

## بررسی پیش تیمار اسپرمین بر برخی پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی کدو (*Cucurbita pepo* L.) تحت تنش شوری

فاطمه نژادعلیمرادی<sup>۱\*</sup>، فاطمه نصیبی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۷/۱۹)

### چکیده

اسپرمین (Spm)، گروهی از ترکیبات پلی‌آمینی واجد چهار گروه نیتروژن (تترآمین) و با ظرفیت بافری بیشتری است که قادر به افزایش سیستم دفاعی گیاه در برابر بسیاری از تنش‌ها می‌باشد. در این تحقیق که در سال ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته انجام شد، اثرات محافظتی پیش‌تیمار Spm بر تخفیف تنش شوری در گیاه کدو (*Cucurbita pepo* L.) مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور، Spm در سه سطح صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار به مدت پنج روز قبل از اعمال تنش به محیط کشت هیدروپونیک اضافه شد. تیمار شوری (NaCl) در سه سطح صفر، ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار اعمال شد. آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داده که تنش شوری به‌طور قابل توجهی پارامترهای رشد (وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه)، محتوای آب برگ (RWC)، مقدار پروتئین را کاهش و پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی را افزایش داد. علاوه بر این مقدار پرولین، گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گاپاکل پراکسیداز (GPOX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) تحت تنش شوری افزایش یافت. پیش‌تیمار با Spm موجب بهبود رشد و افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری گردید. Spm با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی (SOD، GPOX، APX)، مقدار پرولین و GABA موجب کاهش تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها، نشت یونی و در نهایت افزایش پارامترهای رشدی گردید؛ بنابراین، پیش‌تیمار Spm به عنوان یک استراتژی کارآمد برای بهبود رشد گیاه و افزایش تحمل کدو در برابر تنش شوری پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپرمین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش شوری، گاما آمینوبوتیریک اسید

### مقدمه

اکسیداتیو و تغییر فتوسنتز و متابولیسم گیاه مهار کند. افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) در تنش شوری منجر به افزایش واکنش‌های سمی مانند پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین و جهش DNA می‌شود (Hnilickova et al., 2021). پلی‌آمین‌های (PA) گیاهی به‌طور عمده شامل پوترسین

تنش شوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده رشد و تولید گیاه در بسیاری از مناطق جهان جمله ایران است (Fang et al., 2021; Quintero et al., 2011). شوری می‌تواند رشد گیاه را از طریق اختلال تنش اسمزی و یونی، تولید تنش

(Put)، اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Spm) هستند. تصور می‌شود PAها در پاسخ سلولی طی تنش شوری با تنظیم هومئوستازی ROS از طریق دو مکانیسم مجزا نقش داشته باشند. نخست PAها تخریب ROS را با پاکسازی رادیکال‌های آزاد و فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش تحریک می‌کنند. دوم، PAها تولید ROS را از طریق کاتابولیسم PA در آپوپلاست تحریک می‌کنند (Michaeli et al., 2011). مطالعات نشان داده‌اند که PAها در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی گیاهان عالی شرکت می‌کنند (Gondor et al., 2021). به هر حال، اثر حفاظتی PAها بر اساس گونه گیاهی، میزان یا نوع PA و سطوح تنش متفاوت است (Suzuki et al., 2012). گزارش شده است که Spd (۱ میلی‌مولار) تحمل به دمای بالای گیاهچه‌های خیار را با تأخیر در متابولیسم کلروفیل بهبود می‌بخشد (Zechmann et al., 2011). همچنین نشان داده شده است که کاربرد Spm برون‌زا آسیب ناشی از تنش شوری در خیار (Angelini et al., 2010)، تنش اسمزی و کم‌آبی در سویا و مرکبات (Ahmad et al., 2013)، سرمازدگی در خیار (*Cucumis sativus*) (Gill and Tuteja, 2010) و Spd نیز تنش سرما در ذرت (Gao et al., 2021) را کاهش می‌دهد، در پژوهش دیگری نیز گزارش شده است که اسپری برگ‌های همزمان Put و Spm می‌تواند برخی اثرات مخرب تنش خشکی در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) را کاهش دهد (توپچی و همکاران، ۱۳۹۹). گیاه کدو طی (*Cucurbita pepo* L.) متعلق به تیره Cucurbitaceae، گیاهی یک ساله و رونده با ساقه‌های توخالی و کرک‌دار، ریشه راست و منشعب است. برگ‌ها پهن با رگ‌بندی پنجه‌ای و گل‌ها تک جنس، منظم و اجزای گل پنج تایی هستند. تخمدان تحتانی و تمکن جانبی است. رنگ گل‌ها، زرد-نارنجی، میوه‌ها، کروی شکل و طی نمو، ابتدا سبز رنگ، به تدریج نارنجی و زرد (رسیدگی کامل) می‌شوند. دانه‌ها به رنگ سبز زیتونی تا سبز تیره هستند (قهرمان، ۱۳۷۳). برخلاف سایر گونه‌های کدو که دارای دانه با پوشش لیگنینی شده، سخت و چرمی هستند، این گونه به دلیل عدم وجود پوشش سخت در اطراف دانه‌ها،

کدوی دانه برهنه یا کدو تخم کاغذی (کدو طبی) نامیده می‌شود که دارای ارزش دارویی و اقتصادی است (Li et al., 2013). به دلیل استفاده خوراکی و دارویی آن، یک محصول زراعی مهم اقتصادی می‌باشد و به‌ویژه در مرحله استقرار گیاهچه حساس به شوری است (Cabello et al., 2014). بنابراین، توسعه روش‌هایی برای اجتناب یا کاهش آسیب تنش شوری و پیدا کردن اصول فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تحمل به شوری در این گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از ترکیبات یا تنظیم‌کننده‌های رشد به‌صورت برون‌زا در بسیاری از موارد در کاهش اثرات تنش‌های محیطی مؤثر بوده است. بررسی پاسخ افزایش مقاومت گیاه کدو به تنش شوری با استفاده از Spm به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد در گیاهان، یکی دیگر از اهداف مهم این تحقیق محسوب می‌شود. در این مطالعه، Spm به دلیل اینکه یک تتراآمین می‌باشد و حاوی بار خالص بالاتری در مقایسه با Put و Spd است و با توجه به در اختیار داشتن چهار گروه نیتروژن، دارای ظرفیت بافری بیشتری می‌باشد از طرفی به دلیل اینکه تحقیق بر روی Spm بسیار کمتر از دو پلی‌آمین دیگر انجام شده است این پلی‌آمین انتخاب شد. در این تحقیق به‌جای کاربرد تنظیم‌کننده رشد به‌صورت اسپری برگ‌ها و همزمان با اعمال تنش که به‌طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است و احتمالاً از دقت کمتری برخوردار است، از پیش‌تیمار Spm و همچنین اعمال تنش شوری از طریق سیستم ریشه‌ای در کشت هیدروپونیک استفاده شد. نقش PAها در کاهش اثرات بسیاری از تنش‌های محیطی ثابت شده است اما در مورد نقش این مواد در افزایش یا کاهش مقاومت به تنش شوری در گیاه کدو اطلاعات محدودی وجود دارد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر پیش‌تیمار Spm بر برخی شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه کدو و بهبود مقاومت به تنش شوری در این گیاه بود.

#### مواد و روش‌ها

کشت گیاه و تیماردهی: این تحقیق در فصل بهار سال ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه

تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته انجام شد. دانه‌های کدو پوست کاغذی در پتری‌دیش‌های حاوی دو لایه کاغذ صافی که با آب مقطر استریل مرطوب شده بودند، در تاریکی و دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴۸ ساعت جوانه زدند. بعد از ظهور گیاهچه‌ها، دسته‌های پنج تایی از گیاهچه‌ها به ظروف پلاستیکی که هر کدام حاوی ۶ لیتر محلول غذایی هوگلند (Hoagland and Arnon, 1950) با رقت  $0/5$  ( $\text{pH}=6\pm 0/2$ ) بودند، تحت کشت هیدروپونیک منتقل شدند. گیاهچه‌های ۱۰ روزه با اندازه یکنواخت جهت تیماردهی با محلول‌های غذایی مختلف پیش‌تیمار شدند: (۱) شاهد: محلول غذایی هوگلند، (۲) Spm (سیگما) (صفر،  $0/1$  و  $1$  میلی‌مولار) که به محلول غذایی اضافه شد. پس از پنج روز پیش‌تیمار Spm، هر دو گروه با کلرید سدیم (صفر،  $40$  و  $80$  میلی‌مولار) به مدت هفت روز تیمار شدند. جهت انتخاب تیمارهای مختلف، بهینه‌سازی در مطالعه مقدماتی انجام شد. محلول غذایی حاوی مواد فوق در هر تیمار هر دو روز یکبار تعویض شد. گیاهان در تمام مراحل آزمایش با پمپ هوا هوادهی شدند. هفت روز پس از شروع تیمار شوری، ساقه و ریشه گیاهان با آب مقطر شسته شد و نمونه‌برداری از برگ سوم کاملاً توسعه یافته و بخش میانی ریشه برای بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی انجام شد.

$$EL = EC_1 / EC_2 \times 100$$

جهت سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، محتوای مالون دالدهید (MDA) با استفاده از تری‌کلرو استیک اسید (TCA) و تیوباربیتریک اسید (TBA) به روش (Heath and Packer, 1968) انجام شد.

#### اندازه‌گیری محتوای پرولین و گاما آمینوبوتیریک اسید

(GABA): محتوای پرولین براساس روش Bates و همکاران و (۱۹۷۳) با استفاده از معرف نین‌هیدرین اندازه‌گیری شد و میزان جذب پرولین در  $520$  نانومتر اندازه‌گیری شد (Bates et al., 1973). میزان GABA براساس روش Bor و همکاران (۲۰۰۹) و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) (Agilent 1100، استرالیا) تعیین شد.

#### استخراج عصاره پروتئینی، سنجش پروتئین کل و

فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: عصاره‌گیری با بافر فسفات  $50$  میلی‌مولار با  $\text{pH}=7/2$  انجام شد. پس از سانتریفیوژ از محلول رویی برای مطالعه فعالیت آنزیم‌ها و نیز سنجش پروتئین کل استفاده گردید. جهت سنجش مقدار پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷۶) و معرف بیوره استفاده شد و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلومین برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) انجام و فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی برحسب مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در  $100$  میکرولیتر عصاره، در یک دقیقه محاسبه گردید (Dhindsa et al., 1981). سنجش فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز با استفاده از روش Plewa و همکاران (۱۹۹۱) انجام شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، جذب در  $290$  نانومتر محاسبه شد و فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) موجود در  $150$  میکرولیتر عصاره گزارش شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): جهت محتوای نسبی آب بافت برگ، وزن تر و خشک برگ اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله زیر برحسب درصد محاسبه شد (Hayat et al., 2007).

#### محتوای نسبی آب برگ (RWC): جهت محتوای نسبی

آب بافت برگ، وزن تر و خشک برگ اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله زیر برحسب درصد محاسبه شد (Hayat et al., 2007).

#### محتوای نسبی آب برگ (RWC): جهت محتوای نسبی

آب بافت برگ، وزن تر و خشک برگ اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله زیر برحسب درصد محاسبه شد (Hayat et al., 2007).

$100 \times (\text{وزن خشک} - \text{وزن تورگر}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}) = (\%)$  محتوای نسبی آب (وزن خشک - وزن تر)

#### اندازه‌گیری نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدها: میزان

نشت یونی در برگ‌های گیاهان تیمار شده با استفاده از روش

وزن خشک اندام هوایی هم در گیاهان شاهد و هم تحت تنش شوری گردید. در هر دو شرایط شاهد و تنش شوری، غلظت ۱ میلی مولار Spm به طور معنی داری مؤثرتر از ۰/۱ میلی مولار بود. غلظت ۱ میلی مولار Spm بیشترین اثر را در افزایش وزن خشک اندام هوایی نشان داد (جدول ۱). تنش شوری در غلظت ۸۰ میلی مولار وزن خشک ریشه را به طور معنی داری کاهش داد. در شرایط تنش شوری Spm باعث افزایش معنی داری در وزن خشک ریشه شد. در شوری ۸۰ میلی مولار و غلظت ۱ میلی مولار Spm باعث افزایش وزن خشک ریشه شد (جدول ۱).

#### محتوای نسبی آب (RWC) و نشت پذیری یونی (EL)

در برگ: همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است هر دو سطح تنش شوری محتوای نسبی آب برگ را به طور معنی داری کاهش داد. پیش تیمار با Spm در شرایط شاهد تأثیر معنی داری بر محتوای نسبی آب برگ نداشت ولی در هر دو سطح شوری، هر دو غلظت Spm موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ شد. در شوری ۴۰ میلی مولار، تفاوتی بین دو غلظت Spm مشاهده نشد ولی در شوری ۸۰ میلی مولار، غلظت ۱ میلی مولار Spm از غلظت ۰/۱ میلی مولار مؤثرتر بود. هر دو سطح تنش شوری به طور معنی داری درصد نشت یونی را افزایش دادند. پیش تیمار گیاهان با هر دو غلظت Spm منجر به کاهش نشت یونی در شرایط تنش شوری گردید. در شوری ۴۰ میلی مولار، غلظت ۰/۱ میلی مولار Spm نسبت به ۱ میلی مولار مؤثرتر بود. در شوری ۸۰ میلی مولار، تفاوتی بین دو غلظت Spm مشاهده نشد.

#### مقدار مالون دآلدئید در برگ و ریشه: تنش شوری مقدار

مالون دآلدئید برگ و ریشه را در هر دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی مولار به طور معنی داری افزایش داد. پیش تیمار با هر دو غلظت Spm در شرایط بدون تنش اثر معنی داری بر میزان مالون دآلدئید برگ و ریشه نداشت ولی در هر دو سطح شوری، منجر به کاهش مقدار این صفت شد (جدول ۱).

جدول ۱- اثر تیمار شوری و پیش تیمار Spm بر برخی پارامترهای رشدی، محتوای نسبی آب، نشت یونی و محتوای مالون دآلدئید برگ و

(Nakano and Asada, 1981). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس روش Rao و Sresty (۲۰۰۰) اندازه گیری شد. براساس این روش ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7/8)، متیونین ۱۳ میلی مولار، نیتروبلوتترازولوم ۷۵ میکرومولار، ریپوللوین ۲۰ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میکرومولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. واکنش با برداشتن فویل آلومینیومی و قرار دادن نمونه ها در مقابل نور ۵۰۰۰ لوکس شروع شد. پس از ۱۵ دقیقه نور قطع شد و بلافاصله جذب نمونه ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد و فعالیت آنزیمی برحسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی گرم) در ۵۰ میکرولیتر عصاره، بیان شد.

آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت. برای مقایسه میانگین ها نیز از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح پنج درصد استفاده شد.

#### نتایج

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه: پیش تیمار با Spm وزن تر اندام هوایی را در نمونه های تحت تنش شوری افزایش داد و این اثر در نمونه های تیمار شده با غلظت ۱ میلی مولار Spm بیشتر بود. تنش شوری در غلظت ۴۰ میلی مولار اثر معنی داری بر وزن تر ریشه نداشت اما در ۸۰ میلی مولار منجر به کاهش معنی دار آن شد. پیش تیمار با Spm، در غلظت ۰/۱ میلی مولار اثر معنی داری فقط بر شوری ۸۰ میلی مولار داشت، در حالی که در غلظت ۱ میلی مولار، منجر به افزایش معنی دار وزن تر ریشه در هر دو سطح شوری ۴۰ و ۸۰ میلی مولار شد و در مقایسه کل تیمارها، در شوری ۴۰ میلی مولار، غلظت ۱ میلی مولار Spm بیشترین اثر را در افزایش وزن تر ریشه نشان دادند (جدول ۱). تنش شوری در هر دو غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی مولار وزن خشک اندام هوایی را کاهش داد. پیش تیمار با Spm موجب افزایش

ریشه در کدو طبی (*Cucurbita pepo* L.)

Treatment	وزن تر اندام		وزن خشک	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	محتوای	نشست یونی	مالون دآلدئید	
	هوایی	اندام هوایی						ریشه	برگ
	(g seedling <sup>-1</sup> )				(%)	(%)	(%)	(μmol/g FW)	
Control	۹/۸۹±۰/۲ <sup>c</sup>	۰/۶۲±۰/۰۰۴ <sup>ef</sup>	۳/۷۱±۰/۱ <sup>c</sup>	۰/۱۶±۰/۰۰۴ <sup>bc</sup>	۸۹/۷±۰/۶ <sup>b</sup>	۱۰/۴±۰/۲ <sup>e</sup>	۰/۷±۰/۰۰۴ <sup>d</sup>	۰/۶±۰/۰۰۲ <sup>e</sup>	۱/۱±۰/۰۰۶ <sup>c</sup>
NaCl (40 mM)	۸/۹۰±۰/۷ <sup>d</sup>	۰/۵۸±۰/۰۱ <sup>f</sup>	۳/۹۸±۰/۳ <sup>bc</sup>	۰/۲۰±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۵۶/۴±۰/۹ <sup>d</sup>	۱۹/۳±۰/۶ <sup>c</sup>	۱/۷±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>	۱/۶±۰/۰۰۶ <sup>a</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
NaCl (80 mM)	۶/۲۵±۰/۳ <sup>f</sup>	۰/۴۷±۰/۰۱ <sup>g</sup>	۲/۵۲±۰/۲ <sup>d</sup>	۰/۰۸۵±۰/۰۰۲ <sup>d</sup>	۴۶/۸±۰/۶ <sup>f</sup>	۳۰/۰±۱/۱ <sup>a</sup>	۱/۹±۰/۰۰۷ <sup>a</sup>	۰/۴±۰/۰۰۶ <sup>f</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (0.1 mM)	۱۰/۴۹±۰/۱۲ <sup>b</sup>	۰/۷±۰/۰۱ <sup>c</sup>	۴/۲۲±۰/۰۶ <sup>ab</sup>	۰/۱۸±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۹۲/۴±۱/۳ <sup>a</sup>	۸/۹±۰/۴ <sup>e</sup>	۱/۳±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۸±۰/۰۰۴ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (0.1mM)+40mM	۱۰/۵۱±۰/۲۲ <sup>b</sup>	۰/۶۸±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۴/۱۲±۰/۱۳ <sup>bc</sup>	۰/۲۱±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۶۰/۰±۰/۷ <sup>c</sup>	۱۴/۱±۰/۶ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۸±۰/۰۰۴ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (0.1 mM)+80 mM	۷/۶۱±۰/۱۳ <sup>e</sup>	۰/۶۱±۰/۰۱ <sup>ef</sup>	۳/۷۸±۰/۳ <sup>1c</sup>	۰/۱۳±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۵۰/۱±۰/۲ <sup>e</sup>	۲۵/۹±۱/۰ <sup>b</sup>	۱/۷±۰/۰۰۴ <sup>b</sup>	۰/۴±۰/۰۰۶ <sup>ef</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (1 mM)	۱۱/۳۲±۰/۲۲ <sup>a</sup>	۰/۸۴±۰/۰۰۴ <sup>a</sup>	۴/۵۵±۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۹±۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۹۱/۲±۰/۹ <sup>ab</sup>	۹/۸±۰/۵ <sup>e</sup>	۱/۳±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۸±۰/۰۰۴ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (1 mM)+40 mM	۱۰/۸۲±۰/۱۲ <sup>ab</sup>	۰/۷۷±۰/۰۰۳ <sup>b</sup>	۴/۸۳±۰/۲ <sup>1a</sup>	۰/۲۱±۰/۰۱ <sup>a</sup>	۵۹/۷±۰/۳ <sup>c</sup>	۱۸/۵±۰/۳ <sup>c</sup>	۱/۳±۰/۰۰۳ <sup>c</sup>	۰/۸±۰/۰۰۴ <sup>d</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>
SPM (1 mM)+80 mM	۸/۴۷±۰/۱ <sup>d</sup>	۰/۶۸±۰/۰۱ <sup>cd</sup>	۴±۰/۱۸ <sup>bc</sup>	۰/۱۴±۰/۰۱ <sup>bc</sup>	۵۶/۳±۰/۱ <sup>de</sup>	۲۷/۲±۰/۶ <sup>b</sup>	۱/۸±۰/۰۰۲ <sup>ab</sup>	۱/۲±۰/۰۰۲ <sup>bc</sup>	۱/۳±۰/۰۰۲ <sup>b</sup>

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

محتوای پرولین برگ و ریشه: همان‌طور که داده‌های

جدول ۲ نشان می‌دهد تنش شوری مقدار پرولین را به‌طور معنی‌داری در هر دو بافت برگ و ریشه افزایش داد. پیش تیمار با Spm موجب افزایش پرولین برگ در شرایط بدون تنش شد؛ اما در بافت ریشه پیش تیمار با Spm اثر معنی‌داری بر این گیاهان نداشت. در شوری ۴۰ میلی‌مولار پیش تیمار با Spm باعث افزایش چشمگیری بر مقدار پرولین برگ شد و تفاوتی بین دو غلظت Spm مشاهده نشد. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، پیش تیمار با Spm اثر معنی‌داری بر میزان پرولین برگ نداشت. در گیاهان تحت تنش شوری ۴۰ میلی‌مولار، پیش تیمار با Spm در هر دو غلظت، پرولین برگ را افزایش داد اما در ریشه تنها غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش پرولین شد. در شوری ۸۰ میلی‌مولار شوری، پیش تیمار با Spm اثر معنی‌داری بر پرولین برگ نداشت ولی غلظت ۱ میلی‌مولار آن مقدار پرولین ریشه را افزایش داد.

مقدار GABA در برگ و ریشه: نتایج جدول ۲ نشان

می‌دهد که تنش شوری مقدار GABA را در هر دو اندام برگ و ریشه افزایش داد و تفاوتی بین دو سطح شوری در هر دو اندام مشاهده نشد. پیش تیمار با Spm موجب افزایش GABA

برگ هم در شرایط بدون تنش و هم در شرایط تنش شوری ۴۰ میلی‌مولار شد. در شوری ۸۰ میلی‌مولار پیش تیمار با Spm مقدار GABA را افزایش داد. پیش تیمار با Spm موجب افزایش GABA ریشه در شرایط بدون تنش شد. نتایج نشان داد هر دو غلظت، Spm اثر معنی‌داری بر میزان GABA ریشه تحت تنش شوری نداشت (جدول ۲).

مقدار پروتئین برگ و ریشه: سطوح مختلف تنش شوری میزان پروتئین کل برگ و ریشه را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در شرایط بدون تنش، پیش تیمار گیاهان با Spm اثر معنی‌داری بر میزان پروتئین برگ نداشت. در شرایط تنش شوری پیش تیمار با Spm مقدار پروتئین برگ را افزایش داد. پیش تیمار با غلظت ۱ میلی‌مولار Spm موجب افزایش پروتئین کل ریشه در شرایط بدون تنش شد. در شرایط تنش شوری، هر دو غلظت Spm پروتئین کل ریشه را افزایش داد. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، تفاوتی بین اثر پیش تیمار دو غلظت Spm بر افزایش میزان پروتئین ریشه مشاهده نشد (جدول ۲).

فعالیت آنزیم گاباگل پراکسیداز (GPOX) برگ و ریشه:

تنش شوری در هر دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار موجب

جدول ۲- اثر تیمار شوری و پیش‌تیمار Spm بر محتوای پروتئین، پرولین، گاما‌آمینو بوتیریک اسید و گایاکول پراکسیداز در کدو طی (*Cucurbita pepo L.*)

Treatment	گاما‌آمینوبوتیریک اسید برگ		گاما‌آمینوبوتیریک اسید ریشه		پروتئین برگ		پروتئین ریشه	
	( $\mu\text{mol/g FW}$ )	( $\mu\text{mol/g FW}$ )	( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ )	( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ )	( $\text{mg/g FW}$ )	( $\text{mg/g FW}$ )	( $\mu\text{mol/g FW}$ )	( $\mu\text{mol/g FW}$ )
Control	۱۱۷±۴/۵ <sup>d</sup>	۱۴۴±۴/۵ <sup>c</sup>	۳/۳±۰/۰۹ <sup>bc</sup>	۱۵±۰/۵ <sup>b</sup>	۳۷۴۱±۳۵۸ <sup>cd</sup>	۴۲۰±۱۷ <sup>fg</sup>	۱/۸±۰/۱ <sup>d</sup>	۱/۹±۰/۰۳ <sup>e</sup>
NaCl (40 mM)	۱۳۸±۴ <sup>cd</sup>	۱۶۳±۲/۴ <sup>b</sup>	۳±۰/۱ <sup>c</sup>	۱۲±۰/۱ <sup>d</sup>	۵۱۸۲±۱۴۰ <sup>b</sup>	۴۹۰±۲۰ <sup>ef</sup>	۲/۴±۰/۰۹ <sup>c</sup>	۳/۱±۰/۰۳ <sup>c</sup>
NaCl (80 mM)	۱۴۹±۶/۸ <sup>c</sup>	۱۷۳±۴/۹ <sup>ab</sup>	۲/۰±۰/۱ <sup>d</sup>	۷±۰/۲ <sup>f</sup>	۶۲۴۳±۲۲۳ <sup>a</sup>	۸۱۰±۴۵ <sup>c</sup>	۳/۲±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۴/۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>
SPM (0.1 mM)	۱۸۷±۶/۴ <sup>ab</sup>	۱۷۱±۲/۹ <sup>ab</sup>	۳/۱±۰/۱ <sup>c</sup>	۱۶±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۴۰۷۴±۲۴۱ <sup>cd</sup>	۳۵۰±۲۶ <sup>g</sup>	۱/۹±۰/۰۷ <sup>d</sup>	۲/۸±۰/۱۲ <sup>cd</sup>
SPM (0.1mM)+40mM	۲۰۳±۵ <sup>a</sup>	۱۷۵±۳/۳ <sup>ab</sup>	۳/۵±۰/۱ <sup>b</sup>	۱۴±۰/۱ <sup>c</sup>	۵۳۱۸±۲۷۶ <sup>b</sup>	۷۳۰±۴۳ <sup>cd</sup>	۲/۵±۰/۱ <sup>c</sup>	۵/۲±۰/۰۲ <sup>a</sup>
SPM (0.1 mM)+80 mM	۱۷۸±۶/۱ <sup>b</sup>	۱۸۱±۲/۱ <sup>a</sup>	۳/۶±۰/۰۸ <sup>ab</sup>	۹±۰/۱ <sup>e</sup>	۵۰۵۸±۲۴۳ <sup>b</sup>	۱۲۷۰±۳۶ <sup>a</sup>	۳/۱±۰/۰۱ <sup>b</sup>	۳/۹±۰/۰۵ <sup>b</sup>
SPM (1 mM)	۱۷۸±۶/۱ <sup>b</sup>	۱۷۴±۴/۱ <sup>ab</sup>	۴±۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱۵±۰/۴ <sup>b</sup>	۴۴۰۷±۶۹ <sup>bc</sup>	۶۱۰±۳۶ <sup>de</sup>	۱/۸±۰/۱ <sup>d</sup>	۲/۶±۰/۱۲ <sup>d</sup>
SPM (1 mM)+40 mM	۱۸۶±۷/۱ <sup>ab</sup>	۱۶۹±۱/۹ <sup>ab</sup>	۳±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۱۶±۰/۳ <sup>a</sup>	۵۰۶۷±۳۴۸ <sup>b</sup>	۶۶۵±۳۵ <sup>d</sup>	۳/۱±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۵/۴±۰/۱ <sup>a</sup>
SPM (1 mM)+80 mM	۱۷۵±۱۱/۴ <sup>b</sup>	۱۷۰±۲/۶ <sup>ab</sup>	۳/۷±۰/۲ <sup>ab</sup>	۹±۰/۴ <sup>e</sup>	۳۲۹۷±۳۷۳ <sup>d</sup>	۹۵۰±۶۵ <sup>b</sup>	۳/۷±۰/۱ <sup>a</sup>	۴±۰/۰۴ <sup>b</sup>

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

شد. در شرایط بدون تنش و تنش شوری، پیش‌تیمار گیاهان با Spm میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه را افزایش داد. در شرایط بدون تنش، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، پیش‌تیمار با غلظت ۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، پیش‌تیمار گیاهان با هر دو غلظت Spm اثر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنزیم داشت و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود (جدول ۳). در شرایط غیرتنش، غلظت ۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، اثر غلظت ۱ میلی‌مولار Spm بر افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه مؤثرتر بود. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm منجر به افزایش بیشتر فعالیت این آنزیم ریشه شد (جدول ۳).

**فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) برگ و ریشه:** تنش شوری در هر دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD برگ شد. در شرایط بدون تنش پیش‌تیمار گیاهان با Spm میزان فعالیت آن را افزایش داد ولی تفاوتی بین دو غلظت Spm بر میزان فعالیت آنزیم SOD

افزایش میزان فعالیت آنزیم GPOX برگ گردید. در شرایط بدون تنش، پیش‌تیمار گیاهان با Spm اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم GPOX برگ نداشت (جدول ۲). در شوری ۴۰ میلی‌مولار، پیش‌تیمار با هر دو غلظت Spm سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم برگی شد. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، پیش‌تیمار گیاهان با هر دو غلظت Spm اثر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنزیم GPOX برگ داشت و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود (جدول ۲). شوری منجر به افزایش میزان فعالیت آنزیم GPOX ریشه شد ولی بین دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در شرایط بدون تنش، پیش‌تیمار گیاهان با ۱ میلی‌مولار Spm فعالیت آنزیم GPOX ریشه را افزایش داد. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، پیش‌تیمار با Spm اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم ریشه نداشت. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، هر دو غلظت Spm منجر به کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم شد (جدول ۲).

**فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) برگ و ریشه:** تنش شوری در هر دو سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه

جدول ۳- اثر تیمار شوری و پیش تیمار Spm بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز برگ و ریشه در کدو طیبی (*Cucurbita pepo* L.)

سوپراکسید دیسموتاز برگ		کاتالاز برگ		آسکوربات پراکسیداز ریشه		Treatment
(U mg <sup>-1</sup> protein)		(μmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> protein)				
۳۶± ۴ <sup>d</sup>	۱۵۱± ۶ <sup>e</sup>	۱/۱± ۰/۰۴ <sup>d</sup>	۰/۸۲± ۰/۱ <sup>f</sup>	۳۳± ۰/۴ <sup>f</sup>	۱۹± ۰/۶ <sup>e</sup>	Control
۵۹± ۵ <sup>c</sup>	۲۶۵± ۷ <sup>c</sup>	۱/۵± ۰/۰۶ <sup>c</sup>	۱/۳۷± ۰/۰۵ <sup>de</sup>	۷۸± ۱/۳ <sup>b</sup>	۲۷± ۱/۴ <sup>d</sup>	NaCl (40 mM)
۹۸± ۴ <sup>b</sup>	۲۸۳± ۴ <sup>bc</sup>	۱/۷± ۰/۰۶ <sup>abc</sup>	۱/۹۳± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۵۴± ۳/۱ <sup>d</sup>	۳۷± ۱/۱ <sup>c</sup>	NaCl (80 mM)
۶۷± ۲ <sup>c</sup>	۱۵۳± ۶ <sup>e</sup>	۱/۱± ۰/۰۸ <sup>d</sup>	۰/۷۴± ۰/۱ <sup>f</sup>	۴۳± ۱/۸ <sup>e</sup>	۴۰± ۱/۷ <sup>c</sup>	SPM (0.1 mM)
۷۵± ۵ <sup>c</sup>	۲۰۴± ۷ <sup>d</sup>	۱/۶± ۰/۰۲ <sup>bc</sup>	۲± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۷۸± ۱/۱ <sup>b</sup>	۴۰± ۰/۴ <sup>c</sup>	SPM (0.1 mM)+40mM
۱۱۶± ۶ <sup>ab</sup>	۳۰۴± ۹ <sup>a</sup>	۱/۹± ۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۲/۸± ۰/۱ <sup>a</sup>	۷۹± ۰/۷ <sup>b</sup>	۵۹± ۲/۳ <sup>ab</sup>	SPM (0.1 mM)+80 mM
۷۴± ۶ <sup>c</sup>	۱۶۲± ۳ <sup>e</sup>	۱/۰۵± ۰/۱ <sup>d</sup>	۰/۹± ۰/۲ <sup>ef</sup>	۵۱± ۲/۸ <sup>d</sup>	۳۵± ۰/۴ <sup>c</sup>	SPM (1 mM)
۹۹± ۲ <sup>b</sup>	۲۰۶± ۴ <sup>d</sup>	۱/۸± ۰/۰۱ <sup>ab</sup>	۱/۶± ۰/۱ <sup>cd</sup>	۹۰± ۲/۱ <sup>a</sup>	۵۶± ۱/۴ <sup>b</sup>	SPM (1 mM)+40 mM
۱۲۷± ۸ <sup>a</sup>	۲۹۱± ۴ <sup>ab</sup>	۱/۹± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۲/۳± ۰/۱ <sup>ab</sup>	۶۱± ۰/۶ <sup>c</sup>	۶۴± ۲/۵ <sup>a</sup>	SPM (1 mM)+80 mM

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون دانکن هستند.

بدون تنش پیش تیمار گیاهان با Spm اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم CAT ریشه نداشت. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم CAT ریشه شد. در سطح ۸۰ میلی‌مولار شوری، پیش تیمار گیاهان با هر دو غلظت Spm موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم CAT ریشه شد و در مقایسه، اثر غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود (جدول ۳).

#### بحث

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی محدودکننده رشد، نمو و عملکرد محصول است (Chaves *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2022). جذب بیش از حد نمک باعث ایجاد سمیت یونی، تنش اسمزی و عدم تعادل یونی شده و در نتیجه رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Guirra *et al.*, 2021). نتایج این مطالعه نشان داد که تنش شوری اثر منفی بر پارامترهای رشد از جمله وزن تر و خشک گیاه دارد و با بسیاری از گزارش‌های پیشین که در آن تنش شوری موجب کاهش وزن تر و خشک ریشه و ساقه در گیاهان کدو (*Cucurbita pepo*) (Siddiqui *et al.*,

برگ مشاهده نشد. پیش تیمار با غلظت ۱ میلی‌مولار Spm منجر به افزایش فعالیت این آنزیم در هر دو سطح شوری ۴۰ و ۸۰ میلی‌مولار شد. در شرایط بدون تنش، پیش تیمار گیاهان با Spm میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ریشه را افزایش داد ولی تفاوتی بین دو غلظت Spm بر میزان فعالیت این آنزیم ریشه مشاهده نشد. در شوری ۴۰ میلی‌مولار، Spm موجب کاهش فعالیت آنزیم SOD ریشه شده است. در شوری ۸۰ میلی‌مولار، پیش تیمار با Spm منجر به افزایش فعالیت این آنزیم ریشه شد و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار Spm مؤثرتر بود (جدول ۳).

**فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) برگ و ریشه:** نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که تنش شوری در سطح ۸۰ میلی‌مولار موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم CAT برگ شد. در شرایط بدون تنش، پیش تیمار گیاهان با Spm فعالیت این آنزیم را افزایش داد. در شوری ۴۰ میلی‌مولار پیش تیمار گیاهان با Spm اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم CAT برگ نداشت. در شوری ۸۰ میلی‌مولار پیش تیمار با Spm اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت این آنزیم نداشت. تنش شوری در سطح ۸۰ میلی‌مولار موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم CAT ریشه شد. در شرایط

شوری است که باعث آسیب‌های اکسیداتیو به مولکول‌های زیستی متعددی از جمله DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و رنگیزه‌ها می‌شود (Choudhary et al., 2011). گونه‌های فعال اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و تغییر در نفوذپذیری غشا (نشت یونی) و خسارت به سلول می‌شوند (Ahammed et al., 2012). در این مطالعه در تنش شوری نشت یونی و مقدار مالون دآلدئید در هر دو اندام هوایی و ریشه گیاه کدو افزایش یافت. مشابه این نتیجه، در گیاه یونجه (*Medicago truncatula*) (Lopez-Gomez et al., 2016) نیز مشاهده شده است. این افزایش در غلظت بالای شوری بیشتر از غلظت پایین آن گزارش شده است که نشان‌دهنده این است که غلظت بالای شوری منجر به خسارت بیشتر به غشا گردیده و تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها را تشویق نموده است. آسیب‌غشایی موجب کاهش جذب مواد ضروری از خاک، هدایت روزنه‌ای، آسیمیلاسیون CO<sub>2</sub> فتوسنتزی، سطوح RNA و پروتئین و در نهایت کاهش محتوای آب درون سلول‌ها می‌گردد (Ahammed et al., 2012). افزایش معنی‌دار مقدار مالون دآلدئید و نشت یونی غشا به همراه کاهش معنی‌دار محتوای آب درون سلولی در نمونه‌های کدو تحت تنش شوری در این پژوهش بیانگر این موضوع است. به نظر می‌رسد، افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن در سطح بالای شوری به اندازه‌ای زیاد بوده است که حذف، جاروب کردن و یا خاموش نمودن آن‌ها با سیستم‌های دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی خارج از توان گیاه بوده است. بنابراین مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل تنش اکسیداتیو ایجاد شده کافی نبوده و این امر موجب خسارات بیشتر در بسیاری از فاکتورهای مورد سنجش در این پژوهش گردیده است. در این مطالعه در گیاهان پیش‌تیمار شده با Spm، نشت یونی و پراکسیداسیون لیپید کاهش یافت که خود نشان‌دهنده افزایش یکپارچگی غشا، کاهش تنش اکسیداتیو و اثر حفاظت غشایی در نتیجه پیش‌تیمار با این ترکیبات بوده است. حفظ یکپارچگی غشاهای سلولی در شرایط تنش یکی از اجزای مقاومت در برابر تنش‌هایی نظیر شوری است. این حالت با کاربرد Spd در تنش

(2014) و نعناع (*Mentha spicata*) (Coban and Baydar, 2016) می‌شود همخوانی دارد. شوری تمام فرایندهای اصلی مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم لیپید و انرژی و در نتیجه تمام مراحل گیاه از جوانه‌زنی، تولید بیوماس تا تولید دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و پیشنهاد شده است که کاهش رشد نتیجه تأثیر مستقیم یون‌ها روی فتوسنتز و فتوسیستم II است که باعث کاهش رشد می‌شود (Saberi Riseh et al., 2021). در این مطالعه کاهش محتوای آب برگ در اثر تنش شوری نشان داد که بخشی از اثرات نمک بر کاهش رشد کدو می‌تواند به دلیل القای تنش اسمزی در این گیاه باشد. این کاهش در محتوای آب برگ می‌تواند به علت کاهش آب قابل دسترس در شرایط تنش و یا ناتوانی سیستم ریشه‌ای در جبران آب از دست رفته توسط تعرق باشد (Schonfeld et al., 1988) گزارش شده است که تنش شوری منجر به افزایش نشت یونی و کاهش محتوای آب نسبی در گل داودی (*Chrysanthemum morifolium*) (Zhang et al., 2016) شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. در این مطالعه پیش‌تیمار Spm موجب بهبود پارامترهای رشدی در گیاهان تحت تنش گردید. گزارشاتی مبنی بر اثر حفاظتی پلی‌آمین‌ها در گیاهان در برابر تنش‌ها وجود دارد (Choudhary et al., 2022). Spd و Spm از طریق کاهش نشت یونی ناشی از تنش شوری و همچنین از طریق جلوگیری از دست رفتن کلروفیل و مهار واکنش‌های فیتوشیمیایی فتوسنتز تحت تنش شوری در گیاه برنج (*Oryza sativa*) منجر به حفاظت گیاه در برابر تنش شوری شدند (Chattopadhyay et al., 2002). از طرفی توانایی پاک‌سازی ROS و کاهش تولید MDA، کنترل توازن یونی و پتانسیل اسمزی، آسیب‌های ناشی از تنش شوری در گیاه داودی را تخفیف داد (Zhang et al., 2016). برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که پلی‌آمین‌ها ممکن است به عنوان سیگنال‌های سلولی در ارتباط با مسیرهای هورمونی از جمله ABA (Gill and Tuteja, 2010) و نیتریک اکسید عمل کنند (Choudhary et al., 2022; Hussain et al., 2011). تولید بیش از حد ROS یک پدیده معمول در تنش‌های مختلف از جمله

همان‌گونه که از کاهش RWC معلوم است تنش آبی ناشی از نمک کلرور سدیم باشد. براساس یافته‌های حاضر، توانایی پیش‌تیمار Spm در حفظ RWC بالا در گیاهچه‌های کدو در معرض تنش شوری ممکن است به دخالت آن در تنظیم اسمزی از طریق افزایش پرولین نسبت داده شود. نتایج مشابهی در برنج (*Oryza sativa*) (Zhang et al., 2016) گزارش شده است. از طرفی متابولیسم پلی‌آمین به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم متابولیسم پرولین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تجزیه و تخریب پلی‌آمین از طریق DAO و PAO، D<sub>1</sub>-پیرولین را تولید می‌کند. D<sub>1</sub>-پیرولین می‌تواند به GABA کاتابولیزه شود که از طریق ترانس‌آمیناسیون و اکسیداسیون به سوکسینات تبدیل می‌شود و به‌طور مداوم وارد چرخه کربس می‌شود (Angelini et al., 2010) بنابراین تجزیه پلی‌آمین می‌تواند بیوستتر پرولین را به همراه داشته باشد.

GABA یک متابولیت مهم است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد از جمله تنظیم pH سیتوزولی، جریان‌ات کربن به چرخه کربس، یک مسیر فرعی تولیدکننده ATP، کربن و نیتروژن تحت شرایط تنش اکسیداتیو، حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو و سیگنالینگ دخالت دارد و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به سرعت و به میزان زیادی تولید می‌شود (Signorelli et al., 2015). در بررسی حاضر، تنش شوری منجر به افزایش محتوای GABA در برگ و ریشه گیاه کدو شد. گزارش شده است که تنش‌های مختلفی از جمله شوری و خشکی تجمع GABA در گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) را افزایش داده است (Bor et al., 2009). جدا از مسیر اصلی سنتز GABA از گلوتامات از طریق فعالیت آنزیم GAD (Glutamate decarboxylase)، دو مسیر بیوستتری دیگر در بافت‌های گیاهی وجود دارد. یکی تجزیه پلی‌آمین پوترسین با فعالیت دی‌آمین‌اکسیداز منجر به تشکیل GABA و B-آلانین می‌شود و دیگری تبدیل غیرآنزیمی پرولین به GABA است که به تازگی گزارش شده است که یک مسیر جایگزین برای تأمین ATP، کربن و نیتروژن در شرایط تنش اکسیداتیو است (Signorelli et al., 2015). محتوای بالای GABA در شرایط

شوری در گیاه خیار (*Cucumis sativus*) (Duan et al., 2008) گزارش شده است. اعتقاد بر این است که اشکال آزاد و کائوگه Spm مؤثرترین آنتی‌اکسیدان‌ها هستند و به‌عنوان رباینده و حذف‌کننده اکسی‌رادیکال‌ها عمل می‌کنند (Choudhary et al., 2022; Ha et al., 1998). کاربرد Spm در تنش شوری، محتوای MDA در کلروپلاست گیاهچه خیار (*Cucumis sativus*) (Shu et al., 2013) و تیمار آرسنیک در لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) (Shah et al., 2022) را از طریق افزایش متابولیت‌های آنتی‌اکسیدان و فعالیت آنزیم‌ها کاهش داده است. در تحقیق حاضر به نظر می‌رسد که پیش‌تیمار Spm آسیب‌غشایی ناشی از تنش شوری را از طریق افزایش توانایی پاک‌سازی ROS تخفیف داده و از نشت یونی جلوگیری می‌کند.

نتایج مربوط به مقدار پرولین نشان می‌دهند تنش شوری موجب افزایش تجمع این اسمولیت در گیاه کدو شده است. تجمع پرولین در پاسخ به شوری در ذرت (*Zea mays*) (Ali et al., 2022) نیز گزارش شده است. پرولین علاوه بر این که یک ماده اسمززا و محافظ اسمزی است که در حفظ تعادل آب، حفظ ثبات پروتئین‌ها، حفظ ساختار سه‌بعدی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، پایداری غشاها و دستگاه سنتز پروتئین، منبع ذخیره کربن و نیتروژن مورد نیاز جهت تخفیف شرایط تنش‌زا، کاهش خطرات حاصل از تولید ROS، پاک‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل، خاموش کردن اکسیژن یکتایی (و در نتیجه حفظ ماکرومولکول‌های سلولی نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA از خطرات رادیکال‌های آزاد)، تنظیم pH سلولی، تنظیم نسبت NADP<sup>+</sup>/NADPH و یک جز مسیرهای ترانس‌سانی علامت نقش دارد. گزارش شده است که پرولین با پیوستن به فسفولیپیدهای غشایی و تغییرات در لایه هیدراته اطراف ماکرومولکول‌های زیستی در حفظ و ثبات غشاها نقش مؤثری دارد (Chookhampaeng, 2011).

در مطالعه حاضر پیش‌تیمار Spm به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای میزان پرولین را در گیاهچه‌های کدو در شرایط تنش شوری افزایش داد. به نظر می‌رسد دلیل افزایش پرولین در گیاه کدو

با گروه‌های با بار منفی مانند فسفولیپیدها و پروتئین‌ها موجب پایداری سطح غشاها شوند (Todorova et al., 2007) به علاوه با تغییر در ساختار پروتئین و افزایش اثرات پایداری پروتئین در برابر تنش مقاومت می‌کنند و از طریق اتصال یا کانونجی شدن به پروتئین از تخریب و تجزیه آن جلوگیری می‌کنند (Dondini et al., 2001). پلی‌آمین‌ها توانایی این را دارند که رونویسی mRNA را از طریق مهار آنزیم RNase تشدید کرده و از تخریب mRNA جلوگیری کنند (Alcazar et al., 2010). از طرفی پلی‌آمین‌ها با حفاظت از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Shu et al., 2013) و جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد بتواند از پروتئین‌ها حفاظت کند.

تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، APX و CAT شد. نتایج مشابهی توسط Aghaleh و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده شد که نشان دادند دو گونه *Salicornia* (Aghaleh et al., 2011) و ذرت (*Zea mays*) (Ali et al., 2022) در شرایط تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش می‌دهند. افزایش فعالیت CAT، POD و APX پاسخی به افزایش تولید بیش از حد  $H_2O_2$  حاصل از تنش شوری ایفا می‌کنند (Puyang et al., 2015). در پژوهش حاضر Spm موجب افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد که مشابه این نتایج در خیار (*Cucumis sativus*) (Shu et al., 2013) و گیاه داودی (Zhang et al., 2016) در شرایط تنش شوری گزارش شده است. پلی‌آمین‌ها احتمالاً می‌توانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را در شرایط تنش از طریق تغییر در سطح ترجمه (Aronova et al., 2005)، بیان ژن (Puyang et al., 2015) و تغییرات پس از ترجمه (Yang et al., 2022) تعدیل و مدیریت کنند.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که تنش شوری باعث کاهش پارامترهای رشد و محتوای آب کدو شد که علت آن آسیب به غشای سلول‌ها است. افزایش محتوای پرولین،

تنش غیرزیستی مختلف از جمله تنش شوری به اهمیت این آمینواسید غیرپروتئینی تأکید می‌کند. گزارش شده است که گیاه تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.) تیمار شده با روی (Zn) محتوای GABA بالایی داشت (Das et al., 2016) از طرف دیگر، گیاهان عدسک آبی (*Lemna minuta*) تیمار شده با GABA سطوح بالاتری از Zn، Mn و B در مقایسه با گیاهان تیمار نشده داشتند که نشان‌دهنده دسترسی احتمالی به مواد معدنی با واسطه GABA است (Kinnersley and Lin, 2000) گزارش شده است که تجمع GABA به شدت در شرایط تنش شوری القا می‌شود و در حفاظت کلروفیل و عملکرد فتوسنتز گندم در شرایط تنش شوری نقش دارد (Li et al., 2016). در این بررسی، Spm به‌طور چشمگیری محتوای GABA برگ‌ها را در شرایط تنش افزایش داد. نتایج این تحقیق با یافته‌های Xing و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت دارد که گزارش کردند یک همبستگی کمی بین تخریب و تجزیه پلی‌آمین و تجمع GABA در شرایط تنش شوری در سویا وجود دارد (Xing et al., 2007). از طرفی افزایش سطح پلی‌آمین باعث افزایش گاما‌آمینو بوتیریک اسید در *Haematococcus pluvialis* (Xing et al., 2022) شده است. همچنین گزارش شده است که سطوح پلی‌آمین‌ها به‌طور معنی‌داری با افزایش مقادیر تنش شوری کاهش یافته که با افزایش فعالیت PAO و میزان GABA همراه می‌باشد، چنین به نظر می‌رسد که GABA که از کاتابولیسم پلی‌آمین‌ها نشأت می‌گیرد ممکن است در مکانیسم‌های دفاعی و حفاظت از گیاهان در برابر تنش شوری دخالت داشته باشد (Angelini et al., 2010). در این تحقیق، نیز تصور بر این است که برخی اثرات پیش‌تیمار Spm در حفاظت گیاه ممکن است از طریق تولید GABA باشد.

در این پژوهش تنش شوری موجب کاهش مقدار پروتئین در ریشه و برگ گیاه کدو شد. مشابه با نتایج این پژوهش کاهش مقدار پروتئین در کلزا (*Brassica napus* L.) (Baghzadeh et al., 2014) گزارش شده است. در این پژوهش پیش‌تیمار Spm موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش شد. پلی‌آمین‌ها ممکن است از طریق برهم‌کنش

GABA به همراه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، POD، APX و CAT در گیاهان در معرض تنش شوری نشان‌دهنده این است که هنوز سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه تا سطح ۸۰ میلی‌مولار شوری فعال بوده و در مقابله با رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش عمل می‌نماید. اثر پیش تیمار گیاه با Spm نشان داد که این ترکیب احتمالاً از طریق حفظ تمامیت غشاهای زیستی، افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدان

آنزیمی، غیرآنزیمی (پرولین) و GABA به عنوان یک مولکول سیگنالینگ عمل کرده است. پیشنهاد می‌شود با توجه به افزایش میزان GABA در این پژوهش، بیان ژن‌های مربوط به مسیرهای متابولیسمی به‌ویژه ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز این متابولیت مورد بررسی قرار گیرد.

## منابع

- توپچی، ژ.، صالحی، ی.، قاسمی، ک. و متفکر، ر. (۱۳۹۹) اثر پلی‌آمین‌های برون‌زا بر برخی شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت تنش کم آبی. پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) ۳۳: ۱۳۸-۱۲۷.
- قهرمان، ا. (۱۳۷۳) کورموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). جلد ۳. مرکز نشر دانشگاهی. تهران.
- Aghaleh, M., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H. and Razavi, K. (2011) Effect of salt stress on physiological and antioxidative responses in two species of *Salicornia* (*Salicornia persica* and *Salicornia europaea*). *Acta Physiologiae Plantarum* 33: 1261-1270.
- Ahamed, G. J., Yuan, H. L., Ogwen, J. O., Zhou, Y. H., Xia, X. J., Mao, W. H., Shi, K. and Yu, J. Q. (2012) Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato. *Chemosphere* 86: 546-555.
- Ahmad, R., Lim, C. J. and Kwon, S. Y. (2013) Glycine betaine: A versatile compound with great potential for gene pyramiding to improve crop plant performance against environmental stresses. *Plant Biotechnology Reports* 7: 49-57.
- Alcazar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. and Tiburcio, A. F. (2010) Polyamines: Molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta* 231: 1237-1249.
- Ali, B., Wang, X., Saleem, M. H., Hafeez, A., Afridi, M. S., Khan, S., Ullah, I., Amaral Junior, A. T. D., Alatawi, A. and Ali, S. (2022) PGPR-mediated salt tolerance in maize by modulating plant physiology, antioxidant defense, compatible solutes accumulation and bio-surfactant producing genes. *Plants* 11: 345.
- Angelini, R., Cona, A., Federico, R., Fincato, P., Tavladoraki, P. and Tisi, A. (2010) Plant amine oxidases "on the move": an update. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 560-564.
- Aronova, E., Shevyakova, N., Stetsenko, L. and Kuznetsov, V. V. (2005) Cadaverine-induced induction of superoxide dismutase gene expression in *Mesembryanthemum crystallinum* L. *Doklady Biological Sciences. Nauka/Interperiodica* 403: 257-259.
- Baghizadeh, A., Salarizadeh, M. and Abaasi, F. (2014) Effects of salicylic acid on some physiological and biochemical parameters of *Brassica napus* L. (Canola) under salt stress. *International Journal of Agricultural Science* 4: 147-152.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bor, M., Seckin, B., Ozgur, R., Yılmaz, O., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2009) Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum* 31: 655-659.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cabello, J. V., Lodeyro, A. F. and Zurbriggen, M. D. (2014) Novel perspectives for the engineering of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26: 62-70.
- Chattopadhyay, M. K., Tiwari, B. S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D. N. and Ghosh, B. (2002) Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 116: 192-199.
- Chaves, M. M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany* 103: 551-560.
- Chookhampaeng, S. (2011) The effect of salt stress on growth, chlorophyll content proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. *European Journal of Scientific Research* 49: 103-109.

- Choudhary, S., Wani, K. I., Naeem, M., Khan, M. and Aftab, T. (2022) Cellular responses, osmotic adjustments, and role of osmolytes in providing salt stress resilience in higher plants: Polyamines and nitric oxide crosstalk. *Journal of Plant Growth Regulation* 1-15.
- Choudhary, S. P., Kanwar, M., Bhardwaj, R., Gupta, B. and Gupta, R. (2011) Epibrassinolide ameliorates Cr (VI) stress via influencing the levels of indole-3-acetic acid, abscisic acid, polyamines and antioxidant system of radish seedlings. *Chemosphere* 84: 592-600.
- Coban, O. and Baydar, N. G. (2016) Brassinosteroid effects on some physical and biochemical properties and secondary metabolite accumulation in peppermint (*Mentha piperita* L.) under salt stress. *Industrial Crops and Products* 86: 251-258.
- Daş, Z. A., Dimlioglu, G., Bor, M. and Ozdemir, F. (2016) Zinc induced activation of GABA-shunt in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 122: 78-84.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- Dionisio-Sese, M. L. and Tobita, S. (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science* 135: 1-9.
- Dondini, L., Bonazzi, S., Del Duca, S., Bregoli, A. M. and Serafini-Fracassini, D. (2001) Acclimation of chloroplast transglutaminase to high NaCl concentration in a polyamine-deficient variant strain of *Dunaliella salina* and in its wild type. *Journal of Plant Physiology* 158: 185-197.
- Duan, J., Li, J., Guo, S. and Kang, Y. (2008) Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed *Cucumis sativus* roots and enhances short-term salinity tolerance. *Journal of Plant Physiology* 165: 1620-1635.
- Fang, S., Hou, X. and Liang, X. (2021) Response mechanisms of plants under saline-alkali stress. *Frontiers in Plant Science* 12: 1049-1069.
- Gao, C., Sheteiw, M. S., Lin, C., Guan, Y., Ulhassan, Z. and Hu, J. (2021) Spermidine suppressed the inhibitory effects of polyamines inhibitors combination in maize (*Zea mays* L.) seedlings under chilling stress. *Plants* 10: 2421-2438.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Gondor, O. K., Tajti, J., Hamow, K. A., Majlath, I., Szalai, G., Janda, T. and Pal, M. (2021) Polyamine metabolism under different light regimes in wheat. *International Journal of Molecular Sciences* 22: 11717.
- Guirra, K. S., Torres, S. B., Silva, J. E. S. B. D., Leite, M. D. S., Nogueira Neto, F. A., Guirra, B. S., Rego, A. L. B. and Paiva, E. P. (2021) Pretreatment of seeds with plant regulators attenuates salt stress in pumpkin: Effects on germination and initial seedling development. *Revista Ciencia Agronomica* 53: 1-8.
- Ha, H. C., Sirisoma, N. S., Kuppusamy, P., Zweier, J. L., Woster, P. M. and Casero, R. A. (1998) The natural polyamine spermine functions directly as a free radical scavenger. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 11140-11145.
- Hayat, S., Ali, B., Hasan, S. A. and Ahmad, A. (2007) Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. *Environmental and Experimental Botany* 60: 33-41.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P. and Hnilicka, F. (2021) Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants* 10: 845-859.
- Hoagland, D. R. and Arnon, D. I. (1950) The water culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station* 347: 1-32.
- Hussain, S. S., Ali, M., Ahmad, M. and Siddique, K. H. (2011) Polyamines: Natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances* 29: 300-311.
- Kinnersley, A. M. and Lin, F. (2000) Receptor modifiers indicate that 4-aminobutyric acid (GABA) is a potential modulator of ion transport in plants. *Plant Growth Regulation* 32: 65-76.
- Li, M., Guo, S., Yang, X., Meng, Q. and Wei, X. (2016) Exogenous gamma-aminobutyric acid increases salt tolerance of wheat by improving photosynthesis and enhancing activities of antioxidant enzymes. *Biologia Plantarum* 60: 123-131.
- Li, X., Ge, Y., Gui, M., Cui, C. S. and Qu, S. P. (2013) Histological analysis of hulled and hull-less squash seed coat. *International Journal of Agriculture and Biology* 15: 1047-1050.
- Lopez-Gomez, M., Hidalgo-Castellanos, J., Lluch, C. and Herrera-Cervera, J. A. (2016) 24-Epibrassinolide ameliorates salt stress effects in the symbiosis *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* and regulates the nodulation in cross-talk with polyamines. *Plant Physiology and Biochemistry* 108: 212-221.

- Michaeli, S., Fait, A., Lagor, K., Nunes-Nesi, A., Grillich, N., Yellin, A., Bar, D., Khan, M., Fernie, A. R. and Turano, F. J. (2011) A mitochondrial GABA permease connects the GABA shunt and the TCA cycle, and is essential for normal carbon metabolism. *The Plant Journal* 67: 485-498.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Plewa, M. J., Smith, S. R. and Wagner, E. D. (1991) Diethylthiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 247: 57-64.
- Puyang, X., An, M., Han, L. and Zhang, X. (2015) Protective effect of spermidine on salt stress induced oxidative damage in two Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 117: 96-106.
- Quintero, F. J., Martinez Atienza, J., Villalta, I., Jiang, X., Kim, W. Y., Ali, Z., Fujii, H., Mendoza, I., Yun, D. J. and Zhu, J. K. (2011) Activation of the plasma membrane Na<sup>+</sup>/H antiporter Salt-Overly-Sensitive 1 (SOS<sub>1</sub>) by phosphorylation of an auto-inhibitory C-terminal domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 2611-2616.
- Rao, K. M. and Sresty, T. (2000) Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Science* 157: 113-128.
- Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Tamanadar, E., Moradi Pour, M. and Thakur, V. K. (2021) Salinity stress: Toward sustainable plant strategies and using plant growth-promoting *Rhizobacteria Encapsulation* for reducing it. *Sustainability* 13: 12758-12775.
- Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. and Mornhinweg, D. W. (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science* 28: 526-531.
- Shah, A. A., Riaz, L., Siddiqui, M. H., Nazar, R., Ahmed, S., Yasin, N. A., Ali, A., Mukherjee, S., Hussaan, M. and Javad, S. (2022) Spermine-mediated polyamine metabolism enhances arsenic-stress tolerance in *Phaseolus vulgaris* by expression of zinc-finger proteins related genes and modulation of mineral nutrient homeostasis and antioxidative system. *Environmental Pollution* 300: 118941.
- Shu, S., Yuan, L. Y., Guo, S. R., Sun, J. and Yuan, Y. H. (2013) Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence, antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 63: 209-216.
- Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Faisal, M. and Al Sahli, A. A. (2014) Nano-silicon dioxide mitigates the adverse effects of salt stress on *Cucurbita pepo* L. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33: 2429-2437.
- Signorelli, S., Dans, P. D., Coitino, E. L., Borsani, O. and Monza, J. (2015) Connecting proline and  $\gamma$ -aminobutyric acid in stressed plants through non-enzymatic reactions. *PLoS One* 10: e0115349-e0115353.
- Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R. and Miller, G. (2012) ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, Cell and Environment* 35: 259-270.
- Todorova, D., Sergiev, I., Alexieva, V., Karanov, E., Smith, A. and Hall, M. (2007) Polyamine content in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh during recovery after low and high temperature treatments. *Plant Growth Regulation* 51: 185-191.
- Xing, H., Zhao, Y., Li, T., Han, B., Zhao, P. and Yu, X. (2022) Enhancing astaxanthin and lipid coproduction in *Haematococcus pluvialis* by the combined induction of plant growth regulators and multiple stresses. *Bioresource Technology* 344: 126225.
- Xing, S. G., Jun, Y. B., Hau, Z. W. and Liang, L. Y. (2007) Higher accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid induced by salt stress through stimulating the activity of diamine oxidases in *Glycine max* (L.) Merr. roots. *Plant Physiology and Biochemistry* 45: 560-566.
- Yang, J., Wang, P., Li, S., Liu, T. and Hu, X. (2022) Polyamine oxidase triggers H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated spermidine improved oxidative stress tolerance of tomato seedlings subjected to saline-alkaline stress. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 1625.
- Zechmann, B., Stumpe, M. and Mauch, F. (2011) Immunocytochemical determination of the subcellular distribution of ascorbate in plants. *Planta* 233: 1-12.
- Zhang, N., Shi, X., Guan, Z., Zhao, S., Zhang, F., Chen, S., Fang, W. and Chen, F. (2016) Treatment with spermidine protects chrysanthemum seedlings against salinity stress damage. *Plant Physiology and Biochemistry* 105: 260-270.

## Investigation of Spermine pretreatment on some growth and physiological parameters of medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) under salinity stress

Fatemeh Nejad-Alimoradi<sup>1\*</sup>, Fatemeh Nasibi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

(Received: 19/02/2022, Accepted: 11/10/2022)

### Abstract

Spermine (Spm) is a group of polyamine compounds that has four groups of nitrogen (tetraamine) and therefore has a higher buffering capacity that is capable of enhancing plant defense systems against many environmental stresses. In this study, which was conducted in 2016 in the research greenhouse of the Graduate University of Advanced Technology, the protective effects of Spm pretreatment against the toxicity of salinity were investigated in pumpkin. For this purpose, Spm was added at 0.1 and 1 mM to the hydroponic medium for 5 days before stress. Salinity treatment (NaCl) was applied at three levels of 0, 40 and 80 mM for 7 days. The experiments were conducted in factorial form in a completely randomized design with three replications. The results showed that salinity stress significantly decreased growth parameters (fresh and dry weight of shoot and root), leaf water content (RWC), protein content and increased lipid peroxidation and ion leakage. In addition, the amount of proline, gamma-aminobutyric acid (GABA) and the activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), guaiacol peroxidase (GPOX) and ascorbate peroxidase (APX) increased under salt stress. Pretreatment with Spm improved growth and increased plant resistance against salt stress. Spm by increasing antioxidant activity (SOD, CAT, GPOX, and APX), proline and GABA content reduces oxidative stress, lipid peroxidation, ion leakage and finally, increased growth parameters. Therefore, Spm pretreatment is suggested as an efficient strategy to improve plant growth and raise pumpkin tolerance against salt stress.

**Keywords:** Spermine, Antioxidant enzymes, Salinity stress, Gamma-Aminobutyric acid

Corresponding author, Email: Alimoradi@pnu.ac.ir