فصلنامه‌ی فیزیولوژی و تکنولوژی پس از برداشت فرآورده‌های باغی
سال اول، شماره‌ی سوم، ۱۳۹۱
صص ۸۹-۷۳

بررسی فعالیت برخی آنزیم‌های موثر در پیری گل رز تحت تاثیر تیمار کلرید کلسیم و اسپرمیدی

مهدی حسینی فرهی*
دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس تحصیلات تکمیلی علوم و تحقیقات کهگیلویه و بویراحمد

مسعود زاده باقری
دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه علوم باغبانی

بیژن کاوسی
استادیار پژوهشی مرکزتحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی یاسوج

چکیده

به منظور بررسی فعالیت برخی آنزیم های موثر در پیری گل رز رقم دولس ویتا، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ده تیمار و سه تکرار و دو مشاهده در هر تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل شاهد، اسپرمیدین در غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار، سولفات کلسیم در غلظت های ۲/۵ و ۵ میلی مولار و تیمارهای ترکیبی اسپرمیدین و سولفات کلسیم بودند. صفاتی از قبیل عمر گل‌جایی، آنزیم آسی‌سی سنتتاز، آنزیم کلروفیلاز، آنزیم امجی‌دچیلاتاز و بیومارکر تخریبی مالون دی‌آلدئید اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آسی‌سی‌سنتتاز، امجی دچیلاتاز و کلروفیلاز در برگ گیاهان محلول‌پاشی شده با اسپرمیدین و سولفات کلسیم کمترین میزان را نشان داد. همچنین کاربرد اسپرمیدین به همراه سولفات کلسیم باعث کاهش معنی دار فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید گردید. بیشترین عمر گل‌جایی در کاربرد تیمارهای ترکیبی اسپرمیدین و سولفات کلسیم بدست آمد.

کلمات کلیدی: آنزیم آسی‌سی‌سنتتاز، آنزیم‌کلروفیلاز، آنزیم امجی دچیلاتاز، پلی‌آمین، مالون دی آلدئید، عمر گل جایی.

---

*نویسنده مسئول: m.hosseini.farahi@gmail.com
تاریخ دریافت ۹۲/۸/۵ تاریخ پذیرش ۹۲/۱۰/۱۹

مقدمه

گل رز (*Rosa hybrid* L) یکی از مهم ترین و محبوب ترین گل های شاخه بریدنی در دنیا به شمار می آید. اهمیت زیاد این گل در بازارهای جهانی، نیاز به پژوهش های جدید در خصوص بالا بردن کیفیت و افزایش عمر گل جایی این گل مهم را سبب شده است(Hosseini Farahi,*et al*., 2013). در این خصوص استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و عناصر معدنی می‌تواند تاثیرات مهمی بر صفات کیفی این گل داشته باشد. پلی آمین ها یکی از مهم-ترین مواد تنظیم کننده رشد گیاهی بوده که دارای نقش حیاتی در بیولوژی، فیزیولوژی و چرخه های زیستی گیاه دارد و در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل تقسیم سلولی، تمایز آوندی، آغازش ریشه، تشکیل شاخه، انگیزش و تکامل گل، رسیدن میوه، پیری و تشکیل جنین در کشت بافت نقش دارد. میزان رشد گیاهان به طور مستقیم به میزان پلی آمین های سلولی وابسته است و قطع بیوسنتز این مواد باعث کندی یا توقف رشد گیاه گردد (Valero, *et al*., 2002). وجود پلی آمین ها در همه اندام های گیاهی مبین نقش کلیدی این ترکیب ها در تنظیم رشد گیاهی می باشد. پلی آمین ها در شکل آزاد به عنوان یک عامل ضد پیری معرفی شده اند. تیمار با پلی آمین های برون‌زاد، رسیدن و پیری بسیاری از میوه ها را به تاخیر می اندازد(Bergoli, *et al*., 2002). گزارش شده که در گوجه فرنگی پلی آمین ها از نسخه برداری، تولید و فعالیت آنزیم آسی‌سی سنتتاز جلوگیری کرده و در نتیجه باعث کاهش سطوح آسی‌سی می‌شوند که در نهایت به کاهش فعالیت آنزیم آسی‌سی- اکسیداز و کاهش تولید اتیلن می‌انجامد (Li, *et al*., 1992).

کلسیم یکی از مهم ترین عناصر در افزایش و حفظ کیفیت گل های شاخه بریدنی می باشد (Hepler, 2005). کلسیم با حفظ نفوذپذیری غشاء سبب استحکام شبکه دیواره یاخته ای می شود که منجر به تاخیر در پیری یاخته‌ها می گردد(Youssef, *et al*., 2004.,White and Broadly, 2003). تاثیر کلسیم بر ماندگاری گل های رز به واسطه نقش آن در به تعویق انداختن پیری و کاهش تولید اتیلن بوده است. به طور کلی کلسیم منجر به تعویق پیری در بافت های گیاهی به طور عام و در گلبرگ های گل رز به طور خاص می شود. کلسیم به عنوان یک عامل کند کننده فرایند پیری باعث افزایش عمر گل‌جایی گل ها می شود(Torre, et al., 1999). در پژوهشی (Mortensen *et al*., 2001) گزارش نمودند زمانی که نسبت پتاسیم به کلسیم در محلول غذایی گل رز کاهش کیفیت گل کاهش و زودتر پژمرده شده‌اند. (Torre, *et*

al., 1999) مشاهده کردند که نمک کلسیم موجب تحریک شکوفایی گل‌ها گردید و با به تعویق انداختن نشت یونی در غشای گلبرگ ها و ایجاد تاخیر در کاهش پروتئین‌های غشاء و فسفولیپدهای گلبرگ‌ها طول عمر آن‌ها را افزایش می دهد. Gerasopoulos and Chebli (1999) گزارش کردند که تیمار با کلریدکلسیم یک درصد به صورت غوطه وری موجب افزایش عمر گل‌جایی ژربرا و کاهش ناهنجاری خمیدگی ساقه‌ها گردید. در بررسی اثر غلظت‌های مختلف نیترات کلسیم در گل های بریدنی رز مشخص شد که تیمار با کلسیم باعث افزایش طول عمر پس از برداشت گل های به طور معنی داری گردید. تیمار گل‌های بریدنی مریم با غلظت‌های مختلف نمک کلرید کلسیم، شکوفایی غنچه ها را به تاخیر انداخت که این امر با تاخیر در پژمردگی و پیری گل ها مرتبط بود. این نمک همچنین میزان تنفس گل ها را نیز کاهش و جذب آب توسط گل آذین ها را افزایش داد(Anjum, 2011). از سوی دیگرکاهش تولید اتیلن بر اثر افزایش غلظت کلسیم در بافت های گیاهی در مورد گل های شاخه بریدنی میخک و رز گزارش شده است. هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر عمر گل جایی و میزان فعالیت برخی آنزیم های موثر در پیری گل رز رقم دولس ویتا بود.

مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت برخی آنزیم های موثر در پیری گل رز آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ده تیمار و سه تکرار و دو مشاهده در هر تکرار در یک گلخانه تجارتی پرورش گل رز دارای سیستم کشت بدون خاک در حومه یاسوج انجام گرفت. بدین منظور ابتدا بوته های دو ماهه گل رز ریشه دار شده رقم دولس ویتا از شرکت نگین فلات آریا خریداری و سپس در کارتن پلاست با محیط کشت پرلایت و کوکوپیت (۱:۱) کشت گردید. طول دوره آزمایش از بهمن ماه ۱۳۸۹ تا تیرماه ۱۳۹۰ به طول انجامید. عناصر غذایی در محلول غذایی شامل (نیترات کلسیم (۲۳۰ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، نیترات آمونیوم (۸۰گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، نیترات پتاسیم(۴۰۰ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، کلات آهن ۶٪ (۲۳ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، منو پتاسیم فسفات(۱۴۰ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، منیزیوم سولفات (۴۰ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، منگنز کلات (۰/۹ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، کلات سولفات روی (۰/۹ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، بوراکس (۱/۵ گرم در ۱۰۰۰ لیتر)، مس(۰/۱۸ گرم در ۱۰۰۰ لیتر) و مولیبدات سدیم (۰/۵ گرم در ۱۰۰۰ لیتر) بود. محلول‌های غذایی به وسیله

پمپ و سیستم آبیاری قطره ای باز به بوته ها منتقل شد. تغذیه بوته ها در روز ۵ مرتبه در فواصل ۲ ساعت گرفت. عملیات داشت از قبیل هرس، مبارزه با آفات، بیماری ها و بندیگ شاخه‌ها طبق شرایط گلخانه در طول دوره رشد انجام گردید. میانگین دمای گلخانه در طول روز بین ۴±۲۴ و در شب ۲±۱۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود۶۰-۴۰٪ بود. تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش به شرح زیر بود:

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار).

صفات اندازه گیری شده

عمر گل‌جایی

عمر گل‌جایی با ایجاد نشانه هایی از جمله گردن کج، خمش گردن یا پیر شدن گلبرگ ها، برگشتن کامل گلبرگ ها به سمت خارج و تغییر رنگ و ریزش آن ها که منجر به کاهش جذابیت و بازارپسندی گل می شود، اندازه گیری شد(Jowkar *et al.*, 2012).

آنزیم آسی سی سنتتاز

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز با روش (Jiang *et al.*, 1994) انجام گرفت. بدین منظور ۲ گرم بافت در ۱۰ میلی لیتر بافر سرد شامل ۵۰ میلی مول Tris/HCL یک میلی مول دی تیوتریتول، یک میلی مول فنیل متیل سولفونیل فلورید pH 8.2 هموژن گردیده و در ۲۰ میلی گرم بمدت ۲۰ دقیقه در یک درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و سپس محلول روئی از ستون سفادکس G-25 عبور داده شده تا نمک زدائی گردد. محلول خارج شده در لوله آزمایش قرار گرفته و به آن ۵۰ میلی مول اس- آدونوزیل متیونین، ۴ میلی مول پیریدوکسال فسفات و ۵۰ میلی مول Tris/HCL، یک میلی مول دی تیوتریتول و یک میلی مول فنیل متیل سولفونیل فلورید pH 8.2 افزوده و به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه

می‌شود. واکنش با اضافه کردن ۲۰ میکرومول کلرید جیوه متوقف گردیده و مقدار آسی سی تولید شده با تبدیل به اتیلن ارزیابی شد.

سنجش آنزیم کلروفیلاز

برای اندازه گیری فعالیت کلروفیلاز از روش هارپازساد و همکاران(Harpaz-Saad *et al.*, 2007) بر روی محلول استخراج شده از برگ ها استفاده شد. محلول مورد سنجش شامل ۰/۲ میلی لیتر از محلول استخراج برگ ها، یک میلی لیتر بافر فسفات(pH=7) ، ۰/۱۵ درصد تریتون X-100، و ۰/۲ میلی لیتر محلول حاوی کلروفیل در استون است. این محلول در ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفته و با اضافه کردن ۳ میلی لیتر استون واکنش ختم شده و کلرفیل تخریب نشده با ۳ میلی لیتر هگزان از این محلول استخراج گردید. این محلول به مدت ۲ دقیقه در ۹۰۰۰ دور در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده فعالیت آنزیم کلرفیلاز در فاز زیرین در ۶۶۷ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر تعیین شد. با استفاد از استاندارد آنزیم و ضریب خاموشی ۷۶/۷ میلی مول بر سانتی متر فعالیت آنزیم بر حسب نانومول چیلید بر دقیقه بر گرم بافت تازه تعیین شد.

آنزیم ام جی- دیچلاتاز[1]

اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم ام جی- دیچلاتاز بر اساس روش (Costa *et al.*, 2002) انجام گرفت. بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم برگ نمونه ها در ۱۰میلی لیتر بافر استخراج قرار گرفت. این بافر شامل فسفات سدیم ۰/۱ مول با pH=6، ۰/۲ درصد از تریتون(X-100)، ۳۰ گرم بر لیتر پلی ونیل فسفات، یک میلی مول فنیل متیل سولفیونیل فلورید و ۵ میلی مول سیستئین می باشد. این مجموعه هموژن شده و در ۴ درجه سانتی گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت و سپس در سرعت g ۹۰۰۰ بمدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شده و محلول روئی جهت سنجش آنزیم استفاده شد.

سنجش بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید

ابتدا ۲ گرم تری کلرواستیک اسید در آب حل شده که نیاز به دمای ۹۵ درجه سانتی گراد دارد. سپس ۲ گرم TBA به آن افزوده و حجم به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می شود. وقتی هر دو ماده کاملا محلول شدند رنگ محلول از گچی به کرمی تغییر می‌کند. یک میلی لیتر از عصاره

[1] - Mg- dechelase

نمونه به علاوه سه میلی لیتر از محلول ساخته شده در لوله های آزمایش بلند ریخته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری قرار گرفت. پس از گذشت این مدت لوله روی یخ منتقل شده و نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ دور سانتریفوژ شد. از محلول روئی(سوپرناتانت) حاصل برای قرائت در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر در مقابل شاهد استفاده شد (Nikbakht *et al.,* 2008).

رابطه محاسبه MDA به صورت زیر می باشد.

$$MDA= (OD/155\times4) \times (V\ total/Fresh\ Weight) \times (1000/V\ sample)$$

OD= (جذب در ۶۰۰ نانومتر – جذب در ۵۳۲ نانومتر).

۴= دفعات رقیق سازی

V total= حجم کل عصاره و نمونه

Fresh Weight= وزن نمونه

V sample =1.

1000= ضریب تبدیل میلی مول به نانومول

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزارآماری MSTAT-C، مقایسه میانگین ها با آزمون LSD و رسم شکلها با Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر عمر گل جایی گل رز

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که کاربرد تیمارها تاثیر معنی داری بر میزان عمر گل جایی گل رز دارد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تیمارهای اعمال شده بر عمر گل‌جایی تفاوت قابل ملاحظه ای وجود دارد. همانگونه که در شکل ۱ نشان داده است بیشترین عمر گلجایی در گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین و سولفات کلسیم مشاهده گردید. پلی‌آمین ها از طریق افزایش پایداری غشاء، اختلال در مکانیزم تولید اتیلن و جلوگیری از تولید اتیلن پیری گل های شاخه بریده را به تاخیر می اندازد (Torre *et al.,* 1999., Tassoni *et al.,* 2006., Sood and Nagar, 2003., Dantuluri, 2008) جلوگیری از پیروکسیداسیون چربی ها یکی از

مکانیسم های اثرات ضد پیری می باشد می باشد کـه توسـط Borrell, *et al*.,(1997) گـزارش شده است. Sood and Nagar (2003) نیز مکانیسم بازداشتن پیـری توسـط پلـی آمـین هـا را مربوط به بازداشتن سنتز اتیلن توسـط بازداشـتن فعالیـت آسـی‌سـی سـنتتاز دانسـته انـد. در پژوهشی کاربرد پوتریسین بـه دلیـل افـزایش میـزان پـروتئین در گلبـرگ‌هـا و تخمـدان‌هـا و جلوگیری از تولید اتیلن باعث افزایش معنی دار عمر گل‌جایی گل داوودی گردید (Mahros *et al.,* 2001).

تجمع کلسیم در بافت های گیاهی سبب تقویت ارتباطات پلیمری بین تیغه هـای میـانی غشای پکتوسلولزی شده که عامل استحکام شبکه دیواره یاخته ای می گـردد کـه نتیجـه آن افزایش مقاومت مکانیکی بافت‌ها است (Hepler, 2005). همچنین کلسـیم باعـث کنـد شـدن فرآیند پیری شده و افزایش عمر گلجایی گل ها را در پـی دارد (Torre *et al.,* 2005). تیمـار گل‌های بریدنی مریم با غلظت های مختلف نمک کلرید کلسیم، شکوفایی غنچه ها را به تاخیر انداخت که این امر با تاخیر در پژمردگی و پیری گل ها مرتبط بود. این نمک همچنین میزان تنفس گل ها را نیز کاهش و جذب آب توسط گل آذیـن هـا را افـزایش داد (Anjum, 2011). کلسیم با به تعویق انداختن نشت یونی در غشاء گلبرگ ها و ایجاد تاخیر در کاهش پـروتئین های غشاء و فسفولیپدهای گلبرگ ها طول عمـر آن هـا را افـزایش مـی دهـد(Torre *et al.,* 2005). نتایج پژوهشی بر روی گل رز رقم کیس نشان داد که بیشترین میزان عمر گل‌جایی بـا کاربرد ۱۰ و ۲۰ میلی مول سـولفات کلسـیم بدسـت آمـد (Capdeville *et al.,* 2005). نتـایج بدست آمده از این پژوهش با نتایج سایر محققان مطابقت دارد.

اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم برمیزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز

نتایج ارائه شده در جدول ۱ نشان می دهد که کـاربرد تیمارهـای اسـپرمیدین و سـولفات کلسیم تاثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم آسی‌سی سنتتاز دارد. نتایج ارائه شده در شکل ۲ نشان می دهد که میزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز در برگ گیاهان محلول پاشی شده با اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار و اسپرمیدین ۱ میلـی مـولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار به ترتیب به مقدار ۹/۶ و ۱۰/۶ نانومول آسی سی در سـاعت در میلی گرم پروتئین و بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز در گیاهان شاهد به مقدار ۲۹/۹ نانومول آسی سی در ساعت در میلی گرم پروتئین مشاهده گردید. نتـایج بدسـت آمـده نشان می دهد که میزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز در گیاهان تیمار نشده (شاهد) حـدود

۳ برابر بیشتر از گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین و سولفات کلسیم می باشد. همچنین کاربرد سایر تیمارها شامل پلی آمین ها به تنهایی و همراه با سولفات کلسیم نیز باعث کاهش فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. از آنجایی که پلی آمین ها در برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی همچون پیری به صورت تقاضای رقابتی برای اس- آدونوزیل- ال میتیونین(SAM) دخیل هستند، بازدارنده های تولید اتیلن نیز محسوب می گردند (سود و ناگار، ۲۰۰۳). این مسأله موجب گردیده است که علاوه بر نقش تغذیه ای پلی آمین ها به وسیلهٔ باز داشتن آنزیم آسی‌سی سنتتاز پیری را به تأخیر بیاندازند (Li *et al.*, 1992). در پژوهشی کاربرد اسپرمیدین و ۱-۳ دیامینوپروپان از بیوسنتز اتیلن از طریق میتیونین بوسیله جلوگیری از فعالیت آسی سی سنتتاز و جلوگیری از تبدیل آسی سی به اتیلن جلوگیری کرد. در پژوهشی کاربرد اسپرمین از طریق کاهش میزان تولید اتیلن باعث تاخیر در پیری گل شاخه بریده میخک گردید (Leea *et al.*, 1997).

اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم برمیزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که کاربرد اسپرمیدین در نسبت های مختلف به همراه سولفات کلسیم اثر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز در سطح احتمال یک درصد دارد. نتایج ارائه شده در شکل ۳ نشان می دهد که کاربرد اسپرمیدین به همراه سولفات کلسیم باعث کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز می گردد. همانگونه که در شکل ۲ مشخص می باشد بیشترین میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز در گیاهان شاهد به مقدار ۱۵/۳ و گیاهان تیمارشده با سولفات کلسیم ۲/۵ و ۵ میلی مولار به مقدار ۱۴/۷ کلروفیلید مشاهده گردید. کمترین میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز در برگ گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار به مقدار ۴/۴(کلروفیلیت/ گرم/دقیقه) بود. همچنین کاربرد سایر تیمارها شامل پلی آمین ها به تنهایی و همراه با سولفات کلسیم نیز باعث کاهش فعالیت آنزیم کلروفیلاز در مقایسه با گیاهان شاهد گردید.

در پژوهشی پلی آمین ها میزان نشاسته برگ، پروتئین و آرانآ را در گل رز افزایش داد. همچنین پلی آمین ها فعالیت آنزیم سلولاز و پیروکسیداز را در گیاهان به تعویق انداخته و باعث افزایش بازدارنده های سنتز پلی آمین ها از قبیل اسید آبسایزیک گردید (Sood and Nagar, 2003). در پژوهشی Caoa و همکاران (2012) تاخیر در پیری فلفل سبز بوسیله

کاربرد ۱- متیل سیکلو پروپن را در ارتباط با افزایش فعالیت های آنزیم های آنتی اکسیدانتی و پلی آمین ها گزارش نمودند.

اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت آنزیم ام جی‌دچیلاتاز

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که کاربرد اسپرمیدین در نسبت های مختلف به همراه سولفات کلسیم اثر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم ام جی دچیلاتاز در سطح احتمال یک درصد دارد. نتایج ارائه شده در شکل۴ نشان می دهد که کاربرد اسپرمیدین به همراه سولفات کلسیم باعث کاهش فعالیت آنزیم ام جی دچیلاتاز می گردد.

اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم برمیزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که کاربرد اسپرمیدین و سولفات کلسیم اثر معنی داری بر میزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید در سطح احتمال یک درصد دارد. نتایج ارائه شده در شکل ۵ نشان می دهد که کاربرد اسپرمیدین به همراه سولفات کلسیم باعث کاهش فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید گردید به طوریکه کمترین میزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید در برگ گیاهان محلول پاشی شده با اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵میلی مولار و اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار به ترتیب به مقدار ۲۸/۴، ۳۰/۹ نانومول در گرم ماده خشک بدست آمد. بیشترین میزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید در گیاهان شاهد و گیاهان محلول پاشی شده شده با سولفات کلسیم ۲/۵ و ۵ درصد به تنهایی به مقدار ۹۲/۷، ۹۵/۹ و ۹۶/۵ نانومول در گرم ماده خشک مشاهده گردید. تیمار با ۰/۱ میلی مولار در لیتر اسپرمین می تواند میزان بالای قندهای احیایی و پروتئین محلول در طی مرحله عمر گلجایی در گل ورد شاخه بریده را حفظ کند، اما از افزایش نفوذپذیری غشاء در گلبرگ و برگ ها، تجمع مالون دی‌آلدئید در گلبرگ و تولید اتیلن جلوگیری‌کرد (Chen Wei *et al.*, 2000).

در پژوهشی(Amooaghaie and Moghym, 2011). گزارش نمودند که کاربرد پلی آمین ها (اسپرمین، اسپرمیدین و پوتریسین) باعث کاهش نشت یونی و فعالیت مالون دی آلدئید گیاهچه های سویا گردید و پیشنهاد نمودند که پلی آمین ها باعث حفظ یکپارچه گی غشاء می گردد. Jin, *et al.*, (2006) مشاهده نمودند که در گلبرگ های گل بریدنی رز سامانتا میزان

مالون دی آلدئید با نزدیک شدن به پایان عمر گل جایی افزایش شدیدی یافت. Zamani, *et al*., (2011) با مطالعه بر روی پیری گل رز گونهٔ باکارا (*Rosa baccara*) دریافتند که میزان مالون دی آلدئید گلبرگ گل ها هنگام پیری افزایش می یابد. مطالعات مختلف همبستگی بین میزان مالون دی آلدئید تولید شده در برگ و پیری به دست آورده اند. به عنوان مثال Zhang, *et al*., (2011) دریافتند که تأخیر در پیری دو گونهٔ گیاهی بید (*Salix*) و *Erigeron* همبستگی زیادی با کاهش میزان مالون دی آلدئید دارد. همچنین آن ها مشاهده نمودند که سطوح پایین مالون دی آلدئید با تأخیر پیری *Liriope specata* و *Loropetalum chinensis* همبستگی قوی دارد. در گل های بریدنی مختلف نیز میزان مالون دی آلدئید با پیری همبستگی داشت. روند تغییر میزان مالون دی آلدئید گل های بریدنی با نزدیک شدن گل ها به پیری معمولاً افزایش می یابد. Bai, *et al*., (2009) در مطالعه ای بر روی گل بریدنی گلایول رقم ماسکاگنی (Mascagni) دریافتند که با گذشت عمر گل جایی میزان مالون دی آلدئید در گلچه ها و براکته ها افزایش می یابد و با پیری گل به حداکثر میزان خود می رسد. در گل صد تومانی نیز روند مشابهی مشاهده شده است. Zang and Liu (2003) نیز مشاهده نمودند که در رقم لیانتای (Liantai) گل صد تومانی میزان مالون دی آلدئید با گذشت مدت زمان انبار داری بدون ظاهر شدن علائم پیری، افزایش می یابد. در این پژوهش نیز با گذشت عمر گل جایی گل بریدنی رز رقم د.لس ویتا میزان مالون دی آلدهاید برگ افزایش یافت.

نتیجه گیری کلی

یافته های این پژوهش نشان داد که کاربرد ترکیبی اسپرمیدین و سولفات کلسیم باعث کاهش فعالیت آنزیم آسی سی سنتتازآ ام جی دچیلاتاز، کلرفیلاز و بیومارکرتخریبی مالون دی-آلدهاید و افزایش عمر گل جایی گردید. اما کاربرد سولفات کلسیم و اسپرمیدین به تنهایی نتوانست باعث کاهش معنی دار این آنزیم ها گردد.

منابع

Amooaghaie, R., and Moghym, S., (2011). Effect of polyamines on thermotolerance and membrane stability of soybean seedling. African Journal of Biotechnology, 10(47): 9673-9679.

Anjum, M. A., (2011). Effect of exogenously applied spermidine on growth and physiology of citrus rootstock Troyer citrange under saline conditions. Turk J Agric For, 35: 43-53.

Arthur, W., and Bawhney, R., (1990). Polyamines in plant physiology. Plant Physiol, 94: 406-410.

Bai, J. G., Moghym, P. L., Zong, C. S., and Wang, C. Y., (2009). Effects of Exogenous Calcium on Some Postharvest Characteristics of Cut Gladiolus. Agricultural Sciences in China, 8(3): 293-303.

Benavides, M. D., Gallegoo, S. M., Comba, M. E., and Tomaro, M. L., (2000). Relation ship between polyamines and parquet toxicity in sunflower leaf discs. Plant Growth Regual, 31(3): 215-224.

Bergoli, A. M, S., Scaramagli, G., Costa, E., Sabatini, V., Ziosi, S., and Torigini, P., (2002). Peach (*Prunus persica*) fruit ripening, amino ethoxy glycine (AVG) and exogenus polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. Plant Physiol, 114: 472-481.

Borrell, A., L., Carbonel., R., Farras., P., Puig, P., and Tiburcio, A. F., (1997). Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing oat leaves. Physiol. Plant, 99: 385-390.

Capdeville, G. D., Maffia, L. A., Fernando, L., and Batista, U. G., (2005). Preharvest calcium sulfate applications affect vase life and severity of gray mold in cut roses. Sci Hort, 103: 329-338.

Chen Wei Y., ShengGen, H., YueMing, J., and Su, Y., (2000). Effects of polyamines on biochemical and physiological changes and vase life of cut rose (*Rosa chinensis* Jacq. cv. Bellamie) flowers during senescence. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 8(2): 104-108.

Costa, M. L., Civello, P. M., Chaves, R., and Martinez, C. A., (2002). Characterization of Mg-dechelase activity obtained from *Fragaria ananasa* fruit. Plant Physio Biochem, 10: 111-118.

Caoa, Sh., Yangb, Zh., and Zhengc, Y., (2012). Effect of 1-methylcyclopene on senescence and quality maintenance of green bell pepper fruit during storage at 20 °C. Postharvest Biology and Technology, 70: 1–6.

Gerasopoulos, D., and B. Chebli., (1999). Effects of pre- and post-harvest calcium applications on the vase life of cut gerberas. J. Hort. Sci. Biotech, 74:78-81.

Harpaz-Saad S., Azoulay, T. A., (2007). Chlorophyllase is a arte – limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is post translationally regulated. The Plant Cell, 19(3): 1007-1022.

Hepler, P. K., (2005). Calcium: A central regulator of plant growth and development. The Plant Cell, 17: 2142-2155.

Hosseini Farahi, M., Eshghi, S., Kavoosi, B., Amiri Fahliani, R., and Dastyaran M., (2013). Effects of spermidine and calcium sulfate on quantitative and qualitative traits and vase life of rose (Rosa hybrida cv. Dolcvita) grown in hydroponic system. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 4 (14) :15-26.

Hussein, M. M., Nadia, H., El-Geready, M., and Elesuki, M., (2006). Role of puterscine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativm*). Journal of Applied Science Research, 2(9): 598-604.

Jiang, W. B., Mayak S., Halevy, A. H., (1994). The mechanism involved in ethylene – enhanced ethylene synthesis in carnations. Plant Growth Regulation, 14: 133-138.

Jin, J., Shan, N., Ma, N., Bai, J., and Gao, J., (2006). Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Samantha. Postharvest Biology and Technology, 40: 236-243.

Jowkar, M. M., Kafi, M., Khalighi, A., and Hasanzadeh, N., (2012). Postharvest physiological and microbial impact of hydroxy quinoline citrate as 'Cherry Brandy' rose vase solution biocide. Annals of Biological Research, 3 (5): 2238-2247.

Li, N., Parsons, B., Liu, D., and Matton, A. K., (1992). Accumulation of wound – inducible ACC synthase transcript in tomato fruit is inhibited by salicylic acid and polyamines. Plant Mol. Biol, 18:447-487.

Mahros, K, M., El-Saady, M. B., Mahgoub, M. H., . Afaf, M. H., and El-Sayed, M. I., (2011). Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. plant. J. Amer Sci, 7(3): 399-408.

Mortensen, L. M., Ottensen, C. O., and Gislerod, H. R., (2001). Effect of air humidity and K/Ca on growth, morphology, flowering and keeping quality of pot roses. Sci. Hort, 90:131-141.

Narcin, D., (1995). Stress and polyamine metabolism. Bulg J .Plant. Physiol, 21(2-3): 3-14.

Nielsen, B., and Starkey, K. R., (1999). Influence of production factors on post-harvest life of potted rose. Post harvest Bio. Technol, 16: 157-167.

Nikbakht, A., Kafi, M., Babalar, M., Etemadi, N.A., Ebrahimizadeh, H., and Xia, Y.P., (2008). Effect of of Humic acid on Calcuim absorbtion and postharvest behaiviour of Gerbera jasemonii L. Iranian Journal of Horticultureal Science and Technology, 8(4):248-237.

Sood, S., and Nagar, P. K., (2003). The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. Plant Growth Regulation, 39: 155–160.

Tassoni, A., Accettulli, P., and Bagni, N., (2006). Exogenous spermidine delays senescence of *Dianthus caryophyllus* flowers. Plant biosystems, 140: 107-114.

Torre, S., Borochov, A., and Halevy, A. H., (1999). Calcium regulation of senescence in rose petals. Physiol. Plant, 107:214-219.

Valero, D., Martines-Romero, D., and Serrano, M., (2002). The role of polyamines on the improvement of the shelf life of fruit. Trends in Food Science& Technology, 13: 228-234.

White, P. J., and Broadly, M. R., (2003). Calcium in plants. Ann. Bot, 92: 487-511.

Youssef, A. A., Mahgoub, M. H., and Talaat, I. M., (2004). Physiological and biochemical aspects of *Matthiola incana* L. plants under the effect of putrescine and kinetin treatments. J. App. Sci., 19(9B): 492-510.

Zamani, S., Kazemi, M., and Aran, M., (2011). Postharvest Life of Cut Rose Flowers as Affected by Salicylic Acid and Glutamin. World Applied Sciences Journal, 12 (9): 1621-1624.

Zang Y.Q., and Liu, Y., (2003). Studies on water and membrane lipid peroxidation of cut peony flowers after storage. Acta Horticulturae Sinica, 30(3): 357.

Zhang, X., Zhang, Z., Li, J., Wu, L., Guo, J., Ouyang, L., Xia, Y., Huang, X., and Pang, X., (2011). Correlation of leaf senescence and gene expression/activities of chlorophyll degradation enzymes in harvested Chinese flowering cabbage (*Brassica rapa* var. Parachinensis). Journal of Plant Physiology, 168(17): 2081-2087.

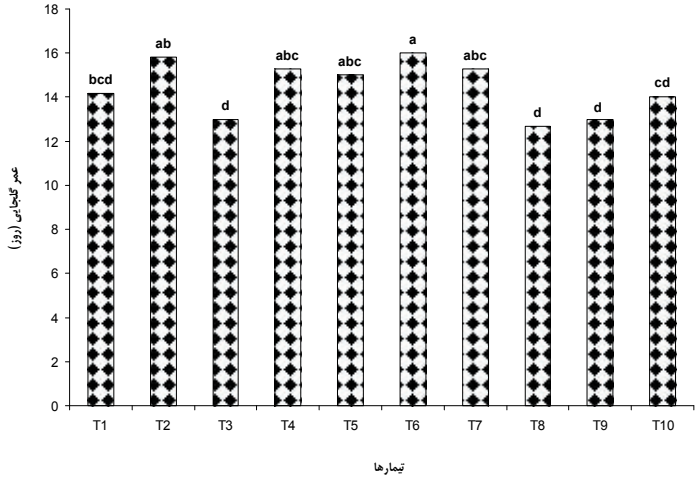
جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر آنزیم آسی سی سنتاز، کلرفیلاز، ام جی دچیلاتاز ، بیومارکر تخریبی مالون دی آلدهاید و عمر گل جایی گل رز

Table 1. Statistical analysis of the effect of calcium sulfate on enzyme spermidine and

S.O.V	d.f	MDA	ACC synthase	chlorophylase	Mg-dechelase
Replication	2	112.54	6.916	0.78	14.339
treatment	9	2431.193**	137.967**	46.68**	60.028**
Error	18	35.78	3.829	0.789	8.102
C.V	-	10.39	10.47	9.15	32.24

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns اثر غیر معنی دار را نشان می دهد

deals si nos , chlorophylase , Mg- dechelase , destructive biomarker MDA life where flowers roses



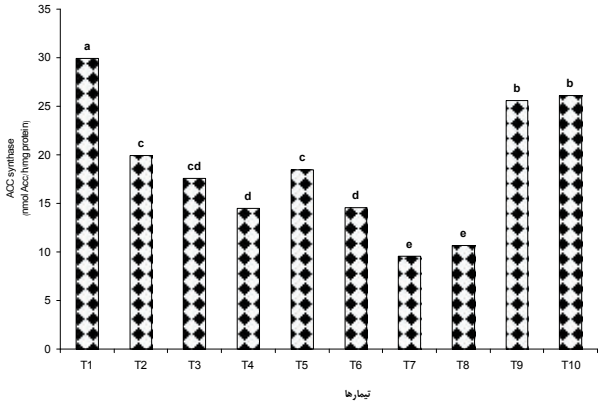
شکل ۱- اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر عمر گلجایی گل رز

(* ستون های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند)

Figure 1: Effect of spermidine and calcium sulfate on the vase life of roses

(* Columns with the same letters are not statistically significant difference at 5% level)

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)



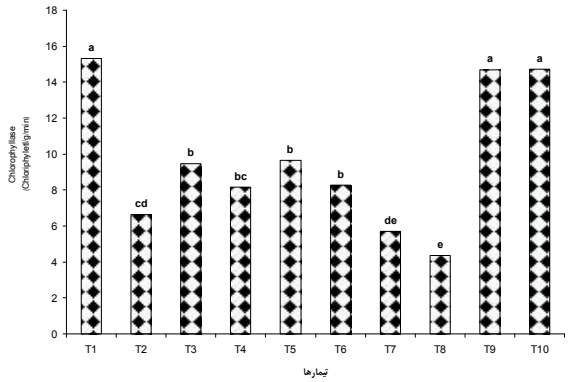
شکل ۲- اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت آنزیم آسی سی سنتاز در برگ گل رز

(* ستون های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند)

Figure 2: Effect of spermidine and calcium sulfate on ACC-synthase enzyme activity in leaves of roses deals

(* Columns with the same letters are not statistically significant difference at 5% level)

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار).



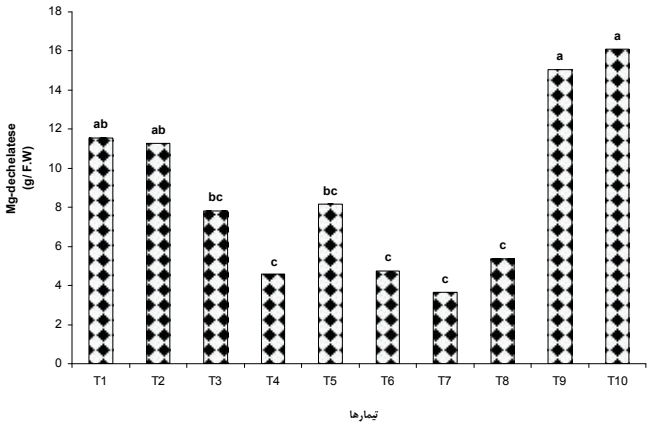
شکل ۳- اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت آنزیم کلروفیلاز در برگ گل رز

(* ستون های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند)

Figure 3: Effect of spermidine and calcium sulfate on enzyme activity in leaves of roses chlorophylase

(* Columns with the same letters are not statistically significant difference at 5% level)

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار).



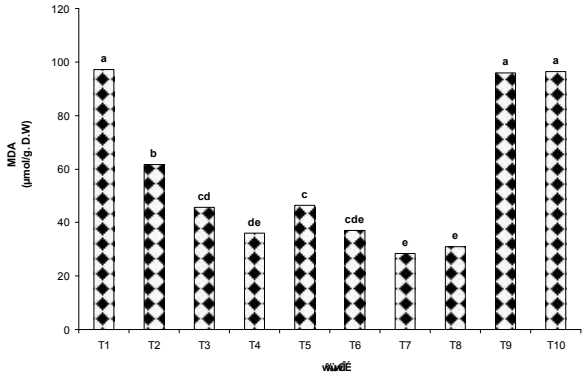
شکل ۴- اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت آنزیم ام جی – دچیلاتاز در برگ گل رز

(* ستون های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند)

Figure 4: Effect of spermidine and calcium sulfate on enzyme activity Mg- dechelase on rose leaves

(* Columns with the same letters are not statistically significant difference at 5% level)

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار).



شکل ۵- اثر اسپرمیدین و سولفات کلسیم بر فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدهاید در برگ گل رز

(* ستون های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند)

Figure 5: Effect of calcium sulphate on the activity of spermidine and destructive marker MDA in leaves rose

(* Columns with the same letters are not statistically significant difference at 5% level)

T_1 (شاهد)، T_2 (اسپرمیدین ۰/۵میلی مولار)، T_3 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار)، T_4 (اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار)، T_5 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_6 (اسپرمیدین ۰/۵ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵ میلی مولار)، T_7 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_8 (اسپرمیدین ۱ میلی مولار + سولفات کلسیم ۵میلی مولار)، T_9 (سولفات کلسیم ۲/۵ میلی مولار)، T_{10} (سولفات کلسیم ۵ میلی مولار).