Journal of Plant Environmental Physiology
ISSN: 7671-2423 (Print), 2783-4689 (Online) http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir

Doi: 10.30495/iper.2022.690251
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.66.6.1

Islamic Azad University
Gorgan Branch

Effect of foliar application of spermidine on some morphophysiological traits and secondary metabolites of marigold (*Calendula officinalis* L.) under drought stress

Sophia Soroori[1], Elham Danaee[2*], Khodayar Hemmati[3], Alireza Ladan Moghadam[4]

[1]Faculty of agriculture, Aliabad katoul Branch, Islamic Azad University, Aliabad katoul, Iran, Email: s-sorori@aliadadiau.ac.ir
[2]Faculty of agriculture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, Email: e.danaee@iau-garmsar.ac.ir
[3]Faculty of plant proudaction, Associate professor, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email: [4]Kh_hemmati@gau.ac.ir
Faculty of agriculture, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran, Email: ladanmoghadam.alireza@gmail.com

Serial 66, 17th year, Number 2, Summer 2022 (108-125)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 2021/05/19
Revised:2022/08/16
Accepted: 2021/08/19

Keywords
Antioxidant
Field capacity
Quercetin
Rutin
Spermidine

Abstract

Drought stress is the most common abiotic stress that has the most negative effect on plant growth and production Polyamines are plant growth regulators that increase plant resistance to environmental stresses, including drought stress. The aim of this study was to investigate the effect of foliar application of spermidine on reducing the effects of drought stress on marigold (*Calendula officinalis* L.). For this purpose, foliar application of spermidine (0, 50, and 100 mg/l) was considered at different levels of drought stress (control, 25, 50, and 75% of field capacity) in a factorial experiment based on a completely randomized design with 3 replications in 2018 in a greenhouse located in northern Iran. The foliar application was applied at three stages with intervals of about 20 days including six visible leaves, complete tillering, and emergence of the first bud. Results showed that drought stress and foliar application of spermidine had a significant effect on the evaluated traits. The highest fresh and dry weight of shoots, number of flowers, and total chlorophyll contents were observed in the treatment with 75% of field capacity and spermidine 50 mg/l and the highest fresh and dry weight of roots and flowers on the plant were recorded in the treatment with 100% of field capacity and spermidine 100 mg/l. Also, the highest root length, plant height, total antioxidant activity (DPPH), rutin and quercetin were observed in the treatment with 75% of field capacity and spermidine 100 mg/l and the highest proline and polyphenol oxidase activity was observed in the treatment with 25% of field capacity. Therefore, according to the results of this study, foliar application of spermidine 100 mg/l with an irrigation level of 75% of field capacity is recommended for marigold.

Please cite this article as Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, Kh., Ladan Moghadam, A. 2022. The effect of salicylic acid on the yield of Effect of spermidine foliar application on some morphophysiological traits and secondary metabolites of marigold (*Calendula officinalis* L.) under drought stress. 65(2): 108-125.

© 2022. All Rights Reserved

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا: (چاپی) ۲۴۲۳-۷۶۷۱ (آنلاین) ۴۶۸۹-۲۷۸۳، http://ecophysiologi.gorganiau.ac.ir
Doi: 10.30495/iper.2022.690251
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.66.6.1

اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت تنش خشکی

سوفیا سروری[۱]، الهام دانائی[۲]*، خدایار همتی[۳]، علیرضا لادن مقدم[۴]

[۱]دانشکده کشاورزی، واحد علی‌آباد کتول، دانشگاه آزاد اسلامی، علی‌آباد کتول، ایران، رایانامه: s-sorori@aliadadiau.ac.ir
[۲]دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، رایانامه: e.danaee@iau-garmsar.ac.ir
[۳]دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان، ایران، رایانامه: Kh_hemmati@gau.ac.ir
[۴]دانشکده کشاورزی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران، رایانامه: ladanmoghadam.alireza@gmail.com

سال هفدهم، شماره ۶۶، تابستان ۱۴۰۱ / صفحات: ۱۲۵-۱۰۸

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۲۸

واژه‌های کلیدی:
اسپرمیدین
آنتی‌اکسیدان
روتین
ظرفیت زراعی
کوئرستین

چکیده

تنش خشکی رایج ترین تنش غیرزیستی است که بیشترین اثر منفی را بر رشد و تولید گیاهان دارد و پلی‌آمین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که مقاومت گیاهان را به تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی افزایش می‌دهند. هدف از این پژوهش بررسی اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین بر کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) است. بدین منظور، اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سطوح مختلف تنش خشکی (بدون تنش(شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) بصورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در گلخانه‌ای واقع در شمال ایران بررسی شد. محلول‌پاشی در سه مرحله با فواصل حدود ۲۰ روز شامل شش برگ قابل روئیت، پنجه‌دهی کامل و ظهور اولین غنچه اعمال گردید. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، تنش خشکی و محلول‌پاشی اسپرمیدین تاثیر معنی‌داری بر صفات مورد ارزیابی داشت. به طوریکه بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد گل و محتوای کلروفیل کل در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین وزن تر و خشک ریشه و ماندگاری گل روی بوته در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین بیشترین طول ریشه، ارتفاع گیاه، میزان آنتی‌اکسیدان کل (DPPH)، میزان روتین و کوئرستین در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین پرولین و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. لذا با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان محلول‌پاشی اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی را در گیاه همیشه بهار توصیه نمود.

استناد: سروری، س.، دانائی، ا.، همتی، خ.، لادن مقدم، ع. (۱۴۰۱). اثر محلول‌پاشی اسپرمیدین بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) تحت تنش خشکی. *نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۶۵ (۲)، ۱۲۵-۱۰۸.

مقدمه

همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی بوته‌ای و یکساله از خانواده کاسنی (Asteracea) است و حاوی ترکیبات فعالی نظیر سسکویی ترپن‌های گلیکوزیده، ساپونین‌ها، زانتوفیل‌ها، تریول‌ها، ترپن‌ها و فلاونوییدها، ویتامین E، روغن‌های فرار (اسانس) و ماده‌ای به نام کالندولین است و از این گونه گیاهی برای درمان زخم‌های دستگاه گوارش، سوختگی، ناراحتی‌های پوستی و به‌عنوان رنگ‌های خوراکی استفاده می‌شود (Gangali et al., 2010).

تنش خشکی مهمترین عامل محدود کننده رشد گیاهان و تولید محصول در سراسر نقاط جهان است و قرار گرفتن گیاهان در معرض تنش خشکی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه از جمله کاهش هدایت روزنه‌ای و فتوسنتز، محتوای نسبی آب برگ، تنفس، تنظیم اسمزی، تجمع پرولین و هورمون‌ها تاثیر می‌گذارد و با توجه به گونه گیاهی، درجه و مدت زمان تنش و مرحله رشد تاثیر متفاوتی بر گیاهان دارد (Idrees et al., 2011). برای مثال با افزایش شدت تنش خشکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) ارتفاع بوته، وزن خشک گیاه، کلروفیل کل و کاروتنوئید و محتوای آب نسبی کاهش معنی‌داری یافت در حالیکه میزان نشت الکترولیت، محتوای پرولین برگ و درصد اسانس افزایش یافت (Esmaielpour et al., 2019). در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) نیز افزایش تنش خشکی میزان کاروتنوئید، پروتئین، فنل و فلاونوئید، ویتامین ث و فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز را کاهش داد (Soroori et al., 2021a). در پژوهشی دیگر نیز تنش خشکی موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد، محتوای کلروفیل، درصد آنتی‌اکسیدان کل و اسانس و افزایش میزان پرولین اندام هوایی آویشن (*Thymus vulgaris* L.) گردید (Danaee and Abdossi, 2022).

پژوهش‌های متعددی پیرامون کاربرد ترکیبات متفاوت در جهت کاهش اثرات تنش خشکی صورت گرفته است که یکی از این ترکیبات اسپرمیدین (تری آمین) می‌باشد و متعلق به پلی‌آمین‌های گیاهی است، این ترکیبات در تمام اندام‌های رویشی و زایشی گیاهان وجود دارند و دارای تاثیرات آنتی‌اکسیدانی و مستحکم نمودن غشا می‌باشد. همچنین آنها با اتیلن، پیش ماده مشترکی به نام اس–آدنوزیل متیونین دارند که از این طریق با سنتز اتیلن رقابت می‌نمایند، و با داشتن بارهای مثبت موجب خنثی سازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود و درنتیجه از پیری و تنش در سلول‌ها جلوگیری می‌کنند (Danaee and Abdossi, 2019). غلظت پلی‌آمین‌ها در سلول گیاهی بیشتر از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (اکسین، جیبرلیک اسید، سیتوکتین و آبسزیک اسید) است و غلظت میلی‌مولاری این ترکیبات برای ایجاد پاسخ بیولوژیکی لازم است (Rahdari, 2019). اسپرمیدین در سلول گیاهی، به آنزیم‌های مختلف متصل شده و در پاسخ گیاهان به تنش‌های غیر زیستی نقش موثری دارد (Anjum, 2011)، پژوهش‌های انجام شده نشان داد، محلول‌پاشی اسپرمیدین تحت تنش شوری موجب جلوگیری از تخریب کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز در نهال جینسینگ (*Panax ginseng*) شد (Parvin et al., 2014). همچنین محلول‌پاشی اسپرمیدین در شرایط تنش خشکی در گیاه سنبل‌الطیب (*Valeriana officinalis*) سبب فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین و همچنین فعال شدن رنگدانه‌های فتوسنتزی گردید (Mustafavi et al., 2016). در پژوهشی دیگر

محلول‌پاشی اسپرمیدین موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و همچنین درصد اسانس گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) شد (Danaee and abdossi, 2019).

با توجه به پژوهش‌های انجام شده در مورد نقش پلی‌آمین‌ها برکاهش اثرات تنش‌های غیرزیستی در گیاهان، هدف از انجام این تحقیق بررسی نقش محلول‌پاشی اسپرمیدین در کاهش اثرات منفی تنش خشکی در گیاه همیشه بهار بوده است.

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان و اعمال تیمارها: به منظور بررسی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه گیاه همیشه بهار، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه‌ای واقع در ۱۵ کیلومتری شهرستان بهشهر در استان مازندران با دمای روز و شب ۲۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۴ ساعت روز و ۱۰ ساعت شب و رطوبت نسبی ۵۰-۶۰ درصد اجرا شد. شرایط فوق با استفاده از دماسنج، لامپ فلورسنت و رطوبت‌سنج تحت کنترل قرارگرفت. ابتدا بذرهای همیشه بهار در داخل سینی کشت که شامل کوکوپیت و پرلیت بود، کشت گردید. پس از گذشت حدود ۲ هفته، گیاهچه‌ها به گلدان سایز ۱۵ انتقال یافتند. خاک گلدان شامل (خاک لومی، شن، کمپوست) به نسبت ۱-۱-۱ بود. همچنین پیش از اعمال تنش خشکی و تا زمان استقرار کامل گیاهان، آبیاری به طور منظم انجام شد. اعمال تیمارهای تنش خشکی (بدون تنش(شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت زراعی) در مرحله ۶ برگی، به روش وزنی و پس از اندازه‌گیری ظرفیت زراعی خاک (FC) انجام شد، ابتدا یکی از گلدان‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب و به‌طور کامل آبیاری گردید. پس از خروج آب ثقلی از گلدان و ثابت شدن وزن گلدان، نمونه‌های خاک از گلدان مورد نظر برداشته و با ترازو وزن گردید (به‌عنوان وزن خاک مرطوب)، سپس نمونه خاک مرطوب در داخل آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفته تا کاملا خشک شود. پس از خشک شدن، نمونه خاک به وسیله ترازو وزن گردید (Mohammadi *et al.*, 2020). به این ترتیب FC به دست آمد: (فرمول ۱)

ظرفیت زراعی خاک = (وزن تر خاک- وزن خشک خاک/ وزن خشک خاک) ×۱۰۰

محلول‌پاشی اسپرمیدین (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در سه مرحله با فواصل حدود ۲۰ روز شامل شش برگ قابل روئیت، پنجه‌دهی کامل و ظهور اولین غنچه اعمال گردید. همچنین گیاهان شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. سپس در مرحله مناسب (گلدهی) نمونه‌برداری انجام شد و صفات مورد نظر ارزیابی گردید.

صفات مورفولوژیک: وزن تر اندام هوایی و ریشه بلافاصله پس از برداشت و وزن خشک پس از ۷۲ ساعت قرارگیری در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد با دقت صدم گرم توزین شد. ارتفاع گیاه و طول ریشه توسط متر فلزی اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد گل‌های گیاهان از طریق شمارش محاسبه و میانگین آنها ثبت گردید و ماندگاری گل روی بوته از زمان باز شدن گلبرگ خارجی گل‌ها تا پژمردگی یا رنگ پریدگی گل‌ها محاسبه گردید و به صورت روز بیان شد (Soroori et al., 2021b).

کلروفیل کل: محتوای کلروفیل کل برگ با استفاده از روش Danaee و Abdossi (۲۰۱۹)، اندازه‌گیری شد. جذب محلول به‌دست آمده با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (UV Visible مدل Spectro Flex 6600) در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل

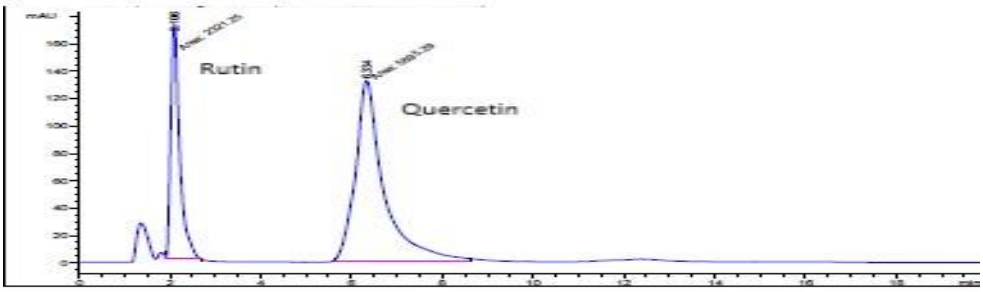
a، ٦٤٥ نانومتر برای کلروفیل b قرائت شد و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

پرولین: میزان پرولین برگ بر اساس روش Momeni و همکاران (۲۰۲۱) و در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بیان شد.

آنزیم پلی فنل اکسیداز: فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز به روش Momeni و همکاران (۲۰۲۱) در طول موج ٤٢٠ نانومتر اندازه‌گیری و در نهایت برحسب نانو مول بر گرم وزن تر گلبرگ بیان گردید.

آنتی‌اکسیدان کل: درصد آنتی‌اکسیدان کل گلبرگ طبق روش Hatamnia و Sharifi (۲۰۲۰) در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت و برحسب درصد بیان گردید.

روتین و کوئرستین: سنجش میزان کوئرستین و روتین گلبرگ توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) انجام شد و عصاره متانولی با استفاده از روش Samee و Vorarat (۲۰۰۷) تهیه گردید. دستگاه مورد استفاده در این تحقیق ساخت شرکت مرک هیتاچی دارای پمپ لاکروم مدل ۷۱۰۰ و آشکارساز آن از نوع دایود آری بود که در طول موج ۳٥٦ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده C18 به طول (٤/۲٥۰×٦ mm) و قطر ۵ میلی‌متر بود. فاز متحرک مورد استفاده، آب و استونیتریل (۷۰:۳۰) و ۰/۵ درصد فسفوریک اسید (pH=۲/۸) بود که پیش از استفاده در حمام اولتراسونیک و فیلتر مخصوص HPLC از هر نوع آلودگی خالص گردید. شدت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه بود (Boligon et al., 2015) (شکل ۱).



شکل ۱: طیف کروماتوگرافی استاندارد تزریقی به دستگاه HPLC

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS (ver 9.1) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ و ۵ درصد، انجام گردید. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel (۲۰۱٦) استفاده شد.

نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر تنش خشکی بر تمام صفات مورد ارزیابی در سطح یک درصد معنی‌دار شد و اثر محلول‌پاشی و اثرمتقابل تنش خشکی و محلول‌پاشی اسپرمیدین بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه، محتوای کلروفیل کل، میزان پرولین، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز، آنتی‌اکسیدان کل، میزان روتین و کوئرستین در سطح یک درصد و بر ارتفاع گیاه و تعداد گل در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تنش خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه همیشه بهار

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات												
		وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	طول ریشه	ارتفاع گیاه	تعداد گل	ماندگاری گل روی بوته	کلروفیل کل	پرولین	آنتی اکسیدا ن کل	پلی فنل اکسیداز	روتین	کوئرستین
خشکی	۳	۱۴۹/۲۱۲**	۲۴/۰۳۱**	۳۱/۲۸۴**	۴/۹۳۲**	۳۷/۲۸۶**	۲۱/۱۲۸**	۴/۰۵۴**	۵/۲۱۳**	۰/۰۲۸**	۲۱/۳۵۶**	۴۳/۱۶۵**	۱۱۵/۶۱۲**	۷/۲۱۳**	۰/۱۱۲**
اسپرمیدین	۲	۳۱/۵۳۱**	۸/۲۵۸**	۱۴/۰۴۵**	۱/۷۴۲**	۱۲/۴۷۳**	۶/۲۴۹*	۱/۷۴۸*	۲/۸۷۳**	۰/۰۱۳**	۹/۷۱۲**	۱۵/۳۶۷**	۲۸/۱۷۶**	۳/۱۹۲**	۰/۰۴۲**
خشکی×اسپرمیدین	۶	۲۷/۸۲۴**	۱۱/۰۶۸**	۱۸/۶۲۱**	۳/۰۲۸**	۱۹/۰۱۲**	۱۱/۰۶۸*	۲/۱۰۹*	۳/۱۹۷**	۰/۰۱۹**	۱۲/۴۵۳**	۲۶/۹۶۵**	۳۹/۰۳۶**	۵/۶۵۴**	۰/۰۹۸**
خطا	۲۴	۵/۸۰۱	۱/۶۳۹	۲/۰۷۳	۰/۵۲۹	۱/۵۸۳	۱/۰۲۷	۰/۸۳۶	۰/۴۶۲	۰/۰۰۳	۱/۰۵۸	۲/۱۹۶	۴/۳۴۶	۰/۲۱۵	۰/۰۰۴
ضریب تغییرات(٪)	-	۱۰/۴۵	۹/۷۶	۱۱/۳۵	۱۰/۴۳	۱۱/۳۵	۸/۹۴	۹/۲۳	۱۲/۲۶	۸/۱۲	۱۰/۴۲	۸/۶۴	۷/۶۵	۱۰/۳۴	۹/۲۱

**،* به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

وزن تر و خشک اندام هوایی: نتایج حاصل از پژوهش نشان داد، بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب با ٤٥٨/٦٥ و ٤١/٧٦ گرم مربوط به تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۱۵۵/۱۷ و ۲۰/٦۹ گرم مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۲).

وزن تر و خشک ریشه: بررسی داده‌ها نشان داد، بیشترین وزن تر و خشک ریشه به ترتیب با ۷۸/۰۲ و ۱۳/۱۸ گرم در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسپرمیدین و کمترین با ۳٤/۲۳ و ۵/۸۸ گرم در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد (جدول ۲).

طول ریشه: بررسی داده‌های حاصل از پژوهش نشان داد، بیشترین طول ریشه (٤٤/٦٦ سانتی‌متر) در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین (۲٦/۰۰ سانتی‌متر) در تیمار ظرفیت زراعی ۲۵ درصد و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲).

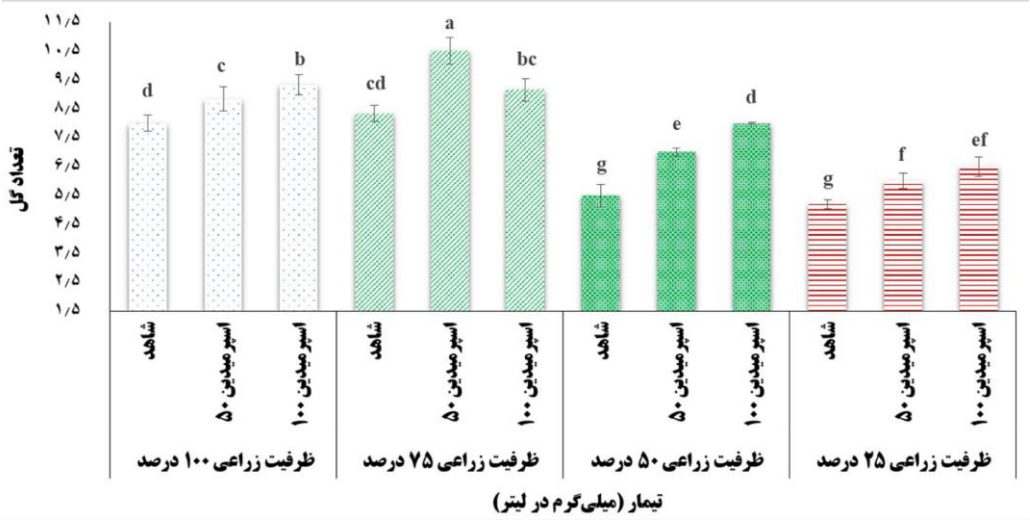
ارتفاع گیاه: نتایج پژوهش نشان داد، بیشترین ارتفاع گیاه (۳۷/۸۳ سانتی‌متر) در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین ارتفاع گیاه (۲۳/۵۰ سانتی‌متر) در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود (جدول ۲).

جدول ۲: اثر تنش خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر شاخص‌های رشدی همیشه بهار

ظرفیت زراعی (درصد)	اسپرمیدین (میلی‌گرم در لیتر)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)
۱۰۰	۰	۲۹۹/٦۹^{de}	۲۸/۱٤^{e}	۵۷/۳۸^{e}	۸/٦۹^{cd}	۳۷/۳۰^{d}	۳۰/۸۳^{e}
	۵۰	۳٤۱/۱۲^{c}	۳۱/٦٤^{cd}	٦٤/۳۳^{cd}	۹/٦۵^{c}	٤۱/٦٦^{b}	۳٤/۸۳^{c}
	۱۰۰	۳۷۲/۹٤^{bc}	۳۵/۸٦۲^{bc}	۷۸/۰۲^{a}	۱۳/۱۸^{a}	٤۳/۳۲^{ab}	۳٦/۳٤^{b}
۷۵	۰	۳٤۷/۰۲^{c}	۳۳/۷٦^{c}	٦۰/۵۵^{de}	۸/۵۷^{d}	۳۵/۰۰^{e}	۳۱/۸۳^{de}
	۵۰	٤۵۸/٦۵^{a}	٤۱/۷٦^{a}	۷٤/۸۹^{b}	۱۰/۲٤^{bc}	٤۰/۰۰^{c}	۳۵/۷۱^{bc}
	۱۰۰	۳۹۹/۸٤^{b}	۳۸/۸٤^{b}	٦٦/۷۰^{c}	۱۱/۲۵^{b}	٤٤/٦٦^{a}	۳۷/۸۳^{a}
۵۰	۰	۲۷۰/۷٤^{e}	۲٦/۰۱^{f}	۵۱/٦۷^{g}	۷/٦٤^{e}	۳۰/٦٦^{gh}	۲۸/۵۰^{f}
	۵۰	۳۱۱/٤۹^{d}	۳۰/۸۲^{d}	٦۱/۹۰^{d}	۷/۱٤^{ef}	۳۳/۱۱^{f}	۳۳/۸۳^{d}
	۱۰۰	۳۰۱/٦۳^{de}	۲۷/۵٤^{ef}	۵۵/۱۳^{f}	۸/۱۸^{de}	۳٦/۰۰^{de}	۳۰/۳۳^{e}
۲۵	۰	۱۵۵/۱۷^{h}	۲۰/٦۹^{h}	۳٤/۲۳^{j}	۵/۸۸^{g}	۲۹/۳۳^{h}	۲۳/۵۰^{h}
	۵۰	۱۷۰/٤٦^{g}	۲۵/۲۸^{fg}	۳۷/۵۸^{i}	٦/٤۷^{f}	۲٦/۰۰^{i}	۲٦/۳۳^{g}
	۱۰۰	۲۰۰/٤۸^{f}	۲٤/۱۱^{g}	٤۲/۹٦^{h}	۷/۰۷^{ef}	۳۲/۰۰^{g}	۲۷/٦٦^{fg}

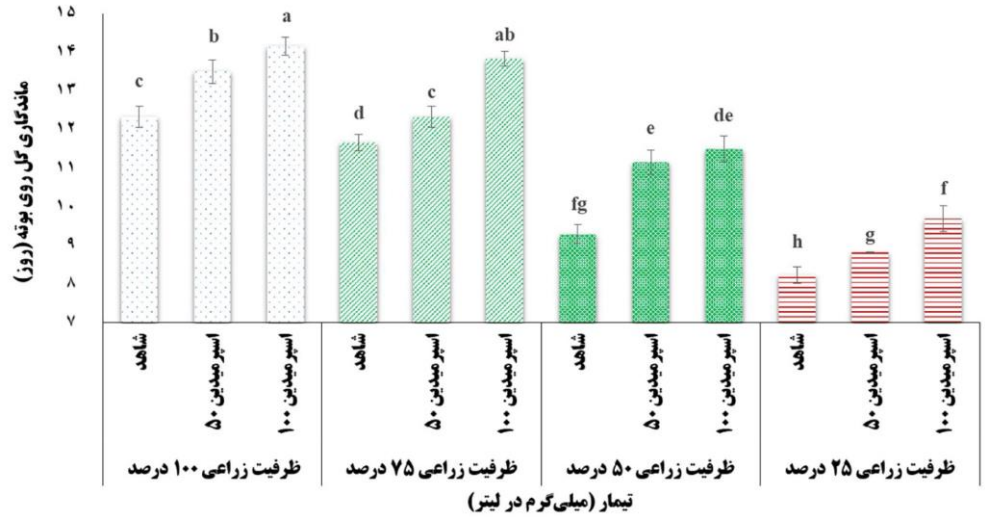
حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P\leq0.05$ است.

تعداد گل: همانطور که در شکل ۲ نمایان است، بیشترین تعداد گل با ۱۰/۵ عدد در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۵/۲ عدد در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بدست آمد.



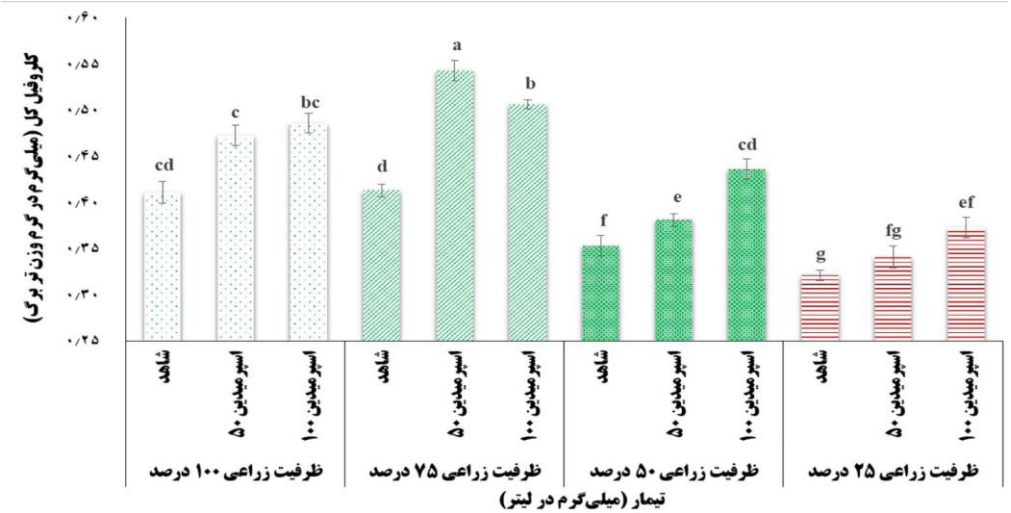
شکل ۲: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر تعداد گل گیاه همیشه بهار.

ماندگاری گل روی بوته: نتایج حاصل از پژوهش نشان داد، بیشترین ماندگاری گل روی بوته (۱٤/۲ روز) در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین (۸/۲ روز) در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل ۳).



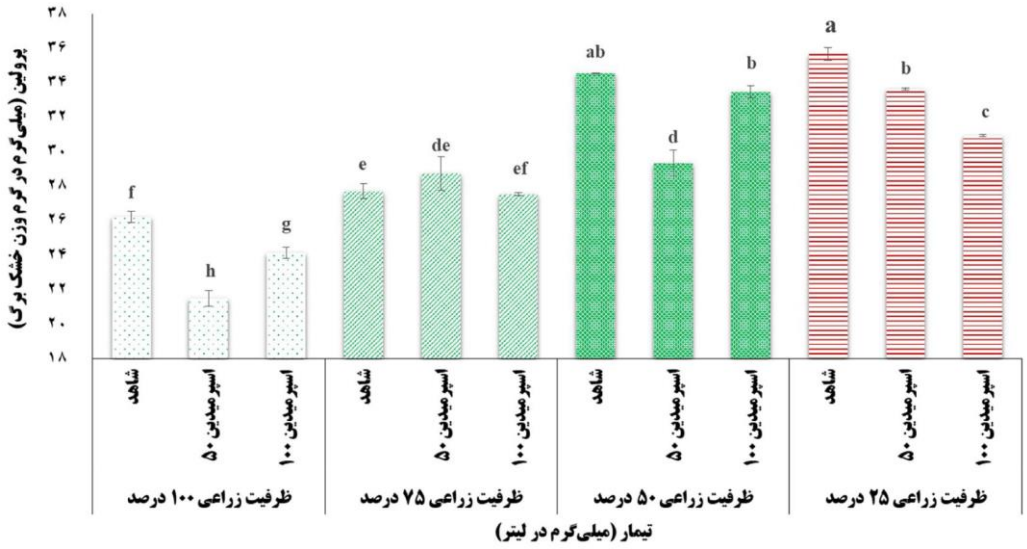
شکل ۳: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر ماندگاری گل روی بوته گیاه همیشه بهار.

کلروفیل کل: همانطور که در شکل ٤ نمایان است، بیشترین محتوای کلروفیل کل با ۰/٥٤ میلی‌گرم در گرم مربوط به تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۰/۳۲ میلی‌گرم در گرم مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود.



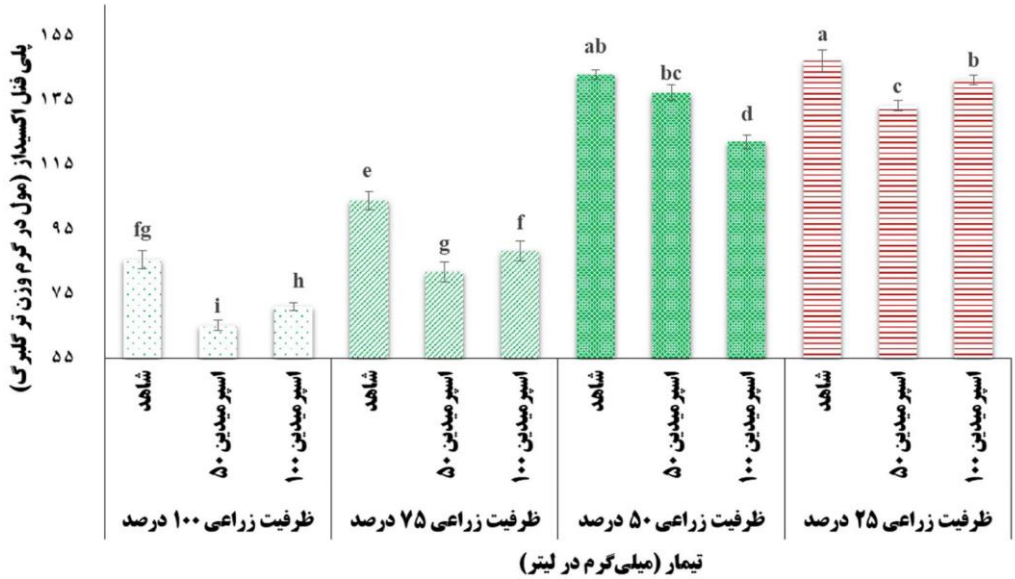
شکل ٤: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان کلروفیل کل گیاه همیشه بهار.

پرولین: نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیشترین پرولین (۳۵/۶۹ میلی‌گرم در گرم) در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و کمترین (۲۱/۵۲ گرم در گرم) در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل ۵).



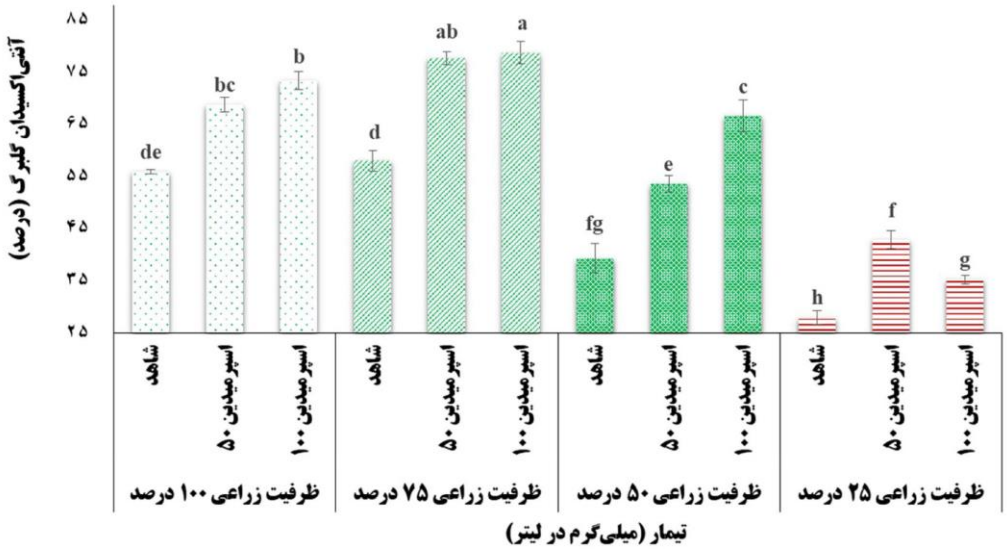
شکل ۵: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان پرولین گیاه همیشه بهار.

آنزیم پلی فنل اکسیداز: بررسی داده‌های حاصل از آزمایش نشان داد، بیشترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (۱٤۷/٤٥ مول بر گرم) در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی و کمترین (٦٥/۳۲ مول بر گرم) در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (شکل ٦).



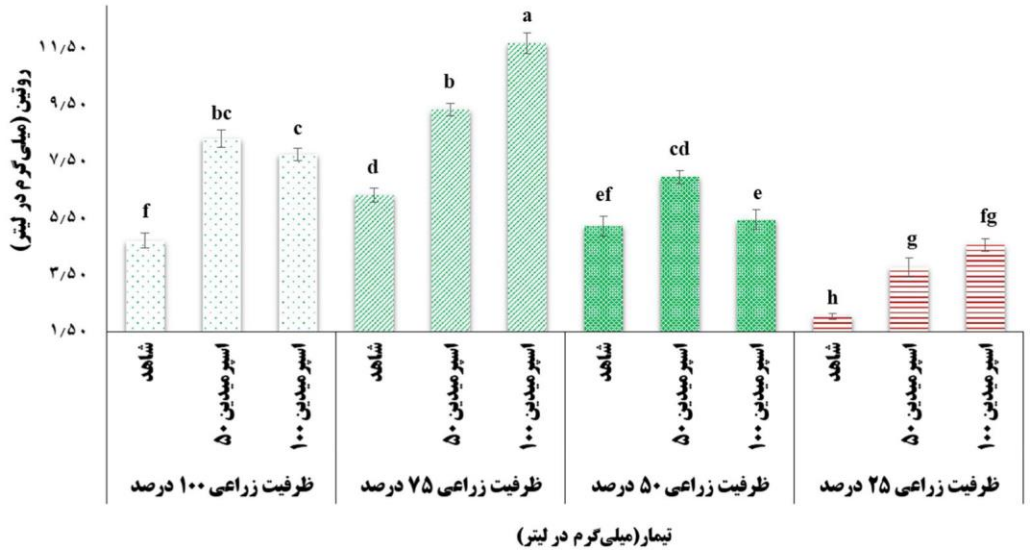
شکل ٦: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گیاه همیشه بهار.

آنتی‌اکسیدان کل (DPPH): همانطور که از شکل ۷ نمایان است، بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان کل با ۷۸/۸٤ درصد مربوط به تیمار ظرفیت زراعی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۲۷/۹۹ درصد مربوط به تیمار ظرفیت زراعی ۲۵ درصد بود.



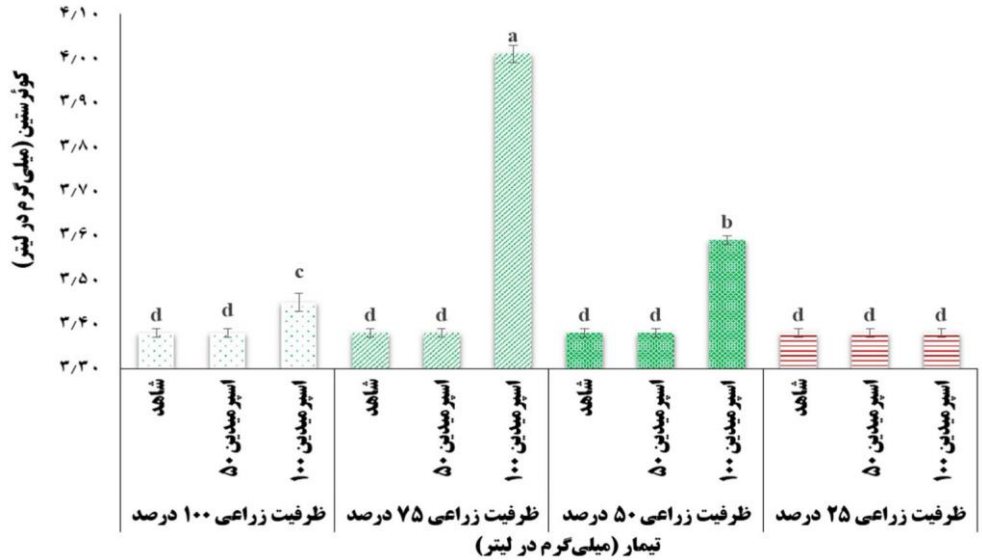
شکل ۷: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان کل گیاه همیشه بهار.

روتین: نتایج پژوهش حاضر نشان داد، بیشترین میزان روتین با ۱۱/٦۷ میلی‌گرم در لیتر مربوط به تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین با ۲/۰٤ میلی‌گرم در لیتر مربوط به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است (شکل ۸).



شکل ۸: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان روتین گیاه همیشه بهار.

کوئرستین: بررسی داده‌ها نشان داد، بیشترین میزان کوئرستین (٤/٠١ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین کوئرستین در اکثریت تیمارها مشاهده شد (شکل ۹).



شکل ۹: اثر خشکی و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر میزان کوئرستین گیاه همیشه بهار.

بحث

خشکی به عنوان یکی از مهمترین تنش محیطی، رشد و نمو گیاهان را از طریق خسارت به دستگاه فتوسنتزی و محدودیت در جذب آب و عناصر غذایی تحت تاثیر قرارداده و منجر به کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه می‌گردد (Baghalian et al., 2011 و Mortazaeinezhad و Jarzizadeh (۲۰۱۷)، اثرات تنش خشکی در کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی را در گیاه کاسنی (*Cichorium intybus* L.) گزارش نمودند. در پژوهش حاضر نیز

محلول‌پاشی با اسپرمیدین نقش موثری بر کاهش اثرات منفی تنش بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه داشت. تحقیقات متعددی نشان داده است که پلی‌آمین‌ها به وسیله حذف رادیکال‌های آزاد، افزایش تثبیت غشایی، تقسیم سلولی و هورمون‌های گیاهی، تنظیم کانال‌های یونی و افزایش میزان انرژی سلول به وسیله تحریک سنتز ATP از گیاهان در برابر تنش محافظت می‌کنند و موجب کاهش اثرات منفی تنش بر رشد و نمو گیاهان می‌شود. Baniasadi و همکارن (۲۰۱۸) اثرات مثبت استفاده از اسپرمیدین را در شرایط تنش شوری بر شاخص‌های رشد در گیاه همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) را گزارش نمودند.

نتایج این پژوهش نشان داد، با افزایش شدت تنش خشکی طول ریشه کاهش یافت. تنش خشکی شدید فتوسنتز برگ را کاهش داده و در نتیجه دسترسی مواد فتوسنتزی گیاه کاهش یافته و رشد ریشه به‌طور اجتناب ناپذیری متوقف می‌شود (Michele et al., 2009). Naseri Moghadam و همکاران (۲۰۱۹)، کاهش طول ریشه گیاه نرگس (*Narsicuss tazetta* L.) را در شرایط تنش خشکی و شوری گزارش نمودند. همچنین کاربرد اسپرمیدین به دلیل نقش پلی‌آمین‌ها در تقسیم سلولی ریشه، تشکیل ریشه‌های اولیه و ریشه‌های جانبی باعث بهبود طول ریشه از طریق تاثیر بر مریستم انتهایی ریشه در شرایط تنش گردید (Couee *et al.*, 2004). مطابق با یافته‌های Pazoki (۲۰۱۷) طول ریشه با کاربرد اسپرمیدین در شرایط تنش خشکی در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) افزایش یافت.

بررسی داده‌های پژوهش نشان داد ارتفاع گیاه در شرایط تنش خشکی با محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسپرمیدین به طور معنی‌داری افزایش یافت. تنش خشکی به‌دلیل اختلال در تقسیم سلولی، کاهش فشار تورگر و همچنین اختلال در فتوسنتز و مسدود شدن آوندهای چوبی و آبکش موجب کاهش ارتفاع در گیاه می‌گردد (Darvizheh et al., 2019). مطابق با یافته‌های Minaei و همکاران (۲۰۱۹)، افزایش تنش خشکی موجب کاهش ارتفاع مرزنجوش بخارایی (*Origanum vulgare* L. ssp. gracile) گردید. همچنین افزایش رشد و ارتفاع گیاه با کاربرد اسپرمیدین، به‌دلیل نقش آن در افزایش تقسیم یاخته‌ای، بزرگ شدن یاخته و افزایش طول میانگره‌ها است (Hosseini Farahi and Zadehbagheri, 2017). یافته‌های Rahati و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش ارتفاع در گیاه بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) گردید.

با توجه به نتایج بدست آمده، تعداد گل با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. برای تشکیل گل گیاه نیازمند به رشد رویشی مناسب و تولید اندام‌های تشکیل دهنده آن در مراحل مختلف رشد رویشی و زایشی می‌باشد، کاهش میزان فتوسنتز در شرایط تنش کم آبی منجر به اختلال در متابولیسم سلول‌ها شده و میزان عملکرد و اجزای عملکرد را کاهش می‌دهد (Baghalian et al., 2011). Dalvand و همکاران (۲۰۱۸)، کاهش تعداد گل گیاه جعفری (*Taget erecta*) را در شرایط کم آبیاری گزارش نمودند. همچنین نقش اسپرمیدین در افزایش تعداد گل می‌تواند مربوط به اثر آنتی اکسیدانی و تعادل کاتیون- آنیون و یا عمل به‌عنوان منبع نیتروژن باشد، همچنین این ترکیبات در برخی فرآیندهای زیستی مرتبط با ساخت کربوهیدرات دخالت دارند که در مجموع موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌گردد (Danaee and Abdossi, 2019). پژوهش Rezvanipour و همکاران (۲۰۱۶) در مورد کاربرد

پلی‌آمین‌ها در دو رقم Golden wave و Blue sea فریزیا (*Freesia hybrida*) نشان داد محلول‌پاشی اسپرمیدین تعداد گلچه را نسبت به شاهد افزایش داد.

در پژوهش حاضر، افزایش تنش خشکی ماندگاری گل روی بوته را کاهش داد، افزایش رادیکال‌های آزاد در تنش‌های شدید، موجب تخریب فسفولیپیدها و آزاد شدن اسیدهای چرب شده که در این حالت نفوذ پذیری غشا افزایش می‌یابد و در نتیجه تخریب غشا منجر به سنتز اتیلن می‌شود و در نهایت ماندگاری گل را کاهش می‌دهد (Hossaina et al., 2005). با توجه به نتایج Naseri Moghadam و همکاران (۲۰۱۹)، کمترین تعداد روز از گلدهی تا پیری گل نرگس (*Narsicuss tazetta* L.) در شدیدترین سطح تنش‌های شوری و خشکی مشاهده شد. ازآنجایی که پلی‌آمین‌ها در برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی همچون پیری دارای پیش ماده مشترک اس آدونوزیل میتیونین (SAM) هستند، بازدارنده‌های تولید اتیلن هستند، همچنین پلی‌آمین‌ها از پراکسیداسیون چربی‌ها جلوگیری کرده و در نهایت ماندگاری گل روی بوته را افزایش می‌دهد (Hosseini Farahi and Zadehbagheri, 2017). پژوهش‌های صورت گرفته توسط Farjadi Shakib و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Miller.) نشان داد، اسپرمیدین ماندگاری گل روی بوته را افزایش داد.

بررسی داده‌های پژوهش نشان داد که محتوای کلروفیل کل در شرایط تنش خشکی با محلول‌پاشی اسپرمیدین به طور معنی‌داری افزایش یافت. کاهش محتوای کلروفیل می‌تواند ناشی از افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز و تحریک تولید گونه‌های فعال اکسیژن (مانند رادیکال‌های پراکساید و پراکسید هیدروژن) و در نتیجه تخریب کلروفیل و ممانعت از تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی باشد (Minaei et al., 2019). همچنین کاربرد اسپرمیدین محتوای کلروفیل کل برگ را افزایش داد، و دلیل آن به خاطر ویژگی آنتی‌اکسیدانی پلی‌آمین‌ها است که از تخریب ساختار غشاء کلروپلاست جلوگیری می‌کند. در پژوهش Darvizheh و همکاران (۲۰۱۹)، نیز تنش خشکی موجب کاهش محتوای کلروفیل در گیاه سرخارگل (*Echinacea purpurea* L.) شد و تیمار گیاهان با اسپرمیدین موجب کاهش اثرات منفی تنش خشکی و افزایش محتوای کلروفیل گردید.

در پژوهش حاضر میزان پرولین در شرایط تنش خشکی نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و محلول‌پاشی با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین موجب کاهش میزان پرولین گردید. بالا رفتن میزان پرولین در بافت‌های گیاهی به نوعی بیانگر فعال شدن ساز و کار تنظیم اسمزی است و فراهم آمدن شرایط برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط می‌باشد، همچنین پرولین با آنزیم‌ها و ماکرومولکول‌های سلول سازگار است و از ساختار پروتئین‌ها و غشاء سلول‌ها محافظت و به عنوان رباینده رادیکال هیدروکسیل نیز عمل می‌کند (Lei et al., 2007). نتایج پژوهش Azizi و همکاران (۲۰۲۱) در گیاه خرفه (*Portulaca oleracea* L.) نشان داد، تنش خشکی میزان پرولین را در این گیاه افزایش داده است.

در این آزمایش آنتی‌اکسیدان کل در تنش خشکی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت، درحالیکه با افزایش شدت تنش میزان آن کاهش یافت. تنش خشکی شدید موجب محدودیت رشد و فتوسنتز می‌شود و منجر به کاهش دسترسی به مواد اولیه برای سنتز ترکیبات ثانویه شده و در نهایت بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه اثر منفی گذاشته و میزان آن را کاهش می‌دهد (Hamidipour, 2016). پلی‌آمین‌ها با تحت تاثیر قراردادن H^+-Atpase و H^+-Ppase قادرند

تا در تنظیم pH در شرایط تنش نقش ایفا کنند و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داده، که نشان دهنده نقش پلی‌آمین‌ها در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Namvar et al., 2017). نتایج پژوهش Moradi Peynevandi و همکاران (۲۰۱۷)، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان کل را با کاربرد پلی‌آمین‌ها در گیاه استویا (*Stevia rebaudiana* Bertoni) گزارش نمودند.

داده‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) افزایش یافت و محلول‌پاشی گیاهان با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را کاهش داد. افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در شرایط خشکی به‌دلیل افزایش سوبسترای آن از جمله ترکیبات اکسیژن فعال هست که نشان‌دهنده نقش مهم این آنزیم جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. بنابراین به نظر می‌رسد فعالیت این آنزیم در شرایط تنش ممکن است در حفظ پایداری غشاء سلول‌های روزنه‌ای از طریق کاهش آسیب اکسیداتیو به آن‌ها نقش داشته باشد و موجب ثبات هدایت روزنه‌ای و بهبود عملکرد گردد (Fazeli et al., 2007). Hosseini و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند، تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله آنزیم پلی فنل اکسیداز در شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) گردید.

روتین و کوئرستین از ترکیبات ارزشمند فلاونوئیدی هستند که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی و توانایی حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشند (Sintayehu et al., 2012)، با شدت یافتن میزان تنش خشکی و بسته شدن بیشتر روزنه‌ها، میزان کربن در دسترس سلول‌ها و غلظت کربوهیدرات‌های غیرساختاری در بافت‌های اختصاصی گیاه به شدت کاهش می‌یابد با ادامه تنش و وارد آمدن فشار بیشتر، گیاه وادار به استفاده از توان هر چه بیشتر خود در جهت جلوگیری از مرگ سلولی شده و از ذخایر فلاونوئیدی موجود در واکوئل‌ها برای سم‌زدایی هر چه بیشتر رادیکال‌های آزاد استفاده می‌نماید (Turtola et al., 2005). بررسی gharibi و همکاران (۲۰۱۹) در بومادران (*Achillea pachycephala* L.) و Ghotbzadeh Kermani و همکاران (۲۰۱۹)، در کنجد (*Sesamum indicum* L.)، نشان داد، افزایش تنش خشکی میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را در این گیاهان افزایش داده است. همچنین افزایش میزان روتین و کوئرستین توسط پلی‌آمین‌ها می‌تواند به این دلیل باشد که، آنها با اتصال مستقیم به اجزای سلولی و آنیون‌ها و کاتیون‌ها از واکنش‌های اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری کرده و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مطرح هستند و در نتیجه منجر به افزایش ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در گیاه می‌شوند (Moradi Peynevandi et al., 2017).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج پژوهش نشان داد محلول‌پاشی همیشه بهار با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین موجب کاهش اثرت منفی تنش خشکی بر صفات مورد ارزیابی گردید. نتایج به دست آمده نشان داد، بیشترین وزن تر و خشک اندام هوایی، تعداد گل و کلروفیل کل در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۵۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین وزن تر و خشک ریشه و ماندگاری گل روی بوته در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین بیشترین طول ریشه، ارتفاع گیاه، فعالیت آنتی‌اکسیدان کل (DPPH)، روتین و کوئرستین در تیمار ۷۵ درصد ظرفیت زراعی و اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین پرولین و فعالیت آنزیم

پلی فنل اکسیداز در تیمار ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد. بنابراین، با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان محلول‌پاشی اسپرمیدین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به همراه سطح آبیاری ۷۵ درصد ظرفیت زراعی را جهت کاهش اثرات منفی تنش خشکی در گیاه همیشه بهار توصیه کرد.

Reference

1. **Anjum, A. (2011).** Effect of exogenously applied spermidin on growgh and physiology of citrus root stook troyer citrang under salin condition. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 35:43-53.
2. **Azizi, E., Rezapour, Y., Kermani, M. and masoomi, A. (2021).** Investigation of some physio-morphological traits of purslane (*portulaca oleracea* L.) landraces under drought stress. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 16(63): 16-34.
3. **Baghalian, K., Abdoshah, SH., Khalighi-Sigaroodi F. and Paknejad, F. (2011).** Physiological and phytochemical response to drought stress of German chamomile (*Matricari arecutita* L.). Plant Physiology and Biochemistry, 49(20): 201-207.
4. **Baniasadi, F., Saffari, V.R. and Maghsoudi Moud, A.A. (2018).** Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress. Scientia Horticulturae. 234: 312–317.
5. **Boligon, A., da Silva Jesus, R., Piana, M., Faccim, T., Brum, D., Correˆ a da Cruz, R., Mossmann, N. and Linde Athayde, M. (2015).** Development and Validation of an HPLC-DAD Analysis for Flavonoids in the gel of *Scutia Buxifolia*. Journal of Chromatographic Science, 53, 1557–1561.
6. **Couee, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. and EL-Amrani, A. (2004).** Involvement of polyamines in root development. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 76: 1-10.
7. **Dalvand, M., Solgi, M. and Khaleghi, A. (2018).** The effect of humic acid foliar application and drought stress on growth characteristics and Physiological of *Taget erecta*. Science and Technology of Greenhouse Culture, 9(2):67-79.
8. **Danaee, E. and Abdossi, V. (2021).** Effect of silicon and nanosilicon on some morphophysiological and phytochemical traits of Peppermint (*Mentha piperita* L.) under salinity stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 37(1).
9. **Danaee, E. and Abdossi, V. (2019).** Phytochemical and Morphophysiological Responses in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Plant to Application of Polyamines. Journal of Medicinal Plants, 18 (1): 125-133.
10. **Danaee, E. and Abdossi, V. (2022).** Effect of Bio-stimulator Fosnutren and Humiforte on some morphophysiological and phytochemical traits of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) under water deficit, Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, doi: 10.30495/iper.2022.1941421.1731.
11. **Darvizheh, H., Zahedi, M., Abbaszadeh, B. and Razmjoo, J. (2019).** Effects of foliar application of salicylic acid and spermine on the phenological stages and caffeic acid derivatives yield of purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) under drought stress. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 35(5): 720-705.
12. **Esmaielpour, B., Fatemi, H. and Moradi, M. (2019).** Effects of nitric oxide on some morphophysiological and biochemical properties of basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 35(4): 601-616.
13. **Ezhilmathi, K., singh, V., Arora, P., and Sairam, R.K. (2007).** Effect of 5-sulfocalicylic acid on antioxidant in relation to vase life of gladiolus cut flower. Plant Growth Regulation, 51: 99-108.

14. **Farjadi Shakib, M., Naderi, R. and Mashhadi Akbar Bojar, M. (2013).** The effect of spermidine foliar application on morphological, physiological and biochemical characteristics of Iranian cyclamen (*Cyclamen persicum* Miller). Journal of Plant Ecophysiology, 5(13): 96-113.
15. **Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2007).** Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. Biologia Plantarum, 51: 98-103.
16. **Gangali, H.R., Band, A.A., Abad, H.S.S. and Nik, M.M. (2010).** Effects of Sowing Date, Plant Density and Nitrogen Fertilizer on Yield, Yield Components and Various Traits of *Calendula officinalis*. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 8(6): 672-679.
17. **Gharibi, SH., Tabatabaei, B.E., Saeidi, G., Talebi, M. and Natkowski, K. (2019).** The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachycephala* Rech. f. Phytochemistry, 162: 90-98.
18. **Ghotbzadeh Kermani, S., Saeidi, GH, .Sabzalian, M. and Gianinetti, A. (2019).** Drought stress influenced sesamin and sesamolin content and polyphenolic components in sesame (*Sesamum indicum* L.) populations with contrasting seed coat colors. Food Chemistry, 289: 360-368.
19. **Hamidipour, S. (2016).** The effect of aminovululinic acid on growth, essential oil content and antioxidant responses of peppermint under drought stress, Master Thesis, Shahrekord University, Iran.
20. **Hatamnia, A. and Sharifi, R. (2020).** Investigation of antioxidant activity and application of HPLC technique for analysis of phenolic compounds of Amygdalus haussknechtii leaf extract. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 15(57): 1-9.
21. **Hossaina, Z., Kalam, A., Mandala, A., Kumar Dattaa, S. and Krishna Biswasb, A. (2005)**. Decline in ascorbate peroxidase activity –A prerequisite factor for tepal senescence in Gladiolus. Journal of Plant Physiology, 163(2): 186-194.
22. **Hosseini Farahi, M. and Zadehbagheri, M. (2017).** Effect of foliar application of polyamines on growth properties, vase life and endogenous plant growth regulators contents of cut rose flower (*Rosa hybrid* cv. Dolcvita). Iranian Journal of Horticultural Science, 47(4): 717-729.
23. **Hosseini, MS., Samsampour, D., Ebrahimi, M., Abadía, J. and Khanahmadi, M. (2018).** Effect of drought stress on growth parameters, osmolyte contents, antioxidant enzymes and glycyrrhizin synthesis in licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) grown in the field. Phytochemistry, 156:124-134.
24. **Idrees, M., Khan, M.M.A., Naeem, M., Aftab, T., Hashmi, N. and Alam, M. (2011).** Modulation of defence responses by improving photosynthetic activity, antioxidative metabolism, and vincristine and vinblastine accumulation in (*Catharanthus roseus* L.) G. Don through salicylic acid under water stress. Russian Agricultural Sciences, 37(6):474-482.
25. **Lei, Y., Yin, C. and Li, C. (2007).** Adaptive responses of Populus przewalskii to drought stress and SNP application. Journal of Acta Physiology Plant, 29: 519-526.
26. **Michele, A., Douglas, T. and Frank, A. (2009).** The effects of clipping and soil moisture on leaf and root morphology and root respiration in two temperate and two tropical grasses. Plant Ecology, 200: 205-215.
27. **Minaei, A., Hassani, A., Nazemiyeh, H. and Besharat, S. (2019).** Effect of drought stress on some morphophysiological and phytochemical characteristics of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp.gracile). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 35(2): 252-265.
28. **Mohammadi, H., Imani, A., Abdosi, V., Asghari, M. R. and Talaei, A. R. (2020).** Exogenous salicylic acid mitigates adverse effects of salinity on some photosynthesis-related parameters

of Almond. Journal of Agricultural Science and Technology, 22(2): 519-534.

29. **Moradi Peynevandi, K., Razavi, S.M. and Zahri, S. (2017).** The combined effect of cold stress and polyamine supplement on some phytochemical parameters of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Journal of Ecophyto chemistry of Medicinal Plants, 5 (4): 20-64.
30. **Mortazaeinezhad, F. and Jarzizadeh, E. (2017).** Effects of water stress on morphological and physiological Indices of Cichorium intybus L. for introduction in urban landscapes. Journal of Crop Production and Processing, Isfahan University of Technology, 6 (21): 279-290.
31. **Momeni, S., fahmideh, L., Emamjomeh, A., Solouki, M. and Zahiri, J. (2021).** Effect of drought stress on morphological and physiological traits of sesame (*Sesamum indicum* L.). Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 15(60): 61-78.
32. **Mustafavi, S., Shekari, F and Maleki, H. (2016).** Influence of exogenous polyamines on antioxidant defence and essential oil production in valerian (*Valeriana officinalis* L.) plants under drought stress. Acta Agriculturae Slovenica, 107(1): 81-91.
33. **Namvar, A., Hadi, H. and Seyedsharifi, R. (2017).** The role of external sources of plant protection in modulating the destructive effects of non-biological stresses. Journal of Ecophysiology, 48:103-128.
34. **Naseri Moghadam, A., Bayat, H., Aminifard, M.H. and Moradinezhad, F. (2019).** Effect of Drought and Salinity Stress on Growth, Flowering and Biochemical Characteristics of Narsicuss tazettaL. Journal of Horticultural Science, 33(3): 451-466.
35. **Parvin, S., Lee, OR., Sathiyaraj, G., Khorolragchaa, A., Kim, YJ. and Yang, DC. (2014).** Spermidine alleviates the growth of saline-stressed ginseng seedlings through antioxidative defense system. Gene, 537(1): 70-78.
36. **Pazoki, A.R. (2017).** Effect of polyamins foliar application on morphological traits, protein and extract contents of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under drought stress conditions. Journal of Agricultural Research, 9(1): 71-93.
37. **Rahati, R. Hakimi, L. and Zare Nahandi, F. (2015).** The effect of polyamines on quantitative and qualitative evaluations of essential oil of *Dracocephalum moldavica*. Applied Biotechnology and Microbiology, 3 (1 and 2): 49-58.
38. **Rahdari, P. (2019).** Effect of premixing of spermidine and polyethylene glycol on germination and physiological and morphological activity in Triticum durum wheat with Salinity stress. Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 14(55): 95-107.
39. **Rezvanipour, Sh., Hatamzadeh, A., Elahinia, A. and Asghari, H. (2016).** Effect of exogenous polyamines on growth, flowering and corm production 'Golden Wave' and 'Blue Sea' cultivars. Science and Technology of Greenhouse Cultivation, 7(27): 63-75.
40. **Samee, W. and Vorarat, S. (2007).** Simultaneous Determination of Gallic acid, Catechin, Rutin, Ellagic Acid and Quercetin in Flower Extracts of Michelia alba, Caesalpinia pulcherrima and Nelumbo nucifera by HPLC. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal, 2(2): 131-137.
41. **Sintayehu, B., Asres, K. and Raghavendra, Y. (2012).** Radical scavenging activities of the leaf extracts and a flavonoid glycoside isolated from Cineraria abyssinica Sch. Bip. Exa. Rich. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2(4): 44-49.
42. **Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, K. and Ladan Moghadam, A. (2021a).** The metabolic response and enzymatic activity of *Calendula officinalis* L. to foliar application of Spermidine, Citric Acid and Proline under drought stress and in a Post-Harvest, Journal of Agricultural Science and Technology, 23(06).
43. **Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, K. and Ladan Moghadam, A. (2021b)**. Effect of foliar application of proline on

morphological and physiological traits of *Calendula officinalis* L. under drought stress. Journal of Ornamental Plants, 11(1): 13-30.

44. **Turtola, S., Manninen, A., Rikala, R. and Kainulainen, P. (2003).** Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in scots pine and Norway spruce seedling. Journal of Chemical Ecology, 29(9):1981-1995.