

اثر کاربرد برونزای منابع مختلف تأمین‌کننده انرژی بر کیفیت پس از برداشت گل

بریدنی ورد^۱

Effect of Exogenous Application of Different Sources of Energy Supply on Postharvest Quality of *Rosa hybrida* cv. Samurai Cut Flower

ادریس شافعی، زینب روئین* و محمدعلی شیری^۲

چکیده

کاهش انرژی درونی پس از برداشت گل بریدنی ورد سبب سرعت بخشی به پیری و پیشگیری از باز شدن کامل غنچه گل می‌شود. در این آزمایش اثر تأمین‌کننده‌های انرژی شامل ساکارز (۱٪، ۲٪ و ۳٪)، مانیتول (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) و آدنوزین تری فسفات (ATP: ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار) بر ماندگاری ورد رقم سامورایی بررسی شد. نتیجه تیمار پیوسته با منابع تأمین‌کننده انرژی نشان داد که ATP در غلظت ۰/۷ میلی‌مولار بیشترین تاثیر را در افزایش عمر گلجایی داشت (۱۴/۲ روز) که در مقایسه با تیمار شاهد (۸/۲ روز)، ماندگاری را ۵/۸ روز افزایش داد. غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ میلی‌مولار ATP به ترتیب عمر گلجایی را به ۱۱ و ۱۲ روز رساندند. همچنین ماندگاری در ساکارز ۳٪، ۱۱/۴ روز بود. در تیمارهای یاد شده جذب محلول، وزن تر نسبی و قطر نسبی گل نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود. از سوی دیگر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و نشت یونی گلبرگ در دوره پس از برداشت در گل‌های تیمار شده با غلظت‌های ۰/۷ و ۰/۵ میلی‌مولار ATP کمتر بود. بر اساس نتیجه‌ها، کاربرد غلظت‌های مختلف مانیتول نتوانست ماندگاری ورد را افزایش دهد و حتی اثر منفی در کیفیت گل‌ها داشت، به طوری که ماندگاری گل‌ها را ۱/۸ روز نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. نتیجه‌ها نشان داد که تأمین انرژی مورد نیاز گل‌ها با استفاده از ATP می‌تواند راهکار اثرگذاری برای حفظ ماندگاری در گل‌های بریدنی ورد باشد. به طوری که برای حفظ کیفیت گل‌ها پس از برداشت می‌توان استفاده از ATP (۰/۷ و ۰/۵ میلی‌مولار) در محلول گلجایی را پیشنهاد داد.

واژه‌های کلیدی: آدنوزین تری فسفات، پراکسیداز، ساکارز، مانیتول، ورد.

مقدمه

ورد با نام علمی *Rosa hybrida* از تیره Rosaceae است که از نظر تجارت جهانی گل، جایگاه اول را در بین گل‌های بریدنی دارد (۳ و ۲۰). یکی از دلایل کوتاهی ماندگاری پس از برداشت و ورود زود هنگام به مرحله پیری در ورد می‌تواند ناشی از هدایت آبی نامناسب در ساقه گل باشد که منجر به باز نشدن غنچه، پژمرده شدن گلبرگ‌ها و خمیدگی گردن ساقه گل می‌شود (۱۴). مرحله پایانی نمو گل به طور کلی با کاهش میزان کربوهیدرات همراه است و کاربرد بیرونی قندها در تأخیر بروز نشانه‌های پیری در گل‌ها اثرگذار است. بنابراین وضعیت قند عامل مهمی در تعیین ماندگاری گل است (۳۰). اثر مفید قندها در افزایش ماندگاری گل‌های بریدنی مربوط به تأمین مناسب مواد تنفسی، ترکیب‌های ساختاری و اسمولیت‌ها است (۵). ساکارز مهم‌ترین ترکیبی است که در محلول گلجایی استفاده می‌شود. تیمار با ساکارز فعالیت‌های مرتبط با پیری گل‌های بریدنی را به تأخیر می‌اندازد (۱۹). کاربرد ساکارز (۲٪) در محلول گلجایی باعث افزایش غلظت گلوکز و فروکتوز در واکوئل گلبرگ شده و منجر به افزایش جذب آب، افزایش آماس یاخته و در نهایت گسترش گلبرگ می‌گردد (۱۸). در واقع انباشت اسمولیت برای گسترش

تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۹

تاریخ دریافت: ۹۶/۹/۲۳

۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام و استادیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (z.roein@ilam.ac.ir).

یاخته ضروری است. در ورد، کربوهیدرات محلول در واکنش یاخته‌های گلبرگ انباشت می‌یابد، به این ترتیب پتانسیل اسمزی سیم‌پلاست در هنگام باز شدن گل کاهش یافته و جذب آب بهتر انجام می‌شود (۳۰، ۳۱). از سوی دیگر، مانیتول نیز از قندهای الکلی است که دارای دو تا سه کالری انرژی در هر گرم است و آهسته‌تر از ساکارز حرکت می‌کند. تیمار با مانیتول همانند ساکارز باعث تأخیر پیری، کاهش حساسیت به اتیلن، پیشگیری از ریزش گلبرگ، رشد ساقه و گسترش غنچه در برخی گل‌های بریدنی می‌شود (۷، ۹). کاربرد مانیتول در محلول گلجایی در غلظت‌های ۱۰ تا ۵۰۰ میلی‌مولار منجر به انگیزش رشد جوانه و افزایش ماندگاری (به ترتیب ۲۴/۶ تا ۳۵ روز) گل بریدنی میمون شد (۹). به طوری که مانیتول نسبت به دیگر کربوهیدرات‌ها مانند گلوکز، سوربیتول و ساکارز در آسان‌تر باز شدن گلچه‌های بالایی ساقه در گل میمون نقش آشکارتری داشت (۹). آدنوزین تری فسفات (ATP) نوکلئوتیدی است که در یاخته‌ها به عنوان حامل انرژی به کار می‌رود و انرژی درونی گیاه را افزایش می‌دهد. تولید ATP که تا میزان زیادی به وسیله فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری انجام می‌شود، نقش مهمی در تنظیم پیری و رسیدن محصول‌های باغی بعد از برداشت بازی می‌کند (۱۲). تولید انرژی و سطح ATP در بافت نقش مهمی در ساخت و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها برای خنثی کردن گونه‌های فعال اکسیژن دارد (۳۳). کاربرد این ماده به عنوان یک تیمار پس از برداشت سالم، با افزایش انرژی درونی بافت به حفظ یکپارچگی غشایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش ماندگاری گل‌ها و میوه‌ها کمک می‌کند (۲، ۱۹ و ۳۳). در پژوهشی مشخص شد که کاربرد ATP (۰/۱ میلی‌مولار) برای حفظ شادابی و طولانی شدن ماندگاری گل میخک مناسب است. استفاده از این ماده در ظرف گلجایی سبب افزایش اندازه گل، وزن تر، پایداری غشاء، افزایش فعالیت آنزیم‌های لیپوکسیژناز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد (۲۳). افزایش محتوای ATP (تا ۱ میلی‌مولار) و سطح انرژی بافت می‌تواند به بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و کاهش قهوه‌ای شدن پوست میوه لیچی در دوره انبارمانی کمک نماید (۳۳). در پژوهشی فروبری میوه‌های چشم اژدها (*Dimocarpus longan Lour.*) به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ATP با غلظت ۰/۸ میلی‌مولار سبب کاهش سرعت تنفس، حفظ رنگیزه‌هایی چون کاروتنوئید و سبزینه، تأخیر در ناپایداری غشا و کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز شد (۲). همچنین غوطه‌وری سه دقیقه‌ای این میوه با ۰/۸ میلی‌مولار ATP سبب افزایش سطح انرژی بافت میوه، کاهش شاخص بیماری و کاهش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز و اسکوربیک اکسیداز شد (۳۵). با توجه به بررسی‌های انجام شده و اثر کربوهیدرات‌هایی مانند گلوکز و برخی الیگوساکاریدها مانند ساکارز در افزایش ماندگاری گل‌های بریدنی و همچنین اثر مثبت تامین انرژی گیاه با کاربرد ATP بیرونی، پژوهش حاضر با هدف بررسی نقش ATP و دیگر ترکیب‌های انرژی‌زا شامل ساکارز و مانیتول در افزایش ماندگاری گل بریدنی ورد رقم سامورایی^۱ و مقایسه آن‌ها از نظر توانایی حفظ کیفیت گل انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور شامل تیمار شیمیایی و زمان اندازه‌گیری صفات بر پایه طرح به‌طور کامل تصادفی با پنج تکرار در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام شد. برای بررسی عمر گلجایی طرح به‌طور کامل تصادفی به کار رفت. گل‌ها از یک گلخانه تولیدی با شرایط بهینه در زمان پرورش (دمای ۲۵ درجه سلسیوس در روز، ۱۸ درجه سلسیوس در شب، رطوبت نسبی ۷۵ درصد) در شهرستان کرمانشاه تهیه شدند. ماده‌های شیمیایی این پژوهش شامل ۸- هیدروکسی کوئینولین (Merck ساخت کشور آلمان)، ساکارز (Pronadisa ساخت کشور اسپانیا)، مانیتول (Pronadisa ساخت کشور اسپانیا) و ATP (Merck ساخت کشور آلمان) بود. گل‌ها پس از برداشت، در کمترین زمان ممکن (سه ساعت) به آزمایشگاه منتقل شدند. برای بررسی اثر سطح‌های مختلف تأمین‌کننده‌های انرژی بر ماندگاری گل بریدنی ورد رقم سامورایی تیمارهای آب مقطر، ۸- هیدروکسی کوئینولین (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، ساکارز (۱٪، ۲٪، ۳٪)، مانیتول (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ میلی‌مولار) و ATP (۰/۱، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار) به کار برده شد. گل‌ها به صورت پیوسته و تا پایان آزمایش با مواد نامبرده تیمار شدند. هر دو روز یکبار محلول تازه جایگزین محلول پیشین شد. پس از تیمار ضربانی گل‌ها با محلول‌های نگه‌دارنده، گل‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حدود ۶۰٪، تحت شرایط نوری ۱۰ مایکرومول بر مترمربع بر ثانیه با طول دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی برای ارزیابی ویژگی‌های مورد نظر منتقل شدند.

عمر گلجایی (ماندگاری)

برای بررسی عمر گلجایی هر روز میزان تغییر ظاهری رنگ گلبرگ، خم شدن گردن و پژمردگی گلبرگ‌ها ارزیابی شد و در پایان ماندگاری بر حسب روز اندازه‌گیری شد (۱۴). جهت بررسی دقیق اثر تیمارها هیچ‌گونه باز برشی در ساقه در طول آزمایش انجام نشد.

قطر نسبی گل

قطر گل در دوره آزمایش با استفاده از کولیس دیجیتالی مدل Guanglu، با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر ساخت کشور چین اندازه‌گیری و در پایان بر حسب درصد نسبت به روز اول آزمایش اندازه‌گیری شد (۱۳).

وزن تر نسبی

وزن تر نسبی گل‌ها پیش از تیمار (روز صفر) و در دوره آزمایش هر روز به کمک ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شد. وزن تر نسبی بر حسب درصد محاسبه شد (۶).

جذب محلول

در دوره آزمایش (هر روز) میزان آب موجود در ظرف گلجایی به وسیله استوانه مدرج اندازه‌گیری شد. جذب محلول بر حسب میلی‌لیتر بر گرم وزن تر ساقه در روز محاسبه شد (۶).

نشت یونی

برای اندازه‌گیری نشت یونی حدود یک گرم از بافت گیاهی (گلبرگ) با قسمت‌های به‌تقریب هم شکل و هم اندازه استفاده شد. نشت یونی با استفاده از EC متر مدل GLP 31 ساخت کشور اسپانیا و به صورت درصد اندازه‌گیری شد (۱۷).

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز گلبرگ

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از گایاکول به عنوان دهنده الکترون برای تجزیه پراکسید هیدروژن استفاده شد. بافت گلبرگ (۰/۲ گرم) با استفاده از نیتروژن مایع آسیاب شد، سپس ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ به نمونه افزوده شد و بی‌درنگ در سطح یخ قرار گرفت. پس از استخراج عصاره، نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با چرخش ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. تغییرهای جذب محلول شفاف رویی به مدت یک دقیقه با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Analytik Jena AG -Specord 50، ساخت کشور آلمان) در طول موج ۳۶۰ نانومتر هر ۱۰ ثانیه یک‌بار اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی بر اساس میکرو مول آنزیم بر میلی‌گرم وزن تر در دقیقه محاسبه شد (۱۱).

واکاوی آماری داده‌ها

برای واکاوی داده‌های این پژوهش نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ به کار برده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪ و رسم نمودارها در محیط Excel انجام شد.

نتایج

عمر گلجایی

ماندگاری گل‌های بریدنی ورد رقم سامورایی به‌طور معنی‌داری ($P < 0.01$) زیر اثر محلول‌های تأمین‌کننده انرژی در ظرف گلجایی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان داد که بیشترین ماندگاری گل مربوط به غلظت ۰/۷ میلی‌مولار ATP با میانگین ۱۴/۲ روز بود که در مقایسه با تیمار شاهد ۵/۸ روز ماندگاری را افزایش داد. غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۵ میلی‌مولار ATP به‌ترتیب عمر گلجایی را به ۱۱ و ۱۲ روز رساندند. همچنین ماندگاری گل در ساکارز ۰/۳٪، ۱۱/۴ روز بود. کمترین عمر گلجایی مربوط به غلظت‌های مختلف مانیتول بود که با افزایش غلظت آن به ۳۰۰ میلی‌مولار ماندگاری گل به ۶/۶ روز کاهش یافت. استفاده از این ماده در ظرف گلجایی اثر مثبتی در ماندگاری نداشت و حتی سبب سرعت‌بخشی به فرایند پیری گل و کاهش ماندگاری نسبت به شاهد شد (شکل ۱).

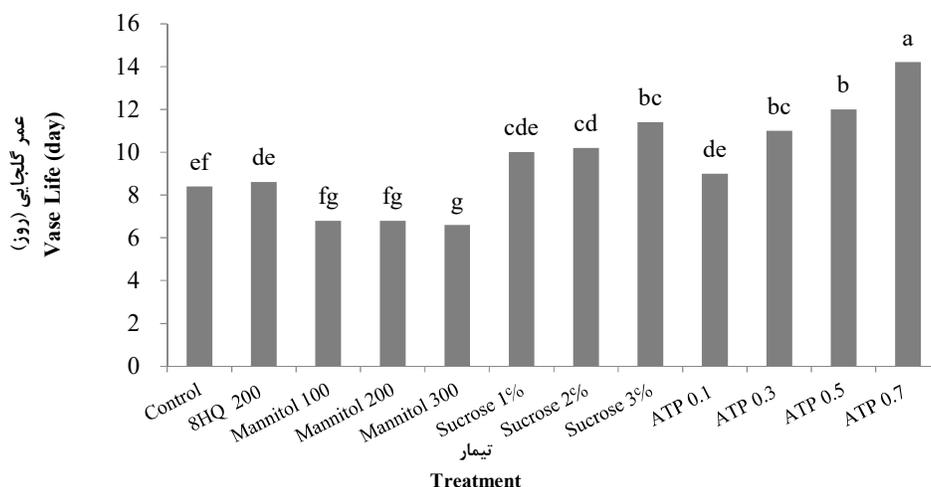


Fig. 1. Effect of energy supply sources on vase life of *Rosa hybrida* cv. Samurai cut flower.

شکل ۱- اثر منبع‌های تأمین‌کننده انرژی بر عمر گلجایی گل بریدنی ورد رقم سامورایی.

وزن تر نسبی

نتیجه‌ها نشان داد که اثر تیمارهای مختلف و زمان اندازه‌گیری صفات و هم‌چنین برهمکنش تیمار و زمان اثر معنی‌داری ($P < 0.01$) بر میزان تغییرهای وزن تر نسبی گل در طول آزمایش داشتند. بر اساس نتیجه‌های آورده شده در شکل ۲- الف وزن تر نسبی تمام تیمارها از جمله تیمار شاهد از ابتدای آزمایش افزایش یافت و بعد از روز سوم روند کاهشی داشت. با گذشت زمان در تیمارهای ۰/۷، ۰/۵ و ۰/۳ میلی‌مولار ATP و ساکارز ۳٪ و ۲٪ وزن تر نسبی خود را بهتر حفظ کردند. به‌مفهوم دیگر، کاهش وزن تر ساقه گل در تیمارهای نامبرده با شیب کندتری رخ داد، به‌طوری‌که بیشترین وزن تر نسبی در روز نهم مربوط به تیمار ۰/۷ میلی‌مولار ATP با مقدار ۸۸/۶۱ درصد بود. همین تیمار بیشترین ماندگاری را نیز به‌همراه داشت (شکل ۲- الف).

جذب محلول

بر اساس نتیجه‌های به‌دست‌آمده، اثر تیمارهای مختلف و مدت زمان نگهداری گل‌ها و هم‌چنین برهمکنش آن‌ها بر میزان جذب محلول در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. بر اساس نتیجه‌ها میزان جذب آب در گل‌های تیمار شده و شاهد در روزهای نخست بالا بود، ولی با گذشت زمان کاهش یافت که این تغییرها به‌تقریب هماهنگ با روند تغییرهای وزن تر نسبی اتفاق افتاد. همبستگی بین ویژگی‌های بررسی شده نیز تأیید کننده این مطلب است (جدول ۱). تیمار ATP در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار میزان جذب آب را بهتر حفظ کرد (شکل ۲- ب).

قطر نسبی گل

ترکیب‌های تأمین‌کننده انرژی از نظر توانایی تغییر در قطر گل و فرایند باز شدن کامل گل در طول آزمایش، اثرهای ($P < 0.01$) متفاوتی داشتند. بر اساس نتیجه‌های به‌دست‌آمده، بیشترین اثر بر افزایش قطر نسبی گل مربوط به تیمار ۰/۷ میلی‌مولار ATP بود که قطر گل به میزان ۴۶/۴۵ درصد نسبت به قطر اولیه در روز نهم افزایش یافت (شکل ۲- پ). لازم به ذکر است که تیمار نامبرده با غلظت‌های ۰/۵ میلی‌مولار ATP و ساکارز ۳٪ اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین اثر بر قطر گل مربوط به تیمارهای مانیتول و شاهد بود. بیشترین قطر گل برای تیمار شاهد در روز سوم مشاهده شد که تنها ۱۴٪ نسبت به قطر اولیه افزایش نشان داد (شکل ۲- پ).

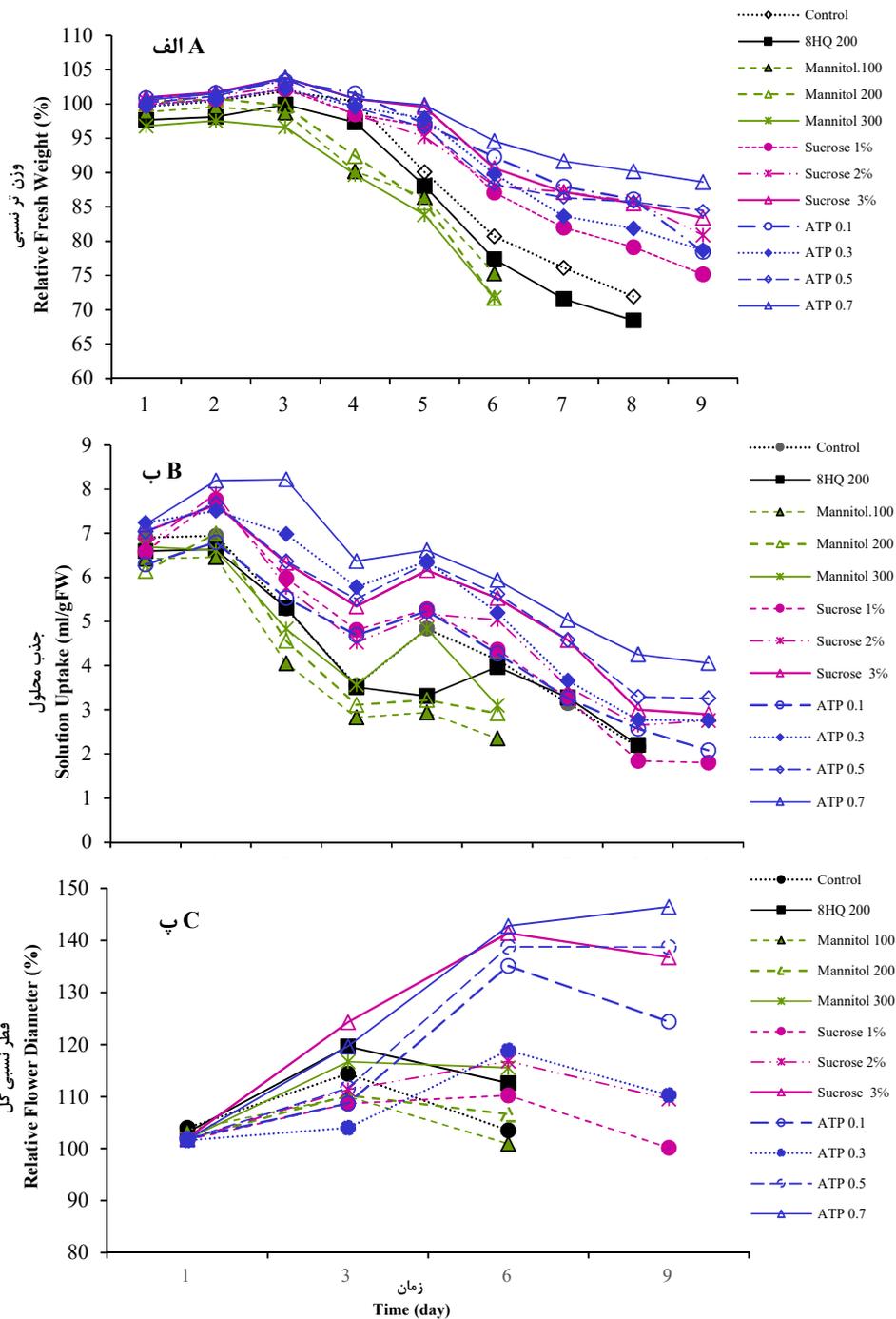


Fig. 2. Interaction between energy supply sources and time on relative fresh weight (A), solution uptake (B), and flower diameter (C) of *Rosa hybrida* cv. Samurai cut flower.

شکل ۲- برهمکنش منابع‌های تأمین‌کننده انرژی و زمان بر وزن تر نسبی (الف)، جذب محلول (ب) و قطر گل (پ) در گل بریدنی ورد رقم سامورایی.

نشت یونی گلبرگ

میزان نشت یونی گلبرگ در دوره نگهداری گل‌ها در محلول‌های گلجایی زیر اثر منبع‌های مختلف تأمین‌کننده انرژی قرار گرفت. با گذشت زمان میزان نشت یونی در گلبرگ روند افزایشی داشت. کمترین میزان تغییرات نشت یونی در بین سطوح مختلف ATP (۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار) مشاهده شد. به طوری که در روز نهم تیمار ۰/۷ میلی‌مولار ATP کمترین (۵۱/۰۸٪) میزان نشت یونی را به همراه داشت. هر چند با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۳ میلی‌مولار ATP اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین مقدار نشت یونی در روز ششم از تیمار مانیتول ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مقدار ۶۵/۹۳٪ به دست آمد که با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در

لیتر آن اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی با دیگر تیمارها اختلاف داشت (شکل ۳-الف). از سوی دیگر نتیجه‌های به‌دست‌آمده نشان داد که میزان هدایت الکترولیت غشاء گلبرگ با ماندگاری گل همبستگی منفی دارد (جدول ۱). بدین مفهوم که با افزایش زود هنگام نشت یونی گلبرگ میزان ماندگاری گل کاهش یافت.

فعالیت آنزیم پراکسیداز گلبرگ

تیمارهای انرژی‌زا و زمان در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تاثیر معنی‌داری داشتند. بر اساس نتیجه‌ها، بین تیمارهای مختلف از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز در روزهای اول آزمایش تفاوتی وجود نداشت، اما در روزهای پایانی عمر گلجایی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گلبرگ افزایش و روند افزایشی داشت (شکل ۳-ب). در روز نهم کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در بین غلظت‌های مختلف ATP مشاهده شد که نسبت به تیمارهای ATP و ساکارز ۲٪ و ۳٪ اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌طوری‌که تیمار ۰/۷ میلی‌مولار ATP کمترین فعالیت آنزیم را با میزان ۰/۲۴ میکرومول بر میلی‌گرم وزن تر گلبرگ به‌همراه داشت (شکل ۳-ب). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز برای تیمار مانیتول ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مقدار ۰/۳۲ میکرومول بر میلی‌گرم وزن تر گلبرگ در روز ششم یادداشت شد که با سایر غلظت‌های مانیتول و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، ولی با تیمارهای ساکارز و ATP تفاوت داشت (شکل ۳-ب).

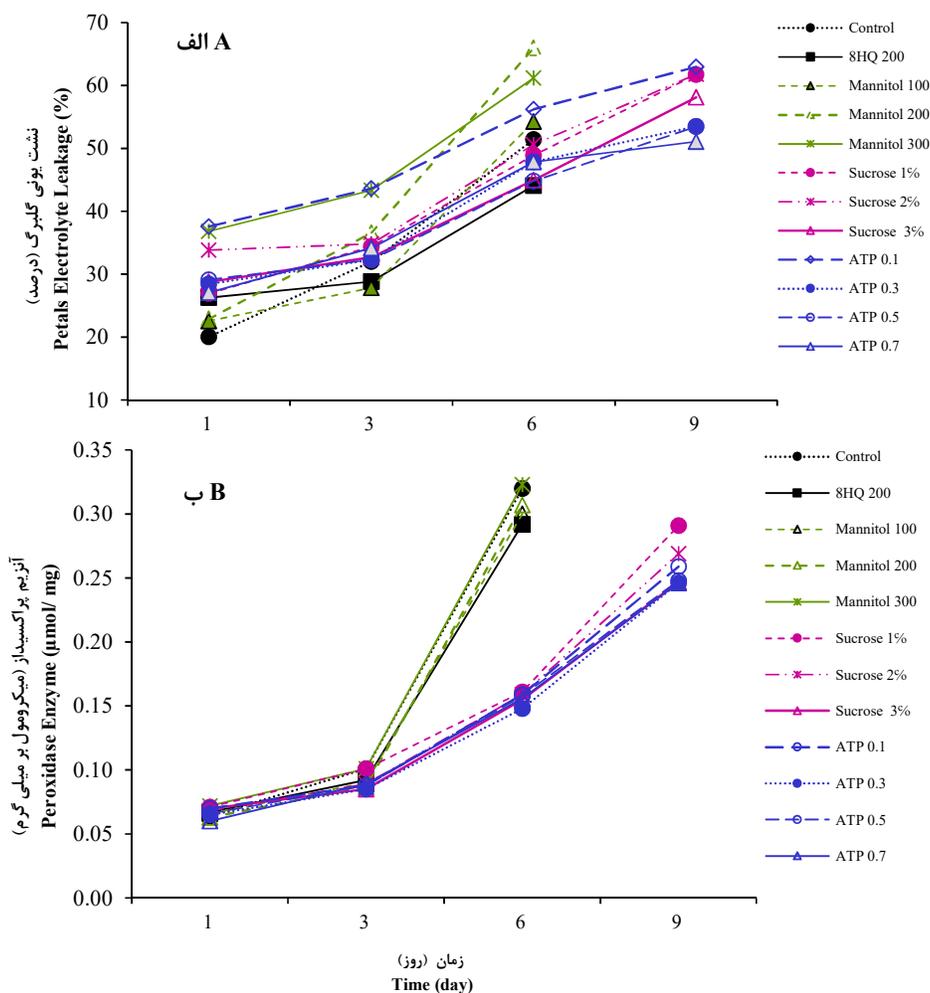


Fig. 3. Interaction between energy supply sources and time on electrolyte leakage (A) and peroxidase enzyme activity (B) of *Rosa hybrida* cv. Samurai cut flower.

شکل ۳- برهمکنش منابع تأمین‌کننده انرژی و زمان بر نشت یونی (الف) و فعالیت آنزیم پراکسیداز (ب) گل بریدنی ورد رقم سامورایی.

همبستگی ساده بین ویژگی‌های مورد ارزیابی

بر اساس نتیجه‌های آورده شده در جدول ۱ همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و عمر گلجایی، جذب محلول، وزن تر نسبی و قطر گل وجود داشت. همچنین میزان فعالیت آنزیم همبستگی مثبتی با میزان نشت یونی گلبرگ داشت.

جدول ۱- ضرایب همبستگی بین ویژگی‌های مورد بررسی.

Table 1. Correlation coefficients between studied traits.

| ویژگی Trait | عمر گلجایی Vase life | جذب محلول Solution uptake | وزن تر نسبی Relative fresh weight | قطر گل Flower diameter | نشت یونی Electrolyte leakage |
|--|-------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| Vase life | 1 | | | | |
| عمر گلجایی Solution uptake | | 1 | | | |
| جذب محلول Relative fresh weight | 0.97** | | 1 | | |
| وزن تر نسبی Flower diameter | 0.88** | 0.91** | | 1 | |
| قطر گل Electrolyte leakage | 0.89** | 0.91** | 0.84** | | 1 |
| نشت یونی Enzyme peroxidase activity | -0.74* | -0.63* | -0.52 ^{ns} | -0.56 ^{ns} | |
| فعالیت آنزیم پراکسیداز | -0.80** | -0.76** | -0.78** | -0.80** | 0.67* |

*, ** and ns: Significant at 5% and 1% level of probability and no significant, respectively.

*, **, ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ۱٪ و نبود معنی‌داری.

بحث

تخلیه انرژی درون یاخته‌ای نخستین نشانه شروع پیری است. آغاز هیدرولیز ترکیب‌هایی مانند پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها به عنوان نشانه فرآیند پیری در پاسخ به نبود قندهای آزاد مورد مصرف در تنفس است (۱). استفاده از ATP بیرونی، باعث افزایش ATP درونی و افزایش میزان انرژی می‌شود که با بهبود و پیشگیری از کاهش سطح انرژی درونی به پایداری و سلامت غشا در گل‌های بریدنی کمک می‌کند. افزون بر این، سبب تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، پیشگیری از تولید اتیلن و در پایان تأمین کربوهیدرات‌های درونی شده که همه این فرایندها به افزایش ماندگاری گل کمک خواهد کرد (۱۸، ۲۵). اثر مثبت آغشته‌سازی پیوسته گل بریدنی میخک با ATP (۱/۰ میلی‌مولار) و افزایش عمر گلجایی (۳/۷ روز نسبت به شاهد) نیز گزارش شده است که نتیجه پژوهش حاضر با آن همسو بود (۲۵). ماندگاری گل‌های بریدنی تا حد زیادی زیر اثر حفظ تعادل آب و کاهش از دست دادن آب است. ساکارز با ایجاد پتانسیل اسمزی منفی در گیاه به جذب بیشتر آب و تاخیر در پیری ورد کمک می‌کند (۱۸). یافته‌های ما نشان داد که غلظت ۳٪ ساکارز اثر مثبتی بر افزایش ماندگاری ورد دارد. نتیجه‌های مشابهی مبنی بر اثر معنی‌دار ساکارز بر افزایش ماندگاری ورد به وسیله دیگر پژوهشگران گزارش شده است (۴ و ۱۸). برخلاف نتیجه‌های پژوهش حاضر که تیمار مانیتول در هر سه غلظت استفاده شده نتوانست اثر مثبتی بر ماندگاری گل‌های بریدنی ورد داشته باشد، این ماده نقش مطلوبی در بهبود رشد سنبله و افزایش ماندگاری گل میمون داشته است (۱۰). احتمال می‌رود که اثر نامطلوب این ماده در پژوهش حاضر به خاطر غلظت بالای آن باشد. در گیاهان عالی، آنزیم کلیدی برای شکستن و تجزیه مانیتول، مانیتول دهیدروژناز است که سبب تبدیل آن به مانوز می‌شود (۲۶). اثرهای مخرب مانیتول در ورد و داوودی به سبب نبود آنزیم تجزیه‌کننده مانیتول بیان شده است (۱۰، ۱۵ و ۲۶). وجود آنزیم مانیتول دهیدروژناز در زبان درقفا سبب استفاده از مانیتول به عنوان منبع کربن و کاهش حساسیت به اتیلن می‌شود (۸).

بر اساس نتیجه‌ها، تاخیر در کاهش وزن تر ممکن است به این دلیل باشد که آزادسازی انرژی در ATP آهسته‌تر بوده و با توجه به نقش آن در انتقال انرژی، تمام انرژی ذخیره‌ای در آن مورد استفاده قرار گرفته و هدر رفت انرژی در آن کمتر باشد.

روند تغییرهای وزن تر نسبی در پی کاربرد ATP بیرونی در گل میخک (۲۳) با نتیجه پژوهش حاضر همخوانی داشت، چرا که همان روند افزایشی اولیه و سپس کاهش وزن تر مشاهده شد. کاهش وزن تر یکی از نشانه‌های پیری گل‌های بریدنی است که با از دست دادن آب همراه است. افزایش نفوذپذیری غشاء در مرحله پیری سبب از دست دادن آب گلبرگ می‌شود. بنابراین، حفظ آب گلبرگ به کمک تیمارهای مختلف نقش مهمی در افزایش ماندگاری دارد (۲۷). رابطه مستقیمی بین تغییرهای وزن تر نسبی و ماندگاری وجود داشت (جدول ۱). یافته‌های پژوهش حاضر با نتیجه‌های پژوهش‌های پیشین در مورد گل‌های بریدنی ورد مبنی بر نقش ساکارز بر افزایش ماندگاری و وزن تر نسبی همسو بود (۱۰). کمترین مقدار وزن تر نسبی در روز ششم در غلظت‌های مختلف مانیتول اندازه‌گیری شد. به نظر می‌رسد که پایین بودن سطح انرژی بافت‌های گیاه می‌تواند منجر به کاهش فعالیت یاخته، کاهش جذب آب و در پایان کاهش ماندگاری گل‌های بریدنی شود. ماندگاری گل‌ها تا حد زیادی زیر اثر حفظ تعادل مثبت آب به وسیله افزایش جذب آب و کاهش از دست دادن آب است. هم‌چنین در غلظت‌های ۰.۲٪ و ۰.۳٪ ساکارز میزان جذب آب نسبت به تیمارهای شاهد بهتر بود. در ورد کربوهیدرات‌های محلول در واکوئل یاخته‌های گلبرگ انباشت می‌یابند، بنابراین پتانسیل اسمزی سیتم‌پلاست در دوره باز شدن گل به‌طور معمول کاهش می‌یابد که ممکن است باعث آسان‌تر شدن جذب آب شود (۳۱). دلیل حفظ فرایند جذب آب می‌تواند افزایش غلظت گلوکز و فروکتوز در واکوئل باشد که سبب کاهش پتانسیل اسمزی می‌شود. منفی شدن پتانسیل اسمزی نیازمند آماس یاخته‌ای است که این فرایند باعث کشش دیواره یاخته‌ای و جذب بیشتر آب می‌شود (۱۰، ۳۲). ورد در مرحله غنچه برداشت می‌شود و برای باز شدن کامل گل نیاز به انرژی دارد. دسترسی به منبع انرژی سبب خروج از مرحله غنچه و باز شدن گل و حتی گسترده شدن داخلی‌ترین گلبرگ‌ها می‌شود. برخلاف آن، کاهش سطح انرژی سبب پژمردگی گل در همان مرحله غنچه می‌شود. ATP یک ترکیب زیست‌شیمیایی است که وظیفه ذخیره انرژی را به عهده دارد. هنگامی که یک یاخته نیاز به انرژی دارد، انرژی ذخیره شده در ATP آزاد شده و برای سوخت و ساز فعالیت‌های درونی گیاه به کار می‌رود (۱۹). فراهم کردن انرژی مورد نیاز گیاه باعث فعال ماندن یاخته، جذب محلول، آماس یاخته و افزایش قطر گل می‌شود. پژوهش‌ها روی گل میخک نیز نشان داد که اندازه گل در تیمار ATP تا روز نهم هم‌چنان افزایش یافت (۲۵). اثرهای مثبت قند در افزایش قطر گل به سبب تکمیل منابع کربن است که به عنوان پیش ماده‌ای برای تنفس و فعالیت اسمزی برای رشد گلبرگ لازم است (۱۸). در تیمار با قندها حجم حفره‌ای و آپوپلاستیک در گلبرگ‌ها در طول زمان باز شدن گل افزایش یافته و این افزایش در حجم به‌طور معمول با تیمار قندها سرعت می‌یابد. برای انباشت قندها در واکوئل به یک سیستم انتقال فعال نیاز است که قدرت این سیستم در گل بریدنی حتی در حضور ساکارز کاهش می‌یابد. زمانی که گل به گیاه مادری متصل است انتقال ساکارز از برگ‌ها به گل از راه آوند آبکش انجام می‌شود، در حالی که در گل بریدنی که در ظرف گلجایی قرار دارد برای رسیدن ساکارز به یاخته‌های گلبرگ آن، انتقال از راه آوند چوبی امکان‌پذیر است. این تفاوت در شیوه انتقال، سبب اختلاف در سطح کربوهیدرات گل خواهد شد (۱۸). در پژوهش حاضر مانیتول اثر مخرب و سمی روی ورد داشت (شکل ۱). به این صورت که مانع باز شدن گل و سبب پژمردگی آن در مرحله غنچه شد. گسترده نشدن گلبرگ ورد و باز نشدن کامل آن به خاطر نبود انباشت کربوهیدرات‌های محلول در واکوئل است (۱۸).

نشست یونی نشان‌دهنده میزان آسیب به غشا و پیری یاخته است (۲). بنابراین دلیل تاخیر در نشست یونی غشا می‌تواند حفظ سطح انرژی یاخته توسط ترکیب‌های انرژی‌زا باشد که تنش اکسیداتیو را به تأخیر می‌اندازد. هم‌چنین دسترسی به منبع‌های انرژی‌زا با محافظت از یاخته در برابر آسیب اکسیداتیو، مانع پراکسیده شدن لیپیدهای غشا شده و در پایان سبب پیشگیری از گسیختگی لیپیدهای غشا و مرگ یاخته می‌شود (۲۴ و ۲۸). در پژوهش حاضر با گذشت زمان در بافت گلبرگ تیمار شاهد، میزان نشست یونی از غشا افزایش یافت و غشا نفوذپذیری خود را از دست داد (شکل ۳- الف). تامین انرژی بیرونی سبب افزایش سطح انرژی درونی و کمک به حفظ یکپارچگی غشا در گل‌های بریدنی در مرحله پایانی عمر گلجایی می‌شود. تیمار ساکارز نیز در هر سه غلظت به کار برده شده روی هدایت الکترولیتی گلبرگ اختلاف معنی‌داری با شاهد ایجاد کرد. نتیجه‌های پژوهش روی گل میخک نشان داد که نشست‌پذیری غشا با یکنواختی آن رابطه منفی دارد. کاهش میزان ATP ساخته شده در یاخته می‌تواند به از دست رفتن یکپارچگی یاخته منجر شده و باعث افزایش نشست یونی و کاهش ماندگاری گل شود (۲۴). حفظ پایداری غشا در پی تیمار با ATP در گل میخک نیز گزارش شد که یافته‌های ما نیز با این نتیجه‌ها همخوانی داشت. نتیجه‌های مشابهی که کندتر بودن سرعت تخریب غشای یاخته و نشست یونی در فرابر میوه چشم‌اژدها تیمار شده با ATP نسبت به شاهد (۲) را

نشان داد، تأییدکننده نتیجه‌های حاضر روی ورد است. هم‌چنین براساس نتیجه‌ها در تیمارهای شاهد و مانیتول میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتر از سایر تیمارها بود. از سوی دیگر، وقتی شاخه‌های گل از گیاه مادری جدا و در محلول‌های گلجایی قرار می‌گیرند دچار تنش (به ویژه تنش آبی) می‌شوند و فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها در چنین شرایطی افزایش می‌یابد (۱۶ و ۲۱). تأمین‌کننده‌های انرژی با کاهش تنش و کمک به جذب آب موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش نفوذپذیری غشا و افزایش ماندگاری گل‌ها می‌شوند. نتیجه به‌دست‌آمده از فعالیت آنزیم پراکسیداز با نتیجه ماندگاری گل همبستگی منفی داشت (جدول ۱). بنابراین، ممکن است کمبود انرژی و افزایش تولید ROS دلیل واقعی کاهش ماندگاری در گل‌های بریدنی باشد. هم‌چنین افزایش میزان ATP تولید شده در یاخته می‌تواند به پایداری و یکپارچگی یاخته کمک کرده و با پیشگیری از اکسیداسیون ناقص باعث افزایش ماندگاری شود. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان نشت الکترولیت و فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌تواند تأییدکننده این موضوع باشد (جدول ۱). هم‌چنین در آزمایش حاضر در اثر کاهش جذب آب فعالیت آنزیم پراکسیداز در همه تیمارها روند افزایشی داشت، اما سرعت آن در تیمارهای حاوی ATP کندتر بود. نتیجه‌های مشابهی از روند افزایشی فعالیت آنزیم پراکسیداز، اما با شدت کمتر نسبت به شاهد در روزهای پایانی عمر گلجایی در گل میخک پس از تیمار با ATP گزارش شده است که علت فعالیت کمتر آنزیم را ناشی از تأمین انرژی بافت و پیشگیری از تنش اکسیداتیو دانستند (۲۵). در واقع فعالیت بالاتر پراکسیداز ممکن است به عنوان بازتابی از میزان آسیب بافت و آغاز پیری باشد (۲۲). بنابراین افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی به خنثی‌سازی اکسیدان‌ها کمک کرده و باعث حفظ کیفیت گل و تاخیر در پیری می‌شوند (۲۹).

نتیجه‌گیری

کاربرد ترکیب‌های انرژی‌زا مانند ATP و ساکارز در محلول گلجایی برای گل بریدنی ورد، منجر به حفظ فرایند جذب آب، جلوگیری از کاهش وزن تر نسبی گل و افزایش عمر گلجایی آن شد. کمک به باز شدن کامل گل و گسترش گلبرگ‌ها از ویژگی این ترکیب‌ها بود. اثرگذارترین تیمارها در این پژوهش غلظت‌های ۰/۷ و ۰/۵ میلی‌مولار ATP و پس از آن غلظت ۰/۳ ساکارز بود. تیمار با مانیتول در هیچ کدام از غلظت‌های به کار رفته نتوانست ماندگاری ورد را بهبود دهد و نیز اثر منفی بر ظاهر گیاه داشت. با توجه به نتیجه‌های به‌دست‌آمده از این بررسی مبنی بر اثر مثبت و معنی‌دار ATP روی بهبود کیفیت و افزایش ماندگاری گل شاخه بریدنی ورد می‌توان کاربرد ATP را در حل برخی چالش‌های پس از برداشت گل‌های بریدنی ورد و افزایش ماندگاری آن‌ها پیشنهاد داد.

References

1. Azad, A.K., T. Ishikawa, T.C. Ishikawa, Y. Sawa and H. Shibata. 2008. Intracellular energy depletion triggers programmed cell death during petal senescence in tulip. *J. Exp. Bot.* 59: 2085-2095.
2. Chen, M., H. Lin, S. Zhang, Y. Lin, Y. Chen and Y. Lin. 2015. Effects of adenosine triphosphate (ATP) treatment on postharvest physiology, quality and storage behavior of longan fruit. *Food Biopro. Technol.* 8: 971-982.
3. Dole, J.M. and H.F. Wilknis. 2005. *Floriculture, Principles and Species*. Prentice Hall, Inc., USA, 1023P
4. Fanourakis, D., R. Pieruschka, A. Savvides, A.J. Macnish, V. Sarlikioti and E.J. Woltering. 2013. Sources of vase life variation in cut roses: a review. *Postharvest Biol. Technol.* 78:1-5.
5. Halevy, A.H. and S. Mayak. 1981. Senescence and postharvest physiology of cut flowers-Part 2. *Hort. Rev.* 3:59-143.
6. He, S., D.C. Joyce and D.E. Irving. 2006. Competition for water between inflorescences and leaves in cut flowering stems of *Grevillea* 'Crimson Yul-lo'. *J. Hort. Sci. Biotech.* 81:891-897.
7. Ichimura, K., K. Kohata and K. Yamada. 2005. Promotion of spike elongation in cut snapdragons by mannitol. *Acta Hort.* 669:119-124.
8. Ichimura, K., K. Kohata and R. Goto. 2000. Soluble carbohydrates in Delphinium and their influence on sepal abscission in cut flowers. *Physiol. Plant.* 108: 307-313.
9. Ichimura, K., S. Yoshioka and T. Yamada. 2016. Exogenous mannitol treatment stimulates bud development and extends vase life of cut snapdragon flowers. *Postharvest Biol. Technol.* 113:20-28.
10. Ichimura, K., Y. Mukasa, T. Fujiwara, K. Kohata, R. Goto and K. Suto. 1999. Possible roles of methyl glucoside and myo-inositol in the opening of cut rose flowers. *Ann. Bot.* 83: 551-557.

منابع

11. In, B.C., M. Shinichi, I. Katsuhiko, D. Motoaki and M. Genjiro. 2007. Multivariate analysis of relations between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors, and vase-life of cut 'Asami Red' roses. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 76: 66-72.
12. Jiang, Y., M.A. Khan, Z. Wang, J. Liu, J. Xue, J. Gao and C. Zhang. 2015. Cu/Zn SOD involved in tolerance to dehydration in cut rose (*Rosa hybrida*). *Postharvest Biol. Technol.* 100:187-95.
13. Jiang, Y., Y. Jiang, H. Qu, X. Duan, Y. Luo and W. Jiang. 2007. Energy aspects in ripening and senescence of harvested horticultural crops. *Stewart Postharvest Rev.* 3(2): 1-5.
14. Jin, J., N. Shan, N. Ma, J. Bai and J. Gao. 2006. Regulation of ascorbate peroxidase at the transcript level is involved in tolerance to postharvest water deficit stress in the cut rose (*Rosa hybrida* L.) cv. Samantha. *Postharvest Biol. Technol.* 40:236-243.
15. Kofranek, A.M. and A.H. Halevy. 1972. Conditions for opening cut chrysanthemum flower buds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97: 578-584
16. Kumar, N., G.C. Srivastava and K. Dixit. 2008. Senescence in rose (*Rosa hybrida* L.): Role of the endogenous anti-oxidant system. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 83:125-131.
17. Lim, C.C., R. Arora and E.C. Townsend. 1998. Comparing Gompertz and Richards functions to estimate freezing injury in *Rhododendron* using electrolyte leakage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:246-252.
18. Norikoshi, R., T. Shibata, T. Niki and K. Ichimura. 2016. Sucrose treatment enlarges petal cell size and increases vacuolar sugar concentrations in cut rose flowers. *Postharvest Biol. Technol.* 116: 59-65.
19. Pun, U.K., H. Shimizu, K. Tanase and K. Ichimura. 2003. Effect of sucrose on ethylene biosynthesis in cut spray carnation flowers. In VIII International Symposium on Postharvest Physiol. Orn. Plants. 10: 171-174.
20. Royal Flora Holland. 2018. Annual report 2018. Available: file <http://jaarverslag.royalfloraholland.com/#/feiten-en-cijfers/snijbloemen?k=h75bi3>
21. Sharma, P. and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regul.* 46(3):209-221.
22. Singh, S.P., Z. Singh and E.E. Swinny. 2012. Climacteric level during fruit ripening influences lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). *Postharvest Biol. Technol.* 65:22-32.
23. Song, L., H. Liu, X. Su, Y. You and Y. Jiang. 2006. Effects of adenosine triphosphate on the vase life of cut carnation flowers. *Australian J. Exp. Agri.* 46: 137-139.
24. Song, L., H. Liu, Y. You, Y. Wang, Y. Jiang, C. Li and D. Joyce. 2008. Effect of exogenous adenosine triphosphate supply on the senescence-related physiology of cut carnation flowers. *HortScience*. 43: 271-273.
25. Song, L.L., H. Liu, Y.L. You, J. Sun, C. Yi, Y.B. Li, Y.M. Jiang and J.S. Wu. 2014. Quality deterioration of cut carnation flowers involves in antioxidant systems and energy status. *Sci. Hort.* 170:45-52.
26. Stoop, J.M., J.D. Williamson, M.A. Conkling and D.M. Pharr. 1995. Purification of NAD-dependent mannitol dehydrogenase from celery suspension cultures. *Plant Physiol.* 108:1219-1225.
27. van Meeteren, U., W. van Ieperen, J. Nijisse, T.W. Scheenen, H. van As and C.J. Keijzer. 2001. Processes and xylem anatomical properties involved in rehydration dynamics of cut flowers. *Acta Hort.* 543:207-215.
28. Wang, H., Z. Qian, S. Ma, Y. Zhou, J.W. Patrick, X. Duan, Y. Jiang and H. Qu. 2013. Energy status of ripening and postharvest senescent fruit of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *BMC Plant Biol.* 13:1-16.
29. Wang, Q., J. Mu, C. Shan, W. Wang and S. Fu. 2017. Effects of cerium on the antioxidant defence system in the petals and the contents of pigments in the calyces of *Rosa chinensis* Jacq cut flower. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 2:1-6.
30. Wang, Y., C. Zhang, X. Wang, W. Wang and L. Dong. 2014. Involvement of glucose in the regulation of ethylene biosynthesis and sensitivity in cut *Paeonia suffruticosa* flowers. *Sci. Hort.* 169:44-50.
31. Yamada, K., R. Norikoshi., K. Suzuki, T. Nishijima, H. Imanishi and K. Ichimura. 2009. Cell division and expansion growth during rose petal development. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* 78: 356-362.
32. Yamada. K., R. Norikoshi, K. Suzuki, H. Imanishi and K. Ichimura. 2009. Determination of subcellular concentrations of soluble carbohydrates in rose petals during opening by nonaqueous fractionation method combined with infiltration–centrifugation method. *Planta.* 230:1115-1127.
33. Yi, C., H.X. Qu, Y.M. Jiang, J. Shi, X.W. Duan, D.C. Joyce and Y.B. Li. 2008. ATP-induced changes in energy status and membrane integrity of harvested litchi fruit and its relation to pathogen resistance. *J. Phytopathol.* 156: 365-371.
34. Yi, C., Y. Jiang, J. Shi, H. Qu, S. Xue, X. Duan, J. Shi and N.K. Prasad. 2010. ATP-regulation of antioxidant properties and phenolics in litchi fruit during browning and pathogen infection process. *Food Chem.* 118: 42-47.
35. Zhang, S., H. Lin, Y. Lin, Y.C. Hung, Y. Chen, H. Wang and J. Shi. 2017. Energy status regulates disease development and respiratory metabolism of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl.-infected longan fruit. *Food Chem.* 231:238-246.

Effect of Exogenous Application of Different Sources of Energy Supply on Postharvest Quality of *Rosa hybrida* cv. Samurai Cut Flower

E. Shafeii, Z. Roein* and M.A. Shiri¹

The reduction in the internal energy after harvesting of rose cut flowers accelerates the senescence process and prevents the full opening of the bud. In this experiment's effects of energy, suppliers included sucrose (1%, 2% and 3%), mannitol (100, 200 and 300 mM) and ATP (0.1, 0.3, 0.5 and 0.7 mM) on the vase life of *Rosa hybrida* cv. Samurai investigated, The results of continuous treatment with sources of energy supply showed that ATP treatment of 0.7 mM had the highest effect on the vase life of cut flowers (14.2 days), which showed 5.8 days increase in vase life compared with control treatment (8.2 days). ATP at 0.3, 0.5 mM concentrations increased the vase life of cut flowers to 11 and 12 days, respectively. Also, the vase life in sucrose 3% was 11.4 days. In the above treatments, solution uptake, relative fresh weight, and relative flower diameter were higher than other treatments. Besides, the activity of peroxidase enzyme and ion leakage of petal during the postharvest period was lower in treated cut flowers with concentrations of 0.7 and 0.5 mM ATP. Results showed that the use of different concentrations of mannitol did not increase the vase life of rose and had a negative effect on the quality of flowers so that the vase life of cut flowers was 1.8 days lower than the control treatment. Our results showed that the supply of energy for cut flowers by ATP treatments can be an effective way to maintain the longevity of rose cut flowers. Therefore, it is recommended to use of ATP (0.7 and 0.5 mM) in vase solution to maintain the postharvest quality of Rose cut flowers.

Keywords: Adenosine triphosphate, Mannitol, Peroxidase, Rose, Sucrose.

¹ Former M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, School of Agriculture, Ilam University and Assistant Professor, Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticulture Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension organization (AREEO), Ramsar, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (z.roein@ilam.ac.ir).