بررسی اثر محلول‌پاشی پیش از برداشت فنیل‌آلانین و سلنیوم بر گلدهی و استحکام ساقه آلسترومریا (*Alestromeria* spp.)

محمدسعید ذوالفقاری [1] و الهام دانائی [2*]

۱- کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران،

mszolfaghari77@gmail.com

۲- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران،*

dr.edanaee@yahoo.com

نویسنده مسئول: الهام دانائی

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۷

Evaluation the effect of spray phenyl alanine and selenium in pre-harvest on Flowering and Stem Strength Alstroemeria(Alestromeria spp.)

Mohammad Saeed Zolfaghari[1] and Elham Danaee[2*]

1- MS.c, Department of Horticulture, Agriculture college, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, mszolfaghari77@gmail.com

2*- Assistant Professor, Department of Horticulture, Agriculture college, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, dr.edanaee@yahoo.com

*Corresponding author: Elham Danaee

Received: October 2018 Accepted: November 2018

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی اثر محلول‌پاشی پیش از برداشت فنیل‌آلانین و سلنیوم بر گلدهی و استحکام ساقه آلسترومریا (*Alestromeria* spp.)، به صورت طرح آماری کاملاً تصادفی با هفت تیمار، سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گلدان، در مجموع ۶۳ گلدان اجرا شد. تیمارها شامل فنیل‌آلانین با سه سطح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانوسلنیوم هر کدام با سه سطح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و گلدان بدون محلول‌پاشی بعنوان شاهد، بود. محلول‌پاشی گلدان‌ها سه مرتبه به فاصله یک هفته در پایه‌های یکسان انجام شد، به طوری که آخرین محلول‌پاشی حدود یک هفته پیش از مرحله مناسب برداشت گل‌ها جهت عرضه به بازار (باز شدن اندک جوانه‌های گل و نمایانی رنگ) بود. صفات فیزیکوشیمیایی و آنزیمی گیاه مانند وزن‌تر گل، وزن خشک گل، شاخص ثبات غشاء سلول، شکوفایی، ارتفاع گیاه، آنتوسیانین گلبرگ، کلروفیل کل برگ، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که تیمار Selenium 2.5ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند وزن‌تر گل، وزن خشک گل و شاخص ثبات غشاء سلول داشت. تیمار Phenylalanine 100ppm نیز بیشترین اثر را در بهبود شکوفایی، ارتفاع گیاه، میزان پروتئین، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته و تیمار Phenylalanine 50ppm بیشترین تأثیر را بهبود آنتوسیانین گلبرگ و کلروفیل کل برگ داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نیز در تیمار Selenium 10ppm بدست آمد. همبستگی بین صفات مورد ارزیابی نشان داد که شاخص ثبات غشاء سلول، آنتوسیانین گلبرگ و کلروفیل کل برگ با شکوفایی و ارتفاع گیاه و همچنین میزان پروتئین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز با آنتوسیانین گلبرگ و کلروفیل کل برگ، مثبت و معنی‌دار در سطح ۵٪ و سایر صفات، مثبت و معنی‌دار در سطح ۱٪، داشت.

کلمات کلیدی: آلسترومریا، پراکسیداز، سلنیوم، سوپراکسید دیسموتاز، فنیل‌آلانین، فنیل‌آلانین آمونیالیاز

Abstract

To study the Evaluation the effect of spray phenyl alanine and selenium in pre-harvest on Flowering and Stem Strength Alstroemeria(*Alestromeria* spp.), factorial experiment in a completely randomized design with 7 treatments, 3 replication and each treatment with 3 pots, a total 63 pots were conducted. Treatments includ Phenyl alanine with 3 level, 25, 50 and 100 ppm, selenium with 3 level, 2.5, 5 and 10 ppm and No spraying pot were used as controls. Spraying pots was done three times a week at the same base, so that the last Spraying about a week befor proper stage of harvesting the flowers for delivery to the market(a slight discovery of flower buds and vivid colors). Physicochemical and enzymatic traits of the plant traits such as fresh weight of flower, dry weight of flower, cell membrane stability index, number of flower, plant length, anthocyanine of petals, total chlorophyll of leaves, protein, superoxide dismutase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase enzymes activity and flower life on plant were evaluated. The results showed that Selenium 2.5ppm treatment had the most effect on the improvement of traits such as flower fresh weight, flower dry weight, cell membrane stability index. Phenylalanine 100ppm treatment also had the most effect on the improvement of traits such as number of flower, plant length, protein, phenylalanine ammonia-lyase enzymes activity and flower life on plant and Phenylalanine 50ppm treatment had the most effect on the improvement of anthocyanine of petals, total chlorophyll of leaves. The highest activity of superoxide dismutase and peroxidase enzymes was obtained in selenium 10ppm treatment. The correlation between traits showed cell membrane stability index, anthocyanine of petals and total chlorophyll of leaves with number of flower and plant length and also protein, superoxide dismutase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase enzymes activity with anthocyanine of petals and total chlorophyll of leaves, positive and significant at 5% level and other traits, positive and significant at 1% level.

Keywords: *Alestromeria*, Peroxidase, Phenyl alanine, Phenylalanine ammonia-lyase, Selenium, Superoxid dismutase.

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی

سال ۱۳۹۷، دوره ۱۳، شماره ۲، صص ۳۷-۲۷

مقدمه و کلیات

آلسترومریا با نام علمی *Alstromeria* spp. گیاهی از شاخه اسپرماتوفیت‌ها، زیرشاخه نهاندانگان، رده تک لپه‌ای‌ها، راسته سوسنی‌ها و تیره آلسترومریاسه (Alstroemeriaceae) است. آلسترومریا یک گیاه علفی چندساله و یکی از مهم‌ترین محصولات گلکاری دنیا است که صفاتی مانند تنوع بسیار زیاد در رنگ و ارقام مختلف، زیبایی و طول عمر طولانی، راه را برای موفقیت گل آلسترومریا در تجارت جهانی هموار کرده است. گل آلسترمریا یکی از ده گل مورد توجه در بازارهای تجاری است، کوتاهی عمر گل پس از برداشت همچنین زرد شدن زود هنگام برگ‌های و ریزی گلبرگ‌های آن و عدم استحکام کافی ساقه از مشکلات این گل به‌شمار می‌روند. کیفیت و کمیت گل آلسترومریا تابع شرایط محیطی از جمله عوامل اکولوژیک مانند دما، رطوبت، خاک و فعالیت آنزیم‌های مؤثر بر پیری گل بوده که در مجموع مطالعه این عوامل می‌تواند در بهبود کیفیت و کمیت گل گلدانی و بریدنی آلسترومریا مؤثر باشد (قاسمی‌قهساره و کافی، ۱۳۸٦). اسیدآمینه از یک کربن نامتقارن به نام کربن آلفا (α) تشکیل شده است که با چهار گروه مختلف کربوکسیل (COOH)، اتم هیدروژن (H)، گروه آمینه بازی (NH_2) و یک زنجیره غیرجانبی (-R) پیوند برقرار می‌کند. زنجیره غیرجانبی یا گروه R می‌تواند یک زنجیره کربنی یا یک حلقه کربنی باشد. عوامل دیگری مانند الکل، آمین، کربوسیل و گوگرد می‌توانند در ساختمان گروه R شرکت کنند. اساساً گیاهان برخلاف سایر موجودات می‌توانند توسط عناصر اولیه (کربن، اکسیژن، هیدروژن و نیتروژن) و فرآیند فتوسنتز، اسیدآمینه بسازند. اسیدهای آمینه واحدهای تشکیل دهنده پروتئین می‌باشند و پروتئین‌های گیاهی از ۲۰ اسیدآمینه و دو آمید ساخته شده‌اند. پروتئین‌ها اساس زیست گیاهی‌اند و در تبادل کلیه مواد نقش حساسی برعهده دارند. پروتئین‌های گیاهی نقش سازندگی و کاتالیزوری اجرا می‌کنند و در عین حال از مواد ذخیره‌ای سلول گیاهی هستند. فنیل‌آلانین ماده اصلی تشکیل دهنده هورمون فنیل استیک اسید (PAA) است. شکل L متداول‌ترین نوع آن بوده که در ساخت پروتئین دخالت دارد. آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز نیز که یکـــی از مهمترین آنزیم‌های حد واسط بین متابولیســم اولیــه و ثانویه در گیاهان است از L–فنیل‌آلانین در مسیر فنیل پروپانوئید ساخته می‌شود که این مسیر اصلی بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در سلول اســت (محمدی، ۱۳۸۷). سلنیوم یک عنصر شبه‌فلز است که در گروه ششم جدول تناوبی قراردارد و به‌دلیل نزدیکی با گوگرد خواصی مشابه با این عنصر دارد. نقش سلنیوم در گیاهان به‌عنوان یک عنصر ضروری هنوز مورد بحث بوده و در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی است. از علائم ناشی از سمیت سلنیوم در گیاهان می‌توان به کاهش رشد، کلروزه شدن، پژمرده و خشک شدن برگ‌ها، کاهش سنتز پروتئین و مرگ پیش از بلوغ گیاه اشاره نمود. با این وجود غلظت‌های پایین سلنیوم اثرات سودمندی بر متابولیسم سلول‌های گیاهی دارد و با توجه به شواهد، کاربرد خاکی یا محلول‌پاشی سلنیوم می‌تواند موجب رشد، عملکرد و کیفیت محصولات گردد (Xu *et al.*, 2003). تاجیک و دانائی در سال ۱۳۹۵، به منظور بررسی کاربرد محلول‌پاشی پیش از برداشت گلوتامین، آرژنین و فنیل‌آلانین بر رنگریزه‌های گیاهی، فعالیت آنزیمی و ماندگاری گل ژربرا رقم sorbet روی بوته، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷

تیمار و در ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۳ گلدان گل ژربرا رقم sorbet در گلخانه‌ای تجاری انجام دادند. تیمارها شامل گلوتامین، آرژنین و فنیل‌آلانین هرکدام با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار شاهد (آب مقطر) بود. صفاتی مانند وزن‌تر، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، خمیدگی گردن گل، شاخص ثبات غشاء سلول، آنتوسیانین گلبرگ، کلروفیل کل برگ، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و سوپراکسید دیسموتاز و ماندگاری گل روی بوته در روز پایانی اندازه‌گیری و از نظر آماری ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که تیمار گلوتامین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر خصوصیات کیفی و ماندگاری گل روی بوته داشت و کمترین میزان خمیدگی گردن گل با این تیمار مشاهده شد. تیمار گلوتامین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر با ۲۰ روز، بیشترین و شاهد با ١٤ روز، کمترین ماندگاری گل روی بوته را داشتند. حاج‌سیدهادی و همکاران در سال ۱۳۹۰، به بررسی تأثیر محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه و کاربرد مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر صفات مورفولوژیک و عملکرد گل بابونه پرداختند. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی با هشت تیمار و در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی اسیدآمینه در سه مرحله پیش از گلدهی، مرحله گلدهی کامل و مرحله پیش از گلدهی+ مرحله گلدهی کامل و کاربرد ورمی‌کمپوست در پنج سطح صفر، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ تن در هکتار بود. نتایج نشان داد ورمی‌کمپوست و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه تأثیر معنی‌داری بر صفات مورد بررسی داشته‌اند. تعداد روز تا غنچه‌دهی و گل‌دهی تحت‌تأثیر سطوح مختلف محلول‌پاشی قرارنگرفتند، ولی کاربرد ورمی‌کمپوست موجب ایجاد تفاوت معنی‌داری در این صفات گردید و با افزایش مقدار ورمی‌کمپوست تعداد روز تا غنچه‌دهی و گل‌دهی کاهش یافت. بیشترین ارتفاع، عملکرد گل تازه و گل خشک در هکتار با کاربرد ۲۰ تن ورمی‌کمپوست در هکتار به دست آمد. تیمار محلول‌پاشی در مرحله پیش از گلدهی+ مرحله گلدهی کامل نیز موجب بیشترین عملکرد گل تازه و خشک گردید. نتایج اثرات متقابل نشان‌دهنده آن بود که کاربرد توأم ۱۵ تن ورمی‌کمپوست و دوبار محلول‌پاشی بهترین نتیجه را از نظر عملکرد گل تازه و خشک داشته است. عفیفی‌پور و خوشخوی در سال ١٣٩٤، در پژوهشی، اثر ۰/۷۵ میلی‌گرم بر لیتر آمیخته‌ای از اسیدهای آمینه به صورت محلول‌پاشی، کود آبیاری و محلول‌پاشی+ کودآبیاری همراه با شاهد در سه مرحله مختلف رشد گل مریم مرحله ۸ تا ۱۲ برگی، مرحله ظهور ساقه گل‌دهنده و مرحله کامل شدن ساقه گل‌دهنده بررسی نمودند. این آزمایش در قالب فاکتوریل و با چهار تکرار در هر تیمار انجام شد. نتایج پژوهش نشان داد که در بین تیمارهای اعمال شده دو تیمار کود-آبیاری و محلول‌پاشی+کودآبیاری بیشترین تأثیر را در ویژگی‌های اندازه‌گیری شده داشتند. طول ساقه گل‌دهنده، طول گل آذین، قطر ساقه گل‌دهنده، وزن‌تر و خشک ساقه گل‌دهنده در تیمار محلول‌پاشی+کودآبیاری به طور معنی‌داری بیشتر از دیگر تیمارها و شاهد بودند. در بین زمان‌های مختلف اعمال تیمار نیز بیشترین پاسخ گیاه در زمان ۸ تا ۱۲ برگی بود. مردانی و انتشاری در سال ۱۳۹۵، بیان نمودند که سلنیوم یک عنصر غیرضروری برای رشد و نمو طبیعی گیاهان بوده و در غلظت‌های بسیار کم برای گیاه مفید ولی در غلظت‌های بالا می‌تواند اثرات

سمی داشته باشد. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم شامل صفر، ۰/۲، ۵ میکرومولار و شوری در سطوح صفر، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌مولار بر محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در گیاه بادرنجبویه در شرایط کشت هیدروپونیک مورد مطالعه قرارگرفت. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار سلنیوم نسبت به شاهد افزایش و همچنین در تیمار توام سلنیوم و شوری افزایش فعالیت کاتالاز مشاهده شد که نسبت به شرایط شوری بدون سلنیوم معنی‌دار نبود. با افزایش غلظت نمک در محیط، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش یافت و حضور سلنیوم در محیط منجر به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط تنش شوری شد. همچنین با افزایش غلظت سلنیوم در محیط کشت گیاه در شرایط تنش شوری، محتوای پروتئین در بخش هوایی افزایش یافته که منجر به تعدیل آثار نامطلوب شوری گردید. نتایج نشان داد که تنش شوری موجب افزایش گونه‌های فعال اکسیژن شده و سلنیوم با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو موجب کاهش اثرات نامطلوب گونه‌های فعال اکسیژن روی گیاه می‌شود. حبیبی و همکاران در سال ۱۳۹۵، در آزمایشی، تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف سلنات سدیم (۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) در محیط کشت هیدروپونیک و کاربرد برگی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر این عنصر در شرایط مزرعه روی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) مورد مطالعه قراردادند. کاربرد سلنیوم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب کاهش وزن خشک شاخساره و ریشه در شرایط کشت هیدروپونیک شد. مهار رشد در این غلظت از سلنیوم نشان داد که افزایش غلظت کلروفیل a و b و فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم نتوانستند مانع از افزایش مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون غشاها در این گیاه شوند. ولی کاربرد غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر سلنیوم در کشت هیدروپونیک نه تنها موجب اُفت رشد بادرنجبویه نشد، بلکه منجر به افزایش ذخیره سلنیوم در شاخساره شد. در مقایسه، نتایج آزمایش مزرعه نشان داد که همان غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر که در کاربرد ریشه‌ای در کشت هیدروپونیک موجب مهار رشد گردید، در کاربرد برگی توانست مقدار سلنیوم دانه و شاخساره و بیومس شاخساره را افزایش دهد. همچنین کاربرد برگی سلنیوم توانست موجب افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و افزایش غلظت فنل‌ها به‌عنوان ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان، در برگ‌ها شود. نتایج این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی برگی سلنیوم در مقایسه با تغذیه ریشه‌ای آن از طریق کشت هیدروپونیک، رشد اندام هوایی، مقدار سلنیوم و فنل را در گیاه دارویی بادرنجبویه بیشتر بهبود می‌بخشد. علی‌پور و دانائی در سال ۱۳۹۷، پژوهشی جهت بررسی اثر محلول‌پاشی پتاسیم، سلنیوم و کلسیم بر خصوصیات کمی، کیفی، رشد و گلدهی جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta*)، به صورت طرح آماری کاملاً تصادفی با هفت تیمار، سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گلدان، در مجموع ٦٣ گلدان اجرا نمودند. تیمارها شامل نانوکلات پتاسیم و کلسیم هر کدام با دو سطح ۳۰ و ٦٠ میلی‌گرم در لیتر، نانوکلات سلنیوم با دو سطح ۳ و ٦ میلی‌گرم در لیتر و گلدان بدون محلول‌پاشی بعنوان شاهد، بود. محلول‌پاشی گلدان‌ها سه مرتبه به فاصله ۱۰ روز از مرحله چهار تا شش برگی گیاه و در پایه‌های یکسان انجام شد.

نمونه‌برداری و ارزیابی صفات حدود ۱۰ روز پس از آخرین محلول‌پاشی انجام گردید. صفات کمی، کیفی و آنزیمی گیاه مانند وزن‌تر گل، وزن خشک گل، تعداد گل، ارتفاع گیاه، شاخص ثبات غشاء سلول، کارتنوئید گلبرگ، کلروفیل کل برگ، پروتئین، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، میزان پتاسیم، سلنیوم، کلسیم برگ و ماندگاری گل روی بوته ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که تیمار Nano Ch K 60ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند وزن‌تر گل، وزن خشک گل، شاخص ثبات غشاء سلول و میزان پتاسیم برگ داشت. تیمار Nano Ch Se 6ppm بیشترین اثر را در میزان پروتئین، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و میزان سلنیوم برگ نشان داد. تیمار Nano Ch Ca 60ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند تعداد گل، ارتفاع گیاه، کارتنوئید گلبرگ، کلروفیل کل برگ، میزان کلسیم برگ و ماندگاری گل روی بوته داشت.

فرآیند پژوهش

پژوهش در گلخانه‌ای تجاری در شهرستان کرج در بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ انجام شد. دمای گلخانه حدود ۱۶ تا ۱۸ درجه‌سانتیگراد، رطوبت‌نسبی حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد و شدت نور حدود ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ لوکس بر متر مربع به مدت ۱۲ تا ۱۳ ساعت بود. گل‌های آلسترومریا رقم Inca Toto به تعداد مورد نیاز در گلخانه انتخاب گردید. پژوهش بصورت طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار، سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گیاه، در مجموع ۶۳ گلدان اجرا شد. تیمارها شامل فنیل‌آلانین با سه سطح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نانوسلنیوم هر کدام با سه سطح ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و گلدان بدون محلول‌پاشی بعنوان شاهد، بود. محلول‌پاشی گلدان‌ها سه مرتبه به فاصله یک هفته در پایه‌های یکسان انجام شد، به طوری که آخرین محلول‌پاشی حدود یک هفته پیش از مرحله مناسب برداشت گل‌ها جهت عرضه به بازار (بازشدن اندک جوانه‌های گل و نمایانی رنگ) بود. جهت جلوگیری از جذب خاکی، سطح بستر پیش از محلول‌پاشی پوشانده شد تا فقط جذب از طریق برگ‌ها و ساقه علفی انجام شود. صفات مورد ارزیابی شامل:

وزن‌تر گل= در این آزمایش وزن‌تر گل در روز معین توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ توزین گردید (Clickle and Reid, 2002).

وزن خشک گل= در این آزمایش وزن خشک گل در روز معین پس از ۷۲ ساعت قرارگیری در دمای ۶۰ درجه‌سانتیگراد، توسط ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ توزین گردید (Clickle and Reid, 2002).

شاخص ثبات غشاء سلول (MSI)= جهت محاسبه شاخص ثبات غشاء سلول، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر را در فالکون ریخته و سپس ۰/۵ گرم گلبرگ خرد شده به آن اضافه گردید. نمونه‌ها در بن ماری ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه قرارداده شدند و پس از خروج نمونه‌ها از بن ماری میزان EC توسط دستگاه EC متر قرائت گردید که میزان EC_1 بدست آمد. سپس فالکون‌ها را به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتیگراد با فشار ۱/۲ اتمسفر قرارداده و پس از سرد شدن، میزان EC_2 قرائت شد. در نهایت برای محاسبه شاخص ثبات غشاء سلول، اعداد حاصل در فرمول زیر جایگزین گردید (Singh *et al.*, 2008).

$$MSI = \{1 - (EC_1 / EC_2)\} \times 100$$

شکوفایی= تعداد گل‌های شکوفا، غنچه، شمارش و مطابق با فرمول، درصد شکوفایی بیان گردید (مستوفی و همکاران، ۱۳۸٤).

۱۰۰×(تعداد کل گلچه‌ها/تعداد گلچه‌های شکوفا)= شکوفایی

ارتفاع گیاه= به کمک خط‌کش از سطح خاک تا بلندترین قسمت گیاه، اندازه‌گیری گردید.

آنتوسیانین گلبرگ= برای اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین گلبرگ‌ها از ۰/۵ گرم گلبرگ که به کمک محلول استخراج متانول و اسیدکلریدریک ۱ نرمال سائیده شد، استفاده گردید. سپس نمونه‌های حاصل در لوله آزمایش به مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتیگراد قرار گرفت و پس از طی مدت زمان لازم، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ ۵۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. در نهایت عصاره جدا شده با استفاده از اسپکتروفتومتردر دو طول موج ۵۳۰ و ٦۵۷ نانومتر قرائت گردید و آنتوسیانین موجود در گلبرگ‌ها توسط فرمول زیر محاسبه شد (Meng and Wang, 2004).

آنتوسیانین گلبرگ = $A_{530} - 1.4 \quad A_{657}$

A: میزان جذب نور

کلروفیل کل برگ (Ch T)= جهت سنجش کلروفیل برگ از روش Arnon در سال ۱۹٤۹ انجام گردید. ابتدا قطعات ۰/۳ گرمی از برگ را جدا و در حلال استون ۸۰ درصد در داخل هاون چینی سائیده و ترکیب حاصل به مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه‌سانتیگراد قرارداده شد. سپس جذب در طول موج‌های ٦٤۵ و ٦٦۳ قرائت گردید و محاسبه محتوای کلروفیل از فرمول زیر انجام و در نهایت بصورت میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر برگ بیان شد.

Ch T = 20/2(A645 nm) + 8/02 (A645 nm) A:

میزان جذب نور V: حجم استون نهایی

پروتئین= اندازه‌گیری پروتئین با استفاده از روش Bradford (۱۹۷٦) انجام شد در این روش برای تعیین مقادیر پروتئین از منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های معین پروتئین استفاده گردید. برای استخراج عصاره پروتئینی ۰/۰۵ گرم از ماده خشک گیاهی وزن و cc ٤ از بافر تریس اسیدکلریدریک به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها روی شیکر به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس گردیدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و فاز بالایی جدا گردید که حاوی پروتئین کل است. برای اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد به cc ۰/۱ عصاره پروتئینی از هر نمونه، cc ۵ محلول برادفورد اضافه شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس و سپس جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت گردید.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز= ابتدا تهیه عصاره آنزیم بر اساس روش Ezhilmathi و همکاران در سال ۲۰۰۷ از یک گرم گلبرگ انجام گرفت و سپس فعالیت آنزیم بر اساس بازداشتن احیاء فتوشیمیایی Nitro-blue tetrazolium (NBT) به روش Bayer and Fridovich در سال ۱۹۸۷ اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس واحد آنزیم بر گرم وزن‌تر گلبرگ بیان گردید. یک واحد آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به مقداری از آنزیم مورد نیاز برای ۵۰٪ بازدارندگی احیاء NBT در طول موج ۵٦۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر گفته می‌شود.

آنزیم پراکسیداز= تهیه عصاره آنزیم بر اساس روش Ezhilmathi و همکاران در سال ۲۰۰۷ از یک گرم گلبرگ انجام شد. بافر استخراج شامل بافر فسفات ۰/۱M (۱۰۰mM) با pH7.5 و 0.5mM Na_2-EDTA

و اسیدآسکوربیک mM ۵۰ است. برای سنجش فعالیت آنزیم نیز مخلوط واکنش شامل ml دو بافر استات (pH ٤/٨، ۰/۲ M) + ۲۰۰ µl H_2O_2 ٪۳ + µl ۲۰۰ بنزیدین (۰/۰٤ M محلول در متانول ۵۰٪) بود. سپس μl ۵۰ عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش افزوده شده و تغییرات جذب نمونه‌ها در ۵۳۰nm در دقیقه توسط اسپکتروفتومتر بررسی شد و در نهایت فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب نمونه‌ها در ۵۳۰nm در دقیقه به ازای هر گرم وزن‌تر گزارش گردید (Putter, 1974).

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز= میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز بر اساس روش Redman در سال ۱۹۹۹ با یک گرم از نمونه‌های ساقه که قبلاً درون ازت مایع نگهداری شده بود، اندازه‌گیری شد. از نمونه‌ای که واکنش آن توسط اسیدکلریدریک قبل از قراردادن در انکوباتور متوقف گردیده بود، به عنوان شاهد استفاده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در طول موج ۲۹۰ نانومتر در ازای یک گرم وزن‌تر گلبرگ اندازه‌گیری و بیان گردید.

ماندگاری گل روی بوته= ماندگاری گل روی بوته از زمان باز شدن گل‌ها و نمایان شدن رنگ تا پژمردگی یا رنگ‌پریدگی و ریزش گل‌ها و همچنین زردی برگ‌ها محاسبه گردید و به صورت روز بیان شد (Ezhilmathi, 2007).

اطلاعات مورد نظر پس از اندازه‌گیری وارد نرم‌افزار Excel شد. سپس آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ و ۵٪ ارزیابی گردید. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج و بحث

وزن‌تر گل= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به وزن‌تر گل در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر وزن‌تر گل در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار NanoSelenium 2.5ppm با ۳۱/٤۹ گرم، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۲۳/۵۳ گرم، کمترین وزن‌تر گل را داشتند.

وزن خشک گل= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به وزن خشک گل در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر وزن خشک گل در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار NanoSelenium 2.5ppm با ۵/۰۸ گرم، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۳/۵٦ گرم، کمترین وزن خشک گل را داشتند.

شاخص ثبات غشاء سلول= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به شاخص ثبات غشاء سلول در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر شاخص ثبات غشاء سلول در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار NanoSelenium 2.5ppm با ۸۳/۸٦ درصد، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ٦۵/۱٦ درصد، کمترین شاخص ثبات غشاء سلول را داشتند.

شکوفایی= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به شکوفایی در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر شکوفایی در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 100ppm با ۷۷/۲٤ درصد، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ٦۸/۵۷ درصد، کمترین شکوفایی گل‌ها را داشتند.

ارتفاع گیاه= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به ارتفاع گیاه در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر ارتفاع گیاه در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 100ppm با ۹۳/۲۶ سانتیمتر، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۸۷/۲۵ سانتیمتر، کمترین ارتفاع گیاه را داشتند.

آنتوسیانین گلبرگ= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به آنتوسیانین گلبرگ در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 50ppm با ٤/۰۸۲٤ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۲/۳٦۸۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر، کمترین محتوای آنتوسیانین گلبرگ را داشتند.

کلروفیل کل برگ= تجزیه واریانس (جدول ۱) مربوط به کلروفیل کل برگ در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 50ppm با ۱٦/۳۱۹۰ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۱۲/۹۸۷۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر، کمترین محتوای کلروفیل کل برگ را داشتند.

پروتئین= تجزیه واریانس (ادامه جدول ۱) مربوط به میزان پروتئین در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۵٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 100ppm با ۲/٦۰ میکروگرم در میلی‌گرم وزن‌تر، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۰/۹۵ میکروگرم در میلی‌گرم وزن‌تر، کمترین میزان پروتئین را داشتند.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز= تجزیه واریانس (ادامه جدول ۱) مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار NanoSelenium 10ppm با ۱۰۲/۹۰ واحد آنزیم در گرم وزن‌تر، بیشترین و تیمار Phenylalanine 25ppm با ۷۸/۳۷ واحد آنزیم در گرم وزن‌تر، کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشتند.

آنزیم پراکسیداز= تجزیه واریانس (ادامه جدول ۱) مربوط به فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار NanoSelenium 10ppm با ۵/۰٤ واحد آنزیم در گرم وزن‌تر، بیشترین و تیمار Phenylalanine 25ppm با ۳/۵۸ واحد آنزیم در گرم وزن‌تر، کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز را داشتند.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز= تجزیه واریانس (ادامه جدول ۱) مربوط به فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 100ppm با ۷/۹٦ میکروگرم سینامات تولیدی برگرم وزن‌تر در دقیقه، بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۵/۷۳ میکروگرم سینامات تولیدی برگرم وزن‌تر در دقیقه، کمترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را داشتند.

ماندگاری گل روی بوته= تجزیه واریانس مربوط به ماندگاری گل روی بوته (ادامه جدول ۱) در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. تیمار Phenylalanine 100ppm با ۱۳/۸ روز،

بیشترین و تیمار NanoSelenium 10ppm با ۸/۷ (نمودار ۱).
روز، کمترین ماندگاری گل روی بوته را داشتند

جدول ۱: تجزیه واریانس

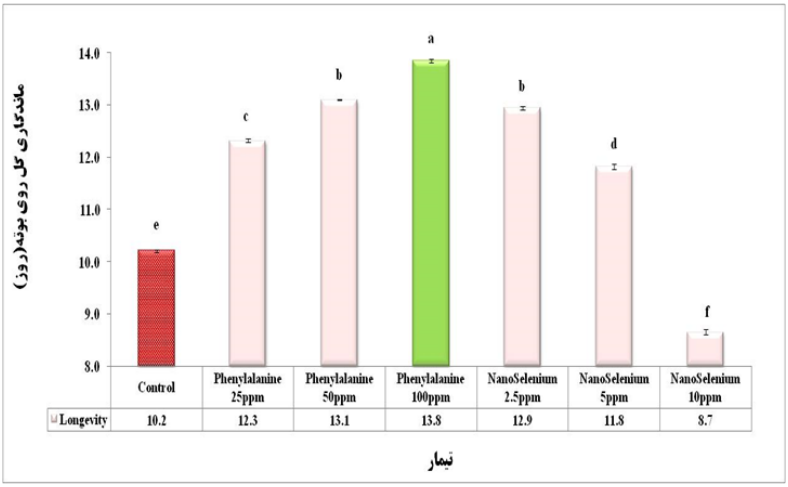
منبع تغییرات	میانگین مربعات							
	درجه آزادی	وزن‌تر گل	وزن خشک گل	شاخص ثبات غشاء سلول	شکوفایی	ارتفاع گیاه	آنتوسیانین گلبرگ	کلروفیل کل برگ
تیمار	٦	٨٤/٨٦٢**	٢/٢٩٦**	٣٧٦/٥٣٣**	٧١/٥٢١*	٣٥/٤٧١*	٣/٣٥٤**	١٨/٢٦٥**
اشتباه آزمایشی	---	٠/١٢٦	٠/٠١٩	٠/٢٩٨	٠/٣٦٢	٠/٣٨٤	٠/٠٠٩	٠/٠٦٧
ضریب تغییرات (٪)	---	١١/٨٩	١١/٧٢	١١/٠٣	١٢/٣٧	١١/٥٢	٩/١٧	١١/٩٣

****، *، ns به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار**

ادامه جدول ۱: تجزیه واریانس

منبع تغییرات	میانگین مربعات					
	درجه آزادی	پروتئین	سوپراکسید دیسموتاز	پراکسیداز	فنیل‌آلانین آمونیالیاز	ماندگاری گل روی بوته
تیمار	٦	٣/٥١٤*	١٠٨/٣٢٣**	٢/١٢٣**	٥/٨٩٥**	١٧/٤٧٥**
اشتباه آزمایشی	---	٠/٠٠٧	٠/٤٦٣	٠/٠١٤	٠/٠٢٤	٠/٠٥٣
ضریب تغییرات (٪)	---	١١/٢٨	١٢/٨٨	١٠/٠٩	١٠/٦١	١١/٧٢

****، *، ns به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار**



نمودار ۱: تغییرات ماندگاری گل آلسترومریا (*Alestromeria* spp.) روی بوته

Fig 1: The variations of flower longevity in *Alestromeria* spp.

نتایج حاصل از پژوهش با یافته‌های تاجیک و دانائی (۱۳۹۵)، پیرامون بررسی کاربرد محلول‌پاشی پیش از برداشت گلوتامین، آرژنین و فنیل‌آلانین بر رنگریزه‌های گیاهی، فعالیت آنزیمی و ماندگاری گل ژربرا رقم sorbet روی بوته، حاج‌سیدهادی و همکاران (۱۳۹۰)، پیرامون بررسی تأثیر محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه و کاربرد مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر صفات مورفولوژیک و عملکرد گل بابونه، عفیفی‌پور و خوشخوی (۱۳۹٤)، پیرامون تأثیر آمیخته‌ای از اسیدهای آمینه به صورت محلول‌پاشی، کود آبیاری و محلول‌پاشی + کودآبیاری همراه با شاهد در سه مرحله مختلف رشد گل مریم مرحله ۸ تا ۱۲ برگی، مرحله ظهور ساقه گل‌دهنده و مرحله کامل شدن ساقه گل‌دهنده، حبیبی و همکاران (۱۳۹۵)، پیرامون بررسی تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف سلنات سدیم در محیط کشت هیدروپونیک و

کاربرد برگی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر این عنصر در شرایط مزرعه روی برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)، علی‌پور و دانائی (۱۳۹۷)، پیرامون اثر محلول‌پاشی پتاسیم، سلنیوم و کلسیم بر خصوصیات کمی، کیفی، رشد و گلدهی جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta*)، ناظریه و همکاران (۱۳۹۶)، پیرامون بررسی اثر نیتریک اکسید و سلنیوم بر خصوصیات تکوینی، رشدی و فیزیولوژیک نعناع فلفلی و مردانی و انتشاری (۱۳۹۵)، پیرامون اثر غلظت‌های مختلف سلنیوم و شوری بر محتوی پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در گیاه بادرنجبویه، مطابقت داشت. ریزمولکلوها از جمله اسیدهای آمینه از واحدهای تشکیل‌دهنده درشت مولکولی بنام پروتئین می‌باشند که از متابولیت‌های اولیه در گیاهان هستند. متابولیت‌های اولیه مانند آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب، اسیدهای آلی و غیره در رشد و نمو، تنفس و فتوسنتز، سنتز هورمون‌ها و پروتئین دخالت دارند. آمینواسیدها به وسیله باندهای پپتیدی به یکدیگر پیوسته و پروتئین‌ها را از عمده‌ترین ترکیبات ساختاری در همه سلول‌های گیاهی هستند، بوجود می‌آورند. از نقش‌های متعدد اسیدهای آمینه می‌توان به سنتز پروتئین‌ها، پیش‌ساز هورمون‌های گیاهی و مواد رشدی، تحریک رشد سلولی، عمل به عنوان بافر، عمل به عنوان یک منبع کربن و انرژی و محافظت گیاهان از سمیت آمونیوم با تشکیل آمید، را نام برد. همچنین اسیدهای آمینه در سنتز سایر ترکیبات آلی از جمله پروتئین‌ها، آمین‌ها، پورین‌ها، پیریمیدین‌ها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و ترپنوئیدها نیز دخالت دارند. اسیدهای آمینه در رشد و تمایز سلول‌های گیاهی نقش داشته و با ظرفیت فتوسنتزی برگ‌ها و محتوای کلروفیل رابطه نزدیکی دارند. بنابراین به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم با افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه تأثیر بر فتوسنتز موجب بهبود رشد و نمو، وزن‌تر و خشک گیاه، شاخص ثبات غشاء سلول، شکوفایی و ارتفاع گیاه، افزایش رنگریزه‌های گیاهی، سنتز پروتئین و فعالیت آنزیم‌ها و در مجموع رشد و نمو و عملکرد گیاهان می‌گردند (محمدی، ۱۳۸۷). سلنیوم نیز با غلظت‌های پایین اثرات سودمندی بر متابولیسم سلول‌های گیاهی دارد و می‌تواند رشد، عملکرد و کیفیت گیاهان را افزایش دهد (Xu *et al.*, 2003).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد:

– تیمار NanoSelenium 2.5ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند وزن‌تر گل، وزن خشک گل و شاخص ثبات غشاء سلول داشت.

– تیمار Phenylalanine 100ppm نیز بیشترین اثر را در بهبود شکوفایی، ارتفاع گیاه، میزان پروتئین، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته داشت.

– تیمار Phenylalanine 50ppm بیشترین تأثیر را در افزایش محتوای آنتوسیانین گلبرگ و کلروفیل کل برگ نشان داد.

– بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نیز در تیمار NanoSelenium 10ppm بدست آمد.

– بیشترین ماندگاری گل روی بوته با ۱۳/۸ روز مربوط به تیمار Phenylalanine 100ppm و کمترین ماندگاری گل روی بوته با ۸/۷ روز مربوط به تیمار NanoSelenium 10ppm بود.

منابع

۱) تاجیک، ن، و. ا، دانائی. ۱۳۹۵. اثر کاربرد پیش از برداشت گلوتامین، آرژنین و فنیل‌آلانین بر رنگریزه‌های گیاهی، فعالیت آنزیمی و ماندگاری گل ژربرا رقم sorbet روی بوته، فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی، دوره ۸، شماره ۳ و ٤، صص ۲۱-۱۳.

۲) حاج‌سیدهادی، م. ر. درزی، م. ت. ریاضی، غ. ح و. ز، قندهاری‌علویجه. ۱۳۸۹. تأثیر محلول‌پاشی با اسیدهای آمینه و کاربرد مقادیر مختلف ورمی کمپوست بر صفات مورفولوژیک و عملکرد گل بابونه، مجله یافته‌های نوین کشاورزی، سال پنجم، شماره ۲.

۳) حبیبی، ق. قربانزاده، پ و. م، عابدینی. ۱۳۹۵. تأثیر سلنیوم بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. دوره ۳۲. شماره ٤.

٤) علی‌پور، ن و. ا، دانائی. ۱۳۹۷. اثر محلول‌پاشی پتاسیم، سلنیوم و کلسیم بر خصوصیات کمی، کیفی، رشد و گلدهی جعفری آفریقایی (*Tagetes erecta*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.

۵) عفیفی‌پور، ز و. م، خوشخوی. ۱۳۹٤. بررسی دو روش تغذیه‌ای کود-آبیاری و محلول‌پاشی برگی با آمیخته اسیدهای آمینه در سه مرحله رشد گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.). نهمین کنگره علوم باغبانی ایران. دانشگاه شهید چمران اهواز.

٦) کافی، م و. م، قاسمی‌قهساره. ۱۳۸٦. گلکاری علمی و عملی. انتشارات آییژ تهران.

۷) مردانی، م و. ش، انتشاری. ۱۳۹۵. اثر متقابل سلنیوم و شوری بر محتوای پروتیین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو در گیاه بادرنجبویه. نوزدهمین کنگره ملی و هفتمین کنگره بین‌المللی زیست‌شناسی ایران.

۸) مستوفی، ی و. ف، نجفی. ۱۳۸٤. روش‌های آزمایشگاهی تجزیه‌ای در علوم باغبانی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳٦ صفحه.

۹) معزاردلان، م و. غ ر، ثواقبی فیروزآبادی. ۱۳۷٦. تغذیه درختان میوه. انتشارات موسسه نشر جهاد. صفحه ۲۵۹.

۱۰) محمدی، ر. ۱۳۸۷. اصول بیوشیمی لنینجر. انتشارات آییژ.

۱۱) ناظریه، ح و. ز، اوراقی‌اردبیلی. ۱۳۹٦. بررسی اثر بکارگیری نیتریک اکسید و نانو سلنیوم اکسید بر رشد، تکوین و فیزیولوژی گیاه نعناع فلفلی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.

12) Arnon, D .I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in vulgaris. Plant Physiol., 24(1):1–15.

13) Bayer, W. F. and I, Fridovich.1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in condition. Annals Biochem. 161: 559–566.

14) Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-254.

15) Celikel, F. G. and M. S, Reid. 2002. Postharvest handling of stock(*Matthiola incana*). Hort Sci. 37(1): 144-147.

16) Ezhilmathi, K. singh, V. Arora, P. and R. K, Sairam. 2007. Effect of 5-sulfocalicylic acid on antioxidant in relation to vase life of gladiolus cut flower. Plant Growth Regul. 51: 99-108.

17) Meng, X and Wang, X. 2004. Relation of flower development and anthocyanin accumulation in Gerbera hybride. Hort. Sci. Biotech. 79: 131-137.

18) Putter, J. 1974. In: Methods in enzymatic analysis, 2(Ed Bergmeyer, A) Academic press, New York, P.685.

19) Redman, R.S., Freeman, S., Elifton, D.R., Morre, D.J., Brown, G and R.J. Rodringuez., 1999. Biochemical analysis of plant protection afforded by a non pathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. Plant Physiol., 119: 795-804.

20) Singh, A. Kumar, J and P, Kumar. 2008. Effect of plant growth regulators and sucrose on post harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of *Gladiolus*. J. Plant Growth Regul., 55: 221-229.

21) Xu, J. Yang, F. Chen, L. Hu, Y and Q, Hu. 2003. Effect of selenium on increasing the antioxidant activity of tea leaves harvested during the early spring tea producing season. Journal of agricultural and food chemistry, 51(4), 1081-1084.