مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات ایران
جلد ١٤، شماره ٣، پاییز ١٣٩٧، صفحات ٨٧-٧٥

ISSN NO: 2008-8485

اثر اسپرمیدین و دوره آبیاری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه کدو (*Cucurbita pepo* L.)

Effect of spermidine and irrigation period on some physiological characteristics of Cucurbit (*Cucurbita pepo* L.)

مژگان قنبری*[1]، محسن فرزانه[1] و علیرضا افتخاریان جهرمی[2]

تاریخ دریافت: ١٣٩٦/٠٩/٠١ تاریخ پذیرش: ١٣٩٧/٠١/٣١

چکیده

پلی آمین‌ها گروهی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشند و نقش مهمی در فرآیندهای حیاتی گیاهان بر عهده دارند. هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر اسپرمیدین (به‌عنوان یک پلی آمین) و دوره آبیاری بر محتوای پرولین، قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، شاخص پایداری غشا و محتوای کلروفیل a و b گیاه کدو بود. این پژوهش در شرایط گلدانی و در محیط باز به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول تیمار با اسپرمیدین در سه سطح صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار و فاکتور دوم دوره آبیاری در سه سطح ۳ روز در میان (شاهد)، ۵ روز در میان و ۷ روز در میان بود. نتایج نشان داد دوره آبیاری ۷ روز در میان نسبت به گروه شاهد، باعث افزایش در صفات محتوای پرولین، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و شاخص پایداری غشاء و کاهش در صفات قندهای محلول، کلروفیل a و b شد. گیاهان با دور آبیاری هفت‌روزه، با مصرف اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار (نسبت به غلظت‌های صفر و ۱ میلی‌مولار) باعث شد که محتوای پرولین، قندهای محلول، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در بالاترین سطح (کلاس a) حفظ شود. در مورد صفت پایداری غشاء در این گیاهان غلظت صفر میلی-مولار اسپرمیدین بالاترین میزان را دارا بود (77.75%). تیمار اسپرمیدین بر صفات محتوای کلروفیل a و b اثر معنی‌دار نداشت. در این آزمایش به‌طورکلی تیمار اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار در گیاهان با دور آبیاری هفت‌روزه، باعث شد تا صفات محتوای پرولین (1.11 mM/g.FW)، قندهای محلول (0.96 mg/gFW)، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز ($0.91\ OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$) و آسکوربات پراکسیداز (0.98 $OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$)در حد بالا (کلاس a) حفظ شود.

کلمات کلیدی: کدو، اسپرمیدین، دوره آبیاری، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه علوم باغبانی، شیراز، ایران
*- مسئول مکاتبه E-mail: Mojgan.ghanbari@ymail.com

www.iapb.kiau.ac.ir

مجله علمی- پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

مقدمه

گیاهان در دوران رشد با انواعی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی مواجه می‌شوند. گیاهان مکانیسم‌های پیچیده‌ای برای سازگاری و بهبود تنش‌های محیطی دارند. این سازگاری‌ها شامل تنظیم اسمزی توسط برخی تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل پرولین، قندهای محلول و بتائین هستند (Munns and Tester, 2008). پرولین یکی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی است. اسیدآمینه پرولین در بسیاری از گیاهان عالی شناسایی شده است و معمولاً در مقادیر زیاد در پاسخ به تنش‌های محیطی تجمع می‌یابد (Hellmann *et al.*, 2000). تجمع پرولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی بسیار فعال، به‌طورمعمول در سیتوسول رخ می‌دهد و به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای به تنظیم اسمزی سیتوپلاسمی، ثبات غشاء و فرآیندهای غشایی کمک می‌کند (Abraham *et al.*, 2003). قندهای محلول که معمولاً تحت عنوان مونوساکاریدها و دی‌ساکاریدها تعریف شده‌اند، نقش عمده‌ای در ساختار و عملکرد سلول‌های زنده دارند. گلوکز و فروکتوز منابع عمده کربن و انرژی برای سلول‌های حقیقی هستند. در موجودات فتوسنتز کننده، به‌ویژه در گیاهان عالی، ساکارز و مجموعه آنزیم‌ها و پروتئین‌های مربوطه دارای نقش اساسی در فرآیندهای فتوسنتز، انتقال و مصرف هستند (Couée *et al.*, 2006).

پلی آمین‌ها، پلی کاتیون‌های مهمی هستند که معمولاً در گیاهان به شکل دی آمین (پوترسین)، تری آمین (اسپرمیدین) و تراآمین (اسپرمین) یافت می‌شوند (Pang *et al.*, 2007) که دارای وزن مولکولی پایین هستند و به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش ایفا می‌کنند (Gill and Tuteja, 2010). این مواد در دامنه وسیعی از فرایندهای فیزیولوژیکی از جمله رشد و نمو گیاهان، تحریک تقسیم سلولی، سنتز DNA و پروتئین‌ها، کنترل ریشه‌زایی و واکنش به تنش‌های محیطی مانند سرما، گرما، خشکی و شوری نقش ایفا می‌کند (Liu *et al.*, 2007; Tang and Newton, 2005). پلی آمین‌ها ترکیبات آلی نیتروژن‌داری هستند که در کلیه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها حضور دارند. پلی آمین‌ها به‌عنوان مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرآیندهای رشد و نمو، شامل: تقسیم سلولی، رویان-زایی، ریخت‌زایی، گلدهی، رسیدن میوه‌ها، تکوین ریشه، تأخیر در پیری، پایداری غشاء، جمع‌آوری رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند (Kaur-Sawhney *et al.*, 2003). تحقیقات، نقش احتمالی این مولکول‌ها را در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده نشان داده است (Yamaguchi *et al.*, 2007). به نظر می‌رسد اهمیت پلی آمین‌ها در رویارویی با تنش‌ها می‌تواند به دلیل نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی، پایداری غشاء و جاروکنندگی رادیکال‌های اکسیژنی فعال از محیط سلول‌ها باشد (Liu *et al.*, 2007).

گزارش‌هایی در مورد نقش پلی آمین‌ها در کاهش اثرات حاصل از تنش وجود دارد. به‌عنوان‌مثال، گزارش شده است که محلول‌پاشی اسپرمیدین بر روی گیاهچه‌های برنج قرار گرفته در معرض تنش شوری، موجب کاهش آسیب به غشاء و افزایش مقاومت به تنش شوری این گیاه شد (Roy *et al.*, 2005).

ماهیت پلی کاتیونی این مولکول‌ها در pH فیزیولوژیک از صفات مهمی است که در فعالیت‌های بیولوژیک آن‌ها تأثیر می-گذارد. پلی آمین‌های معمولی به مولکول‌های آنیونی از جمله پروتئین‌ها، گروه فسفات اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدهای غشاء و پلی‌ساکاریدهای پکتینی متصل می‌شوند. همچنین پلی آمین‌ها می‌توانند در کلروپلاست پیوند کووالانس بین کمپلکس‌های پروتئینی کلروفیل و روبیسکو در استروما ایجاد کنند. پلی آمین‌ها مولکول DNA را از تجزیه آنزیمی و نیز تخریب در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولیدشده در شرایط تنش محافظت می‌کنند. همچنین این ترکیبات خاصیت بافری داشته و از تغییرات شدید pH جلوگیری می‌نمایند (El-Lethy *et al.*, 2010). گزارش‌شده که کاربرد پلی آمین‌ها به شکل اگزوژن سبب به حداقل رساندن اثر تنش بر کاهش رشد می‌شود. به‌عنوان‌مثال، این تنظیم‌کنندگان رشد موجب کاهش تجمع Na^+ و Cl^- در تنش شوری می‌گردند.

پلی آمین‌ها برخی فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد رویشی و فعالیت‌های فتوسنتزی را تحریک می‌کنند (Chattopadayay *et al.*, 2002). پلی آمین‌ها ممکن است به‌عنوان یک برداشت کننده مؤثر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولیدشده در آنزیم‌ها عمل کنند (Mahros *et al.*, 2011). گزارش‌های متنوعی نشان دادند که کلروفیل در واکنش به تنش‌های محیطی یا پیری برگ کاهش پیدا می‌کند. این در حالی است که پلی آمین‌ها باعث کاهش تخریب کلروفیل شده و منجر به دریافت بیشتر نور برای بهبود سرعت فتوسنتز می‌شوند؛ اما مکانیسم مولکولی آن‌ها دقیقاً

www.iapb.kiau.ac.ir

مشخص نیست (Chattopadayay *et al.*, 2002). به‌طورکلی هدف از انجام این آزمایش مطالعه اثر تیمار با اسپرمیدین بر گیاهان کدو در شرایط دوره آبیاری و بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و نیز تجمع ترکیبات اسمز نگهدار (پرولین و قند)، نشت یون و همچنین کلروفیل‌های a و b می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز با عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۷۵۹ متر از سطح دریا، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلدانی و در محیط باز انجام شد.

تیمارهای آزمایشی شامل دوره آبیاری (آبیاری تکمیلی) و تیمار با اسپرمیدین بود. فاکتور اول دوره آبیاری در سه سطح آبیاری به فاصله سه روز در میان، پنج روز در میان و هفت روز در میان و فاکتور دوم کاربرد اسپرمیدین به‌صورت محلول‌پاشی در سه سطح صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار بود. در ابتدا بذور ضدعفونی و شستشو شدند و سپس در گلدان‌های سایز ۱۴ (قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متر) حاوی مخلوطی از کوکو پیت و پرلیت به نسبت (۱:۲) کاشته و تا زمان ظهور دومین برگ حقیقی با آب مقطر آبیاری و پس از آن طی دو نوبت در شبانه‌روز با محلول هوگلند تغذیه شدند. دوره‌های مختلف آبیاری (در سه سطح: سه روز در میان، پنج روز در میان و هفت روز در میان) بعد از گسترده شدن دومین برگ حقیقی اعمال شد. تیمار با اسپرمیدین در سه سطح صفر (شاهد)، ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌صورت محلول‌پاشی برگ‌ها اعمال شد. محلول‌پاشی با اسپرمیدین یک مرتبه و هم‌زمان با اعمال دوره آبیاری انجام پذیرفت. دوره آبیاری طی دو هفته اعمال شد و در شروع هفته سوم یعنی مرحله شش برگی گیاه، جهت مطالعه صفات مورد نظر شامل: پرولین، قند، فعالیت آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پایداری غشاء و محتوای کلروفیل a و b از برگ‌های سه و چهار نمونه‌برداری انجام گرفت.

سنجش فعالیت آنزیمی: جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بافر استخراج، آماده شد (۶/۰۷ گرم Tris با ۰/۵ گرم PVP مخلوط و pH آن بر روی ۸ تنظیم گردید. پس از آن به حجم ۵۰۰ رسانیده شد). ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی با ۲ میلی‌لیتر بافر به مدت ۱۰ دقیقه سانتریوفیوژ شد و سپس فاز رویی جهت سنجش فعالیت آنزیمی جدا شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (Chance and Maehly, 1995): یک میلی‌لیتر بافر فسفات به همراه یک میلی‌لیتر گایاکول ۱ درصد و ۳۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی خوب باهم مخلوط شد و در کووت اسپکتروفتومتر مدل (LABoMeD, INC. UVD-2960) ریخته شد. در آخرین مرحله ۱ میلی‌لیتر H_2O_2 به کووت اضافه شد. در طول‌موج ۴۲۰ نانومتر طی یک دقیقه دو بار خوانده شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (Nakano and Asada, 1987): ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و آسکوربات سدیم با غلظت ۱ میلی‌مولار مخلوط و pH بر روی ۷ تنظیم شد. ۰/۲ میلی‌لیتر H_2O_2 و ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره استخراجی درون کووت اسپکتروفتومتر مدل (LABoMeD, INC. UVD-2960) ریخته و در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید و در نهایت تغییرات میزان جذب بر ۲۸ تقسیم شد.

سنجش محتوای پرولین: محتوای پرولین طبق روش بتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (LABoMeD, INC. UVD-2960) اندازه‌گیری گردید. به این منظور، پس از توزین برگ‌ها و همگن‌سازی آن‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفاسالیسیلیک ۳ درصد، نمونه‌ها سانتریفوژ شده و معرف نین‌هیدرین و اسید-استیک خالص به آن افزوده شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب گرم به مدت یک ساعت، ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و محلول بالایی جدا گردید و در طول ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

وزن خشک/۱ × مقدار تولوئن × ۵ × غلظت قرائت‌شده پرولین = عدد به‌دست‌آمده / ۱۰۰۰ (PPM)

سنجش قندهای محلول: سنجش قندهای محلول طبق روش فنل اسید سولفوریک با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (LABoMeD, INC. UVD-2960) ساخت کشور آمریکا صورت گرفت. جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول به نمونه‌های خشک برگ، الکل ۸۰ درصد افزوده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به نمونه‌ها اضافه گردید و با

www.rpb.kiau.ac.ir

دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر عمل اسپکتروفتومتری انجام گرفت.

اندازه‌گیری شاخص پایداری غشاء برگ: جهت اندازه‌گیری شاخص پایداری غشاء برگ، از دستگاه هدایت الکتریکی استفاده شد و روش کار به این صورت بود که از هر تکرار تعدادی برگ نمونه‌گیری شد و از هر برگ چهار قطعه‌ی یک سانتیمتری جدا گردید و قطعه‌ها سه مرتبه با آب مقطر شسته و در شیشه‌های کوچک ۱۰ میلی‌لیتری آب مقطر نگهداری شدند. سپس برای ۲۴ ساعت دردمای اتاق (C ۲۵º) در دستگاه تکان‌دهنده گذاشته شدند و EC1 قرائت گردید. همان نمونه‌ها را در اتوکلاو و در دمای C ۱۲۰º و به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده و پس از خنک کردن محلول و رساندن دمای آن به C ۲۵º، EC2 نیز قرائت شد. سپس هدایت الکتریکی به‌صورت درصد با استفاده از روش زیر محاسبه شد:

شاخص پایداری غشاء برگ (٪) = [Ec1 / Ec2]× 100

اندازه‌گیری کلروفیل a و b: اندازه‌گیری رنگدانه‌های کلروفیلa وb با استفاده از روش ارائه‌شده توسط آرنون (Arnon, 1967) انجام گرفت.

مقدار ۰/۵ گرم از ماده تر برگ در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از نیتروژن مایع خرد و به‌خوبی له شد. پس‌ازآن ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه اضافه گردید، سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره فوقانی حاصل از سانتریفیوژ به بالن شیشه‌ای منتقل شد. در مرحله بعد، مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به‌طور جداگانه در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب قرائت شد.

در نهایت با استفاده از فرمول‌های زیر میزان کلروفیل a و b بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه گردید.

Chlorophyll a = (19.3 × A663 - 0.86 × A645) V/100W

Chlorophyll b = (19.3 × A645 - 3.6 × A663) V/100W

Carotenoides = 100(A470) - 3.27(mg chl. a) - 104(mg chl. b)/227

V= حجم محلول صاف‌شده

A= جذب نور در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

از نرم‌افزار SAS برای تجزیه آماری داده‌ها استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت و جهت رسم نمودارها، نرم‌افزار Excel مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

Table 1- Variance analysis of the characteristics studied

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات(MS)						
		محتوای پرولین Proline content	قندهای محلول Soluble sugars	آنزیم پراکسیداز Peroxidase	آنزیم آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidase	شاخص پایداری غشا Membrane stability	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b
اسپرمیدین Spermidine (A)	2	0.2791**	0.2575**	0.1288**	0.1606**	953.69**	0.0080**	0.0055ns
دوره آبیاری Irrigation period (B)	2	0.3571**	0.0330**	0.2773**	0.7616**	793.02**	0.1553**	0.0234**
اثر متقابل (A×B)	4	0.0080*	0.0779**	0.0025*	0.0069*	72.94**	0.0012ns	0.0030ns
خطا Error	27	0.0023	0.0025	0.0006	0.0013	12.36	0.0013	0.0016
ضریب تغییرات (٪) Cv (%)	–	6.63	6.42	4.12	5.54	5.28	6.57	6.69

ns و * و ** به ترتیب بیانگر تفاوت غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد می‌باشد.

ns, *, **: non-significant and significant at 5 and 1%, respectively

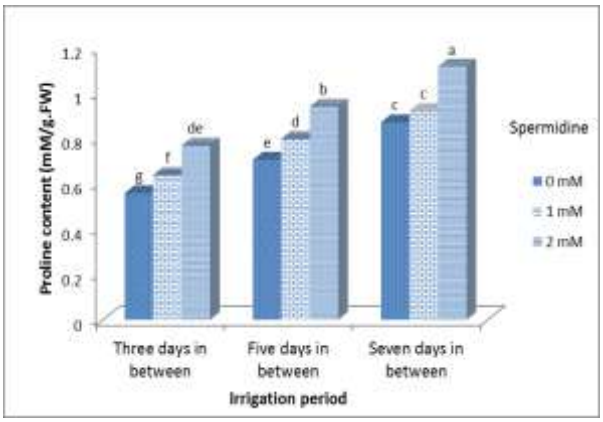
www.iapb.kiau.ac.ir

نتایج

محتوای پرولین

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین بر محتوای پرولین از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱).

در بررسی برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین مشاهده گردید، در شرایطی که آبیاری به‌صورت سه روز در میان انجام گرفت، غلظت ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین نسبت به غلظت‌های ۱ و صفر میلی‌مولار از محتوای پرولین بیشتری برخوردار بود. در آبیاری پنج روز در میان، بالاترین میزان تجمع پرولین در گیاهان تیمار شده با غلظت ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین مشاهده گردید. در غلظت‌های ۱ و صفر میلی‌مولار اسپرمیدین به ترتیب از میزان تجمع پرولین کاسته شد. در آبیاری هفت روز در میان، تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار باعث افزایش محتوای پرولین شد. بالاترین تجمع پرولین در این گروه از گیاهان مشاهده گردید. در آبیاری هفت روز در میان غلظت‌های ۱ و صفر میلی‌مولار اسپرمیدین نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و از نظر تجمع پرولین در رتبه دوم قرار داشتند (شکل ۱).



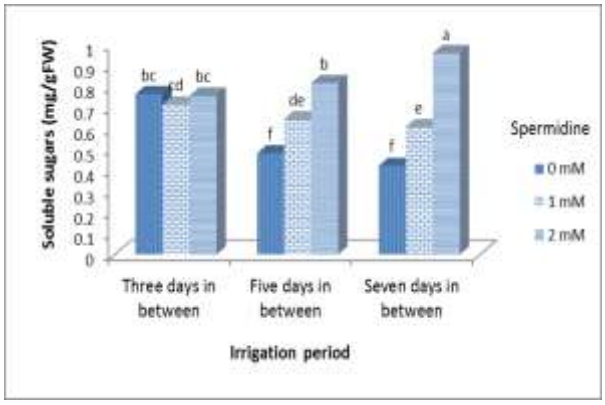
شکل ۱- برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر محتوای پرولین

Fig. 1- Interaction effect of irrigation period and spermidine on the proline content

قندهای محلول

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، بین اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین و همچنین برهمکنش آن‌ها بر محتوای قندهای محلول از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد مشاهده شد.

بررسی برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر قندهای محلول نشان داد، در شرایط آبیاری سه روز در میان تیمار با اسپرمیدین صفر و ۲ میلی‌مولار با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و نسبت به غلظت ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین، میزان بیشتری از قندهای محلول را دارا بودند. در آبیاری پنج روز در میان و هفت روز در میان، با افزایش غلظت اسپرمیدین میزان قندهای محلول افزایش یافت. بالاترین میزان قندهای محلول در شرایط آبیاری هفت روز در میان و تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۲).



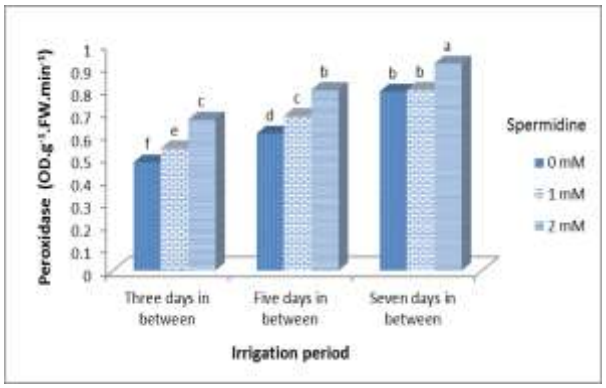
شکل ۲- برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر قندهای محلول

Fig 2- Interaction effect of irrigation period and spermidine on the soluble sugars

فعالیت آنزیم پراکسیداز

مطابق با نتایج ارائه‌شده در جدول تجزیه واریانس ۱، اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. بررسی برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین نشان داد که در شرایط آبیاری سه روز در میان، تیمار با اسپرمیدین سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد، به‌نحوی‌که با افزایش غلظت از صفر به ۱ و سپس ۲ میلی‌مولار، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. این نتایج در آبیاری پنج روز در میان نیز مشاهده گردید؛ اما میزان افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شرایط آبیاری سه روز در میان، بیشتر بود. در آبیاری هفت روز در میان، غلظت‌های صفر و ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و نسبت به غلظت ۲ میلی‌مولار در رتبه دوم قرار داشتند. بالاترین حد فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط آبیاری هفت روز در میان و اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۳).

www.japb.kiau.ac.ir



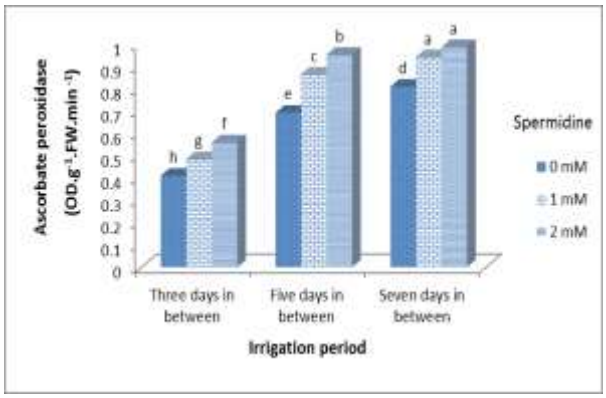
شکل ۳- برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

Fig 3- Interaction effect of irrigation period and spermidine on the peroxidase enzyme activity

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین در سطح احتمال ۱ درصد و برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

برهمکنش دوره آبیاری و تیمار با اسپرمیدین نشان داد، در شرایط آبیاری سه روز در میان با افزایش غلظت اسپرمیدین، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش یافت. در آبیاری پنج روز در میان نیز همین روند مشاهده گردید اما نسبت به آبیاری سه روز در میان، افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشتر بود. در آبیاری هفت روز در میان غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند اما نسبت به غلظت صفر، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بیشتر بود (شکل ۴).

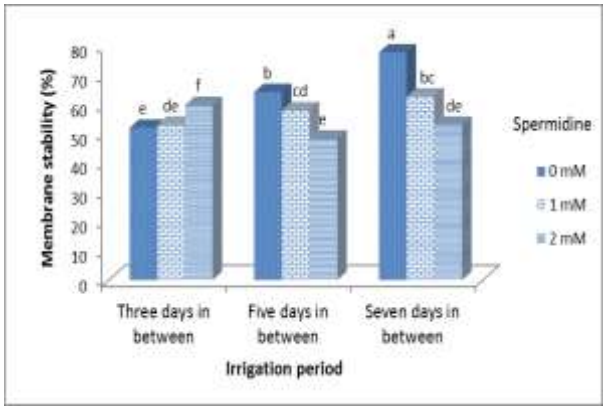


شکل ۴- برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

Fig 4- Interaction effect of irrigation period and spermidine on the ascorbate peroxidase enzyme activity

شاخص پایداری غشا

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین و همچنین برهمکنش آن‌ها در سطح احتمال ۱ درصد بر شاخص پایداری غشا تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱). در بررسی برهمکنش دوره آبیاری و تیمار با اسپرمیدین مشاهده شد، بالاترین میزان شاخص پایداری غشا در گیاهانی مشاهده شد که در معرض آبیاری هفت روز در میان و اسپرمیدین صفر میلی‌مولار قرار داشتند. کمترین میزان شاخص پایداری غشا در گیاهانی مشاهده شد که در معرض آبیاری سه روز در میان بودند و با اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار تیمار شده بودند (شکل ۵).



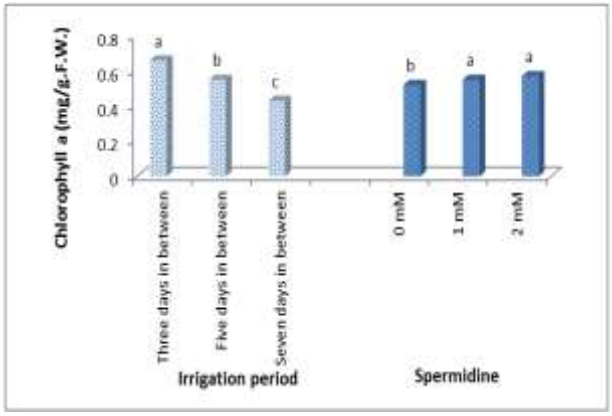
شکل ۵- برهمکنش دوره آبیاری و اسپرمیدین بر شاخص پایداری غشا

Fig 5- Interaction effect of irrigation period and spermidine on the membrane stability

کلروفیل a

طبق نتایج ارائه‌شده در جدول تجزیه واریانس، اثر ساده دوره آبیاری و اسپرمیدین بر محتوای کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد اما برهمکنش آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر این رنگیزه مهم فتوسنتزی نداشت. (جدول ۱)؛ بنابراین نمودار اثر ساده دوره آبیاری و اثر ساده اسپرمیدین رسم و مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۶). مطابق با نتایج ارائه‌شده در شکل ۶، در شرایط دوره آبیاری سه روز در میان، بالاترین میزان کلروفیل a مشاهده گردید و با افزایش فواصل دور آبیاری، از میزان این رنگیزه کاسته شد. غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و بالاترین میزان این رنگیزه مهم فتوسنتزی در همین گیاهان بود. غلظت صفر میلی‌مولار اسپرمیدین در رتبه دوم قرار داشت (شکل ۶).

www.iapb.kiau.ac.ir

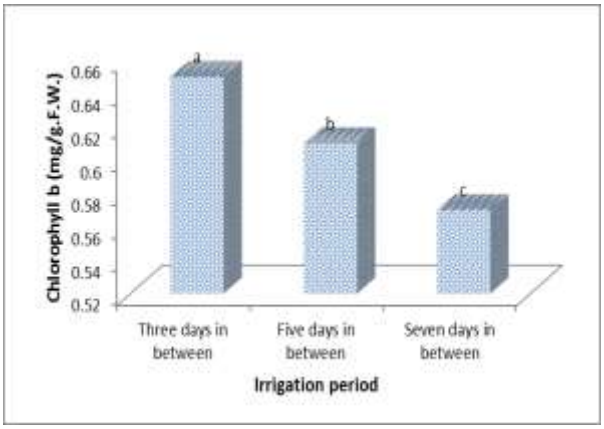


شکل ۶- اثر دوره آبیاری و اسپرمیدین بر کلروفیل a

Fig 6- Effect of irrigation period and spermidine on the chlorophyll a

کلروفیل b

همان‌گونه که نتایج جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد، اثر ساده اسپرمیدین و برهمکنش اسپرمیدین و دوره آبیاری، بر محتوای کلروفیل b معنی‌دار نشد؛ اما اثر ساده دوره آبیاری بر محتوای کلروفیل b در سطح احتمال ۱ درصد تأثیر معنی‌داری داشت (جدول ۱)؛ بنابراین نمودار اثر ساده دوره آبیاری رسم و مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۷). مطابق با نتایج ارائه‌شده در شکل ۷ گیاهانی که سه روز در میان آبیاری شده بودند، این رنگیزه را در بالاترین حد خود داشتند و بعدازآن به ترتیب دورهای آبیاری پنج و هفت روز در میان قرار داشتند.



شکل ۷- اثر دوره آبیاری بر کلروفیل b

Fig 7- Effect of irrigation period on the chlorophyll b

بحث

محتوای پرولین

هنگامی‌که گیاه با تنش خشکی و شوری مواجه می‌شود، غلظت اسمولیت‌های خود را افزایش می‌دهد تا با تنظیم اسمزی به جذب آب ادامه دهد. این پدیده با تجمع یون‌های غیر آلی که در غلظت بالا سمی نبوده و با تولید اسمولیت‌های آلی با وزن مولکولی کمتر همراه می‌باشد. در بین مواد محلول سازگار، احتمالاً پرولین رایج‌ترین اسمولیت سازگار به شمار می‌آید. گرچه پرولین در طی تنش در قسمت‌های مختلف گیاه تجمع می‌یابد، اما بیشترین مقدار آن در برگ‌ها به وجود می‌آید (Pritsa and Voyiatzis, 2005). پرولین عمل حفاظتی و کاهش پتانسیل اسمزی، حفاظت ماکرو مولکول و غشاء، ثبات pH، منبع نیتروژن و واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء را به عهده دارد. همچنین پرولین با غیرفعال کردن آنیون هیدروکسیل‌ها (OH) خاصیت ضد اکسیدانی دارد (Roussos and Pontikis, 2003; Pritsa and Voyiatzis, 2005).

انباشت پرولین در گیاه واکنش سریع در مقابل کاهش محتوای نسبی آب (RWC) برگ‌ها می‌باشد. در این پژوهش، در گیاهانی که تحت تیمار با اسپرمیدین قرار نگرفته بودند، خشکی باعث تجمع پرولین شد و تیمار با اسپرمیدین نیز، سبب تشدید تجمع پرولین شد. به‌نحوی‌که بالاترین میزان تجمع پرولین در دوره آبیاری هفت روز در میان و اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار مشاهده شد. نتایج تحقیقات انجام‌گرفته روی ارقام گیاهی تحت تنش، بیان نمود که پرولین آزاد در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (Pritsa and Voyiatzis, 2005). چنین نتایجی در آزمایش حاضر نیز مشاهده شد.

در سال‌های اخیر رابطه مستقیمی بین کاربرد پلی آمین‌های برون‌زاد و افزایش تحمل به خشکی در گیاهان مشاهده شده است. در چندین گیاه تراریخته مانند برنج، سیب‌زمینی، تنباکو و آرابیدوپسیس تالیانا مشاهده شد که استفاده از ژن‌های بیوسنتز کننده پلی آمین‌ها سبب افزایش تحمل به خشکی و شوری می‌شود (Wi *et al.*, 2006).

کاربرد پلی آمین‌ها به شکل برون‌زاد سبب به حداقل رسانیدن کاهش رشد در شرایط تنش می‌شود. همچنین تحقیقات نشان داده است که اثرات حفاظتی پلی آمین‌ها متفاوت است. به‌عنوان‌مثال اسپرمین و اسپرمیدین بیشتر از پوتریسین سبب بهبود پاسخ گیاه به تنش خشکی و شوری می‌شود (Liu *et al.*, 2006). این ترکیبات ممکن است دارای اثرات چندگانه باشند. به‌عنوان‌مثال این ترکیبات علاوه بر این‌که سبب حذف رادیکال‌های آزاد ثبات غشاء می‌گردند، می‌توانند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید و دیسموتاز) و

www.rapp.kiau.ac.ir

نیز پرولین مؤثر واقع شوند. همچنین این مواد تنظیم‌کننده رشد موجب کاهش تجمع Na^+ و Cl^-در زمان تنش خشکی می‌گردند (Nemat *et al.*, 2001). در پژوهش حاضر نیز، اسپرمیدین باعث تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی شد و زمانی که گیاهان با غلظت ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین تیمار شده بودند، بالاترین میزان تجمع پرولین دیده شد.

قندهای محلول

در شرایط خشکی و شوری حاصل از تنش اسمزی، قندهای محلول نقش عمده‌ای در تنظیم اسمزی دارند. در پژوهش حاضر، تنش خشکی سبب تجمع قندهای محلول شد. همچنین، تیمار با اسپرمیدین باعث شد تا قندهای محلول تجمع بیشتری داشته باشند و بالاترین میزان تجمع قندهای در دوره آبیاری هفت روز در میان و اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار مشاهده شد. در شرایط تنش، هگزوزها نظیر قندهای فروکتوز و گلوکز عمده‌ترین ترکیبات اسمزی به شمار می‌آیند. افزایش قندها در شرایط تنش همانند پرولین واکنش سریعی در مقابل کاهش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌باشد (Pakniat *et al.*, 2003). طبق اظهارات پژوهشگران در شرایط تنش اسمزی، قندها زودتر از پرولین واکنش نشان می‌دهند. احتمال دارد افزایش قندهای ساده حاصل از تجزیه نشاسته در شرایط کم‌آبی باشد. قندها در شرایط تنش علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی آب، ضمناً موجب حفظ پروتئین‌های غشاء سلولی نیز می‌شوند (Pakniat *et al.*, 2003).

پژوهشی در زمینه نقش قندهای محلول و افزایش آن‌ها تحت شرایط تنش‌های گوناگون صورت پذیرفته است که بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی سلول دلالت دارند (Verma and Mishra, 2005). نمت و همکاران (Nemat *et al.*, 2001) گزارش کردند که تنش می‌تواند منجر به تغییراتی در تولید کربوهیدرات‌ها شود. به‌عنوان‌مثال محتوای گلوکز، فروکتوز و پلی‌ساکاریدها در اندام هوایی و ریشه گیاه لوبیا در شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد. گفته شده است تحت شرایط تنش شدید مقدار ساکارز و هگزوزها افزایش یافته و میزان نشاسته کاهش می‌یابد. افزایش در مقدار ساکارز و هگزوز به دلیل افزایش هیدرولیز نشاسته و سنتز ساکارز بوده و انباشته شدن این دو ماده نقش مهمی در تنظیم اسمزی گونه‌های انتقال دهنده ساکارز دارد (Pakniat *et al.*, 2003).

فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز

تنش خشکی، به دلیل اثرات اسمزی سبب کمبود آب در گیاهان می‌شود. کمبود آب به تشکیل انواع اکسیژن‌های دوبار فعال شده (ROS) نظیر سوپراکسید (O_2)، پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و اکسیژن منفرد منجر می‌شود. انواع اکسیژن‌های فعال شده به‌طور جدی به متابولیسم‌های طبیعی گیاه آسیب وارد نموده و سبب خسارت به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای هسته‌ای می‌شوند. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش مانند آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و گویاکول پراکسیداز براثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیرهای ترارسانی پیام باعث افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شود (Mittler, 2002). نتایج به‌دست‌آمده از یافته‌های خاناکوپرا و سلوت (Khanna-Chopra and Selote, 2007) و امجد و همکاران (Amjad *et al.*, 2011) نشان دادند تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ارقام گندم می‌گردد.

برخی ویژگی‌های پلی آمین‌ها مشابه عمل آنتی‌اکسیدانت‌ها در رابطه با پایداری غشاء سلول‌ها و کاهش تنش اکسیداتیو می‌باشد. استفاده از پوترسین سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتایتون‌ردوکتاز گردیده و سبب کاهش اثر پراکسیدهیدروژن تولیدشده حاصل از تغییر ژن‌های بیوسنتیک پلی آمین‌ها به پلی آمین‌های بیوسنتزی باشد. نقش القاء تحمل به تنش از طرف پلی آمین‌ها به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی کاتیون‌های طبیعی پلی آمین در pH فیزیولوژیکی و یا بهبود توازن یونی می‌باشد. تولید زیاد پلی آمین می‌تواند نتیجه واکنش‌های متقابل پلی آمین‌ها که بیشتر به‌صورت آزاد با مولکول‌های آنیونیک مانند DNA و RNA، پروتئین و غشای لیپیدی هستند، می‌باشد و در شرایط تنش از سیستم غشایی به‌صورت غیرطبیعی محافظت می‌کنند. همچنین پلی آمین‌ها در شرایط تنش‌زا نظیر خشکی، شوری و دمای غیرعادی، تولید می‌شوند. میزان سنتز پلی آمین‌ها به گونه گیاه، شدت و مدت تنش بستگی دارد. چنانکه ذکر شد پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین از پلی آمین‌های عمده در گیاه به شمار می‌آیند.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد در گیاهان تحت تنش، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز افزایش

www.japb.kiau.ac.ir

یافت. تیمار این گیاهان با اسپرمیدین سبب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. نقش پلی آمین‌ها در کاهش صدمات اکسیداتیو حاصل از تنش‌های متعدد گزارش شده است. به‌طور مثال یو و همکاران (Yiu *et al.*, 2009) گزارش کردند که پوتریسین برون‌زاد، تخریب اکسیداتیو القاشده در گیاه *Allium fistulosum* را از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، کاهش می‌دهد. آن‌ها دریافتند که کاربرد برون‌زاد پوتریسین منجر به کاهش رادیکال سوپراکسید و مقدار H_2O_2 می‌گردد و در نهایت تنش اکسیداتیو گیاه را کاهش می‌دهد. گزارش شده است در گیاه *Brassica juncea* تنش شوری باعث کاهش رشد و میزان بیوماس و افزایش سطح O_2^- و H_2O_2 گردیده است و پلی آمین‌ها این اثرات مخرب را خنثی نموده و با کاهش رادیکال‌های آزاد باعث تحمل این گیاه در برابر تنش گردیده است. همچنین پلی آمین‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان را در بافت برگ این گیاه تحت تنش افزایش داده‌اند (Verma and Mishra, 2005). این نتایج پیشنهاد می‌کنند که پلی آمین‌ها ممکن است آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهند و تولید رادیکال‌های آزاد را کنترل نمایند و در نهایت از پراکسیداسیون غشاء و تخریب مولکول‌های زیستی ممانعت کند و باعث بهبود رشد گیاهچه‌های تحت تنش گردند (Verma and Mishra, 2005). در این پژوهش نیز تیمار با اسپرمیدین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد.

شاخص پایداری غشاء

نتایج این آزمایش نشان داد تیمار با اسپرمیدین باعث کاهش شاخص پایداری غشاء شد. غشاء سلولی به‌طور وسیع به‌وسیله یون سدیم آسیب می‌بیند. گیاهان مقاوم سازگاری ویژه‌ای برای حفظ لایه فسفولیپید غشاء دارند. در گیاهان متحمل فعالیت مواد بازدارنده نقل‌وانتقال Na^+/H^+، از فعالیت ماده K^+/H^+ بیشتر می-باشد؛ اما یون نیترات و پتاسیم کمتر مشاهده می‌شود. موادی که در بالا ذکر شد در انتقال یون در عرض غشاء دخالت دارند. آنزیم H^+-ATPase در غشای سیتوپلاسمی و H^+-Pyrophosphatase در تونوپلاست (غشای واکوئلی) در تولید اختلاف الکتروشیمیایی وابسته به هیدروژن برای تبادل یون‌ها در غشاء لازم می‌باشد. در تنش‌های شوری، خشکی، یخ‌زدگی و گرما اسیدهای آمینه و آمیدها (پرولین، آلانین، گلوتامین و آسپاراژین) بازهای نوع چهارم، نمک آمونیوم نظیر بتایین، قندهای مختلف و الکل‌های قندی نظیر مانیتول و سوربیتول، کربوهیدرات‌های محلول، موجب حفاظت پروتئین‌ها و غشای سلولی می‌شوند (Applewhite *et al.*, 2000; Pritsa and Voyiatzis, 2005).

پژوهش‌های صورت گرفته نشان می‌دهند که پلی آمین‌ها ساختار و اعمال غشاءهای سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و این امر از طریق برهم‌کنش پلی آمین‌ها با بارهای منفی فسفولیپیدهای موجود در بین دو لایه لیپیدی یا پروتئین‌های متصل به غشاء صورت می‌گیرد. مولکول پلی آمین با اتصال به سطح غشاء باعث استحکام آن می‌شود که در نهایت به تغییر در نفوذپذیری غشاء و انتقال فعال مواد از طریق آن منجر می‌شود. همچنین، تشکیل کمپلکس‌های پلی آمین، فسفولیپید و Fe^{3+} مانع از فعالیت پراکسیدازها شده و به پایداری غشاء منجر می‌شود. شواهد موجود حاکی از آن است که پلی‌آمین‌های طبیعی باعث پایداری غشاءهای سلولی شده و بدین ترتیب پیری را به تأخیر می‌اندازند (Kasukabe *et al.*, 2004; Pritsa and Voyiatzis, 2005).

کلروفیل a و b

طبق نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق کاهش آبیاری سبب کاهش محتوای کلروفیل a و b شد. معمولاً یکی از اثرات مستقیم خشکی، تخریب کلروفیل است که در تحقیقاتی از جمله تحقیق Zarafshar و همکاران (2014) در گونه چوبی گلابی وحشی نیز به آن اشاره شده است. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در زمان خشکی می‌تواند سبب تخریب سیستم فتوسنتزی و در نهایت تجزیه کلروفیل شود. برخی از محققین علت تخریب کلروفیل را افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌دانند (Jiang and Huang, 2001). برخی دیگر اختصاص یافتن گلوتامات جهت سنتز پرولین که پیش‌ساز مشترک پرولین و کلروفیل است، جهت مقابله با تنش اسمزی می‌دانند که گلوتامات کمتر در مسیر تولید کلروفیل شرکت می‌کند (Bybordi, 2012). در این تحقیق حاصل اثر متقابل دوره آبیاری و اسپرمیدین اثر معنی‌دار نداشت؛ اما در پژوهشی که توسط کوه و همکاران (Cohen *et al.*, 2004) انجام شد، به افزایش محتوای کلروفیل بعد از کاربرد پلی آمین‌ها اشاره شده است و دلیل آن به خاطر ویژگی آنتی-اکسیدانی آن‌هاست که از تخریب ساختار غشاء کلروپلاست جلوگیری می‌کند.

www.iapb.kiau.ac.ir

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، در گیاهانی که آبیاری هفت روز در میان داشتند تیمار با غلظت ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث شد که گیاهان بتوانند غلظت اسمولیت‌های پرولین و قند محلول را در بالاترین سطح حفظ کنند که این امر به گیاه کمک می‌کند که شرایط کم‌آبی را بهتر طی کند. همچنین در این گیاهان بالاترین میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز مشاهده گردید؛ اما در مورد آنزیم آسکوربات پراکسیداز، در شرایط آبیاری هفت روز در میان غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. همچنین در این گیاهان تیمار با اسپرمیدن ۲ میلی‌مولار سبب کاهش شاخص پایداری غشاء شد و اثر متقابل اسپرمیدین و دوره آبیاری تأثیری بر محتوای کلروفیل a و b نداشت.

www.iapb.kiau.ac.ir

References

فهرست منابع

Abraham, E., G. Rigo., G. Szekely., R. Nagy., C. Koncz and L. Szabados. 2003. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in Arabidopsis. Plant Molecular Biology, 51: 363 372.

Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23:112-121.

Bates, L. S., R. D. Walderen., and I. D. Taere. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.

Bybordi, A. 2012. Study effect of salinity on some physiologic and morphologic properties of two grape cultivars. Life Science Journal, 9: 1092- 1101.

Chattopadayay, M. K., B. S. Tiwari., G. Chattopadhayay., A. Bose., D. N. Sengupta., and B. Ghosh. 2002. Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 116: 192-199.

Cohen, A. S., R. B. Popovic., and S. Zalik. 2004. Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity, and chloroplast ultrastructure of barley leaf discs during senescence. Plant Physiology, 64: 717-720.

Couée, I., C. Sulmon., G. Gouesbet., and A. El Amrani. 2006. Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 57: 449-459.

Del Duca, S., V. Tidu., R. Bassi., C. Esposito., and D. Serafani Fracassini. 1994. Identification of chlorophyll-a/b proteins as substrates of transglutaminase activity in isolated chloroplasts of *Helianthus tuberosus* L. Planta, 193: 283-289.

El-Lethy, S., H. Ayad., and I. Talaat. 2010. Physiological effect of some antioxidant on flax plant (*Linum usitatissimum* L.). World Journal of Agricultural Sciences, 6: 622-629.

Jiang, Y. and N. Huang. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Science, 41: 436-442.

Hellman, H., D. Funck., D. Rentsch., W.B. Frommer. 2000. Hypersentivity of an Arabidopsis sugar signaling mutant toward exogenous proline application. Plant Physiology, 123: 779- 789.

Gill, S.S. and N. Tuteje. 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. Plant Signaling Behavior, 5: 26-33.

Kaur-Sawhney, R., A. F., Tiburcio., and A. W. Galston. 2003. Polyamines in plants: An overview. Journal of Cell and Molecular Biology, 2: 1-12.

Kasukabe, Y., L. He., K. Nada., S. Misawa., I. Ihara., and S. Tachibana. 2004. Over expression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress- regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiology, 4:73-84.

Khanna-Chopra, R., and D. S. Selote. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 60: 276-283.

Liu, J. H., k. Nada., C. Hond., H. Kitashiba., X. P. Wen., X. M. Pang., and T. Moriguchi. 2006. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of arginine decarboxylase pathway respons. Journal of Experimental Botany, 57:2589-2599.

Liu, J. H., H. Kitashiba., J. Wang., Y. Ban., and T. Moriguchi. 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. Plant Biotechnology, 24: 117-126.

Mahros, K. M., E. M. Badawy., M. H. Mahgoub., A. M. Habib., and I. M. El-Sayed. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. Plant. Journal of American Science, 7: 399-408.

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Science. 7: 405-410.

www.iapb.kiau.ac.ir

Munns, R. and Tester. M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.

Nasibi, F., Kh. Manouchehri Kalantari., and N. Faelian. 2012. The effects of spermidin and methylene blue pretreatment on some physiological responses of *Matricaria recutita* plants to salt stress. Processing and Function of plant, 2:61-71.

Nemat, M. M., M. E. Younis., O. A. EI-Shihaby., Z. M. El-Bastawisy. 2001. Effect of kinetin on photosynthetic activity and carbohydrate content in water logged or sea water treated *Vigna sinesis* and *Zea mays*. International Journal of Biological Sciences, 1: 918-924.

Nakano, Y. and K. Asad. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Physiology, 28: 131-140.

Orcutt, D. M., and E. T. Nilsen. 2000. Thephysiology of plants under stress, soil and bioticfactors. John Wiley and Sons New York, 177-235.

Pakniat, H., A. Kazemipour., and G. A. Mohammadi., 2003. Variation in salt tolerance of cultivated (*Hordeum vulgare* L.) and wild (*H. spontanum* C. KOCH) barley genotypes from Iran. Iran Agricultural Research, 22: 45-62.

Pang, X. M., Z. Y. Zhang., X. P. Wen., Y. Ban., and T. Moriguchi. 2007. Polyamines, all-purposeplayers in response to environment stresses inplants. Plant Stress, 1: 173-188.

Pritsa, T. S. and D. G. Voyiatzis. 2005. Correlation of ovary and leaf spermidine and spermine content with the alternate bearing habit of olive. Journal of Plant Physiology, 162:1284-1291.

Roussos, P. A. and C. A. Pontikis. 2003. Long term effects of sodium chloride salinity on *growing in vitro*, proline and phenolic compound content of Jojoba explants. European Journal of Horticultural Science, 68:38-44.

Roy, K., K. Niyogi., D. N. SenGupta., and Goush B. 2005. Spermidine treatment to riceseedlings recovers salinity stress-induceddamage of plasma membrane and PM-bound H^+-ATPase in salt- tolerant and salt sensitive ricecultivars. Plant Science, 168: 583-591.

Tang, W. and J. R. Newton. 2005. Polyamines reduced salt inducedoxidative damage by increasing the activites of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regular, 46: 31-43.

Verma, S. and S. N. Mishra. 2005. Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica Juncea* by inducing antioxidative defense system. Journal of Plant Physiology, 162: 669-77.

Wi, S. J., W. T Kim and K. Y. Park. 2006. Over expression of carnation s-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to a biotic stresses in transgenic Tobacco plants. Plant Cell Reports, 25: 111-121.

Yamaguchi, K., I. Y. Takahash., T. Berberich., A. Imai., T. Takahashi., A. J. Michael., and T. Kusano. 2007. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. Biochemical and Biophysical Research, 352; 486-490.

Yiu, J., L. D. Juang., D. Fang., W. Liu., and J. Wu. 2009. Exogenous putrescine reduces floodinginduced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. Scientiae Horticultural, 120: 306-14.

Zarafshar, M., M. Akbarinia., H. Askari., S.M. Hosseini, M. Rahaie., D. Struve., and G. C. Striker, 2014. Morphological, physiological and biochemical responses of three populations of wild pear tree (*Pyrus boisseriana*). Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. 18: 353-366.

www.japb.ut.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 14. No. 3, 2018

Effect of spermidine and irrigation period on some physiological characteristics of Cucurbit (*Cucurbita pepo* L.)

M. Ghanbari*[1], M. Farzaneh[1] and A. R. Eftekharian Jahromi[2]

Received date: 22 November 2017 Accepted date: 20 April 2018

Abstract

Polyamine are a group of Plant Growth Regulators that have effects on metabolic activities in many plants. In this study the effect of spermidine on proline, soluble sugars, peroxidase, ascorbate peroxidase, membrane stability and chlorophyll a and b, under irrigation period were evaluated. This study was conducted in pots and as a factorial completely randomized design in four replications. Espermidine was applied at 0, 1 and 2 mM and irrigation period was imposed at three days, five days and seven days in between. The Results showed irrigation period in seven days compared to control group increases proline content, activity of peroxidase and ascorbate peroxidase and membrane stability, and decrease in soluble sugars, chlorophyll a and b. The plants that have been irrigated for seven days, treatment with 2mM spermidine (relative to concentrations of 0 and 1 mM) increased proline content, soluble sugars, activity of peroxidase and ascorbate peroxidase at the highest level (class a). The membrane stability in these plants the concentration of 0 mM spermidine was highest (77.75%). Spermidine had no significant effect on chlorophyll a and b. Generally treatments with 2 mM spermidin in plants that were irrigated for seven days Increased proline content (1.11 mM/g.FW), soluble sugars (0.96 mg/gFW), peroxidase activity (0.91 $OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$) and ascorbate peroxidase activity (0.98 $OD.g^{-1}.FW.min^{-1}$) at the highest level (class a).

Key words*:* Cucurbit, Espermidine, Irrigation period, Peroxidase, Ascorbat peroxidase

www.iapb.ktu.ac.ir

1- Young Researchers and Elite Club, Shiraz Branch, Islamic Azad University, shiraz, Iran
2- Assistant Prof. of Horticulture Department, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran
* Corresponding Author: Mojgan.ghanbari@ymail.com

Iranian Journal of Agronomy & Plant Breeding Islamic Azad University, Karaj Branch