

تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین بر ویژگی‌های کمی، کیفی و عمر پس از برداشت گل شاخه‌بریده لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum* cv. *Miarichi Grand white*)

داوود عطایی^۱، روح‌انگیز نادری^{۲*} و عزیزالله خندان میرکوهی^۳

۱، ۲ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۲۰)

چکیده

این آزمایش باهدف بررسی تأثیر محلول‌پاشی برگ پوترسین در مرحله پیش از برداشت بر کیفیت رویشی و ویژگی‌های پس از برداشت گل شاخه‌بریده لیزیانتوس رقم میاریچی گرد وایت انجام شد. گیاهان در گلدان‌های محتوای خاک زراعی، ماسه و خاک‌برگ پوسیده با نسبت ۱:۱:۱ حجمی کشت شدند. تیمارها در مرحله پیش از برداشت شامل پوترسین با چهار غلظت ۰ (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار بودند که در مرحله انگیزش غنچه انجام شد. صفات مربوط به کیفیت رویشی شامل طول و قطر غنچه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده و وزن تر و خشک آن، سطح برگ و محتوای سبزینه (کلروفیل) بودند. نتایج نشان داد، تیمار پوترسین منجر به افزایش بسیاری از ویژگی‌ها مانند طول و قطر غنچه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده و وزن تر و خشک آن، سطح برگ و محتوای سبزینه برگ و محتوای سبزینه برگ نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین در بین غلظت‌ها پوترسین ۲ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را بر عامل‌های اندازه‌گیری شده داشتند. به‌منظور بررسی تأثیر تیمارهای پیش از برداشت پوترسین بر ویژگی‌های پس از برداشت گل شاخه‌بریده لیزیانتوس، گل‌ها در مرحله‌ای که دو غنچه آن به‌طور کامل باز شدند، برداشت شدند. نتایج نشان داد، تیمارهای پیش از برداشت منجر به افزایش عمر گلجایی، حفظ بهتر وزن تر نسبی و جذب آب نسبی نسبت به تیمار شاهد شدند. همچنین کاهش میزان نشت یونی، تجمع کمتر مالون‌دی‌آلدئید، فعالیت کمتر آنزیم لیپوکسیژناز، تجمع کمتر H₂O₂ و بهبود آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین نسبت به تیمار شاهد به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های پاداکسنده، جذب آب، عمر گلجایی، کیفیت رویشی، لیپوکسیژناز، مالون‌دی‌آلدئید.

Impact of preharvest putrescine treatment on quantitative, qualitative traits and postharvest vase life of *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* cv. *Miarichi Grand white*) cut flowers

Davoud Ataai¹, Roohangiz Naderi^{2*} and Azizollah Khandan-Mirkohi³

1, 2, 3. Former M.Sc. Student, Professor and Assistant Professor, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: May 11, 2015 - Accepted: Sep. 11, 2015)

ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate the effect of foliar application of putrescine on the pre-harvest stage on vegetative quality and postharvest attributes of *Lisianthus* 'Miarichi Grand white' cut flowers. Plants were planted in the pots containing soil, sand and peat with a volume ratio of 1: 1: 1. The pre-harvest putrescine treatments by 0 (distilled water), 0.5, 1, and 2 mM were applied as foliar spray at the stage of bud initiation. Vegetative quality attributes such as number of flower bud, flower bud length and diameter, flower stem length, flower stem fresh and dry weight, leaf area and chlorophyll content were measured. Results showed that application of putrescine increased number of flower bud, flower bud length and diameter, flower stem length, flower stem fresh and dry weight, leaf area and chlorophyll content compared to the control. Also, putrescine at 2 mM was the most effective treatments in this study. To investigate the effects of preharvest putrescine on postharvest characteristics of *Lisianthus* cut flowers, the flowers were harvested when two flowers were fully opened. The results showed that pre-harvest treatment led to increase vase life, relative fresh weight and relative water uptake compared to the control. Also, the decrease in ionic leakage, less accumulation of malondialdehyde, reduced enzyme activity lipoxigenase, less accumulation of H₂O₂ and increase of antioxidant enzymes catalase and ascorbate peroxidase in the concentration of 2 mM putrescine were observed.

Keywords: Antioxidant enzymes, lipoxigenase, malondialdehyde, vase life, vegetative quality, water uptake.

* Corresponding author E-mail: rnaderi@ut.ac.ir

مقدمه

تولید و پرورش گل‌های شاخه‌بریده مختلف در صنعت گل‌کاری و عرضه آن‌ها در بازارهای داخلی و خارجی در حال گسترش است. ارزش بالای گل‌های شاخه‌بریده منجر به افزایش تولید این محصولات در کشورهای در حال توسعه از جمله ایران شده است. شرایط آب و هوایی و اقلیم متنوع کشور ایران، امکان تولید گل‌ها و گیاهان زینتی را که قابلیت ارزآوری بالایی دارند، فراهم کرده و می‌تواند به‌عنوان یک منبع بالقوه اقتصادی مورد توجه قرار گیرد. طول عمر گل‌های شاخه‌بریده تحت تأثیر عامل‌های پیش و پس از برداشت قرار می‌گیرد. کیفیت و طول عمر گل‌های شاخه‌بریده بستگی به شرایط کاشت و شرایط حمل‌ونقل آن‌ها در پس از برداشت دارد. بیشتر تلاش‌ها در مرحله پس از برداشت در جهت به تأخیر انداختن یا طولانی کردن مرحله پیری و به کمینه رساندن اثرگذاری نامطلوب آن است. لیزیان‌توس یکی از اعضای خانواده جنتیناسه^۱ است. بومی آمریکای شمالی بوده و گل‌های آن با رنگ‌های سفید، آبی، یاسی و بنفش به‌صورت منفرد یا چندتایی در روی ساقه‌های برگ‌دار تشکیل می‌شوند (Ghahsare & Kafi, 2012). عمر پس از برداشت این گل زیاد نیست و از ۷ تا ۱۴ روز در بین رقم‌های مختلف متفاوت است (Motozu & Makihara, 2001; Shimizu & Ichimura, 2010). با توجه به اهمیت اقتصادی گل‌های شاخه‌بریده و عمر پس از برداشت کوتاه این محصولات ارائه راهکارهایی برای افزایش ماندگاری این محصولات ضروری به نظر می‌رسد. اعمال مدیریت بهینه و انجام برخی از تیمارها در مراحل پیش و پس از برداشت نقش بسیار مهمی در افزایش ماندگاری گل‌های شاخه‌بریده دارد. پلی‌آمین‌ها نقش‌های حیاتی در زیست‌شناسی، فیزیولوژی و چرخه‌های زیستی گیاهان دارند. میزان رشد گیاهان به‌طور مستقیم به میزان پلی‌آمین‌های یاخته‌ای وابسته است و توقف زیست‌ساخت (بیوسنتز) این مواد باعث کندی و یا توقف رشد گیاه می‌شود (Bais & Ravishankar,

2002). پلی‌آمین‌ها مولکول‌های کاتیونی با وزن مولکولی پایین هستند که در فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و گسترشی در گیاهان، حیوانات و ریزجانداران (میکروارگانسیم‌ها) نقش دارند. این ترکیب‌ها شامل اسپرمیدین (تری آمین)، اسپرمین (تترا آمین) و پیش‌ساز آن‌ها یعنی پوترسین (دی آمین) است (Bouchereau *et al.*, 1999). نتایج تحقیقات نشان داده، با کاربرد برگی پوترسین ویژگی‌های رویشی و زایشی گل شاخه‌بریده گلابول از جمله ارتفاع گل‌آذین، شمار گلچه‌ها، محتوای سبزینه (کلروفیل) a و b و کاروتنوئید بهبود می‌یابد (Abdel Aziz Nahed *et al.*, 2009). گزارش شده که تیمار پلی آمین‌ها در گل‌های شاخه‌بریده رز کشت‌شده در سامانه آبکشتی (هیدروپونیک) منجر به افزایش طول ساقه گل، قطر و طول غنچه، وزن تر و عمر گلجایی نسبت به شاهد شده است (Hosseini-Farahi *et al.*, 2013). کاربرد برگی پوترسین روی کوبک، افزایش در رشد، گلدهی و محتوای رنگ‌دانه‌های نورساختی (فتوسنتزی) را به همراه داشته است (Mahgoub *et al.*, 2011). تحقیقات انجام‌شده نشان می‌دهد که با کاربرد پوترسین ویژگی‌های گل‌ها و محتوای رنگ‌دانه‌های نورساختی در گل شاخه‌بریده داوودی بهبود یافت (Mahros *et al.*, 2013). بررسی اثر پلی‌آمین‌ها بر فراسنجه‌های فیزیولوژیکی و کیفیت پس از برداشت رز شاخه‌بریده رقم رد برلین^۲ نشان دادند که تیمار پلی‌آمین‌ها باعث افزایش محتوای آنتوسیانین و آب و جلوگیری از تخریب رنگیزه‌های نورساختی شده و عمر گلجایی را افزایش داد (Rubinowska *et al.*, 2012). بررسی تأثیر پوترسین روی پیری برگ گیاه گلدانی آفتاب‌گردان زینتی نشان داد، کاربرد بیرونی پوترسین وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان آفتابگردان زینتی را بهبود بخشیده و باعث بهبود فعالیت آنزیم کاتالاز شد، همچنین تجمع رنگیزه‌ها را نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد (Rubinowska & Miachalek, 2009). تیمار پیش و پس از برداشت پوترسین در گل شاخه‌بریده

سه نوبت و با فاصله هر هفته یکبار انجام شد. بررسی شاخص‌هایی مانند طول غنچه، قطر غنچه، شمار غنچه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و محتوای سبزینه برگ در مرحله پیش از برداشت انجام گرفت. آنگاه گل‌ها در مرحله‌ای که دو غنچه آن به‌طور کامل باز شدند برداشت شده و برای انجام آزمایش‌های پس از برداشت به آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شدند. در روی هر ساقه ۸-۵ برگ نگهداری و غنچه‌های کوچک حذف شدند. همچنین طول همه ساقه‌های گل به ۶۰ سانتی‌متر رسانده شد. همه گل‌ها (تیمارها و شاهد) به مدت ۱۸ ساعت در محلول ساکارز ۴ درصد قرار گرفتند سپس باز برش انتهایی ساقه به میزان ۰/۵ سانتی‌متر انجام و گل‌ها در آب مقطر در اتاقی با دمای 5 ± 20 و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد نگهداری شدند. شاخص‌های مورد بررسی در این مرحله شامل عمر گلجایی، وزن تر نسبی، جذب آب نسبی، درصد نشت یونی گلبرگ، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گلبرگ، فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز در گلبرگ، محتوای H_2O_2 گلبرگ و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گلبرگ بود.

وزن تر نسبی

هرکدام از ظرف‌های نگهداری گل‌ها حاوی ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر بود. پیش از اعمال تیمارها وزن اولیه (روز صفر) گل‌های شاخه‌بریده لیزانتوس و وزن ظرف به همراه آب درون آن‌ها توسط یک ترازوی با دقت ۱:۱۰۰ گرم اندازه‌گیری شد. پس از آن روزانه وزن گل‌ها، ظرف‌ها به همراه آب بدون گل‌ها و ظرف‌ها به همراه آب با گل‌ها در مراحل مختلف اندازه‌گیری شد. از تفاضل وزن هر روز نسبت به روز پیش تغییر وزن گل‌ها به دست آمد و بر حسب واحد گرم بر گرم وزن تر اولیه در روز توسط رابطه زیر بیان شد (Joyce & Jones, 1992).

= وزن تر نسبی

وزن تر در روزهای مورد نظر (گرم)

وزن تر روز صفر (گرم)

آلسترومرها منجر به افزایش عمر گلجایی، حفظ کیفیت و بهبود رابطه آبی نسبت به تیمار شاهد شده است (Soleimany-Fard et al., 2014). با توجه به اهمیت پلی‌آمین‌ها به‌عنوان یک گروه جدید از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و تأثیر مثبت آن بر گیاهان زینتی این آزمایش باهدف بررسی اثر پوترسین بر ویژگی‌های کمی، کیفی و عمر پس از برداشت گل شاخه‌بریده لیزانتوس انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در تاریخ ۱۳ بهمن ۱۳۹۲ نشاهای لیزانتوس رقم میاریچی گرد وایت در مرحله شش برگی از تولیدکنندگان تجاری منطقه پاکدشت ورامین خریداری و به گلخانه گل‌کاری گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران منتقل شد. بستر کشت محتوای خاک زراعی، ماسه و خاک‌برگ پوسیده با نسبت ۱:۱:۱ حجمی بود که با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ در ۱۰۰۰ ضدعفونی شد. نشاها به گلدان‌های سفالی ۲ لیتری محتوای محیط کشت منتقل شدند. میانگین دما در گلخانه به‌طور میانگین 4 ± 26 در روز و در شب 4 ± 16 بود و رطوبت لازم از راه آبیاری بین ردیف‌ها تأمین شد. آبیاری در مراحل اولیه رشد گیاه با فاصله یک هفته و در مراحل آخر رشد هر دو روز یکبار انجام شد. پس از استقرار و آغاز به رشد، گیاهان با کود کامل N:P:K با نسبت ۲۰:۲۰:۲۰ با غلظت ۲ گرم بر لیتر و هر ماه یکبار به همراه آب آبیاری تغذیه شدند.

محلول‌پاشی پوترسین روی بوته‌های لیزانتوس

پوترسین مورد استفاده در این آزمایش مربوط به شرکت سیگما بود. برای حل کردن این ماده از میزان بسیار کمی اتانول (۲۰ سی‌سی) استفاده شد که در آغاز پودر پوترسین را در کمی اتانول به‌آسانی حل کرده و با آب مقطر به حجم رسانده شد. در این آزمایش غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین و ۰ (آب مقطر + ۲۰ سی‌سی اتانول) به‌عنوان شاهد برای محلول‌پاشی روی بوته‌های لیزانتوس به کار گرفته شد. محلول‌پاشی با آغاز مرحله انگیزش غنچه‌ها در

میزان محلول جذب‌شده نسبی

وزن ظرف به همراه آب درون آن‌ها در روز صفر با یک ترازو با دقت ۱:۱۰۰ گرم اندازه‌گیری شد. پس از آن روزانه ظرف‌ها به همراه آب ولی بدون گل‌ها و ظرف‌ها به همراه آب با گل‌ها نیز اندازه‌گیری شد. از تفاضل وزن هر روز نسبت به روز پیش تغییر وزن گل‌ها به دست آمد و بر حسب میلی‌لیتر بر گرم وزن تر اولیه در روز با رابطه زیر بیان شد (Alaey *et al.*, 2011).

$$\text{میزان محلول جذب‌شده روزهای مورد نظر (میلی‌لیتر)} \\ = \frac{\text{وزن تر روز صفر (گرم)}}{\text{وزن تر روز صفر (گرم)}}$$

ارتفاع ساقه گل‌دهنده، قطر غنچه و طول غنچه

این سه شاخص یک هفته پس از آخرین محلول‌پاشی اندازه‌گیری شدند برای اندازه‌گیری ارتفاع ساقه گل‌دهنده، ارتفاع گیاه از سطح خاک گلدان تا نوک غنچه اصلی اندازه‌گیری شد. هفت ساقه در هر تکرار اندازه‌گیری شد و آنگاه میانگین آن‌ها به‌عنوان طول ساقه مورد نظر در آن تکرار بر حسب سانتی‌متر بیان شد. قطر و طول غنچه‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری طول غنچه از لبه باز شده گلبرگ‌ها تا محل اتصال آن‌ها به دمگل اندازه‌گیری شد. بیست غنچه در هر تکرار انتخاب و سپس میانگین آن‌ها به‌عنوان طول و قطر غنچه مورد نظر در آن تکرار بر حسب میلی‌متر بیان شد.

وزن تر و وزن خشک ساقه

ساقه‌های مربوط به هر تیمار در هنگام برداشت در پاکت‌های جداگانه قرار گرفتند. آنگاه وزن تر ساقه‌ها با استفاده از ترازو اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد، سپس وزن آن‌ها با استفاده از ترازو اندازه‌گیری شد و بر حسب گرم بیان شد.

اندازه‌گیری سطح برگ

برای اندازه‌گیری سطح برگ از هر تکرار بیست برگ

انتخاب با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ^۱ اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به‌عنوان سطح برگ مورد نظر و بر حسب میلی‌متر مربع بیان شد.

میزان سبزینه برگ

میزان سبزینه برگ با استفاده از روش آرنون اندازه‌گیری شد. بر پایه این روش میزان ۰.۵ گرم از برگ در هاون چینی ریخته، آنگاه با استفاده از نیتروژن مایع خرد کرده و به‌خوبی ساییده شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد به نمونه اضافه و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه قرار گرفت. عصاره جدا شده رویی ناشی از سانتریفیوژ به بالن شیشه‌ای منتقل شد. میزانی از نمونه درون بالن در کووت طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) ریخته و به‌طور جداگانه در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای سبزینه a و ۶۴۵ نانومتر برای سبزینه b و با طیف‌سنج نوری میزان جذب خوانده شد. در نهایت با استفاده از رابطه زیر میزان سبزینه کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه به دست آمد (Arnon, 1967).

$$\text{Chlorophyll a + b} = 8.02 (\text{A}663) + 20.21 (\text{A}645)$$

ماندگاری گل‌ها (عمر گلجایی)

عمر ماندگاری گل‌ها از روز اول قرارگیری در محلول نگهداری (زمان برداشت) تا هنگامی که گل‌ها ارزش زینتی خود را از دست دادند (گل‌ها پژمرده شده و رنگ آن‌ها تغییر می‌کند) در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری نشت یونی

برای اندازه‌گیری نشت یونی، برش (دیسک)‌هایی از گلبرگ‌ها تهیه شده و درون فالكون‌های ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده و آنگاه میزان ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده به آن اضافه شد. سپس فالكون‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق روی دستگاه لرزا (شیکر) قرار داده و پس از این مدت با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی، هدایت

MDA = میزان مالون دی آلدئید بر حسب نانومول بر گرم وزن تر
 QD = قطر کووت (۱ سانتی متر)
 QF = ضریب خاموشی (۱۵۵ میلی مولار بر سانتی متر)
 DF = عامل رقت (در این روش ۲۰ است)

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن (H₂O₂)

میزان ۱ گرم از بافت گلبرگ با نیتروژن مایع در هاون خرد شد و درون فالکون‌های ۱۵ میلی لیتری ریخته و به آن ۵ میلی لیتر محلول اسید تری کلرواستیک ۱ درصد اضافه شد. نمونه همگن (هموژن) شده با سرعت ۹۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت سی دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی به لوله‌های ۲ میلی لیتری منتقل و به آن‌ها ۰/۵ میلی لیتر محلول بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ میلی مولار (pH=۷) و ۱ میلی لیتر محلول یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. محلول H₂O₂ در غلظت‌های بین ۲ تا ۱۰ میلی مولار تهیه شده و برای رسم نمودار استاندارد استفاده شد. میزان جذب با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر بیان شد (Alexieva *et al.*, 2001).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از طیف‌سنج نوری اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کاتالاز طول موج دستگاه روی ۲۴۰ نانومتر تنظیم شد. محلول‌ها و مواد استفاده شده شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=۷) ۵۰ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H₂O₂) ۳۰ درصد به آن اضافه و فعالیت آنزیم به مدت دو دقیقه در فاصله‌های ۲۰ ثانیه‌ای ثبت شد (Aebi, 1984). بیشترین جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت می‌گیرد. از این رو با آغاز واکنش به وسیله آنزیم کاتالاز به تدریج از میزان پراکسید هیدروژن در مخلوط واکنش کم و در نتیجه میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر نیز کاهش

الکتریکی (EC1) آن‌ها اندازه‌گیری شد. فالکون‌های حاوی نمونه‌ها به مدت سی دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن فالکون‌های حاوی نمونه‌ها تا دمای اتاق، دوباره هدایت الکتریکی (EC2) آن‌ها اندازه‌گیری و میزان نشت یونی از رابطه زیر محاسبه شد (Jiang & Chen, 1995).

$$EL (\%) = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

EL = درصد نشت یونی، EC1 = هدایت الکتریکی اولیه و EC2 = هدایت الکتریکی ثانویه

اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید^۲

میزان ۱ گرم از بافت گلبرگ همراه با نیتروژن مایع در هاون خرد شد. پودر گلبرگ درون فالکون‌های ۱۵ میلی لیتری ریخته شد، آنگاه میزان ۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷) که درون ظرف یخ قرار داشت به آن اضافه شد. فالکون‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت سی دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس ۱ میلی لیتر از محلول رویی ناشی از سانتریفیوژ به لوله‌های ۲ میلی لیتر منتقل و ۱ میلی لیتر محلول ۰/۵ درصد اسید تیوباربیوتیک حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد به آن افزوده شد و در حمام آب گرم به مدت سی دقیقه گرما داده شد. در این مرحله به منظور توقف واکنش، ظرف محتوای مخلوط گرما داده شده به سرعت درون بستر یخ قرار داده و اجازه داده شد به مدت سی دقیقه در بستر یخ بماند. مخلوط سرد شده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس میزان جذب مخلوط با دستگاه طیف‌سنج نوری در دو طول موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان مالون دی آلدئید با استفاده از رابطه زیر بر حسب نانومول بر گرم وزن تر بیان شد (Stewart & Beweley, 1980).

$$MDA = [(532 \text{ nm} - 600 \text{ nm}) / (QD * QF)] * DF$$

1. Electrolyte leakage
2. Malondialdehyde

روش طیف‌سنج نوری و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با ۲۸۵۰ میکرولیتر بافر K_2HPO_4 ، ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۳۰ میکرولیتر بستره و با طیف‌سنج نوری با طول‌موج ۲۳۴ نانومتر انجام شد. تغییرپذیری جذب در ۱ دقیقه ثبت شد (Axelroad *et al.*, 1981).

تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش‌های مربوط به بررسی‌های کیفیت رویشی در قالب طرح کامل تصادفی، با عامل اصلی تیمارهای پوترسین در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵ درصد ارزیابی شد. آزمایش اولیه تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین در قالب طرح کامل تصادفی، با عامل اصلی تیمارهای پوترسین در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵ درصد ارزیابی شد. آزمایش نهایی تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین در قالب فاکتوریل بر پایه طرحی تصادفی، با عامل اصلی زمان در چهار سطح و تیمار پوترسین در دو سطح (۰ و ۰/۵ میلی‌مولار) با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵ درصد ارزیابی شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای مختلف پوترسین بر ویژگی‌های رویشی و زایشی گل شاخه‌بریده لیزیانوس در جدول ۱ ارائه شده است. بر این پایه کاربرد برگی پوترسین سبب بهبود بسیاری از ویژگی‌ها مانند شمار، طول و قطر غنچه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، وزن تر و خشک ساقه گل‌دهنده و محتوای سبزینه نسبت به تیمار شاهد شده است (جدول ۱).

می‌یابد. فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین ارزیابی شد.

اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

در نتیجه واکنش بین آسکوربات پراکسیداز و آسکوربیک اسید و H_2O_2 دهیدروآسکوربات تولید می‌شود که در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده می‌شود. محیط واکنش حاوی ۶۰۰ میکرولیتر از EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۴۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، ۴۰۰ میکرولیتر H_2O_2 ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. سنجش فعالیت آنزیم در طول ۴ دقیقه ثبت شد. با گذشت زمان واکنش، روند افزایش در میزان جذب مشاهده و فعالیت آنزیم بر پایه میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد (Ranieri *et al.*, 2003).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX)

۱ گرم از بافت گلبرگ درون هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع پودر و به فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتر انتقال داده شد و ۲ سی‌سی به آن بافر استخراج (شامل تریس هیدروکلریک ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۸)، ۱ درصد PVP، کلرید کلسیم ($CaCl_2$) ۱ میلی‌مولار، DTT ۵ میلی‌مولار و ۱۵ درصد گلیسرول) افزوده شد. پس از تکان دادن شدید (ورتکس) پودر نمونه و بافر استخراج نمونه‌ها به مدت بیست دقیقه و با سرعت ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها، مایع روایی به لوله‌های ۱/۵ سی‌سی منتقل شد و از این عصاره برای سنجش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز استفاده شد. محلول بستره (سوبسترای) آنزیم لیپوکسیژناز شامل ۵۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید است که به ۵۰ میلی‌گرم توئین ۲۰ اضافه شد و با ۱۰ سی‌سی بافر K_2HPO_4 (pH= ۷/۸) مخلوط شد. محلول با اضافه کردن ۲۰ میکرولیتر NaOH ۱ میلی‌مولار شفاف شد و با اضافه کردن بافر استخراج حجم آن به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. سنجش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز به

مربوط به تیمار شاهد بود. محلول پاشی برگی پوترسین بر ارتفاع ساقه گل‌دهنده تأثیر معنی‌دار داشت. بیشترین طول ساقه گل‌دهنده با تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد و تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد و غلظت‌های دیگر پوترسین داشت (جدول ۲). سطح برگ تحت تأثیر تیمار پوترسین قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و گیاهان شاهد مشاهده شد (جدول ۱). بیشترین میانگین سطح مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین بود و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۲). تیمار پوترسین سبب بهبود وزن تر و خشک ساقه گل‌دهنده نسبت به تیمار شاهد شد اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای پوترسین مشاهده نشد (جدول ۲).

شمار، طول و قطر غنچه به‌طور معنی‌داری (در سطح احتمال ۱ درصد) تحت تأثیر تیمار پوترسین قرار گرفت و با افزایش غلظت پوترسین افزایش پیدا کرد (جدول ۱). میانگین طول غنچه‌ها در تیمارهای پوترسین ۲۲/۵۸ - ۲۰/۲۷ میلی‌متر بود. در حالی‌که میانگین طول غنچه‌ها در تیمار شاهد ۱۵/۶۵ میلی‌متر بود. میانگین قطر غنچه‌ها در تیمار شاهد ۷/۶۸ میلی‌متر بود و کمتر از غنچه‌های تیمار شده با پوترسین با میانگین ۱۱/۵۱ - ۹/۱۳ بود (جدول ۲). بیشترین طول و قطر غنچه مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین بود. بیشترین میانگین شمار غنچه با میانگین ۱۴/۵۷ مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین بود و کمترین شمار غنچه با میانگین ۹/۴۲

جدول ۱. تأثیر پوترسین بر کیفیت رویشی گل شاخه‌بریده لیزیانثوس

Table 1. Effect of putrescine on vegetative quality of *Lisianthus* cut flowers

Variation Source	Degree of freedom	Flower bud length	Flower bud diameter	Number of flower	Flower stem length	Leaf area	Flower stem fresh weight	Flower stem dry weight	Chlorophyll
Concentration	3	25.87**	8.20**	14.86**	76.29**	20304733.77**	342.55*	8.35*	0.17*
Experimental error	8	1.59	0.45	0.82	2.25	1016268.90	64.81	1.02	0.02
Coefficient of Variation (%)	11	6.37	6.98	7.25	2.15	2.15	11.58	6.13	3.52

* **, Significant at 5 and 1%, Respectively.

* **, به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

جدول ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف پوترسین بر ویژگی‌های رویشی گیاه لیزیانثوس

Table 2. Means of different concentrations of putrescine on vegetative traits of *Lisianthus*

Putrescine (mM)	Flower bud length (cm)	Flower bud diameter (cm)	Number of flower	Flower stem length (cm)	Leaf area (Mm ²)	Flower stem fresh weight (g)	Flower stem dry weight (g)	Chlorophyll (mg/gfw)
0	15.65 ^b	7.68 ^c	9.42 ^c	62.47 ^c	43225.2 ^c	54.39 ^b	14.14 ^b	4.08 ^b
0.5	20.27 ^a	9.13 ^b	12.47 ^b	70.38 ^b	47139.8 ^b	64.98 ^{ab}	16.87 ^a	4.54 ^a
1	20.65 ^a	10.42 ^a	13.57 ^{ab}	71.19 ^b	47371.5 ^b	73.16 ^a	16.88 ^a	4.57 ^a
2	22.58 ^a	11.51 ^a	14.57 ^a	74.33 ^a	49461.4 ^a	79.03 ^a	18.08 ^a	4.55 ^a

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

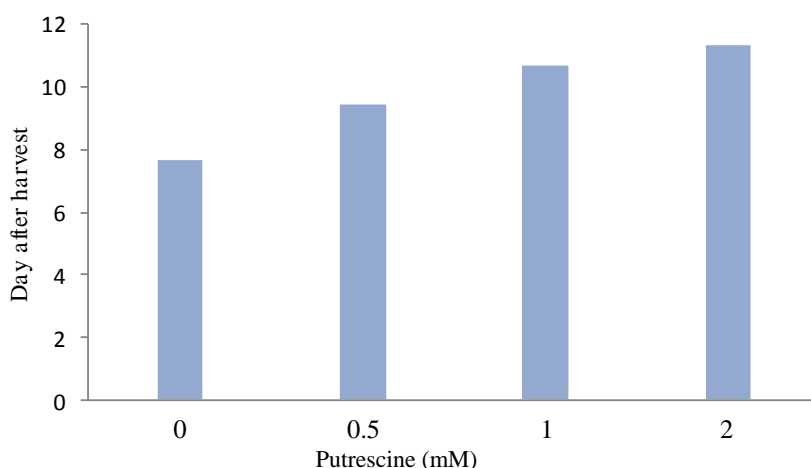
The numbers with the same letters in each column are not statistically different

2009). کاربرد دی‌آمین پوترسین (۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) روی گیاهان شب‌بو به‌طور معنی‌دار سبب افزایش در شمار برگ، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک نسب به گیاهان شاهد در مرحله رشد رویشی شده است (Youssef *et al.*, 2004). در رز، طول ساقه گل، وزن تر، عمر گلجایی و قطر و طول غنچه را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار پلی‌آمین‌ها قرار گرفت (Hosseini *et al.*, 2013). تأثیر مثبت پلی‌آمین‌ها روی رشد به‌واسطه افزایش تقسیم و گسترش یاخته است (Liu *et al.*, 2007). گزارش شده، تیمار ۲۰۰ قسمت در میلیون پوترسین در داوودی قطر گل‌آذین، عمر گلجایی و

میزان سبزینه برگ گیاهان تیمار شده با پوترسین بیشتر از تیمار شاهد بود با این حال اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای پوترسین مشاهده نشد (جدول ۲). کمترین و بیشترین میزان سبزینه به ترتیب در گیاهان شاهد و ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد (جدول ۲). بررسی‌های پیشین نشان داده، کاربرد پوترسین ویژگی‌های رویشی و زایشی گلابول را بهبود بخشید و گزارش شده که کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر پوترسین به همراه تیمار و اسید آسکوربیک منجر به افزایش در رشد، گلدهی، محتوای سبزینه a و b و کاروتنوئید نسبت به تیمار شاهد شده است (Abdel Aziz Nahed *et al.*,

به‌منظور انتخاب غلظت بهینه تیمارهای پیش از برداشت پوترسین، شاخص‌های عمر گلجایی، جذب آب و وزن تر گل‌های شاخه‌بریده در طی مرحله پس از برداشت بررسی شدند. نمونه‌برداری برای دیگر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری در روزهای ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از برداشت انجام شد. با توجه از نتایج به دست آمده از تجزیه آماری داده‌ها غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین در مرحله پیش از برداشت انتخاب شده و شاخص‌ها در این غلظت و تیمار شاهد ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که کاربرد پوترسین در مرحله پیش از برداشت منجر به افزایش عمر گلجایی در مقایسه با گیاهان محلول‌پاشی شده با آب مقطر شده است. بیشترین عمر گلجایی در گیاهان محلول‌پاشی شده با پوترسین ۱۱/۳۸ روز و مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین بود. این در حالی بود که عمر گلجایی در گیاهان شاهد ۷/۶۶ روز بود. کاربرد پیش از برداشت پوترسین منجر به حفظ بهتر وزن تر نسبی و بهبود جذب آب در مرحله پس از برداشت شده است. وزن تر نسبی گل‌هایی که با پوترسین محلول‌پاشی شده بودند بیشتر از گل‌هایی بود که با آب مقطر محلول‌پاشی شده بودند. بیشترین وزن تر در روز سوم به دست آمد و پس از وزن تر در همه تیمارها کاهش یافت. جذب آب در همه تیمارها در طی روزهای پس از برداشت افزایش یافت با این حال در گل‌های محلول‌پاشی شده با پوترسین میزان جذب آب به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود.

محتوای سبزینه و کاروتنوئید را نسبت به شاهد افزایش داده است (Mahros *et al.*, 2013). کاربرد ۱۵۰ قسمت در میلیون پوترسین به همراه ۱۰۰ قسمت در میلیون تیامین در کوکب منجر به افزایش ارتفاع گیاه، قطر ساقه، شمار برگ، وزن تر و خشک برگ و ساقه و افزایش محتوای سبزینه نسبت به شاهد شد. افزایش وزن تر و خشک این‌گونه توضیح داده شده است که پوترسین باعث افزایش تجمع تولید نورساختی در بافت می‌شود (Mahgoub *et al.*, 2011). پلی‌آمین‌ها در ساخت (سنتر) پروتئین‌ها و سوخت‌ساز (متابولیسم) ترکیب‌های نیتروژن نقش دارند و گزارش‌هایی در مورد افزایش محتوای سبزینه، رشد رویشی، فعالیت نورساختی در کنترل پیری برگ در گیاهان وجود دارد (Liu *et al.*, 2007). پلی‌آمین‌ها ترکیب‌هایی هستند که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی، مانند: القای تقسیم یاخته‌ای، جنین‌زایی، ریخت‌زایی، نمو گل، بلوغ میوه، پیری گل و برگ، گسترش اندام زایشی، تقسیم‌های یاخته‌ای و پاسخ گیاه به تنش در ارتباط هستند (Bais & Ravishankar, 2002). گزارش‌هایی از تأثیر پوترسین بر فعالیت آنزیم IAA اکسیداز و محتوای تریپتوفان موجود است که در ارتباط تولید هورمون اکسین بوده و در تقسیم و طویل شدن یاخته‌ای نقش دارند. بازدارندگی از تجزیه سبزینه توسط پلی‌آمین‌ها را به کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت می‌دهند (Bais & Ravishankar, 2002).



شکل ۱. تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین بر عمر گلجایی گل شاخه‌بریده لیسیانثوس
Figure 1. Impact of preharvest putrescine treatment on vase life of Lisianthus cut flowers

جدول ۳. تأثیر سطوح مختلف پیش از برداشت پوترسین بر وزن تر نسبی (گرم بر گرم وزن تر اولیه) و جذب آب (میلی لیتر بر گرم وزن تر اولیه) در روزهای سوم، ششم، نهم و دوازدهم پس از برداشت

Table 3. Impact of preharvest Putrescine treatment on relative fresh weight (g/gfw) and relative water uptake (ml/gfw) in 3, 6, 9 and 12 day after harvest

Putrescine (mM)	Relative fresh weight (Day 3)	Relative fresh weight (Day 6)	Relative fresh weight (Day 9)	Relative fresh weight (Day 12)	Relative water uptake (Day 3)	Relative water uptake (Day 6)	Relative water uptake (Day 9)	Relative water uptake (Day 12)
0	1.08 ^{ecd}	1.05 ^{bc}	1.00 ^b	0.74 ^d	0.85 ^f	1.23 ^f	1.74 ^g	2.13 ^e
0.5	1.06 ^{cd}	1.00 ^d	0.95 ^c	0.88 ^{bc}	1.14 ^e	1.75 ^c	2.01 ^f	2.31 ^d
1	1.05 ^c	1.02 ^{dc}	0.92 ^c	0.86 ^c	1.19 ^d	1.83 ^b	2.25 ^d	2.94 ^b
2	1.23 ^b	1.15 ^a	1.08 ^a	1.00 ^b	1.85 ^a	2.68 ^a	2.92 ^a	3.56 ^a

میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

The numbers with the same letters in each column are not statistically different.

مسئول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع غشاء است. روند افزایشی نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید به همراه فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز در گل‌هایی که با ۲ میلی‌مولار پوترسین تیمار شده‌اند به‌طور معنی‌داری کندتر است که منجر به حفظ انسجام غشایی می‌شود. گزارش شده که تیمار پیش از برداشت پلی‌آمین‌های پوترسین و اسپرمیدین موجب کاهش میزان نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید در تپال‌های گل شاخه‌بریده لیلیوم در طول عمر گلجایی می‌شود (Majidiyan, 2013). تیمار اسپرمین ۰/۱ میلی‌مولار در گل شاخه‌بریده رز از افزایش نفوذ پیری غشاء در برگ‌ها و گلبرگ‌ها، تجمع مالون‌دی‌آلدئید در گلبرگ و تولید اتیلن جلوگیری کرد (Yang *et al.*, 2000).

پلی‌آمین‌ها می‌توانند به‌عنوان جاروکننده‌های رادیکال‌های آزاد عمل کرده و غشاهای یاخته‌ای را در برابر اکسید شدن حفظ کنند و بدین ترتیب مقاومت غشاء را افزایش دهد. تیمار پلی‌آمین‌ها می‌تواند باعث افزایش سطح پلی‌آمین‌های درونی و در نتیجه پایداری غشاء شود (Liu *et al.*, 2007). افزایش نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید یکی از مشخصه‌های پیری در گل‌های شاخه‌بریده است (Shahri & Tahir, 2011). تخریب غشاء یاخته در نتیجه تجزیه اسیدهای چرب غشاء به دلیل افزایش فعالیت فسفولیپاز D و لیپوکسیژناز است که این دو آنزیم در تخریب بیوشیمیایی لیپیدهای غشاء شرکت دارند و افزایش فعالیت آن‌ها با آغاز از دست دادن پایداری غشاء در گل‌های میخک و رز مرتبط است (Fukuchi-

بررسی‌های پیشین نشان داد که تیمار پیش از برداشت گل‌های شاخه‌بریده لیلیوم رقم رویال با دو پلی‌آمین پوترسین و اسپرمیدین منجر به افزایش عمر گلجایی و بهبود جذب آب نسبت به گیاهان شاهد شد (Majidiyan, 2013). تیمار پیش از برداشت پلی‌آمین‌ها در رز شاخه‌بریده رقم رد برلین باعث بهبود جذب آب و افزایش عمر گلجایی شده است (Rubinowska *et al.*, 2012). در گل شاخه‌بریده داوودی تیمار پیش از برداشت پوترسین افزون بر بهبود ویژگی‌های رویشی منجر به افزایش عمر گلجایی شده است (Mahros *et al.*, 2013). گزارش شده، کاربرد ۵ میلی‌مولار اسپرمین در گلابول باعث افزایش عمر گلجایی، افزایش وزن تر ساقه گل‌دهنده، جذب محلول نگه‌دارنده و بهبود باز شدن گلچه‌ها نسبت به شاهد شد (Sivaprakasam *et al.*, 2009).

تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین (۲ میلی‌مولار) بر نشت یونی و میزان تجمع مالون دی‌آلدئید (MDA) به همراه فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX) در گل‌های شاخه‌بریده لیزیانتوس

نتایج مقایسه میانگین و تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که تیمارهای پیش از برداشت پوترسین (۲ میلی‌مولار) به‌طور معنی‌داری موجب کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی‌آلدئید به همراه فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز در مقایسه با گیاهان شاهد شده است. در طول دوره نگهداری گل‌ها میزان نشت یونی به همراه میزان مالون دی‌آلدئید افزایش می‌یابد که می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز باشد که

افزایش سطح پلی‌آمین‌های درونی و در نتیجه پایداری غشاء شود، تأثیر پاداکسندگی پلی‌آمین‌ها به‌طور عمده به ویژگی کاتیونی آن‌ها مربوط است که برای برداشت رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و در نتیجه قادر به مهار پراکسیداسیون لیپیدها هستند (Liu *et al.*, 2007).

(Mizutani *et al.*, 2000; Hong *et al.*, 2000). پلی‌آمین‌ها می‌توانند به‌عنوان غیر فعال‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و غشاهای یاخته‌ای را در برابر اکسید شدن حفظ کنند و بدین ترتیب مقاومت غشاء را افزایش دهد. تیمار پلی‌آمین‌ها می‌تواند باعث

جدول ۴. تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین (۲ میلی‌مولار) بر درصد نشت یونی، میزان مالون دی آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX) در بافت گلبرگ در طی زمان پس از برداشت

Table 4. Impact of preharvest Putrescine treatment (2 mM) on the ion leakage, malondialdehyde (MDA) and the activity of the enzyme lipooxygenase (LOX) in petal tissue during the postharvest time

Time (day)	Putrescine (mM)	Ionic leakage	MDA	LOX
0	0	15.66 ± 1.231 ^d	1.208 ± 0.731 ^e	0.808 ± 1.73 ^e
	2	11.53 ± 0.459 ^d	1.101 ± 0.559 ^e	0.701 ± 0.559 ^e
3	0	22.65 ± 1.73 ^c	2.308 ± 0.751 ^d	0.908 ± 1.531 ^d
	2	20.63 ± 0.559 ^c	1.201 ± 0.554 ^e	0.701 ± 0.659 ^e
6	0	24.75 ± 0.382 ^b	3.876 ± 0.482 ^c	1.876 ± 0.382 ^c
	2	21.40 ± 0.707 ^c	1.982 ± 0.521 ^d	0.671 ± 0.707 ^e
9	0	28.58 ± 0.452 ^{ab}	5.850 ± 0.525 ^b	2.650 ± 0.452 ^b
	2	22.40 ± 1.182 ^c	2.825 ± 0.182 ^{cb}	1.257 ± 1.182 ^c
12	0	39.63 ± 1.252 ^a	7.583 ± 0.352 ^a	3.886 ± 1.252 ^a
	2	25.88 ± 0.572 ^b	5.121 ± 0.578 ^b	1.622 ± 0.572 ^b
Significant	Degree of freedom			
Time	1	2.877 ^{**}	6.574 ^{**}	52.44 ^{**}
Treatment	4	0.883 ^{**}	1.534 ^{**}	21.84 ^{**}
T × T	4	0.230 [*]	0.24 [*]	9.97 [*]

در هر ستون اعداد با حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

The numbers with the same letters in each column are not statistically different ($P \leq 0.05$).

*, **: Significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

گلبرگ تحت تیمار پوترسین (۲ میلی‌مولار) از ۵۸/۲۸ میکرومول بر گرم وزن تر در هنگام برداشت به ۹۴/۷۳ میکرومول بر گرم وزن تر افزایش یافته است (جدول ۵) که می‌تواند در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز باشد. گزارش شده، کاربرد پیش از برداشت پلی‌آمین‌های پوترسین و اسپرمیدین روی گل شاخه‌بریده لیلیوم رقم رویال باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی کاتالاز و پراکسیداز شده است (Majidiyan, 2013). بررسی تأثیر پوترسین را روی پیری برگ گیاه گل‌دانی آفتاب‌گردان زینتی نشان داد که کاربرد بیرونی پوترسین وضعیت فیزیولوژیکی گیاهان آفتابگردان زینتی را بهبود بخشید و باعث تحریک فعالیت آنزیم کاتالاز شد (Rubinowska & Miachalek, 2009). اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز در گلبرگ‌های گونه‌های چندی مانند زنبق رشتی^۱ (Panavas &

تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین (۲ میلی‌مولار) بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به همراه تجمع H_2O_2 نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان می‌دهد، در طول نگهداری گل‌های شاخه‌بریده لیزیانتوس که با پوترسین (۲ میلی‌مولار) در مرحله پیش از برداشت محلول‌پاشی شده بودند فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی کاهش می‌یابد اما این کاهش نسبت به تیمار شاهد کمتر است. فعالیت آنزیم کاتالاز از ۲/۵۹۲ میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در هنگام برداشت به ۰/۹۰۶ میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در روز دوازدهم کاهش یافت (جدول ۵). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از ۳/۸۸ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در هنگام برداشت به ۲/۷۳ میکرومول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در روز دوازدهم کاهش یافت (جدول ۵). تجمع H_2O_2 در

(Rogers, 2012). فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور کلی در گل‌های جوان بالا بود و در مرحله پیری گل در گلابول (Hossain *et al.*, 2006)، زنبق رشتی (Panavas & Rubinstein, 1998)، میخک (Zhang *et al.*, 2007) و زنبق (Bailly *et al.*, 2001) کاهش یافت. ادعا شده کاهش در فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز یک نقش حیاتی به‌عنوان یک آغازگر مرگ یاخته‌ای بازی می‌کند (Hossain *et al.*, 2006). به نظر می‌رسد که تیمار پیش از برداشت پوترسین با تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز منجر به تأخیر در پیری گل‌های شاخه‌بریده لیزانتوس در مرحله پس از برداشت شده است.

(Rubinstein, 1998)، داوودی (Chakrabarty *et al.*, 2007)، زنبق (Bailly *et al.*, 2001) گلابول (Yamane *et al.*, 1999) و میخک (Zhang *et al.*, 2007) نشان داد که در همه این گل‌ها، فعالیت کاتالاز در طول گسترش گل تا باز شدن گل افزایش می‌یابد. در بسیاری از این گونه‌ها، پس از آن کاهش در فعالیت کاتالاز در مرحله پیری وجود دارد. با این حال، در زنبق و همروکالیس به نظر می‌رسد سطوح فعالیت کاتالاز حتی در مرحله پیری افزایش می‌یابند. تفاوت بین گونه‌ها ممکن است اهمیت نسبی سامانه‌های حذف گونه‌های اکسیژن فعال و یا به‌طور قابل‌توجهی نقش گونه‌های اکسیژن فعال در پیشرفت پیری را منعکس کند

جدول ۵. تأثیر تیمار پیش از برداشت پوترسین (۲ میلی‌مولار) بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) و تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در بافت گلبرگ در هنگام پس از برداشت

Table 5. Impact of preharvest putrescine treatment (2 mM) on the activity of catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) and the accumulation of hydrogen peroxide (H_2O_2) in petal tissue during the postharvest time

Time (day)	Putrescine (mM)	CAT	APX	H_2O_2
0	0	2.100 ± 0.152 ^a	3.87 ± 0.245 ^a	62.27 ± 6.335 ^a
	2	2.592 ± 0.133 ^a	3.88 ± 0.608 ^a	58.28 ± 5.506 ^a
3	0	1.916 ± 0.051 ^b	3.42 ± 0.214 ^b	69.27 ± 6.335 ^b
	2	1.178 ± 0.101 ^c	3.90 ± 0.608 ^a	61.28 ± 5.506 ^a
6	0	0.918 ± 0.042 ^d	2.66 ± 0.526 ^c	75.16 ± 3.910 ^c
	2	0.971 ± 0.163 ^d	3.49 ± 0.428 ^b	64.90 ± 3.991 ^a
9	0	0.826 ± 0.143 ^{de}	2.12 ± 0.356 ^d	80.70 ± 7.925 ^d
	2	22.40 ± 1.182 ^c	2.93 ± 0.118 ^c	72.90 ± 9.927 ^{bc}
12	0	0.676 ± 0.163 ^e	1.88 ± 0.356 ^e	102.8 ± 5.723 ^e
	2	0.906 ± 0.143 ^d	2.73 ± 0.118 ^c	94.73 ± 15.280 ^{de}
Significant	Degree of freedom			
Time	1	5.526 ^{**}	0.6706 ^{**}	253.73 [*]
Treatment	4	3.181 ^{**}	0.1926 ^{**}	519.15 ^{**}
T × T	4	1.678 [*]	0.118 ^{**}	200.77 [*]

در هر ستون اعداد با حرف‌های مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

The numbers with the same letters in each column are not statistically different ($P \leq 0.05$).
*, **: Significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

در گل لاله به‌روشنی پس از نشانه‌های کلیدی پیری مانند افزایش و آزاد شدن سیتوکروم C از میتوکندری مشاهده شده است (Azad *et al.*, 2008). پیشنهاد شده است که افزایش در تجمع گونه‌های اکسیژن فعال در ارتباط با پیری ممکن است با افزایش پاداکسنده‌ها و آنزیم‌های جاروکننده گونه‌های اکسیژن فعال خنثی شود (van Doorn & Woltering, 2008). کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین در گل‌های میخک شاخه‌بریده منجر به تأخیر در پیری در نتیجه تجمع اسپرمیدین در گلبرگ و کاهش تخریب DNA می‌شود (Bagni *et al.*, 2006). اسپرمیدین برونزا به‌طور موقت

H_2O_2 می‌تواند در سراسر غشاء پراکنده شود، و می‌تواند به دیگر قسمت‌های یاخته منتقل شوند که در آنجا ممکن است به‌عنوان یک نشانه (سیگنال) عمل کنند و یا حذف می‌شود (Rogers, 2012). اندازه‌گیری H_2O_2 در لیلیوم نشان داد که در گل‌پوش‌های درونی و بیرونی لیلیوم، افزایش در سطوح H_2O_2 در گل‌های جداشده نسبت به گل‌هایی که هنوز به گیاه متصل بودند، بسیار بیشتر بود که پیشنهاد می‌کند افزایش H_2O_2 ممکن است به‌شدت با پیری گلبرگ در گل‌های شاخه‌بریده مرتبط باشد (Arrom & Munné-Bosch, 2010). افزایش در سطوح H_2O_2

برداشت) در مقایسه با تیمار شاهد کمترین میزان نشت یونی به همراه تجمع MDA را داشتند که می‌تواند در نتیجه پایین بودن فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX) باشد. پلی‌آمین‌ها با حفظ پایداری غشاء، جلوگیری از تولید اتیلن و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها پیری گل‌های شاخه‌بریده را به تأخیر انداخته و منجر به گسترش عمر گلجایی می‌شوند. در فرآیند عمر گلجایی، گل‌های تیمار شده با پوترسین (۲ میلی‌مولار پیش از برداشت) در مقایسه با تیمار شاهد فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی شامل کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) بالاتری داشته که این امر منجر به کاهش تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در گلبرگ می‌شود. تأثیر پاداکسندگی پلی‌آمین‌ها به‌طور عمده به ویژگی کاتیونی آن‌ها مربوط است که برای برداشت رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و در نتیجه قادر به مهار پراکسیداسیون لیپیدها هستند. با این حال شواهد و داده‌های ضدونقیضی در مورد نقش پاداکسندگی پلی‌آمین‌ها بیرونی به دست آمده است. در برخی موارد این ترکیب‌ها به‌عنوان پیش‌اکسنده (پرواکسیدنت) و القاکنده تنش و گاهی به‌عنوان پاداکسنده و کاهش‌دهنده رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند (Liu *et al.*, 2007). بنابراین کاربرد پوترسین با غلظت ۲ میلی‌مولار در مرحله پیش از برداشت منجر به بهبود ویژگی‌های کمی، کیفی و همچنین گسترش عمر گلجایی به ۱۱/۳۸ روز نسبت به تیمار شاهد با ۷/۶۶ روز شد و پیری پس از برداشت گل شاخه‌بریده لیزیان‌توس به تأخیر انداخت. با توجه به قیمت مناسب پوترسین و سازگار بودن آن با محیط‌زیست و از سویی اهمیت لیزیان‌توس به‌عنوان یک گل شاخه‌بریده با ارزش استفاده از پوترسین به تولیدکنندگان توصیه می‌شود. همچنین کاربرد پوترسین و عنوان دیگر پلی‌آمین‌ها در غلظت‌های مختلف و مراحل مختلف رشد این گل و دیگر گیاهان زینتی پیشنهاد می‌شود.

منجر به تأخیر پیری میخک و اطلسی می‌شود که دلالت بر توانایی اسپرمیدین آزاد برای اتصال به مولکول‌های ساختاری اصلی درون‌یاخته‌ای مانند DNA و ثبات ساختار آن‌ها دارد (Shahri & Tahir, 2011). پلی‌آمین‌ها با اتصال به DNA و پروتئین‌ها، باعث ایجاد ثبات غشاء یاخته می‌شوند. با این حال در بافت‌هایی که هنوز پیر نشده‌اند پلی‌آمین‌ها در غلظت میلی‌مولار مؤثر است و غلظت آن‌ها با افزایش سن و پیری کاهش می‌یابد (Pandey *et al.*, 2000). اسپرمین در میخک منجر به تأخیر در پیری شد که علت آن را به مهار زیست‌ساخت اتیلن توسط اسپرمین با جلوگیری از تبدیل SAM به ACC نسبت می‌دهند (Lee *et al.*, 1997).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول‌پاشی گیاهان با پوترسین منجر به بهبود ویژگی‌های کمی و کیفی گل شاخه‌بریده لیزیان‌توس نسبت به تیمار شاهد شد و بیشترین طول و قطر غنچه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده و وزن تر و خشک آن، سطح برگ و محتوای سبزینه در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد. پلی‌آمین‌ها در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک چندی مانند تقسیم یاخته‌ای و کشیده شدن یاخته‌ها نقش دارند. افزایش فاصله میانگره‌ها به میزان پلی‌آمین‌ها وابسته است. دلایل این نتایج را می‌توان به نقش پلی‌آمین‌ها در دامنه گسترده‌ای از فرآیندهای زیستی (بیولوژیک) مانند رشد و نمو، پاسخ به تنش‌های محیطی، تقسیم یاخته‌ای و تمایز آن‌ها نسبت داد. یکی از هدف‌های مهم در پژوهش‌های انجام شده با گل‌های شاخه‌بریده افزایش عمر گلجایی است که تیمار با پوترسین (۲ میلی‌مولار پیش از برداشت) منجر به افزایش عمر گلجایی و همچنین حفظ وزن تر نسبی و بهبود جذب آب در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد شد. در فرآیند عمر گلجایی گل‌های تیمار شده با پوترسین (۲ میلی‌مولار پیش از

REFERENCES

1. Abdel Aziz Nahed, G., Taha Lobna, S. & Ibrahim Soad, M. (2009). Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nubaria. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(2).

2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymology*, 105, 121-126.
3. Alaey, M. (2011). Study the effect of salicylic acid in pre- and postharvest treatment on physio-chemical characteristics and vase-life of Rose hybrid L. Black Magic. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran. (in Farsi)
4. Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell and Environment*, 24, 1337-1344.
5. Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23, 112-121.
6. Arron, L. & Munné-Bosch, S. (2010). Tocopherol composition in flower organs of *Lilium* and its variations during natural and artificial senescence. *Plant Science*, 179, 289-295.
7. Axelroad, B., Cheesebrough, T. M. & Laasko, S. (1981). Lipoxigenase from soybeans. *Methods Enzymology*, 71, 441-451.
8. Azad, A. K., Ishikawa, T., Ishikawa, T., Sawa, Y. & Shibata, H. (2008). Intracellular energy depletion triggers programmed cell death during petal senescence in tulip. *Journal of Experimental Botany*, 59, 2085-2095.
9. Bagni, N., Tassoni, A. & Teixeira daSilva, J. A. (2006). In: J.A. Teixeira daSilva (Ed), the role of polyamines in relation to flower senescence. *Floriculture, ornamental and plant biotechnology*. (pp. 88-95) Springer Science.
10. Bailly, C., Corbineau, F. & van Doorn, W. G. (2001). Free radical scavenging and senescence in *Iris* tepals. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39, 649-656.
11. Bais, H. P. & Ravishankar, G. A. (2002). Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 69, 1-34.
12. Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. & Martin-tanguy, J. (1999). Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science*, 140, 103-125.
13. Chakrabarty, D., Chatterjee, J. & Datta, S. K. (2007). Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in chrysanthemum florets. *Plant Growth Regulation*, 53, 107-115.
14. Fukuchi-Mizutani, M., Ishiguro, K., Nakayama, T., Utsunomiya, Y., Tanaka, Y., Kusumi, T. & Ueda, T. (2000). Molecular and functional characterization of a rose lipoxygenase cDNA related to flower senescence. *Plant Science*, 160, 129-137.
15. Ghahsare, M. & Kafi, M. (2012). *Floriculture*. Pearson Prentice Hall. (in Farsi)
16. Hong, Y., Wang, T. W., Katalin, A., Hudak, F. S., Carol, D., Froese, J. & Thompson, E. (2000). An ethylene induced cDNA encoding a lipase expressed at the onset of senescence. *PNAS*, 97, 8717-8722.
17. Hossain, Z., Mandal, A. K. A., Datta, S. K. & Biswas, A. K. (2006). Decline in ascorbate peroxidase activity a prerequisite factor for tepal senescence in *Gladiolus*. *Journal of Plant Physiology*, 163, 186-194.
18. Hosseini-Farahi, M., Khalighi, A., Kholdbarin, Mashhadi, B., Akbar-boojar, M. & Eshghi, S. (2013). Morphological responses and vase life of *Rosa hybrida* cv. Dolcvita to polyamines spray in hydroponic system. *World Applied Sciences Journal*, 21(11), 1681-1686.
19. Jiang, Y. M. & Chen, F. (1995) A study on polyamine change and browning of fruit during cold storage of litchi fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 5, 245-250.
20. Joyce, D. C. & Jones, P. N. (1992). Water balance of the foliage of cut Geraldton waxflower. *Postharvest Biology and Technology*, 2, 31-39.
21. Lee, M. M., Lee, S. H. & Park, K. Y. (1997). Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. *Journal of plant physiology*, 151(1), 68-73.
22. Liu, J. H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y. & Moriguchi, T. (2007). Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*, 24(1), 117-126.
23. Mahgoub, M. H., Abdel Aziz Nahed, G. & Mazhar, M. A. (2011). Response of *Dahila pinnata* L. plant to foliar spray white putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 10(5), 769-775.
24. Mahros, K. M., El-Saady, M. B., Mahgoub, M. H., Afaf, M. H. & El-Sayed, M. I. (2011). Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. plant. *Journal of American Science*, 7, 399-408.
25. Majidiyan, N. (2013). *Study some aspects of flower Senescence in Asiatic hybrid lily Seb Dassel*. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran. (in Farsi)
26. Panavas, T., Walker, E. L. & Rubinstein, B. (1998). Possible involvement of abscisic acid in senescence of daylily petals. *Journal of Experimental Botany*, 49(329), 1987-1997.
27. Motozu, T. & Makihara, T. (2001). Selection of useful cultivars in *Eustoma grandiflorum* with flower longevity as an additional selecting factor. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 9, 23-28.
28. Pandey, S., Ranade, S. A., Nagar, P. K. & Kumar, N. (2000). Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *Journal of Biosciences*, 25(3), 291-299.

29. Ranieri, A., Castagna, J., Pacini, B., Baldan, A. & Mensuali Sodi, G. F. (2003). Soldatini early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflowers plants exposed to ozone. *Journal of Experimental Botany*, 54, 2529-2540.
30. Rogers, H. J. (2012). Is there an important role for reactive oxygen species and redox regulation during floral senescence?. *Plant, Cell & Environment*, 35(2), 217-233.
31. Rubinowska, K. & Miachalek, W. (2009). Influence of putrescine on leaf senescence of *Helianthus annuus* L. potted plants. *Horticulture and Landscape Architecture*, 30, 57-65.
32. Rubinowska, K., Pogroszewska, E. & Michalek, W. (2012). The effect of polyamines on physiological parameters of post-harvest quality of cut stems of *Rosa* 'Red Berlin'. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11(6).
33. Shahri, W. & Tahir, I. (2011). Flower senescence-strategies and some associated events. *Botanical Review*, 77, 152-184.
34. Shimizu, H. & Ichimura, K. (2010). Postharvest physiology and technology of cut *Eustoma* flowers. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 79(3), 227-238.
35. Sivaprakasam, G., Singh, V. P. & Arora, A. (2009). Physiological and molecular analysis of effect of spermine on senescing petals of gladiolus. *Indian Journal of Plant Physiology*, 14(4), 384-391.
36. Soleimany-Fard, E., Hemmati, K. & Khalighi, A. (2014). Impact of pre- and post-harvest putrescine applications on water relations and vase life of cut alstroemeria flowers. *Advances in Environmental Biology*, 8(12), 158-165.
37. Stewart, R. C. & Beweley, J. D. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 25, 136-1.
38. van Doorn, W. G. & Woltering, E. J. (2008). Physiology and molecular biology of petal senescence. *Journal of Experimental Botany*, 59(3), 453-480.
39. Yamane, K., Kawabata, S. & Fujishige, N. (1999). Changes in activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase during senescence of *Gladiolus* florets. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 68, 798-802.
40. Yang, C. W., He, S. G., Jiang, Y. M. & Yi, S. (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.
41. Youssef, A. A., Mahgoub, M. H. & Talaat, I. M. (2004). Physiological and biochemical aspects of *Matthiola incana* plants under the effect of Putrescine and Kinetin treatments. *Egypt journal applied science*, 19(9B) 492-510.
42. Zhang, Y., Guo, W., Chen S., Han, L. & Li, Z. (2007). The role of *N*-lauroylethanolamine in the regulation of senescence of cut carnations (*Dianthus caryophyllus*). *Journal of Plant Physiology*, 164, 993-1.