

تأثیر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و تیامین بر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) در دو سیستم بدون خاک و خاکی

مهرداد باباریع^۱، حسین زارعی^۱، علی اسکندری^۲ و سیما بادلی^{۱*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۸/۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۰)

چکیده

گل مریم از مهم ترین گل های شاخه بریدنی در ایران و جهان به شمار می رود و افزایش کیفیت و کمیت آن یکی از مسائل مهم است. در مطالعه حاضر، به منظور بررسی اثر محلول پاشی اسید سالیسیلیک و تیامین در دو سیستم کشت بر ویژگی های بیوشیمیایی گل مریم، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید سالیسیلیک (غلظت های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) و تیامین (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر) در دو سیستم کشت بدون خاک و خاکی صورت گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای مورد استفاده تأثیر معنی داری بر ویژگی های بیوشیمیایی داشتند. در این آزمایش، بیشترین میزان آنزیم کاتالاز ۱/۶۹ میکرومول پراکسیداز هیدروژن در دقیقه بر میلی گرم و پراکسیداز ۱/۱۷۵ میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه به ترتیب مربوط به تیمار اسید سالیسیلیک ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر بودند و کمترین میزان آن در تیمار شاهد (به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۵۶) مشاهده شد. از این رو، به نظر می رسد اسید سالیسیلیک و تیامین می توانند سبب افزایش رنگیزه های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گل مریم شوند. همچنین، بیشترین میزان کانکریت (۸/۴۹ درصد) در تیمار ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و کمترین میزان آن (۴/۴۷ درصد) در تیمار شاهد گزارش شده است. براساس نتایج این پژوهش، سیستم بدون خاک از لحاظ ویژگی های فیزیولوژیک در سطح بالاتری نسبت به سیستم خاکی قرار داشت. به طوری که میزان کلروفیل a، b، کل و قند احیا در بستر کشت بدون خاک به ترتیب ۰/۱۶، ۰/۴۱، ۰/۵۷ و ۰/۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر و میزان کانکریت و پروتئین به ترتیب ۰/۷ و ۰/۳۳ درصد بود، که نسبت به سیستم کشت خاکی بیشترین میزان را نشان داد.

کلمات کلیدی: تنظیم کننده رشد، سیستم کشت، گل شاخه بریدنی، ویژگی های فیزیولوژیک

مقدمه

زیبایی و از گل های بریدنی مهم در مناطق گرمسیری و

نیمه گرمسیری است (۴۵). گیاهی است علفی، چندساله، متعلق

گل مریم (*Polianthes tuberosa* L.) یکی از گیاهان سوخوار

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: simabadel@yahoo.com

به رده نهان‌دانگان و زیررده تک‌لپه‌ای‌های جداگلبرگ (۳) براساس بررسی‌های سیتولوژیک طبقه‌بندی، از جنس *Polianthes* و متعلق به تیره *Agavaceae*، بومی مکزیک و دارای ۱۲ گونه است (۵۶). گل مریم از جمله گل‌های پیازی است که به‌عنوان گل شاخه بریده مورد استفاده قرار می‌گیرد که کشت‌وکار آن در ایران، به‌دلیل وضعیت اقلیمی بسیار مناسب برای این گل و وجود بازارهای مناسب برای صادرات این گیاه زیبا و خوش‌عطر، روز به روز در حال افزایش است. ایران، به‌دلیل داشتن تنوع بسیار مناسب آب‌وهوایی و تفاوت ۴۰ درجه سلسیوس بین سردترین و گرم‌ترین‌ترین منطقه کشور، انرژی و نیروی کار ارزان و مناسب، میزان نور کافی و نزدیکی به بازارهای مصرف، کشور بسیار مستعدی برای انواع گل و گیاهان زینتی است (۲). گل مریم در زمان‌های گذشته در میان اقشار مردم به‌عنوان گلی مقدس شناخته شده بود که نه تنها از عطر آن استفاده می‌کردند، بلکه از اثرات مثبت روانی آن نیز بهره بسیار می‌بردند (۲۶).

امروزه، از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محلول‌های محافظ برای افزایش ماندگاری، به تأخیر انداختن پیری و کاهش تولید اتیلن در گل‌های شاخه بریدنی استفاده می‌شود (۲). علاوه‌بر ویژگی‌های ژنتیکی، هورمون‌های گیاهی نیز بر ویژگی‌های رویشی گیاه نظیر تعداد برگ، سطح برگ و تعداد سوخک (Bulblet) تأثیر می‌گذارند (۳۶). اسید سالیسیلیک، یا اورتو‌هیدروکسی بنزوئیک اسید، از ترکیبات فنلی در گیاهان است که به‌عنوان ماده شبه‌هورمونی نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو دارد (۶۷).

اسید سالیسیلیک در شرایط عادی بر فرایندهای مختلف فیزیولوژیک مثل القای گل‌دهی (۳۹ و ۴۱)، تحریک ریشه، بستن روزنه و کاهش تعرق (۶۱)، رفع اثرات آبس‌زیک اسید (۲۲) و رشد میوه (۶۳) تأثیر دارد. کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش وزن ساقه، ریشه و وزن خشک کل گیاه در شرایط عادی رشد در گیاه همیشه‌بهار (*C. Officinalis*) شد. همچنین، در افزایش تعداد جوانه‌های گل و زودرسی در گل‌دهی نیز تأثیر داشت (۱۵). محلول پاشی اسید سالیسیلیک باعث افزایش قندهای قابل احیا در

گل‌های داوودی شاخه بریدنی شد (۵۱). در گزارشی، مشخص شد که محلول پاشی اسید سالیسیلیک در گل شاخه بریدنی رز منجر به افزایش طول ساقه گل‌دهنده، طول و قطر غنچه گل، سطح برگ و وزن تر گیاه شده است (۱۲). کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش قطر گل در بنفشه آفریقایی (۴۶) و اطلسی (۱) و همچنین افزایش تعداد گل در گلوکسینا (۳۸) شد.

ویتامین‌ها در مقادیر کم نیز برای رشد و نمو عادی بافت‌ها در گیاه ضرورت دارند. وجود این دسته از مواد برای رشد گیاه ثابت شده است و عموماً به‌عنوان کوآنزیم و یا آنزیم عمل می‌کنند (۱۳). تیامین یک بخش ضروری برای بیوسنتز کوآنزیم تیامین پیروفسفات است که نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات دارد. تیامین در گیاهان در برگ سنتز و به ریشه منتقل و رشد را کنترل می‌کند (۷). همچنین، تیامین عامل مهمی برای واکنش‌های انتقالی چرخه پنتوز فسفات است که پنتوز فسفات را برای سنتز نوکلئوتید فراهم می‌کند (۲۴). اگرچه وجود تیامین برای اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ضروری است اما ارتباط نزدیک‌تری با متابولیسم کربوهیدرات دارد (۵۴). اثر تنظیم‌کننده تیامین بر رشد و تکثیر گیاه به‌طور مستقیم و غیر مستقیم از طریق افزایش سطح درون-زایی عوامل مختلف رشد مانند سایتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها است. با این حال، تیامین در برگ‌ها سنتز شده و برای کنترل رشد به ریشه منتقل می‌شود (۶۴). افزایش رشد رویشی با کاربرد ویتامین‌ها در گوجه‌فرنگی (۹) و آفتابگردان (۳۱) گزارش شده است. همچنین، در گزارشی، در مورد گیاه رزماری ثابت شد که محلول پاشی برگی بوته‌های رزماری با تیامین باعث افزایش رشد رویشی و متابولیت‌های ثانویه در این گیاه شده است (۶۵). در مورد گل داوودی نیز گزارش شده که تیامین موجب افزایش تعداد گل شد (۲۵). تیامین باعث افزایش NPK در گیاه میخک پرپر شده که به موجب آن تغییرات کمی در آمینواسیدها و پروتئین‌های ایجاد می‌شود و در نهایت در تقسیم سلولی و کشیدگی سلول تأثیر مثبت می‌گذارد (۱۷). کاربرد آسکوربیک اسید و تیامین باعث افزایش ارتفاع، تعداد

غذایی هوگلند و آرنون (۴۳)، هر چهار روز یکبار تغذیه شدند. اعمال تیمارها در دو مرحله (۴۰ و ۴۷ روز پس از کاشت) به صورت محلول پاشی صورت پذیرفت (۱۴). در این پژوهش، سوخ‌های گل مریم در اوایل اردیبهشت سال ۱۳۹۵ کشت شدند. طی ۵ ماه دوره کشت، زمانی که بوته‌ها به مرحله بلوغ تجاری رسیدند و یک جفت گلچه پایینی باز شد، گل‌ها به وسیله قیچی باغبانی از محل طوقه، قطع و برای ادامه اندازه‌گیری‌ها به آزمایشگاه منتقل شدند.

سیستم کشت بدون خاک

به منظور آماده‌سازی بسترهای سیستم کشت بدون خاک، پرلیت و کوکوپیت کاملاً استریل به‌طور جداگانه تهیه شده و با نسبت حجمی یکسان مخلوط شدند. در مرحله بعد، از گلدان‌های پلاستیکی با دهانه ۳۰ سانتی‌متر استفاده شد. در کف گلدان‌ها یک تا دو سانتی‌متر پوک‌ه معدنی ریخته شد و گلدان‌ها با مخلوط پرلیت + کوکوپیت پر شدند. لازم به ذکر است که سوخ‌های یکسان گل مریم، رقم دزفول با قطر ۲ سانتی‌متر و با وزن تقریبی ۴۵ گرم، از مرکز کشت و پرورش گل مریم در شهرستان دزفول تهیه شد. در داخل هر گلدان دو عدد سوخ کشت شد. سوخ‌ها قبل از کشت با قارچ‌کش مانکوزب (با غلظت ۲ در هزار) به مدت ۲۰ دقیقه غوطه‌ور شدند (۶۰). سپس، برگ‌های خشک و اضافی سوخ‌ها حذف و در داخل گلدان‌ها با عمق ۷ سانتی‌متر کشت شدند.

سیستم کشت خاکی

در سیستم کشت خاکی، مخلوطی از کود دامی، ماسه، خاک‌برگ و خاک باغچه با نسبت‌های مساوی استفاده شد. آبیاری گلدان‌های بستر خاکی هر ۳ روز یکبار صورت گرفت. خاک مورد استفاده در سیستم کشت خاکی برای بررسی بیشتر به آزمایشگاه خصوصی خاک، آب و گیاه فرستاده شد و نتایج آن در تجزیه و تحلیل بهتر داده‌ها به‌کار گرفته شده است (جدول‌های ۱ و ۲).

برگ‌ها، سطح برگ، وزن تر و خشک و ترکیبات شیمیایی در گیاه سینگونیوم شد (۵۴).

در سال‌های اخیر، استفاده از سیستم کشت بدون خاک (هیدروپونیک) در گلخانه‌های کشور بسیار مورد استقبال قرار گرفته است. با استفاده از این روش کشت و با توجه به هزینه اولیه آن که معادل سایر روش‌های بسترسازی معمول است، می‌توان راندمان تولید محصول در گلخانه یا زمین مورد نظر را تا ۳۰٪ افزایش داد (۵۲). از این روش، به دلیل کاهش چشمگیر مصرف آب، می‌توان در مناطق کم آب کشور نیز استفاده کرد. استفاده از سیستم بدون خاک در پرورش محصولات گلخانه‌ای نسبت به کشت خاکی، به دلایل مختلفی مانند کنترل دقیق‌تر تغذیه گیاه، امکان استفاده از زمین‌های غیر قابل استفاده و صرفه‌جویی در مصرف آب رو به افزایش است (۶).

هدف از این آزمایش، بررسی امکان کشت گل مریم در سیستم کشت بدون خاک و مقایسه آن با کشت خاکی بوده است تا در صورت پاسخ مثبت بتوان آن را استفاده کرد. علاوه بر این، هدف دیگر، بررسی واکنش بیوشیمیایی این گل به تنظیم‌کننده‌های رشد از جمله اسید سالیسیلیک و تیمین بوده تا بتوان گل باکیفیت‌تر تولید نمود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه‌ای از جنس پلی‌کربنات در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد، که دمای روز ۲۶ تا ۲۸ درجه سلسیوس و دمای شب ۱۴ تا ۱۶ درجه سلسیوس کنترل می‌شد و رطوبت آن 70 ± 5 درصد بود. میزان نور موجود در فضای گلخانه با احتساب سایه‌دهی متوسط در گلخانه به میزان ۴۰۰۰-۸۰۰۰ میکرومول بوده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور شامل اسید سالیسیلیک در پنج سطح (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، تیمین در دو سطح (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) هر کدام با سه تکرار، در دو سیستم بدون خاک و خاکی اجرا شد. گیاهان تحت کشت بدون خاک با استفاده از محلول

جدول ۱. نتایج تجزیه خاک سیستم کشت خاکی مورد استفاده در این پژوهش

بافت	ماسه (%)	سیلت (%)	رس (%)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	کربن آلی (%)	درصد ازت	درصد مواد خثی شونده	درصد اشباع	هدایت الکتریکی	pH (cm)	عمق نمونه	مشخصات نمونه	شماره آزمایشگاه
Si-L	۱۶	۶۶	۱۸	۲۹۶	۷/۸	۱/۸	۰/۱۸	۹/۱۸	۱۵/۳	۱/۵۵۵	۷/۹۴	۰-۳۰	گرگان	۷۵۷

جدول ۲. نتایج تجزیه خاک مورد استفاده از نظر میزان عناصر غذایی قابل استفاده برای گیاه

Mg	Ca	Mn	Cu	Zn	Fe	عمق	مشخصات نمونه	شماره آزمایشگاه
میلی‌گرم بر کیلوگرم								
۴/۰	۱۱/۶	۹/۲	۱/۸	۳/۳	۹/۲	۰-۳۰	گرگان	۷۵۷

$$\text{Chl total (mg/g.F.w)} = 20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663}) * V / 1000 * W \quad [3]$$

که A طول موج، V حجم نهایی محلول و W وزن نمونه است.

اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز (POD)

برای اندازه‌گیری این آنزیم از بافر گایاکول ۴۵ میلی مولار و بافر آب اکسیژنه ۲۲۵ میلی مولار استفاده شد که در دمای کم ۴۷۵ میکرولیتر هر یک از بافرها با ۵۰ میکرولیتر عصاره مخلوط و جذب طول موج ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر PG Instrument+T80 اندازه‌گیری شد (۴۸). فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز محاسبه و در نهایت بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه محاسبه شد:

$$\text{OD/min} / 13/3 = \text{فعالیت آنزیم پراکسیداز} \quad [4]$$

اندازه‌گیری میزان پروتئین

برای سنجش پروتئین، ابتدا محلول برادفورد تهیه شد و سپس ۲/۵ میلی لیتر از محلول برادفورد با ۵۰ میکرولیتر عصاره مخلوط شده و به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی قرار داده شد و در نهایت در جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۱۹).

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز (CAT)

بررسی میزان فعالیت کاتالاز با تعیین کاهش مقدار H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر برای یک دقیقه انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (pH=۷) و H_2O_2 ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در یک حجم ۳ میلی لیتر بود. میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل $39/4 \text{ cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ محاسبه و بر حسب یک واحد (میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه) به ازای میلی گرم پروتئین بیان شد (۱۰).

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX)

فعالیت این آنزیم بر اساس روش ناکانو و آسادا (۵۵)

اندازه‌گیری میزان کانکریت

اسانس‌گیری از گل‌ها با استفاده از روش استخراج با حلال هگزان انجام شد. برای این کار، ۱۰۰ گرم از گلچه‌های تازه باز شده گل مریم از ناحیه دمگل جدا شده و پس از توزین و جدا نمودن گلبرگ‌ها، بلافاصله درون یک بالن یک لیتری ریخته شد. ابتدا ماده خام گیاهی در مجاورت حلال غیرقطبی هگزان در دمای ۴۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت روی هیتر مگنت دار قرار داده شد. پس از حل شدن اسانس موجود در گلبرگ‌ها در حلال، عصاره حاصل به وسیله دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ و هگزان از عصاره جدا شد. در این مرحله، محلول به دست آمده کانکریت نام دارد. کانکریت علاوه بر مواد معطر شامل موم‌ها و مواد رنگین گیاهی نیز است که برای خلص سازی ابتدا کانکریت با الکل اتیلیک آمیخته و تا رسیدن به دمای ۴۷ درجه سلسیوس حرارت داده شد تا اسانس کاملاً در الکل حل شود. سپس، محلول حاصل صاف و از موم جدا شده و در مرحله بعد، محلول الکلی جهت خارج نمودن حلال در خلأ نسبی تقطیر و در نهایت اسانس خلص حاصل شد (۴۹).

اندازه‌گیری رنگدانه‌های درونی

به منظور استخراج کلروفیل ابتدا یک گرم از نمونه در هر تکرار با ۱۰ میلی لیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) مخلوط شد. به مدت سه ساعت در آن ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سپس، از نمونه حاصل ۲۵۰ میکرولیتر برداشته و مجدداً دو میلی لیتر DMSO به آن اضافه شد. از DMSO خلص به عنوان بلانک استفاده شد. نمونه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 2800uv/vis در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۸۰ نانومتر جهت اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کلروفیل کل اندازه‌گیری شد و اعداد به دست آمده در روابط (۱) تا (۳) قرار داده شدند (۴۲):

$$\text{Chl a (mg/g.F.w)} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) * V / 1000 * W \quad [1]$$

$$\text{Chl b (mg/g.F.w)} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) * V / 1000 * W \quad [2]$$

فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل

بر اساس نتایج به‌دست آمده، تیمارهای اسید سالیسیلیک و تیمین نسبت به‌شاهد اثر قابل ملاحظه‌ای بر شاخص کلروفیل نسبی داشتند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر متقابل سیستم کشت و تیمارها در سطح احتمال ۱٪ بر میزان کلروفیل برگ تأثیر معنی‌دار داشته است، تأثیر اسید سالیسیلیک و تیمین بر کلروفیل a در سطح ۱٪ و بر کلروفیل b و کل در سطح ۵٪ معنی‌دار شد، ولی بررسی جداگانه سیستم کشت و تیمارهای اسید سالیسیلیک و تیمین تأثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل برگ نداشته است (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بین سطوح مختلف سالیسیلیک اسید، تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک بیشترین میزان کلروفیل را داشته و کمترین آن را اسید سالیسیلیک ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نشان داد. بیشترین میزان کلروفیل در تیمین ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. میزان کلروفیل در تیمارهای شاهد کمتر از سایر تیمارها بود و در تیمار اسید سالیسیلیک ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میزان کلروفیل از لحاظ مقدار در سطح بالاتری قرار داشت و کاهش کلروفیل کمتر مشاهده شد. همچنین، بررسی نتایج داده‌ها نشان داد که میزان کلروفیل در برگ‌های گل بریدنی مریم با گذشت زمان و پیشرفت پیری کاهش می‌یابد. اما سرعت کاهش در تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم تیمین به‌کار رفته به‌مراتب کمتر از سایر تیمارها و شاهد بود. کلروفیل با داشتن اتم Mg شلاته شده مرکزی بایک حلقه ایزوسیقلیک چهارتایی، مشتق شده از گروه پرپیونیک اسید در موقعیت ۶ پیش‌ساز پورفیرین از سایر مولکول‌های تتراپیر ولی قابل تشخیص است (۲۱). در این پژوهش، تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a, b و کل) تحت تیمار اسید سالیسیلیک بر

اندازه‌گیری شد. در این روش، مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، آسکوربات ۵٪ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱٪ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آسکوربات بر اساس اکسیداسیون اسید آسکوربیک و کاهش در جذب، در طول موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه واحد آنزیمی از ضریب خاموشی معادل $2/8 \text{ cm}^{-1} \text{ Mm}^{-1}$ استفاده شد. یک واحد آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مول اسید آسکوربیک را در مدت یک دقیقه اکسید کند.

اندازه‌گیری قند احیا

ابتدا ۰/۰۲ گرم از اندام هوایی با ۱۰ میلی‌لیتر در هاون چینی ساییده، سپس محتوای هاون به بشر کوچکی منتقل و روی اجاق برقی قرار داده شد تا حرارت ببیند. به محض اینکه به نقطه جوش رسید، حرارت قطع و محتوای بشر به‌کمک کاغذ صافی، صاف شد و عصاره گیاهی به‌دست آمد. مقدار ۲ میلی‌متر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده به لوله آزمایش منتقل و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول سولفات مس به آنها، به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلیوس قرار داده شدند. در این مرحله Cu^{2+} توسط آلدئید منوساکارید احیا شده به Cu_2O تبدیل می‌شود و انتهای لوله آزمایش رنگ قرمز آجری مشاهده می‌شود. پس از آن که لوله‌ها سرد شدند، ۲ میلی‌لیتر سفیر مولیدیک اسید به آنها اضافه و پس از چند لحظه رنگ آبی پدیدار شد. لوله‌های آزمایش به‌شدت تکان داده شدند تا این رنگ به‌طور یکنواخت درون لوله آزمایش منتشر گردد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت قندهای احیا کننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۶۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از این آزمایش به‌صورت

جدول ۳. تجزیه واریانس تأثیر تیمار و سیستم کشت بر صفات اندازه گیری شده گل شاخه بریدنی مریم

منبع تغییرات	درجه آزادی	آنزیم آسکوربات	پراکسیداز	کانکریت (درصد)	آنزیم کاتالاز	آنزیم کاتالاز (میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه بر میلی گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
تیمار	۶	۱/۱۵۹۸۳۸۱ ^{**}	۱۰/۲۴۸۱۶۵۸۷ ^{**}	۰/۸۰۷۲۴۶۸۳ ^{**}	۰/۰۰۸۸۳۱۲۱ ^{ns}	۰/۰۳۰۹۷۸۷۶ ^{ns}	۰/۰۶۱۸۰۲۶۱ ^{ns}	۰/۰۹۷۹۲۳۴۳ ^{ns}	۰/۱۰۲۳۸۱۴۸ [*]
بستر کشت	۱	۳/۵۰۹۰۳۸۱ ^{**}	۰/۳۹۶۳۴۲۸۶ ^{ns}	۰/۰۲۷۷۷۱۴۳ ^{ns}	۰/۰۰۵۷۸۶۸۸ ^{ns}	۰/۰۵۶۱۰۰۶۰ ^{ns}	۰/۰۹۷۹۲۳۴۳ ^{ns}	۰/۰۹۷۹۲۳۴۳ ^{ns}	۰/۰۹۷۹۲۳۴۳ ^{ns}
تیمار × بستر کشت	۶	۱/۹۷۶۴۹۳۶۵ ^{**}	۵/۶۷۰۱۵۹۵۱ ^{**}	۰/۱۲۵۵۹۹۲۱ ^{**}	۰/۰۱۳۵۰۷۶۰ ^{**}	۰/۰۴۳۳۹۵۲۱ [*]	۰/۰۲۳۸۱۴۸ [*]	۰/۰۲۳۸۱۴۸ [*]	۰/۰۲۳۸۱۴۸ [*]
خطا	-	۰/۰۸۶	۰/۰۱۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۰۱۳	۰/۰۰۶۴	۰/۰۱۲۳	۰/۰۱۲۳	۰/۰۱۲۳
ضریب تغییرات (%)	-	۸/۵۸۵۸۹۸	۵/۳۴۹۲۶۱	۹/۲۷۲۳۳۰	۲۴/۲۰۳۳۹	۲۰/۹۸۱۴۵	۲۰/۸۶۵۴۳	۲۰/۸۶۵۴۳	۲۰/۸۶۵۴۳

ns و * ** اختلاف معنی دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

در طی یک بررسی، گزارش شد که افزودن تیامین باعث بهبود رشد، القای گل‌دهی و افزایش کیفیت گل و افزایش عمر گلدانی گلابول و مریم گلی شده است. چنین افزایش مثبتی می‌تواند به این علت باشد که ویتامین‌ها به‌عنوان یک ترکیب زیستی در نظر گرفته می‌شوند که در غلظت کم تأثیر عمیقی بر رشد و عملکرد گیاه دارند، که باعث افزایش رشد و متابولیسم می‌شود (۱۶). این مشاهدات هماهنگ با یافته‌های محمد و همکاران (۵۳) است که تأثیر مثبت ویتامین‌ها بر اکثر ترکیبات شیمیایی گیاهان را تأیید می‌کند. کلروفیل در گیاهان از نظر جذب و به‌کارگیری انرژی نورانی در فتوسنتز نقش اساسی اولیه دارد. لذا، تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی بیوسنتز و تجزیه کلروفیل به‌طور مستقیم روی فتوسنتز مؤثر واقع می‌شود (۱۶). گزارش شده که تیامین با کمک به سنتز مجدد کلروفیل در برخی از گیاهان فاقد کلروفیل موجب افزایش رشد و در نهایت افزایش محصول می‌شود (۳۵).

آنزیم پراکسیداز

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برای تیمارهای مختلف اعمال شده در گل مریم در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۴). میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای تیامین در سطح بالاتری نسبت به اسید سالیسیلیک و شاهد قرار داشت. بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای تیامین به‌ترتیب ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر وجود داشت. بین غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۵). از نظر سیستم کشت، بوته‌های رشد کرده در شرایط خاک میزان آنزیم پراکسیداز بیشتری نسبت به کشت هیدروپونیک داشته است. ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (جدول ۶). اسید سالیسیلیک موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شده که این افزایش ناشی از فعال شدن سلول‌ها از طریق جذب مناسب محلول‌غذایی و تورژسانس بوده است (۵۸). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش پیری گل‌ها

طبق جدول (۳)، به‌گونه معنی‌داری تحت تأثیر قرار نگرفته است و در تیمار با اسید سالیسیلیک مقدار رنگدانه‌هاف بخصوص کلروفیل b، را در مقایسه با گیاه کنترل افزایش داده؛ همچنین، مقدار کلروفیل کل نیز افزایش پیدا کرد. گزارش شده که اسید سالیسیلیک محتوای کلروفیل گیاهان را تحت تأثیر قرار داده و سبب افزایش آن می‌شود (۲۳). همچنین، نتایج این تحقیق با نتایج فن و همکاران (۲۸) در گل بریدنی ژربرا مطابقت دارد. اسید سالیسیلیک مانع از کاهش اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها شده و همچنین سبب بهبود تقسیم یاخته‌ای در مرستم ریشه و افزایش عملکرد گیاه می‌شود (۳۷). اسپری برگ‌گی اسید سالیسیلیک در گیاه ریحان و مرزنجوش (*Majorana hortensis*) نیز باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی شده است (۵۱). اسید سالیسیلیک به‌دلیل اثر بر ساخت کلروفیل‌ها و اثر محرک بر ظرفیت فتوسنتزی، از راه انگیزش فعالیت رویسکو در افزایش سطح عملکرد فتوسنتز نقش دارد (۳۲). طبق نتایج حاصل از آزمایش زمانی و همکاران (۶۶) و فن و همکاران (۲۸)، به‌کارگیری اسید سالیسیلیک به‌میزان ۲ میلی‌مولار در لیتر در محلول محافظ گل‌های بریدنی رز و ژربرا با تأثیر بر کاهش فعالیت اتیلن، میزان کلروفیل را در حد بالا نگه می‌دارد و از تخریب آن جلوگیری می‌کند. این واقعیت به‌خوبی ثابت شده است که اسید سالیسیلیک پاسخ متابولیک وسیعی در گیاهان ایجاد می‌کند و همچنین بر ویژگی‌های فتوسنتزی و رابطه‌های آبی گیاه اثر می‌گذارد (۲۹).

کاربرد تیامین و اسید سالیسیلیک، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی را در گل مریم افزایش داد و تیامین ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر افزایش محتوای رنگیزه‌ها داشت (جدول ۵). تیامین باعث افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در گل کوکب می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تیامین به‌عنوان کاتالیزور در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها سبب افزایش کلروفیل می‌شود (۵۴). نتایج حاصل از یک پژوهش، روی گیاه سینگونوم بیانگر این است که کاربرد اسید آسکوربیک و تیامین باعث افزایش رنگیزه‌های فوسنتزی نسبت به شاهد می‌شود (۸).

جدول ۴. تجزیه واریانس تأثیر تیمار و سیستم کشت بر صفات اندازه‌گیری شده گل شاخه بریدنی مریم

منابع تغییرات	درجه آزادی	قند (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنزیم پراکسیداز (میکرومول بر گرم وزن تر در دقیقه)
تیمار	۶	۰/۰۰۲۰۰۷۴۹ ^{ns}	۰/۰۰۸۶۷۲۲۱ ^{**}	۰/۳۹۶۲۴۹۲۱ ^{**}
بستر کشت	۱	۰/۰۰۰۱۳۳۹۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۴۱۴۸۶ ^{ns}	۰/۵۹۷۶۲۱۴۳ ^{**}
تیمار × بستر کشت	۶	۰/۰۰۲۴۱۹۷۶ ^{ns}	۰/۰۴۳۱۲۰۱۹ ^{**}	۰/۲۶۷۶۶۰۳۲ ^{**}
خطا	-	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۸	۰/۰۰۰۰۴
ضریب تغییرات	-	۱۸/۹۴۲۹۶	۸/۷۵۵۳۳۲	۸/۷۱۴۸۶۹

ns و * و ** اختلاف معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

می‌شود. بنابراین، غلظت‌های بیشتر اسید سالیسیلیک سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شده است.

پروتئین و قند احیا

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان پروتئین در گل مریم نشان داد که اثر تیمارها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. ولی تیمار سیستم کشت، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. طبق نتایج، اثر تیمار (اسید سالیسیلیک و تیمین) و همچنین نوع سیستم کشت بر میزان قند احیا از نظر آماری معنی‌دار نشده است (جدول ۴). میزان پروتئین، با گذشت زمان از آغاز آزمایش به تدریج در برگ کاهش نشان داد. ولی این کاهش در تیمارهای شاهد بیشتر بود. بیشترین و کمترین میزان پروتئین در تیمین ۱۰۰ میلی‌گرم و شاهد است (جدول ۵). از نظر سیستم کشت، پیازهای کشت شده در سیستم کشت هیدروپونیک بیشترین تأثیر را بر میزان پروتئین و قند احیا داشته است (جدول ۶).

پیری برگ‌ها معمولاً با کاهش میزان پروتئین همراه است. کاهش پروتئین برگ‌ها هم‌زمان با پیری به‌علت سنتز کم پروتئین‌های جدید و نیز تجزیه پروتئین‌های قبلی است (۳۸). رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها دارند و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند. از آنجایی که پروتئین‌ها خود به‌منزله یک سوسترا در میتوکندری به‌دنبال قندها برای تولید انرژی استفاده می‌شوند می‌توانند موجب افزایش ماندگاری

شوند. از این‌رو، می‌توان نتیجه گرفت که اسید سالیسیلیک به‌دلیل وجود ترکیبات فنولیک مانع از تخریب ساختار پروتئین می‌شود (۲۰). طی فتوسنتز فعال و در حضور نور، مقدار کربوهیدراتی که به‌صورت تریوزفسفات در یک برگ گیاه تولید می‌شود، بیش از میزان مورد نیاز آن برای تولید انرژی یا سنتز به‌صورت پیش‌سازها است. کربوهیدرات مازاد به ساکاروز تبدیل شده و به سایر قسمت‌های گیاه انتقال داده می‌شود، تا در آن محل‌ها به‌عنوان سوخت مصرف شود. در اکثر گیاهان، نشاسته شکل اصلی ذخیره‌ای است. اما اسید آمینه هم در گیاهان سنتز شده و پلی‌پپتیدها را می‌سازند (۲۴). فرض شده که تیمار اسید سالیسیلیک، آنزیم‌های هیدرولیز کننده پلی‌ساکاریدها را مهار کرده و تشکیل پلی‌ساکاریدها از قندهای محلول را سرعت می‌بخشد. با این فرض، اسید سالیسیلیک هزینه قندهای غیرمحلول را نسبت به قندهای محلول افزایش می‌دهد. اما مقدار پروتئین محلول یعنی آمینو اسیدهای آزاد مثل پرولین در بخش هوایی و ریشه این گیاه تحت تیمار اسید سالیسیلیک افزایش پیدا کرد (۱۸). در گزارشی، بیان شده که تیمار بوته‌های گوجه‌فرنگی با غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، میزان پروتئین محلول را افزایش داد (۳۷). این مطلب نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک احتمالاً هیدرولیز قندهای غیرمحلول یا پروتئین‌ها را تحریک کرده و منجر به تجمع ترکیبات اسمولیت می‌شود. در گزارشی که در مورد اثر اسید سالیسیلیک روی گیاه ریحان آمده ثابت شده که اسپری

جدول ۵. تأثیر اسید سالیسیلیک و تیمین بر صفات اندازه‌گیری شده گل شاخه بریدنی مریم

آنزیم پراکسیداز	پروتئین	قند احیا	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل	کاتالاز	آنزیم کاتالاز	کانکریت	آنزیم پراکسیداز	آنزیم	تیمار
۱/۱۱۰۰۰ ^a	۰/۳۲۹۱۷ ^b	۰/۰۹۵۰۰ ^{cd}	۰/۵۳۹۸۳ ^{bc}	۰/۴۰۸۱۷ ^b	۰/۱۳۱۶۷ ^{bc}	۰/۱۶۹۰۰۰ ^a	۱/۶۳۰۸۳ ^d	۵/۳۰۸۳ ^d	۳/۲۵۳۳ ^b	۳/۲۵۳۳ ^b	SA۵۰	
۱/۱۷۵۰۰ ^a	۰/۳۶۴۳۳ ^a	۰/۱۲۵۸۳ ^{ab}	۰/۵۷۹۰۰ ^b	۰/۴۰۰۶۷ ^b	۰/۱۷۸۳۳ ^a	۱/۶۶۸۳۳ ^{ab}	۵/۸۱۰۰ ^c	۵/۸۱۰۰ ^c	۳/۳۰۱۷ ^b	۳/۳۰۱۷ ^b	SA۱۰۰	
۰/۶۶۶۶ ^c	۰/۲۹۷۱۷ ^b	۰/۱۳۲۸۳ ^a	۰/۴۵۴۱۷ ^{bc}	۰/۳۳۲۵ ^b	۰/۱۲۱۶۷ ^c	۰/۹۵۱۶۷ ^{cd}	۵/۳۳۳ ^d	۵/۳۳۳ ^d	۴/۱۰۱۷ ^a	۴/۱۰۱۷ ^a	SA۱۵۰	
۰/۵۶۱۶۷ ^d	۰/۲۹۶۸۳ ^b	۰/۱۱۵۰۰ ^{bc}	۰/۴۸۴۵۰ ^{bc}	۰/۳۷۱۸۳ ^b	۰/۱۱۲۶۷ ^c	۰/۹۸۶۶۷ ^{cd}	۸/۴۹۶۷ ^a	۸/۴۹۶۷ ^a	۳/۳۹۰۰ ^b	۳/۳۹۰۰ ^b	SA۲۰۰	
۰/۶۵۸۳۳ ^c	۰/۳۸۵۰۰ ^a	۰/۱۲۱۶۷ ^{ab}	۰/۴۳۸۸۳ ^c	۰/۳۲۲۳۳ ^b	۰/۱۱۶۵۰ ^c	۱/۰۲۶۶۷ ^c	۵/۶۵۵۰ ^{cd}	۵/۶۵۵۰ ^{cd}	۳/۳۸۸۳ ^b	۳/۳۸۸۳ ^b	Th۱۰۰	
۰/۹۰۳۳۳ ^b	۰/۳۷۲۸۳ ^a	۰/۱۰۴۵۰ ^{dc}	۰/۳۳۴۱۷ ^a	۰/۵۲۲۳۳ ^a	۰/۲۱۱۸۳ ^a	۱/۵۴۳۳۳ ^b	۶/۸۸۶۷ ^b	۶/۸۸۶۷ ^b	۳/۸۷۸۳ ^a	۳/۸۷۸۳ ^a	Th۱۵۰	
۰/۵۶۶۶۷ ^d	۰/۳۰۴۰۰ ^b	۰/۰۸۱۶۷ ^d	۰/۴۹۱۱۷ ^{bc}	۰/۳۱۷۶۷ ^b	۰/۱۷۳۵۰ ^{ab}	۰/۸۷۰۰۰ ^d	۴/۴۷۶۷ ^c	۴/۴۷۶۷ ^c	۲/۶۹۶۷ ^c	۲/۶۹۶۷ ^c	C	

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

جدول ۶. تأثیر نوع سیستم کشت بر صفات اندازه‌گیری شده گل شاخه بریدنی مریم

آنزیم پراکسیداز	پروتئین	قند احیا	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	کلروفیل	کاتالاز	آنزیم کاتالاز	کانکریت	آنزیم پراکسیداز	آنزیم	سیستم کشت
۰/۶۸۶۶ ^b	۰/۳۳۸۷۶ ^a	۰/۱۱۲۸۵ ^a	۰/۵۷۹۹۵ ^a	۰/۴۱۸۷۶ ^a	۰/۱۶۱۱۹ ^a	۱/۲۳۳۸۱ ^a	۶/۰۷۸۱۰ ^a	۶/۰۷۸۱۰ ^a	۳/۷۰۴۷۶ ^a	۳/۷۰۴۷۶ ^a	هیدروپونیک	
۰/۹۲۵۲۴ ^a	۰/۳۳۲۴۷ ^a	۰/۱۰۹۲۸ ^a	۰/۴۸۳۳۸ ^b	۰/۳۴۵۶۷ ^b	۰/۱۳۷۷۱ ^b	۱/۲۲۲۳۸ ^a	۵/۸۸۳۸۱ ^a	۵/۸۸۳۸۱ ^a	۳/۱۲۶۶۷ ^b	۳/۱۲۶۶۷ ^b	خاکی	

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

آنتی اکسیدانی خیار پرداختند، نشان داده شد که کاربرد اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. همچنین، گرائی لو و قاسم نژاد (۳۳) گزارش کردند که کاربرد اسید سالیسیلیک در دوره پس از برداشت باعث کاهش فعالیت پراکسیداز در گل رز شد و پیری گل‌ها را به تعویق انداخت. پراکسیداز نقش حیاتی در محافظت سلول در برابر پراکسیداز هیدروژن دارد (۵۹). می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تیمارهای اسید سالیسیلیک ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، علاوه بر افزایش ماندگاری گل، اثر محافظتی دارند که مانع از ایجاد انواع تنش در گلبرگ‌ها شده و در نهایت سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان از جمله پراکسیداز می‌گردد. اما در تیمارهایی که ماندگاری کمتری را نشان دادند احتمالاً با کاهش جذب آب مرتبط است که سبب پیری و ایجاد تنش در گلبرگ‌های گل مریم می‌شود و در نتیجه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان به‌ویژه کاتالاز در این تیمارها افزایش می‌یابد. از آنجایی که گونه‌های اکسیژن آزاد به‌دست آمده از تجزیه هیدروژن پراکسیداز یکی از عوامل مهم در پیری زودرس گلبرگ‌هاست و از سوی دیگر آنزیم کاتالاز از آنتی اکسیدان‌ها بوده و موجب خنثی شدن اثر سمی اکسیژن آزاد هیدروژن پراکسیداز می‌شود (۳۸)، در نتیجه فعالیت این آنزیم از این طریق از پیری گلبرگ‌ها ممانعت می‌کند (۲۷). آنزیم کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها و گلی‌اکسی‌زوم‌های گیاهی وجود دارد. کاتالاز نقش تجزیه H_2O_2 تولید شده طی تنفس نوری در پراکسی‌زوم‌ها یا H_2O_2 تولید شده طی بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در گلی‌اکسی‌زوم‌ها را برعهده دارد. افزایش فعالیت کاتالاز یک پاسخ سازشی برای غلبه بر آسیب‌های ناشی از سطوح سمی و احیاکننده H_2O_2 است که طی متابولیسم سلول تولید می‌گردد. ترکیبات فنلی از مشتقات مسیر فنیل پروپانوئید بوده و از اجزای سیستم دفاع غیرآنزیمی و آنتی اکسیدانی سلول محسوب می‌شوند. این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان خاموش‌کننده و یا جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن و یا سایر گونه‌های فعال اکسیژن عمل نمایند (۶۰). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که غلظت‌های

برگی اسید سالیسیلیک، مقدار کربوهیدرات، پروتئین، آمینو اسیدهای آزاد و پرولین را به یک نسبت افزایش می‌دهد (۳۴). همچنین، نتایج پژوهش انجام شده روی سینگونیم نشان داد که کاربرد تیمین باعث افزایش کربوهیدرات‌های کل می‌شود (۷). نتایج پژوهش حاضر، این گزارش را تأیید می‌کند. مقدار قند (مواد جامد محلول) نیز یکی از عوامل مهم در تعیین طول عمر گل شاخه بریدنی است. بنابراین، هرچه درصد مواد کربوهیدراتی ذخیره بیشتر باشد، طول عمر گل افزایش می‌یابد (۴). عبدالعزیز و همکاران (۸) گزارش کرده‌اند که تیمین موجب افزایش قندهای محلول گلابول شد. تیمین یک بخش ضروری برای بیوستز کوآنزیم تیمین پیروفسفات است که نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات دارد. اگرچه وجود تیمین برای اکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ضروری است. اما ارتباط نزدیک‌تری با متابولیسم کربوهیدرات دارد (۵۴). ای‌د و همکاران (۲۴) گزارش کردند که کاربرد تیمین روی یاسمن سبب افزایش میزان قندهای محلول، غیر محلول و کل نسبت به شاهد شد و با افزایش غلظت میزان قندها نیز افزایش یافتند.

آنزیم پراکسیداز و کاتالاز

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برای تیمار اسید سالیسیلیک و تیمین اعمال شده در گل مریم در سطح احتمال ۱٪ و سیستم کشت اثر معنی‌دار نداشته است (جدول ۳). تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان می‌دهد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار اسید سالیسیلیک ۵۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها است (جدول ۵). پراکسیدازهای گیاهی (PODs) که آنزیم‌هایی گسترده در بین گیاهان عالی می‌باشند، دارای نقش مهمی در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی سلول بوده و گونه‌های اکسیژن فعال را سم‌زدایی می‌کنند. Pods سلول را در برابر مقادیر سمی H_2O_2 حفاظت می‌نمایند (۵۷). طبق گزارش شی و ژو (۵۹) که به بررسی تأثیر کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک بر سمیت منگنز و سیستم

مختلف اسید سالیسیلیک و سیستم کشت تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بر پراکسیداز داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۵) نشان داد که در بین غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر و سیستم کشت هیدروپونیک بیشترین تأثیر را بر میزان آنزیم پراکسیداز داشته است. کمترین میزان این آنزیم در شاهد مشاهده شده است. آنزیم پراکسیداز یکی از آنزیم‌های اکسیدکننده ترکیبات فنلی بوده و نقش مهمی در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی دارد (۱۱).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک موجب کاهش تنش اکسیداتیو حاصل در بوته‌های گل مریم شد که نتیجه آن در بهبود پارامترهای رشد مشخص است. اسید سالیسیلیک موجب افزایش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نظیر ترکیبات فنلی و مخزن آسکوربات شد. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان با مکانیسم‌های متعددی مثل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و یا قرار گرفتن به‌عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند (۲۰ و ۴۰). پیش‌تیمار با اسید سالیسیلیک موجب افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان آنزیمی مثل آنزیم‌های APX, CAT و GPOR شد. با افزایش فعالیت APX و در نتیجه فعال شدن چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و جاروب‌کننده‌های پراکسید هیدروژن و به‌دنبال آن با افزایش فعالیت CAT و سایر پراکسیدازها با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود (۱۱). کاهش تنش اکسیداتیو و آسیب‌های غشایی، همراه با افزایش پارامترهای رشد در پاسخ به پیش‌تیمار اسید سالیسیلیک ممکن است مربوط به القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدان باشد که سلول‌ها را از آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تنش محافظت می‌نماید. هنگامی که اسید سالیسیلیک در غلظت و زمان مناسب به‌کار برده می‌شود موجب یک تنش اکسیداتیو موقت و گذرا در سلول‌های گیاهی شده که به‌عنوان یک فرایند مقاوم‌سازی (Hardening) عمل می‌نماید و موجب

افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد (۲ و ۴۴). اسید سالیسیلیک با تغییر فعالیت آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز یا NAD (P) H اکسیداز متصل به غشای سیتوپلاسمی (آنزیم‌های دخیل در تولید یا تجزیه H_2O_2) موجب افزایش موقت و جزئی در مقدار H_2O_2 (به‌عنوان پیام‌بر ثانویه) شده که منجر به القای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول می‌گردد. برای القای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، غلظت‌های بسیار کمی از H_2O_2 مورد نیاز است و H_2O_2 در غلظت‌های زیاد، خود به‌عنوان عامل ایجاد کننده تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود (۴۴ و ۵۰). بنابراین، نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد اسید سالیسیلیک با فعال کردن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان، موجب افزایش مقاومت گیاهان و در نتیجه بهبود رشد بوته‌های گل مریم شده است.

کانکریت

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار بر شاخص کانکریت در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده ولی نوع سیستم کشت معنی‌دار نبوده است (جدول ۳). استفاده از غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، میزان شاخص کانکریت نسبت به شاهد را افزایش داده و شاهد کمترین میزان را داشته است (جدول ۵). فاطما و غریب (۳۰) در تحقیق خود روی ریحان و مرزنجوش گزارش کردند که اسید سالیسیلیک با افزایش عملکرد پیکر رویشی و درصد اسانس، منجر به افزایش عملکرد اسانس دو گونه شد. بین کیفیت ظاهری (مانند طول ساقه، طول خوشه و درشتی گلچه‌ها) و میزان اسانس قابل استخراج گل‌ها ارتباط متقابل و معکوسی وجود دارد، زیرا با افزایش صفات کمی میزان اسانس، کاهش را نشان می‌دهد. این موارد نشان داد که هر نوع تغییر در شرایط رشدی گیاهان به‌طور مستقیم در میزان تولید مواد معطر آنها دخالت داشته و ممکن است به کاهش یا افزایش عطر گیاهان منجر می‌شود. در این آزمایش، اسید سالیسیلیک و تیمار سبب افزایش میزان اسانس حاصل از گل‌ها شد. اما در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تیمار

علاوه بر این، اثرهای مخرب محیطی بر گیاه با کاربرد اسید سالیسیلیک و تیامین کاهش پیدا کرد. بر طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش، کاربرد غلظت ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر تیامین به منظور بهبود ویژگی های فیزیولوژی در بوته های گل مریم قابل توصیه است. یکی از مزیت هایی که در ارتباط با تغذیه گیاه در کشت بدون خاک مطرح بوده، کنترل محیط از نظر عناصر غذایی است. به عبارت دیگر، می توان هر ماده ای با هر نوع غلظتی تهیه و در محلول قرار داد و نسبت بین یونها را به خوبی حفظ کرد. ولی در محیط خاک، این مسأله قابل کنترل نیست. با توجه به نتایج، سیستم کشت هیدروپونیک نسبت به کشت خاکی تأثیر بیشتری بر ویژگی های فیزیولوژیک گل مریم داشته است.

در مقایسه با غلظت های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر اسید سالیسیلیک افزایش میزان اسانس را نشان داد و شاید در غلظت های بیش تر اسید سالیسیلیک مقدار اسانس حاصل باز هم افزایش یابد که مستلزم بررسی بیشتر در این زمینه است.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که محلول پاشی بوته های گل مریم با اسید سالیسیلیک و تیامین به ترتیب باعث بهبود ویژگی های فیزیولوژیک (آنزیم آسکوربات پراکسیداز، کانکریت، کاتالاز، قند احیا و آنزیم پراکسیداز) و کلروفیل a, b, کلروفیل کل و پروتئین شده است. افزایش شاخص کلروفیل نسبی با محلول پاشی تیامین به نقش کاتالیزوری تیامین در متابولیسم کربوهیدرات ها، چربی ها و پروتئین ها اشاره دارد.

منابع مورد استفاده

۱. بیات، ح.، س. ح. نعمتی، ع. تهرانی فر، ن. وحدتی و ی. سلاح. ۱۳۹۱. تأثیر سالیسیلیک اسید بر رشد و ویژگی های زیستی اطلسی ایرانی (*Petunia hybrid*) تحت شرایط تنش شوری. علوم و فنون کشت های گلخانه ای ۱۱(۳): ۴۳-۵۰.
۲. شور، م.، ع. تهرانی فر و آ. خوشنود یزدی. ۱۳۸۹. اثر برخی عناصر غذایی کم مصرف بر صفات کمی گل مریم رقم دابل. نشریه علوم باغبانی ۲۴(۱): ۴۵-۵۲.
۳. قاسمی قهساره، م. و م. کافی. ۱۳۹۱. گلکاری علمی و عملی. جلد اول، انتشارات رضوی، تهران.
۴. گندابی، م.، م. حسن پور اصیل، ع. حاتم زاده، ب. ربیعی و آ. چمنی. ۱۳۸۷. تأثیر بنزیل آدنین و تیوسولفات نقره بر ویژگی های فیزیوشیمیایی گل های شاخه بریدنی سوسن. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) ۱۲(۴۵): ۶۰۳-۶۱۲.
۵. مرتضوی، س. ن.، و. کریمی و م. ح. عظیمی. ۱۳۹۴. محلول پاشی قبل از برداشت با هومیک اسید، سالیسیلیک اسید و کلرید کلسیم به منظور افزایش ویژگی های کمی و کیفی گل بریدنی لیلیوم (*Lilium longiflorum* L.). علوم و فنون کشت های گلخانه ای ۶(۲۳): ۳۷-۴۵.
۶. ملکوتی، م. ج. و س. ج. طباطبایی. ۱۳۷۸. تغذیه درختان میوه. انتشارات نشر آموزش کشاورزی، صفحات ۲۱۶-۲۳۸.
7. Abdel-Aziz, N.G., E.M. Fatma El-Quesni and M.M. Farahat. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of *Syngonium podophyllum* L. to foliar application of thiamine, ascorbic acid and kinetin at Nubaria. J. Agric. Sci. 3(3): 301-305.
8. Abdel-Aziz, N.G., L.S. Taha and M.M. Ibrahim. 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 J. Appl. Sci. 2: 169-179.
9. Abdel-Halim, S.M. 1995. Effect of some vitamins on growth, yield and endogenous hormones of tomato plants during winter. Egypt. J. Appl. Sci. 10: 322-334.
10. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 105: 121-126.
11. Agarwal, S. and V. Pandey. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Plant Biol.

- 48(4): 555-560.
12. Alaei, M., M. Babalar, R. Naderi and M. Kafi. 2011. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on physio-chemical attributes in relation to vase-life of rose cut flowers. *Postharvest Biol. Technol.* 61(1): 91-94.
 13. Antonopoulou, C., K. Dimassi, I. Therios, C. Chatzissavvidis and V. Tsirakoglou. 2005. Inhibitory effects of riboflavin (vitamin B₂) on the in vitro rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF 667 (*Prunus amygdalus* × *P. Persica*). *Sci. Hort.* 106: 268-272.
 14. Anwar, M., H.A. Sahito, I. Hassan, N.A. Akhtar, H.A. Ahmed, M.A. Bhatti, A. Hussain, Z. Lqbal and A.H. Abro. 2014. Effect of preharvest treatment of salicylic on growth and vase life of tuberose with aroma environment. *J. Agric. Res.* 3(2): 50-57.
 15. Bayat, H., M. Alirezaie and H. Neamati. 2012. Impact of exogenous salicylic acid on growth and ornamental characteristics of calendula (*Calendula officinalis* L.) under salinity stress. *J. Stress Physiol. Biochem.* 8: 258-267.
 16. Bedour, A., A. Leila and A. Rawia. 2011. Improving gladiolus growth, flower keeping quality by using some vitamins application. *J. Am. Sci.* 7(3): 169-174.
 17. Bekheta, M.A. and M.H. Mahgoub. 2005. Application of kinetin and phenylalanine to improve flowering characters, vase life of cut flowers as well as vegetative growth and biochemical constituents of carnation plants. *Egypt. J. Appl. Sci.* 20: 234-246.
 18. Borsani, O., V. Valpuesta and M.A. Botella. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol.* 126: 1024-1030.
 19. Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann. Rev. Biochem.* 72: 248-254.
 20. Chu, Y.H., C.L. Chang and H.F. Hsu. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agric.* 80: 561-566.
 21. David, W., S. Bollivar and I. Bealem. 1996. The chlorophyll biosynthetic enzyme Mg-protoporphyrin IX Monomethyl Ester (Oxidative) Cyclase. *Plant Physiol.* 112: 105-114.
 22. Davies, P.J. 2004. Plant hormones: Their nature, occurrence and functions. PP. 1-15. *In: Davies, P.J. (Ed.), Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action, Kluwer Academic Publishers, London.*
 23. Dulai, S., I. Molnár, J. Prónay, A. Csernák, R. Tarnai and M. Molnár-Láng. 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats. *Acta Biol. Szeged.* 50: 11-17.
 24. Eid, R.A., L.S. Taha and M.M. S. Ibrahim. 2010. Physiological properties studies on essential oil of *jasminum grandiflorum* L. as affected by some vitamins. *Ozean J. of Appl. Sci.* 3(1): 87-96.
 25. El-Fawakhry, F.M. and H.F. El-Tayeb. 2003. Effect of some amino acids and vitamins on chrysanthemum production. *J. Agric. Res. Alexandria Univ. Egypt* 8: 755-766.
 26. Emam, O.N.K. 2010. Effect of treating tuberose plant (*Polianthes tuberosa* L.) with some organic extracts to improve growth and flowering. PhD Thesis, Faculty of Agric., Ain Shams Univ., Egypt.
 27. Eraslan, F., A. Inal, A. Gunes and M. Alpaslan. 2007. Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. *Sci. Hort.* 113: 120-128.
 28. Fan, M., J. Wang, G. Shi, L. Shi and R. Li. 2008. Salicylic acid and 6-BA effects in shelf-life improvement of *Gerbera Jamesonii* cut flowers. *J. Anhui Agric. Sci.* 46: 275-279.
 29. Fariduddin, Q., S. Hayat and A. Ahmad. 2003. Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in *Brassica juncea*. *Photosyn.* 41: 281-284.
 30. Fatma, A.E. and L. Gharib. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of basil and majoram. *Int. J. Agric. Biol.* 4: 485-492.
 31. Gamal el-din, K.M. 2005. Physiological studies on the effect of some vitamins on growth and oil content in sunflower plant. *Egypt. J. Basic Appl. Sci.* 20: 560-571.
 32. Gautam, S. and P.K. Singh. 2009. Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. *Acta Physiol. Plant.* 31: 1185-1190.
 33. Gerailoo, S. and M. Ghasemnezhad. 2011. Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in "Yellow Island" cut rose flowers. *J. Fruit Ornament. Plant Res.* 19(1): 183-193.
 34. Gharib, A.L. 2007. Effect of salicylic acid on the growth, metabolic activities and oil content of Basil and Marjoram. *Int. J. Agric. Biol.* 2: 94-301.
 35. Hashemabadi, D. and A. Zarchini. 2010. Yield and quality management of rose (*Rosa hybrida* cv. Poison) with plant growth regulators. *J. Plant Omics* 3: 167-171.
 36. Hassanpour Asil, M., Z. Roein and J. Abbasi. 2011. Response of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) to gibberellic acid and benzyladenine. *Hort. Environ. Biotech.* 52(1): 46-51.
 37. Hayat, Q., S. Hayat, M. Irfan and A. Ahmad. 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment.

- Environ. Exp. Bot. 68: 14-25.
38. Hayat, S. and A. Ahmad. 2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone. Ebook, pp. 97-99.
39. Hayat, S., B. Ali and A. Ahmad. 2005. Salicylic Acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plant. pp. 1-14.
40. He, Y. and Z.Y. Zhu. 2008. Exogenous salicylic acid alleviates NaCl toxicity and increases antioxidative enzyme activity in *Lycopersicon esculentum*. Plant. Biol. 52: 792-795.
41. Hegazi, A.M. and A.M. El-Shrayi. 2007. Impact of salicylic acid and paclobutrazol exogenous application on the growth, yield and nodule formation of common bean. Aust. J. Basic Appl. Sci. 1: 834-840.
42. Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57: 1332-1334.
43. Hogland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. The Water Culture Method for Growing Plants without Soil. Univ. of California, Berkeley, pp.1-39.
44. Horvath, E., G. Szalai and T. Janda. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Plant Growth Regul. 26: 290-300.
45. In, B.C., K. Motomura, M. Doi and G. Mori. 2007. Multivariate analysis of relation between preharvest environmental factor, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut Asomi Red Roses. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 76: 66-72.
46. Jabbarzadeh, Z., M. Khosh-Khui and H. Salehi. 2009. The effect of foliar- applied salicylic acid on flowering of African violet. Aust. J. Basic Appl. Sci. 3(4): 4693-4696.
47. Kawasaki, T. 1991. Modern Chromatographic Analysis of Vitamins. 2nd Ed., Vol. 60, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 319-354.
48. Kaydan, D., M. Yagmur and N. Okut. 2007. Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarim Bilimleri Dergisi 13(2): 114-119.
49. Kheiry, A., A. Khalighi, Y. Mostofi and R. Naderi. 2011. Effects of gibberellic acid (GA3) and benzyladenine on tuberose quality and quantity. J. Plant Crops manage. 13(1): 9-20.
50. Ksouri, R., W. Megdiche, A. Debez, M. Falleh, C. Grignon and C. Abdelly. 2007. Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiol. Biochem. 45: 244-248.
51. Mansouri, H. 2012. Salicylic acid and sodium nitroprusside improve postharvest life of chrysanthemums. Sci. Hort. 145: 29-33.
52. Marschner, H. 2011. Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London, 651 p.
53. Muhammad, A.A., N. Farrukh, S. Farih and A. Shaziz. 2001. Effect of some chemicals on keeping quality and vase life of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) cut flowers. J. Res. Sci. Bahauddin Zakariya Univ. 12(1): 1-7.
54. Nahed, G.A., A. El-Aziz, E.M. Fatma and M.M. Farahat. 2007. Response of vegetative growth and some chemical constituents of *Syngonium podophyllum* to foliar application of thiamine, ascorbic acid and kinetin at Nurbaria. World J. Agric. Sci. 3: 301-305.
55. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiol. 22: 867-880.
56. Naz, S., F. Aslam, S. Ilyas, K. Shahzadi, and A. Tariq. 2012. In vitro propagation of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). J. Med. Plants Res. 6: 4107-4112.
57. Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotox. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60: 324-349.
58. Ponce, A.G., R. Frirz, C.E. Delvalle and S.I. Roura. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Food Sci. Technol. 36(7): 679-684.
59. Shi, Q. and Z. Zhu. 2008. Effects of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environ. Exp. Bot. 63: 317-326.
60. Singh, A.K. 2006. Flower Crops Cultivation and Management. New India Publishing Agency, New Delhi, 463 p.
61. Singh, B. and K. Usha. 2003. Salicylic acid-induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. Plant Growth Regul. 39: 137-141.
62. Solecka, D. 1997. Role of phenyl propanoid compounds in plant responses to different stress factor. Acta Plant Physiol. 19(3): 257-268.
63. Srivastava, M.K. and U.N. Dwivedi. 2000. Delaying ripening of banana fruits by salicylic acid. Plant Sci. 158: 87-96.
64. Youssef, A., A. Mona, H. Mahgoub and I.M. Talaat. 2004. Physiological and biochemical aspects of *Matthiola Incana* L. plants under the effect of putresine and kinetin treatments. Egypt. J. Appl. Sci. 19(9): 492-510.
65. Youssef, A.A. and I.M. Talaat. 2003. Physiological response of rosemary plants to some vitamins. Egypt. Pharm. J. 1: 81-93.

66. Zamani, S., M. Kazemi and A. Aran. 2011. Postharvest life o rose flowers as affected by salicylic acid and glutamine. *Appl. Sci.* 12(9): 1621-1624.
67. Zhang, Y., K. Chen, S. Zhang and I. Ferguson. 2006. The role of salicylic acid in post harvest ripening of kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 67-74.