ۸- تأثیر تیمارهای قبل‌از برداشت اسپرمیدین و پس‌از برداشت سالیسیلیک‌اسید بر میزان پوترسین درونی گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌مجیک". ستون‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد آزمون مقایسه میانگین دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند

پروتئین کل در نتیجه تیمار با اسپرمیدین موجب گردید تا کلیه تیمارها اختلاف معنی‌دار و قابل ملاحظه‌ای با شاهد داشته باشند. نتیجه کاربرد خارجی اسپرمیدین با یافته‌های تاسونی و همکاران (2006) بر روی رقم ریکو میخک همخوانی دارد. این پژوهشگران دریافتند که با تیمار نمودن گل‌های میخک با اسپرمیدین میزان محتوای پروتئین‌ها افزایش و تخریب DNA به تاخیر می‌افتد. از آنجائی که پلی‌آمین‌های دورنی به RNA و DNA (Pohjanpelto and Holta, 1996) و پروتئین‌ها (تاسونی و همکاران، ۲۰۰۶) به صورت قوی می‌چسبند و همچنین موجب باز داشتن فعالیت RNase (ایزولا و فرانزونی، ۱۹۸۹) و پروتئاز می‌شوند (والدن و همکاران، ۱۹۹۷). بنابراین به نظر می‌رسد علت حفظ بالاترین سطح پروتئین در تیمار اسپرمیدین با غلظت ۱۰۰ میکرومولار در این آزمایش به دلیل خاصیت چسبندگی پلی‌آمین‌ها به پروتئین‌ها و جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها توسط آنزیم‌ها باشد. در مطالعه‌ای که بر روی گونه‌های رز *R. bourboniana* و *R. damascena* انجام شد نشان داده شد که تأثیر پلی‌آمین‌ها در به تاخیر انداختن پیری برگ‌ها در دو گونه رز فوق ممکن است در نتیجه تقابل با RNA

محتوای پروتئین کل در پژوهش حاضر افزایش قابل توجهی را در نتیجه تیمار خارجی با اسیدسالیسیلیک و اسپرمیدین نسبت به شاهد نشان داد به طوری که با افزایش میزان دو تیمار مذکور تا مرز ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، محتوای پروتئین کل نیز دارای روند افزایشی نسبت به حالت شاهد گردید. این امر موجب گردید این دو تیمار دارای اثر مثبتی بر محتوای پروتئین کل در گل رز رقم "بلک‌مجیک" بودند. در پژوهش فرجادی و همکاران (۱۳۹۲) بر روی گل‌های بریدنی سیکلامن ایرانی، آنها به طور مشابهی دریافتند که تیمار پس‌از برداشت گل‌های سیکلمن با سالیسیلیک‌اسید میزان پروتئین کل را با یک روند افزایشی مشابهی در تمامی تیمارهای اعمال شده از مرحله ۱ تا مرحله ۳ گلدهی افزایش می‌دهد. ازیلماتی (۲۰۰۱) نیز در پژوهش خود بر روی گل‌های گلابول دریافتند که تیمار آنها با 5-SSA موجب افزایش غلظت پروتئین‌های محلول می‌گردد. روند تغییرات مشاهده شده در گل رز "بلک‌مجیک" از الگوی مشاهده شده در سایر گل‌ها پیروی نمود. میزان تغییر پروتئین کل در تیمار شاهد کمتر از ۶ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک بود در حالی که در گل‌های تیمار شده میزان تغییر تا دو برابر میزان اولیه (۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده گردید. افزایش در میزان

یکی از تولیدات سوپراکسیددیسموتاز H_2O_2 می‌باشد، باید سیستم حذف موثری در سلول وجود داشته باشد تا از خسارت سلول‌ها جلوگیری نماید (اسمارت، ۱۹۹۴؛ کالیس، ۱۹۹۵). تحقیقی با استفاده از سالیسیلیک اسید روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پیری گلبرگ‌های گل رز شاخه بریده رقم "یلوآیلند" انجام گردید. مشاهدات گرایلو و قاسمزاده (۲۰۱۱) در آزمایش مذکور نشان داد که آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در گل‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید دارای فعالیت بالاتری در مقایسه با شاهد بود. بنابراین آنها پیشنهاد نمودند این ماده توسط بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانت و کاهش خسارت تنش اکسیداتیو در طی پیری، سبب افزایش عمر گلجایی گل‌های بریدنی رز می‌گردد. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با مرحله نموی گل نیز در ارتباط است. دبایسیس و همکاران (۲۰۰۷) در مطالعه‌ای بر روی گل داوودی رقم "مگی" مشاهده نمودند که میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در گلچه‌های جوان گل داوودی تا زمان بلوغ افزایش و پس از آن با پیر شدن گل و رسیدن به مرحله مرگ کاهش می‌یابد. همچنین اژیلماستی (۲۰۰۱) در خصوص کاربرد 5-SSA در گلابول نتایج مشابهی به دست آورد. آنها دریافتند فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز در خوشه‌های قرار گرفته در محلول 5-SSA افزایش قابل توجهی یافت.

فعالیت آنزیم کاتالاز در این پژوهش تحت تأثیر تیمارهای اسپرمیدین و اسیدسالیسیلیک قرار گرفته و با افزایش غلظت تیمارهای مذکور از ۰ تا ۱۰۰ افزایش قابل توجه و معنی‌داری یافت به نحوی که در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر از هر دو تیمار مذکور دارای بیشترین میزان فعالیت بود. مطالعات پیشین بر روی سیکلامن ایرانی نشان داد که محلول‌پاشی با اسپرمیدین موجب افزایش معنی‌دار سه تا پنج برابری فعالیت کاتالاز در گل‌های تیمار شده می‌گردد (فرجادی و همکاران، ۱۳۹۲). افزایش در میزان فعالیت کاتالاز با افزایش میزان اسپرمیدین محلول‌پاشی شده همخوانی داشت به نحوی که بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در گل‌های تیمار شده با ۲۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. همچنین اژیلماستی (۲۰۰۱) در خصوص کاربرد 5-SSA در گلابول نتایج مشابهی به دست آورد. آنها دریافتند که خوشه‌های قرار گرفته در محلول 5-SSA دارای فعالیت بیشتر آنزیم‌های شکارکننده رادیکالهای آزاد همچون کاتالاز هستند. در مطالعه دیگری علایی و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید قبل و بعد از برداشت گل رز "بلک‌مچیک" پرداختند. آنها دریافتند تیمار سالیسیلیک اسید عمر گلجایی را در گل‌های شاخه بریده رز با

و باز داشتن فعالیت آنزیم‌ها و یا سنتز آنزیم‌ها باشد (سود و نگر، ۲۰۰۴).

تحقیقات نشان داده است که پروتئین‌ها، فسفولیپیدها و رنگیزه‌ها در طی پیری گل، بوسیله رادیکال‌های آزاد تخریب می‌شوند. همچنین مطالعات نشان داده که رادیکال‌های آزاد در شکست غشاء مؤثر می‌باشند (پروچاکوا و همکاران، ۲۰۰۱). حفاظت آنتی‌اکسیدانی در حذف رادیکال‌های آزاد از قبیل ترکیباتی مثل کاروتنوئیدها، اسکوربیک اسید و فلاونوئیدها مؤثر می‌باشد (شونر و کراوس، ۱۹۹۰). سیستم‌های آنزیمی مداخله‌گر کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز می‌باشند (بولر و همکاران، ۱۹۹۳). افزایش در پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، به واسطه سنجش میزان مالون‌دی‌آلدنید تعیین می‌گردد.

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) در این پژوهش افزایش معنی‌دار را در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر سالیسیلیک اسید + ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر اسپرمیدین نسبت به حالت شاهد که کمترین فعالیت این آنزیم را داشت، نشان داد. با توجه به داده‌های نمودار ۲، یک روند افزایشی در میزان فعالیت این آنزیم از تیمار ۰ تا ۱۰۰ اسپرمیدین مشاهده می‌گردد. این روند افزایشی در افزایش غلظت از ۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر اسیدسالیسیلیک نیز قابل رویت است. در نتیجه اینگونه دریافت می‌شود که با افزایش غلظت دو تیمار اسیدسالیسیلیک و اسپرمیدین، میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز دارای افزایش معنی‌داری می‌گردد. به طور مشابه در مطالعه فرجادی و همکاران (۱۳۹۲) نیز محلول‌پاشی سیکلامن با اسپرمیدین موجب افزایش معنی‌دار فعالیت سوپراکسیددیسموتاز در طی مراحل نمو گل گردید. روند افزایشی مذکور با افزایش غلظت محلول‌پاشی افزایش یافت به نحوی که بیشترین میزان فعالیت در تیمار ۲۰ میلی‌مولار اسپرمیدین مشاهده گردید. پژوهش‌های پیشین بیانگر کاهش میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز و افزایش رادیکال سوپر اکسید و افزایش غلظت پراکسید هیدروژن همزمان با پیری و مرگ سلول در گل‌های بریدنی می‌گردد (دبایسیس و همکاران، ۲۰۰۷). این در حالی است که سوپر اکسید دیسموتاز رادیکال‌های آزاد سلول را خنثی و بدین روش از خسارت به سلول‌ها و پیری جلوگیری می‌نماید (کالیس، ۱۹۹۵). محلول‌پاشی در گل‌های بریدنی جهت افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانتی به خصوص سوپراکسیددیسموتاز در گل‌های مختلفی صورت گرفته است. طبق مطالعات انجام شده، آنزیم سوپراکسیددیسموتاز ممکن است بر علیه گروه‌های اکسیژن واکنش‌گر تولیدی عمل حفاظت را انجام دهد. اما به این دلیل که

۲۰۰۷). بنابراین استفاده از اسیدسالیسیلیک و اسپرمیدین از تخریب غشا جلوگیری کرده و به همین دلیل در پژوهش حاضر بیشترین میزان تخریب غشا و یا همان مالون دی‌آلدئید در حالت شاهد یا عدم کاربرد تیمارهای مذکور، به دست آمده است. در تحقیقی بر روی گل رز شاخه بریده گونه *R. baccarat* زمانی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند که سالیسیلیک اسید در ترکیب با گلوتامین موجب بهبود پایداری غشاء و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید می‌گردد. گرایلو و قاسمزاده (۲۰۱۱) نیز کاربرد سالیسیلیک اسید بر روی فعالیتهای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پیری گلبرگ‌های گل رز شاخه بریده رقم "یلوآیلند" را بررسی نمودند. آنها دریافتند که کاربرد سالیسیلیک اسید موجب تاخیر در پیری گل‌های شاخه بریده رز از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش میزان مالون دی‌آلدئید می‌گردند. در سایر گل‌های شاخه بریده نیز نتایج مشابهی در خصوص میزان فعالیت آنزیم‌های شکار کننده رادیکال آزاد و کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در نتیجه تیمار آنها با سالیسیلیک اسید مشاهده گردیده است. به عنوان مثال در گل‌های شاخه بریده میخک کاظمی و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند تیمار سالیسیلیک اسید موجب بهبود پایداری غشاء، کاهش محتوای مالون دی‌آلدئید و در نتیجه افزایش عمر گلجایی می‌گردد. در پژوهش دیگری بر روی گل‌های شاخه بریده میخک نیز کاظمی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند کاربرد سالیسیک اسید نیز ضمن افزایش عمر گلجایی، موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذ پذیری غشاء و محتوای مالون دی‌آلدئید می‌گردند. در گل‌های شاخه بریده داوودی نیز زمانی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند سالیسیلیک اسید به طور مشابه موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، نفوذ پذیری غشاء و محتوای مالون دی‌آلدئید می‌گردند.

پلی‌آمین اسپرمیدین در تیمار اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر دارای بیشترین میزان بود. این پلی‌آمین در تیمار سالیسیلیک اسید ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به حداقل میزان خود رسید. سطح پلی‌آمین پوترسین در تیمار اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به حداکثر میزان خود رسید و در میزان صفر از همین تیمار دارای حداقل مقدار خود بود. سطح پلی‌آمین اسپرمیدین به طور طبیعی دارای حداکثر میزان خود در غلظت اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدون اعمال اسیدسالیسیلیک بود و در هنگامی که میزان اسیدسالیسیلیک به غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر رسیده بود، این پلی‌آمین دارای حداقل مقدار خود بود. بنابراین با این پلی‌آمین دارای روند معکوس با افزایش میزان اسیدسالیسیلیک و روند مستقیم با افزایش غلظت اسپرمیدین داشت. با توجه به تأثیر معنی‌دار

افزایش ظرفیت حذف گونه‌های فعال اکسیژن توسط فعالیت کاتالاز و با تنظیم بهتر تعادل آب بهبود بخشید. سود و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده نمودند که با گذشت عمر و نزدیک شدن به پایان عمر گلجایی میزان فعالیت کاتالاز در گل‌های رز کاهش می‌یابد. از آنجایی که کاتالاز موجب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌گردد و از این طریق سطح پراکسید هیدروژن را در سلول کاهش می‌دهد (اسکندالیوس، ۱۹۹۳)، افزایش فعالیت این آنزیم با کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید موجب حفاظت سلول‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد و انواع تنش‌ها می‌گردد (ویلکنز و همکاران، ۱۹۹۷). این طور به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید بخشی از یک شبکه انتقال سیگنال‌های بی‌نهایت پیچیده می‌باشد و نوع رفتار آن در سیستم‌های مختلف ممکن است متفاوت باشد و می‌تواند به صورت مستقیم فعالیت آنزیم‌های بخصوصی را مثل کاتالاز تحت تأثیر قرار دهد و به صورت مستقیم یا غیر مستقیم ژن‌های مسئول مکانیسم‌های حفاظتی را القاء نماید (هوروات و همکاران، ۲۰۰۷).

آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در غلظت متوسطی از هر دو تیمار اسیدسالیسیلیک و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر دارای بیشترین میزان فعالیت بود و از روند خاصی پیروی نکردند. تحقیقات نشان داده که به طور معمول میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مکانیزم‌های دفاعی گل افزایش می‌یابد. از آنجمله می‌توان به یافته‌های کومار و چاندل (۲۰۱۸) بر روی گل رز اشاره نمود. آنها دریافتند که در گل‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش می‌یابد.

میزان مالون دی‌آلدئید در تیمار شاهد دارای بیشترین میزان بود. در طی پیری گل‌ها و برگ‌های گیاهان، تغییرات مشخص در خصوصیات بیوفیزیکی و بیوشیمیایی غشاهای سلولی رخ می‌دهد و نتیجه تمامی این تغییرات شامل از دست رفتن فسفولیپیدهای غشاء و پایداری غشاءهای سلولی می‌باشد (دباسیس و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش فعالیت سیستم‌های آنتی‌اکسیدانت با هم در طی نمو گل‌ها رخ می‌دهد. از جمله این آنزیم‌ها سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌باشد و فعالیت این دو آنزیم با هم به جلوگیری از تخریب غشاء کمک می‌کند. سطح مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخص تخریب غشاء به حساب می‌آید و همچنین پراکسیداسیون لیپید با اندازه گیری غلظت مالون دی‌آلدئید در طی پیری اندازه گیری می‌گردد. بر اساس مطالعه‌ای که بر روی گلابول انجام پذیرفت سالیسیلیک اسید سبب افزایش پایداری غشاء و افزایش پروتئین محلول و نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌گردد (اژیلمائی و همکاران،

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای قبل از برداشت اسپرمیدین و پس از برداشت سالیسیلیک اسید ضمن افزایش میزان پروتئین گلبرگ‌های گل رز رقم "بلک‌میک"، موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های شکارکننده رادیکال آزاد همچون سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز گردید. از سوی دیگر افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تنش اکسیداتیو موجب کاهش تخریب لیپیدها و کاهش میزان بیومارکر تخریبی مالون‌دی‌آلدئید گردید. همچنین میزان پلی‌آمین‌های درونی اسپرمیدین، اسپرمین و پوترسین نیز از کاربرد خارجی اسپرمیدین و سالیسیلیک اسید متأثر گردیدند. باتوجه به شاخص‌های مورد مطالعه، مناسبترین تیمار جهت بهبود فعالیت آنزیم‌های دخیل در تنش اکسیداتیو پس از برداشت و کاهش تخریب لیپیدهای غشاء محلول پاشی گیاهان رز قبل از برداشت با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین و همچنین محلول پاشی گل‌های برداشت شده با ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر سالیسیلیک اسید می‌باشد.

کاربرد اسپرمیدین بر روی محتوای پلی‌آمین درونی اسپرمیدین، به نظر می‌رسد کاربرد خارجی اسپرمیدین سبب القاء تولید پلی‌آمین‌ها می‌گردد. کاربرد پلی‌آمین‌ها بر تولید پلی‌آمین‌های درونی و همچنین بازدارندگی تولید اتیلن تأثیر مثبت دارد (سود و نگر، ۲۰۰۸). پلی‌آمین‌ها در گیاهان نقش‌های متعددی در رشد، پیری، پاسخ به تنش‌های محیطی و حذف رادیکال‌های آزاد مانند گونه‌های فعال اکسیژن دارند (مارتین-تانگوی، ۲۰۰۱). بنابراین تغییر در سطوح پلی‌آمین‌های درونی در اثر کاربرد اسپرمیدین می‌تواند سبب تغییر الگوی پیری در گل رز گردد. در مطالعه فرجادی و همکاران (۱۳۹۲) تیمار سیکلامن ایرانی با غلظت‌های مختلف اسیدسالیسیلیک موجب افزایش سطح پلی‌آمین‌های درونی در مرحله نموی گل ۴ و ۵ در مقایسه با حالت شاهد گردید. آنها همچنین دریافتند تیمار با اسپرمیدین خارجی نیز موجب افزایش سطح اسپرمیدین درونی در هر مرحله نسبت به تیمار شاهد شده و با افزایش غلظت اسپرمیدین سطح اسپرمیدین درونی نیز افزایش پیدا می‌کند.

منابع

- رشیدی، آ. ۱۳۸۷. راهنمای کامل پرورش و نگهداری گیاه رز. انتشارات رشیدی، تهران، ایران. ۱۸۴ ص.
- فرجادی شکیب، م، نادری، ر، ا و مشهدی اکبر بوجار، م. ۱۳۹۲. تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سیکلامن ایرانی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. جلد ۵، شماره ۱۳: ۹۶-۱۱۳.
- Acquaah, G. 2004. Understanding Biotechnology: An integrated and Cyber Based Approach, Prentice Hall, NJ, USA, pp:46-62.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol. 105: 121-126.
- Alaey, M., M. Babalar, R. Naderi and M. Kafi. 2011. Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase-life of rose cut flowers. Postharvest Biol. Technol. 61(1): 91-94.
- Anderson, N.O. 2006. Flower breeding and genetics: issues, challenges and opportunities for the 21st century. Springer Science and Business Media. Pp:12-34.
- Arora, A., R.K. Sairam and G.C. Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. Curr. Sci. 82:1227-1238.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. Physiol. Plant. 55:235-241.
- Bowler, C., M. Van Montague and D. Inje. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43:83-116.
- Bradford, M.N. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-257.
- Buchanan-Wollaston, V., S. Earl, E. Harrison, E. Mathas, S. Navabpour, T. Page and D. Pink. 2003. The molecular analysis of leaf senescence- a genomics approach. Plant Biotechnol. 1:3-22.
- Callis, J. 1995. Regulation of protein degradation. Plant Cell. 7: 845-857.
- Crozier, A., J. Burns, A.A. Aziz, A.J. Stewart, H.S. Rabiasz, G.I. Jenkins and M.E. Lean. 2000. Antioxidant flavonols from fruits, vegetables and beverages: measurements and bioavailability. Biological Res. 33(2): 79-88.
- Debasis, C., J. Chatterjee and S.K. Datta. 2007. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in chrysanthemum florets. Plant Growth Regul. 53:107-115.

- Ezhilmathi, K. 2001. Physiological and biochemical studies of senescence in *Gladiolus*. M.Sc. Thesis. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India. pp: 67-93.
- Ezhilmathi, K., V.P. Singh, A. Arora and R.K. Sairam. 2007. Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of *Gladiolus* cut flowers. *Plant Growth Regul.* 51(2): 99.
- Gerailoo, S., and M. Ghasemnezhad. 2011. Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in 'Yellow Island' cut rose flowers. *J. Fruit and Ornamental Plant Res.* 19(1): 183-193.
- Halim, V.A., A. Vess, D. Scheel and S. Rosahl. 2006. The role of salicylic acid and jasmonic acid in pathogen defence. *Plant Biology.* 8(3): 307-313.
- Hatamzadeh, A., M. Hatami and M. Ghasemnezhad. 2012. Efficiency of salicylic acid delay petal senescence and extended quality of cut spikes of *Gladiolus grandiflora* cv wings sensation. *African J. Agri. Res.* 7(4): 540-545.
- Hayat, Q., S. Hayat, M. Irfan and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environ. Experim. Bot.* 68(1): 14-25.
- Horvath, E., G. Szalai and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Plant Growth Regul.* 26:290-300.
- Hossain, Z., A.K. Mandal, S.K. Datta and A.K. Biswas. 2006. Decline in ascorbate peroxidase activity—A prerequisite factor for tepal senescence in *gladiolus*. *J. Plant physiol.* 163(2): 186-194.
- Isola, M.C. and L. Franzoni. 1989. Inhibition of net synthesis of ribonuclease by polyamines in potato tuber slices. *Plant Sci.* 63: 39-45.
- Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice senescence. *Plant Physiol.* 57:315-319.
- Kazemi, M., E. Hadavi and J. Hekmati. 2012. Effect of salicylic acid, Malic acid, citric acid and sucrose on antioxidant activity, membrane stability and ACC-Oxidase activity in relation to vase life of carnation cut flowers. *J. Plant Sci.* 7(2): 78-84.
- Kazemi, M., E. Hadavi and J. Hekmati. 2011. Role of salicylic acid in decreases of membrane senescence in cut carnation flowers. *American J. Plant Physiol.* 6(2): 106-112.
- Kumar, V. and S. Chandel. 2018. Studies on biochemical mechanism of resistance for the management of rose powdery mildew. *J. Pharmacognosy Phytochem.* 7(1): 1234-1241.
- Lee, T.M., H.S. Lur and C. Chu. 1997. Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings.: II. Modulation of free polyamine levels. *Plant Sci.* 126(1): 1-10.
- Leverentz, M.K., C.W. Rogers, J.H. Stead, A.D.C. Usawadee, H. Silkowski, B. Thomas, H. Weichert, I. Feussner and G. Griffiths. 2002. Characterization of a novel lipoxygenase-independent senescence mechanism in *Alstromeria peruviana* floral tissue. *Plant Physiol.* 130:273-283.
- Liu, J.H., K. Nada, C. Honda, H. Kitashiba, X.P. Wen, X.M. Pang and T. Moriguchi. 2006. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of arginine decarboxylase pathway in stress response. *J. Exp. Bot.* 57:2589-2599.
- Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regul.* 34:135-148.
- Mayak, S., R.L. Legge and J.E. Thompson. 1983. Superoxide radical production by microsomal membranes from senescing carnation flowers: an effect on membrane fluidity. *Phytochem.* 22(6): 1375-1380.
- Mortazavi, N., R. Naderi, A. Khalighi, M. Babalar and H. Allizadeh. 2007. The effect of cytokinin and calcium on cut flower quality in rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Illona. *J. Food Agri. Environ.* 5(3/4): 311-317.
- Nahed, G., A. Abdel Aziz, M. Mazher and M.M. Farahat. 2010. Response of vegetative growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. plant to foliar application of different amino acids at Nubaria. *J. American Sci.* 6(3): 295-301.
- Panavas, T., and B. Rubinstein. 1998. Oxidative events during programmed cell death of daylily (*Hemerocallis hybrida*) petals. *Plant Sci.* 133: 125-138.
- Pohjanpelto, P. and E. Holttä. 1996. Phosphorylation of Okazaki-like DNA fragments in mammalian cells and role of polyamines in the processing of this DNA. *EMBO J.* 15: 1193-1200.
- Prochazkova, D., R.K. Sairam, G.C. Srivastava and D.V. Singh. 2001. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in maize leaves. *Plant Sci.* 161:765-771.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101: 7-12.
- Schoner, S. and G.H. Krause. 1990. Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light. *Planta.* 180:383-389.

- Smart, C. 1994. Gene expression during leaf senescence. *New Phytol.* 126: 419-448.
- Sood, S. and P.K. Nagar. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Reg.* 39:155-160.
- Sood, S. and P.K. Nagar. 2008. Post-harvest alterations in polyamines and ethylene in two diverse rose species. *Acta Physiol. Plant.* 30:243-248.
- Sood, S., D. Vyas and P.K. Nagar. 2006. Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species. *Scientia Hort.* 108:390-396.
- Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2004. Changes in endogenous polyamines during flower development in two diverse species of rose. *Plant Growth Regul.* 44: 117-123.
- Sticher, L., B. Mauch-Mani and A.J. Metraux. 1997. Systemic acquired resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 35(1): 235-270.
- Sulekha, M., Y. Satish, Y., Sunita and R.K. Nema. 2009. Antioxidants: a review. *J. Chem. Pharm. Res.* 1(1): 102-104.
- Tassoni, A., M.V. Buuren, M. Franceschetti, S. Fornale and N. Bagni. 2000. Polyamine content and metabolism in *Arabidopsis thaliana* and effect of spermidine on plant development. *Plant Physiol. Biochem.* 38:383-393.
- Tassoni, A., P. Accettulli and N. Bagni. 2006. Exogenous spermidine delays senescence of *Dianthus caryophyllus* flowers. *Plant Biosystems.* 140:107-114.
- Thompson, J.E, R.L. Legge and R.L. Barber. 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol.* 105:317-334.
- Walden, R., A. Cordiero and A.F. Tiburcio. 1997. Polyamines: Small molecules triggering pathways in plant growth and development. *Plant Physiol.* 113: 1009–1013.
- Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schrauder, C. Langebartels, M. Van Montagu, D. Inze and W. Van Camp. 1997. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16: 4806–4816.
- Zamani, S., M. Kazemi and M. Aran. 2011. Postharvest life of cut rose flowers as affected by salicylic acid and glutamin. *World App. Sci. J.* 12(9): 1621-1624.

Effect of spermidine and application on internal polyamine content, free radical enzyme activity and lipid oxidative destruction in cut 'Black Magic' rose flowers

R. Nematolah-Sani¹, S.H. Nemati¹, M. Shour¹, M. Farjadi-Shakib²

Received: 2019-1-20 Accepted: 2019-2-27

Abstract

Rose is one of the most important ornamental plants which nowadays holds the first top position in production and export of cut flowers due to its beautiful and colorful flowers. The quantity and quality of rose cultivars depend on environmental and nutrition. Pre and post-harvest application of plant growth regulators is one of the common methods for quality improvement of this flower. Therefore, in the present study, cut 'Black Magic' rose flowers were treated at pre harvest with spermidine (0, 50 and 100 mgL⁻¹) and with salicylic acid (0, 50 and 100 mgL⁻¹) during postharvest. Consequently, postharvest quality from various point of view such as internal polyamine content, activity of free radical enzymes (such as superoxide dismutase, catalase and polyphenol oxidase) and destructive lipid oxidation (malondialdehyde content) were studied. Results indicate that foliar application with spermidine and with salicylic acid increases petal soluble protein content, improves the activity of superoxide dismutase, catalase and poly phenol oxidase in the petals of cut 'Black Magic' rose flowers. Activity increment of enzymes that are involved in oxidative stress, decreased lipid peroxidation and consequently, they decreased malondialdehyde content as destructive biomarker. Internal polyamines such as spermine, spermidine and putrescine were also significantly affected by spermidine and salicylic acid application.

Keywords: catalase, destructive biomarker, malondialdehyde, polyphenol oxidase, putrescine, spermine, superoxide dismutase

1- Department of Horticulture, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Department of Horticulture, College of Agriculture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran