

تأثیر تیمار پس از برداشت اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز، تشکیل لیگنین و کنترل عارضه خمیدگی ساقه گل دهنده ژربرا

محمد جواد نظری دلجو^{۱*}، احمد خلیقی^۲، مصطفی عرب^۳، رؤیا کریمیان^۴ و حمیده جابریان همدان^۵

۱. استادیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد

۲. استاد، گروه مهندسی علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳. استادیار، گروه مهندسی علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت

۴. دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۵. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، دانشگاه گیلان، گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۱۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۴/۱)

چکیده

مهم‌ترین عارضه پس از برداشت ژربرا، خمیدگی ساقه در ناحیه زیر گل‌آذین است. پدیده تشکیل لیگنین یکی از فرضیه‌های مهم مطالعه شده و دلایل خمیدگی ساقه ژربراست. به منظور مطالعه تأثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز به منزله مهم‌ترین آنزیم دخیل در چرخه فنیل پروپانوئیدها و در نتیجه تشکیل لیگنین و کنترل عارضه خمیدگی ساقه، آزمایشی با استفاده از سطوح مختلف اسید سالیسیلیک (۱ mM و ۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰) در دو رقم ژربرای حساس (Ecco) و مقاوم (Double dutch) به خمیدگی براساس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج آزمایش بیانگر تأثیر معنادار رقم، هورمون و اثر متقابل رقم و اسید سالیسیلیک بر پایداری غشای سلولی، درصد خمیدگی، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز و تشکیل لیگنین بود. با توجه به نتایج آزمایش ارتباط مستقیم و منفی بین میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز و درجه خمیدگی ساقه وجود داشت. بر همین اساس رقم Double dutch با درجه خمیدگی کمتر، فعالیت آنزیمی دو برابری نسبت به Ecco با درجه خمیدگی بیشتر، نشان داد. همچنین اسید سالیسیلیک بسته به غلظت و رقم تأثیر معناداری بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیااز، تشکیل لیگنین و در نتیجه عارضه خمیدگی ساقه نشان داد. به طوری که بیشترین فعالیت آنزیمی در ارقام Double dutch و Ecco به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار حاصل شد. به طور کلی، نتایج آزمایش بیانگر تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک به ویژه در غلظت‌های پایین بر لیگنین ساقه گل‌دهنده و عارضه خمیدگی ساقه ارقام بررسی شده ژربرا بود.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم و حساس به خمیدگی ساقه، استحکام ساقه، ضایعات پس از برداشت، لیگنین، مسیر فنیل پروپانوئیدها.

مقدمه

به سایر بخش‌های گیاهان زینتی بیشترین سهم را دارد و بالغ بر ۷/۳ میلیارد دلار آمریکا است (Hewett et al., 2012). در بین گل‌های شاخه‌بریده، ژربرا (Gerbera

حجم تجارت جهانی گل و گیاهان زینتی بالغ بر ۱۷ میلیارد دلار است که ارزش گل‌های شاخه‌بریده نسبت

نشان دادند که عدم بیان ژن مربوط منجر به کاهش استحکام ساقه در برنج می‌شود. تشکیل لیگنین فرایند ترکیب درشت مولکول‌های فنیل پروپانویید^۴ به‌منزله^۴ یکی از مسیرهای بسیار مهم در متابولیسم ثانوی گیاهان است که منجر به تولید مواد فنلی مختلف (لیگنین، اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها) با وظایف ساختاری و مکانیزم‌های دفاعی است (Hatfield & Vermerris, 2001; Cai *et al.*, 2006). فرایند تشکیل لیگنین شامل بیوسنتز مونولیگنول‌ها^۵ (الکل‌های پی-کوماریل^۶، کونیفریل^۷ و سیناپیل^۸)، انتقال آن‌ها به دیواره سلولی و درنهایت پلیمریزه شدن آن‌ها تحت تأثیر فعالیت کاتالیزوری آنزیم‌های بسیاری همچون PAL^۹، POD^{۱۰}، CAD و غیره است (Hatfield & Vermerris, 2001; Ralph *et al.*, 2004). در این بین آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز (PAL; EC 4.3.1.5) آنزیم آغازکننده چرخه بیوسنتز لیگنین و یک آنزیم ضروری در متابولیسم فنیل پروپانویید و کاتالیزور ترانس سینامیک اسید (پیش‌ساز مواد فنلی) از طریق د-آمینه کردن L- فنیل آلانین است (Cai *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2006). اسید سالیسیلیک یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی با بنیان فنلی نقش کلیدی در تنظیم رشد گیاهی، واکنش با استرس‌های محیطی، گیلکولیز، گلدهی، جذب و انتقال یون‌ها، فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و تعرق دارد (Raskin, 1992; Senaratna *et al.*, 2000; Khan *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2003). آزمایشی بر روی تأثیر اسید سالیسیلیک روی گل‌های شاخه‌بریده میمون، آنمون و لوپین به‌صورت تیمار کوتاه‌مدت^{۱۱} (۲۰ ساعت) یا نبضی نشان دادند که اسید سالیسیلیک مانع از خمیدگی ناشی از زمین‌گرایی در شاخه‌های گل‌دهنده بسته به غلظت استفاده‌شده و نوع گل شد. همچنین تیمار گوجه‌فرنگی و جعفری با اسید سالیسیلیک یا متیل اسید سالیسیلیک منجر به افزایش بیان برخی از ژن‌های دفاعی از قبیل PAL شد (Thulke &

Jamesonii Bolus ex Hook f.) از تیره مرکب^۱ پس از رز، داوودی، لاله و لیلیوم با ارزشی برابر با ۱۲۴ میلیون دلار رتبه پنجم را به خود اختصاص داده است (Bloemenbureau Holland, Floraholand, 2011). توجه به روند در حال گسترش تقاضای مصرف‌کنندگان گل‌های شاخه‌بریده، ضرورت پژوهش‌ها درخصوص افزایش دوام عمر و حفظ کیفیت، کاهش عوارض فیزیولوژیکی و در نتیجه کاهش تلفات پس از برداشت این گل‌ها امری ضروری و اجتناب‌ناپذیر است.

عارضه خمیدگی ساقه گل‌دهنده مهم‌ترین عامل افت کیفیت، کاهش دوام عمر و تلفات پس از برداشت گل شاخه‌بریده ژربراست. ژنتیک (Ferrante *et al.*, 2007)، تغذیه (Gerasopoulos & Chebli, 1999) جابه‌جایی و انبارداری (Reid, 2001; Celikle & Reid, 2002)، هورمون‌های گیاهی (Mencarlli *et al.*, 1995; Reid, 2001; Celikle & Reid, 2002) و عدم تعادل آبی در آوند چوبی ساقه گل‌دهنده (Hoogerwer & Van Doorn, 1992; Van Doorn & Witte 1994) از دلایل مهم خمیدگی ساقه گل‌دهنده هستند. یکی از دلایل احتمالی عارضه خمیدگی، استحکام و مقاومت ساقه گل‌دهنده و تشکیل لیگنین^۲ در دیواره‌های سلولی به‌ویژه دیواره ثانوی است. تشکیل لیگنین علاوه بر تأثیر بسزا در استحکام و حالت رشد ایستاده ساقه، نقش مهمی در هدایت و انتقال آب در آوندهای چوبی ایفا می‌کند (Vanholme *et al.*, 2010). گزارش داد که ۳ روز قبل از خمیدگی ساقه ژربرا، جذب آب و وزن تر ساقه به‌شدت کاهش می‌یابد و درنهایت منجر به خمیدگی ساقه می‌شود. Guosheng *et al.* (2011) در بررسی آناتومی و فیزیولوژی نهج ساقه گل‌دهنده داوودی شاخه‌بریده فرم اسپری گزارش کردند که ارقام با دوام عمر بالا حاوی عناصر آوندی، مقدار لیگنین و مقدار آب نسبی بیشتری در مقایسه با ارقام با دوام عمر کمتر بودند. همچنین Li *et al.* (2009) با خاموشی ژن مربوط به آنزیم سینامیل الکل دهیدروژناز^۳ (CAD) به‌منزله آنزیم دخیل در بیوسنتز لیگنین در برنج

4. Phenylpropanoid macromolecule
5. Monolignols
6. *p*-Coumaryl alcohol
7. Coniferyl alcohol
8. Sinapyl alcohol
9. Phenylalanine ammonia lyase
10. Peroxidase
11. Pulse treatment

1. Asteraceae/Compositae
2. Lignification
3. CAD; Cinnamyl-alcohol dehydrogenase

برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز نمونه گیری و سپس محلول تمامی نمونه ها با ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر تعویض شدند. در طول آزمایش پارامترهای میزان جذب محلول نگهدارنده، تغییرات نسبی وزن گل (اسرار، ۲۰۱۲)، دوام عمر گل، نشت یونی (Poovaiiah & Leopold, 1973) و درصد خمیدگی ساقه (Celikle & Reid, 2002) بررسی شدند.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز (PAL) و

پروتئین

برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز از نمونه های ساقه (۱۰ سانتی متری زیر گل آذین) که قبلاً در زمان های ۲۴ و ۱۶، ۸ ساعت پس از اعمال تیمار اسید سالیسیلیک تهیه و درون نیتروژن مایع نگهداری شده بودند استفاده شد. اندازه گیری میزان فعالیت PAL براساس روش Redman (1999) پس از استخراج آنزیم با استفاده از بافر استخراجی فسفات سدیم (بافر ۰/۰۱ مولار با pH=۶) و سنجش از طریق مخلوط واکنشی (۶ μM فنیل آلانین؛ ۰/۰۵ مولار بافر Tris-HCl با pH=۸) به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷°C در انکوباتور و قرائت در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/visible lambda 45 Perkin Elmer) صورت پذیرفت. برای اندازه گیری پروتئین نمونه ها نیز از روش بردفورد استفاده شد (Bradford, 1976). سنجش میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیا ز براساس تعیین میزان اسید سینامیک تولید شده بر مایکرو گرم پروتئین، حاصل از ترکیب محلول حاوی آنزیم و محلول واکنشی پس از ۶۰ دقیقه و اتمام واکنش یاد شده توسط اسید کلریدریک ۵ نرمال به هر نمونه، انجام گرفت.

تعیین هیستوشیمیایی لیگنین

برای مطالعه هیستوشیمیایی لیگنین، ابتدا محلول هیدروکلرید-فلوروگلوکسینول به نسبت ۱ درصد (V/W) فلوروگلوکسینول در اسید کلریدریک ۶ نرمال را تهیه کرده و پس از قراردادن نمونه های تهیه شده از ناحیه ۱۰ سانتی متری زیر گل آذین، با استفاده از میکروسکوپ مجهز به دوربین دیجیتال (Olympus BX-41)، از قسمت های

پژوهش های انجام شده در خصوص عارضه خمیدگی ساقه و در راستای مطالعه ارتباط بین فعالیت آنزیم PAL، تشکیل لیگنین و در نتیجه عارضه خمیدگی ساقه گل دهنده، این پژوهش به منظور بررسی نقش تحریک کنندگی اسید سالیسیلیک بر آنزیم PAL روی دو رقم ژربرا با درجات مختلف خمیدگی ساقه (کم و زیاد) در شرایط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش ها

گل های شاخه بریده ژربرا مستقیماً از گلخانه ای مکانیزه و استاندارد واقع در شهرستان پاکدشت استان تهران، در صبح زود برداشت و بلافاصله پس از بسته بندی به آزمایشگاه پس از برداشت گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران (پردیس ابوریحان) منتقل شدند. برای شناسایی و تعیین ارقام با بیشترین و کمترین خمیدگی، ابتدا ۲۱ رقم ژربرا شاخه بریده بازارپسند انتخاب و طی یک آزمایش غربالگری در شرایط یکسان در آزمایشگاه پس از برداشت ارزیابی و سنجش شد و در پایان آزمایش، دو رقم Double dutch و Ecco به منزله ارقام انتخاب شده برای مطالعه تأثیر اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیمی و لیگنین و در نتیجه خمیدگی ساقه گزینش شدند. ارقام منتخب مجدداً از گلخانه مورد نظر برداشت و پس از انتقال به آزمایشگاه پس از برداشت گروه زیست شناسی دانشگاه بوعلی سینای همدان، تمامی ساقه های گل دهنده از ارتفاع ۴۰ سانتی متری قطع و پس از توزین اولیه به درون تیمارهای مشخص و از قبل آماده شده منتقل شدند. در طول دوره آزمایش تمامی شرایط محیطی (دما $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی $60 \pm 5\%$ ، مدت روشنایی ۱۲ ساعت و شدت نور برابر ۲۰ میکرو مول در مترمربع در ثانیه) کاملاً کنترل می شد. کاربرد غلظت های مختلف اسید سالیسیلیک (۱mM و ۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰) بر دو رقم Double dutch به منزله رقم با حداقل عارضه خمیدگی و Ecco به منزله رقم با درصد خمیدگی زیاد در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار (هر واحد آزمایشی شامل ۵ گل شاخه بریده و مجموعاً ۱۵ گل در هر تیمار) بررسی شده قرار گرفتند. پس از سپری شدن ۲۴ و ۱۶، ۸ ساعت از اعمال تیمار نبضی اسید سالیسیلیک، از هر تیمار

لیگنینی ساقه که در حضور معرف فلوروگلوکوسینول-اسید هیدروکلریدریک به رنگ قرمز مشاهده می‌شد عکس‌برداری شد (Zhong et al., 2000).

تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش

داده‌های آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS institute; 9.1) تجزیه و مقایسه‌های میانگین نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

دوام عمر، جذب آب و نشت یونی

دوام عمر به‌منزله مهم‌ترین شاخص کیفیت و ارزش گل شاخه‌بریده ژربرا به‌طور معناداری تحت‌تأثیر رقم، هورمون اسید سالیسیلیک و اثر متقابل رقم و هورمون قرار گرفت ($P < 0/01$) (جدول ۱). بر همین اساس رقم Double dutch دارای ۸ روز عمر گلجای بیشتری نسبت به رقم Ecco بود. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک در مقایسه با شاهد تا غلظت ۰/۷۵ میلی‌مولار منجر به افزایش معنادار دوام عمر شد؛ لیکن غلظت ۱ میلی‌مولار احتمالاً به‌دلیل سمیت ناشی از غلظت زیاد منجر به کاهش دوام عمر نسبت به شاهد شد. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود دوام عمر ژربرا به‌منزله مهم‌ترین فاکتور کیفیت پس از برداشت به‌طور معناداری تحت‌تأثیر اثر متقابل رقم و هورمون قرار گرفت؛ بر همین اساس بیشترین دوام عمر در رقم Double dutch و در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار (۲۲/۹۹ روز) و کمترین دوام عمر در رقم Ecco و تیمار شاهد یا بدون اسید سالیسیلیک (۸/۴۴ روز) مشاهده شد. همچنین بیشترین دوام عمر برای ارقام Double dutch و Ecco به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک حاصل شد. به عبارت دیگر رقم Double dutch به غلظت هورمون بیشتری نسبت به رقم Ecco برای افزایش عمر پس از برداشت نیاز دارد. همچنین نتایج بیانگر تأثیر معنادار رقم و اثر متقابل رقم و هورمون بر میزان جذب آب توسط ساقه گل‌دهنده بود ($P < 0/05$). به‌طوری‌که رقم Double dutch نسبت به رقم Ecco دارای جذب آب بیشتری بود. همچنین براساس مقایسه میانگین بین غلظت‌های مختلف هورمونی در هر دو رقم تفاوت

معناداری از نظر جذب آب مشاهده نشد؛ لیکن بیشترین و کمترین مقدار جذب آب در هر دو رقم به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ میلی‌مولار و شاهد مشاهده شد (جدول ۱). نشت یونی به‌منزله شاخص پایداری غشای سلولی نقش بسزایی در دوام عمر گل شاخه‌بریده ایفا می‌کند. نتایج آزمایش نشان داد که نشت یونی تحت‌تأثیر هورمون و اثر متقابل رقم و هورمون قرار می‌گیرد ($P < 0/05$)؛ به‌طوری‌که غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در مقایسه با شاهد منجر به کاهش چشمگیر و ۳۰ درصدی نشت الکترولیت یا همان نشت یونی غشای سلولی شد. براساس نتایج جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱) کمترین نشت یونی ارقام Double dutch و Ecco به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. بر همین اساس در رقم Double dutch افزایش غلظت هورمون از ۰/۷۵ میلی‌مولار و در رقم Ecco افزایش غلظت از ۰/۵ میلی‌مولار منجر به افزایش نشت یونی شد.

دوام عمر پس از برداشت ژربرا شدیداً تحت‌تأثیر ژنتیک (رقم) قرار می‌گیرد (Ferrante et al., 2007; Nazari Deljou et al., 2012). Nazari Deljou et al. (2012) در بررسی ۱۵ رقم ژربرا نشان دادند که دامنه تفاوت دوام عمر بین ارقام بررسی‌شده از ۱۰ الی ۱۸ روز بسته به رقم متفاوت بود. همچنین Elibox & Umaharan (2010) در بررسی تفاوت عمر ۱۷ رقم آنتوریوم شاخه‌بریده نشان دادند که رقم تأثیر بسزایی روی دوام عمر دارد؛ به‌طوری‌که در ارقام بررسی‌شده دامنه‌ای بین ۱۴ تا ۴۹ روز مشاهده شد. دوام عمر پس از برداشت ژربرا شدیداً تحت‌تأثیر جذب آب توسط ساقه گل‌دهنده قرار می‌گیرد (Van Meeteren, 1978). Nazari Deljou et al. (2012) نشان دادند که بین جذب آب و دوام عمر ارقام بررسی‌شده در ژربرا ارتباط مستقیمی وجود دارد؛ به‌طوری‌که ارقام با دوام عمر زیاد میزان جذب آب بیشتری در مقایسه با ارقام با دوام عمر پایین و میزان جذب آب کمتر داشتند که با نتایج این پژوهش مطابقت و همخوانی دارد. همچنین Alaey et al. (2011) در بررسی دوام عمر گل شاخه‌بریده رز تحت‌تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک نشان دادند، تیمار اسید سالیسیلیک سبب بهبود دوام عمر گل رز شد.

می‌توان به پتانسیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اسید سالیسیلیک در ارتباط با کنترل رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کاهش تخریب اکسیداسیونی غشای سلولی ناشی از رادیکال‌های آزاد و در نتیجه کنترل نشت الکترولیتی یا همان نشت یونی سلول مرتبط دانست.

درواقع بهبود دوام عمر گل رز مرتبط به افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و در نتیجه کاهش رادیکال‌های آزاد و نیز بهبود روابط آبی و افزایش جذب تجمعی آب تحت تأثیر اسید سالیسیلیک گزارش شد. در واقع کاهش نشت یونی مشاهده شده در این آزمایش را

جدول ۱. مقایسه میانگین تأثیر رقم و اسید سالیسیلیک بر جذب آب، نشت یونی و دوام عمر پس از برداشت ژربرا*

رقم	اسید سالیسیلیک (mM)	دوام عمر (Day)	تغییرات جذب آب (ml/g FW/day)	نشت یونی (%)
	۰	۱۵/۱۷±۲/۰۸ ^{cf}	۰/۵۱±۰/۰۱۴ ^{abcd}	۹/۳۵±۰/۲۳ ^a
	۰/۲۵	۱۸/۲۹±۱ ^b	۰/۵۲±۰/۰۱۳ ^{abc}	۸/۸۷±۱/۱ ^{ab}
'Double dutch'	۰/۵	۲۲/۹۹±۰/۸۸ ^a	۰/۵۸±۰/۰۴۳ ^a	۵/۶۲±۰/۵۳ ^c
	۰/۷۵	۲۰/۴۴±۰/۹۸ ^{ab}	۰/۵۶±۰/۰۱۳ ^a	۶/۷۱±۰/۱۷ ^{bc}
	۱	۱۴/۰۷±۱/۲۸ ^{cd}	۰/۵۵±۰/۰۲۲ ^{ab}	۶/۸۵±۱/۶۴ ^{abc}
	۰	۸/۵۳±۰/۴۴ ^f	۰/۴۱±۰/۰۱۴ ^d	۸/۳۷±۰/۵۵ ^{ab}
	۰/۲۵	۱۲/۰۴±۰/۷۳ ^{cde}	۰/۴۳±۰/۰۶۹ ^d	۶/۵۸±۰/۳۸ ^{bc}
	۰/۵	۱۱/۷۷±۰/۹۵ ^{cd}	۰/۴۵±۰/۰۱۵ ^{bcd}	۶/۶۵±۰/۱۷ ^{bc}
'Ecco'	۰/۷۵	۱۰/۱۹±۰/۲۴ ^{ef}	۰/۴۴±۰/۰۱۸ ^{cd}	۷/۴۸±۰/۳۵ ^{abc}
	۱	۸/۴۴±۰/۱۱ ^f	۰/۴۲±۰/۰۲۶ ^d	۸/۲۲±۱/۰۸ ^{abc}

* میانگین صفات بررسی شده ± میزان خطای استاندارد

|| میانگین‌هایی که در ستون حروف مشابه دارند براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معناداری با هم ندارند.

تمامی گزارش‌ها علت اصلی بهبود دوام عمر تحت تأثیر اسید سالیسیلیک ناشی از بهبود روابط آبی گل شاخه‌بریده به دلایل مختلف مانند کنترل باکتریایی محلول نگهدارنده، حفظ تراوایی غشای سلولی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی است؛ و همان‌طوری که در نتایج این پژوهش نیز گزارش شد اسید سالیسیلیک بسته به رقم و غلظت استفاده شده منجر به افزایش (۵/۵) روز دوام عمر در مقایسه با شاهد، در راستای بهبود جذب روزانه آب و کنترل نشت یونی سلولی شده است که با نتایج پژوهش‌های یادشده همسو است.

میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایز (PAL)

نتایج آزمایش بیانگر تأثیر معنادار رقم، هورمون، زمان فعالیت پس از برداشت و اثر متقابل بین آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم PAL بود ($P < 0.01$). بر همین اساس میزان فعالیت آنزیم PAL در رقم Double dutch با درجهٔ خمیدگی کمتر، ۲ برابر رقم Ecco با درجهٔ خمیدگی بیشتر بود (شکل ۱-۱). همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک تأثیر معناداری بر فعالیت آنزیم PAL

براساس نتایج آزمایش، تیمار هورمونی بسته به غلظت استفاده شده سبب بهبود جذب آب و کاهش نشت یونی در هر دو رقم در مقایسه با شاهد شده که با نتایج پژوهش‌های متعدد مبنی بر تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک بر روابط آبی پس از برداشت گل شاخه‌بریده مطابقت و همخوانی دارد. در همین ارتباط Hashemi *et al.* (2012) در بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک و متیل جاسمونات بر عمر گلجایی گل ژربرا نشان دادند که تیمار هورمونی سبب افزایش جذب آب به دلیل کنترل آلودگی‌های باکتریایی محلول نگهدارنده می‌شود؛ همچنین Jalili Marandi *et al.* (2011) نشان دادند تیمار اسید سالیسیلیک (۱/۵ میلی‌مولار) گلابول منجر به افزایش دوام عمر تا ۳ روز در مقایسه با شاهد شد. در آزمایش دیگری Ezhilmathi *et al.* (2011) گزارش دادند تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلابول با ۵- اسید سولفوسالیسیلیک منجر به افزایش ۲ برابری دوام عمر گل شاخه‌بریده به دلیل کاهش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز، تراوایی غشای سلولی و کاهش تسریع روند پیری می‌شود. در

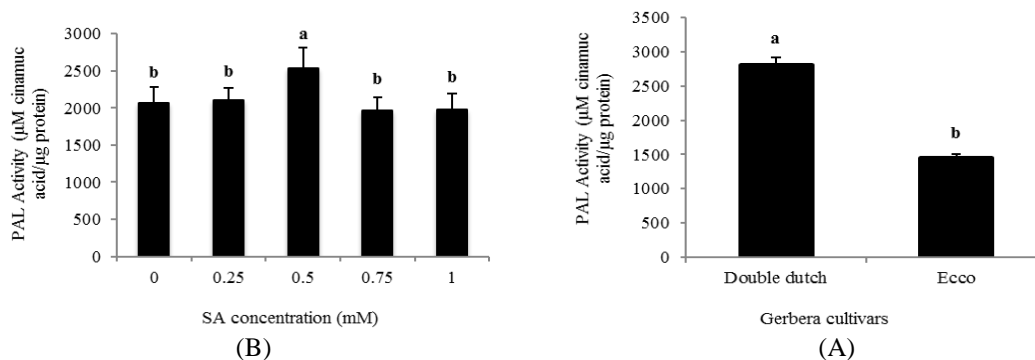
آنزیم PAL در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار ۱/۸ برابر تیمار شاهد بود.

روند فعالیت پس از برداشت آنزیم PAL، بسته به رقم بررسی شده متفاوت بود (شکل ۳)؛ به طوری که فعالیت آنزیمی در رقم Double dutch در تمامی زمان‌های پس از برداشت، میزان فعالیت بیشتری در مقایسه با رقم Ecco داشت؛ به علاوه بیشترین فعالیت آنزیمی در ۸ ساعت اولیه پس از شروع اعمال تیمار مشاهده شد. در حالی که در رقم Ecco روند فعالیت آنزیم نسبت به زمان رابطه‌ای معکوس داشته و با سپری شدن زمان پس از برداشت میزان فعالیت آنزیمی روند نزولی نشان داد.

نشان داد؛ به طوری که بیشترین فعالیت آنزیمی در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۱-B).

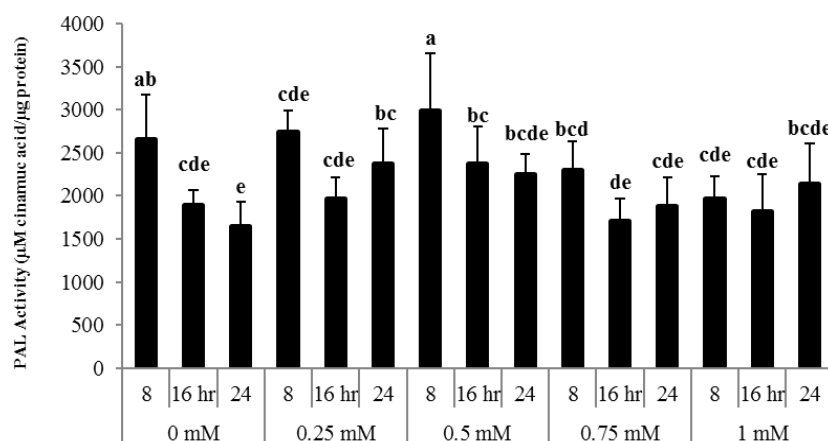
همچنین نتایج تجزیه واریانس بیانگر تأثیر معنادار اثر متقابل زمان و هورمون (شکل ۲)، رقم و زمان (شکل ۳) و رقم، زمان و هورمون (جدول ۲) بر میزان فعالیت آنزیم PAL در سطح ۱ درصد بود.

همان طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌شود بیشترین فعالیت PAL مربوط به تیمار ۰/۵ و ۸ ساعت اولیه پس از اعمال تیمار و کمترین میزان فعالیت آنزیمی مربوط به تیمار شاهد و ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار است. به عبارت دیگر میزان فعالیت



شکل ۱. تأثیر رقم (A) و اسید سالیسیلیک (B) بر فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (PAL) در گل شاخه‌بریده ژربرا

(حروف غیرمشابه و میله‌های روی هر ستون (Error Bars) به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) و خطای استاندارد (Mean \pm SEM) است.)



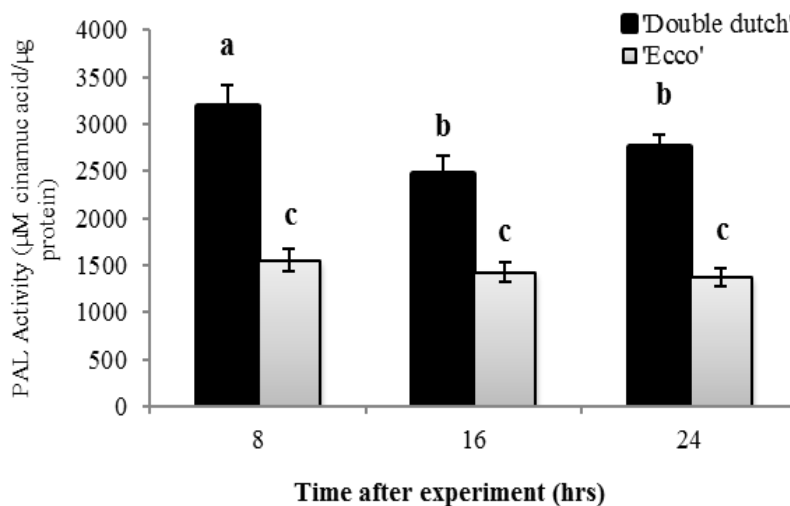
SA concentration at different time

شکل ۲. تأثیر زمان و اسید سالیسیلیک بر فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیاز (PAL) در گل شاخه‌بریده ژربرا

(حروف غیرمشابه و میله‌های روی هر ستون (Error Bars) به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) و خطای استاندارد (Mean \pm SEM) است.)

Ecco با درصد خمیدگی زیاد، فعالیت آنزیمی ۲۴ ساعت پس از برداشت روند نزولی نشان داد، بر همین اساس تحریک فعالیت آنزیم PAL در راستای افزایش تشکیل لیگنین در دوره پس از برداشت به ویژه برای گل شاخه بریده ژبررا که ساقه گل دهنده آن پس از برداشت نیز رشد می کند، می تواند بسیار حائز اهمیت باشد.

جدول ۲ بیانگر میزان و روند فعالیت پس از برداشت آنزیم PAL تحت تأثیر اثر متقابل هورمون اسید سالیسیلیک، زمان و رقم است. بر همین اساس بیشترین میزان فعالیت آنزیم PAL در رقم Double dutch، غلظت ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک و ۸ ساعت پس از اعمال تیمار مشاهده شد. براساس نتایج آزمایش به ویژه در رقم



شکل ۳. تأثیر رقم و زمان بر فعالیت پس از برداشت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز (PAL) در گل شاخه بریده ژبررا (حروف غیرمشابه و میله های روی هر ستون (Error Bars) به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار براساس آزمون چنددامنه ای دانکن ($P < 0.05$) و خطای استاندارد (Mean \pm SEM) است.)

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم، هورمون سالیسیلیک اسید و زمان بر فعالیت آنزیم PAL در ژبررا

رقم	هورمون سالیسیلیک اسید (mM)		
	۸	۱۶	۲۴
'Double dutch'	۳۷۲۳/۴ ^{ab}	۲۱۲۴/۵ ^{efghi}	۲۲۴۳/۱ ^{defgh†}
	۲۴۵۴/۸ ^{cdefg}	۲۵۰۹/۲ ^{cdef}	۳۲۷۱/۹ ^{bc}
	۴۳۴۲/۸ ^a	۳۱۱۶/۳ ^{bcd}	۲۶۱۱/۲ ^{cde}
	۳۰۲۳/۸ ^{bcd}	۱۹۵۰/۱ ^{efghij}	۲۵۸۳/۳ ^{cde}
	۲۴۴۲/۱ ^{cdefg}	۲۶۸۰/۲ ^{cde}	۳۰۵۶/۸ ^{bcd}
'Ecco'	۱۶۰۲/۴ ^{ghijk}	۱۶۵۹/۸ ^{ghijk}	۱۰۶۰/۵ ^{jk}
	۱۴۵۶/۱ ^{hijk}	۱۴۲۹/۶ ^{hijk}	۱۴۷۹/۲ ^{hijk}
	۱۶۳۵/۶ ^{efghijk}	۱۶۲۳ ^{ghijk}	۱۹۰۲/۷ ^{efghij}
	۱۵۸۰/۸ ^{ghijk}	۱۴۵۶/۴ ^{hijk}	۱۱۸۳/۳ ^{jk}
	۹۵۶/۱ ^k	۱۴۹۲/۸ ^{hijk}	۱۲۲۹/۶ ^{ijkl}

† میانگین هایی که در ستون و ردیف با حروف مشترک مشخص شده اند با یکدیگر اختلاف معناداری براساس آزمون چنددامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

متفاوت است. همان طور که در شکل ۴ مشاهده می شود میزان تشکیل لیگنین در هر دو رقم در تیمار شاهد (بدون تیمار هورمونی)، به مراتب کمتر از تیمار ۰/۵ میلی مولار اسید سالیسیلیک که بیشترین فعالیت آنزیم

تشکیل لیگنین

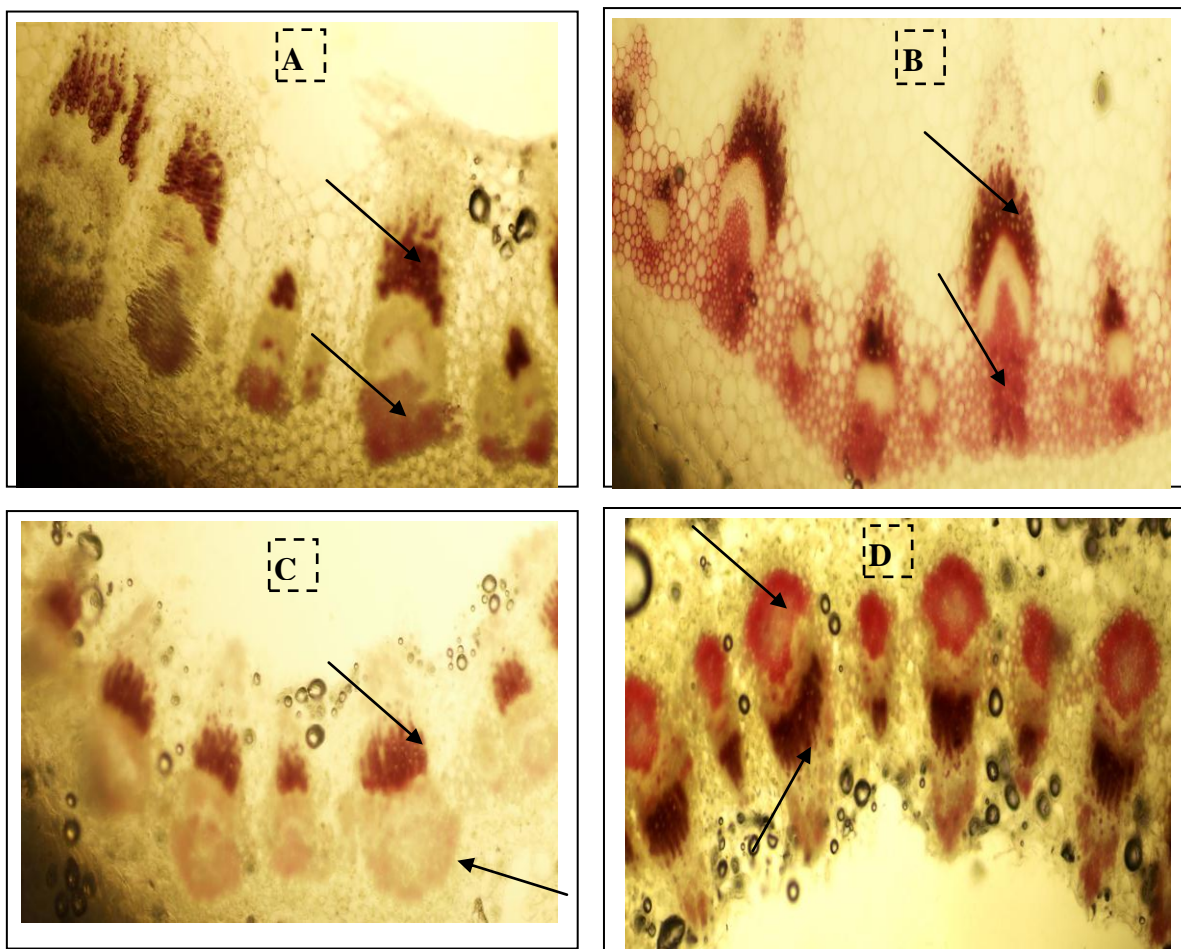
بررسی هیستوشیمیایی ساقه های گل دهنده ژبررا در تیمارهای مختلف نشان داد که الگوی لیگنینی شدن ساقه گل دهنده ژبررا بسته به رقم و تیمار هورمونی

بر خمیدگی ساقه ژبراست ($P < 0/05$). بر همین اساس رقم Double dutch درجه خمیدگی به مراتب کمتری نسبت به رقم Ecco داشت. همچنین اسید سالیسیلیک بسته به غلظت و رقم منجر به کاهش درجه خمیدگی پس از برداشت ژبراست؛ بر همین اساس رقم Double dutch در تمامی غلظت‌های استفاده شده درجه خمیدگی کمتری دارد (شکل ۵)؛ به‌طور کلی، بهترین غلظت برای کاهش درجه خمیدگی ساقه، غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار برای هر دو رقم بود.

PAL را داشت، بوده است. به عبارتی نتایج حاصل بیانگر ارتباط بین فعالیت آنزیم PAL به‌منزله کلیدی‌ترین آنزیم دخیل در مسیر بیوسنتز لیگنین و لیگنینی‌شدن ساقه ژبراست.

خمیدگی ساقه گل‌دهنده

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیانگر تأثیر معنادار رقم ($P < 0/01$) و نتایج حاصل از مقایسه میانگین بیانگر تأثیر معنادار رقم، هورمون و اثر متقابل رقم و هورمون



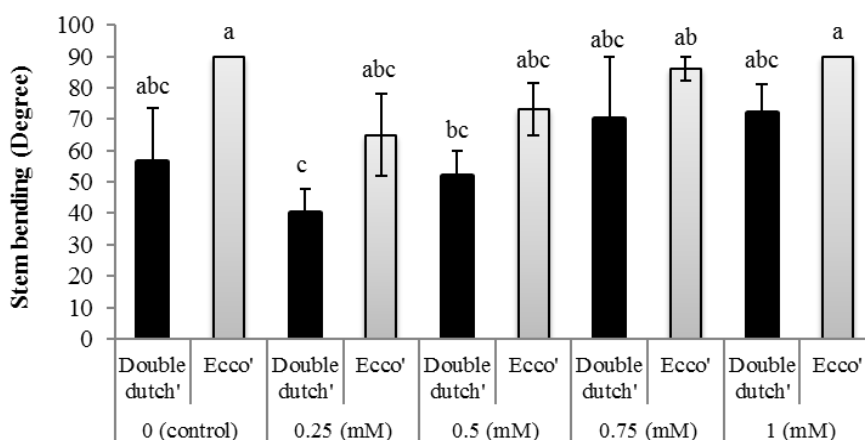
شکل ۴. مقطع عرضی ساقه گل‌دهنده ژبراست پس از برداشت در تیمارهای مختلف (A و B به ترتیب تیمار شاهد و ۰/۵ mM اسید سالیسیلیک - رقم Double dutch؛ C و D به ترتیب تیمار شاهد و ۰/۵ mM اسید سالیسیلیک - رقم Ecco) (نواحی قرمز رنگ و مشخص شده در شکل بیانگر لیگنینی‌شدن ساقه هستند).

بدون عارضه خمیدگی ساقه تعیین می‌شود، لیکن برخی از ارقام به‌رغم عدم پژمردگی گل، ساقه دچار عارضه خمیدگی شده و براساس کیفیت و رتبه‌بندی گل، ساقه با خمیدگی بیش از ۹۰ درجه ارزش

مدت ماندگاری یا دوام عمر پس از برداشت ژبراست تحت تأثیر ۲ عامل مهم یعنی پژمردگی و خمیدگی ساقه گل‌دهنده قرار می‌گیرد؛ به عبارتی برخی از ارقام ژبراست پایان عمر گل‌هایشان با شاخص پژمردگی گل و

کاهش شدید در جذب آب و پژمردگی و در نتیجه عدم استحکام و توانایی ساقه برای نگهداری گل آذین به وجود آمده است. Van Meeteren (1978) نشان داد خمیدگی ساقه شدیداً تحت تأثیر جذب آب و شادابی گل اتفاق می‌افتد؛ به طوری که قبل از خمیدگی ساقه افت شدیدی در جذب آب و وزن تر گل رخ می‌دهد. با توجه به نتایج آزمایش کمترین خمیدگی ساقه در غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در هر دو رقم حاصل شده است.

نگهداری نداشته (Celikle & Reid, 2002) بنابراین خمیدگی بیش از ۹۰ درجه پایان عمر گل محسوب می‌شود. با توجه به نتایج آزمایش رقم Double dutch دوام عمر تقریباً ۲ برابری نسبت به رقم Ecco داشت؛ براساس نتایج یادشده علت اصلی پایان عمر رقم Ecco با توجه به ظاهر شاداب گل، خمیدگی ساقه و نه پژمردگی بود؛ در حالی که در رقم Double dutch عمدتاً پژمردگی گل عامل اصلی پایان عمر بوده و خمیدگی مشاهده شده عملاً در روزهای پایانی عمر گل و به دلیل



شکل ۵. تأثیر اسید سالیسیلیک و رقم بر درجه خمیدگی پس از برداشت ژبرای شاخه بریده (حروف غیرمشابه و میله‌های روی هر ستون (Error Bars) به ترتیب بیانگر اختلاف معنادار براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P < 0.05$) و خطای استاندارد (Mean \pm SEM) است).

مهم کنترل کیفیت و تعیین‌کننده دوام عمر گل‌های شاخه‌بریده شدیداً تحت تأثیر تعادل بین جذب و از دست دادن (تعرق) آب قرار می‌گیرد (Da Silva, 2003). Perike *et al.* (2012) گزارش دادند بین خمیدگی ساقه و روابط آبی ژبرای ارتباط مستقیمی وجود دارد. در نتیجه هر عاملی که منجر به افزایش یا کاهش این تعادل شود نقش بسزایی در پژمردگی و تسریع در پیری گل ایفا می‌کند. بنابراین، تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک می‌تواند به نقش مثبت این هورمون در کنترل شادابی ناشی از بهبود جذب آب، حفظ پایداری غشای سلولی، تأخیر در پژمردگی و در نتیجه کنترل دوام عمر و عارضه خمیدگی ساقه باشد. عامل دوم در ارتباط با تأثیر مثبت اسید سالیسیلیک را می‌توان به تأثیر مثبت و نقش محرک هورمون اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم PAL و در نتیجه تشکیل لیگنین در ساقه گل‌دهنده مرتبط دانست. بر همین اساس

ژنتیک (Ferrante *et al.*, 2007)، تغذیه (Gerasopoulos & Chebli, 1999) دمای جابه‌جایی و انبارداری (Reid, 2001; Celikle & Reid, 2002)، هورمون‌های گیاهی (Mencarlli *et al.*, 1995; Emongor, 2004) و عدم تعادل آبی در آوند چوبی ساقه گل‌دهنده (Hoogerwer & Van Doorn, 1992; Van Doorn & Witte 1994) از دلایل مهم خمیدگی ساقه گل‌دهنده ژبرای هستند. براساس نتایج آزمایش تأثیر تیمار اسید سالیسیلیک بر دوام عمر و خمیدگی ساقه از دو جنبه بهبود جذب آب و در نتیجه تعادل در روابط آبی ساقه گل‌دهنده و نیز پدیده تشکیل لیگنین و استحکام ساقه قابل بحث و بررسی است. براساس نتایج آزمایش اسید سالیسیلیک تأثیر مثبتی بر جذب آب، پایداری غشای سلولی و در نتیجه افزایش دوام عمر و کاهش خمیدگی ساقه در ژبرای نشان داد. تعادل آبی به‌منزله یکی از عوامل

بررسی آناتومی و فیزیولوژی نهنج ساقه گل دهنده داوودی شاخه بریده فرم اسپری گزارش دادند که ارقام با دوام عمر بالا حاوی عناصر آوندی، مقدار لیگنین و مقدار آب نسبی بیشتری در مقایسه با ارقام با دوام عمر کمتر هستند که با نتایج این پژوهش مبنی بر تأثیر بسزای لیگنین به منزله عامل انتقال دهنده آب در ساقه و نیز نقش مهم در استحکام ساقه و در نتیجه افزایش دوام عمر و کاهش خمیدگی ساقه گل دهنده، مطابقت و همخوانی دارد.

نتیجه گیری کلی و پیشنهادها

در حال حاضر پژوهش های بسیار وسیعی برای روشن شدن دلایل و برطرف کردن عارضه خمیدگی ساقه در ژربرا در حال انجام است؛ بر همین اساس پدیده تشکیل لیگنین یکی از فرضیه های بررسی شده در ژربرا است. براساس نتایج آزمایش مبنی بر ارتباط بین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایاز و درجه خمیدگی ساقه و نیز تأثیر مثبت و محرک اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایاز و در نتیجه تشکیل لیگنین به ویژه طی دوره پس از برداشت همزمان با رشد ساقه در نواحی وقوع خمیدگی گل آذین، استفاده از محرک های تخصصی این آنزیم و سایر آنزیم های دخیل در تشکیل لیگنین و نیز سنجش کمی لیگنین در راستای افزایش قابل توجه تشکیل لیگنین و نیز حصول نتایج دقیق در آزمایش های بعدی ضروری و اجتناب ناپذیر است.

Chen *et al.* (2006) با بررسی تأثیر اسید سالیسیلیک در آنزیم PAL و فنیل پروپانوییدها در انگور بیان کردند که تیمار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش فنل کل شد. همچنین تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت $150 \mu\text{M}$ سبب القای فعالیت PAL پس از ۸ ساعت از شروع تیمار شد و بیشترین فعالیت ۱۶ ساعت پس از اعمال تیمار به میزان $1/39$ برابر در مقایسه با شاهد مشاهده شد. در آزمایش دیگری اسید سالیسیلیک با غلظت های مختلف از 0.1 الی 5 میلی مولار در گل های شاخه بریده میمون، آزمون و لوپین به صورت تیمار کوتاه مدت (۲۰ ساعت) بررسی شد. نتایج آزمایش نشان داد که اسید سالیسیلیک مانع از خمیدگی ناشی از زمین گرایی در شاخه های گل دهنده بسته به غلظت استفاده شده می شود. در این آزمایش تیمار 5 میلی مولار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش درصد پژمردگی گل ها به میزان $10-15$ درصد در گل های لوپینوس و $20-50$ درصد در گل های میمون پس از 5 و 11 روز از شروع آزمایش شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تأثیر اسید سالیسیلیک روی خمیدگی ساقه پدیده ای وابسته به نوع گل و غلظت اسید سالیسیلیک استفاده شده است (Friedman *et al.*, 2003). همچنین Perike *et al.* (2012) در بررسی علل خمیدگی ساقه در ژربرا نشان دادند توسعه اسکلرانسیم و تشکیل لیگنین در ساقه گل دهنده یکی از عوامل اصلی خمیدگی در ساقه ژربرا است. در همین راستا Guosheng *et al.* (2011) در

REFERENCES

- Alaey, A., Babalar, M., Naderi, R. & Kafi, M. (2012). Effect of pre-and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase life of rose cut flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 61, 91-94.
- Asrar, A.A. (2012). Effects of some preservative solutions on vase life and keeping quality of snapdragon (*Antirrhinum majus* L.) cut flowers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 29-35.
- Botondi, R., Esposito, G., Massantini, R. & Mencarlli, F. (1998). Influence of auxins on stem bending in cut gerbera flowers. *Advances in Horticultural Science*, 12, 127-131.
- 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.
- Cai, C., Xu, C., Li, X., Ferguson, I. & Chen, K. (2006). Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignifications enzymes in loquat fruit after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 163-169.
- Celikle F. G. & Reid, M. S. (2002). Storage temperature affects the quality of the cut flowers from the Asteraceae. *Hortscience*, 37(1), 148-150.
- Chen, J., Wen, P. F., Kong, W. F., Pan, Q. H., Zhan, J. c., Li, J. M., Wan, S. B. & Huang, W. D. (2006). Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and Phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries. *Postharvest Biology and Technology*, 40, 64-72.
- Da Silva, J.A.T. (2003). The cut flower postharvest considerations. *Online Journal of Biological Sciences*, 3, 406-442.

9. Ding, C.K., Wang, C.Y. & Gross, K.C. (2002). Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 214, 895-901.
10. Elibox, W. & Umaharan, P. (2010). Cultivar differences in the deterioration of vase life in cut flowers of *Anthurium andraeanum* is determined by mechanisms that regulate water uptake. *Scientia Horticulturae*, 124, 102-108.
11. Emongor, V. E. (2004). Effect of gibberellic acid on postharvest quality and vase life of gerbera cut flowers (*Gerbera jamesonii*). *Journal of Agronomy*, 3(3), 191-195.
12. Ezhilmathi, K., Singh, V. P., Arora, A. & Sairam, R. K. (2007). Effect of 5-sulfosalicylic acid on antioxidant activity in relation to vase of *Gladiolus* cut flowers. *Plant Growth Regulator*, 51, 99-108.
13. Ferrante, A., Alberici, A., Antonacci, S. & Serra, G. (2007). Effect of Promoter and inhibitors of Phenylalanine Ammonia-Lyase enzyme on stem bending of cut Gerbera flowers. *Acta Horticulturae*, 755, 471-476.
14. Friedman, H., Meir, S., Halvey, H. & Philosoph, S. (2003). Inhibition of the gravitropic bending response of flowering shoots by salicylic acid. *Plant Science*, 165, 905-911.
15. Gerasopoulos, D. & Chebli, B. (1999). Effect of pre and postharvest Calcium application on the vase life of cut gerberas. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74, 78-81.
16. Guosheng, L., Dejuan, T., Fadi, C., Ya, S., Weimin F., Zhiyong, G., Zhaolei, L. & Sumei, C. (2011). The anatomy and physiology of spray cut chrysanthemum pedicels, and expression of a caffeic acid 3-O-methyltransferase homologue. *Postharvest Biology and Technology*, 60, 244-250.
17. Hashemi, M., Mirdehghan, S. H., Farahmand, H. & Dashti, H. (2011). Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on quality and vase life of gerbera cut flower (*Gerbera jamesonii* cv. Sazu). *Journal of Horticultural Science*, 26 (3), 311-320. (In Farsi).
18. Hatfield, R. & Vermerris, W. (2001). Lignin Formation in Plants. The dilemma of linkage specificity. *Plant Physiology*, 126, 1351-1357.
19. Hewett, E., Warrington, I. & Hale, C. (2012). Harvesting the Sun; A profile of world horticulture. *Scripta Horticulture*, A publication of the international society for horticultural science (ISHS).
20. Hoogerwerf, A. & Van Doorn, W. (1992). Numbers of bacteria in aqueous solutions used for postharvest handling of cut flowers. *Postharvest Biology and Technology*, 1, 295-304.
21. Jalili Marandi, R., Hassani, A., Abdollahi, A., & Hanafi, S. (2011). Improvement of the vase life of cut gladiolus flowers by essential oils, salicylic acid and silver thiosulfate. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(20), 5039-5043.
22. Khan, W., Prithviraj, B., & Smith, D. L. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *Journal of Plant Physiology*, 160, 485-492.
23. Li, X., Yang, Y., Yao, J., Chen, G., Li, X., Zhang, Q. and Wu, X. (2009). FLEXIBLE CULM 1 encoding a cinnamyl-alcohol dehydrogenase controls culm mechanical strength in rice. *Plant Molecular Biology*, 69, 685-697.
24. Mencarlli, F., Agostini, R., Botondi, R. & Masantini, R. (1995). Ethylene production, ACC content, PAL and POD activities in excited sections of straight and bent gerbera scapes. *Journal of Horticultural Science*, 70(3), 409-416.
25. Nazari Deljou, M. J., Pour Youssef, M., Karamian, R. & Jaberian, H. H. (2012). Effect of Cultivar on Water Relations and Postharvest Quality of Gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus ex. Hook f.) Cut Flower. *World Applied Sciences Journal*, 18 (5), 698-703.
26. Perike R. J. P., Raze, D., Harkema, H., Zhong, Y. & Van Doorn, W. G. (2012). Bending in cut *Gerbera jamesonii* flowers relates to adverse water relations and lack of stem sclerenchyma development, not to expansion of the stem central cavity or stem elongation. *Scientia Horticulturae*, 74, 11-18.
27. Poovaiah, B. W. & Leopold A. C. (1973). Defferal of leaf. Senescence with calcium. *Plant physiology*, 52, 236-239.
28. Ralph, J., Lundquist, K., Brunow, G., Lu, F., Kim, H., Schatz, P. F., Marita, J. M., Hatfield, R. D., Ralph, S. A. & Christensen, J. H. (2004). Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids. *Phytochemistry Reviews*, 3, 29-60.
29. Raskin, I. (1992). Salicylate, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99, 799-803.
30. Redman, R. S., Freeman, S., Clifton, D. R., Morrel, J., Brown, G. & Rodroguet, R. J. (1999). Biochemical analysis of plant protection afforded by nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. *Plant physiology*, 119, 795-804.
31. Reid, M. (2001). Advances in shipping and handling of ornamentals. *Acta Horticulturae*, 543, 277-284.
32. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. & Dixon, K. (2000). Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulator*, 30, 157-161.
33. Thulke, O. & Conrath, U. (1998). Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley. *Plant Journal*, 14, 35-42.

34. Van Doorn, W. G. & Witte, Y. D. (1994). Effect of bacteria on scape bending in cut gerbera jamesonii flowers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 378- 657.
35. Van Meeteren, U. (1978). Water relations and keeping quality of cut gerbera flowers. The cause of stem break. *Scientia Horticulturae*, 8, 65-74.
36. Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J. & Boerjan, W. (2010). Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology*, 153, 895-905.
37. Zhong, R., Ripperger, A. & Ye, Z. (2000). Ectopic deposition of lignin in the pith of stems of two Arabidopsis mutants. *Plant Physiology*, 123, 59-69.