اثر محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین و تیامین در پیش از برداشت بر برخی صفات کمی، کیفی و رشد و گلدهی لیلیوم (*Lilium* spp.) رقم Freya

سیدسعید میرحسینی [۱] و الهام دانائی [۲*]

۱- کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، Saeed.hosseini128@gmail.com

۲*- استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، dr.edanaee@yahoo.com

*نویسنده مسئول: الهام دانائی

تاریخ دریافت: آبان ۱۳۹۷ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۷

Effect of Thiamine and Benzyladeneine spray in pre harvest on qualitative and quantitative traits, growth and flowering in *Lilium* cv. Freya

Seyed Saeed Mir Hossini[1] and Elham Danaee[2*]

1- MS.c, Department of Horticulture Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, Saeed.hosseini128@gmail.com

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

*Corresponding author: Elham Danaee

Received: November 2018 Accepted: December 2019

چکیده

لیلیوم با نام علمی .Lilium spp، گیاهی از خانواده Liliaceae است که اهمیت ویژه‌ای در ایران و بازارهای جهانی دارد. پژوهش حاضر جهت بررسی اثر محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین و تیامین در پیش از برداشت بر برخی صفات کمی، کیفی، رشد و گلدهی لیلیوم (*Lilium* spp.)، به صورت طرح آماری کاملاً تصادفی با هفت تیمار، سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گیاه، در مجموع ۶۳ گیاه اجرا گردید. تیمارها شامل بنزیل‌آدنین و تیامین هر کدام با سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ 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 (زمان رنگ گرفتن گلچه‌ها) بود. صفات کمی، کیفی و آنزیمی گیاه مانند وزن تر گل، وزن خشک گل، شاخص ثبات غشاء سلول، کارتنوئید گلبرگ، کلروفیل کل برگ، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تیمار بنزیل‌آدنین 150ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند وزن تر گل و وزن خشک گل، شاخص ثبات غشاء سلول، کلروفیل کل برگ، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته، تیمار بنزیل‌آدنین 100ppm بیشترین تأثیر را در بهبود کارتنوئید گلبرگ داشت. تیمار بنزیل‌آدنین 150ppm با ۱۳/۲ روز، بیشترین و تیمار شاهد با ۸/۳ روز، کمترین ماندگاری گل روی بوته را داشتند. همچنین بین صفات مورد ارزیابی همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱٪ مشاهده شد، برای مثال وزن تر گل با شاخص ثبات غشاء سلول، همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح ۱٪ داشت.

کلمات کلیدی: بنزیل‌آدنین، تیامین، سوپراکسید دیسموتاز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز، لیلیوم.

Abstract

To study the Evaluation Effect of Thiamine and Benzyladeneine spray in pre harvest on qualitative and quantitative traits, growth and flowering in *Lilium* spp., factorial experiment in a completely randomized design with 7 treatments, 3 replication and each treatment with 3 plants, a total 63 plants were conducted. Treatments includ Thiamine and Benzyladeneine each other with 3 levels, 25, 50 and 100 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(the time to get flowers colors). Morphological, physiological and enzymatic traits of the plant traits such as fresh weight of flower, dry weight of flower, cell membrane stability index, number of flower, cartenoied of petals, total chlorophyll of leaves, protein, superoxide dismutase and phenylalanine ammonia-lyase enzymes activity and flower life on plant were evaluated. The results showed that BA 150ppm treatment had the most effect on the improvement of traits such as flower fresh and dry weight, cell membrane stability index, total chlorophyll of leaves, protein, superoxide dismutase and phenylalanine ammonia-lyase enzymes activity and flower life on plant, BA 100ppm treatment also had the most effect on the improvement of traits such cartenoied of petals. BA 150ppm treatment with 13.2 days was highest and control treatment with 8.3 days had the least flower life on plant. Also the correlation between traits showed had a positive and significant at5 and 1% level. For example flower fresh weight with cell membrane stability index had a positive and significant at 1%.

Keywords: Benzyladeneine, *Lilium*, Phenylalanine ammonia-lyase, Thiamine, Superoxid dismutase.

مقدمه و کلیات

لیلیوم با نام علمی .Lilium spp، گیاهی از خانواده Liliaceae و بومی ژاپن است. سوسن گیاهی است دائمی با سوخ‌های فلسفی بدون پوشش که رنگ فلس‌ها در گونه‌های مختلف متفاوت است. ساقه گلدهنده طویلی در بهار تشکیل می‌دهد که از برگ-های کوتاه نیزه‌ای شکل پوشیده است (خلیقی، ۱۳۷۴). رشد و گلدهی سوسن تحت اثر مستقیم دمایی است که سوخ‌ها بعد از کاشت تحت آن شرایط واقع می‌شوند. همچنین دمای ماه‌های آخر کشت و کار سوخ در مزرعه اثر بخصوصی در رشد و نمو و گلدهی این محصول دارد. از عامل طول روز برای تنظیم رشد، نمو و گلدهی استفاده‌ای نمی‌شود، ولی در صورتی که محصول بیش از حد کوتاه باشد، می‌توان از طریق نور مصنوعی رشد و نمو آن را افزایش داد و بالعکس. خاک باید دارای تهویه کافی بوده، pH آن کمی اسیدی تا خنثی باشد، زیرا شرایط خیلی قلیایی موجب تولید گیاهان باریک و کوتاه می‌شود. مقادیر کم قلیایی بودن خاک نیز موجب پریدگی رنگ برگ‌ها، کاهش تعداد گل، سوختگی نوک بیشتر برگ‌ها و افزایش رنگ پریدگی در ریشه می‌شود (قاسمی‌قهساره و کافی، ۱۳۸۶). کلمه ویتامین از واژه یونانی ویتا به معنی «زندگی» است. ویتامین‌ها را به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند که عبارت‌اند از ویتامین‌های محلول در چربی و ویتامین‌های محلول در آب. ویتامین E، K، D و A از جمله ویتامین‌های محلول در چربی هستند. ویتامین C و ویتامین‌های گروه B از جمله ویتامین‌های محلول در آب هستند. ویتامین‌ها در مقادیر کم نیز برای رشد و نمو عادی بافت‌ها در گیاه ضرورت دارند(Salehi *et al*., 2016). تیامین (ویتامین B1) به عنوان یک عامل کمکی (کوفاکتور آنزیمی) در سوخت و ساز (متابولیسم) عمومی مسیرهای گلیکولیز، مسیر پنتوز فسفات و چرخه تری کربوکسیلیک اسید نقش اساسی دارد. همچنین این ویتامین بر ویژگی‌های فیزیولوژیک و رشد گیاه مؤثر است(Goyer, 2010). کشف قطعی سایتوکینین‌ها در سال ۱۹۵۵ با جدا نمودن کینتین (۶-فورفوریل آمینوپورین، $C_6H_9N_5O$) از یک نمونه اتوکلاو شده DNA اسپرم شاه ماهی توسط Miller و همکارانش صورت گرفت. نهایتاً Skoog و همکارانش پس از مشورت با دیگر محققان پیشنهاد نمودند که واژه سایتوکینین برای مشخص نمودن تمام ترکیباتی که تقسیم سلولی را پیش می‌برند و سایر اعمال تنظیم رشد را مشابه کینتین انجام می‌دهند، بکاررود(حجازی و کفاشی صدقی، ۱۳۷۹). سایتوکینین‌ها در کاهش سرعت بیشتر فرآیندهای مربوط به پیری مؤثر هستند و همچنین عامل ثبات کلروفیل، پروتئین و میزان RNA می‌باشند که در طی فرآیند پیری کاهش می‌یابند. بطورکلی وقتی سایتوکینین‌ها به میزان لازم و در زمان مناسب بکار برده شوند، پیری را در بیشتر بافت‌ها و البته نه در تمام آنها به تأخیر می‌اندازند(باقری و صفاری، ۱۳۷۶). تحقیقات متعدی پیرامون پژوهش فوق در گیاهان مختلف انجام شده است که از آن جمله دانائی و همکاران در سال ۱۳۹۲، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار روی گل‌های شاخه بریده ژربرا رقم 'Dune' انجام دادند. در این آزمایش بررسی اثرات کاربرد محلول‌پاشی پیش از برداشت اسیدسالیسیلیک و بنزیل‌آدنین هر کدام با دو غلظت(ppm ۵۰، ۲۵) و سپس تیمار کوتاه مدت(۲۴ ساعت) ساکارز ۸٪، بنزیل‌آدنین با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه

ساکارز ۸٪ و اسیدسالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به همراه ساکارز ۸٪ و سپس محلول نگهدارنده نانو ذرات نقره ppm ۵ انجام گرفت و آب مقطر بعنوان شاهد بکار رفت. نتایج نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین شاهد و تیمارها بود و در بین تیمارها به ترتیب، محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک ppm۵۰ و تیمار کوتاه مدت اسیدسالیسیلیک ppm۲۰۰ به همراه ساکارز۸٪ و سپس محلول نگهدارنده نانو ذرات نقره ppm ۵ و محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین ppm۵۰ و تیمار کوتاه مدت بنزیل‌آدنین ppm۵۰ به همراه ساکارز۸٪ و سپس محلول نگهدارنده نانو ذرات نقره ppm ۵ مطلوب‌ترین اثرات را بر ماندگاری و صفات آنزیمی نسبت به سایر تیمارها داشتند. در تحقیقی نیز به منظور بهبود کیفیت و عمر گلجایی گل شاخه بریده لیسیانتوس از بنزیل‌آدنین با سطوح(صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر) بصورت محلول‌پاشی به طوری که تمام سطح گل و برگ را پوشش داده، استفاده شد. بنزیل‌آدنین در تمام غلظت‌ها روی عمر گلجایی اثر مطلوبی داشت، اما تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر موثرتر بودند. تولید اتیلن از گل‌های شاخه بریده پیری گل‌ها را افزایش داد. بنزیل‌آدنین تولید اتیلن را نسبت به شاهد به تأخیر انداخت. با کاربرد ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین از دست دادن آب، کلروفیل برگ و آنتوسیانین گلبرگ کاهش یافته بود. جذب محلول در تمام تیمارها بالا بود. این نتایج نشان می‌دهد که تولید اتیلن یک عامل مهم در تعیین عمر گلجایی گل شاخه بریده لیسیانتوس است(Hassanpour *et al*., 2010). میخک یکی از مهمترین گل‌های عامه‌پسند تولیدی در دنیا می‌باشد. در این مطالعه اثر سه سطح اسیدسالیسیلیک(ppm۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰) و سه سطح بنزیل‌آدنین(ppm۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰) بصورت طرح آماری کاملاً تصادفی روی گل‌های شاخه بریده میخک خوشه‌ای مورد بررسی قرارگرفت. صفاتی مانند طول عمر، وزن تر نسبی، آنتوسیانین گلبرگ و فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز مورد بررسی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که تیمارها موجب افزایش طول عمر گل‌های بریده میخک خوشه‌ای با افزایش محتوای آنتوسیانین گلبرگ، وزن تر نسبی و بهبود فعالیت سوپراکسیددیسموتاز می‌شوند(بابایی و همکاران، ۱۳۹۴). اثر محلول‌پاشی برگی دوماده اسیدآسکوربیک و تیامین روی صفات گلدهی در گیاه جعفری آفریقایی در گلدان در گلخانه بررسی گردید. محلول‌پاشی برگی مواد در غلظت‌های(صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیامین) و (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدآسکوربیک) اعمال شد. در این آزمایش پارامترهای بالاترین تعداد غنچه و گل بازشده در هر گیاه، میانگین غنچه و گل بازشده در هر گیاه، محتوای کلروفیل برگ اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده در آزمایش حاضر نشان داد که هر دو ماده اسیدآسکوربیک و تیامین موجب افزایش گلدهی در گیاه جعفری آفریقایی شدند. صفات بالاترین تعداد غنچه در هر گیاه و میانگین تعداد غنچه در هر گیاه در تیمارهای ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیامین + ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدآسکوربیک و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر تیامین + ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدآسکوربیک افزایش یافت. استفاده از ویتامین‌ها بصورت توام در غلظت بالا موجب افزایش بالاترین تعداد گل باز در هر گیاه گردید(صالحی‌ساردویی، ۱۳۹۳). گل اطلسی یکی از رایج‌ترین گل‌ها در فضاهای سبز شهری می‌باشد. اثر غلظت‌های متفاوت تیامین و اسیدآسکوربیک بر ویژگی‌های گل، عملکرد گل و

رنگیزه‌های فتوسنتزی گل اطلسی در یک آزمایش گلخانه‌ای بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل ویتامین B1(تیامین) در سه غلظت(۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ppm) و ویتامین C(اسیدآسکوربیک) در سه غلظت(۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm) بودند. تیمار شاهد، محلول‌پاشی برگی آب مقطر بود. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و در چهار تکرار اجرا گردید. گیاهان در شرایط گلخانه به مدت سه ماه رشد نمودند. سپس از محل طوقه قطع و برگ و ساقه آنها جدا گردید. نتایج نشان داد که کاربرد تیامین و اسیدآسکوربیک موجب افزایش صفات مورد بررسی در گیاه اطلسی شد. بالاترین میزان وزن کل از تیمار ۲۰۰ppm تیامین با میانگین ۵۹/۱ گرم بدست آمد و بیشترین تعداد گل در بوته تیمار ۲۰۰ppm اسیدآسکوربیک با میانگین ۸/۱۷ را به خود اختصاص داد. بیشترین میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئیدها به ترتیب با میانگین ۶۱۸/۰، ۳۵۱/۰ و ۷۲۸/۰ و میلی گرم بر گرم وزن تر بافت از تیمار ۲۰۰ppm تیامین حاصل شد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد محلول‌پاشی غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ppm تیامین و اسیدآسکوربیک تأثیر مثبت بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی اطلسی داشته و در نتیجه آن تعداد گل در بوته و وزن گل نیز افزایش داشتند(نعمتی‌آشنا و همکاران، ۱۳۹۴). پژوهشی نیز با هدف ارزیابی اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و تیامین بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل ژربرا، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار، به صورت گلدانی در گلخانه انجام شد. تیمارها شامل آب شهری(شاهد)، اسیدسالیسیلیک(غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) و تیامین(غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار) بودند. محلول‌پاشی در دو مرحله و به فاصله زمانی دو هفته انجام پذیرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای مورد استفاده تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل ژربرا داشتند. بزرگ‌ترین قطر گل، کوتاه‌ترین دوره رشد و بیشترین تعداد گل مربوط به تیمار اسیدسالیسیلیک ۷۵ میکرومولار بود. با این حال، بیشترین قطر ساقه در تیمار اسیدسالیسیلیک ۱۵۰ میکرومولار به دست آمد. در این آزمایش، تیمار تیامین ۵۰۰ میکرومولار بزرگ‌ترین طول ساقه گلدهنده و بیشترین شاخص کلروفیل نسبی را داشت. بنابراین، به نظر می‌رسد اسیدسالیسیلیک و تیامین می‌توانند سبب افزایش راندمان تولید و بهبود کیفیت گل ژربرا شوند و از این نظر بهترین تیمار، اسیدسالیسیلیک با غلظت ۷۵ میکرومولار بود(منصوری و همکاران، ۱۳۹۴).

فرآیند پژوهش

پژوهش حاضر در گلخانه‌ای تجاری در شهرستان کرج در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۷ انجام شد. این تحقیق به صورت طرح آماری کاملاً تصادفی با هفت تیمار، سه تکرار و هر تکرار حاوی سه گیاه، در مجموع ۶۳ گیاه اجرا شد. تیمارها شامل بنزیل‌آدنین و تیامین هر کدام با سه سطح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ 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 (زمان رنگ گرفتن گلچه‌ها) بود. صفات مورد ارزیابی شامل:

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

شاخص ثبات غشاء سلول= 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).

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

کارتنوئید گلبرگ= اندازه‌گیری طبق روش مستوفی و نجفی (۱۳۸۴) انجام گردید. ابتدا ۰/۳ گرم گلبرگ با ترازو، اندازه‌گیری و سپس با **cc** ۵ استون ۸۰٪ در هاون ساییده و عصاره بدست آمده در فالکون ریخته و عصاره‌های بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه‌سانتیگراد در یخچال قرارگرفته، بعد از ۲۴ ساعت فاز بالایی جدا و در کووت ریخته و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در دو طول موج ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. داده‌های بدست آمده در فرمول ذیل قرار گرفته و میزان کارتنوئید نمونه‌ها محاسبه شد.

Car =7/6 (A480 nm)- 1/49(A510 nm)

A: میزان جذب نور

کلروفیل کل برگ= برای اندازه‌گیری کلروفیل برگ از روش Arnon در سال ۱۹۴۹ انجام شد. 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 ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه‌سانتیگراد قرارداده شد. سپس جذب در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ قرائت گردید و محاسبه محتوای کلروفیل از فرمول زیر انجام و در نهایت بصورت میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

Cl Total= 20/2(A645 nm) + 8/02 (A645 nm)

A: میزان جذب نور V: حجم استون نهایی

پروتئین= اندازه‌گیری پروتئین با استفاده از روش Bradford(۱۹۷۶) 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** ۴ 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 گردید و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس و سپس جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر یادداشت شد.

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز= ابتدا تهیه عصاره آنزیم بر اساس روش Ezhilmathi و همکاران در سال ۲۰۰۷ از یک گرم گلبرگ انجام شد و سپس فعالیت آنزیم بر اساس بازداشتن احیاء فتوشیمیایی Nitro-blue tetrazolium (NBT) به روش Bayer and Fridovich در سال ۱۹۸۷ اندازه‌گیری گردید. در این

روش ۱ میلی‌لیتر از محلول محتوی، 50 mM از (pH 7.8) K-phosphate buffer و 9.9 mM از L-methionine و ۵۷ µM از NBT و 0.025% (v/v) Triton X-100 به یک تیوب شیشه‌ایی کوچک افزوده و ۲۰µL از نمونه اضافه شد. واکنش با اضافه نمودن 10 µL riboflavin solution (4.4 mg 100 ml) و قراردادن تیوب‌ها در جعبه حاوی دو لامپ فلورسنت برای ۷ دقیقه انجام و نمونه موازی شاهد با استفاده از بافر به جای نمونه اجرا شد و سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده و نمونه شاهد به عنوان بلانک استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس واحد آنزیم بر گرم وزن تر گلبرگ بیان گردید.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز= میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز بر اساس روش Redman در سال ۱۹۹۹ اندازه‌گیری شد. ۱ گرم از نمونه‌های ساقه که قبلاً درون ازت مایع نگهداری شده بودند، درون هاون چینی و ازت مایع خرد گردیده و سپس ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۱ مولار با pH=6 اضافه گردید. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در دمای 4^0C و با دور (g) ۱۰۰۰۰، ۵۰ میکرولیتر از محلول‌رویی با ۱/۹۵ میلی‌لیتر از محلول واکنشی µ6M فنیل‌آلانین و ۰/۰۵ مولار بافر Tris-HCI با pH=8 مخلوط گردیده و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای 37^0C در انکوباتور نگهداری شدند. سپس با افزودن ۰/۰۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۵ نرمال به هر نمونه واکنش متوقف گردید. 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 وزن تر گلبرگ اندازه‌گیری و بیان گردید.

ماندگاری گل روی بوته= ماندگاری گل‌ها روی بوته از زمان رنگ گرفتن گلچه‌ها تا پژمردگی، رنگ‌پریدگی و ریزش گل‌ها محاسبه 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

نتایج حاصل از پژوهش در جدول تجزیه واریانس نشان داده شده است.

جدول ۱: تجزیه واریانس

Tabe 1: Analysis of variance

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		کلروفیل کل برگ	پروتئین	سوپراکسید دیسموتاز	فنیل‌آلانین آمونیالیاز	ماندگاری گل روی بوته
تیمار	۶	۲۷/۰۲۵**	۶/۱۷۲**	۳۹۸/۳۳۷**	۹۳۴/۷۸۳**	۲۹/۵۱۵**
اشتباه آزمایشی	---	۰/۰۷۶	۰/۰۲۴	۱/۰۶۲	۰/۲۶۲	۰/۰۵۴
ضریب تغییرات (٪)	---	۱۳/۱۱	۱۳/۴۸	۱۲/۵۵	۱۲/۵۹	۱۲/۵۳

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

**, *, ns, respectively, significant at 1% and 5% and no significant

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر گل	وزن خشک گل	شاخص ثبات غشاء سلول	کارتنوئید گلبرگ
تیمار	۶	۱۴/۰۶۷**	۰/۳۳۷**	۴۸۹/۹۵۵**	۰/۱۸۸**
اشتباه آزمایشی	---	۰/۰۳۷	۰/۰۰۵	۰/۲۹۲	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات (٪)	---	۱۲/۸۴	۱۲/۶۷	۱۰/۹۸	۱۱/۲۷

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

**, *, ns, respectively, significant at 1% and 5% and no significant

وزن تر گل= جدول تجزیه واریانس مربوط به وزن تر گل را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر وزن تر گل در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که وزن تر گل با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۸/۸۶ گرم، بیشترین و تیمار Control با ۵/۴۲ گرم، کمترین وزن تر گل را داشتند.

وزن خشک گل= جدول تجزیه واریانس مربوط به وزن خشک گل را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر وزن خشک گل در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که وزن خشک گل با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۱/۲۵ گرم، بیشترین و تیمار Control با ۰/۷۲ گرم، کمترین وزن خشک گل را داشتند.

شاخص ثبات غشاء سلول= جدول تجزیه واریانس مربوط به شاخص ثبات غشاء سلول را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر شاخص ثبات غشاء سلول در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شاخص ثبات غشاء سلول با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش و سپس کاهش یافت، اما شاخص ثبات غشاء سلول با افزایش غلظت تیامین تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش یافت. تیمار B1 150ppm با ۸۶/۱۲ درصد، بیشترین و تیمار Control با ۶۳/۷۱ درصد، کمترین شاخص ثبات غشاء سلول را داشتند.

کارتنوئید گلبرگ= جدول تجزیه واریانس مربوط به کارتنوئید گلبرگ را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر کارتنوئید گلبرگ در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کارتنوئید گلبرگ با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش و سپس کاهش یافت، اما کارتنوئید گلبرگ با افزایش غلظت تیامین تا ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر، افزایش یافت. تیمار BA 100ppm با ۰/۹۳۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر، بیشترین و تیمار Control با ۰/۵۲۶۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر، کمترین کارتنوئید گلبرگ را داشتند.

کلروفیل کل برگ= جدول تجزیه واریانس مربوط به کلروفیل کل برگ را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر کلروفیل کل برگ در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کلروفیل کل برگ با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۰/۹۳۸۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر، بیشترین و تیمار Control با ۱۶/۵۶۰۸ میلی‌گرم در گرم وزن تر، کمترین کلروفیل کل برگ را داشتند.

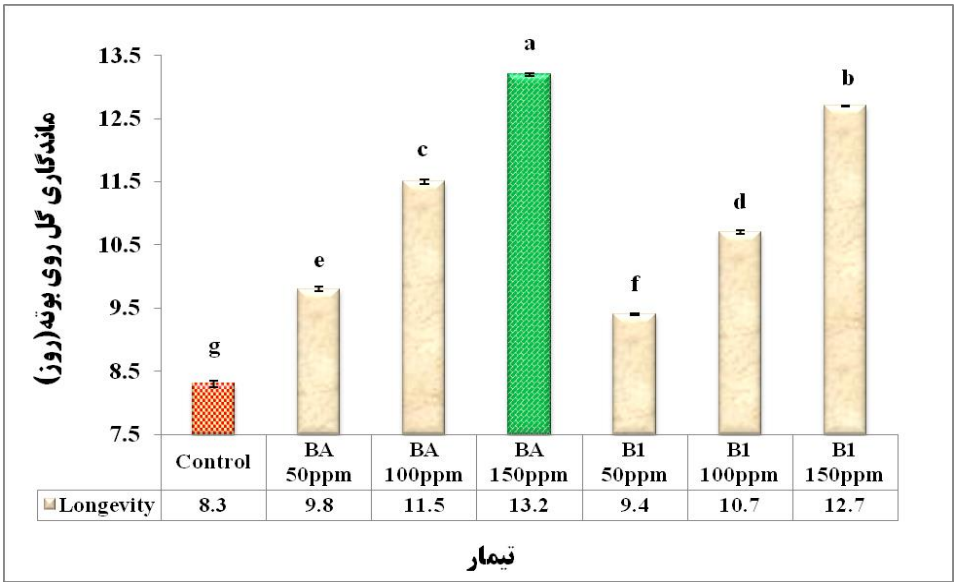
پروتئین= جدول تجزیه واریانس مربوط به میزان پروتئین را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان

می‌دهد که اثر تیمار بر میزان پروتئین در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۵/۳۶ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر، بیشترین و تیمار Control با ۳/۰۱ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن تر، کمترین میزان پروتئین را داشتند.

سوپراکسید دیسموتاز= جدول تجزیه واریانس مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۲۳۶/۷۲ واحد آنزیم بر گرم وزن تر، بیشترین و تیمار Control با ۱۸۵/۱۷۳ واحد آنزیم بر گرم وزن تر، کمترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشتند.

آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز= جدول تجزیه واریانس مربوط به فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۶۵/۷۸ میکروگرم سینامات تولیدی بر میلی‌گرم وزن تر در دقیقه، بیشترین و تیمار Control با ۳۵/۶۵ میکروگرم سینامات تولیدی بر میلی‌گرم وزن تر در دقیقه، کمترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را داشتند.

ماندگاری گل روی بوته= جدول تجزیه واریانس مربوط به ماندگاری گل روی بوته را در تیمارهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که اثر تیمار بر ماندگاری گل روی بوته در غلظت‌های مختلف تیماری در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ماندگاری گل روی بوته با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین و تیامین، افزایش یافت. تیمار BA 150ppm با ۱۲/۷ روز، بیشترین و تیمار Control با ۸/۳ روز، کمترین ماندگاری گل روی بوته را داشتند.



نمودار ۱: تغییرات ماندگاری گل لیلیوم (Lilium spp.) روی بوته

Fig 1: The variations of flower longevity in Lilium spp.

نتایج حاصل از پژوهش با یافته‌های فرهمند و همکاران (۱۳۹۲) پیرامون بررسی اثر محلول‌پاشی برخی مواد شیمیایی در گل جعفری، صالحی‌ساردویی(۱۳۹۳) پیرامون اثر محلول‌پاشی برگی دو ماده اسیدآسکوربیک و تیامین روی صفات گلدهی در گیاه جعفری آفریقایی، بابایی و همکاران(۱۳۹۴) پیرامون اثر سه سطح اسیدسالیسیلیک و بنزیل‌آدنین روی گل‌های شاخه بریده میخک خوشه‌ای، نعمتی‌آشنا و همکاران(۱۳۹۴) پیرامون اثر غلظت‌های متفاوت تیامین و اسیدآسکوربیک بر ویژگی‌های گل، عملکرد گل و رنگیزه‌های فتوسنتزی گل اطلسی، خسروی و همکاران(۱۳۹۴) پیرامون بررسی اثرات اسیدجیبرلیک و بنزیل‌آدنین بر خصوصیات کمی، کیفی و طول عمر گل پامچال و منصوری و همکاران(۱۳۹۴) پیرامون ارزیابی اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و تیامین بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل ژربرا، مطابقت داشت. ویتامین‌ها در مقادیر کم برای رشد و نمو عادی بافت‌ها در گیاه لازم هستند. به عنوان کوآنزیم و یا آنزیم عمل می‌کنند. تیامین یک بخش ضروری برای بیوسنتز کوآنزیم تیامین، پیروفسفات است که نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدارت دارد و همچنین به احتمال زیاد به دلیل تحریک تقسیم یاخته‌ها و افزایش جذب آب موجب افزایش وزن تر و خشک، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، شکوفایی و شاخص ثبات غشاء سلول می‌گردد. تیامین به عنوان کاتالیزور در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها مؤثر بوده و موجب افزایش رنگیزه‌های گیاهی می‌شود. همچنین با کاتالیزوری در متابولیسم پروتئین‌ها موجب بهبود میزان پروتئین و فعالیت آنزیم‌ها می‌گردد و در مجموع موجب بهبود ماندگاری گل‌های لیلوم روی بوته می‌شود(باباربیع و همکاران، ۱۳۹۷). بنزیل‌آدنین موجب بهبود تجمع و قابلیت استفاده از کربوهیدرات‌ها، بهبود پتانسیل اسمزی و روابط آبی گیاه می‌شود و از این طریق موجب افزایش میزان جذب محلول، وزن تر و خشک گل، قطر ساقه، شکوفایی و شاخص ثبات غشاء سلول می‌گردد. کارتنوئید و کلروفیل، رنگدانه‌هایی در واکوئل سلول‌های اپیدرمی گلبرگ و برگ و محلول در آب هستند که تجمع کربوهیدرات‌ها در بافت با کاربرد بنزیل‌آدنین موجب بهبود کارتنوئید گلبرگ و کلروفیل برگ می‌شود. همچنین با ممانعت از تولید رادیکال‌های آزاد موجب تعدیل سنتز و احیای مجدد پروتئین‌ها و ارتقای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها می‌شود که در مجموع بهبود ماندگاری گل‌های لیلوم روی بوته می‌گردد(دانائی و همکاران، ۱۳۹۲).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که تیمار BA 150ppm بیشترین تأثیر را بهبود صفاتی مانند وزن تر و خشک گل، شاخص ثبات غشاء سلول، کلروفیل کل برگ، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و ماندگاری گل روی بوته داشت. تیمار BA 100ppm بیشترین تأثیر را در بهبود کارتنوئید گلبرگ داشت. بیشترین ماندگاری گل روی بوته با ۱۳/۲ روز مربوط به تیمار BA 150ppm و کمترین ماندگاری گل روی بوته با ۸/۳ روز مربوط به تیمار Control بود.

منابع

۱) بابایی، م. دانائی، ا و. و، عبدوسی. ۱۳۹۴. اثر کاربرد اسیدسالیسیلیک و بنزیل‌آدنین بر برخی صفات کمی، کیفی و عمر پس از برداشت گل‌های شاخه بریده میخک

خوشه‌ای رقم Panamera. نهمین کنگره علوم باغبانی ایران. دانشگاه شهید چمران اهواز.

۲) باباربیع، م. زارعی، ب. بادلی، س و. و، ملازاده. ۱۳۹۷. تأثیر اسیدسالیسیلیک و تیامین بر گلدهی و صفات ریخت‌شناختی گل شاخه بریدهٔ مریم در دو نظام آبکشتی و کشت در خاک، نشریه علوم باغبانی ایران. دوره ۴۹. شماره ۱. ص ۲۴۳-۲۳۳.

۳) باقری، ع و. م، صفاری. ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۴) حجازی، ا و. م، کفاشی‌صدقی. ۱۳۷۹. کاربرد مواد رشد گیاهی، مبانی فیزیولوژی. انتشارات دانشگاه تهران.

۵) خسروی، ر. صالحی‌سارویی، ع و. م، حسن‌پور. ۱۳۹۴. اصیل اثر کاربردهای اسیدجیبرلیک و بنزیل آدنین بر خصوصیات رشدی و گلدهی گل پامچال. همایش بین‌المللی پژوهش‌های کاربردی در کشاورزی.

۶) خلیقی، ا. ۱۳۷۴. گلکاری و پرورش گیاهان زینتی ایران. انتشارات روزبهان، تهران. ۳۹۲ صفحه.

۷) دانائی، ا. نادری، ر ا. کلاته‌جاری، س و. ع ر، لادن‌مقدم. ۱۳۹۲. بررسی اثرات کاربرد اسیدسالیسیلیک و بنزیل‌آدنین در پیش از برداشت بر خصوصیات آنزیمی و دوام عمر گل شاخه بریده ژربرا رقم'Dune'. دومین همایش ملی مباحث نوین در کشاورزی. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه. ص ۲۳۱ تا ۲۳۶.

۸) صالحی‌ساردویی، ع. شهدادنژاد، م. نیک‌زاد، م و. ج، طایی. ۱۳۹۳. بررسی اثر محلول‌پاشی اسیدآسکوربیک و تیامین بر خصوصیات گلدهی گیاه جعفری آفریقایی. اولین همایش ملی کشاورزی. محیط زیست و امنیت غذایی.

*۹) فرهمند، ه، صفاری، و ر و. ح، حسینی. ۱۳۹۲. بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد اسیدجیبرلیک، بنزیل‌آدنین و ویتامین‌های C و B1 بر ویژگی‌های رویشی و زایشی گیاه جعفری آفریقایی(*Tagetes erecta*). دانشگاه شهید باهنر کرمان.*

۱۰) کافی، م و. م، قاسمی‌قهساره. ۱۳۸۶. گلکاری علمی و عملی. انتشارات آییژ تهران.

۱۱) مستوفی، ی و. ف، نجفی. ۱۳۸۴. روش‌های آزمایشگاهی تجزیه‌ای در علوم باغبانی. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۶ صفحه.

۱۲) منصوری، م. شور، م. تهرانی‌فر، ع و. ی، سلاحورزی. ۱۳۹۴. اثر محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک و تیامین بر ویژگی‌های کمی و کیفی گل ژربرا رقم (*Gerbera jamesonii* L. cv. Pink Elegance). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. سال ششم. شماره بیست و سوم.

۱۳) نعمتی‌آشنا، آ، الهیان، م ا و. و ر، صفاری. ۱۳۹۴. بررسی اثر محلول‌پاشی تیامین و اسیدآسکوربیک بر عملکرد گل و رنگیزه‌های فتوسنتزی گل اطلسی. اولین همایش علمی پژوهشی زیست‌شناسی و علوم باغبانی ایران.

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

15) 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.

16) 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.

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

18) 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.

19) Goyer, A. 2010. Thiamine in plants: Aspects of its metabolism and functions, (pp.1615-1624), Phytochem Press.

20) Hassanpour Asil, M, Karimi, M. 2010. Efficiency of Benzyladenine reduced ethylene production and extended vase life of cut *Eustoma* flowers. POJ 3(6):199-203.

21) 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.

22) Salehi, M., Saffari, V R. & H, Farahmand. 2016. The effect of foliar application of BA, ascorbic acid and thiamine on some characteristics of morphological and biochemical of petunia. Journal of Crop production and processing. 6(19), 165-174.

23) Singh, A., J, Kumar 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, D.