



اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی خیار (*Cucumis sativus* L.) در دوره‌های مختلف آبیاری

محسن فرزانه^۱، مژگان قنبری^۲، وحید عبدوسی^۳

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۵/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۰۸

چکیده

به منظور ارزیابی اثر اسپرمیدین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، محتوای نسبی آب، قند محلول و نشت یون در گیاه خیار (*Cucumis sativus* L.) تحت تنش خشکی، پژوهشی در دانشگاه آزاد اسلامی شیراز به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول، شامل دوره‌های مختلف آبیاری در ۳ سطح: آبیاری یک روز در میان، آبیاری سه روز در میان و آبیاری به فاصله پنج روز در میان بود. فاکتور دوم شامل محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین در سه سطح: صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر متقابل اسپرمیدین و دور آبیاری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال ۵ درصد، بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و محتوای نسبی آب در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج نشان داد که در گیاهانی که آبیاری پنج روز در میان داشتند و با غلظت دو میلی‌مولار اسپرمیدین تیمار شده بودند، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (از نظر عددی برابر با $0.71 \text{ OD} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$) و بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (برابر با $0.72 \text{ OD} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW} \cdot \text{min}^{-1}$) همچنین بالاترین محتوای نسبی آب (78%) مشاهده شد. اثر متقابل دور آبیاری و محلول‌پاشی با اسپرمیدین بر صفت‌های قند محلول و نشت یونی غشاء برگ اثر معنی‌دار نداشت. به طور کلی در این آزمایش تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و محتوای نسبی آب شد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، محتوای نسبی آب، قند محلول، نشت یون

فرزانه، م.، م. قنبری و. و. عبدوسی. ۱۳۹۶. اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی خیار (*Cucumis sativus* L.) در دوره‌های مختلف آبیاری. مجله اکوفیزبولوژی گیاهی. ۲۸: ۹۱-۱۰۰.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گروه علوم باغبانی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران. مسئول مکاتبات،

پست الکترونیک: Mohsen.farzaneh@ymail.com

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گروه علوم باغبانی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

مقدمه

کشور ایران با متوسط نزولات آسمانی ۲۵۰ میلی‌متر به عنوان منطقه خشک و نیمه‌خشک طبقه‌بندی می‌گردد، لذا وقوع تنش خشکی در دوره رشد محصولات کشاورزی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد (تدین، ۲۰۰۹). میزان خسارت خشکی به گیاهان به عواملی نظیر شدت و مدت زمان تنش، گونه‌ی گیاهی و مرحله‌ی رشد گیاه بستگی دارد (جلیل و همکاران، ۲۰۰۹).

در اثر شرایط نامساعد محیطی تشکیل انواع اکسیژن فعال^۱ افزایش می‌یابد. گیاهان جهت مقابله با تنش اکسنده ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن دارای مکانیسم‌های ضداکسنده آنزیمی (شامل سوپراکسید دیسموتاز^۲، کاتالاز^۳، آسکوربات پراکسیداز^۴، گلوتاتیون ردوکتاز^۵ و پراکسیداز^۶ (هسو و همکاران، ۲۰۰۳)) و غیر آنزیمی (شامل گلوتاتیون^۷ و اسید آسکوربیک^۸ (هسو و همکاران، ۲۰۰۳)) می‌باشند (شارما و دویی، ۲۰۰۵). این آنزیم‌ها شاخص‌های ارزیابی مقاومت به تنش در گیاهان محسوب می‌شوند (اگرت و توینی، ۲۰۰۲). مطالعات وسیعی روی سیستم‌های دفاع ضد اکسنده در زمان پیری و شرایط نامساعد محیطی صورت گرفته است، اما نتایج به دست آمده متفاوت است. هودگس و فورنی (۲۰۰۰) و اوه و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند در زمان پیری فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده شامل سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در برگ‌های اسفناج و تنباکو کاهش پیدا می‌کند، در صورتی که به همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز، در گیاه آرابیدوپسیس تالیانا با افزایش شدت تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند. این نتایج در مورد گیاه برنج در زمانی که تحت تنش ملایم خشکی قرار داشت مشاهده گردید (شارما و همکارانش، ۲۰۰۵). همچنین یانگ و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند در گیاه *Radix astragali* با افزایش شدت تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد این اختلاف ناشی از نوع گونه گیاهی، مرحله رشد و نمو بافت گیاهی و شرایط محیطی می‌باشد (یانگ و همکاران، ۲۰۰۶).

گیاهان جهت مقابله با تنش‌های محیطی، به مکانیسم‌هایی نیاز دارند که تنش‌ها را شناسایی کرده و به آن‌ها پاسخ دهند

(صادق اف و همکاران، ۲۰۰۲) که از جمله این مکانیسم‌ها، تنظیم اسمزی است. تنظیم اسمزی یک نوع سازگاری به تنش کمبود آب است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلول‌ها و تولید بیشتر انواع مختلف مواد آلی مانند پرولین، پروتئین، بتائین و قندهای محلول می‌تواند منجر به حفظ تورژانس سلول‌ها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیل‌های پایین آب شود (وینوکار و آلتمن، ۲۰۰۵؛ احمد و شارما، ۲۰۱۰؛ جوهری-پیروتلو، ۲۰۱۰؛ محمدخانی و حیدری ۲۰۰۸). قندهای محلول به عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی، ثبات دهنده غشاهای سلولی و حفظ‌کننده تورژانس سلول‌ها، عمل می‌کنند (محمدخانی و حیدری ۲۰۰۸).

با توجه به نقش پروتئین و کلروفیل در حفظ فتوسنتز و مقاومت به خشکی، می‌توان از محتوای نسبی آب برگ به عنوان یک شاخص در جهت مقاومت به خشکی استفاده کرد. سایر ام و همکاران (۲۰۰۲) بیان داشتند که محتوای نسبی آب برگ ممکن است تعادل بین آب تأمین شده برای برگ و سرعت تعرق را بهتر از سایر اجزاء روابط آبی منعکس کند. لذا آن را شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت آبی برگ دانسته‌اند. میزان هدایت الکتریکی در محیط آبی خسارت تنش خشکی یا تنش گرمایی را به غشاء سلولی نشان می‌دهد و میزان پایداری غشاء سلولی به خوبی با تحمل سایر فرآیندهای گیاهی به تنش از جمله فتوسنتز مرتبط است و به عنوان شاخصی از تحمل به تنش ارائه شده است (سایرام و همکاران، ۲۰۰۲). گزارش شده که اندازه‌گیری شاخص نشت الکترولیتی (ELI) می‌تواند حتی در مراحل ابتدایی تنش الگوی مناسبی از میزان تحمل به تنش را نشان دهد (کندان و تارهانو ۲۰۰۳).

پلی‌آمین‌ها به عنوان مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرآیندهای رشد و نمو، شامل: تقسیم سلولی، رویان-زایی، ریخت‌زایی، گلدهی، رسیدن میوه‌ها، تکوین ریشه، تأخیر پیری، پایداری غشاها، جمع‌آوری رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند (کاپور- ساوهنی و همکاران، ۲۰۰۳). پلی‌آمین‌های معمول عبارت‌اند از پوترسین^۹ (دی آمین)، اسپرمیدین^{۱۰} (تری آمین) و اسپرمین^{۱۱} (تترا آمین). همه سلول‌ها دارای دی‌آمین‌هایی چون پوترسین و تری‌آمین‌هایی چون اسپرمیدین هستند. سلول‌های یوکاریوت دارای اسپرمین نیز می‌باشند (لیو و همکاران، ۲۰۰۴). سه ترکیب پلی‌آمین نقش مهمی را در پاسخ به تنش در گیاهان بازی می‌کنند که به گونه گیاهی و

- 1- Reactive Oxygen Species (ROS)
- 2- Superoxide dismutase (SOD)
- 3- Catalase
- 4- Ascorbate peroxidase
- 5- Glutathione reductase
- 6- Peroxidase
- 7- Glutathione
- 8- Acid ascorbic

- 9- Putrescine
- 10- Spermidine
- 11- Spermine

اندازه‌گیری درصد نشت یون می‌تواند شاخص خوبی در تعیین میزان پایداری غشاء باشد. درصد نشت یون با استفاده از دستگاه هدایت الکتریکی به روش لوتس و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. بدین منظور برگ‌های تازه به طور دقیق با آب مقطر شسته شد و سپس با آب دوبار تقطیر آبکشی گردید. از هر برگ، ۲ دیسک به قطر یک سانتی‌متر تهیه گردید و درون ارلن-های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر منتقل شد و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) روی شیکر قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی آب داخل ارلن اندازه‌گیری شد. (EC1) ظرف‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). در نهایت درصد نشت یون با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times [E_{c1} / E_{c2}] = \text{نشت یونی غشاء برگ } (\%)$$

جهت اندازه‌گیری محتوای آب نسبی (RWC) نمونه برداری انجام گرفت و به آزمایشگاه منتقل، سپس وزن تر برگ‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن برگ‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند و پس از این مدت، وزن آماسیده نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در نهایت جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی-گراد در آون قرار داده و RWC بر طبق فرمول زیر محاسبه شد (ریچ و همکاران، ۱۹۹۰):

$$100 \times \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن آماسیده} / \text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{RWC}} =$$

پس از انجام تجزیه واریانس، مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ساده دور آبیاری و اثر ساده تیمار با اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز، در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد تأثیر معنی‌دار داشت (جدول ۱). مطابق با نتایج ارائه شده در شکل یک، در مورد گیاهانی که آبیاری آن‌ها یک روز در میان بود، گیاهانی که تحت تیمار با غلظت‌های صفر و یک میلی-مولار قرار داشتند با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و هر دو غلظت در کلاس e قرار داشتند. در مورد گیاهانی که آبیاری آن‌ها سه روز در میان بود، غلظت یک میلی‌مولار (کلاس d) نسبت به غلظت‌های صفر (کلاس cd) و دو میلی‌مولار (کلاس c) از نظر فعالیت این آنزیم کمترین مقدار را دارا بود. گیاهانی که پنج روز در میان آبیاری شده بودند، با افزایش غلظت اسپرمیدین میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت. به نحوی که غلظت صفر نسبت

نوع تنش بستگی دارد. از میان این سه پلی‌آمین پوتریسین و اسپرمیدین بیشترین تأثیر را در تحمل به تنش‌های محیطی در گیاهان دارد (آکوستا و همکاران، ۲۰۰۵؛ لیو و همکاران، ۲۰۰۴). به نظر می‌رسد اهمیت پلی‌آمین‌ها در رویارویی با تنش‌ها می‌تواند به دلیل نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی، پایداری غشاء و جارو کنندگی رادیکال‌های اکسیژن فعال از محیط سلول‌ها باشد (سینگ و همکاران، ۲۰۰۲؛ لیو و همکاران ۲۰۰۷). در این پژوهش، جهت بررسی نقش حفاظتی پلی‌آمین اسپرمیدین در گیاه خیار، اثر محلول‌پاشی با این تنظیم‌کننده رشد و دوره‌های مختلف آبیاری (یک روز در میان، سه روز در میان و پنج روز در میان) با بررسی صفت‌های فعالیت آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، قندهای محلول، محتوای نسبی آب و درصد نشت یون، انجام شد.

مواد و روش‌ها

اجرای این طرح بر روی بوته‌های خیار به منظور بررسی تأثیر اسپرمیدین بر گیاه خیار در شرایط تنش خشکی، در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، استان فارس به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. از آنجایی که خاک مورد استفاده برای رشد گیاه خیار باید بافتی سبک داشته باشد، محیط کشت گیاهان در این آزمایش شامل یک سوم خاک، یک سوم کود حیوانی و یک سوم شن عاری از آهک و گچ بود (پیوست، ۱۳۸۸). تیمارهای آزمایش شامل دوره‌های مختلف آبیاری و تیمار با اسپرمیدین بود. فاکتور اول، شامل دوره‌های مختلف آبیاری در ۳ سطح: آبیاری به فاصله یک روز در میان، آبیاری به فاصله سه روز در میان و آبیاری به فاصله پنج روز در میان بود؛ که بعد از گسترده شدن دومین برگ حقیقی دوره‌های مختلف آبیاری اعمال شد. فاکتور دوم غلظت‌های مختلف اسپرمیدین در سه سطح: صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار بود که پس از آشکار شدن چهارمین برگ حقیقی، محلول‌پاشی توسط اسپرمیدین انجام شد.

پس از آماده سازی بافر استخراج جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش قناتی و همکاران (۲۰۰۲) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. سنجش قندهای محلول نیز با استفاده از روش فنل-اسیدسولفوریک انجام تعیین شد (کوچرت، ۱۹۷۸). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقدار قندهای محلول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

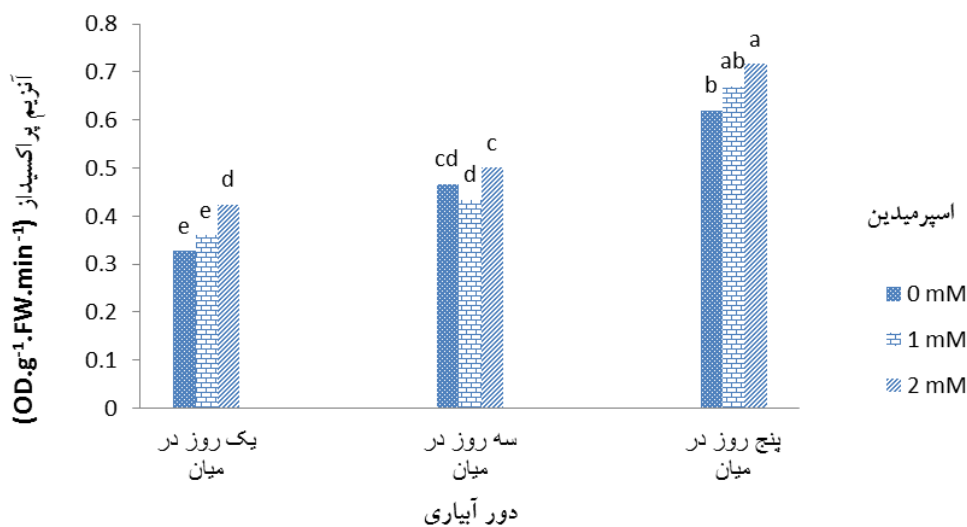
در پیاز کوهی (*Allium schomo prasmum*) نه روز پس از قطع آبیاری فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. در پژوهش حاضر نیز اعمال تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد. برخی دانشمندان معتقدند که پراکسیداز در فرآیندهای متابولیکی مانند کاتابولیسم هورمون، دفاع در برابر عوامل بیماری‌زا، اکسیداسیون فنول، ایجاد پیوند با پروتئین‌های ساختاری سلول و پلی‌ساکاریدهای سلولی نقش دارد (شارما و دویی، ۲۰۰۵).

تیمار این گیاهان با اسپرمیدین سبب افزایش معنی‌دار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد. نقش پلی‌آمین‌ها در کاهش صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش‌های متعدد گزارش شده است. به طور مثال یو و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که پوتریسین برون-زاد، تخریب اکسیداتیو القا شده در گیاه پیازچه (*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 خردل قهوه‌ای (*Brassica juncea*) تنش شوری باعث کاهش رشد و میزان بیوماس و افزایش سطح O_2^- و H_2O_2 گردیده است و پلی‌آمین‌ها این اثرات مخرب را خنثی نموده و با کاهش رادیکال‌های آزاد باعث تحمل این گیاه در برابر شوری گردیده است. همچنین پلی‌آمین‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در بافت برگ‌های این گیاه تحت تنش شوری افزایش داده‌اند (ورما و میشر، ۲۰۰۵). این نتایج پیشنهاد می‌کنند که پلی‌آمین‌ها 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 شوری گردند (ورما و میشر، ۲۰۰۵؛ بلوخینا و همکاران ۲۰۰۳). در این تحقیق نیز تیمار با اسپرمیدین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد.

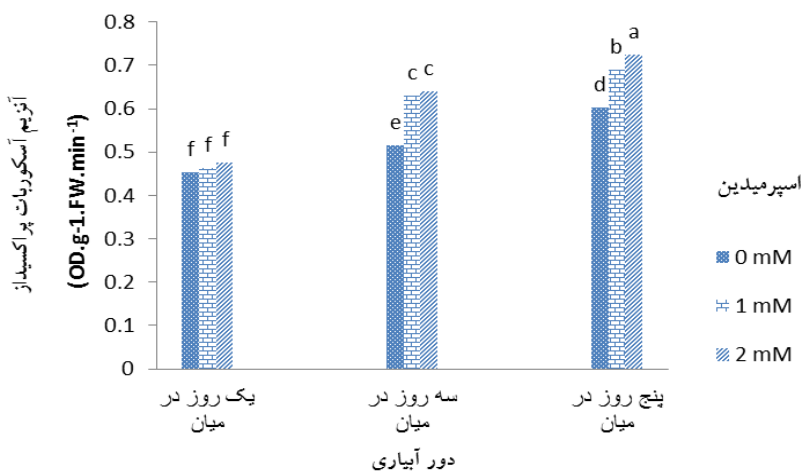
به غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را دارا بود (کلاس b) (شکل یک).

اثر ساده دور آبیاری و اسپرمیدین و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مطابق با نتایج ارائه شده در شکل ۲، در گیاهانی که آبیاری آن‌ها به صورت یک روز در میان بود، تیمار با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین سبب ایجاد تغییر معنی‌دار نشد و هر سه غلظت در کلاس f قرار داشتند. در گیاهانی که دور آبیاری سه روز در میان داشتند، غلظت صفر میلی‌مولار اسپرمیدین، نسبت به غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار، کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نشان داد (کلاس e). همچنین در این گیاهان غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند (کلاس c). گیاهانی که آبیاری پنج روز در میان داشتند، با افزایش غلظت اسپرمیدین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، افزایش یافت. غلظت‌های صفر، یک و دو میلی‌مولار به ترتیب در کلاس‌های d، b و a قرار داشتند (شکل ۲).

گیاهان جهت مقابله با تنش خشکی مکانیزم‌های آنزیمی مانند پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز را به وجود آورده‌اند. این آنزیم‌ها شاخص‌های ارزیابی مقاومت به خشکی در گیاهان محسوب می‌شوند (اگرت و تویی، ۲۰۰۲). در این پژوهش نیز نتایج نشان داد، فعالیت دو آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه خیار تحت تأثیر تنش خشکی افزایش یافت. شارما و همکارانش (۲۰۰۵) گزارش کردند با اعمال تنش ملایم خشکی بر گیاه برنج فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت. همچنین پژوهشگران دیگر نیز گزارش مشابهی منتشر کرده‌اند که اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیداتیو مانند پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گیاه گندم منجر به افزایش آنزیم‌های مذکور شده است (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۶). اگرت و همکارانش (۲۰۰۲) مشاهده کردند که



شکل ۱- اثر متقابل دور آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز



شکل ۲- اثر متقابل دور آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

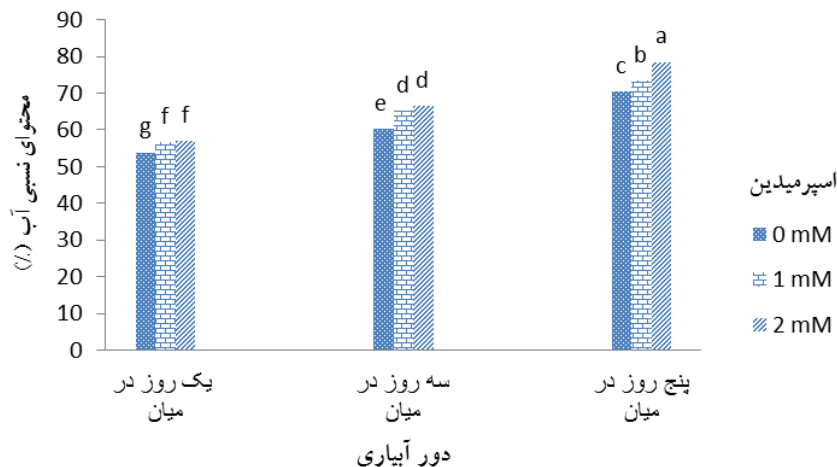
محتوای نسبی آب بالاتری برخوردار بودند (کلاس f). در گیاهانی که سه روز در میان آبیاری شده بودند، گروهی که تحت تیمار با اسپرمیدین قرار نگرفته بودند (غلظت صفر)، نسبت به غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار از محتوای نسبی آب بالاتری برخوردار بودند (کلاس e) و همچنین غلظت یک و دو میلی-مولار با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (کلاس d). در گیاهانی که آبیاری آن‌ها پنج روز در میان بود، با افزایش غلظت اسپرمیدین محتوای نسبی آب افزایش یافت. در مجموع بیشترین میزان محتوای نسبی آب در گیاهانی مشاهده شد که آبیاری پنج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ساده دور آبیاری، اثر ساده تیمار با اسپرمیدین و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر محتوای نسبی آب معنی‌دار شد (جدول ۱). مطابق با نتایج ارائه شده در شکل سه، در گیاهانی که آبیاری آن‌ها یک روز در میان بود، کم‌ترین محتوای نسبی آب در گروهی مشاهده شد که با اسپرمیدین تیمار نشده بودند (غلظت صفر)، همانگونه که در شکل سه مشاهده می‌شود این گروه در کلاس g قرار دارند. غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار از نظر صفت محتوای نسبی آب با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و نسبت به غلظت صفر، از

مولنار و همکاران (۲۰۰۵) بیان نمودند که در شرایط تنش خشکی، پتانسیل آب برگ و محتوای نسبی آب برگ در برخی گونه‌های جنس *Aegilops* کاهش پیدا می‌کند و فرآیندهایی نظیر توسعه برگ نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد. صدیق و همکاران (۲۰۰۰)، نیز طی پژوهشی که بر روی گندم انجام دادند به همین نتایج دست یافتند و بیان نمودند، کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش خشکی موجب تأثیرات منفی در فتوسنتز می‌شود.

روز در میان داشتند و تحت تیمار با اسپرمیدین دو میلی‌مولار قرار داشتند (کلاس a).

کاهش محتوای نسبی آب برگ در اثر تنش خشکی از یک طرف به دلیل کاهش جذب آب توسط ریشه‌ها و از طرف دیگر افزایش تعرق آب از طریق برگ‌ها می‌باشد که در نهایت منجر به بسته شدن روزنه‌های برگ می‌گردد. گزارش شده است که خشکی سبب کاهش محتوای نسبی آب در گیاهان چندساله می‌شود (آبرا و مان-بوش، ۲۰۰۸).



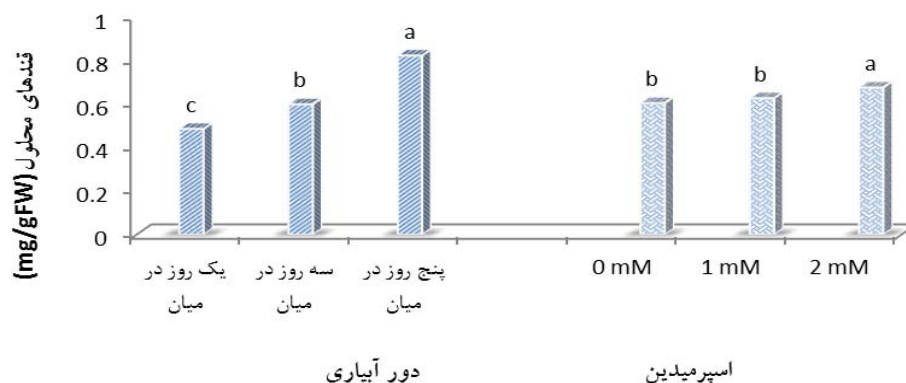
شکل ۳- اثر متقابل دور آبیاری و اسپرمیدین بر محتوای

تیمار با غلظت دو میلی‌مولار اسپرمیدین، نسبت به غلظت‌های صفر و یک میلی‌مولار، باعث تجمع بالاترین حد قندهای محلول شد (کلاس a). غلظت‌های صفر و یک میلی‌مولار اسپرمیدین از نظر تجمع قندهای محلول نسبت به غلظت دو میلی‌مولار در رتبه دوم قرار داشتند (شکل ۴).

تحقیقاتی در زمینه نقش قندهای محلول و افزایش آن‌ها تحت شرایط تنش‌های گوناگون صورت پذیرفته است که همگی بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی سلول دلالت دارد (قربانلی و همکاران، ۲۰۰۱؛ وا و گاراگ، ۲۰۰۳). افزایش قندهای محلول در طی تنش خشکی را می‌توان با این دلایل توجیه کرد: تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول که منجر به افزایش قندهای محلول می‌شود، سنتز این مواد از مسیرهای غیر فتوسنتزی و متوقف شدن رشد (قربانلی و همکاران، ۲۰۰۱). در مطالعه هونگبو و همکاران (۲۰۰۶)، افزایش میزان قندهای محلول به عنوان شاخص فیزیولوژیک مهم در تنظیم اسمزی و مقاومت به خشکی در گندم گزارش شده است.

مطابق با نتایج ارائه شده در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر متقابل دور آبیاری و تیمار با اسپرمیدین بر صفات قندهای محلول و نشت یونی غشا برگ معنی‌دار نشد، لذا در مورد این دو صفت اثر ساده دور آبیاری و تیمار با اسپرمیدین مورد بررسی قرار گرفت.

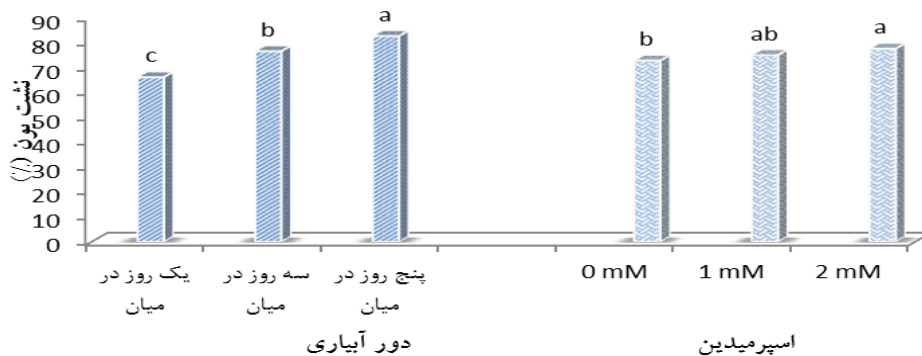
اثر ساده دور آبیاری و اسپرمیدین بر قندهای محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل آن‌ها، تأثیر معنی‌داری بر قندهای محلول نداشت (جدول ۱). بررسی دور آبیاری نشان داد با افزایش زمان آبیاری میزان تجمع قندهای محلول افزایش یافت، به نحوی که آبیاری یک روز در میان در کلاس c، آبیاری سه روز در میان در کلاس b و آبیاری پنج روز در میان در کلاس a قرار داشتند. بیشترین میزان تجمع قندهای محلول زمانی مشاهده شد که آبیاری گیاهان به صورت پنج روز در میان بود. همچنین بررسی نتایج حاصل از تیمار با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین نشان داد، غلظت‌های صفر و یک میلی‌مولار اسپرمیدین با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند (کلاس b)، اما



شکل ۴- اثر ساده دور آبیاری و اسپرمیدین بر قندهای محلول

اکسیژن آزاد افزایش می‌یابد در نتیجه تحت شرایط تنش خشکی، به سرعت چربی‌های غشاء پراکسید گردیده و پایداری غشاء باخته از بین می‌رود (پوپووا و همکاران، ۲۰۰۹). در شرایط تنش خشکی محتویات بیشتری از سلول در اثر تخریب غشاء به بیرون تراوش می‌کند. تغییراتی که در ساختار غشای سلول در اثر تغییر چربی‌ها و تغییرات دیگر ایجاد می‌شود، سبب افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به یون‌ها و ماکرو مولکول‌ها می‌گردد. کمبود آب از یک طرف با تأثیر بر ساختار غشای سلول سبب افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به یون‌ها و ماکرو مولکول‌ها می‌گردد و از طرف دیگر با کاهش محتوی رطوبت نسبی و پتانسیل آب برگ، زمینه کاهش فتوسنتز در واحد سطح برگ را فراهم آورد. افزایش در نشت یونی در گیاه نخود تحت تنش کادمیوم نیز گزارش شده است (پوپووا و همکاران، ۲۰۰۹).

بررسی نتایج تجزیه واریانس در مورد صفت نشت یون نشان داد که اثر ساده دور آبیاری در سطح احتمال یک درصد و تیمار اسپرمیدین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد اما اثر متقابل آن‌ها بر درصد نشت یون تأثیر معنی‌دار نداشت (جدول ۱). همان‌گونه که نتایج ارائه شده در شکل پنج نشان می‌دهد، میزان نشت یون در گیاهان با افزایش فاصله دور آبیاری، افزایش یافت؛ یعنی با افزایش دور آبیاری از یک روز در میان به سه روز در میان و سپس به پنج روز در میان، درصد نشت یون افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان در گیاهانی دیده شد که آبیاری آن‌ها پنج روز در میان بود (کلاس a). تیمار با اسپرمیدین یک و دو میلی‌مولار نیز باعث بالا نگه داشتن نشت یون شد. تنش خشکی با شروع یک تنش اکسیداتیو همراه می‌باشد، بنابراین در طی آن تولید و ذخیره گروه‌های سمی و مخرب



شکل ۵- اثر ساده دور آبیاری و اسپرمیدین بر درصد نشت یون

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات آزمایشی

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	قندهای محلول	محتوای نسبی آب	نشت یونی غشاء
دور آبیاری (A)	2	0.20935**	0.10006**	0.26410**	768.444**	630.777**
اسپرمیدین (B)	2	0.01418**	0.0218**	0.01191**	76.444**	51.444*
(A×B)	4	0.00169*	0.00324**	0.00137 ^{ns}	7.055**	24.88 ^{ns}
خطا	18	0.000518	0.00021	0.00126	2.148	9.481
ضریب تغییرات	-	4.53	2.52	5.6	2.262	4.09

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

نتیجه گیری

میان داشتند، تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی مولار سبب شد که بتوانند محتوای نسبی آب خود را در بالاترین میزان نگه دارند؛ اما همانگونه که نتایج نشان داد، در این تحقیق اثر متقابل دور آبیاری و تیمار با اسپرمیدین بر صفات قندهای محلول و نشت یون اثر معنی دار نداشت. به طور کلی در این آزمایش تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی مولار نسبت به غلظت‌های صفر و یک میلی مولار مناسب‌تر بود.

افزایش فاصله دور آبیاری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شد و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهانی دیده شد که آبیاری پنج روز در میان و با غلظت ۲ میلی مولار اسپرمیدین، تیمار شده بودند، مشاهده شد. استفاده از پلی آمین‌ها سبب کاهش صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش‌های مختلف، می‌گردد. در گیاهانی که آبیاری پنج روز در

منابع

پیوست، غ.ع. ۱۳۸۸. سبزیکاری. چاپ پنجم. تهران: انتشارات دانش پذیر. ۵۷۷ صفحه.

- Abreu, M. E. and S. Munne-Bosch. 2008. Salicylic acid may be involved in the regulation of drought-induced leaf senescence in perennials: A case study in fieldgrown *Salvia officinalis* L. plants. *Environ. Exp. Bot.* 1862: 1-8.
- Acosta, C., M. A. Perez-Amador, J. Carbonell and A. Granell. 2005. The two ways to produce putrescine in tomato are cell-specific during normal development. *Plant Sci.* 168: 1053- 1057.
- Ahmad, P. and S. Sharma. 2010. Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO_3 stress. *Int. J. Plant Produc.* 4: 79-86.
- Blokhina, O., E. Virolainen, and K. V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann. Bot.* 91: 179-194.
- Candan, N. and L. Tarhan. 2003. The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in *Mentha pulegium* organs grown in Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Sci.* 163: 769-779.
- Egret M. and M. Tevini. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environ. Exp. Bot.* 48: 43- 49.
- Ghanati, F., A. Morita and H. Yokota. 2002. Induction of suberin and increase of lignin content by excess boron in tobacco cell. *Soil Sci. Plant Nutr.* 48: 357-364.
- Ghorbanly, M., M. Nojavan, and T. Farbodnia. 2001. Changes in soluble sugars, starch, protein and water stress in two varieties of Iranian chickpea (*Cicer arietinum* L). *Tarbiat Moallem. J. Sci.* 1: 53-38. [In Persian with English summary].
- Hodges, D. M. and C. F. Forney. 2000. The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *J. Exp. Bot.* 344: 645-655.
- HongBo, S., L. Zong Suo and S. MingAn. 2006. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloid. Surf. B: Biointerfaces.* 47: 132-139.
- Hsu, S. Y. and C. H. Kao. 2003. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol and antioxidant enzymes in rice leaves. *Plant Growth Regul.* 39: 83-90.
- Jaleel, C. A., P. Manivannan, A. Wahid, M. Farooq, R. Somasundaram and R. Panneerselvam. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol. Engineering.* 11: 100-105.

- Johari-Pireivatlou, M. 2010. Effect of soil water stress on yeild and proline content of four wheat lines. *Afr. J. Biotechnol.* 9: 36- 40.
- Kaur-Sawhney, R., A. F. Tiburcio and A. W. Galston. 2003. Polyamines in plants: An overview. *J. Cell. Mol. Biol.* 2:1-12.
- Kochert, G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method, In Helebust, J. A., Craig, J. S (ed) *Handbook physiological methods*, Cambridge university.Press, Cambridge. 96-97.
- Liu, H.P., B. H. Dongc, Y. Y. Zhang, Z. P. Liu and Y. L. Liu. 2004. Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedling. *Plant Sci.* 166: 1261-1267.
- 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 Biotechnol.* 24:117-126.
- Lutts S., J. M. Kinet, and J. Bouharmont. 1996. NaCl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.* 78:389-398.
- Molnar, I. S., A. Dulai, J. Csernak, Pronay and M. M. Lang. 2005. Photosynthetic responses to drought stress in different Aegilops species. *Acta Biol.* 49: 141- 142.
- Mohammadkhani, N. and R. Heidari. 2008. Drought- induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World App. Sci. J.* 3: 448-453.
- Nakano, Y. and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiol.* 28: 131-140.
- Ohe, M., M. Rapolu, T. Mieda, Y. Miyagawa, Y. Yabuta, K. Yoshimura and S. Shigeoka, 2005. Decline in leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Sci.* 168: 1487-1493.
- Popova, L. P., L. T. Maslenkova, R. Y. Yordanova, A. P. Ivanova, A. P. Krantev, G. Szalai and T. Janda. 2009. Exogenous treatment with salicylic acid attenuates cadmium toxicity in pea seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* 47: 224-231.
- Ritchie S. W., H. T. Nguyen and A. s. Holaday. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *J. Crop Sci.* 30: 105-111.
- Sairam, R. K., K. V. Rao and G. C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to longterm salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Sci.* 163: 1037–1046.
- Sadiqov, S.T., M. Akbulut and V. Ehmedov. 2002. Role of Ca²⁺ in drought stress signaling in wheat seedling. *Biochem.* 67: 491-497.
- 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: 209-221.
- Siddique, M. R. B., A. Hamid and M. S. Islam. 2000. Drought stress effects on water relation of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica.* 41: 35-39.
- Singh, D. B., S. Verma and S. N. Mishra. 2002. Putrescine effect on nitrate reducttase activity, organic nitrogen/protein and growth in heavy metal and salinity stressed mustard seedlings. *Plant Biol.* 45:605-608.
- Tadayon, M. R. 2009. *Physiological Responses of Plants to Environmental Stresses*. Shahrekord University Press, 214 p.
- Verma, S. and S. N. Mishra. 2005. Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica Juncea by inducing antioxidative defense system. *J. Plant Physiol.* 162: 669-77.
- Vinocur, B. and A. Altman. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16: 123-132.
- Wu, R. and A. Garg. 2003. Engineernig rice plants with trehalose producing genes improves tolerance to drought, salt and low temperature. *ISB News*, February.
- Ye, Z., R. Rodriguez, A. and Tran, 2000. The development transition of flowering represses ascorbate peroxidase activity and induces enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in Arabidopsis thaliana. *Plant sci.* 158: 115-127.
- Yong, T., L. Zongsuo, S. Hongbo and D. Feng. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix astragali at seedling stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 49: 60-65.
- 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. *Sci. Hortic.* 120: 306-14.
- Zhang, G., K. Tanakamaru, J. Abe and S. Morita. 2006. Influence of water logging on some anti-oxidative enzymatic activites of two barley genotypes differing in anoxia tolerance. *Acta Physiol. Plant.* 29: 171- 176.

Effect of Spermidine foliar application on biochemical properties of cucumber (*Cucumis sativus* L.) under drought stress

M. Farzaneh¹, M. Ghanbari¹, V. Abdoosi²

Received: 2015-08-22 Accepted: 2016-05-28

Abstract

Spermidine effect on biochemical properties consisted of activity of peroxidase, ascorbate peroxidase, relative water content, soluble sugar, and electrolyte leakages in cucumber (*Cucumis sativus* L.) was investigated. An experiment was conducted based on CRD with three replications in Islamic Azad University, Shiraz Branch. The first factor was included different irrigation courses at three levels; irrigation every other day, irrigation three days in between and irrigation five days in between. Second factor was included foliar application with three different concentration of spermidine (0, 1 and 2 mM). The results of variance analysis for interaction effect of different courses of irrigation and various concentration of spermidine on peroxidase enzyme activity, ascorbate peroxidase activity and relative water content was significant. The results also showed that plants that received irrigation five days in between with 2mM Spermidine had the highest activity of peroxidase and ascorbate peroxidase enzyme. The interaction of different levels of irrigation and Spermidine foliar application on sugar solution and electrolyte leakages was not significant. In conclusion the effect of 2mM Spermine on peroxidase enzyme activity, ascorbate peroxidase activity and relative water content was significant.

Key words: Peroxidase, ascorbate peroxidase, relative water content, soluble sugar, electrolyte leakages

1- Former Graduated Student, Department of Horticulture, Young Research and Elite Club, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2- Assistance Prof. Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran