نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال پانزدهم، شماره ۵۷، بهار ۱۳۹۹ / صفحات: ۶۴-۵۳

تاثیر کاربرد بنزیل آدنین بر کاهش پراکسیداسیون لیپید و میزان کاروتنوئیدها در گل سوسن (*Lilium oriental* cv. Belladona)

ریحانه عارف‌نیا*، عبداله حاتم‌زاده، محمود قاسم‌نژاد

گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش:۹۸/۳/۵

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی قبل از برداشت بنزیل آدنین (BA) در بهبود کیفیت و به تاخیر انداختن پیری گل‌ها و برگ‌های سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' پژوهشی به صورت فاکتوریل اسپیلت پلات و ۵ سطح (۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ پی‌پی‌ام) بنزیل آدنین و با سه تکرار و در دو مرحله محلول پاشی، مرحله اول (آغاز غنچه‌دهی) و مر حله دوم (قبل از رنگ‌گیری غنچه) و اندازه‌گیری صفات در دو روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت انجام شد. گل‌ها در دو مرحله، آغاز غنچه‌دهی و قبل از رنگ‌گیری گل‌ها در مرحله غنچه محلول پاشی شدند. از آب مقطر به عنوان تیمار شاهد استفاده شد. صفاتی مانند ماندگاری گل‌ها، میزان پراکسیده شدن لیپیدها در روزهای هفتم و دوازدهم پس از برداشت در گلبرگ‌ها و برگ‌ها و میزان کاروتنوئیدها در روزهای هفتم و دوازدهم پس از برداشت در گلبرگ‌ها اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که محلول پاشی با ۱۰۰ پی‌پی‌ام BA در مرحله قبل از رنگ‌گیری غنچه‌های گل بیشترین تاخیر را در پیری گل و برگ در مقایسه با تیمار شاهد داشته است. میزان پراکسیده شدن لیپیدها در برگ و گلبرگ در تیمار ۱۰۰پی‌پی‌ام BA به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بود، در مقابل کاروتنوئیدها در گلبرگ در تیمار ۱۰۰پی‌پی‌ام BA بیشترین و در شاهد کمترین میزان بود. نتایج این پژوهش نشان داد که بنزیل‌آدنین با حفظ پایداری باعث بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری گل سوسن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، پراکسیده شدن لیپید، پیری گلبرگ و پیری برگ، کاروتنوئید.

مقدمه

در بازارهای جهانی گل و گیاهان زینتی سالانه حدود ۲۰ میلیارد دلار از این کالا مبادله می‌شود، که سهم ایران در این بازار حدود ۲۰۰ میلیون دلار است (Shoor et al., 2006). از طرفی تعداد تولید کنندگان گل و گیاهان در سال ۵۷ حدود ۱۳۰ تا ۱۴۰ واحد بوده و امروز به پنج تا هفت هزار واحد در سراسر کشور رسیده است. این تکامل وسیع با همان فرهنگ و سیستم قدیمی تولید صورت گرفته و در نتیجه جهش که باید به دست آید، هنوز حاصل نشده است (Khalighi, 1998). افزایش طول عمر گل‌های شاخه بریده و حفظ کیفیت آن‌ها در مدت زمان طولانی‌تر، از طریق اعمال تیمارهای قبل و پس از برداشت، علاقه‌مندی مصرف کنندگان به خرید گل شاخه بریده و بازارهای فروش را تحت تاثیر قرار داده است (Emongor and Tashwenyane, 2004). سوسن یکی از گل‌های شاخه بریده منحصر به فرد پیازی است که گل‌های زیبا و رنگارنگ آن از قیمت بالایی برخوردار است و به صورت گل شاخه بریده یا

*نویسنده مسئول: reyhanearefnia3082@gmail.com

گلدانی کشت می‌شود. در بین گونه‌های بسیاری که از این جنس وجود دارد، سوسن شرقی *Lilium oriental* از متداول‌ترین و با ارزش‌ترین و گران‌ترین در میان اشکال مختلف سوسن می‌باشند و دارای پیازهای بسیار با ارزش و دارای مقبولیت گسترده در صنعت گل به خصوص گل شاخه بریده و گلدانی می‌باشند. قدمت این گیاه به ۱۷ قرن قبل از میلاد مسیح باز می‌گردد. سوسن شرقی در تجارت گل دارای ارزش زیادی است (Takayama, 1982).

کاهش کیفیت گل‌های شاخه بریدنی از زمان برداشت تا رسیدن به بازارهای گل و هم‌چنین زمانی که گل‌ها بسته بندی شده و برای صادرات به مناطق دوردست آماده می‌شوند، از جمله مسائلی می‌باشد که تولید کنندگان با آن روبه رو می‌باشند (Sajid et al., 2009). از آن‌جایی که ماندگاری گل‌های شاخه بریدنی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کیفی می‌باشد، بنابراین طولانی کردن مدت ماندگاری این گل‌ها در میزان تقاضای مصرف کنندگان و هم‌چنین در ارزش گل‌های شاخه بریده اهمیت زیادی دارد. پیری گل، فرآیندی است که در نتیجه واکنش‌های اکسیداتیو ناشی از تجمع رادیکال‌های آزاد، تخریب ساختار لیپیدها، فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و افزایش نشت یونی در نتیجه آسیب غشاء سلولی حاصل می‌شود (Chirkova et al., 1998). بنزیل آدنین می‌تواند با بهبود دوام غشاء سلولی تاخیر در پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی و کاهش نشت یونی سبب افزایش ماندگاری گل‌های شاخه بریدنی شود. پژوهش‌های Mittler (2002) در گل آلسترومریا نیز ثابت کرده است که این ماده باعث افزایش پایداری پس‌از برداشت گل خواهد شد Sajid و همکاران (2009) گزارش کردند که سیتوکینین‌ها پیری برگ را از طریق جلوگیری از تخریب کلروفیل و پروتئین کاهش می‌دهد. کاهش فتوسنتز به زیر آستانه به صورت پیامی برای القاء پیری برگ‌ها عمل می‌کنند. اگر چه عوامل درونی القاء کننده پیری شامل اتیلن و ABA می‌باشد که به نظر می‌رسد پیری فرآیندی است که به‌صورت هورمونی تنظیم می‌شود (Hanaoka et al., 2006). سیتوکینین‌ها از زرد شدن برگ سوسن اورینتال (*Lilium oriental*)، شب بو (*Matthiola incana*) و گلایول (*Gladioulus spp.*) جلوگیری می‌کنند (Han, 2001). پراکسیداسیون لیپید یکی از دلایل اصلی در پیری سلول‌ها می‌باشد (Arora et al., 2002; Dhindsa et al., 1981; Vaccaet al., 2004). رادیکال‌های آزاد اکسیژن، رادیکال الکوکسی و پراکسی همگی باعث سمیت می‌شود (Thompson, 1988). تحقیقات Ranwala و Miller (2002) نشان داد که تنش اکسیداتیو حاصل از پیری باعث افزایش مالون دی آلدئید در برگ‌های سوسن رقم «استارگازر» شد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش بررسی کاربرد بنزیل آدنین و تعیین صفات موثر بر ماندگاری گل سوسن بود که مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر محلول پاشی قبل از برداشت بنزیل آدنین (BA) در بهبود کیفیت و به تاخیر انداختن پیری گل‌ها و برگ‌های سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' که تولید گل‌های زرد می‌کند، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل اسپیلت پلات و ۵ سطح در سال ۱۳۸۹ و در گلخانه دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. پیازهای پیش رس شده این گل به قطر تقریبی ۱۶ تا ۱۸ سانتی‌متر از شرکت خادم واقع در شهرستان پاکدشت خریداری شد و در حین انتقال، پیازهای پیش رس شده سوسن به‌دلیل نداشتن تونیک یا پوشش و حساس بودن فلس‌های پیاز به خشکی، در جعبه حاوی پیت

مرطوب قرار داده شدند. بستر کشت به صورت هیدروپونیک جهت کشت گل آماده شد که به نسبت ۳ به ۱ کوکوپیت و پرلیت بسترسازی شدند. ابتدا کوکوپیت‌ها را به‌مدت ۲۰ دقیقه در آب قرار داده تا نرم شود، سپس کوکوپیت و پرلیت را با هم مخلوط کرده و بستر کشت آماده شد. از آنجایی که پیازهای سوسن به آلودگی‌های قارچی حساس می‌باشند قبل از کشت با محلول قارچ‌کش بنومیل به غلظت یک گرم در هزار(یک گرم پودر قارچ‌کش در یک لیتر آب) به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند. گلدان‌های تهیه شده با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر نیز قبل از استفاده با هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ ضد عفونی شدند. پیازها پس از ضد عفونی، درون گلدان با عمق مناسب ۱۰ سانتی‌متر کشت شده و سپس با فاصله ۲۰ ×۲۰ سانتی‌متر در گلخانه قرار داده شدند و بلافاصله عمل آبیاری انجام شد. در گلخانه مدت زمان روشنایی ۱۳ ساعت در نظر گرفته شد که با ۵ عدد لامپ بخار سدیم در ارتفاع ۱۶۰ سانتی‌متری از سطح گلدان‌ها تامین می‌شد. دمای مناسب برای رشد سوسن نیز به طور متوسط ۲۲-۱۸درجه سانتی‌گراد در روز ۱۶-۱۸ در شب می‌باشد (Armitage and Laushman, 2003; De Hortogh, 1996). به این منظور، از یک دستگاه اسپیلت گرمایشی و سرمایشی استفاده شد. محلول پاشی کامل بر روی برگ‌ها و غنچه انجام گرفت.حجم مناسب محلول در هر تیمار، برای محلول پاشی کامل بر روی یک گیاه ۵۰ میلی‌لیتر در نظر گرفته شد (Armitage and Laushman, 2003). گل‌ها در دو مرحله، آغاز غنچه‌دهی و قبل از رنگ‌گیری گل‌ها در مرحله غنچه با غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، پی‌پی‌ام محلول پاشی شدند. از آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد استفاده شد. صفاتی مانند ماندگاری گل‌ها، میزان پراکسیده شدن لیپیدها، میزان کاروتنوئید در روزهای هفتم و دوازدهم پس از برداشت در گلبرگ‌ها و برگ‌ها اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی صفات

عمر گلجایی (ماندگاری): عمر گلجایی (ماندگاری) از زمان برداشت تا زمانی که ۵۰٪ گل‌ها علائم پژمردگی را نشان داده و شروع به ریزش نمودند و به صورت تعداد روز بیان گردید (Jin, 2006).

میزان کاروتنوئید گلبرگ: ۰/۵ گرم از بافت گلبرگ در هاون چینی با مقدار کمی از نیتروژن مایع کوبیده شده سپس با یک میلی‌لیتر استون خالص شرکت مرک آلمان استخراج صورت گرفت. نمونه‌ها به مدت ۹۰ دقیقه در اتاقک تاریک و در دمای صفر درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در دور ۳۰۰۰ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت با استفاده از سمپلر، مایع سطحی استخراج شد و پس از کالیبره کردن دستگاه اسپکتروفتومتر با استون، نمونه‌ها در کووت کوارتز ریخته شده و جذب آن‌ها در دو طول موج ۴۴۶ نانومتر (بتاکاروتن) و ۵۵۰ نانومتر (برای اصلاح ناخالصی) اندازه‌گیری شد (Philippa et al., 2010). غلظت کاروتنوئید کل به روش زیر به دست آمد:

$$(\text{mg/g FW}) = \frac{D446\times10\times V1}{d\times E\times W}$$

V_1= حجم اصلی استخراج (میلی لیتر)

D_{446}=جذب در ۴۴۶ نانومتر منهای جذب در ۵۵۰ نانومتر

W= وزن هر نمونه (گرم)

d= ضخامت نور (۱ سانتی‌متر)

$E^{1\%}$=ضریب خاموشی (۲۵۰۰) [Good Win, 1955].

میزان پراکسیده شدن لیپیدها: برای اندازه گیری پراکسیده شدن لیپیدها، غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش Heath و Packer (1968) به‌عنوان محصول واکنش پراکسیده شدن اسیدهای

چرب غشا تعیین شد. مراحل انجام آن به‌صورت زیر می‌باشد.

مواد و محلول‌های مورد نیاز: ابتدا دو محلول A و B را به روش زیر تهیه گردیدند. محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰٪ که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) است. محلول A: ۰/۵ گرم از تیوباربیتوریک اسید (TBA) را در ۲۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر ریخته شد و با استفاده از مگنت و بر روی استیرر حل گردید. محلول B: ۲۰ گرم از تری‌کلرواستیک‌اسید (TCA) را در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد و با استفاده از مگنت و بر روی استیرر حل شد. دو محلول A و B با هم مخلوط گردید و با استفاده از آب‌مقطر به حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول فوق به عنوان محلول ذخیره می‌باشد و هر بار انجام آزمایش ۶۰۰ میکرولیتر از آن به محتویات مخلوط واکنش اضافه می‌گردد.

روش سنجش غلظت مالوندی‌آلدهید (MDA): ۰/۵ گرم از بافت گلبرگ و برگ از هر تکرار با کمک نیتروژن مایع در داخل هاون چینی آسیاب شد و به آن ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) حاوی ۰/۵ مولار EDTA اضافه شد. ترکیب حاصل، به مدت ۲۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور ۱۴۰۰۰(rpm) سانتریفیوژ شد و سپس محلول رویی توسط سمپلر جدا شد و دوباره به مدت ۱۰ دقیقه، با دور ۱۰۵۰۰ (rpm)، در همین دما سانتریفیوژ شد. به دنبال آن ۶۰۰ میکرولیتر از محلول رویی (سوپرناتانت) را برداشته و به آن ۶۰۰ میکرولیتر TBA ۰/۵٪ دارای ۲۰ ٪ TCA افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت و سپس بلافاصله در یخ سرد شد، تا از انجام واکنش جلوگیری شود. به دنبال آن به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۵۰۰(rpm) سانتریفیوژ شد. در پایان مقدار جذب ماده مورد نظر که کمپلکس قرمز رنگ (MDA-TBA) است در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت

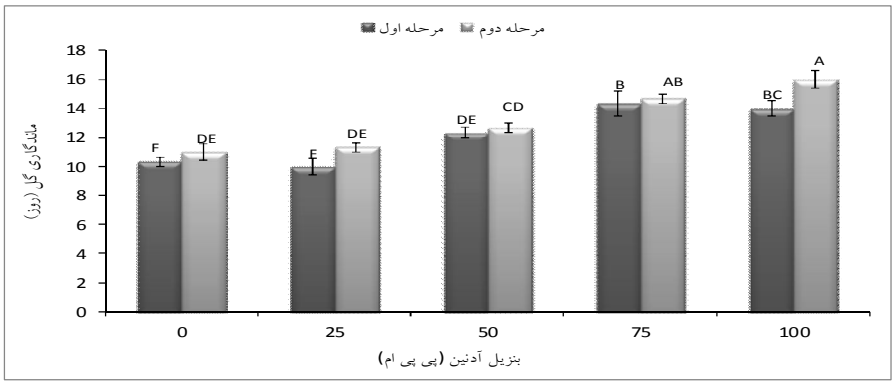
MDA که محصول پراکسیده‌شدن لیپیدها است با کم کردن میزان جذب در طول‌موج ۶۰۰ نانومتر از ۵۳۲ نانومتر با ضریب خاموشی معادل ۱۵۵ $mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه گردید و بر اساس نانومول در گرم بیان شد(مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، ترکیب آلدهیدی است که در نتیجه انجام این فرآیند تولید شده و اندازه‌گیری آن به عنوان شاخص پراکسیده شدن لیپیدهای غشاء سلولی در نظر گرفته می‌شود).

$$MDA \text{ غلظت} = \frac{(A532 - A600)}{155} \times 100$$

این آزمایش که در سه تکرار انجام و تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD انجام و از خطای استاندارد برای نشان دادن انحراف از میانگین داده استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

ماندگاری گل: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ماندگاری گل‌ها نشان داد که اثر ساده غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین و مراحل محلول پاشی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD نشان داد که بیشترین ماندگاری گل در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در مرحله دوم محلول پاشی و کمترین ماندگاری در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۱).



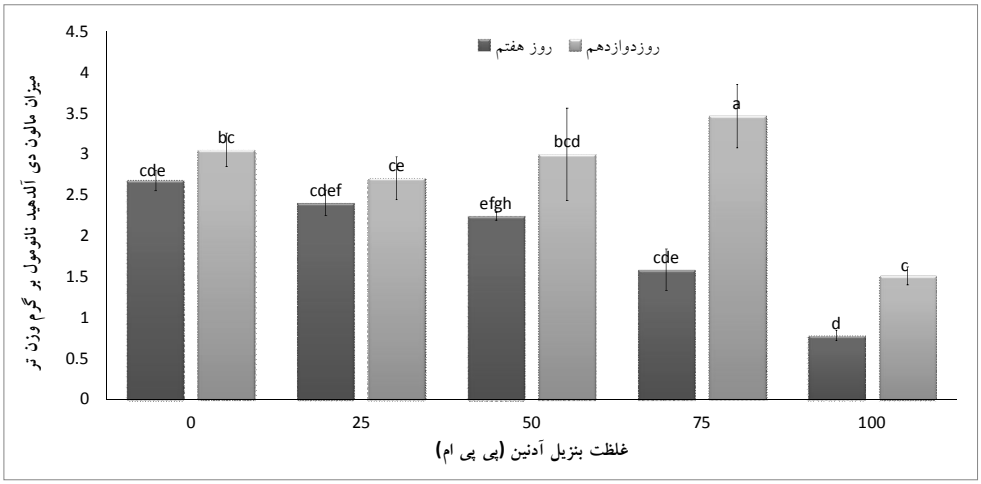
شکل ۱: اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین و مراحل محلول‌پاشی، مرحله اول (آغاز غنچه‌دهی) و مرحله دوم (قبل از رنگ‌گیری غنچه) بر ماندگاری گل سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا'

*خط عمودی نشان‌دهنده خطای استاندارد از میانگین است (n= ۳)

جدول ۱: تجزیه واریانس ماندگاری گل‌های بریده سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' تیمار شده با بنزیل آدنین

منابع تغییر	میانگین مربعات	
	درجه آزادی	ماندگاری
تیمار	۴	۲۵/۲۵**
مراحل محلول پاشی	۱	۶/۳۵**
مرحله ×تیمار		۰/۷۷۳۳**
خطا	۲۰	۰/۰۷
ضریب تغییرات		۶/۶۰

ns غیر معنی‌دار، *و** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال آماری۵ و ۱ درصد.



شکل ۲: اثر بنزیل آدنین بر میزان پراکسیده شدن لیپید در مرحله اول محلول پاشی (آغاز غنچه دهی) در برگ سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' در روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت

*خط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد از میانگین است (n= ۳)

پراکسیده شدن لیپیدها (MDA)

اثر بنزیل آدنین بر میزان پراکسیده شدن لیپیدها در برگ: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر بنزیل آدنین روی پراکسیداسیون لیپیدها (MDA) در برگ‌های گل سوسن در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کمترین میانگین MDA در غلظت ۱۰۰ پی پی‌ام بنزیل آدنین و بیشترین در تیمار شاهد مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان MDA در برگ‌های تیمار شده با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بنزیل آدنین در مقایسه با سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشته و میزان MDA در این برگ‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود.

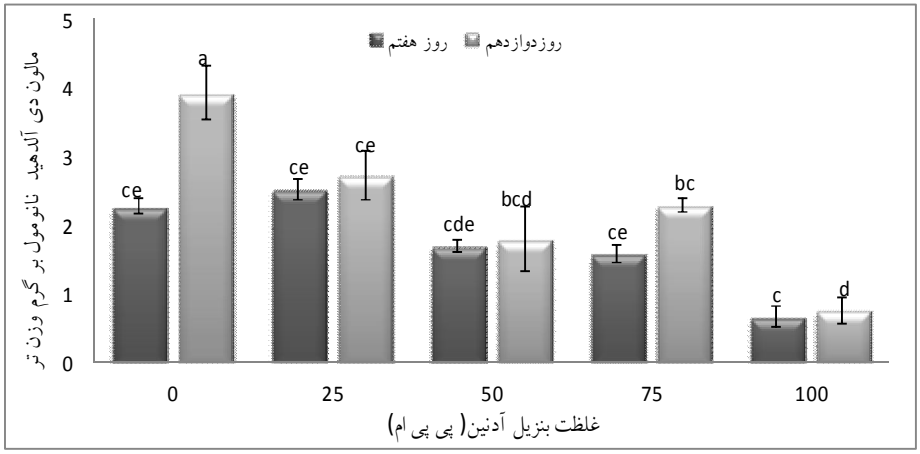
جدول ۲: تجزیه واریانس پراکسیده شدن لیپید در برگ گل سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا'

منابع تغییر	میانگین مربعات	
	درجه آزادی	ماندگاری
مراحل محلول پاشی (a)	۱	۰/۰۲۹ns
غلظت بنزیل آدنین (b)	۴	۰/۱۳۰۸**
اثر متقابل مرحله × غلظت	۴	۰/۷۹۲**
خطای (a)	۹	۰/۲۹۱
زمان اندازه‌گیری (c)	۱	۰/۹۱۹ *
اثرمتقابل مرحله×زمان اندازه‌گیری	۱	۰/۰۰۰۱ ns
اثر متقابل غلظت × زمان اندازه‌گیری	۴	۰/۶۰۹*
اثر متقابل تکرار × زمان اندازه‌گیری	۱	۰/۰۰۱ ns
اثر متقابل مراحل × غلظت × زمان اندازه‌گیری	۴	۰/۷۱۸*
خطا (b)	۲۹	۰/۱۸۲
ضریب تغییرات		۱۹/۵۸

* و ** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

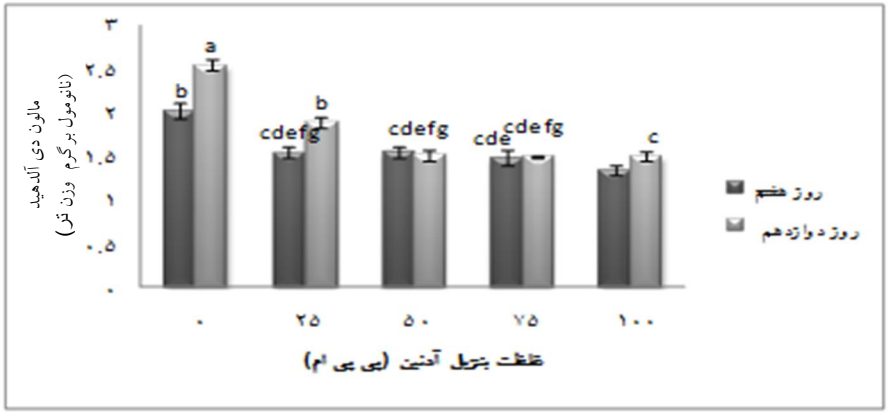
n.s عدم تفاوت معنی‌دار

اثرات مراحل مختلف محلول پاشی (مرحله اول آغاز غنچه دهی، مرحله دوم بعد از غنچه دهی و (قبل از رنگ‌گیری) و روزهای اندازه‌گیری (روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت) بر روی پراکسیده شدن لیپیدها در برگ‌های سوسن، در سطح ٪۵ معنی‌دار شد. و بیشترین پراکسیده شدن لیپید در شاهد در هر دو مرحله بود و کمترین پراکسیده شدن لیپید در غلظت ۱۰۰پی‌پی‌ام در مرحله دوم بود. و اثر روزهای پس از برداشت، بیشترین پراکسیده شدن لیپید در شاهد و در روز دوازدهم در مرحله اول بود و کمترین در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام در مرحله دوم در روز هفتم و دوازدهم بود. جدول (۳-۲) محلول پاشی در مرحله دوم یعنی قبل از رنگ‌گیری غنچه تاثیر بیشتری در کاهش پراکسیداسیون لیپید و پیری برگ داشت.



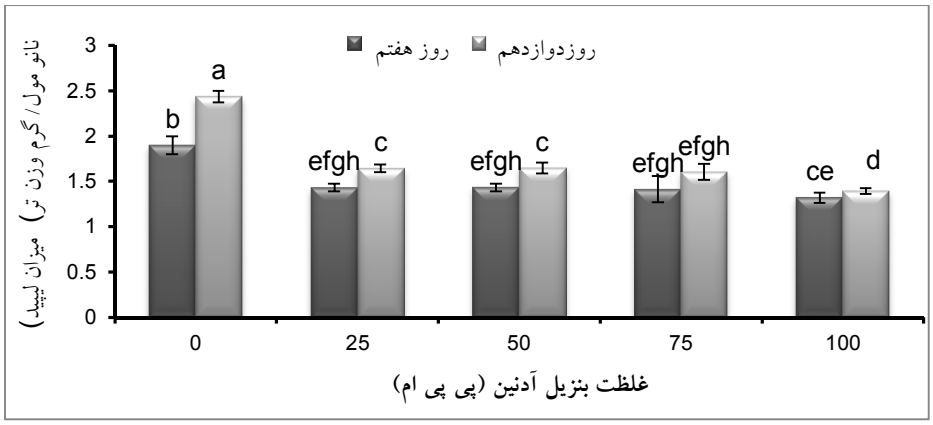
شکل۳: اثر بنزیل آدنین بر میزان پراکسیده شدن لیپید در مرحله دوم محلول پاشی (قبل از رنگ گیری غنچه) در برگ سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' در روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت
*خط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد از میانگین است (n= ۳)

اثر بنزیل آدنین در پراکسید شدن لیپیدها در گلبرگ: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر بنزیل آدنین بر میزان پراکسیده شدن لیپید موجود در گلبرگ‌ها، نشان داد که اثر متقابل روزهای اندازه گیری (روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت) و مراحل هورمون پاشی در سطح احتمال ٪۱ معنی دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان MDA (پر اکسیده شدن لیپیدها) در تیمار ۱۰۰ پی پی ام در مقایسه با سایر تیمارها تفاوت معنی داری داشته است و میزان MDA در این تیمار به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بوده است در واقع کاربرد بنزیل آدنین با جلوگیری از افزایش مالون دی آلدهید مانع از پیری گردید. شکل (۱-۴) و (۱-۵)



شکل ٤: اثر بنزیل آدنین بر میزان پراکسیده شدن لیپید در مرحله اول محلول پاشی (آغاز غنچه دهی) در گلبرگ سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' در روزهای هفتم و دوازدهم پس از برداشت

*خط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد از میانگین است (n= ۳)



شکل ۵: اثر بنزیل آدنین برمیزان پراکسیده شدن لیپید در مرحله دوم محلول پاشی (قبل از رنگ گیری غنچه) در گلبرگ سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا 'در روز هفتم و دوازدهم پس از برداشت

*خط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد از میانگین است (**n=** ۳)

میزان کارتنوئید گلبرگ: تجزیه واریانس این صفت نشان داد که اثر تیمار بنزیل آدنین در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل غلظت بنزیل آدنین در روزهای اندازه‌گیری در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد، ولی اثر مراحل محلول پاشی معنی‌دار نشد.. مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین میزان کارتنوئیدها در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بوده و کمترین در شاهد بوده است. شکل (۱-۶) .

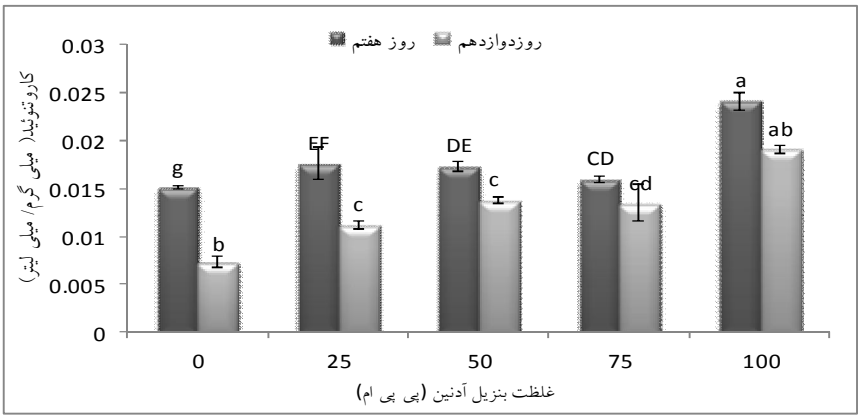
جدول ۳: تجزیه واریانس پراکسیده شدن لیپید و کارتنوئید درگلبرگ گل سوسن هیبرید اورینتال رقم ' بلادونا '

	میانگین مربعات		
منبع تغییرات	درجه آزادی	کارتنوئید	پراکسیده شدن لیپید
مراحل محلول پاشی (a)	۱	۰/۰۰۰۰۱۸ns	۰/۰۱ ns
غلظت بنزیل آدنین (b)	۴	۰/۰۰۰۰۳۳**	۰/۲**
اثر متقابل مرحله × غلظت	۴	۰/۰۰۰۰۰۵ns	۰/۰۴۶*
خطای (a)	۹	۰/۰۰۰۰۰۸	۰/۰۱۵

زمان اندازه گیری (c)	۱	۰/۰۰۰۳۸۲**	۰/۰۴۷ns
اثر متقابل مرحله × زمان اندازه گیری	۱	۰/۰۰۰۰۰۳ns	۰/۰۳۲۹**
اثر متقابل غلظت × زمان اندازه گیری	۴	۰/۰۰۰۰۰۷۱**	۰/۰۲۸۲ns
اثر متقابل تکرار × زمان اندازه گیری	۱	۰/۰۰۰۰۱ns	۰/۰۳۷ ns
اثر متقابل مراحل×غلظت×زمان اندازه گیری	۴	۰/۰۰۰۰۰۷ns	۰/۰۲۲۹**
خطا (b)	۲۹	۰/۰۰۰۰۰۵	۰/۰۱۷
ضریب تغییرات		۱۶/۳۴	۸/۷۰

* و ** تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

n.s عدم تفاوت معنی‌دار



شکل ٦: اثر محلول پاشی با غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین بر کاروتنوئید گلبرگ سوسن هیبرید اورینتال رقم 'بلادونا' در روزهای هفتم و دوازدهم پس از برداشت

*خط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد از میانگین است (n=۳).

بحث

پیری گل، فرآیندی است که در نتیجه واکنش‌های اکسیداتیو ناشی از تجمع رادیکال‌های آزاد، تخریب ساختار لیپیدها، فسفولیپیدها، پروتئین‌ها و افزایش نشت یونی در نتیجه آسیب غشاء سلولی حاصل می‌شود (Chirkova et al., 1998). بنزیل آدنین می‌تواند با بهبود دوام غشاء سلولی تاخیر در پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولی و کاهش نشت یونی سبب افزایش ماندگاری گل‌های شاخه بریدنی شود. از طرف، دیگر بنزیل آدنین سبب توقف تولید اتیلن و عامل اصلی در تاخیر پیری است (Guo, 2003).

گزارش شده است که پیری گل‌ها با استفاده از حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد به تاخیر می‌افتد Ezhilmathi و همکاران (2007) و همچنین بنزیل آدنین با حفظ پایداری سلول‌ها و پروتئین‌ها سبب تاخیر در پیری گل‌ها می‌شود. غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بنزیل آدنین سبب افزایش عمر گلجایی گلایول می‌شود (Ezilmathi et al., 2008). نتایج این پژوهش با نتایج میتلر (2002) Mittler در گل آلسترومریا، Ranwala و Miller (2002) در گل سوسن، Singh و jitendr (2008) در گل گلایول در موثر دانستن نقش بنزیل آدنین در افزایش عمر گلجایی گل‌ها مطابقت دارد.

در آغاز پیری، لیپیدهای موجود در غشاء سلول‌های گیاهی تحت تاثیر رادیکال‌های آزاد قرار می‌گیرند (Bartoli et al., 1995). شکستن غشاء که در ارتباط نزدیک با تولید اتیلن می‌باشد، تحت تاثیر ROS قرار می‌گیرد (Hossian et al., 2006). Ezhilmat و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند پژمردگی گلبرگ‌ها به دلیل القای پراکسیداسیون لیپید در اثر رادیکال‌های آزاد، با افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز (LOX) و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مرتبط است. گزارش شده است که فعالیت LOX با تخریب اکسیداتیو غشاء باعث پیشرفت پیری در گل‌های سوسن و گلایول شد. مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت آنزیم LOX در گل‌های گلایول در زمان باز شدن کامل گل‌ها افزایش یافت (Ezhilmathi et al., 2007). Leshem (1978) نیز بیان کرد که کاربرد کینیتین در برگ نخود فرنگی باعث کاهش فعالیت آنزیم لیپوکسی ژناز می شود. این آنزیم مسئول پراکسیداسیون اسید لینولئیک است که برای اولین بار در مسیر واکنش‌های بیوشیمیایی منجر به پراکسیداسیون غشاء سلولی می‌شود. در واقع کاربرد بنزیل آدنین با جلوگیری از افزایش MDA مانع از پیری شده است. (شکل۱-۲ و ۱-۳). مطالعاتی روی گل‌های گلایول نشان داد پراکسیده شدن لیپیدها از مرحله باز شدن کامل گل‌ها تا زمان پیری افزایش یافته است (Ezhilmathi et al., 2007). کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش پراکسیده شدن لیپید از عوامل پیری برگ در بسیاری از گیاهان به شمار می‌آید (Hossian et al., 2006). پیری گل‌ها با استفاده از حذف کننده‌های رادیکال‌های آزاد به تاخیر می‌افتد (Ezhilmathi et al., 2007).

مالون‌دی آلدئید می‌تواند پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و سایر مولکول‌های سلولی را به طور نامناسبی تحت تاثیر قرار دهد (Schauenstein et al., 1997) نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر با مطالعات (Bartoli et al., 1995) که درطول پیری میخک، پراکسیده شدن لیپیدها افزایش پیدا می کند، مطابقت دارد. سیتوکینین‌ها هم‌چنین باعث کاهش پراکسیده شدن لیپید (اندازه گیری سطحی از تیوباربیوتیک اسید) می‌شود (Thomas et al., 2005; Huang et al., 1997; Liu and Huang, 2002). مکانیسم احتمالی که از طریق آن سیتوکینین پراکسیدشدن لیپید را به تاخیر بیندازد از طریق نفوذ خود بر فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی است (Dertinger et al., 2003). سیتوکینین‌ها به خصوص بنزیل آدنین شاید قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد می‌باشند (Dhindsa et al., 1981; Liu and Huang, 2002). نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر با مطالعات (Dhindsa et al., 1981; Wingler et al., 1998; Liu and Huang, 2002) که سیتوکینین‌ها پراکسیده شدن لیپید را به تاخیر می‌اندازند مطابقت دارد.

اتیلن در تخریب کارتنوئیدها نقش دارد. زخم و تنش القا شده ناشی از برداشت محصولات منجر به تولید اتیلن می‌شود. اتیلن تولیدی منجر به افزایش فعالیت LOX و پراکسیداسیون لیپید، موجب تخریب کارتنوئیدها می‌شود (Thompson, 1987). علاوه بر این رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در طی واکنش آنزیم LOX با اسیدهای چرب نیز منجر به اکسیداسیون کارتنوئیدها می‌شود (Thompson and Legge, 1987). سیتوکینین‌ها سنتز کاروتنوئیدها را افزایش می‌دهند و در برابر نور و اکسیژن آن‌ها را محافظت می‌کنند (Chernyad, 2000). نتایج این بررسی با نتایج Abd El-Aziz (2007) بر روی گیاهان کروتون و Penner و Wiely (2008) در خیار و کدو و Ranwala و Miller (2000) درگل سوسن در موثر دانستن بنزیل آدنین در افزایش میزان کاروتنوئید

هم‌خوانی دارد. در این پژوهش نشان داده شد که محلول پاشی با ۱۰۰ پی‌پی‌ام BA در مرحله قبل از رنگ‌گیری غنچه‌های گل بیشترین تاخیر را در پیری گل و برگ در مقایسه با تیمار شاهد داشته است و محلول پاشی با بنزیل آدنین با جلوگیری از افزایش مالون دی آلدهید مانع از پیری گردید. در واقع بنزیل آدنین با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و حفظ پروتئین گردیده و از این طریق پیری را به تاخیر انداخته است. همچنین بیشترین میزان کارتنوئیدها در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام بوده و کمترین مقدار آن در شاهد بوده است. میزان پراکسیده شدن لیپیدها در برگ و گلبرگ در تیمار ۱۰۰پی‌پی‌ام BA به‌طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد کمتر بوده است. به‌طورکلی از این تحقیق چنین نتیجه گرفته می‌شود که محلول پاشی گل‌های سوسن با بنزیل آدنین، به خصوص در غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام باعث افزایش عمر گلجایی (ماندگاری) و بهبود کیفیت گل‌ها در مدت زمان طولانی‌تری می‌گردد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد ۱۰۰ پی‌پی ام بنزیل آدنین قبل از رنگ‌گیری غنچه گل بیشترین تاثیر را در ماندگاری گل‌ها داشته است و کاربرد آن در مرحله غنچه‌دهی تاثیر کمتری در ماندگاری داشته است. تنش اکسیداتیو از مهم ترین عوامل موثر در پیری محسوب می شود. در مطالعه حاضر بنزیل آدنین اثر مثبتی در بهبود تنش اکسیداتیو داشته است.

سپاسگزاری

نگارنده برخود لازم میداند از زحمات بی دریغ جناب آقای دکتر عبدالله حاتم زاده و دکتر محمود قاسم نژاد اساتید گرانقدر دانشگاه گیلان که من را در انجام این تحقیق یاری نمودند صمیمانه سپاسگزاری کنم.

References

Abd El- Aziz, N.G. (2007). Stimulatory effect of NPK fertilizer and benzyladenin on growth and chemical constituents of *Codiaem variegatum* L. plant. American-Eurasian. J. Agriculture. and Environmental Science. 2(6): 711-719

Arora A.V. P., Singh, S. S., Sindhu, D.N. and Voleti, S.R. (2007). Oxidative stress mechanisms during flower senescence Plant Stress Global Science Books, Japan, 228 p.

Armigite, A.M. and Laushman, J.M. (2003). Specialty cut flowers (The production of annual, perennials, bulbs, and woody plants for fresh and dried cut flower). Second Edition. PP, 578-590.

Bartoli, C.G., Simontacchi, M., Guiamet, J., Montaldi, E. and Puntarulo S. (1995). Antioxidant enzymes and lipid peroxidation during aging of *Chrysanthemum morifolium* RAM petals. Plant Science. 104: 161-168.

Chirkova, T., Novitskaya, V. and Blokhina, O.B. (1998). Lipid peroxidation and antioxidant system under anaerobic in plant differing in plants differing in their tolerance to oxygen deficiency. Russion journal of plant physiology. 45: 55- 62.

Dertinger, U., Schaz, U. and Schulze, E.D. (2003). Age-dependence of the antioxidative system in tobacco with enhanced glutathione reductase activity or senescence induced production of cytokinins. Physiol Plant 119: 19–29.

Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane senescence permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32: 93-101.

Emongor, V. and Tshwenyane, S.O. (2004). Effect of accel on the postharvest vase life of Easter lily. Agricultural Science. 3: 170- 174

Ezhilmathi, K., Singh, P.V. and Arora, A. (2008). Effect of 5- sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase life of Gladiolus cut flowers. Plant Growth Regulation. 55: 65-71.

Fisher, P.R. and Lieth, J.H. (2000). Variability in flower development of Easter lily (*Lilium longiflorum*): model and decision support system. Computers and Electronics in Agriculture. 26: 53-64.

Guo. W., Zheng, L., Zheng, Z. and Zheng, W. (2003). Phytohormones regulate senescence of cut *Charysanthemum.* Acta Hort. 624: 349- 355.

Han, S.S. (2000). Growth regulators reduce leaf yellowing in Easter Lily caused by close spacing and root rot. HortScience. 35: 543- 787.

Heath, L.R. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichimotery of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophsics. 125: 189-198.

Hossian, Z., Mandal, A.K., Datta, S.K. and Biswas, A.M. (2006). Decline in ascorbate peroxidase activity a prerequisite factor for tepal senescence in gladiolus. Journal of Plant Physiology. 163: 186-194.

Huang, F.Y., Philosoph-Hadas, S., Meir, S., Callaham D.A, Sabato R., Zelcer, A . and Hepler, P.K. (1997). Increases in cytosolic Ca_2^+ In parsley mesophyll cells correlate with leaf senescence. Plant Physiology. 115: 51–60.

Jing, H.C., Schippers, J.H., Hille, J. and Dijkwel, P.P. (2005). Ethylene-induced leaf senescence depends on age-related changes and OLD genes in *Arabidopsis*. Journal of Applied Science. 56:2915–23.

Kalighi, A. (1998). Floriculture (ornamental plant breeding). RozBehan Publishing, pp.180-200.

Liu, X. H. and Huang, B.R. (2002). Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress leaf senescence and antioxidant metabolism. Crop Science. 42: 466–472.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7: 405- 410.

Ranwala, A.P., Miller, W.B., Kirk, T.I. and Hammer, P.A. (2000). Ancymidol drenches, reversed greenhouse temperatures, postgreenhouse cold storage, and hormone sprays affect postharvest leaf chlorosis in Easter lily. Scientia Horticulturae. 125: 248–253.

Ranwala, A.P. and Miller, W.B. (2002). Effect of gibberllin treatments on flower and leaf quality of cut hybrid lilies. Acta Horticulturae. 570: 205- 210.

Sajid, G.M., Kaukab, M., and Ahmad, Z. (2009). Foliar application of plant growth regulators (PGRS) and nutrients for improvement of lily flowers. Pakistan Journal of Biological Sciences. 41(1): 233-237.

Schauenstein, E., Esterbauer, H. and Zoller, H. (1997). Aldehydes in biological system: Their natural occurrence and biological activities. Pion Press., London. U.K.

Singh, A. and Jitendra, K. (2008). Effects of plant growth regulators and sucrose on post harvest physiology membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. Plant Growth Regulation. 55: 221-229.

Shoor, M., Kalighi, A., Omidbeygi, R., Naderi, R., (2006). The Effect of Gibberellic Acid and 6-Benzyl Adenine on the Quantitative Traits of Marian Flower (Polianthes tuberosea L.). Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 12 (4): 38-44.

Takei, K., Sakakibara, H., Taniguchi, M., and Sugiyama, T. (2001). Nitrogen dependent accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. Plant Cell Physiol. 42: 85–93.

Thomas, J.C., Perron, M., La Rosa, P.C. and A.C. Smigocki.(2005). Cytokinin and the regulation of a tobacco metallothionein like gene during copper stress. Physiol Plant. 123:262–271.

Thompson, J.E., Legge, R.E. and Barber, R.F. (1987). Role of free radicals in senescence and wounding. New Phytol. 105: 313–344.

Wingler, A., Von Schaewen, A., Leegood, R.C. and Lea Quick, P.J. (1998). Regulation of leaf senescence by cytokinin, sugars, and light. Plant Physiol. 116:329-335.