طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا تحت تأثیر اسانس آویشن و سالیسیلیک اسید

محمدرضا قلمبران*، محمد عبداللهی و فرانسواز کریستین برنارد

ایران، تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۳۰

چکیده

زیبایی گل ژربرا به طول عمر گلبرگهای آن وابسته است و طول عمر گلبرگها به حفظ آب بافت گلبرگها و فعالیتهای متابولیسمی سلولها بستگی دارد. تولید کنندگان گل شاخه بریده از ترکیباتی که نقش حفاظت و تقویت کننده فعالیتهای متابولیسمی سلول و توانایی حفظ پتانسیل آب بافتها و دفع کننده عوامل بیماریزا را دارند، استفاده می کنند. تحقیق حاضر با هدف تعیین طول عمر و فعالیتهای متابولیسمی سلولهای بافت گلبرگها تحت مصرف اسانس آویشن و سالیسیلیک‌اسید، اجرا شد. تیمارها، غلظتهایی از اسانس آویشن (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرولیتردر لیتر) و سالیسیک اسید (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر) و استفاده همزمان از آنها در محیط آبی نگهداری گلهای شاخه بریده بودند. تیمارها به‌صورت فاکتوریل (۴×۴) در قالب آماری کاملا تصادفی در سه تکرار و در شرایط آزمایشگاه مورد مطالعه قرار گرفتند. مهمترین صفات اندازه گیری شده در این تحقیق عبارت بود طول عمر، محتوی نسبی آب، فعالیت آنزیمها (فنیل آلانین آمونیالیاز، پراکسیداز و کاتالاز)، محتوی مالون دی آلدهید و محتوی آنتوسیانین در سلول گلبرگها. مهمترین نتایج بدست آمده نشان داد استفاده از غلظت ۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر از اسانس آویشن در ظرف نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانت و ضدمیکروبی طول عمر گلها را نسبت به شاهد ۴ روز افزایش داد. همچنین غلظت ۲۰۰۰ میکرو مول بر لیتر از سالیسیلیک‌اسید به دلیل افزایش توان سیستم دفاعی بافت گلبرگها از طریق افزایش مقابله به تنش اکسیداتیو سلول ها طول عمر گل‌های شاخه بریده ژربرا را از ۴ روز به ۸ روز افزایش داد.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۲۲۴۰۵۷۰۶ ، پست الکترونیکی: m_ghalamboran@sbu.ac.ir

مقدمه

صادرات گل ایران از سال ۱۳۷۰ با ۵۰۰ هزار دلار شروع شد و تاکنون با یک‌روند صعودی به مرز ۴۰ میلیون دلار رسیده است، اما با جایگاه واقعی خود در بازارحدود ۲۰ میلیارد دلاری جهانی فاصله زیادی دارد و برای وارد شدن به بازارهای جهانی، به بهبود روشهای تولید و افزایش شاخصهای کیفی و کمی تولید گلها مطابق با استانداردهای جهانی نیازمند است (۵). بر اساس مستندات تاریخی، موطن اصلی بسیاری از گلهای زیبا که امروزه به‌عنوان گیاه زینتی در گوشه و کنار دنیا کشت می‌شوند ایران بوده است. در قرن ۱۷ میلادی شاردن که از ایران بازدید کرد، در سفرنامه خود درباره باغهای ایران چنین می نویسد: "تمام گلهایی که در فرانسه و اروپا به عمل می‌آید در ایران می توان یافت" (۶). با وجود استعدادهای طبیعی سرزمین ایران مانند تنوع شرایط آب و هوایی، خاکهای نسبتاً غنی، نور کافی، نیروی کار ارزان و دسترسی نزدیک به بازارهای بین المللی، هنوز صنعت تولید گل از رشد و توسعه رضایت بخشی برخوردار نیست. از مهمترین دلایل رکود تجارت گلها در بازارهای داخلی و خارجی، پژمردگی سریع، کاهش طول عمر و کیفیت گلها پس از جدا شدن از گیاه اصلی است. لذا اگر چه گلهای شاخه بریده ارزش اقتصادی زیادی دارند، ولی قابلیت فسادپذیری بالایی نیز دارند. به ویژه وقتیکه دمای محیط پرورش گلها و محل

نگهداری شاخه های گل، بالا باشد، کاهش طول عمر و کیفیت گلها شدت می یابد و این کاهش بیشتر در گلها و بافتهایی رخ می دهد که از محتوی نسبی آب بیشتری (مانند گلبرگها) برخوردار هستند.

گلهای شاخه بریده ژربرا از راسته دولپه‌ای‌ها و خانواده کاسنی یا کمپوزینه با نام علمی *Gerbera jamesonii* دارای اسامی رایج همچون Barberton daisy، Transvaal daisy، African daisy است(۲۱)، از ۱۰ گل پرطرفدار و معروف جهانی است و همچنین در ایران نیز از گلهای پر طرفداری است که با داشتن تنوع رنگ و گلبرگهای زیبا از جایگاه فروش خوبی برخوردار است. یکی از مشکلات تولید و صادرات گلهای شاخه بریده ژربرا در ایران کوتاه بودن نسبی طول عمر (گلهای شاخه بریده ژربرا تولید شده در ایران حدود ۳ تا ۵ روز طول عمر دارند در حالی که در کشورهای اروپایی حدود ۵ تا ۷ روز عمر دارند) در مقایسه با کشورهایی با آب و هوای نسبتاً سرد و خنک است. براساس نتایج یک مطالعه موردی (Case study) در شرایط مناطق تولید گل ژربرا در ایران، طول عمر گلهای شاخه بریده بدون مصرف هیچ نوع ترکیبات نگهدارنده و در شرایط دمایی (۲۵–۲۷ درجه سانتی گراد) تقریباً به طور متوسط ۳ تا ۴ روز بود. پژمردگی در گلهای ژربرا ابتدا با خمیدگی و لوله شدن گلبرگها و سپس خمیده شدن ساقه از نزدیکی طبق گل مشهود خواهد شد. اگر چه تقریباً تغییرات اندام گلهای شاخه بریده در اکثریت گلها مشابه است، اما شدت و زمان تغییرات بین آنها متفاوت است. مهمترین عوامل مؤثر بر طول عمر گلها بعد از جدا شدن از گیاه اصلی عبارتند از: اثر ژنوتیپ گیاه، عوامل و شرایط محیطی قبل از برداشت (شامل نور، دمای محیط، میزان گاز دی اکسید کربن در محیط، رطوبت نسبی محیط، تغذیه گیاه و تهویه گلخانه)، شرایط هنگام برداشت (شامل سن فیزیولوژیکی شاخه غنچه و گیاه، زمان برداشت و نحوه برداشت) و شرایط پس از برداشت (شامل دمای محیط، رطوبت نسبی محیط، نور،کیفیت آب و میزان آلودگی میکروبی در آب و ظروف نگهداری گلهای شاخه بریده، سرعت تنفس و میزان حساسیت بافتهای گیاهی به آسیب‌دیدگی) (۲۲).

طول عمر گلها برخلاف برگها ممکن است چند روز و در مواقعی تا چند ساعت بیشتر نباشد. نتایج برخی از تحقیقات نشان داده است که فرآیند پیری برگها ممکن است قابل‌برگشت باشد، اما در گلها قابل‌برگشت نیست. در حقیقت رفتار غیر قابل برگشت گلها نشان می‌دهد سرعت مرگ سلولی در گلها بالاست. کاهش طول عمر گلهای شاخه بریده با فرآیند نرمال پیری در گلهای جدا نشده از گیاهان متفاوت است. در حقیقت پیری یا زوال سلولهای گیاهی به مجموع فرآیندهای فیزیولوژیکی پس از بلوغ گفته می‌شود که منجر به مرگ برنامه ریزی شده سلول، بافت، اندام و درنهایت تمام گیاه می‌شود (۱۲–۳). در حالی که سلولها و بافتهای گلهای شاخه بریده به دلیل آسیب ناشی از عمل بریدن و جدا شدن از گیاه اصلی، به سرعت دچار رخداد مرگ برنامه ریزی نشده خواهند شد. سپس با احتمال حمله و نفوذ عوامل بیماریزا به محل آسیب دیده و همچنین از دست دادن محتوی آب بافت از محل برش و عدم امکان تأمین کافی آب و مواد غذایی، فرآیند مرگ برنامه ریزی شده سلولها و بافتهای گل نیز شدت می یابد. لذا عمل بریدن و جدا شدن شاخه گل از گیاه اصلی، باعث تشدید هر دو نوع فرآیند مرگ سلولی در بافتها و اندامهای گل شاخه بریده می شود که در نتیجه آن روند کاهش طول عمر گل شاخه بریده سریع تر خواهد شد. با این حال، تسریع مرگ سلولها در بافت گلهای شاخه بریده نشانه شدت سرعت مقابله با تنشهای ناشی از عمل بریدن و آسیب دیدگی بافت و همچنین نفوذ عوامل بیماریزاست که این مقابله به عنوان پاسخهای آنزیمی و متابولیسمی شناخته می شوند و به منظور ایجاد تعادل در رشد سلولهای جدید و مرگ سلولهای پیر و یا آسیب دیده، تنفس سلولی و همچنین تنظیم فعالیتهای متابولیکی سلولها در مواجهه با شرایط تنشها، رخ می دهد (۳). پس کوتاه شدن عمر

گلهای شاخه بریده متفاوت از کوتاه شدن عمر گلها ناشی از فرآیند طبیعی پیری در سلولهاست و به همین دلیل سرعت کاهش طول عمر گل شاخه بریده بیشتر از روند کاهش طول عمر شاخه گل متصل به گیاه اصلی است. با این حال، حتی اگر گلها از گیاه اصلی جدا نشوند باز در بین اندامهای یک گیاه حساس‌ترین بخش به فرآیند پیری، گلها هستند و معمولاً علائم ظاهری پایان عمر گلها با پژمردگی، ریزش و تغییر رنگ گلبرگها همراه است و این علائم از گلی به گل دیگر متفاوت می باشد.

طول عمر در گلهای شاخه بریده ، عبارت است از فاصله زمانی بین برداشت گلها تا زمانی که گلها ارزش زینتی خود را از دست‌داده باشند. پیری گلبرگها با تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعدد شامل افزایش فعالیت آنزیمهای هیدرولیز کننده، تجزیه ماکرومولکولها، افزایش تنفس و از بین رفتن ثبات غشاء و ساختمان بندی سلولی همراه می‌باشد (۳۲). از دیرباز برای تداوم طول عمر گلهای شاخه بریده از محلولهای نگهدارنده که ترکیبات شیمیایی هستند و به ظرف آب نگهداری گلها اضافه می‌شوند تا طول عمر و کیفیت پس از برداشت گلها را حفظ و افزایش دهند. این نوع ترکیبات شامل کربوهیدراتها، میکروب‌کشها، ترکیبات ضد اتیلن، تنظیم‌کننده‌های pH و تنظیم‌کننده‌های رشد هستند. معمولاً از ترکیبات نگهدارنده در طول چرخه فروش از تولیدکننده تا عمده‌فروشی و حتی خریدار نهایی استفاده می شود(۱).

کربوهیدراتها از طریق حفظ وظایف و ساختمان میتوکندری، تنظیم میزان آب به‌وسیله تعرق و افزایش جذب آب طول عمر بافتها را تقویت می‌کنند. بهبود کیفیت و افزایش طول عمر پس از برداشت گلهای شاخه بریده به‌وسیله قندها، سالهاست که شناخته‌شده است (۳۳). محلولهای نگهدارنده که حاوی غلظتهای کم تا متوسط از میکروب‌کشها هستند معمولاً حالت اسیدی داشته و از ازدیاد و تجمع باکتریها جلوگیری می‌کنند و از طریق به تأخیر انداختن فرآیند لیگنینفیکاسیون در محل بافتهای صدمه دیده موجب حفظ و تسریع در سیستم هدایت آبی ساقه گلهای شاخه بریده می‌شوند ولی در غلظتهای بالا از ترکیبات میکروب‌کشها در بافتهای گیاهی باعث بروز خطر مسمومیت می‌شوند. باکتریها، قارچها و مخمرها به‌وسیله تولید اتیلن، انسداد آوند چوب، تولید مواد سمی و افزایش حساسیت به دمای پایین به گلها آسیب می‌رسانند.

سیتوکینینها ازجمله تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که کاربرد آنها قبل از انبارداری یا حمل‌ونقل طولانی در تاریکی به‌منظور کاهش تجزیه کلروفیل توصیه می‌شود. جیبرلینها مشابه سیتوکینینها از تجزیه و تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کنند. آنها زرد شدن برگها را در سوسن به تأخیر می‌اندازند و طول عمر برگها و براکته‌های بنت‌قنسول را افزایش می‌دهند و پیری را در گلبرگهای آلسترومریا به تأخیر می‌اندازند و باز شدن جوانه میخک و گلایل بریده‌شده را سرعت می‌بخشند (۳۱). همچنین هورمونهای بازدارنده مانند اسید آبسزیک پژمرده شدن گلهای در معرض نور را با بستن روزنه‌ها به تأخیر می‌اندازد ولی در تاریکی پیری گل را تحریک می‌کند. مواد شیمیایی بسیاری به‌عنوان ضد اتیلن در صنعت گل و گیاه به کار می‌روند. سالیسیلیک‌اسید به عنوان یکی از ترکیبات تقلیل دهنده فرآیند سنتز اتیلن در گیاه است. سالیسیلیک‌اسید از تبدیل آمینوسیکلوپروپان‌کربوکسیلات به اتیلن جلوگیری می‌کند. در حقیقت سالیسیلیک‌اسید با جلوگیری از بیان ژن *ACC* اکسیداز در مسیر تولید اتیلن باعث تأخیر پیری در گلهای شاخه بریده می شود شود (۱۸). از طرفی دیگر سالیسیلیک‌اسید با تأثیری که بر آنزیمهای آنتی‌اکسیدانی دارد در از بین بردن رادیکالهای آزاد موجب تأخیر در روند پیری گلها می شود (۱۴). علاوه بر این سالیسیلیک‌اسید با داشتن خاصیت ضدمیکروبی جمعیت میکروارگانیسمها را کاهش داده و سبب بهبود جذب آب توسط گل می‌شود (۲۸). به‌علاوه آزمایشهایی که ازیلماتی انجام داده است، نشان داد که ۵ - سولفوسالیسیلیک‌اسید به‌عنوان یکی از

مشتقات سالیسیلاتها در محلول گلجایی باعث بیشترین تأثیر برافزایش طول عمر گلهای شاخه بریده گلایل می‌شود (۲۲).

تحقیقات گذشته نشان می دهد که آویشن شیرازی حاوی اسانس روغنی، تانن، ساپونین و ضدعفونی‌کننده‌های گیاهی می‌باشند، دو ماده مهم و فعال این گیاه تیمول و کارواکرول است که از ترکیبات اسانس روغنی می‌باشند (۲۶). بر اساس تحقیقات اخیر هر دو ترکیب مذکور توانایی حذف و یا کاهش تکثیر و فعالیت باکتریهای بیماریزا را دارند و همچنین خاصیت ضد تولید توکسین دارند. از دیگر تأثیرات ترکیبات تیمول و کارواکرول خاصیت ضد آپوپتوزیسی است و احتمال داده می شود که بدین وسیله از روند کاهش طول عمر و پیری سلولها جلوگیری به عمل آورند (۱۰) .

بنابراین به دلیل اینکه اثرات همزمان مصرف ترکیبات اسانس آویشن شیرازی و سالیسیک اسید بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا مورد بررسی و مطالعه قرار نگرفته بود و با توجه به اذعان مطالعات گذشته بر اهمیت ویژگیهای مطلوب در ترکیبات ذکر شده، موجب شد تا تحت شرایط آزمایشگاهی اثرات مصرف ترکیبات اسانس آویشن شیرازی و سالیسیک اسید در محیط آبی نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرای قرمز با هدف تعیین عکس العمل طول عمر و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانتی گلها، مورد آزمایش و مطالعه قرارگیرد.

مواد و روشها

تهیه گل: گلهای شاخه بریده ژربرا از گلخانه‌های خصوصی و تحقیقاتی آقای محمدی واقع در شهرستان پاکدشت استان تهران برداشت شدند. بعد از انتقال به آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه شهید بهشتی، انتهای تمام شاخه گلها به‌صورت اریب برش داده شد و همگی به یک اندازه به طول ۳۰ سانتیمتر تنظیم شدند. سپس شاخه‌های گل در داخل محلول نگهدارنده حاوی تیمارهای مورد آزمایش قرار گرفتند.. رطوبت نسبی آزمایشگاه بین ۶۵ تا ۷۰ درصد و دمای محیط بین ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی گراد اعمال گردید و از نور طبیعی به‌عنوان منبع نور استفاده گردید. طول ساعات روشنایی۱۵ ساعت و ساعات تاریکی ۹ ساعت بود.

روش استخراج اسانس آویشن: برای تهیه اسانس آویشن از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب استفاده شد. ۱۰۰ گرم برگهای گیاه آویشن شیرازی خشک آسیاب شده و سپس در بالن تقطیر داخل آب قرارداده شد و با دادن حررات تا حد جوش آب به مدت ۳ ساعت اسانس گیری انجام شد و مقدار ۲ میلی‌لیتر اسانس آویشن استخراج شد. این فرآیند برای به دست آوردن مقدار کافی اسانس برای انجام آزمایشها طی چندین مرحله تکرار گردید. جداسازی آب از اسانس به‌وسیله قیف دکانتور صورت گرفت و در مرحله آخر آب‌گیری پودر سولفات سدیم بدون آب حدود۱ تا ۲ گرم به اسانس اضافه و بعد از صافی پنبه ایی عبورداده شد. غلظتهای ۶۰۰، ۳۰۰ و ۱۵۰ میکرو لیتر در لیتر برای نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه سالیسیلیک‌اسید: ۱/۳۸ گرم از سالیسیلیک‌اسید یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید در ۲/۵ لیتر آب گرم با استفاده از دستگاه هیتر- مگنت استیرر حل شد و سپس با رقیق سازی غلظتهای مورد نظر تهیه شد. ۲۰۰۰، ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار در لیتر برای نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون تعیین خواص ضدمیکروبی تیمارها: به‌منظور تعیین خواص میکروبی تیمارها از باکتریهای استاندارد، *Escherichia coli* ATCC: 25922 ، و *Staphylococcus aureus* ATCC:25923 و همچنین باکتریهای روی سطح دمگل گل ژربرا استفاده شد. باکتریهای استاندارد از کلکسیون میکروبی انستیتو پاستور ایران تهیه، کشت و برای

سنجش خواص ضدمیکروبی تیمارها از روش انتشار دیسک استفاده شد. سپس براساس نتایج حاصله از غلظتهای مؤثر و بازدارنده رشد باکتریها تیمارهای آزمایش انتخاب شد.

تعیین و اندازه گیری شاخص طول عمر: ابتدا بر اساس نتایج مطالعه موردی پیش از شروع آزمایشات، برای تعیین یک شاخص برای اندازه گیری طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا، مدت‌زمانی که محتوی نسبی آب بافت گلبرگها از زمان جدا شدن از گیاه اصلی به کمتر از ۶۰ درصد تنزل پیدا کرد که این زمان نیز مصادف با پژمردگی ۵۰ درصد تعداد گلبرگها بود به عنوان شاخص و مبنای پایان طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا در نظر گرفته شد.

اندازه گیری محتوی نسبی آب بافت گلبرگها: محتوی نسبی آب بر اساس روش Barrs and Weatherley (۱۹۶۲) اندازه‌گیری شد (۱۶). بدین منظور ابتدا وزن‌تر گلبرگها توسط ترازوی دیجیتالی محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری وزن اشباع، گلبرگها به مدت ۶ ساعت درون ظروف حاوی آب مقطر غوطه‌ور شدند تا حداکثر جذب آب صورت گیرد. سپس گلبرگها درون آون در دمای۸۵ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. میزان محتوی نسبی آب با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$RWC = [(FW - DW)/(TW - DW)] \times 100$$

وزن اشباع :TW وزن خشک :DW وزن‌تر:FW

اندازه گیری فعالیت گایاکول پراکسیداز در گلبرگها: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به روش and Ruley Sharma (۲۰۰۴) انجام شد (۲۹). ۱۰۰ میلی گرم بافت گلبرگ با ۱ میلی لیتر بافر فسفات سدیم به غلظت ۰/۱ مولار بر روی یخ هموژن شد. عصاره‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مخلوط واکنش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت، ۴۵۰ میکرولیتر H_2O_2 به غلظت ۱۷ میلی‌مولار و ۴۵۰ میکرولیتر گایاکول به غلظت ۲ درصد بود. جذب در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه خوانده شد.

اندازه گیری فعالیت کاتالاز در گلبرگها: برای اندازه گیری فعالیت کاتالاز ابتدا عصاره‌گیری به روش Chance and Mahely (۱۹۹۵) صورت گرفت (۱۹). بعد مقدار ۵۰ میلی‌گرم بافت گلبرگ به مدت ۲ دقیقه در هاون با ۲ میلی لیتر بافر فسفات سدیم (pH 6.8, 0.1 M) هموژن شد. عصاره‌ها با ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند و محلول رویی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و مقدار پروتئین محلول استفاده شد. به ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات (pH 6.8, 50mM)، ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید اضافه شد. فعالیت آنزیمی با اضافه کردن هیدروژن پراکسید به مخلوط واکنش شروع می‌شود. میزان کاهش جذب نور در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۸ دقیقه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز در گلبرگها: برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز از روش Zhan et al (2009) (۲۰۰۹) استفاده شد (۳۳). به این منظور ۵ گرم بافت گیاه با ۴۰ میلی لیتر بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میلی مولار و pH ۸ که حاوی ۰/۱گرم پلی وینیل پیرولیدن می‌باشد هموژن شد. عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند ، سپس مخلوط واکنش حاوی ۱۰۰ میکرولیتر سوپرناتانت، ۵۰۰ میکرولیتر ال-فنیل آلانین با غلظت ۵۰ میکرومول، ۱۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم با غلظت ۵۰ میکرومول بود. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد انکوبه شد و سپس جذب در طول‌موج ۲۹۰ نانو متر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری پروتئین کل بافت گلبرگها: میزان سنجش پروتئینها به‌منظور محاسبه فعالیت وزنی آنزیمها به روش

Bradford (۱۹۶۷) انجام شد (۱۷). برای رسم منحنی استاندارد، سرم آلبومین گاوی (BSA) در غلظتهای معین با دو تکرار تهیه و پس از تعیین میزان جذب در طول‌موج ۶۳۰ نانومتر منحنی استاندارد رسم شد. سپس برای هریک از نمونه‌ها از میانگین جذب با دو تکرار، برای محاسبه غلظت پروتئین نمونه‌ها استفاده شد.

اندازه گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید در گلبرگها: برای اندازه گیری غلظت مالون‌دی‌آلدهید در سلولها که به عنوان یک بیوماکر برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولها است از روش Heath and Packer (۲۰۰۹) استفاده شد (۲۳). ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گلبرگ در ۱/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱ درصد هموژن شد. سپس مواد حاصله به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. سپس به ۱ میلی لیتر سوپرناتانت، ۴ میلی لیتر از محلول تری کلرواستیک اسید با غلظت ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود، اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد. سپس به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد، و سپس جذب در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر و ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه میزان مالون‌دی‌آلدهید از فرمول زیر استفاده شد میزان ضریب خاموشی در این رابطه $155Mm^{-1}.cm^{-1}$ می‌باشد:

$$A = \varepsilon bc$$

ε= ضریب خاموشی A= میزان جذب

c = غلظت مالون‌دی‌آلدهید b= عرض کووت

اندازه گیری غلظت آنتوسیانین در گلبرگها: اندازه‌گیری غلظت آنتوسیانین به روش Do and Cormier (۱۹۹۰) انجام شد (۲۰). به این منظور ۰/۵ گرم بافت گلبرگ در ۲ میلی لیتر ترکیب اتانول و اسیدکلریدریک ۱ درصد به نسبتهای ۱۵:۸۵ در دمای ۵ درجه سانتی گراد هموژن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شدند. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس جذب در طول‌موج ۵۳۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از غلظتهای مختلف اسانس آویشن شیرازی (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر) و سالیسیک اسید(۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر) که اثرات آنها در آزمایشات فاکتوریل (۴×۴) در قالب آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط آزمایشگاهی بر صفات آزمایشی، اندازه گیری و بررسی شد. تجزیه و تحلیل داده های به دست آمده توسط نرم افزار MSTATC انجام گرفت و مقایسات تیماری نیز از طریق آزمون حداقل اختلاف معنی دار با سطوح احتمال آماری ۹۵ و ۹۹ درصد محاسبه شدند. همچنین نمودارها در نرم افزار Excel رسم شدند.

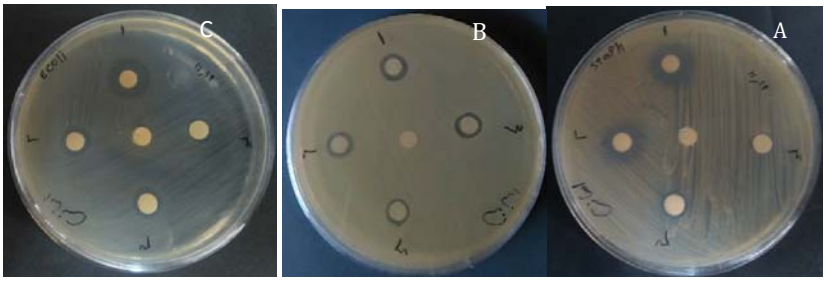
نتایج و بحث

نتایج آزمونهای ضد میکروبی (انتشار دیسکی): اثر اسانس آویشن شیرازی بر باکتریهای استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشریشیاکلی و دمگل گل ژربرا: نتایج آزمون انتشار دیسکی برای تعیین اثر ضد باکتریایی اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتریهای مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داد که اسانس آویشن شیرازی دارای اثرات ضد باکتریایی بود. با افزایش غلظت مصرفی اسانس آویشن از ۱۵۰ تا ۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر آب میزان بازدارندگی رشد باکتریهای مورد نظر افزایش یافت (تصویر ۱).

اثر سالیسیلیک اسید بر باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی و دمگل گل ژربرا: نتایج آزمون انتشار دیسکی نشان داد که استفاده از غلظتهای سالیسیلیک اسید بر روی باکتریهای مورد مطالعه تأثیری نداشت (جدول ۲ و تصویر ۲).

جدول ۱- نتایج اثر ضد باکتری اسانس آویشن شیرازی

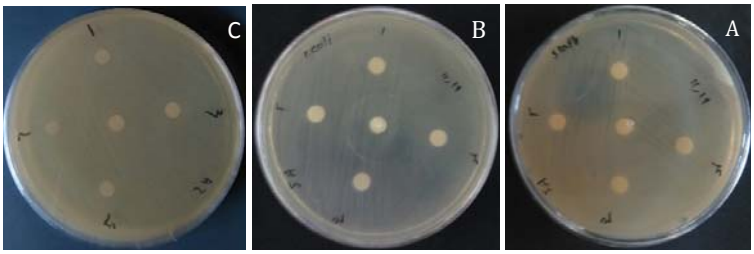
نوع باکتری	غلظت اسانس آویشن شیرازی	میزان بازدارندگی رشد باکتری (هاله عدم رشد)
استافیلوکوکوس‌اورئوس	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۱۶ میلی متر
	۳۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۱۳ میلی متر
	۱۵۰میکرو لیتر در لیتر	۸ میلی متر
	۷۵ میکرو لیتر در لیتر	۰ میلی متر
اشریشیاکلی	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۱۶ میلی متر
	۳۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۱۱ میلی متر
	۱۵۰ میکرو لیتر در لیتر	۹ میلی متر
	۷۵ میکرو لیتر در لیتر	۸ میلی متر
دمگل گل ژربرا	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۱۰ میلی متر
	۳۰۰ میکرو لیتر در لیتر	۹ میلی متر
	۱۵۰ میکرو لیتر در لیتر	۸ میلی متر
	۷۵ میکرو لیتر در لیتر	۹ میلی متر



تصویر ۱- اثر ضد باکتری اسانس آویشن شیرازی بر روی باکتریهای مورد مطالعه به روش انتشار دیسکی، A) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ، B) باکتری اشریشیاکلی، C) باکتری دمگل گل ژربرا.

جدول۲- نتایج اثر ضد باکتریایی سالیسیلیک اسید

نوع باکتری	غلظت سالیسیلیک اسید	میزان بازدارندگی رشد باکتری (هاله عدم رشد)
استافیلوکوکوس‌اورئوس	۲۰۰۰ میکرومولار بر لیتر	۰ میلی متر
	۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۵۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۲۵۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
اشریشیاکلی	۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۵۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۲۵۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
دمگل گل ژربرا	۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۵۰۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر
	۲۵۰ میکرومولار در لیتر	۰ میلی متر

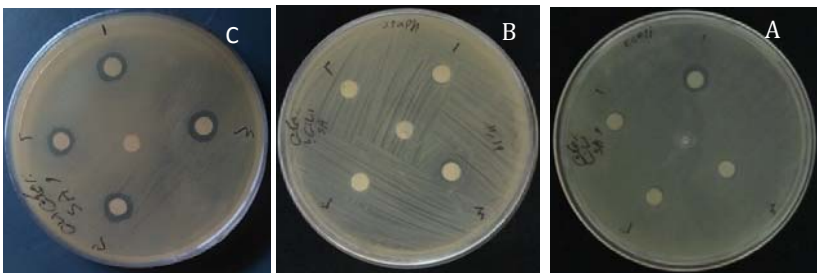


تصویر ۲- اثر ضد باکتری سالیسیلیک اسید بر روی باکتریهای مورد مطالعه به روش انتشار دیسکی، A) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ، B) باکتری اشریشیاکلی، C) باکتری دمگل گل ژربرا.

اثر برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با سالیسیلیک اسید بر باکتریهای استافیلوکوکوس‌اورئوس، اشریشیاکلی و دمگل گل ژربرا: نتایج آزمون انتشار دیسکی در جدول ۳ نشان داد به جز باکتری استافیلوکوکوس اورئوس استفاده همزمان از اسانس آویشن شیرازی و سالیسیلیک اسید ، رشد باکتریهای اشریشیا کلی و دمگل گل ژربرا را کاهش و باعث ایجاد هاله بازدارندگی رشد باکتری می شود (تصویر ۳).

جدول ۳- نتایج اثر ضد باکتریایی برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با سالیسیلیک اسید

نوع باکتری	غلظت برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با سالیسیلیک اسید	میزان بازدارندگی رشد باکتری (هاله عدم رشد)
استافیلوکوکوس‌اورئوس	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۵۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۰ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۵۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۰ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۰ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۰ میلی متر
اشریشیاکلی	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۵۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۱۰ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۵۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۸ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۸ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۸ میلی متر
دمگل گل ژربرا	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۵۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۱۱ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۵۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۱۱ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۱۱ میلی متر
	۶۰۰ میکرو لیتر در لیتر اسانس + ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر سالیسیلیک اسید	۱۱ میلی متر



تصویر ۳- اثر ضد باکتری برهمکنش اسانس آویشن شیرازی با سالیسیلیک اسید بر روی باکتریهای مورد مطالعه به روش انتشار دیسکی A) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ، B) باکتری اشریشیاکلی، C) باکتری دمگل گل ژربرا.

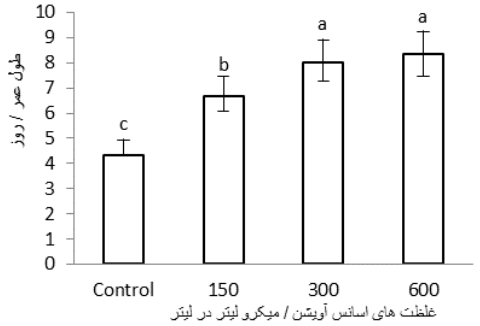
عکس العمل طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا: نتایج تجزیه واریانس در جدول شماره ۴ نشان داد که اثرات مصرف اسانس آویشن شیرازی و سالیسیک اسید در محلول آب نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا با احتمال

۹۹ درصد معنی دار بود و گلهای شاخه بریده تحت مصرف ترکیبات مذکور نسبت تیمار شاهد حدود ۳روز بیشتر عمر کردند. نتایج مقایسات تیماری (آزمون حداقل اختلاف معنی دار) در این آزمایش نشان داد که مصرف کلیه غلظتهای اسانس آویشن نسبت به تیمار شاهد (محلول آب فاقد هرنوع ترکیب نگهدارنده) در سطح احتمال ۹۵ درصد بر افزایش طول عمر مؤثر بود، به طوری که مصرف ۳۰۰ و ۶۰۰ میکرو مولار در لیتر در محلول آب نگهداری گلها بیشترین تأثیر بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا داشت (نمودار ۱). مصرف ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرومولار در لیتر از سالیسیک اسید در محلول آب نگهداری گلها با احتمال ۹۹ درصد بیشترین تأثیر افزایشی را نسبت به سایر تیمارها بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا داشت (نمودار ۲). همچنین مصرف همزمان ۳۰۰ میکرومولار در لیتر اسانس آویشن و ۱۰۰۰ میکرومولار در لیتر از سالیسیک اسید در محلول آب نگهداری گلها با احتمال ۹۵ درصد معنی دار شد و بر طول عمر گلها نسبت به سایر ترکیبات تیماری تأثیر افزایشی داشت.

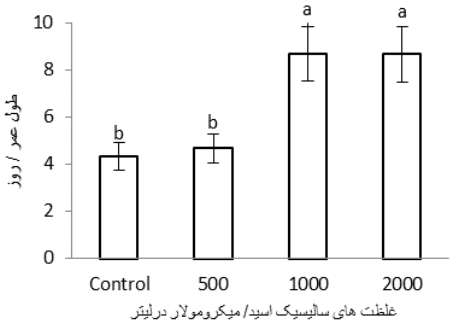
جدول ۴ – تجزیه واریانس اثرات تیمارهای آویشن و سالیسیلیک اسید بر میانگین مربعات صفات آزمایشی در گلبرگهای گلهای شاخه بریده ژربرا

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات آزمایشی اندازه گیری شده در بافت گلبرگها																							
		طول عمر	محتوی نسبی آب / درصد				فعالیت فنیل امونیالیاز / واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه				فعالیت گایاکول پراکسیداز / واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه				فعالیت کاتالاز / واحد بر میلی گرم پروتئین در دقیقه				غلظت مالون دی الدهید / نانومول برگرم وزن گلبرگها				غلظت انتوسیانین / نانومول برگرم وزن گلبرگها		
			روز اول	روز چهارم	روز هفتم		روز اول	روز چهارم	روز هفتم		روز اول	روز چهارم	روز هفتم		روز اول	روز چهارم	روز هفتم		روز اول	روز چهارم	روز هفتم		روز اول	روز چهارم	روز هفتم
آویشن	۳	۳.۲۵*	۰.۶۲**	۲.۳۹**	۲۵.۳**		۰.۰۱۸**	۰.۲۱**	۰.۵**		۰.۳۲۲**	۰.۲۰۲**	۱.۷۷۲*		۰.۰۲۴**	۰.۶۶۴*	۱.۰۸*		۰.۰۰۳**	۰.۶۵۱*	۰.۸۸۱*		۰.۰۱۸**	۰.۵۳**	۰.۶۱**
سالیسیک اسید	۳	۵.۶۳**	۰.۷۸**	۲.۹۳**	۴۷.۱**		۰.۰۰۸**	.۳۱**	۰.۲۴**		۰.۲۹۹**	۰.۳۲۵**	۱.۱۶۷*		۰.۰۲۹**	۰.۸۰۴*	۰.۹۸*		۰.۰۸**	۰.۶۷*	۰.۶۳۳*		۰.۰۰۶**	۰.۶۳**	۰.۷۱**
آویشن × سالیسیک اسید	۹	۴.۴۱*	۰.۶۴**	۲.۰۴**	۲۹.۷**		۰.۰۰۴**	۰.۱۳**	۰.۱۴*		۰.۲۲۱**	۰.۱۹۱**	۰.۷۹۱**		۰.۰۱۳**	۰.۷۸۸*	۰.۸۰۳*		۰.۱**	۰.۴۹**	۰.۵۰۳**		۰.۰۱۳**	۰.۰۹**	۰.۳۵**
خطا	۳۲	۱.۰۸	۱.۳۲	۲.۴۱	۲.۲۲		.۰۰۷	.۰۱۱	.۰۳		۰.۲۷۵	۰.۱۲۲	۰.۳۶۷		۰.۳۸۷	۰.۴۹۹	۰.۰۲		۰.۱۱۷	۰.۲۲	۰.۳۱		۰.۰۳	۰.۲۶	۰.۲۲

** و * به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال آماری ۱ درصد، و ۵ درصد، علامت ns نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار



نمودار ۱. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف کوچک الفبای انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



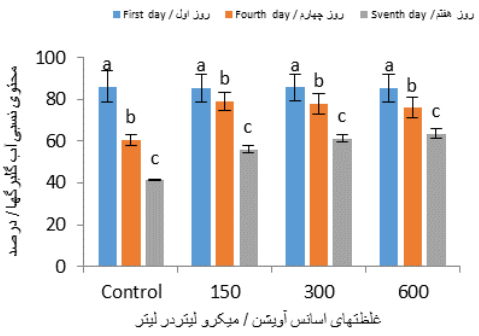
نمودار ۲. تاثیر غلظتهای سالسیک اسید بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف کوچک الفبای انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

افزایش طول عمر گلهای شاخه بریده تحت مصرف اسانس آویشن به دلیل خاصیت ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی است. تهاجم عوامل میکروبی مانند باکتریها در محل برش ساقه موجب انسداد آوندی و تحریک فرآیند لیگنینفیکاسیون (به عنوان عکس العمل دفاعی گیاه به عوامل بیماریزا) می‌شوند. این پاسخ فیزیولوژیک اگرچه تاحدی موجب کاهش جذب محلول شده ولی از طرفی دیگر از برگشت آب و ترکیبات فلوئمی جلوگیری به عمل می آورد. همچنین اسانس آویشن به دلیل داشتن ترکیبات تیمول و کارواکرول نه تنها از رشد و تکثیر میکرو

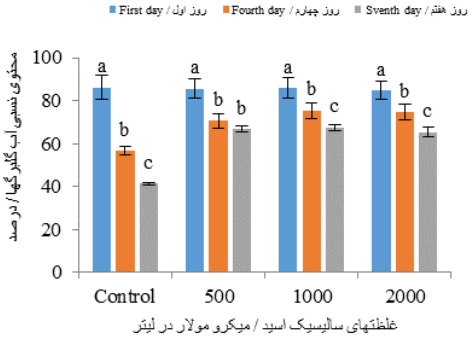
ارگانیسم موجود در محلول آب نگهداری گلها جلوگیری می کند بلکه به دلیل داشتن خاصیت ضد آپوپتوزیستی بر تأخیر مرگ سلولها تأثیر داشته است. برخی از تحقیقات گذشته نشان می دهد که استفاده از ترکیبات بازدارنده رشد میکروارگانیسمها با اثرگذاری بر روی پذیرنده‌های اتیلن از اثرات منفی آن جلوگیری می کنند و از این راه می توانند بر طول عمر سلولها و نهایتاً بر طول عمر بافت و اندام گیاه تأثیر مثبت داشته باشند. نتایج سلگی و همکاران که نشان دادند استفاده از اسانس آویشن شیرازی باعث بهبود طول عمر گل شاخه بریده ژربرا می‌شود، با نتایج به دست آمده در این آزمایشات مطابقت داشت (۳۰).

براساس نتایج این تحقیق مصرف سالیسیک اسید موجب افزایش طول عمر گلهای شاخه بریده شد. از مهمترین دلایل تأثیر مثبت سالیسیک اسید بر طول عمر بافتهای گیاهی دخالت و تقلیل سرعت بیوسنتز اتیلن و تولید آن است. زیرا بافت گیاهان به محض صدماتی مانند بریدن و جدا شدن شاخه از گیاه اصلی، بلافاصله هورمون اتیلن را سنتز کرده و برای حفظ و تداوم حیات سلولها موجب تسریع مرگ سلولها به ویژه در محل خراشیدگی می شوند. لذا مصرف سالیسیک اسید به عنوان بازدارنده بیوسنتز اتیلن می تواند از پیری و مرگ سلولها تا حدی جلوگیری‌کند و باعث افزایش طول عمر گلهای شاخه بریده شود (۲۷). سالیسیلیک‌اسید همچنین می تواند سبب تحریک فرایندگلدهی شود و در تنظیم عملکرد روزنه‌ها، محتوای کلروفیل و میزان سرعت تعرق و تنفس در گیاه نقش مثبتی را اعمال نماید (۲۴). از طرفی دیگر استفاده از سالیسیک اسید می تواند موجب کاهش تنش اکسیداتیو در سلولها و بافتها شود و منتج به افزایش طول عمر گردد. نتایج به دست آمده از مصرف سالسیک اسید بر طول عمر گلهای شاخه بریده ژربرا در این آزمایشات با نتایج محمدی و همکاران که با استفاده از تیمار سالیسیلیک‌اسید و ساکارز باعث افزایش طول عمر گلهای شاخه بریده آلسترومریا شدند، مطابقت داشت (۱۱).

تغییرات محتوی نسبی آب بافت گلبرگها: براساس نتایج تجزیه واریانس جدول شماره یک، استفاده از آویشن شیرازی و سالیسیک اسید تأثیر بسیار معنی داری برحفظ میزان محتوی نسبی آب بافت گلبرگهای گلهای شاخه بریده ژربرا در هفتمین روز از زمان جداشدن از گیاه اصلی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. همان طوری که در نمودار ۲ نشان داده شده است میزان کاهش آب بافت گلبرگها در تیمار شاهد از روز اول به پایان روز هفتم حدود ۵۰ درصد بوده در حالی که تیمارهای ۶۰۰ میکرومولار از اسانس آویشن و ۲۰۰۰ میکرو مولار از ترکیب سالیسیک اسید در محلول نگهداری گلها، به ترتیب حدود ۱۵ و ۱۰ درصد میزان آب بافت گلبرگها کاهش یافته بود. بنابراین وجود ترکیبات مذکور در محلول نگهداری گلها باعث شد سرعت از دست دادن آب بافت گلها کاهش یابد (نمودارهای ۳ و ۴).



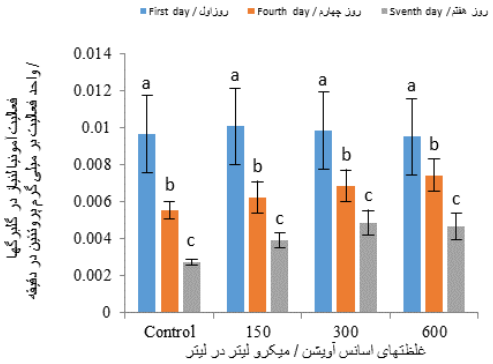
نمودار ۳. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر محتوی نسبی آب بافت گلبرگهای گل شاخه بریده ژربرا، حروف کوچک الفبای انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



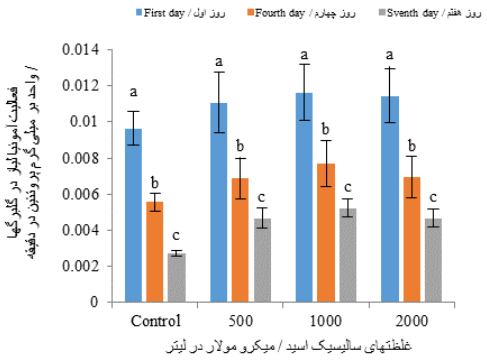
نمودار ۴. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر محتوی نسبی آب بافت گلبرگهای گل شاخه بریده ژربرا، حروف کوچک الفبای انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

نتایج به دست آمده با یافته‌های میردهقان و همکاران که از اسانس آویشن شیرازی مرزه، آویشن و زنیان بر روی گل رز استفاده کرده بودند، مطابقت داشت (۱۳)، همچنین با یافته‌های محمدی که از تیمار سالیسیلیک‌اسید بر روی گل شاخه بریده آلسترومریا استفاده کرده بودند مطابقت داشت (۱۵). به طور کلی محتوی نسبی آب در بافت شاخص مناسبی از وضعیت آب در گیاه است و درصورتی‌که مقدار آب جذب‌شده با آب تعرق شده برابر باشد محتوی نسبی تغییری نمی‌کند، اما وقتی‌که در جذب آب اختلالی پیش بیاید مقدار آن کاهش می‌یابد. در حقیقت عمل بریدن شاخه گل نه تنها باعث قطع انتقال آب به گلها خواهد شد بلکه به محض قرار گرفتن در محیط آبی که پتانسیل اسمزی محلول نیز کمتر از آب بافت شاخه گل باشد موجب خروج آب به همراه ترکیبات فلوئمی به صورت ترشحات از محل بریدن به داخل محلول آب خواهد شد و به همین دلیل آب ظروف نگهداری شاخه های گل بعد از چند ساعت و یا چند روز کدر می شود. شاخه های گل علی رغم نیاز به حفظ آب بافتهای خود، آب خود را از دست می دهند. استفاده از ترکیبات سالیسیک اسید و اسانس آویشن علاوه بر داشتن مزیتهایی مانند تقویت فعالیتهای متابولیسمی، منبع کربوهیدارت برای تنفس سلولها، دارای توانایی تعدیل پتانسیل اسمزی محلول آب بوده و نه تنها از خروج سریع مولکولهای آب جلوگیری می کند بلکه باعث تسهیل ورود مولکولهای آب به داخل بافت شاخه های گل می شود.

تغییرات فعالیت فنیل آمونیالیاز در بافت گلبرگها: نتایج به دست آمده نشان داد، اثرات مصرف ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید در محلول آب نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا بر میزان فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز در سلولهای بافت گلبرگها از روز چهارم به بعد بسیار معنی دار بود (جدول شماره یک). غلظت ۳۰۰ میکرومولار از اسانس آویشن و ۱۰۰۰ میکرو مولار از سالیسیک اسید در روز هفتم نسبت به سایر تیمارها بشترین فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز را نشان داد (نمودارهای ۵ و ۶). با این حال نتایج نشان داد که استفاده از سالیسیک اسید (با غلظت ۱۰۰۰ میکرومولار) بیشترین تأثیر افزایشی بر فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز را حتی نسبت به غلظت ۶۰۰ مولار اسانس آویشن داشت. فنیل آلانین آمونیالیاز یکی از آنزیمهای آنتی اکسیدانی در گیاهان است.



نمودار ۵. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای کوچک انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

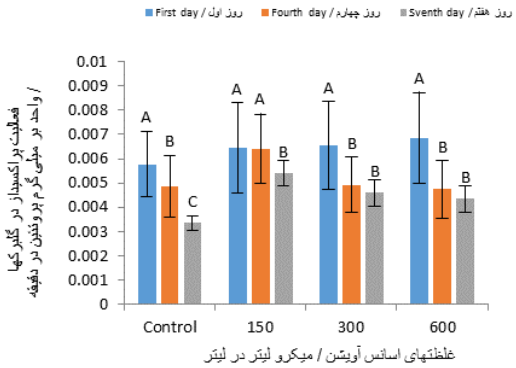


نمودار۶. تاثیر غلظتهای سالیسیک اسید بر فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای کوچک انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

این نتایج با یافته‌های نظری دلجو که از تیمار سالیسیلیک‌اسید بر روی گل شاخه بریده ژربرا با زمآنهای ۸ ساعت، ۱۶ ساعت و ۲۴ ساعت استفاده کرده بود مطابقت داشت (۷). این آنزیم نقش اصلی در اتصال مسیر سنتزی اسیدهای آمینه آروماتیک و حدواسط متابولیتهای اولیه و متابولیتهای ثانویه است و نقش کلیدی در تنظیم و

تولید ترکیبات حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی ایفاء می‌کند. همچنین یک نشانگر بیوشیمیایی از امکان وجود فعالیت مکانسیم دفاعی غیر آنزیمی در بافتهای گیاهی است هنگامی که تحت شرایط تنشهای محیطی، زیستی و صدمات ناشی از خراشیدگی واقع می شوند. فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز تحت تأثیر تنشها، مرحله رشد و تمایز سلولی تغییر می‌کند. بنابراین سالیسیک اسید از طریق افزایش مؤثر فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز باعث افزایش تولید متابولیتهای دفاعی مانند فلاونوئیدها، کومارینها، تانن و لیگنین می شود که با توجه به تأثیر تنش وارد به شاخه گل ناشی از عمل بریدن، فعالیت آنزیم مذکور افزایش کرده و از طرفی دیگر در فرآیند سنتز لیگنین و دفع عوامل بیماریزا نقش مثبتی ایفاء کرده است و بستر مناسب فعالیتهای بیوشیمیایی لازم را برای افزایش طول عمر گلهای شاخه بریده فراهم می نماید (۴).

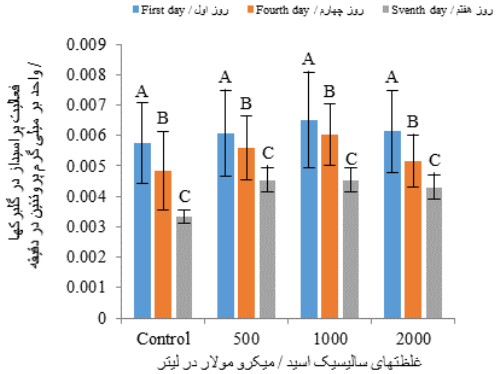
تغییرات فعالیت پراکسیداز در بافت گلبرگها: نتایج اندازه گیری فعالیت پراکسیداز نشان داد که تحت تأثیر مصرف غلظتهای اسانس آویشن و سالیسیک اسید قرار داشته است (جدول ۱). اگرچه فعالیت پراکسیداز در تمامی تیمارهای آزمایش یک روند نزولی داشت (نمودارهای ۷ و ۸)، اما



نمودار ۷. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر فعالیت پراکسیداز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای کوچک انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

تغییرات فعالیت کاتالاز در بافت گلبرگها: براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تأثیر استفاده از ترکیبات اسانس

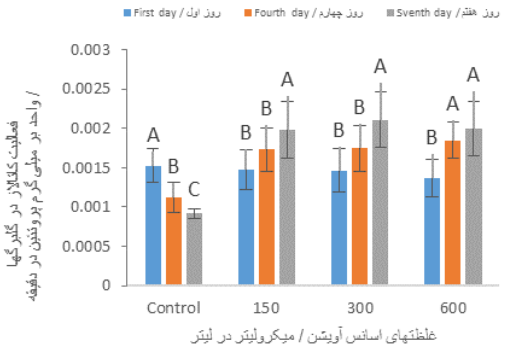
این روند تحت مصرف ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید کمتر بود. غلظتهای ۵۰۰ میکرومولار سالیسیک اسید و ۱۵۰ میکرومولار اسانس آویشن در هفتمین روز از زمان قطع شاخه های گل، بیشترین فعالیت پراکسیداز در بافت گلبرگها باعث شدند. مهمترین وظیفه آنزیم پراکسیداز کاهش و کنترل آسیب گونه های رادیکال اکسیژنی است و نقش حفاظت سلولها را از تخریب انواع رادیکالهای اکسیژنی مانند پراکسید هیدروژن دارد و پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل می کند. بنابراین نقش مثبت ترکیبات سالیسیک اسید و اسانس آویشن در محلول آب نگهداری گلها از طریق بهبود فعالیت پراکسیداز بر حفظ حیات سلولها و تنفس عادی سلولها و جلوگیری از تخریب سلولها به وسیله گونه های رادیکالی بوده است که در نتیجه بهبود فعالیت پراکسیدازی سلولی، باعث افزایش طول عمر سلولهای بافت گلبرگها گلهای شاخه بریده شده است. این نتایج با یافته‌های علی پور، طالبی و همکارانش و همچنین سلگی و همکاران که در نتیجه افزایش فعالیت پراکسیداز در سلولهای بافت گلبرگها، طول عمر گل شاخه بریده ژربرا افزایش کرده بود، مطابقت داشت (۸، ۹ و ۳۰).



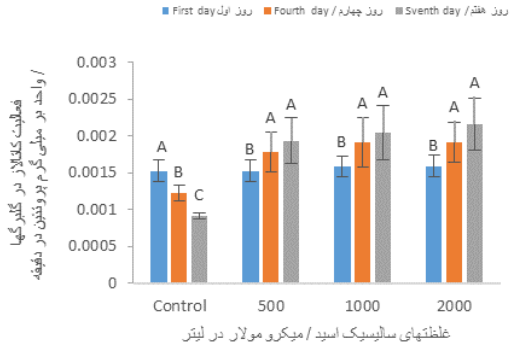
نمودار ۸. تاثیر غلظتهای سالیسیک اسید بر فعالیت پراکسیداز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای کوچک انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

آویشن و سالیسیک اسید بر فعالیت گایاکول پراکسیداز معنی دار بود. همچنین نتایج نشان داد که فعالیت کاتالاز

تحت تیمار شاهد در طول روز های بعد از جدا شدن از گیاه اصلی کاهش یافت، در حالی که تحت مصرف اسانس آویشن و سالیسیک اسید افزایش پیدا کرد و بیشترین فعالیت کاتالاز در غلظتهای ۳۰۰ میکرومولار از اسانس آویشن و ۲۰۰۰ میکرومولار از سالیسیک اسید مشاهده شد (نمودارهای ۹ و ۱۰). این نتایج با یافته های منصوری که از محلول‌پاشی سالیسیلیک‌اسید بر روی گل ژربرا استفاده کرده بود، مطابقت داشت (۱۴). استفاده از اسانس آویشن باعث فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدان گلهای شاخه بریده ژربرا شده است و وجود تأثیر افزایشی اسانس آویشن بر فعالیت کاتالاز در این آزمایش با یافته‌های چاوشی که از تیمار ضدمیکروبی اتانول بر روی گلهای رز و مریم استفاده کرده بود مطابقت داشت (۲).

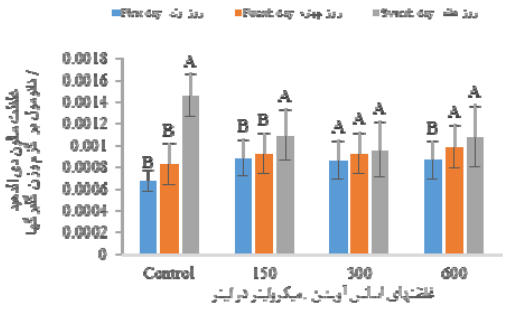


نمودار ۹. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر فعالیت کاتالاز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای بزرگ انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

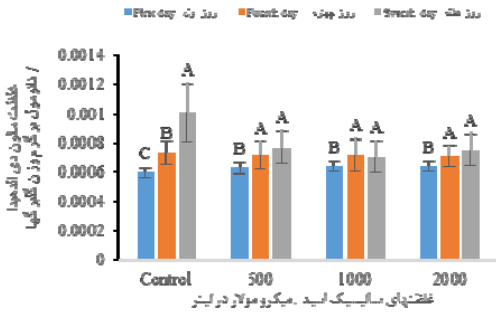


نمودار ۱۰. تاثیر غلظتهای سالسیک اسید بر فعالیت کاتالاز درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای بزرگ انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

تغییرات غلظت مالون دی آلدهید در بافت گلبرگها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد (جدول ۱) مصرف ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید بر غلظت مالون دی آلدهید درسلولهای بافت گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا اثرات معنی دار داشت. استفاده از ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید درآب نگهداری گلهای شاخه بریده نسبت به تیمار شاهد که از ترکیبات مذکور استفاده نشده بود باعث شد که غلظت مالون دی آلدهید در سلولهای بافت گلبرگ افزایش نیابد و همچنین حداقل غلظت مالون دی آلدهید تولیدی در سلولهای بافت گلبرگ در هفتمین روز در غلظتهای ۳۰۰ میکرومولار از اسانس آویشن و ۱۰۰۰ میکرومولار از سالیسیک اسید به دست آمد (نمودارهای ۱۱ و ۱۲). مالون دی آلدهید ازپراکسیدسیون لیپیدهای غشای سلولی حاصل می شود و رادیکالهای آزاد سبب پراکسیداسیون لیپیدها و سپس خود لیپیدهای رادیکال شده نیز موجب تشدید ادامه فرآیند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی دیواره های سلولی می شوند. ترکیب مالون دی آلدهید فرآورده نهایی فرآیند پراکسیداسیون لیپیدی است که به عنوان یک بیومارکر فرآیند تخریب سلولی معروف است. بنابراین برای جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی سلولی وجود و افزایش فعالیتهای آنزیمهای آنتی آکسیدانی برای کاهش غلظتهای مولکولهای رادیکالی لازم است. در نتیجه می توان گفت که ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید با بهبود فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی از تخریب سلولها ازنوع پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء سلولهای بافت گلبرگها جلوگیری کرده است و از این طریق باعث افزایش فعالیت و طول عمر سلولهای بافت گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا شده است.



نمودار ۱۱. تاثیر غلظتهای اسانس آویشن بر غلظت مالون دی آلدهید درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای بزرگ انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد



نمودار ۱۲. تاثیر غلظتهای سالیسیک اسید بر غلظت مالون دی آلدهید درسلولهای گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا، حروف الفبای بزرگ انگلیسی بیانگر معیار خطا در آزمون حداقل اختلاف معنی دار درسطح احتمال یک درصد

در این تحقیق نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مصرف ترکیبات اسانس آویشن و سالیسیک اسید در طول مدت نگهداری گلها تأثیر معنی دار بر غلظت آنتوسیانین در بافت گلبرگ گلهای شاخه بریده ژربرا نداشت (جدول ۱). با این حال آنتوسیانین بعد از کلروفیل از مهمترین رنگیزه های غیر سمی و محلول در آب است و مسئول رنگدانه های فلاونوئیدی قرمز، آبی و بنفش در بسیاری از میوه‌ها، سبزیها و گلها است که در هنگام تنش می تواند نقش نسبتاً مؤثری در دفاع گیاه از طریق جذب رادیکالهای آزاد در سلولها داشته باشد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این تحقیق استفاده از ترکیبات اسانس آویشن شیرازی و سالیسیک اسید در محلول آب نگهداری گلهای شاخه بریده ژربرا باعث شد طول عمر گلهای مذکور به طور متوسط ۳ تا ۴ روز افزایش یابد. ترکیبات مذکور از طریق بهبود فعالیتهای آنتی آکسیدانی سلولهای بافت گلبرگها، جلوگیری از تسریع مرگ سلولها، حذف و یا کاهش جمعیت میکروبها در ظرف و محلول آب نگهداری گلها، تأخیر در فرآیند لیگنیفیکاسیون در محل آسیب دیده بافت شاخه، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی غشاء سلولها از طریق کاهش تراکم رادیکال مولکولهای آزاد در سلولهای بافت و نهایتاً تقویت امکان حفظ پتانسیل آب سلولی در بافت گلبرگها و شاخه گلها، طول عمر گلها افزایش یابد.

تشکر و قدرانی

از همکاری پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی برای تأمین و شناسایی جنس و گونه گیاه آویشن شیرازی سپاسگزاری می شود.

منابع

۱- ابراهیم‌زاده، ا. و سیفی، ی. ۱۳۷۵. انبارداری و جابجایی گلهای شاخه بریده ، گیاهان سبز زینتی و گیاهان گلدانی، انتشارات اختر، تهران، ۲۳۳ص.

۲- چاوشی، رقیه. ۱۳۹۳. بررسی اثر متقابل شاخه‌های گل بریده رز و مریم بر خصوصیات فیزیک و شیمیایی، ماندگاری و دوام عمر پس از برداشت آنها در محلول گلجایی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار.

۳- رخشنده رو، ف. بهمن یار، م. ۱۳۹۶. مرگ برنامه ریزی شده سلول در گیاهان. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی – مولکولی. جلد ۷ شماره ۲۶ صفحه ۸۰-۶۹.

۴- زندی، فیروزه. ۱۳۹۳. بررسی اثر نانو ذرات آلی و نانو ذرات فلزی بر ماندگاری گل شاخه بریده ژربرا.پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی.

۵- شور، م.، خلیقی ا.، امید بیگی ر.، نادری، ر. ۱۳۸۲. اثرات اسید جیبرلیک ۶- بنزیل آدنین و تیوسولفات نقره بر تولید اتیلن، باز شدن گلچه‌ها و ماندگاری در گلهای شاخه بریده مریم رقم دابل (*Polianthes tuberosa* L.). پایان‌نامه دوره دکتری. دانشگاه فردوسی مشهد.

۶- شاردن ترجمه عباسی، م. ۱۳۳۶. سیاحت‌نامه شاردن. تهران انتشارات امیرکبیر. جلد ۷.

۷- صفا، ذکیه. ۱۳۹۱، بهبود طول عمر گل شاخه بریده ژربرا به کمک نانو ذرات نقره و کلروفنول، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت.

۸- طالبی، س.، مرتضوی، س.، نادری، ر. ۱۳۹۲. بررسی فعالیتهای آنتی اکسیدانت و میزان پروتئین گل رز شاخه بریده رقم سنسیرو. مجله علوم باغبانی. جلد۴۴ شماره ۳ صفحه ۳۶۶-۳۵۹.

۹- علی پور، س.، فرهمند، ه.، نصیبی، ف. ۱۳۹۴. تأثیر تیمار پرولین بر برخی خصوصیات موفولوژیکی، فیزیولوژیکی و افزایش عمر پس از برداشت گل شاخه بریده مریم. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی. جلد ۴ شماره ۱۴ صفحه ۱۱۴-۱۰۵.

۱۰- لاهوجی،ع. میرابوالفتحی، م. کرمی اسبو، ر. ۱۳۸۹. اثر اسانسهای آویشن شیرازی و مرزه و مواد تیمول و کارواکرول و داکسی نیوالنول و*Fusarium graminearum* . مجله بیماریهای گیاهی جلد ۴۶ شماره ۱ صفحه ۵۰-۳۷.

۱۱- محمدی، ز. و س. مرتضوی. ۱۳۹۳. تأثیر ساکارز و سالیسیلیک‌اسید بر ماندگاری و کیفیت پس از برداشت گل شاخه بریده آلسترومریا (*Alstroemeria* cv. Stratus). نشریه علوم باغبانی جلد ۲۸ شماره ۴ صفحه ۵۱۶-۵۰۵.

۱۲- منصوری، م. م، شور. ع، تهرانی فر. ی، سلح ورزی. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات بیوشیمیایی ایجادشده در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و تیامین بر گل ژربرا رقم پینک الگانس (*Gerbera jamesonii* L., cv. Pink Elegance). نشریه علوم باغبانی جلد ۲۹ شماره ۱ صفحه ۱۳۳-۱۲۷.

۱۳- میردهقان، س.، س. زیدآبادی و ح.روستا.۱۳۹۰. برهمکنش اسانس گیاهان دارویی با کلرید کلسیم و نیترات نقره بر خصوصیات کیفی و طول عمر گل بریده رز. فصل نامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران جلد ۲۸، شماره ۴، صفحه ۶۸۳-۶۶۹.

۱۴- منصوری، م. م، شور. ع، تهرانی فر. ی، سلاح ورزی. ۱۳۹۳. بررسی تغییرات بیوشیمیایی ایجادشده در اثر محلول‌پاشی سالیسیلیک اسید و تیامین بر گل ژربرا رقم پینک الگانس (*Gerbera jamesonii* L., cv. Pink Elegance). نشریه علوم باغبانی جلد ۲۹ شماره ۱ صفحه ۱۳۳-۱۲۷.

۱۵- نظری دلجو، م. م، عرب. ر، کرمیان. ح، جابریان همدان. ۱۳۹۳. تأثیر تیمار پس از برداشت سالیسیلیک‌اسید بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، تشکیل لیگنین و کنترل عارضه خمیدگی ساقه گل دهنده ژربرا. مجله علوم باغبانی ایران دوره ۴۶ شماره ۲ صفحه ۲۷۳ - ۲۳۹.

16- Barrs, H. D. and Weatherly, P. E. 1962. A reexamination of the relative turgidity techniques for estimating water deficits in leaves. International Journal Agriculture biology, 15 (8), 413-428.

17- 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.

18- Bueno .P, L.A. EL Rio.1992. Purification and properties of lyoxysmal cupper zinc superoxide dismutase from water melon (Citrullus vulgaris scard). Plant physiol. 8:331-336.

19- Chance, B., and Mahely, A. C. 1995. Assay of Catalases and Peroxidases.

20- Do, C. B., and Cormier, F. 1990. Accumulation of anthocyanins enhanced by a high osmotic potential in grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspensions. Plant Cell Reports, 9:143-146.

21- Dole, J, m., and Wilkins, H. F.1999. Floriculture and species. Prentice Hall Pub. Washington, USA.

22- Ezhilmathi, k., 2007. Physiological and biochemical studies of senescence in gladiolus. M.SC. Thesis. Indian Agricultural research Institute, New Delhi – 110012, India, 67P.

23- Heath, R.L., and Packer, L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I., kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198.

24- Kader A.A. 2002. Post-harvest Technology of Horticulture Crops. University of California. Davis, CA, 504pp.

25- Knee, M.2000, Selection of biocides for use in floral preservatives. Postharvest Biol. and Technol.18:227-224.

26- Parham, M. J. and Kesslring, K., 1985. Rosmarinic Acid. Drug Future. Vol. 10. PP.756-757.

27- Pirasteh-Anosheh H, Ranjbar G, Emam Y, Ashraf M. 2014. Salicylic acid-induced recovery ability in salt-stressed Hardeum vulgare plant. Turk J Bot. 37: 112-121.

28- Rajasekaran L. R., Stiles A., and Caldwell C. 2002. Stand establishment in processing carrots: Effects of various temperature regimes on germination and the role of salicylates in promoting germination at low temperature. Journal of plant Science, 82: 443-450.

29- Ruley, A. T., Sharma, N. C., and Sahi, S. (2004). Antioxidant defense in a lead accumulating plant, Sesbania drummondii. Plant Physiology and Biochemistry, 42:899–906. doi:10.1016/j.plaphy.2004.12.001

30- Solgi, M., Kafi M 2009. Essential oil and silver nanoparticle as a novel agent to extend vase life of gerbera (*Gerbera Jamesonii* cv. Dune) flowers. Postharvest Biology and Technology. 53: 155-158.

31- Sun, T. P and F. Gubler. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. Ann. Rev. plant Biol.55:197-223.

32- Van Doorn, w. G.2001 a. categories of petal senescence and abscission: re-evaluation.Ann.Bot.87: 447-456.

33- Zhan, L. J., Fontana, E., Tibaldi, G., and Nicola, S. 2009. Qualitative and physiological response of minimally processed garden cress (*Lepidium sativum* L.) to harvest handling and storage conditions. Journal of Food, Agriculture and Environment, Vol.7 (3and4): 43 - 50.

Lifespan of cut flowers of gerbera under thyme essence and salicylic acid effects

Ghalamboran M.R., Abdollahi M. and Bernard F.C.

Dept. of Plant Sciences and Biotechnology, School of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti UNiversity, Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The beauty of the gerbera flower depends on the lifespan of its petals. The lifespan of the petals depends on preserving the relative water content and the metabolic activity of the petals cells. The flower producers use compounds that protect and enhance the metabolism of the cells, as well as prevent the invasion of bacterial pathogens and the ability to maintain the water's potential for petals tissues. The present study was conducted to determine the lifespan and metabolic activities of the petals tissues under thyme essence and salicylic acid effects. Treatments were different concentrations of thyme essence (0, 150, 300, 600 µl L-1) and salicylic acid (0, 500, 1000, 2000 µM L-1) and their simultaneous use in aqueous medium. The treatments were sorted in the factorial experiment (4×4) on a randomized complete block design with three replications in laboratory conditions. The variables were lifespan, relative water content, activity of enzymes (phenylalanine ammonia lyase, peroxidase and catalase), malondialdehyde content and anthocyanin content in the petals cells. The most important results showed that 600 µl L-1 of thyme essence in the container of the cut flowers due to its antioxidant and antibacterial properties, increased the lifespan of the flowers compared with the control for 4 days. Also, 2000 µM L-1of salicylic acid due to the improved ability of the tissue defense system of the petals via arising of the resistance to oxidative stress of cells increased the life span of the cut flowers from 4 days to 8 days.

Key words: Lifespan؛ gerbera؛ salicylic acid؛ thyme essence