مجله اکوفیزیولوژی گیاهی

سال پنجم، شماره سیزدهم، ۱۳۹۲

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Miller.)

محمد فرجادی شکیب[۱]، روح انگیز نادری[۲]، مسعود مشهدی اکبر بوجار[۳]

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۸

چکیده

با توجه به اینکه کمیت و کیفیت سیکلامن ایرانی به شدت تابع شرایط محیطی و تغذیه ای آن می باشد و با عنایت به نقش ویژۀ پلی آمین ها در تغذیه گیاهان، در این پژوهش با کاربرد خارجی پلی آمین اسپرمیدین کمیت و کیفیت این گل با ارزش بومی ایران، مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور آزمایشی در دو بخش طراحی و اجرا گردید. بخش اول در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و بخش دوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات بیوشیمیایی گل سیکلامن ایرانی پرداخت. فاکتور اصلی در بخش بیوشیمیایی مرحله برداشت (۱ تا ۵) و فاکتور فرعی سطوح محلول پاشی اسپرمیدین (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار) بودند. صفات مورفولوژیکی مورد بررسی عبارت بودند از: طول مرحلۀ غنچه، طول گلدهی، عمر گل، تعداد گل، تعداد برگ و سطح برگ. در بخش فیزیولوژیکی شاخص پایداری غشاء، وزن تر، وزن خشک و محتوای آب نسبی گلبرگ مورد بررسی قرار گرفت. در بخش بیوشیمیایی میزان فعالیت آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به همراه میزان پروتئین و پلی آمین های اسپرمیدین و اسپرمین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر تأثیر مطلوب محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات گلدهی و رویشی گل سیکلامن ایرانی بود. میزان اثر بخش بودن محلول پاشی بر خصوصیات گلدهی همچون طول مرحلۀ غنچه، طول گلدهی، عمر گل و تعداد گل تا سطح ۱۰ میلی مولار و در خصوصیات رویشی همچون سطح و تعداد برگ تا سطح ۲۰ میلی مولار بود. تیمار گل های سیکلامن موجب افزایش وزن تر، وزن خشک، محتوی آب نسبی برگ و شاخص پایداری غشاء گردید. در بخش بیوشیمیایی نیز تیمار اسپرمیدین موجب افزایش معنی دار میزان فعالیت آنزیم های شکار کنندۀ رادیکال های آزاد همچون سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز و همچنین پروتئین در طی مراحل ۱ تا ۵ گلدهی گردید. میزان اسپرمین داخلی با الگویی مشابه تیمار شاهد افزایش نشان داد در حالی که اسپرمیدین در طی مراحل ۱ تا ۳ روند افزایشی و پس از آن روند کاهشی را به خود اختصاص داد.

واژه های کلیدی: اسپرمین، سوپر اکسید دیسموتاز، شاخص پایداری غشاء، عمر گل، کاتالاز

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران- مسئول مکاتبات. پست الکترونیک:
mohammadfarjadi79@yahoo.com

۲- دانشیار دانشگاه تهران

۳- دانشیار دانشگاه تربیت معلم تهران

مقدمه

سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Miller.) گیاه ژوخه ای چند ساله متعلق به خانوادهٔ Primulaceae می باشد (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۰؛ دول و ویلکینز، ۱۹۹۹). این گیاه به دلیل گلدهی در طول زمستان و دارا بودن گل های متنوع و جذاب در بین گیاهان زینتی از اهمیت و جایگاه ویژه ای برخوردار بوده (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۰) و به دو صورت گل بریدنی و گل گلدانی مورد استفاده قرار می گیرد (شیراوند، ۱۳۸۹). گونه های مختلفی از این گل از جمله *Cyclamen coum* Miller. بومی ایران بوده و در جنگل های شمال کشور به صورت وحشی می رویند. کمیت و کیفیت این گل به شدت تابع شرایط محیطی و تغذیه‌ای آن می باشد (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۰؛ دول و ویلکینز، ۱۹۹۹).

عناصر و ترکیبات مختلفی در تغذیه گیاهان نقش دارند. در این بین، پلی آمین ها نقش ویژه ای در تغذیه گیاهان دارند. پلی آمین های رایج شامل پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین هستند که در همه سلول‌های گیاهی یافت می شوند (پندی و همکاران، ۲۰۰۰). در گیاهان عالی و باکتری‌ها پوترسین یا مستقیماً به واسطه فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز از اورنیتین تولید یا به روش غیر مستقیم، به واسطه آنزیم آرژینین دکربوکسیلاز از آرژینین تولید می شود. پوترسین به نوبه خود از طریق آنزیم اسپرمیدین سنتاز و با افزودن یک نیمه اس-آدنوزیل متیونین (SAM) توسط آنزیم اس-آدنوزیل متیونین دکربوکسیلاز تهیه شده و به اسپرمیدین تبدیل می شود (لیو و همکاران، ۲۰۰۷). تحقیقات نشان داده اند که در گیاهان مقادیر متفاوتی از پلی آمین های دی آمین پوترسین (Put)، تترا آمین اسپرمین (Sp) و تری آمین اسپرمیدین (Spd) وجود دارد (کومار و همکاران، ۱۹۹۷).

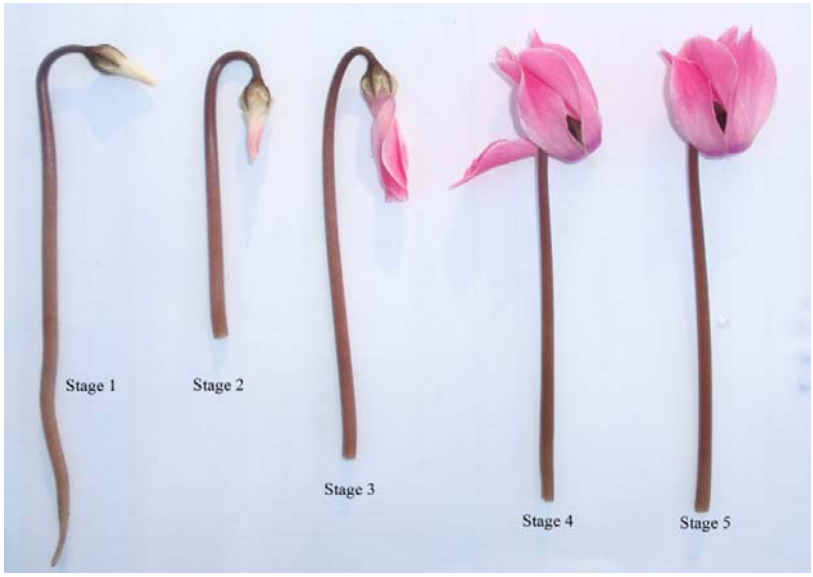
پلی آمین های گیاهی مولکول های کاتیونی با وزن مولکولی کم می باشند (بوچرو و همکاران، ۱۹۹۹) که در pH فیزیولوژیکی دارای بار مثبت بوده و به نوکلئیک اسیدها، فسفولیپید های اسیدی و تعداد زیادی از پروتئین‌ها شامل آنزیم‌های مختلف متصل شده و در محدوده وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله رشد گیاهی، نمو و پاسخ به تنش های مختلف نقش ایفا می کنند (پندی و همکاران، ۲۰۰۰). یکی از مهمترین فرآیندهای متأثر از آن ها پاسخ به تنش های محیطی و حذف رادیکال های آزاد می باشد (کاکار و همکاران، ۲۰۰۰؛ مارتین-تانگوی ۲۰۰۱). همچنین از آنجایی که پلی آمین ها در برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی همچون پیری به صورت تقاضای رقابتی برای SAM[1] دخیل هستند، بازدارنده های تولید اتیلن نیز محسوب می گردند (سود و ناگار، ۲۰۰۸). این مسأله موجب گردیده است که علاوه بر نقش تغذیه ای پلی آمین ها به وسیلهٔ باز داشتن آنزیم ACC Synthesis پیری را به تأخیر بیاندازند (لی و همکاران، ۱۹۹۷). اگرچه پلی آمین های درونی به عنوان یک هورمون مطرح نیستند، لیکن کاربرد خارجی آن ها می تواند فرآیندهای متنوع فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار داده و به عنوان یک تنظیم کنندهٔ رشد مورد استفاده قرار گیرند (گالستون و همکاران، ۱۹۹۷). متأسفانه تاکنون مطالعهٔ جامعی در خصوص تغذیه سیکلامن و یا تیمار آن با پلی آمین ها صورت نگرفته است. لذا در این پژوهش کاربرد خارجی (محلول پاشی) پلی آمین اسپرمیدین برکمیت و کیفیت این گل با ارزش بومی از سه جنبه فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت تا بدین وسیله گامی در جهت بهبود آن برداشته شود.

1 -S-Adenosyl-L-methionine

مواد و روش ها

گل های سیکلامن ایرانی از یک گلخانه تولید سیکلامن در منطقه گلزار از توابع شهرستان پاکدشت تهیه و آزمایشی در دو بخش طراحی و اجرا گردید.

بخش اول در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و بخش دوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات بیوشیمیایی گل سیکلامن ایرانی پرداخت. فاکتور اصلی در بخش بیوشیمیایی مرحله برداشت و فاکتور فرعی سطوح محلول پاشی بودند. محلول پاشی اسپرمیدین روی مریستم ژوخه به میزان ۱۰ میلی لیتر و با غلظت های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار صورت گرفت. مرحلهٔ گلدهی مورد بررسی نیز عبارت بودند از: مرحله ۱: غنچه بدون رنگ، مرحله ۲: زمانی که رنگ گلبرگ ظاهر می شود، مرحله ۳: زمانی که طول گلبرگ بلند می شود و یکی از گلبرگ ها حالت شکوفایی می گیرد، مرحله ٤: شکوفایی اولیه گیاه که نمادش باز نشدن کامل تنها یکی از گلبرگ ها می باشد و مرحله ۵: یا شکوفایی کامل گل (شکل ۱). جهت نمونه برداری با توجه به مدت زمان لازم برای انگیخته شدن گل در سیکلامن، بعد از گذشت ۳۰ روز به یکی از غنچه های تازه تشکیل شده نخ بسته شد تا نمایانگر گل‌های تشکیل شده بعد از محلول پاشی بوده و نمونه برداری و محاسبات بعدی با استفاده از گل‌هایی باشد که بعد از اسپری کردن تشکیل شده اند. سپس ۱۵ روز بعد نسبت به برداشت نمونه های گیاهی از هر تکرار اقدام گردید.



شکل۱- مراحل مختلف گلدهی در سیکلامن ایرانی.

الف) مطالعات مورفولوژیکی

مطالعات مربوط به خصوصیات مورفولوژیکی سیکلامن ایرانی در گلخانهٔ تولید کنندهٔ گل صورت گرفت که شامل: الف) تعداد روز از مرحله ۲ گل دهی تا باز شدن کامل، ب) تعداد روز از باز شدن گل تا پیری گل، پ) تعداد روز از مرحله ۲ گل دهی تا

پیری گل، ت) تعداد کل گل ها، ث) تعداد کل برگ‌ها و ج) سطح برگ بودند. سطح برگ توسط دستگاه Leaf Area Meter: Am200 بر حسب میلیمتر مربع بر روی ۳ برگ بالغ اسکن و میانگین گرفته شد. سایر صفات ذکر شده به صورت مشاهدهٔ مستقیم روزانه صورت گرفتند.

ب) مطالعات فیزیولوژیکی

۱) شاخص پایداری غشاء (MSI)

شاخص پایداری غشاء بر حسب نشت یونی طبق روش سایرام و همکاران (۱۹۹۷) بر روی گلبرگ های گل سیکلامن صورت گرفت، و به صورت درصد شاخص پایداری غشا (MSI) بیان شد. برای این کار، قطعات دیسکی گلبرگ های مرحله ۵ گلدهی سیکلامن ایرانی (۰/۲ گرم) در داخل ۲۰ میلی لیتر آب مقطر دی یونیزه ۲ بار تحت تیمار قرار گرفتند. بار اول در در داخل حمام بن ماری در دمای ٤٠ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی بوسیله EC meter (مدل Crison ساخت کشور ژاپن) ثبت شد(C_1). بار دوم در حمام بن ماری در حال جوش (۱۰۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی ثبت شد(C_2). شاخص پایداری غشاء به صورت درصد بر طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Membrane stability index} = (1-(c_1/c_2)) \times 100$$

وزن تر گلبرگ

برای اندازه گیری وزن تر گلبرگ گل های سیکلامن ایرانی، گل های مرحله ۵ گلدهی از هر تیمار با استفاده از ترازو دیجیتال در قالب سه تکرار وزن شدند.

درصد وزن خشک گلبرگ

برای محاسبه درصد وزن خشک گلبرگ گل های سیکلامن ایرانی گل های مرحله ۵ گلدهی از هر تیمار در قالب سه تکرار در دمای ۸۰ درجه ساتیگراد به مدت ٤٨ ساعت در داخل آون الکتریکی (مدل Astell ساخت کشور انگلستان) قرار گرفت و درصد وزن خشک آن ها با استفاده از ترازو دیجیتال تعیین شد.

محتوای آب نسبی گلبرگ ها (RWC)

برای محاسبه محتوای آب نسبی گلبرگ ها پس از محاسبه وزن تر و خشک گلبرگ ها در مرحله ۵ گلدهی از فرمول زیر استفاده شد:

$$RWC\ (g) = (FW\ (g)-DW\ (g))/DW\ (g)$$

مطالعات بیوشیمیایی

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

ابتدا محلول عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز توسط روش حسین و همکاران (۲۰۰٦) تهیه گردید. برای این کار گلچه‌های گل سیکلامن در ۵ مرحله گلدهی و با چهار تکرار به میزان ۱ گرم در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند سپس در ٤ میلی لیتر محلول سرد عصاره گیری پیشنهادی حسین و همکاران (۲۰۰٦) مخلوط گردیدند. این کار در ظرف هاون سرد و در حمام یخ انجام گرفت. سپس محلول عصاره در سرعت ۱۵/۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی برای اندازه گیری آنزیم جدا و مورد استفاده قرار گرفت.

پس از استخراج، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل بکمن ساخت انگلستان) و بر اساس باز داشتن احیاء فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیوم به روش بایر و فریدو

ویچ (۱۹۸۷) اندازه گیری شد. در این روش ۱ میلی لیتر از محلول محتوی ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم، ۹/۹ میلی مولار متیونین، ۵۷ میکرو مولار نیترو بلو تترازولیوم و محلول ۰/۰۲۵ تریتون X-100 به یک تیوب شیشه ایی کوچک اضافه شد و ۲۰µL از نمونه استخراج شده اضافه گردید. واکنش با اضافه کردن ۱۰ میکرولیتر محلول ریبوفلاوین و قرار دادن تیوب ها در جعبه حاوی ۲ لامپ فلورسنت برای ۷ دقیقه انجام شد. پس از اتمام واکنش، اندازه گیری ها صورت گرفت. نمونه موازی شاهد با استفاده از بافر به جای نمونه ران شد. و سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. و نمونه شاهد به عنوان بلانک استفاده شد. در پایان میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس U/mg.Pro به دست آمد. در حقیقت یک واحد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به مقداری از آنزیم که نیاز است ۵۰٪ بازدارندگی احیاء NBT را در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام دهد، اطلاق می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

ابتدا محلول عصاره گیری برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش اژیلماتی و همکاران (۲۰۰۷) تهیه گردید. برای این کار گلچه‌های هر ۵ مرحلهٔ گلدهی در چهار تکرار به مقدار ۱ گرم در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند و سپس در ۱۰ میلی لیتر محلول عصاره گیری پیشنهادی اژیلماتی و همکاران (۲۰۰۷) مخلوط شدند. محلول عصاره گیری شامل ۰/۱ مولار بافر پتاسیم فسفات و ۰/۵ میلی مولار EDTA بود. عمل مخلوط کردن نمونه و محلول عصاره گیری در ظرف هاون سرد و در حمام یخ انجام گرفت. سپس محلول عصاره در سرعت ۱۵/۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی برای اندازه گیری آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش آئبی (۱۹۸٤) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بکمن و بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲٤۰ نانومتر انجام گرفت. برای این کار، ۳ میلی لیتر از محلول واکنش شامل ۵۰ میلی مولار بافر پتاسیم فسفات و ۱۲/۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرو لیتر از محلول عصاره و مقداری آب مقطر برای به حجم رسانی ریخته شد. سپس پراکسید هیدروژن اضافه گردید و کاهش در جذب بعد از ۱ دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم بر اساس حجمی از پراکسید هیدروژن که تخریب می شود، با ارجاع به منحنی استاندارد از یک غلظت شناخته شده از پراکسید هیدروژن سنجیده شد.

تعیین غلظت پروتئین

غلظت پروتئین با استفاده از روش سود و همکاران (۲۰۰٦) تعیین گردید. بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میلی گرم وزن تر گلبرگ های گل سیکلامن ایرانی در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند. سپس گلبرگ های پودر شده در محلول عصاره گیری حاوی ۵۰ میلی مولار بافر فسفات، ۲ میلی مولار EDTA، ۱ میلی مولار PMSF، ۳ میلی مولار DTT، ۰/۵ درصد حجمی تریتون X-100 و ۱۵ درصد PVPP (پلی ونیل پیرولیدون) مخلوط شدند. محلول عصاره گیری شده در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی در ۲۰٪ محلول سرد TCA (1:1, v/v) رسوب داده شد و یک شب تا صبح در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس در سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور برای ۲۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی مجددا در ۱۰٪ محلول سرد TCA (1:1, v/v)

رسوب داده شد و در شرایط مشابهٔ قبل سانتریفیوژ گردید. رسوبات ترکیب شده، در ۰/۵ مولار هیدروکسید سدیم حل گردید و محتویات بر طبق روش لوری و همکاران (۱۹۵۱) تخمین زده شد. تمامی اندازه گیری ها در طول موج ٦٦٠ نانومتر سبز و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بکمن انجام گرفت.

سنجش پلی آمین های اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Sp)

میزان پلی آمین های اسپرمیدین و اسپرمین با استفاده از دستگاه HPLC و بر اساس روش تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۱۵ گرم وزن تر از پودر گلبرگ ها با ۱۰ قسمت حجمی از پر کلریک اسید (PCA) ٤٪ به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤٨ درجه سانتیگراد در سرعت ۲۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. رسوبات ۳ بار شسته شد و در محلول تازه PCA مخلوط شدند. سپس محلول رویی در اسید هیپوکلردریک ٦ نرمال در ویال های مقاوم به آتش در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت به منظور جدا شدن پلی آمین ها از حالت Conjugate نگه داری شدند. سپس رسوبات با dansyl-chloride (3mg mL^{-1} of acetone) مخلوط شدند و با تولوئن استخراج گردیده و با دستگاه HPLC (مدل Unicam crystal 200) توسط ستون C18 و آشکار ساز ماوراء بنفش (Spherisorb ODS2, 5 µM particle diameter, 4.66250mm) سنجش گردیدند.

تجزیه آماری داده ها

نتایج با استفاده از نرم افزارهای SAS 9.1 تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش نیز با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطوح آماری ۱ و ۵ ٪ ارزیابی گردید. نتایج حاصله نیز توسط نرم افزار Excell به صورت نمودار رسم گردیدند.

نتایج و بحث

الف) خصوصیات مورفولوژیکی

اگرچه تیمار گل‌های سیکلامن ایرانی با اسپرمیدین تعداد روز از مرحلهٔ دو گلدهی تا باز شدن کامل گل را افزایش داد، لیکن همانطور که در جدول ۱ مشاهده می گردد، این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. در بین تیمارهای اعمال شده، بیشترین تعداد روز از مرحله دو گل دهی تا باز شدن کامل گل ها در اثر کاربرد غلظت ۱۰ میلی مولار اسپرمیدین خارجی به مدت ۱۹/۳۳۳ روز مشاهده گردید. این درحالی بود که غلظت مذکور تأخیر در باز شدن گل را بیشتر از تیمار ۲۰ میلی مولار اعمال کرد. از آنجایی که تأخیر در باز شدن گل از جنبه های اقتصادی به دلیل افزایش مدت زمان بازارسانی و حمل و نقل گل سیکلامن اهمیت ویژه‌ای داشته و صادرات آن را تسهیل می-نماید، لذا مناسب ترین تیمار از این جنبه به ترتیب محلول پاشی با اسپرمیدین ۱۰ و ۲۰ میلی مولار است.

همانطور که در جدول ۱ نیز مشاهده می گردد، کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش طول عمر گل سیکلامن در مقایسه با شاهد گردید. این افزایش موجب اختلاف معنی داری در تعداد روز از باز شدن گل تا پیری بین تیمارها و شاهد نگردید. افزایش عمر گل سیکلامن ایرانی تا سطح ۱۰ میلی مولار با سطح اسپرمیدین محلول پاشی همبستگی نشان داد و پس از آن در سطوح بالاتر موجب افزایش عمر گل در مقایسه با سطح پایینتر نگردید به نحوی که طولانی ترین عمر گل به ترتیب در گل های تیمار ۱۰، ۵ و ۲۰ میلی مولار مشاهده گردید. دست یافتن به بیشترین طول عمر گل با تیمار اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار با یافته تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) مطابقت

دارد. تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) در مطالعه ای بر روی گل بریدنی میخک دریافتند که کاربرد خارجی اسپرمیدین به صورت افزونهٔ محلول گلجای موجب تأخیر حداکثری پیری گردید. در خصوص افزایش عمر گل با تیمار اسپرمیدین به نظر می رسد به دلیل اختلال در مکانیزم عمل اتیلن می باشد. سود و ناگار (۲۰۰۳) نیز مکانیسم بازداشتن پیری توسط پلی آمین-ها را مربوط به بازداشتن سنتز اتیلن توسط بازداشتن فعالیت ACC Synthase دانسته اند.

تعداد روزهای شکوفا بودن گل یا تعداد روز از مرحلهٔ دوم گلدهی تا پیری نیز تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت و با تیمار مذکور افزایش یافت (جدول ۱). این افزایش تا غلظت ۱۰ میلی مولار روند افزایشی و پس از آن روند کاهش را طی نمود به نحوی که طولانی ترین دورهٔ گلدهی در گل های تیمار اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار با ٤٤/٤۳ روز مشاهده گردید. این در حالی بود که اختلاف معنی داری در تعداد روزهای شکوفا بودن گل در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید.

تعداد گل در واحد گیاه نیز با الگویی مشابهٔ تعداد روزهای شکوفا بودن گل ها تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت (جدول ۱). افزایش تعداد گل در گیاه با افزایش سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده ابتدا روند افزایشی و پس از آن روند کاهشی را طی نمود به نحوی که بیشترین تعداد گل با ٤٦/٦٦ عدد در گیاه در تیمار ۱۰ میلی مولار و پس از آن به ترتیب با ٤۱ و ۳۷/۳۳ عدد به ترتیب به تیمارهای ۵ میلی مولار و شاهد تعلق داشت. افزایش سطح محلول پاشی تا ۲۰ میلی مولار باعث کاهش غیر معنی دار تعداد گل ها به ۳۷ عدد در بوته در مقایسه با شاهد گردید. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نتیجهٔ مشابه ای با کاربرد پلی آمین دیگری به دست آوردند. آن ها دریافتند که کاربرد خارجی پوترسین موجب افزایش تعداد گلچه های گل گلایول از ۵ عدد به ۱٤/۱۳ عدد می گردد.

کاربرد اسپرمیدین به صورت محلول پاشی بر روی سیکلامن ایرانی موجب افزایش سطح برگ گردید (جدول ۱). افزایش سطح برگ با افزایش میزان اسپرمیدین کاربردی همبستگی داشت به نحوی که با افزایش میزان اسپرمیدین محلول پاشی شده، سطح برگ گیاهان تیمار شده نیز افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش متعلق به گل های تیمار اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار بود که اختلاف معنی داری با شاهد نداشت. موحد و همکاران (۲۰۱۲) نیز به طور مشابه ای دریافتند کاربرد خارجی پلی آمین های اسپرمیدین و پوترسین موجب افزایش سطح برگ در توت فرنگی می گردد.

تعداد کل برگ ها نیز همانند سطح برگ تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت و با افزایش سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده، افزایش یافت (جدول ۱). اگرچه افزایش تعداد برگ در سطوح مختلف اسپرمیدین اختلاف معنی داری نداشت، لیکن بین تیمار شاهد و تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد مشاهده گردید. این امر موجب گردید بیشترین تعداد کل برگ در واحد گیاه در تیمار ۲۰ میلی مولار با ۳۹/٦٦ عدد برگ مشاهده گردد. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نیز با کاربرد پلی آمین دیگری نتیجهٔ مشابه ای به دست آوردند. آن ها نیز همانند این پژوهش دریافتند که کاربرد خارجی پوترسین موجب افزایش تعداد برگ های گل بریدنی گلایول می گردد. میزان افزایش در آزمایش آن ها دو برابر بوده که در نتیجهٔ آن تعداد برگ های گل بریدنی گلایول از ۷ عدد به ۱۳/۳۳ عدد افزایش می یابد. این در حالی است که در این پژوهش از ۳۰/۳۳ به ۳۹/٦٦ عدد افزایش یافت.

جدول ۱- تأثیر سطوح مختلف اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی گل سیکلامن ایرانی

تیمار	BSD††	BD	TFD	TF	LA	TL
شاهد	۱۶/۳۳ a†	۲۱/۵۳ a	۳۷/۸۶ ab	۳۷/۳۳ c	۲۴۶۹/۷ a	۳۰/۳۳ b
اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۶/۷۶ a	۲۳/۶۶ a	۴۰/۴۳ ab	۴۱/۰۰ bc	۲۵۶۱/۷ a	۳۷/۰۰ ab
اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۹/۳۳ a	۲۵/۱۰ a	۴۴/۴۳ a	۴۶/۶۶ a	۲۸۱۵/۷ a	۳۷/۶۶ ab
اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۸/۶۶ a	۲۳/۲۰ a	۴۱/۸۶ ab	۳۷/۰۰ c	۲۸۷۶/۷ a	۳۹/۶۶ a

† میانگین های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی داری با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن می باشند

†† Bud Stage Days (BSD) تعداد روز از مرحله ۲ گل دهی تا باز شدن کامل، Blooming Days (BD) تعداد روز از باز شدن گل تا پیری گل (عمر گل)، Total Flowering Days (TFD) تعداد روز از مرحله ۲ گلدهی تا پیری گل (تعداد روز شکوفا بودن گل)، Total Flowers (TF) تعداد کل گل ها، Leaf Area (LA) سطح برگ (میلیمتر مربع)، Total Leaves (TL) تعداد کل برگ ها.

خصوصیات فیزیولوژیکی

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می گردد، کاربرد اسپرمیدین خارجی موجب افزایش وزن تر گل سیکلامن ایرانی گردید. این افزایش وزن تر تنها در تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی داری با شاهد داشت و موجب گردید بیشترین افزایش وزن تر به میزان ۰/۴۸۷ گرم را به خود اختصاص دهد. یافته‌های این پژوهش با یافته های ناهد و همکاران (۲۰۰۹) در خصوص کاربرد پلی آمین پوترسین بر روی گل بریدنی گلایول همخوانی دارد. آن ها دریافتند که کاربرد پلی آمین وزن تر برگ ها و گلچه ها را تا سه برابر افزایش می دهد. درگیاه توت فرنگی نیز موحد و همکاران (۲۰۱۲) به طور مشابه ای دریافتند کاربرد خارجی پلی آمین های اسپرمیدین و پوترسین موجب افزایش وزن تر برگ می گردد.

جدول ۲- تأثیر سطوح مختلف اسپرمیدین بر خصوصیات فیزیولوژیکی گل سیکلامن ایرانی.

تیمار	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	محتوی آب نسبی (گرم)	شاخص پایداری غشاء (٪)
شاهد	۱/۶۴۷ b†	۰/۱۷۲ a	۸/۵۲۴ b	۷۷/۹۱۰ b
اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱/۷۰۴ b	۰/۱۷۶ a	۸/۶۸۱ ab	۸۰/۶۷۳ ab
اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱/۸۹۳ ab	۰/۱۹۱ a	۸/۹۲۴ ab	۸۳/۳۷۳ ab
اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲/۱۳۴ a	۰/۱۹۶ a	۱۰/۴۱ a	۸۴/۴۳۵ a

† میانگین های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی داری با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن می باشند

همچنین محلول پاشی اسپرمیدین موجب افزایش وزن خشک گردید (جدول ۲). با افزایش غلظت محلول پاشی، وزن خشک گل نیز افزایش یافت به نحوی که بیشترین وزن خشک افزایش یافته به میزان ۰/۱۹۶ گرم در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار مشاهده گردید. این در حالی بود که اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد در بین تیمارهای اعمال شده و شاهد مشاهده نگردید. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نیز همانند پژوهش پیش رو دریافتند که کاربرد پلی آمین در راستای افزایش وزن تر برگ ها و گلچه ها در گل

بریدنی گلایول، موجب افزایش دو برابری وزن خشک آن ها نیز می گردد موحد و همکاران (۲۰۱۲) نیز به طور مشابه ای دریافتند کاربرد خارجی پلی آمین های اسپرمیدین و پوترسین موجب افزایش وزن خشک برگ در توت فرنگی می گردد.

جدول ۳- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز

مرحلهٔ برداشت	تیمار	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)
مرحلهٔ ۱	شاهد	۱۵/۲۰ jk†	۱۰/٤۷ ij
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۵/۸۳ ijk	۱۰/۲۷ ij
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۷/۵۷ ijk	۱۱/۰۱ hij
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲٤/۷۰ fgh	۱۳/۲۰ ghi
مرحلهٔ ۲	شاهد	۱۸/۵۳ hij	۱۰/۵۳ ij
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۷/۵۳ efg	۱٤/۷۰ gh
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۹/۹۰ ef	۱۹/٤۷ g
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱٤/۷۷ bc	۲۰/۸۰ ef
مرحلهٔ ۳	شاهد	۱۷/۳۷ ijk	۱۳/۵۰ ghi
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۹/۵۳ ef	۲۳/۰۰ def
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۱/۷۳ de	۲٤/۳۰ cde
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۵۱/۷۷ a	۲۷/۷۰ bc
مرحلهٔ ٤	شاهد	۱۱/۳۳ k	۸/۷٦ j
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۳٦/۹۰ cd	۲۲/٦۰ ef
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۸/۷۳ bc	۲۵/۲۰ bcde
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	٤٤/۲۰ b	۲۸/۹۷ b
مرحلهٔ ۵	شاهد	۳/٦۰ l	٤/۱۰ k
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۲/۳۳ ghi	۱۵/٦۰ g
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۰/۹۳ ghij	۲٦/۹۳ bcd
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	٤۳/۱۳ bc	۳٤/۱۳ a

† میانگین های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی داری با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن می باشند

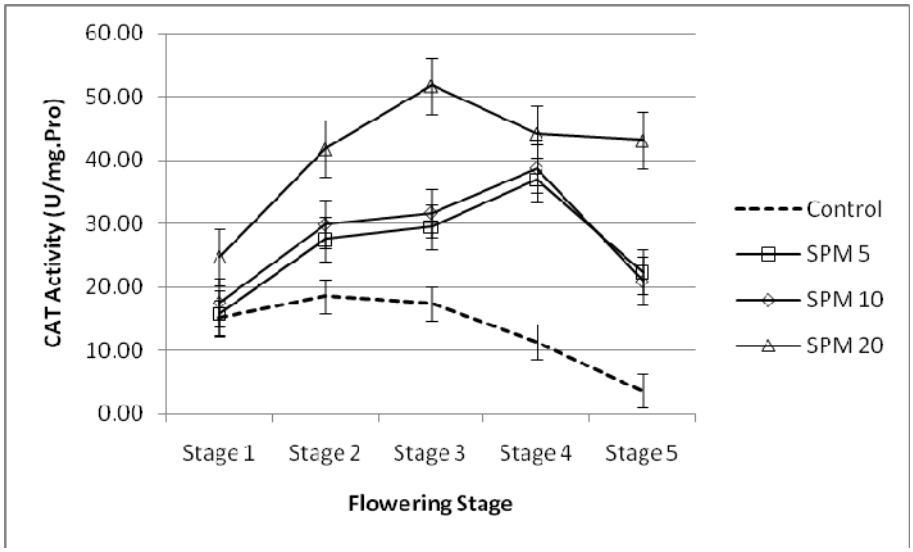
محلول پاشی گل های سیکلامن ایرانی با اسپرمیدین نیز موجب افزایش محتوی آب نسبی گلبرگ گردید. از آنجایی که بیشترین افزایش وزن تر و خشک گل های سیکلامن ایرانی در تیمار محلول پاشی ۲۰ میلی مولار مشاهده گردید، بیشترین محتوی آب نسبی گلبرگ نیز در تیمار اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار به میزان ۱۰/٤۱ گرم مشاهده گردید. با توجه به عدم معنی دار بودن اختلاف وزن خشک کلیه تیمارها، تنها اختلاف معنی دار در محتوی آب نسبی بین تیمار ۲۰ میلی مولار با شاهد مشاهده گردید و سایر تیمارها اختلاف معنی داری در این خصوص با شاهد نداشتند.

نشان داده شده است که پلی آمین ها توانایی حفظ سیالیت غشاء را بوسیله فعالیت حذفی رادیکال های آزاد را دارند (ماک کارونی و همکاران، ۱۹۹۸). همانطور که در جدول ۲ نیز مشاهده می گردد، کاربرد اسپرمیدین نیز موجب افزایش شاخص پایداری غشاء سلول های گلبرگ در مقایسه با شاهد گردید. با افزایش غلظت تیمار اسپرمیدین، شاخص پایداری نیز افزایش یافت به نحوی که بیشترین افزایش پایداری غشاء در تیمار ۲۰ میلی مولار به میزان ۸٤/٤۳ مشاهده گردید. اگرچه کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش پایداری غشاء گردید، لیکن افزایش پایداری تنها در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی داری با شاهد داشت. تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) نیز به طور مشابه ای در گل های بریدنی میخک رقم ریکو دریافتند که استفاده از اسپرمیدین روی گل‌های مذکور موجب افزایش RNA، DNA، محتوای پروتئینی و افزایش پایداری غشاء می گردد.

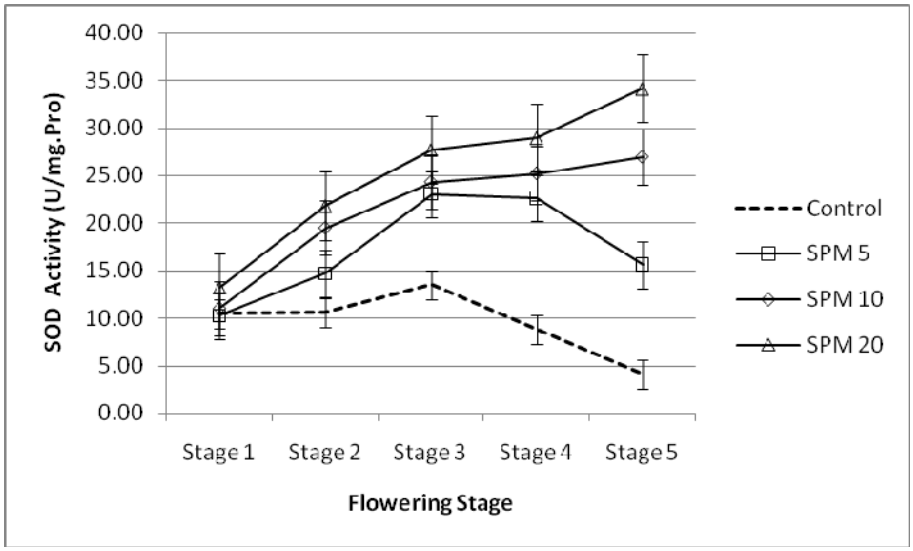
خصوصیات بیوشیمیایی

میزان فعالیت کاتالاز

همانطور که در نمودار ۱ و جدول ۳ مشاهده می-گردد، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گل سیکلامن ایرانی در مرحلهٔ دوم نمو گل تا حدودی افزایش و پس از آن روند کاهشی را طی نمود به نحوی که در پایان مرحلهٔ پنجم به یک سوم میزان فعالیت اولیه خود رسید. این در حالی است که در گل های میخک روند متفاوتی مشاهده گردیده است. فعالیت کاتالاز در گل های میخک در طی پیری افزایش و به طور غیر قابل تغییر باقی می ماند (بارتولی و همکاران، ۱۹۹۵). محلول پاشی سیکلامن با اسپرمیدین نیز موجب افزایش منعی دار سه تا پنج برابری فعالیت کاتالاز در گل های تیمار شده گردید. افزایش در میزان فعالیت کاتالاز با میزان اسپرمیدین محلول پاشی شده همسو بود به نحوی که بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار به میزان ۵۱/۷۷ واحد بر میلی گرم پروتئین مشاهده گردید. اگرچه میزان فعالیت کاتالاز در تیمار ۱۰ میلی مولار بیشتر از گل-های تیمار ۵ میلی مولار بود، لیکن اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده نگردید. این در حالی بود که اختلاف معنی دار و قابل ملاحظه ای بین میزان فعالیت کاتالاز در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار و سایر تیمارها در طی کلیه مراحل نموی گل سیکلامن مشاهده گردید. نتیجهٔ فوق با یافته های اژیلماتی و همکاران (۲۰۰۷) در خصوص کاربرد 5-SSA در گلایول همخوانی دارد. آن ها دریافتند که تیمار گل-های گلایول با 5-SSA موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می گردد. در خصوص سیر نزولی فعالیت کاتالاز در گل های تیمار شده سیکلامن، سود و همکاران (۲۰۰٦) نیز مشاهده نمودند که با گذشت عمر گلجایی و نزدیک شدن به پایان عمر گلجایی میزان فعالیت کاتالاز در گل های رز نیز کاهش می-یابد. این در حالی بود که در مرحلهٔ پنجم نمو گل سیکلامن تیمار شده با اسپرمیدین میزان فعالیت کاتالاز باز هم بیشتر از میزان فعالیت حداکثری آن در گل‌های شاهد می باشد. از آنجایی که کاتالاز موجب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می گردد و از این طریق سطح پراکسید هیدروژن را در سلول کاهش می‌دهد (اسکاندالیوس، ۱۹۹۳). افزایش فعالیت این آنزیم با کاربرد خارجی اسپرمیدین موجب حفاظت سلول ها در مقابل رادیکال های آزاد و انواع تنش ها می گردد (ویلکینز و همکاران، ۱۹۹۷).



نمودار ۱- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز.



نمودار ۲- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز.

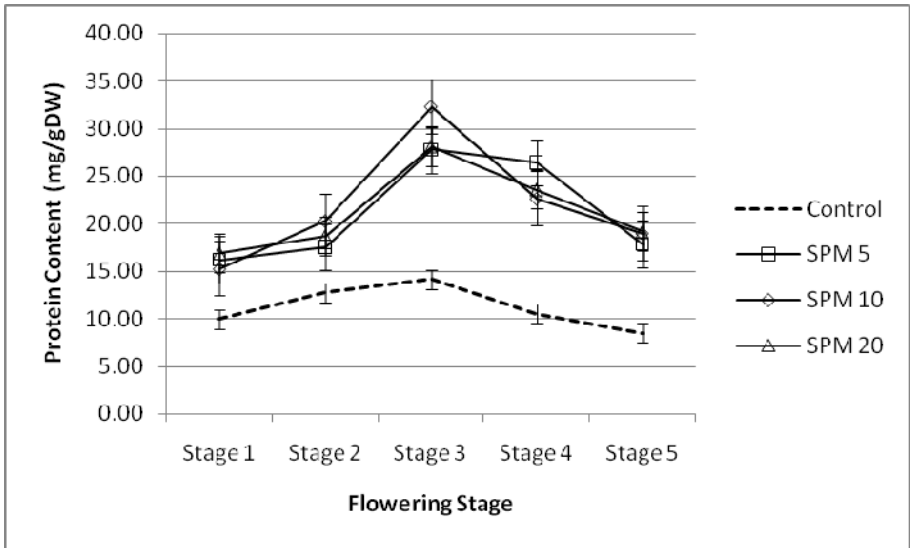
میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

همانطور که در نمودار ۲ و جدول ۳ مشاهده می-گردد، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طی مراحل نمو گل در ابتدا تا حدودی افزایش و از مرحلهٔ ٤ به بعد کاهش یافت به نحوی که در مرحلهٔ ۵ به نصف میزان ابتدایی خود رسید. محلول پاشی سیکلامن با اسپرمیدین موجب افزایش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در طی مراحل نمو گل گردید. این روند افزایشی با افزایش غلظت محلول پاشی افزایش یافت به نحوی که بیشترین میزان فعالیت به میزان ۳٤/۱۳ واحد بر میلی گرم پروتئین در تیمار محلول پاشی ۲۰ میلی مولار و در مرحلهٔ ۵ مشاهده گردید. محلول پاشی با غلظت ۵ میلی مولار اسپرمیدین کارایی لازم را در خصوص حفظ سطح بالای فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز به خصوص در مرحلهٔ ٤ و ۵ موجب نگردید و همانطور که در

نمودار۲ مشاهده می گردد، میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در مرحلهٔ ۵ شدیداً کاهش یافت. پژوهش-های پیشین بیانگر کاهش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و افزایش رادیکال سوپر اکسید و افزایش غلظت پراکسید هیدروژن همزمان با پیری و مرگ سلول در گل های بریدنی می گردد (دباسیس و همکاران، ۲۰۰۷). این در حالی است که سوپر اکسید دیسموتاز رادیکال های آزاد سلول را خنثی و بدین روش از خسارت به سلول ها و پیری جلوگیری می-نماید (اسمارت، ۱۹۹٤؛ کالیس، ۱۹۹۵). محلول پاشی در گل های بریدنی جهت افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانتی به خصوص سوپر اکسید دیسموتاز در گل-های مختلفی صورت گرفته است. همانند این پژوهش گرایلو و قاسم نژاد (۲۰۱۱) دریافتند که محلول پاشی گل های رز رقم یلو آیلند با سالیسیلیک اسید موجب تأخیر پیری از طریق بهبود سیستم آنتی اکسیدانتی و کاهش خسارت اکسیداتیو در طی پیری گل های رز می گردد. آنها به طور به خصوص دریافتند که محلول پاشی موجب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در گلبرگ های گل رز می گردد.

میزان پروتئین کل

محتوی پروتئین کل در تمامی تیمارها یک روند مشابه ای داشت که شامل افزایش محتوی پروتئین از مرحله ۱ تا مرحله ۳ و سپس کاهش آن در مراحل ٤ و ۵ گلدهی بود (نمودار ۳ و جدول ٤). این روند از الگوی مطرح شده برای سایر گل ها پیروی نمود. میزان تغییر پروتئین کل در تیمار شاهد کمتر از ٦ میلی گرم بر گرم وزن خشک بود در حالی که در گل-های تیمار شده میزان تغییر تا دو برابر میزان اولیه (۱۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده گردید. افزایش در میزان پروتئین کل در نتیجهٔ تیمار با اسپرمیدین موجب گردید تا کلیهٔ تیمارها اختلاف معنی دار و قابل ملاحظه ای با شاهد داشته باشند. این در حالی بود که بین تیمارهای اسپرمیدین اختلاف معنی داری در میزان پروتئین کل مشاهده نگردید. لازم به ذکر است بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۱۰ میلی مولار در مرحلهٔ سوم گلدهی و به میزان۳۲/۳۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک و کمترین آن در تیمار شاهد و در مرحله ۵ گلدهی به میزان ۸/٤٦ میلی گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد. افزایش میزان پروتئین در نتیجه کاربرد اسپرمیدین با یافته های تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) روی رقم ریکو میخک همخوانی دارد. تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) دریافتند که با تیمار نمودن گل های میخک میزان محتوای پروتئین ها افزایش و تخریب DNA به تاخیر می افتد. از آنجائیکه پلی آمین های درونی به RNA و DNA (پوحجادپلتو و هولتا، ۱۹۹٦) و پروتئین ها (تاسونی و همکاران، ۱۹۹٦) به صورت قوی می چسبند و همچنین موجب باز داشتن فعالیت RNAse (آیسولا و فرانزونی، ۱۹۸۹) و پروتئاز می شوند (والدن و همکاران، ۱۹۹۷)، بنابراین علت حفظ بالاترین سطح پروتئین در تیمار اسپرمیدین با غلظت ۲۰ میلی مولار در این آزمایش ممکن است به علت خاصیت چسبندگی پلی آمین ها به پروتئین و جلوگیری از تخریب پروتئین ها توسط آنزیم ها باشد. در مطالعه‌ای که روی دو گونه رز *R. damascena* و *R. bourboniana* انجام شد نشان داده شد که تاثیر تأثیر پلی آمین ها در به تاخیر انداختن پیری برگ ها در دو گونه رز فوق ممکن است در نتیجه تقابل با RNA و باز داشتن فعالیت آنزیم ها و یا سنتز آنزیم ها باشد (سود و ناگار، ۲۰۰٤).



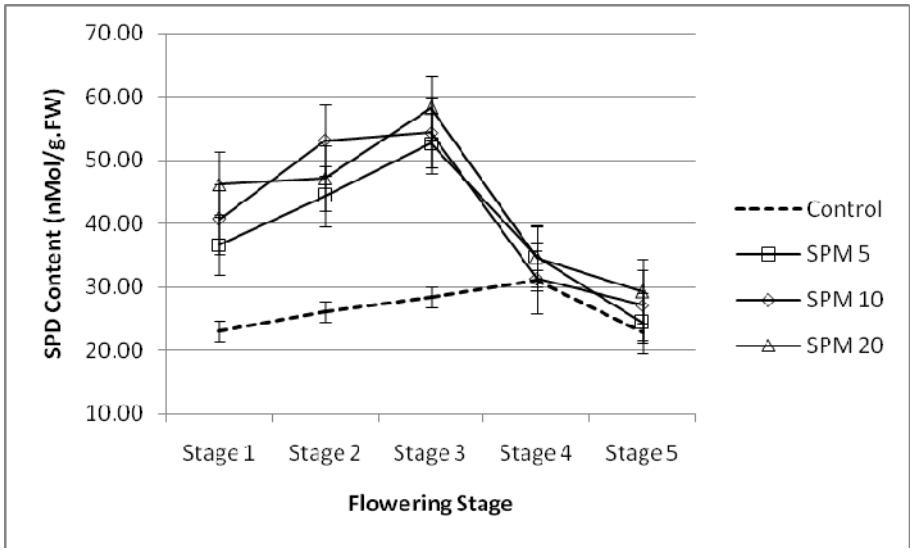
نمودار ۳- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان پروتئین کل گلبرگ سیکلامن ایرانی

میزان اسپرمیدین

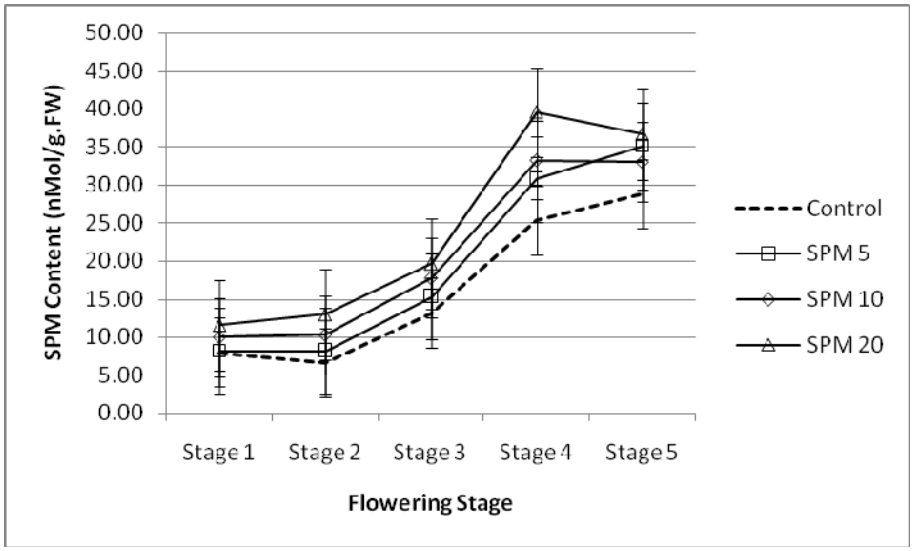
میزان اسپرمیدین داخلی در تیمار شاهد تا مرحلهٔ چهارم گلدهی روند افزایشی ملایم و پس از آن روند کاهشی ملایمی را طی نمود (جدول ٤ و نمودار ٤). این درحالی بود که با کاربرد اسپرمیدین خارجی میزان اسپرمیدین داخلی تا مرحلهٔ گلدهی سوم روند افزایشی شدید و پس از آن روند کاهشی شدیدی را به نحوی طی نمود که میزان آن علیرغم دو برابر بودن تا مرحلهٔ سوم، در مرحلهٔ پنجم نزدیک به میزان آن در گل های شاهد رسید. بیشترین میزان افزایش اسپرمیدین داخلی در مرحلهٔ سوم و در گل های تیمار شده با ۱۰ میلی مولار اسپرمیدین خارجی مشاهده گردید. همانند این پژوهش تاسونی و همکاران (۲۰۰٦) دریافتند که تیمار گل های بریدنی میخک رقم ریکو باعث تغییر سطوح پلی آمین ها و به تاخیر انداختن تخریب DNA می گردد.

میزان اسپرمین

به طور کلی میزان اسپرمین گلبرگ گل در سیکلامن ایرانی با پیشرفت مرحلهٔ نموی گل افزایش می یابد (نمودار ۵ و جدول ٤) به نحوی که میزان آن در مرحلهٔ پنجم به بیش از سه برابر میزان اولیه خود یعنی ۲۸/۸۷ نانو مول بر گرم وزن تر رسید. تیمار گل‌ها با اسپرمیدین نیز اگرچه موجب افزایش میزان اسپرمین داخلی گشت، لیکن موجب تغییر در روند ذکر شده برای گل های شاهد نگردید. میزان اسپرمین داخلی با سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده همسو بود به نحوی که با افزایش غلظت اسپرمیدین، میزان اسپرمین داخلی افزایش یافت. این افزایش تنها در گل‌های تیمار ۲۰ میلی مولار با شاهد اختلاف معنی داری داشت. افزایش میزان اسپرمین داخلی با یافته-های پیشین در خصوص افزایش پلی آمین های داخلی در نتیجه محلول پاشی ترکیبات همچون سالیسیلیک اسید مختلف همسو می باشد (نمت و همکاران، ۲۰۰۲).



نمودار ٤- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان اسپرمیدین گلبرگ سیکلامن ایرانی



نمودار ٥- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان اسپرمین گلبرگ سیکلامن ایرانی

نتیجه گیری

به نظر می رسد با افزایش میزان محلول پاشی اسپرمیدین تا ۲۰ میلی مولار خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمایی گل سیکلامن ایرانی بهبود و افزایش می یابد لیکن از نظر گلدهی، نمو و پیری گل کاربرد خارجی اسپرمیدین تنها تا سطح ۱۰ میلی مولار تأثیر مطلوب دارد. زیرا سطوح بالاتر بر جنبه های رشد رویشی گل تأثیر مطلوب داشته و از اثرات مطلوب بر رشد جنسی (همچون تعداد روز لازم برای باز شدن گل، تعداد روزهای گلدهی و تعداد گل در گیاه) کاسته می شود (این درحالی است که همچنان گل های تیمار ۲۰ میلی مولار تأثیر مطلوبی در مقایسه با شاهد در بر داشته است). لذا با توجه به اهمیت گل در بازارپسندی سیکلامن ایرانی مناسبترین سطح محلول پاشی با اسپرمیدین جهت این گل ۱۰ میلی مولار می باشد. با توجه با اینکه پژوهش پیش رو

اولین پژوهشی است که به بررسی تأثیر محلول پاشی پلی آمین ها بر کیفیت و کمیت گیاه زینتی سیکلامن ایرانی پرداخته است، امید می رود اطلاعات مفیدی در زمینه های مختلف کاربرد پلی آمین ها از جنبه های مختلف تأمین نموده تا کیفیت و کمیت این گیاه بومی بهبود و تولید آن رونق یابد.

جدول ٤- برهمکنش اسپرمیدین و مرحلهٔ نموی گل بر میزان پروتئین، پلی آمین های اسپرمیدین و اسپرمین

مرحلهٔ برداشت	تیمار	میزان پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	میزان اسپرمیدین (نانو مول بر گرم وزن تر)	میزان اسپرمین (نانو مول بر گرم وزن تر)
مرحلهٔ ۱	شاهد	۹/۹۳ ij†	۲۳/۰۳ i	۸/۰۰ i
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱٦/۲۰ efghi	۳٦/٦۷ efg	۸/۱٦ i
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۵/۲۷ fghij	٤۰/۷۳ def	۹/۹٦ hi
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱٦/۹۳ defgh	٤٦/۲۰ bcde	۱۱/۵۳ ghi
مرحلهٔ ۲	شاهد	۱۲/۷۳ ghij	۲٦/۰۷ hi	٦/٦٦ i
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۷/۵۳ defg	٤٤/۳۳ cde	۸/۲۰ i
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۰/۳۰ cdef	۵۳/۱۷ abc	۱۰/۲۷ hi
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۸/۷۳ defg	٤۷/۱۷ bcd	۱۲/۹۳ ghi
مرحلهٔ ۳	شاهد	۱٤/۱۳ fghij	۲۸/٤۳ ghi	۱۳/۲۰ ghi
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۷/۷۷ ab	۵۲/٦۳ abc	۱۵/۳۷ fgh
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۲/۳۰ a	۵٤/۳۷ ab	۱۷/۷۷ fg
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲۸/۱۳ ab	۵۸/۲۷ a	۱۹/٦۰ ef
مرحلهٔ ٤	شاهد	۱۰/۵۰ hij	۳۱/۰۷ fghi	۲۵/۳۰ de
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲٦/٤۳ abc	۳٤/۷۳ fgh	۳۰/۷۷ bcd
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۲/٦۳ bcde	۳۱/۳۰ fghi	۳۳/۲۷ abc
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲۳/٦۰ bcd	۳٤/٦۳ fgh	۳۹/۵۳ a
مرحلهٔ ۵	شاهد	۸/٤٦ j	۲۲/۸۰ i	۲۸/۸۷ cd
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۷/۸۳ defg	۲٤/۳۳ i	۳۵/۱۰ abc
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۹/۰۰ defg	۲۷/۱۷ ghi	۳۳/۰۳ bc
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۹/۱۷ defg	۲۹/۳۰ ghi	۳٦/٦۳ ab

† میانگین های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف آماری معنی داری با استفاده از آزمون مقایسه میانگین دانکن می باشند

منابع

شیراوند، د. ۱۳۸۹. گل های آپارتمانی و شاخه بریدنی. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. تهران، ایران. ۲۵۹ ص.

قاسمی قهساره، م. و م. کافی. ۱۳۹۰. گلکاری علمی و عملی. انتشارات مؤلف. تهران، ایران. صص: ۲٦۹-۲۷۳.

Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Meth Enzymol. 105:121–126.

Bartoli, C.G., M. Simontacchi, J. Guiamet, E. Montaldi and S. Puntarulo. 1995. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation during aging of *Chrysanthemum morifolium* RAM petals. Plant Sci. 104: 161–168.

Bayer, W.F and I. Fridovich .1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in condition. Annals Biochem. 161:559–566.

Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and J. Martin-Tanguy. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Sci. 140: 103–125.

Callis, J. 1995. Regulation of protein degradation. Plant Cell. 7: 845–857.

Debasis, C., J. Chatterjee and S.K. Datta. 2007. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in *Chrysanthemum* florets. Plant Growth Regul. 53: 107-115.

Dole, J.M. and H.F. Wilkins. 1999. Floriculture, Principles and Species. Prentice Hall. New Jersey, USA. pp: 282-287.

Ezhilmathi, K. 2001. Physiological and biochemical studies of senescence in *Gladiolus*. M.Sc. Thesis. Indian Agricultural Research Institue, New Delhi, India.

Galston, A.W., R. Kaur-Sawhney, T. Altabella and A.F. Tiburcio. 1997. Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. Bot. Acta. 110: 197–207.

Gerailoo, S. and M. Ghasemnezhad. 2011. Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in 'Yellow Island' cut rose flowers. J. Fruit Ornamental Plant Res. 19(1): 183-193.

Hossain, Z., A.K. Azad Mandal, S. Kumar Datta and A. Krishna Biswas. 2006. Decline in ascorbate peroxidase activity a prerequisite factor for tepal senescence in gladiolus. J. Plant Physiol. 163: 186-194.

Isola, M.C. and L. Franzoni. 1989. Inhibition of net synthesis of ribonuclease by polyamines in potato tuber slices. Plant Sci. 63: 39–45.

Kakkar, R.K., P.K. Nagar, P.S. Ahuja and V.K. Rai. 2000. Polyamines and plant morphogenesis. Biol. Plant. 43: 1–11.

Kumar, A., T. Altabella, M.A. Taylor and A.F. Tiburcio. 1997. Recent advances in polyamine research. Trends Plant Sci. 2: 124–130.

Lee, M.H., S.H. Lee and K.Y. Park. 1997. Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. J. Plant Physiol. 151: 68–73.

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.

Lowry, O.H., N.H. Rosebrough, S.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Anal. Biochem. 193: 265–275.

Maccarrone, M., A. Baroni and A. Finazzi-Agro. 1998. Natural polyamines inhibit soybean (*glycine max*) lipoxigenase-1, but not the lipoxygenase-2 isozyme. Arch Biochem. Biophys. 356: 35-40.

Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regul. 34: 135-148.

Movahed, N., Eshghi, S., Tafazoli, E., Jamali, B. 2012. Effects of polyamins on vegetative characteristics, growth, flowering and yield of strawberry ('Paros' and 'Selva'). Acta Horticulturae. 926: Lisbon, Portugal.

Nahed, A.A.; G. Taha Lobna, S., Ibrahim Soad. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of Gladiolus plants at Nubaria. Ozean J. Appl. Sci. 2(2).

Nemeth, M., T. Janda, E. Horvath, E. Paldi and G. Szalai. 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. Plant Sci. 162:569-574.

Pandey, S., S.A. Ranande, P.K. Nagar and N. Kumar. 2000. Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. India Acad. Sci. 25: 291-299.

Pohjanpelto, P. and E. Holtta. 1996. Phosphorylation of Okazaki-like DNA fragments in mammalian cells and role of polyamines in the processing of this DNA. EMBO J. 15: 1193-1200.

Sairam, R.K., P.S. Deshmukh and D.S. Shukla. 1997. Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. Agron. Crop Sci. 178: 171-1.

Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol. 101: 7–12.

Smart, C. 1994. Gene expression during leaf senescence. New Phytol. 126: 419–448.

Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. Plant Growth Regul. 39: 155-160.

Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2004. Changes in endogenous polyamines during flower development in two diverse species of rose. Plant Growth Regul. 44: 117-123.

Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2008. Post-harvest alterations in polyamines and ethylene in two diverse rose species. Acta Physiol. Plant. 30: 243-248.

Sood, S.H., D. Vyas and P.K. Nagar. 2006. Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species. Sci. Hort. 108: 390-396.

Tassoni, A., P. Accettulli and N. Bagni. 2006. Exogenous spermidine delays senescence of *Dianthus caryophyllus* flowers. Plant Biosystems. 140:107-114.

Tassoni, A., F. Antognoni and N. Bagni. 1996. Polyamine binding to plasma membrane vesicles from zucchini hypocotyls. Plant Physiol. 110: 817–824.

Walden, R., A. Cordiero and A.F. Tiburcio. 1997. Polyamines: Small molecules triggering pathways in plant growth and development. Plant Physiol. 113: 1009–1013.

Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schrauder, C. Langebartels, M. van Montagu, D. Inzea dn W. van Camp. 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants. EMBO J. 16: 4806–4816.

Effects of spermidine spray on morphological, physiological and biochemical characteristics of *Cyclamen persicum* Miller.

M. Farjadi Shakib[1], R. Naderi[2], M. Mashhadi Akbar Boujar[3]

Received: 2012-18-11 Accepted: 2012-12-9

Abstract

As Persian cyclamen quality and quantity is affected extensively by its nutrition and environmental factors, and regarding the importance and special role of poly amines in plant nutrition, this experiment was conducted to evaluate the external application of spermidine on the quality and quantity of this Iranian native flower. Therefore an experiment was conducted in two parts. In the first part, cyclamen plants were sprayed with spermidine (0, 5, 10 and 20 mM) in a completely randomized design and morphological and physiological characteristics were studied. The second part was factorially arranged in a completely randomized design and cyclamen plants were treated with spermidine (0, 5, 10 and 20 mM) at five different flower development stages to study biochemical characteristics. Studied morphological characteristics were: bud stage days, blooming days, total flowering days, total flowers, leaf area and number. Studied physiological characteristics were: fresh weight, dry weight, relative water content and membrane stability index of petals. For biochemical characteristics superoxide dismutase, catalase beside protein, spermidine and spermine content were studied. Morphological results indicate the beneficial effect of external spermidine application on flowering and vegetative growth of Persian cyclamen. Effective level of spermidine application on flowering characteristics was 10 mM while for vegetative growth it was 20 mM. Besides that, spermidine application increased fresh weight, dry weight, relative water content and membrane stability index of petals. Free radical scavengers such as SOD and CAT beside protein content increased during flowering stages 1 to 5. Spermine content showed a similar increasing trend by spermidine application, while spermidine content increased during flowering phase 1-3 and decreased afterwards.

Key words: Catalase, membrane stability index, spermine, superoxide dismutase, flower life.

1- PhD Student, Islamic Azad University, Science and Research Branch
2 - Professor Associated, Tehran University
3- Professor Associated, Tabyat Modares University of Tehran