

بهبود برخی شاخص‌های فیزیولوژیک گل سوسن (*Lilium spp.*) در شرایط کم‌آبیاری با استفاده از محلول‌پاشی برگ‌ی اسپرمیدین

مژگان امیدیان^۱، زینب روئین*^۱ و محمد علی شیر^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، دانشگاه ایلام، بخش تحقیقات علوم زراعی باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گیلان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۰۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۰/۰۲)

چکیده

پلی‌آمین‌ها از جمله اسپرمیدین نقش مهمی در تحمل گیاهان به تنش کم‌آبی دارند. به منظور بررسی تأثیر اسپرمیدین بر صفات فیزیولوژیک گل سوسن در شرایط تنش کم‌آبیاری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح کم‌آبیاری (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و سطوح مختلف اسپرمیدین (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی‌مولار) بود. براساس نتایج، تنش شدید کم‌آبیاری (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) به ترتیب باعث افزایش ۱۷۴ درصدی و ۵۵ درصدی پرولین و نش‌الکترولیت نسبت به شاهد شد. برخلاف آن کاهش ۳۳ درصدی و ۲۶ درصدی در میزان کاروتنوئید و پروتئین نسبت به تیمار بدون تنش مشاهده شد. نتایج نشان داد که کاهش دسترسی به آب در گیاه سوسن سبب تحریک فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و مالون دی‌آلدهید می‌شود، ولی مقدار کلروفیل برگ‌ها کاهش می‌یابد. همچنین، تحت تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) با کاربرد اسپرمیدین (۲ میلی‌مولار) میزان فعالیت آنزیم‌ها افزایش و میزان مالون دی‌آلدهید کاهش یافت. بنابراین، محلول‌پاشی برگ‌ی اسپرمیدین (۲ میلی‌مولار) و تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) یک روش قابل اجرا برای صرفه‌جویی در مصرف آب و حفظ کیفیت شاخساره سوسن است.

کلمات کلیدی: آنزیم، پرولین، رنگیزه‌های فتوستتزی، نش‌الکترولیت

مقدمه

مختلف است که موجب شده به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان گل بریدنی و گلدانی کشت شود، به‌طوری که در رتبه‌بندی جهانی رتبه سوم تا پنجم را به خود اختصاص داده است (Yamamoto et al., 2018; Kumar et al., 2018).

خشکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محدودکننده تولید محصولات گیاهی در سراسر جهان محسوب شده و اثرات نامطلوبی بر رشد و نمو گیاه و سایر فرایندهای متابولیکی دارد

گل سوسن با نام علمی *Lilium spp.* از مهم‌ترین گل‌های پیازی متعلق به تیره Liliaceae است و شامل حدود ۱۰۰ گونه و بومی نیمکره شمالی در آسیا، اروپا و آمریکای شمالی است (Rajera et al., 2017). ارزش اقتصادی و محبوبیت بالای گل پیازی سوسن به دلیل گل‌های بزرگ و جذاب، ماندگاری پس از برداشت، تنوع رنگ، عطر و سازگاری با شرایط محیطی

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: z.roein@ilam.ac.ir

(Lum et al., 2014). خشکی زمانی اتفاق می‌افتد که رطوبت در یک منطقه خاص کمتر از حد طبیعی است یا به عبارتی یک منطقه به‌طور مداوم بارش کمتر از حد نرمال دریافت می‌کند (Khatana et al., 2018). از مهم‌ترین اثرات تنش خشکی تغییر در غشای سلولی، تجمع اسمولیت‌ها، کاهش میزان فتوسنتز، کاهش تولید زیست‌توده و اجزای عملکرد در گیاهان است (Kiranmai et al., 2018). گیاهان از سازوکارهای مختلفی برای مقابله با تنش استفاده می‌کنند، یکی از این سازوکارها تنظیم اسمزی است. پرولین یکی از محلول‌های سازگار است که نقش مهمی در گیاهان به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی در هنگام کمبود آب دارد (Celik et al., 2017). تجمع پرولین به‌عنوان یک راهکار برای تحمل به خشکی در گیاهان در نظر گرفته شده است. افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Ghorbanli et al., 2013). در مطالعه‌ای تنش خشکی سبب افزایش میزان پرولین و قندهای محلول برگ، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در گیاه لوبیا شد (رشیدی و همکاران، ۱۳۹۳). در آزمایشی مشابه تنش خشکی محتوای هیدروژن پراکسید، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز، آسکوروبات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز را در گیاه سیاهدانه افزایش داد که این نتایج نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو القاشده توسط خشکی است (کبیری و همکاران، ۱۳۹۳).

پلی‌آمین‌ها از جمله دی‌آمین پوترسین (Put)، تری‌آمین اسپرمیدین (Spd) و تتراآمین اسپرمین (Spm)، پلی‌کاتیون‌های آلی با وزن مولکولی کم و با گروه‌های نیتروژنی آلیفاتیک هستند که در همه موجودات و در همه جا حضور دارند و برای رشد طبیعی پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها مورد نیاز هستند (Satish et al., 2018). پلی‌آمین‌ها در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف مانند تقسیم سلولی، طویل‌شدن ریشه، پیری، توسعه گل، رسیدن میوه (Recalde et al., 2018) و پاسخ به تنش‌های محیطی مانند تنش فلزات سنگین، تنش

اسمزی، تنش UV، تنش خشکی و شوری نقش دارند (Liu et al., 2018). کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها باعث افزایش ثبات و یکپارچگی غشای سلولی در گیاهان تحت تنش می‌شود و پلی‌آمین‌های درونی نیز در حفظ این یکپارچگی مشارکت دارند. پلی‌آمین‌ها پس از کاربرد خارجی می‌توانند سریعاً وارد کلروپلاست‌ها شده و یک نقش حفاظتی از دستگاه فتوسنتزی در برابر اثرات مضر تنش‌های محیطی بازی کنند (Adam and Murthy, 2013). نتایج یک آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی اسپرمیدین و اسپرمین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع پرولین در سنبل‌الطیب (Valeriana officinalis) تحت تنش خشکی شد که از این طریق آسیب به غشا را کاهش داد (Mustafavi et al., 2016). همچنین در پی کاربرد برگی پوترسین ویژگی‌های رویشی و زایشی گل بریدنی گلابیول از جمله ارتفاع گل‌آذین، شمار گلچه‌ها، محتوای سبزینه کلروفیل a, b و کاروتنوئید بهبود یافت (Nahed et al., 2009). در پژوهشی کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها روی برنج تحت شرایط تنش خشکی باعث بهبود رشد گیاه به‌دلیل افزایش جذب کربن، افزایش سنتز متابولیت‌ها، حفظ محتوای آب بافت گیاه و در نتیجه کاهش نشت الکترولیت و عملکرد شد (Farooq et al., 2010).

با توجه به اهمیت اقتصادی گل سوسن و سطح تولید بالای آن در ایران، انجام پژوهش‌هایی برای افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت و همچنین مدیریت مصرف آب ضروری است. بدین منظور در پژوهش حاضر تأثیر اسپرمیدین بر پاسخ فیزیولوژیک گیاه در زمان رویارویی با تنش کم‌آبایی در دوره رشد و نمو سوسن بررسی شد.

مواد و روش‌ها

کشت و تیماردهی: این پژوهش در سال ۱۳۹۶ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام انجام گرفت. آزمایش در فضای گلخانه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار با سه گلدان انجام شد. برای انجام پژوهش، ابتدا پیازهای هیبرید آسیایی گل سوسن

رقم "Fangio" (*LA, longiflorum* × *Asiatic hybrid*) با قطر ۱۸ تا ۲۰ سانتی‌متر از شرکت ساعی گل تهران تهیه گردید و در گلدان‌های با ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر و قطر دهانه داخلی ۱۷ سانتی‌متر حاوی پیت، پرلیت و کوکوپیت (۱:۱:۱) کشت و آماده اعمال تیمارهای مختلف شدند. گیاهان در دمای 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۵ تا ۷۵ درصد و میزان نور ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی قرار گرفتند. بستر کشت هر گلدان شامل ۹۰۰ گرم (۱:۱:۱) پیت، کوکوپیت و پرلیت) بود که پیازها در عمق ۵ سانتی‌متری گلدان کشت شدند. ۲۰ روز بعد از کشت وقتی که ارتفاع گیاهان حدود ۸ تا ۱۰ سانتی‌متر رسید به‌منظور اعمال سطوح مختلف تنش کم‌آبیاری از چهار سطح آبیاری به‌میزان ۱۰۰ درصد (بدون تنش)، ۷۵ درصد (تنش ملایم)، ۵۰ درصد (تنش متوسط) و ۲۵ درصد (تنش شدید) ظرفیت زراعی استفاده گردید. جهت محاسبه درصد وزنی رطوبت بستر کشت در نقطه ظرفیت زراعی، در هر گلدان مقدار مشخصی از بستر کشت ریخته شد. چهار گلدان به‌صورت تصادفی انتخاب و به حد اشباع از آب رسانده شدند. جهت جلوگیری از تبخیر آب بستر کشت، سطح گلدان‌ها به‌وسیله فویل آلومینیومی پوشانده شد. به‌دنبال آن، گلدان‌ها روی سطوح مشبک قرار داده شدند تا آب اضافه بستر کشت زهکش شده و به ظرفیت زراعی برسد. پس از سپری شدن ۴۸ ساعت یعنی زمانی که وزن گلدان‌ها ثابت ماند، وزن گلدان‌ها ثبت شد. در ادامه بستر کشت درون گلدان‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بستر کشت‌ها توزین شدند و در صورت ثابت‌شدن و عدم‌تغییر وزن بستر کشت، وزن خشک آنها ثبت شد. بدین ترتیب میانگین اعداد به‌دست آمده، معادل ظرفیت زراعی در نظر گرفته شد. به‌طوری که وزن گلدان طبق رابطه (۱) در شرایط ظرفیت زراعی ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد.

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{FC}(\%) = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{FW}} \times 100$$

که در آن، FW وزن بستر کشت در ظرفیت زراعی، DW وزن بستر کشت خشک‌شده در آن است. سپس مقدار آب مورد نیاز برای حفظ سطوح ۷۵ درصد، ۵۰ درصد و ۲۵ درصد

ظرفیت زراعی نیز محاسبه شد و در طول دوره آزمایش برای سطوح مختلف رطوبتی گلدان‌ها مورد استفاده قرار گرفت (رجایی و همکاران، ۱۳۹۴). در طول دوره آزمایش برای کنترل سطوح رطوبتی فوق، سطح تمامی گلدان‌ها با فویل آلومینیومی پوشانده شد. وزن گلدان‌ها روزانه بررسی و به محض تغییر در وزن گلدان با اضافه‌کردن آب به بستر کشت، به حد ظرفیت زراعی موردنظر رسانده می‌شد. یک هفته بعد از اعمال تیمار تنش کم‌آبیاری (یک ماه بعد از کشت) گیاهان با غلظت‌های اسپرمیدین (صفر، ۱ و ۲ میلی‌مولار) محلول‌پاشی شدند محلول‌پاشی روی تمام اندام هوایی در سه نوبت هر ۱۰ روز یکبار انجام گرفت (Akram et al., 2015; Rezvanypour et al., 2015). اسپرمیدین ($\text{C}_7\text{H}_{19}\text{N}_3$, MW=145.25, Spd) از شرکت سیگما آلد ریچ خریداری شد.

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC): به‌منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، در زمان گلدهی گیاه از برگ‌های میانی ساقه که کاملاً توسعه‌یافته بود به‌طور تصادفی نمونه‌برداری انجام شد. بلافاصله در آزمایشگاه وزن‌تر آنها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد (FW). سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شده و به‌مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. درنهایت وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری شد (TW). برگ‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت دیگر در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد (DW). بدین ترتیب محتوای نسبی آب برگ‌ها از طریق رابطه (۲) محاسبه شد (Ritchie et al., 1990).

$$\text{رابطه (۲)} \quad \text{RWC}(\%) = \frac{\text{FW} - \text{DW}}{\text{TW} - \text{DW}} \times 100$$

اندازه‌گیری نشت الکترولیت (EC): از برگ گیاهان تحت تیمارهای مختلف به‌طور جداگانه قطعات مربعی با تعداد یکسان (۱۰ عدد) تهیه شد. سپس نمونه‌ها در آب مقطر و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفتند و هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از EC متر (مدل GLP 31) اندازه‌گیری شد (EC1). به‌منظور اندازه‌گیری

میزان کل نشت الکترولیت در اثر مرگ سلول‌ها، لوله‌های آزمایش در حمام آب‌گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و پس از سرد شدن لوله‌ها، مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (EC2). سپس میزان نشت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Lutts et al., 1996).

$$\text{رابطه (۳)} \quad \text{EC}(\%) = \frac{\text{EC}_1}{\text{EC}_2} \times 100$$

اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید: برای تعیین میزان کلروفیل و کاروتنوئید برگ از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۳) استفاده گردید. بدین ترتیب که چند برگ از برگ‌های میانی ساقه به‌طور تصادفی از هر گلدان انتخاب و سپس در هاون چینی با نیتروژن مایع آسیاب شده و از مخلوط حاصل در نهایت ۰/۱ گرم نمونه بافت برگ وزن شد. برای استخراج مطلوب کلروفیل از ۵ میلی‌لیتر استون (۸۰ درصد) به‌عنوان حلال استفاده شد. سپس عصاره‌های حاوی کلروفیل به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل Prism R) شدند و جذب عصاره در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Analytik Jena Specord 50 Plus) خوانده شد. در نهایت غلظت رنگیزه‌های گیاهی با روابط (۴)، (۵)، (۶) و (۷) و در نظر گرفتن فاکتور رقت و وزن بافت اولیه برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر بافت برگ محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۴)} \quad \text{chl a } (\mu\text{g/ml}) = (12.25A_{663} - 2.79A_{647})$$

$$\text{رابطه (۵)} \quad \text{chl b } (\mu\text{g/ml}) = (21.50A_{647} - 5.10 A_{663})$$

$$\text{رابطه (۶)} \quad \text{chl T } (\mu\text{g/ml}) = \text{chl a} + \text{chl b}$$

$$\text{رابطه (۷)} \quad \text{Car} = [(\mu\text{g/ml})(1000A_{470} - 1.82\text{chl a} - 82.05\text{chl b}) / 198]$$

سنجش میزان پرولین: سنجش پرولین به روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. برای این کار ۰/۵ گرم بافت برگ گیاهی با نیتروژن مایع در داخل هاون آسیاب شد. ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد تا مخلوط همگن به‌دست آید. سپس این مخلوط با کاغذ واتمن شماره دو صاف شد و به ۲ میلی‌لیتر آن، ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و

۲ میلی‌لیتر اسید استیک افزوده شد. پس از این که مخلوط خوب هم زده شد، به مدت یک ساعت در حمام آب‌گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از آن برای توقف واکنش، لوله‌های حاوی محلول درون یخ قرار گرفت و به آنها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد. بعد از حدود ۲۰ ثانیه لایه رنگی بالایی برداشته و در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید و نتایج برحسب میکرومول بر گرم وزن تر برگ گزارش شد.

استخراج عصاره آنزیمی: ۰/۱ گرم از نمونه‌های برگ فریز شده به کمک ترازوی آزمایشگاهی توزین شده و با نیتروژن مایع درون هاون چینی آسیاب و به‌طور کامل پودر شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH= ۷) به نمونه پودر شده افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس عصاره رویی در میکروتیوب‌های علامت‌گذاری شده توزیع و به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. این نمونه‌ها برای تعیین فعالیت پروتئین محلول، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز) و مالون دی‌آلدهید مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش غلظت پروتئین محلول: به‌منظور اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول برگ از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده شد. مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی درون لوله آزمایش ریخته، سپس ۱ میلی‌لیتر از معرف برادفورد به آن افزوده و سریعاً ورتکس شد. میزان جذب نوری محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. با کمک منحنی استاندارد، غلظت پروتئین محلول برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

میزان مالون دی‌آلدهید (MDA): اندازه‌گیری مالون دی‌آلدهید به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. برای این منظور به ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۵۰۰ میکرولیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵

آسکوربات براساس اکسیداسیون آسکوربیک اسید و کاهش در جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی آن ($2/8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) به صورت واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (نسخه ۲۰۰۷) استفاده گردید.

نتایج و بحث

محتوای نسبی آب برگ: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش کم‌آبایی و اثر متقابل تنش کم‌آبایی و اسپرمیدین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تنش شدید کم‌آبایی باعث کاهش میزان محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار بدون تنش شد. بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ از تیمار ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین و بدون تنش به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد افزایش ۶ درصدی داشت. همچنین، کمترین مقادیر مربوط به تیمار ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین و تنش متوسط کم‌آبایی و تیمار شاهد و تنش شدید کم‌آبایی بود (شکل ۱).

بسیاری از محققان معتقدند که کاهش میزان محتوای رطوبت نسبی برگ در اثر تنش خشکی مربوط به انسداد روزنه‌ها است و علت انسداد روزنه‌ها را تجمع هورمون آبسزیک اسید می‌دانند، به طوری که این هورمون در شرایط تنش خشکی در ریشه ساخته شده و در سلول‌های روزنه‌ای تجمع می‌یابد (چگینی و همکاران، ۱۳۹۶) گیاهان با محتوای نسبی آب برگ بالاتر مقاومت بیشتری نسبت به تنش‌های محیطی خصوصاً تنش خشکی از خود نشان می‌دهند (Arjenaki et al., 2012). در این پژوهش افزایش محتوای نسبی آب برگ با به‌کاربردن اسپرمیدین در سطح بدون تنش و تنش شدید مشاهده شد. پلی‌آمین‌ها ممکن است کانال‌های یونی خاصی را تعدیل و نفوذپذیری غشا به کلسیم را افزایش

درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم حرارت داده شد. بلافاصله نمونه‌های به سطح یخ منتقل شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. غلظت MDA با ضریب خاموشی معادل $1/55 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ، برحسب نانومول بر گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی: پس از تهیه عصاره آنزیمی، به منظور سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز پس از اضافه کردن ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار، ۰/۳ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید ۳ درصد به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی آن ($43/6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) به صورت میکرومول هیدروژن پراکسید تجزیه شده در دقیقه در گرم وزن تر برگ بیان شد (Aebi, 1984).

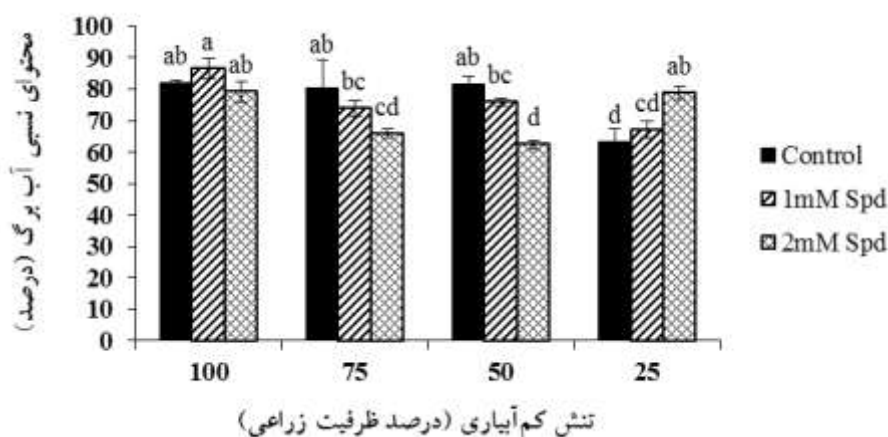
برای تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) استفاده شد. در این روش محلول واکنش برای تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و ۱۹ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳ درصد و ۲۸ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با ضریب خاموشی آن ($26/6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) به صورت واحد آنزیمی بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

برای تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) استفاده شد. در این روش مخلوط واکنش حاوی ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۰/۵ مولار و pH=۷) و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد، ۰/۲ میلی‌لیتر آسکوربات ۰/۰۵ و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات تنش کم آبیاری و تیمار اسپرمیدین بر محتوای نسبی آب برگ، میزان نشت الکترولیت، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید، میزان پرولین و پروتئین گل سوسن

منابع تغییر	درجه آزادی	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیت	کلروفیل	کاروتنوئید	پرولین	پروتئین
کم آبیاری	۳	۲۷۵**	۴۷۰**	۰/۱۱۶**	۰/۰۱۵**	۰/۲۸۲**	۵/۴۱*
اسپرمیدین	۲	۹۲/۷ ^{ns}	۱۱/۴ ^{ns}	۰/۱۰۷**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۲۷۸**	۴۰/۵۱**
کم آبیاری × اسپرمیدین	۶	۱۹۷**	۳۲/۱ ^{ns}	۰/۰۲۴**	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۶ ^{ns}	۰/۶۲ ^{ns}
خطا	۲۴	۳۷/۵	۵۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۱/۲۴
ضریب تغییرات	-	۸/۱۹	۱۹/۱	۸/۸۷	۱۳/۲	۱۳/۷	۱۸/۵

ns غیر معنی دار، * معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و ** معنی دار در سطح احتمال یک درصد.



شکل ۱- اثرات متقابل تنش کم آبیاری و سطوح مختلف اسپرمیدین بر محتوای نسبی آب برگ در گل سوسن. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری ندارند. خطوط عمودی روی هر ستون نشان‌دهنده $\pm$ خطای استاندارد است (n=4).

اسپرمیدین باعث کاهش محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد شد. دلیل تفاوت در نقش پلی‌آمین‌ها که بستگی به نوع پلی‌آمین و شرایط کاربرد آنها دارد، روشن نیست. در برخی موارد این ترکیبات به‌عنوان پرواکسیدانت و القاکنده تنش و گاهی به‌عنوان آنتی‌اکسیدانت و کاهش‌دهنده رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند (Groppa and Benavides, 2008).

نشت الکترولیت: تنش کم آبیاری باعث افزایش معنی‌دار نشت الکترولیت گیاه سوسن در سطح احتمال یک درصد

دهند. به‌دنبال آن مقدار عنصر کلسیم در سیتوپلاسم بالا رفته که منجر به غیرفعال‌شدن ورود یک سویه پتاسیم در غشا پلاسمایی می‌گردد. نتیجه این فرایند تحریک انسداد روزنه، کاهش میزان تعرق، حفظ فشار تورژسانس و کاهش خروج آب از آن خواهد بود (Akter et al., 2018). افزایش محتوای نسبی آب با کاربرد خارجی اسپرمیدین در چمن بنت‌گراس (Li et al., 2015) و گل محمدی تحت تنش آب گزارش شده است (Hassan et al., 2018). در سطوح تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی) و متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی)

گردید (جدول ۱). به‌طوری که بیشترین میزان نشت الکترولیت مربوط به تنش شدید بود که در مقایسه با شرایط بدون تنش افزایش ۵۴/۶ درصدی داشت (جدول ۲). پایداری غشا سلولی برای حفظ فشار تورژسانس سلولی و عملکرد فیزیولوژیک در طول تنش خشکی حیاتی است (Jin et al., 2015). در اثر افزایش برخی ترکیبات فعال اکسیژن از قبیل رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل، غشای سلولی در گیاهان تحت تنش خشکی آسیب می‌بیند و الکترولیت‌ها به بیرون از سلول تراوش می‌کنند و در نتیجه باعث صدمه به گیاه می‌شوند (Aghaie et al., 2018). در پژوهشی روی گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش خشکی مشاهده شد که میزان درصد نشت یونی در اثر تنش خشکی افزایش یافت (سادات صدوق و همکاران، ۱۳۹۳).

رنگیزه کلروفیل و کاروتنوئید: اثر تیمار اسپرمیدین و تنش کم‌آبیاری و اثرات متقابل اسپرمیدین $\times$ کم‌آبیاری بر محتوای کلروفیل در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبیاری میزان کلروفیل کاهش یافت ولی در تنش متوسط یک روند افزایشی داشت. در شرایط بدون تنش و کاربرد اسپرمیدین ۱ میلی‌مولار میزان کلروفیل کاهش ۴۵ درصدی نسبت به تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) و عدم‌محلول‌پاشی با اسپرمیدین داشت (شکل ۲).

به‌نظر می‌رسد افزایش میزان کلروفیل در سطح تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌دلیل افزایش ضخامت برگ باشد، وقوع تنش میزان سطح برگ را کاهش و تعداد کلروپلاست را افزایش می‌دهد در نتیجه برگ‌ها سبز پر رنگ می‌شوند. بنابراین در طی بروز تنش به‌دلیل وجود کلروپلاست بیشتر در سطح برگ میزان کلروفیل نیز افزایش می‌یابد (اکبری و جلیلی مرندي، ۱۳۹۲). تنش خشکی باعث کاهش میزان کلروفیل a, b و کل در گیاه آلترنانتر (*Alternanthera repens*) شد (مهرگان و همکاران، ۱۳۹۷). از آنجایی که کلروفیل و پرولین هر دو از پیش‌ماده گلوتامات به‌وجود می‌آیند، در شرایط خشکی میزان پرولین برگ افزایش پیدا می‌کند و شاید یکی از دلایل کاهش

میزان کلروفیل، افزایش سنتز پرولین باشد (مزارعی و همکاران، ۱۳۹۶). تخریب کلروفیل و از دست‌دادن آن احتمالاً به‌دلیل انباشت ROS در اثر آسیب ناشی از تنش آبی رخ می‌دهد. کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش آبی به‌دلیل تخریب مسیرهای فتوسنتزی و جلوگیری از سنتز کلروفیل است. در مقابل، محلول‌پاشی اسپرمیدین باعث کاهش آسیب به کلروفیل از طریق حفظ سطوح مناسب کلروفیل تحت تنش آبی می‌گردد (Satish et al., 2018). پلی‌آمین‌ها (اسپرمیدین) نقش ضداتیلنی دارند و از تولید آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز اتیلن و رادیکال‌های آزاد که باعث تخریب کلروفیل می‌شوند، جلوگیری می‌کنند. همچنین، پلی‌آمین‌ها از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده در غشای تیلاکوئید از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کنند (Kamiah and Zamanibahramabadi, 2016). مطابق با نتایج این پژوهش، Shaddad و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها سبب افزایش مقدار کلروفیل a, کلروفیل b و کاروتنوئید در گیاه ذرت (*Zea mize*) تحت تنش خشکی می‌شود.

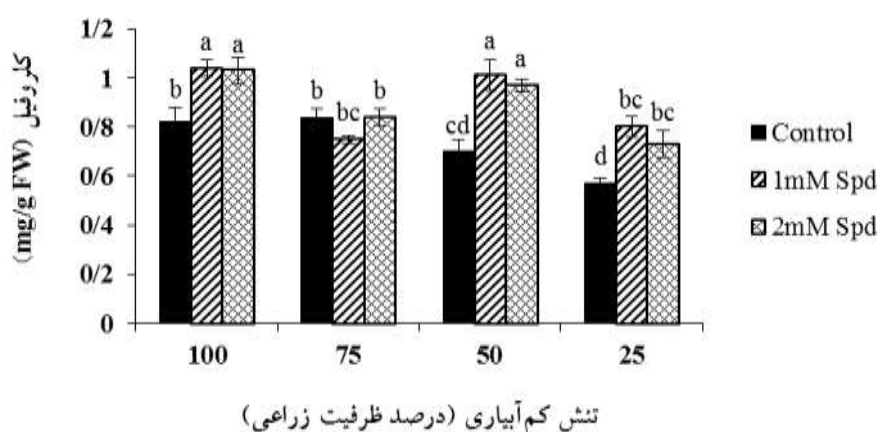
تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تنش کم‌آبیاری تأثیر معنی‌داری بر محتوای کاروتنوئید برگ داشته است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش تنش کم‌آبیاری محتوای کاروتنوئید کاهش یافت، به طوری که کمترین محتوای کاروتنوئید برگ در تنش شدید مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تنش متوسط نداشت (جدول ۲). در شرایط تنش کم‌آبی مقدار کاروتنوئید کاهش یافته و نمی‌تواند نقش حفاظتی خود را انجام دهد. کاهش محتوای کاروتنوئید ظاهراً به‌دلیل اکسیدشدن توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آنها است (ضیائی و همکاران، ۱۳۹۶). هم‌راستا با این نتایج، تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیل a, b, کل و کاروتنوئید در گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum*) شد (Sadak, 2016).

میزان پرولین: براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان پرولین برگ، اثر تنش کم‌آبیاری و تیمار اسپرمیدین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین این صفت نشان

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر تنش کم آبیاری بر میزان نشت الکترولیت، غلظت کاروتنوئید، میزان پرولین و پروتئین گیاه سوسن

تنش کم آبیاری	نشت الکترولیت (درصد)	کاروتنوئید (mg/g FW)	پرولین (μmol/gFW)	پروتئین (mg/g FW)
بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)	۳۱/۱ ± ۱/۳۲ ^c	۰/۳۶ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۲۳ ± ۰/۰۴ ^d	۷/۰۹ ± ۰/۰۵۶ ^a
تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت زراعی)	۳۷/۳ ± ۱/۴۵ ^{bc}	۰/۳۶ ± ۰/۰۱ ^a	۰/۳۸ ± ۰/۰۴ ^c	۵/۸۸ ± ۰/۰۸۴ ^b
تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی)	۴۲/۱ ± ۱/۸۹ ^{ab}	۰/۳۱ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۵۴ ± ۰/۰۴ ^b	۵/۸۰ ± ۰/۰۵۷ ^b
تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی)	۴۸/۱ ± ۳/۸۶ ^a	۰/۲۷ ± ۰/۰۱ ^b	۰/۶۳ ± ۰/۰۶ ^a	۵/۲۶ ± ۰/۰۴۹ ^b

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد است (n=4).



شکل ۲- اثرات متقابل تنش کم آبیاری و سطوح مختلف اسپرمیدین بر میزان کلروفیل برگ سوسن. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند. خطوط عمودی روی هر ستون نشان‌دهنده ± خطای استاندارد است (n=4).

شرایط خشکی می‌تواند به دلیل نقش حمایت‌کننده پلی‌آمین‌ها از پروتئین‌ها، آنزیم‌های دخیل در ستر پرولین، حفظ فتوسنتز و تعدیل عناصر غذایی باشد (دولت کردستانی و همکاران، ۱۳۹۶). نتایج ما با یافته‌های Kubis و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. آنها نشان دادند که گیاهچه‌های خیار (*Cucumis sativus*) تیمار شده با پلی‌آمین‌ها تحت شرایط تنش خشکی، مقدار پرولین بیشتری را در خود ذخیره کردند.

میزان پروتئین محلول: براساس جدول تجزیه واریانس اثر تنش کم آبیاری بر میزان پروتئین محلول برگ در سطح احتمال پنج درصد و تیمار اسپرمیدین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به

می‌دهد که با افزایش سطوح تنش کم آبیاری میزان پرولین برگ افزایش یافته است، به طوری که بیشترین میزان پرولین مربوط به تنش شدید است که افزایش ۱۷۴ درصدی نسبت به شرایط بدون تنش داشته است. علاوه بر این، تیمار ۲ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث افزایش ۱۰۷ درصدی میزان پرولین برگ در مقایسه با تیمار شاهد شد (جدول ۲ و ۳). تجمع پرولین به عنوان یک راهکار برای تحمل به خشکی در گیاهان در نظر گرفته شده است. پرولین کمک می‌کند تا گیاه فشار تورژسانس را در سلول حفظ کند و اجازه می‌دهد تا گیاه در شرایط خشکی با استفاده از آب خارج سلولی زنده بماند (Sahitya et al., 2018). افزایش میزان پرولین با کاربرد پلی‌آمین‌ها تحت

جدول ۳- مقایسه میانگین تاثیر تیمار اسپرمیدین بر میزان پرولین و پروتئین گیاه سوسن

تیمار اسپرمیدین	پرولین ($\mu\text{mol/gFW}$)	پروتئین (mg/g FW)
شاهد	0.27 ± 0.04^c	3.88 ± 0.39^b
۱ میلی مولار	0.49 ± 0.04^b	7.08 ± 0.38^a
۲ میلی مولار	0.56 ± 0.05^a	7.07 ± 0.27^a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند. میانگین داده‌ها $\pm$ خطای استاندارد است ($n=4$).

پروتئین‌ها به مقدار بیشتری توسط گیاه ساخته می‌شود (Dastyran, 2015). در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد که اسپرمیدین باعث افزایش میزان پروتئین شده است.

مالون دی‌آلدهید: اثر سطوح مختلف تنش کم‌آبایی، تیمار اسپرمیدین و برهمکنش آنها بر میزان مالون دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). بیشترین میزان مالون دی‌آلدهید در سطح تنش شدید و تیمار شاهد به‌دست آمد. محلول‌پاشی اسپرمیدین باعث کاهش میزان مالون دی‌آلدهید شد و بدین ترتیب اثرات منفی تنش کم‌آبایی را کاهش داد. به‌طوری‌که محلول‌پاشی اسپرمیدین ۲ میلی مولار باعث کاهش ۶۷ درصدی میزان مالون دی‌آلدهید نسبت به عدم‌کاربرد اسپرمیدین در سطح تنش شدید یعنی ۲۵ درصد ظرفیت زراعی شد (شکل ۳).

افزایش محتوای MDA به‌عنوان یکی از محصولات اصلی پراکسیداسیون غشا توسط ROS است که بر فسفولیپیدهای غشا تأثیر می‌گذارد و به‌عنوان شاخص برای تعیین میزان آسیب ناشی از تنش خشکی استفاده می‌شود (Liao et al., 2018). در مطالعه‌ای Hossain و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده کردند که تنش شوری و خشکی باعث افزایش قابل توجهی در میزان MDA در خردل می‌شود که این امر به‌علت عدم‌القا سیستم آنتی‌اکسیدان‌ها است. پلی‌آمین‌ها به‌علت ویژگی آنتی‌اکسیدانی به‌طور عمده از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند. بنابراین ممکن است از طریق حذف ROS یا بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث حفظ لیپیدهای غشا شوند (Ataie et al., 2015). کاربرد خارجی اسپرمیدین روی دانه‌های مرکبات سبب افزایش محتوای پرولین و فعالیت

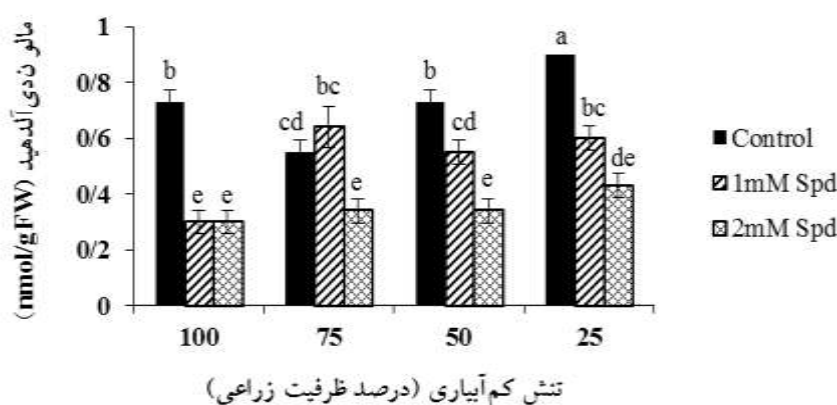
میزان پروتئین محلول مشخص کرد که تحت تنش شدید نسبت به شرایط بدون تنش میزان پروتئین محلول کاهش ۱۸ درصدی داشته است (جدول ۲). علاوه بر این تیمارهای مختلف اثرات متفاوتی بر میزان پروتئین محلول برگ داشتند. بیشترین میزان پروتئین محلول برگ از تیمار اسپرمیدین ۱ میلی مولار به‌دست آمد که با غلظت ۲ میلی مولار اختلاف معنی‌داری نداشت، به‌طوری‌که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسپرمیدین باعث افزایش دو برابری میزان پروتئین محلول برگ نسبت به شاهد شد (جدول ۳).

بررسی‌ها نشان داده است که در گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago officinalis*) (زاهد چکووری و قاسم‌اف، ۱۳۹۴) و گیاه کاسنی (*Cichorium intibus*)، تنش خشکی باعث کاهش مقدار پروتئین شد (رضایی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۶). تنش اکسایشی ناشی از خشکی یکی از دلایل کاهش مقدار پروتئین‌هاست و احتمالاً تولید رادیکال‌های سوپراکسید یا هیدروکسیل باعث اکسایش اسیدهای آمینه می‌شود و به ساختار و عملکرد پروتئین‌ها آسیب جدی وارد می‌کند (سالارپور غربا و فرح‌بخش، ۱۳۹۴). در مطالعه‌ای Zhang و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که اسپرمیدین و پوترسین مقدار پروتئین محلول در برگ‌های خیار تحت تنش سرما را افزایش دادند. افزایش مقدار پروتئین در اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها ممکن است به‌دلیل نقش آنها در سنتز پروتئین‌ها باشد. همچنین، گزارش شده است که اسپرمیدین در نابودی رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش داشته و از فعالیت آنها جلوگیری می‌کند. برخی بررسی‌ها نشان داده‌اند که تیمار پلی‌آمین‌ها موجب افزایش جذب و تجمع نیتروژن می‌شود که در نتیجه آن ترکیباتی مانند اسیدهای آمینه و

جدول ۴- تجزیه واریانس اثرات تنش کم آبیاری و تیمار اسپرمیدین بر میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز گیاه سوسن

میانگین مربعات				درجه آزادی	منابع تغییر
آسکوربات پراکسیداز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم کاتالاز	مالون دی آلدئید		
۰/۰۱۴**	۰/۰۰۲۰**	۰/۰۰۶**	۰/۰۶۲**	۳	کم آبیاری
۰/۰۲۷**	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۲۳**	۰/۰۴۲**	۲	اسپرمیدین
۰/۰۰۴**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۰۰۱**	۰/۰۳۸**	۶	کم آبیاری × اسپرمیدین
۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۶	۲۴	خطا
۲۰/۰۳	۸/۴۹	۸/۱۵	۱۴/۴۲	-	ضریب تغییرات

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

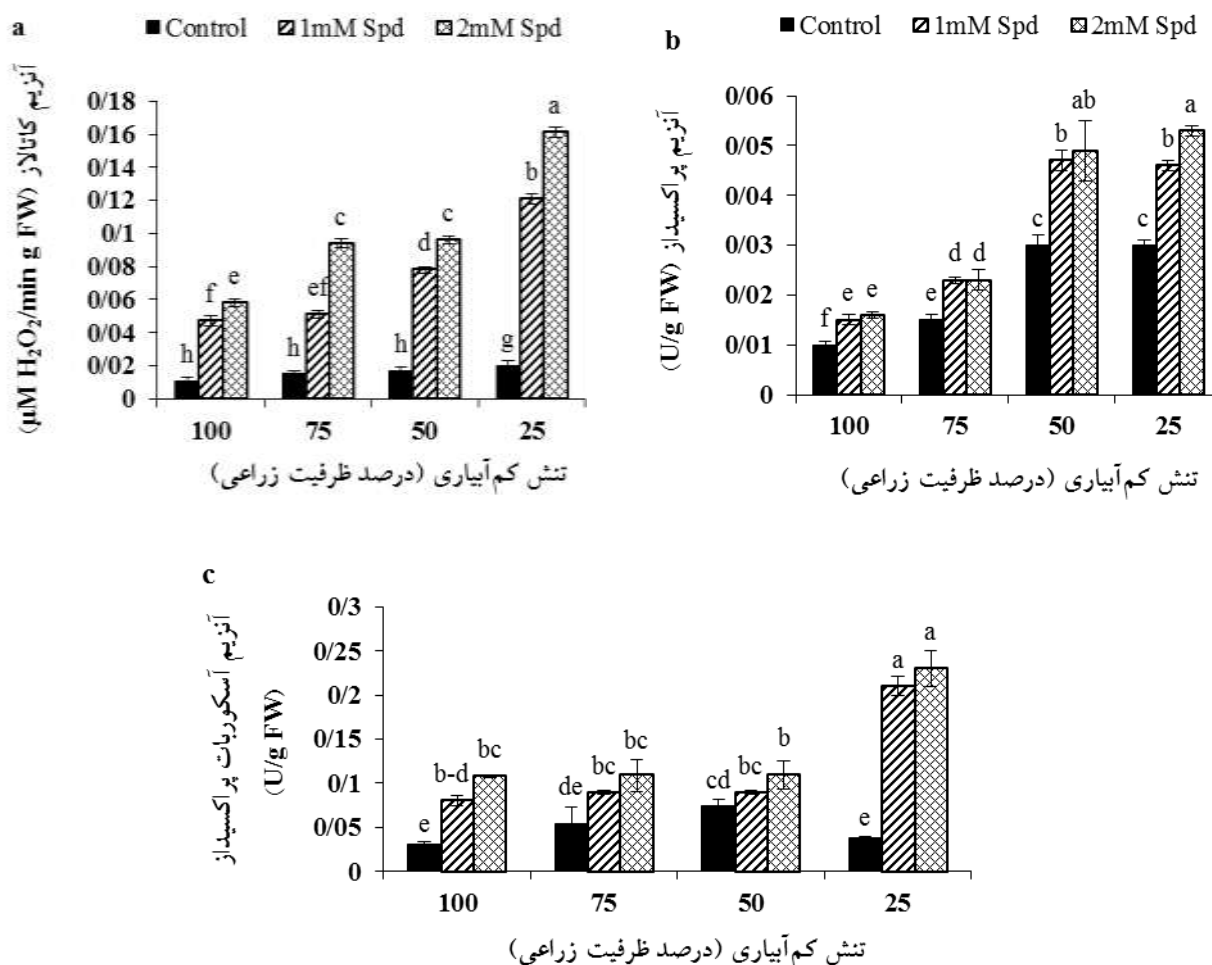


شکل ۳- اثرات متقابل تنش کم آبیاری و سطوح مختلف اسپرمیدین بر میزان مالون دی آلدئید برگ سوسن. در هر ستون میانگین های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی داری ندارند. خطوط عمودی روی هر ستون نشان دهنده $\pm$ خطای استاندارد است (n=4).

فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۴a). تنش کم آبیاری باعث افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شرایط عدم تنش شد. علاوه بر این، با اعمال تنش شدید میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان تحت تیمار اسپرمیدین ۲ میلی مولار نسبت به عدم کاربرد اسپرمیدین افزایش ۷۷ درصدی را نشان داد. تیمار اسپرمیدین ۲ میلی مولار و شرایط تنش شدید باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به گیاهان تحت تنش و بدون محلول پاشی شد (شکل ۴b). بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از تیمار اسپرمیدین ۲ میلی مولار و سطح تنش شدید ۲۵ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد که با تیمار اسپرمیدین ۱ میلی مولار اختلاف آماری

آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد. از طرف دیگر باعث کاهش محتوای MDA و سطوح هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) شد (Xiong et al., 2017).

آنزیم های آنتی اکسیدانی: اثر تنش کم آبیاری، تیمار اسپرمیدین و برهمکنش آنها بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار تنش شدید و اسپرمیدین ۲ میلی مولار به دست آمد. همچنین با افزایش تنش کم آبیاری از میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی داری کاسته شد به طوری که کمترین میزان



شکل ۴- اثرات متقابل تنش کم‌آبیاری و سطوح مختلف اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی. a: کاتالاز، b: پراکسیداز و c: آسکوربات پراکسیداز برگ سوسن. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند. خطوط عمودی روی هر ستون نشان‌دهنده $\pm$ خطای استاندارد است (n=4).

مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی شوند (Ling et al., 2015). در مطالعه‌ای، Ahmad و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش خشکی نسبت به شرایط بدون تنش در گیاه ذرت افزایش یافت. همچنین موسوی و همکاران (۱۳۹۶) بیان کردند که با کاهش مقدار آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و غلظت مالون دی‌آلدهید در گل جعفری (*Tagetes erecta*) افزوده شد. تحت تنش خشکی محلول‌پاشی اسپرمیدین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز در گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) شد (Liu et al., 2018). پلی‌آمین‌ها با

معنی‌داری نداشت. همچنین کمترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار شاهد و سطح بدون تنش بود که نسبت به تنش شدید کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۴c).

گیاهان معمولاً دارای راهکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای سازگاری به تنش خشکی هستند. تنش خشکی معمولاً باعث انباشت ROS و آسیب اکسیداتیو به گیاه می‌شود. در مقابل، گیاهان می‌توانند کارایی سیستم آنتی‌اکسیدان را افزایش دهند و از طریق افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX) و کاتالاز (CAT) و ترکیبات غیرآنزیمی باعث افزایش

در مطالعه حاضر تیمار اسپرمیدین از طریق افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی موجب کاهش تنش کم آبیاری و بهبود شاخص پایداری غشا و افزایش قدرت گیاه در حفظ آب و افزایش میزان کلروفیل در گیاه سوسن شد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر می توان بیان کرد که سوسن گیاهی متحمل به تنش کم آبیاری است و تا سطح تنش ملایم ۷۵ درصد ظرفیت زراعی را به خوبی تحمل می کند. از طرفی محلول پاشی اسپرمیدین ۲ میلی مولار می تواند با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید و کاهش تخریب پروتئین ها از طریق حذف رادیکال های آزاد، باعث حفظ ساختار سلول و در نهایت جلوگیری از متلاشی شدن بافت و اندام گیاهی تحت تنش کم آبیاری گردد.

داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی خود به وسیله محدود کردن تجمع O_2^- (احتمالاً از طریق مهار NADPH اکسیداز) موجب کاهش خسارات ناشی از تنش های اکسیداتیو می گردند (Wen and Moriguchi, 2015). کاربرد برگی اسپرمین و اسپرمیدین در گل محمدی (*Rosa damascena*) باعث بهبود فعالیت آنزیم های CAT و SOD و کاهش سطح H_2O_2 گردید که این موضوع منجر به افزایش خواص غشا می شود (Hassan et al., 2018). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که یکی از مکانیسم های دخیل در بهبود تحمل به کم آبیاری گیاه سوسن افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی است.

نتیجه گیری

منابع

- اکبری، و. و جلیلی مرندی، ر. (۱۳۹۲) اثر سایکوسل بر رشد و رنگیزه های فتوسنتزی دو رقم زیتون تحت دوره های مختلف آبیاری. نشریه علوم باغبانی ۲۷: ۴۶۹-۴۷۰.
- چگینی، ا.، قربانپور، م.، حاتمی، م. و تقی زاده، م. (۱۳۹۶) اثر نانو لوله های کربنی چند دیواره بر صفات فیزیولوژیکی، ترکیبات فنلی و ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاه مریم گلی ایرانی (*Salvia mirzayanii*) تحت تنش خشکی. فصلنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی ۲: ۲۰۷-۱۹۱.
- دولت کردستانی، م.، تقوایی، م. و برخوردی، س. (۱۳۹۶) ارزیابی اثر پوترسین بر برخی شاخص های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی نهال های استبرق (*Calotropis procera* Ait) تحت شرایط خشکی. فیزیولوژی محیطی گیاهی ۱۲: ۱۳-۱.
- رجایی، م.، عطارزاده، م.، موسوی، ح. و عطارزاده، م. (۱۳۹۴) استفاده از کمپوست شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) در کاهش اثر تنش کم آبی در خیار گلخانه ای. دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۵: ۹۰-۷۹.
- رشیدی، س.، عبادی، ع.، پرمون، ق. و جهان بخش، س. (۱۳۹۳) اثر منبع نیتروژن بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا در شرایط تنش کم آبی. مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۳: ۹۷.
- رضایی نیا، ن.، رمرودی، م.، گلوی، م. و فروزنده، م. (۱۳۹۶) تأثیر کودهای زیستی بر ویژگی های فیزیولوژیک و جذب برخی عناصر غذایی در گیاه دارویی کاسنی (*Cichorium intibus*) در واکنش به تنش خشکی. مجله پژوهش های تولید گیاهی ۲۴: ۱۴۰-۱۲۹.
- زاهد چکوری، س. و قاسم اف، ن. (۱۳۹۴) بررسی تغییرات برخی از عناصر تغذیه ای پرمصرف، پرولین و پروتئین در گیاه گاوزبان اروپایی (*Borago Officinalis* L.) تحت تنش خشکی. فصلنامه علمی پژوهشی زیست فناوری گیاهان زراعی ۱۱: ۷۵-۶۵.
- سادات صدوق، ف.، شریعتمداری، ح.، خوشگفتارمنش، ا. م. و مصدقی، م. ر. (۱۳۹۳) تغذیه مناسب گوجه فرنگی با پتاسیم و روی در شرایط تنش خشکی ایجاد شده با پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در سیستم آبکشت. مجله علوم و فنون کشت های گلخانه ای ۵: ۸۱-۶۷.
- سالارپور غربا، ف. و فرح بخش، ح. (۱۳۹۴) تأثیر تنش خشکی و اسید سالیسیلیک بر صفات ظاهری و فیزیولوژیکی گیاه رازیانه. به زراعی کشاورزی ۱۶: ۷۷۸-۷۶۵.

- ضیائی، س. م.، خزاعی، ح. ر. و نظامی، ا. (۱۳۹۶) بررسی اثر سطوح مختلف آبیاری بر صفات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در پنج ژنوتیپ ماش. فیزیولوژی گیاهان زراعی ۹: ۲۱-۵.
- کبیری، ر.، فرحبخش، ح. و نصیبی، ف. (۱۳۹۳) اثر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.). دو ماهنامه علمی پژوهشی گیاهان دارویی و معطر ایران ۴: ۶۰۹-۶۰۰.
- مزارعی، ا.، سیروس مهر، ع. ر. و بابایی، ز. (۱۳۹۶) تأثیر قارچ میکوریزا بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی خار مریم (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) تحت تنش خشکی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۳.
- موسوی، س. م.، چهارزی، م. ا. و خالقی، ا. (۱۳۹۶) اثر تنش آبی بر روند تغییرات پرولین، قندهای محلول، محتوای نسبی آب و پروتئین‌های محلول برگ دو گونه گل جعفری. نشریه علوم باغبانی ۳۱: ۳۶۵-۳۷۱.
- مهرگان، ب.، موسوی فرد، ص. و رضایی‌نژاد، ع. ا. (۱۳۹۷) تأثیر محلول‌پاشی سیلیکات پتاسیم بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه آلترنانتر (*Alternanthera repens* L.) تحت تنش خشکی. به‌زراعی کشاورزی ۲۰: ۳۱۴-۲۹۹.
- Adam, S. and Murthy, S. D. S. (2013) Role of polyamines and their effect on photosynthesis in plants. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 4: 596-605.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. Methods in Enzymology 105: 121-126.
- Aghaie, P., Tafreshi, S. A. H., Ebrahimi, M. A. and Haerinasab, M. (2018) Tolerance evaluation and clustering of fourteen tomato cultivars grown under mild and severe drought conditions. Scientia Horticulturae 232: 1-12.
- Ahmad, Z., Waraich, E. A., Ahmad, R. and Shahbaz, M. (2017) Modulation in water relations, chlorophyll contents and antioxidants activity of maize by foliar phosphorus application under drought stress. Pakistan Journal of Botany 49: 11-9.
- Akram, N. A., Noreen, S., Noreen, T. and Ashraf, M. (2015) Exogenous application of trehalose alters growth, physiology and nutrient composition in radish (*Raphanus sativus* L.) plants under water-deficit conditions. Brazilian Journal of Botany 38: 431-439.
- Akter, S., Rasul, M. G., Zakaria, M., Sarker, M. M., Nila, I. S., Dutta, S., Haque, M. M. and Rohman, M. M. (2018) effect of polyamine on pigmentation, reactive oxidative species and antioxidant under drought in maize (*Zea mays* L.). Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 6: 799-811.
- Arjenaki, F. G., Jabbari, R. and Morshedi, A. (2012) Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4: 726-729.
- Ataie, D., Naderi, R. and Khandan-Mirkohi, A. (2015) Exogenous putrescine delays senescence of *Lisianthus* cut flowers. Journal of Ornamental and Horticultural Plants 5: 167-174.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Celik, O., Ayan, A. and Atak, C. (2017) Enzymatic and non-enzymatic comparison of two different industrial tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties against drought stress. Botanical Studies 58: 32.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology 2: 764-775.
- Dastyran, M. (2015) Effect of humic acid and exogenous putrescine on vase life and leaf macro elements status of hydroponic cultured rose (*Rosa hybrid* cv. 'Dolce Vita'). Agricultural Communications 3: 43-49.
- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D. J., Cheema, S. A. and Aziz, T. (2010) Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. Journal of Agronomy and Crop Science 196: 336-345.
- Ghorbanli, M., Gafarabad, M., Amirian, T. A. N. N. A. Z. and Allahverdi, M. B. (2013) Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. Iranian Journal of Plant Physiology 3: 651-6.
- Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids 34: 35.
- Hassan, F. A. S., Ali, E. F. and Alamer, K. H. (2018) Exogenous application of polyamines alleviates water stress-induced oxidative stress of *Rosa damascena* Miller var. *trigintipetala* Dieck. South African Journal of Botany 116: 96-102.
- 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.

- Hossain, M. A., Mostofa, M. G. and Fujita, M. (2013) Cross protection by cold-shock to salinity and drought stress-induced oxidative stress in mustard (*Brassica campestris* L.) seedlings. *Molecular Plant Breeding* 4: 50-70.
- Jin, R., Shi, H., Han, C., Zhong, B., Wang, Q. and Chan, Z. (2015) Physiological changes of purslane (*Portulaca oleracea* L.) after progressive drought stress and rehydration. *Scientia Horticulturae* 194: 215-221.
- Kamiab, F. and Zamanibahramabadi, E. (2016) The effect of different polyamines on some physiological traits as ACC oxidase and superoxide dismutase enzymes activity in *Chrysanthemum morifolium* cv.'Bright Golden Ann'. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants* 6: 2251-6433.
- Khatana, M. A., Jahangir, M. M., Ayyub, C. M., Qadri, R. W. K., Azam, M., Ziaf, K., Ghani, M. A. and Iqbal, W. (2018) Response of morphological and chemical attributes of *Perennial Verbena* against drought stress. *Open Access Library Journal* 5: 1.
- Kiranmai, K., Lokanadha Rao, G., Pandurangaiah, M., Nareshkumar, A., Amaranatha Reddy, V., Lokesh, U., Venkatesh, B., Anthony Johnson, A. M. and Sudhakar, C. (2018) A novel WRKY transcription factor, MuWRKY3 (*Macrotyloma uniflorum* Lam. Verdc.) enhances drought stress tolerance in transgenic groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants. *Frontiers in Plant Science* 9: 346.
- Kubis, J., Floryszak-Wieczorek, J. and Arasimowicz-Jelonek, M. (2014) Polyamines induce adaptive responses in water deficit stressed cucumber roots. *Journal of Plant Research* 127: 151-158.
- Kumar, S., Malik, A., Dahiya, D. S. and Kaur, M. (2018) Appraisal of asiatic hybrid liliu cultivars under polyhouse growing condition in semi-arid haryana. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7: 3389-3394.
- Li, J., Yang, P., Gan, Y., Yu, J. and Xie, J. (2015) Brassinosteroid alleviates chilling-induced oxidative stress in pepper by enhancing antioxidation systems and maintenance of photosystem II. *Acta Physiologiae Plantarum* 37: 222.
- Liao, T., Wang, Y., Xu, C. P., Li, Y. and Kang, X. Y. (2018) Adaptive photosynthetic and physiological responses to drought and rewatering in triploid *Populus* populations. *International Journal for Photosynthesis Research* 56: 578-590.
- Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983) Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592.
- Ling, L., Jiangang, L., Minchong, S., Chunlei, Z. and Yuanhua, D. (2015) Cold plasma treatment enhances oilseed rape seed germination under drought stress. *Scientific Reports* 5: 13033.
- Liu, C. J., Wang, H. R., Wang, L., Han, Y. Y., Hao, J. H. and Fan, S. X. (2018) Effects of different types of polyamine on growth, physiological and biochemical nature of lettuce under drought stress. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Lum, M. S., Hanafi, M. M., Rafii, Y. M. and Akmar, A. S. N. (2014) Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *Journal of Animal and Plant Sciences* 24: 1487-1493.
- Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. (1996) NaCl-induced senescence in leaves of rice (*oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Journal of Annals of Botany* 78: 389-398.
- Mustafavi, S. H., Shekari, F. and Maleki, H. H. (2016) Influence of exogenous polyamines on antioxidant defence and essential oil production in valerian (*Valeriana officinalis* L.) plants under drought stress. *Acta Agriculturae Slovenica* 107: 81-91.
- Nahed, G. A. A., Lobna, S. T. and Soad, M. I. (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 Journal of Applied Sciences* 2: 169-179.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Rajera, S., Sharma, P. and Sharma, B. K. P. (2017) Effect of different growing media on growth and flower production of LA hybrid lily. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6: 2076-2089.
- Recalde, L., Vazquez, A., Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2018) Reactive oxygen species and nitric oxide are involved in polyamine-induced growth inhibition in wheat plants. *Protoplasma* 1-13.
- Rezvanypour, S., Hatamzadeh, A., Elahinia, S. A. and Asghari, H. R. (2015) Exogenous polyamines improve mycorrhizal development and growth and flowering of *Freesia hybrida*. *Journal of Horticultural Research* 23: 17-25.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Sadak, M. S. (2016) Mitigation of drought stress on fenugreek plant by foliar application of trehalose. *International Journal of Chem Tech Research* 9: 147-155.
- Sahitya, U. L., Krishna, M. S. R., Deepthi, R., Prasad, G. S. and Kasim, D. (2018) Seed antioxidants interplay with drought stress tolerance indices in chilli (*Capsicum annuum* L.) seedlings. *BioMed Research International* 1-14.
- Satish, L., Rency, A. S. and Ramesh, M. (2018) Spermidine sprays alleviate the water deficit-induced oxidative stress in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn.) plants. *3 Biotech* 8: 63.

- Shaddad, M. A. K., El-Samad, M. H. A. and Mohammed, H. T. (2011) Interactive effects of drought stress and phytohormones or polyamines on growth and yield of two M (*zea maize* L.) genotypes. American Journal of Plant Sciences 2: 790.
- Wen, X. and Moriguchi, T. (2015) Role of polyamines in stress response in horticultural crops. In Abiotic Stress Biology in Horticultural Plants. 35-45.
- Xiong, B., Ye, S., Qiu, X., Liao, L., Sun, G., Luo, J., Dai, L., Rong, Y. and Wang, Z. (2017) Exogenous spermidine alleviates fruit granulation in a *Citrus* cultivar (*Huang guogan*) through the antioxidant pathway. Acta Physiologiae Plantarum 39: 98.
- Yamamoto, S., Yamagiwa, Y., Inaba, Z. and Handa, T. (2018) Morphological and simple sequence repeat analysis to clarify the diversity of natural *Lilium japonicum* and *L. auratum* hybrids in the hybrid zone of the Izu Peninsula, Japan. The Horticulture Journal 87: 115-123.
- Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y. and Chen, J. (2009) Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. Scientia Horticulturae 122: 200-208.

Improvement of some physiological parameters of lily (*Lilium* spp.) under deficit irrigation conditions using foliar application of spermidine

Mojgan Omidian¹, Zeynab Roein^{*1}, Mohammad Ali Shiri²

¹ Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ilam University Ilam, Iran

³ Horticulture Crops Research Department, Guilan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Rasht, Iran

(Received: 21/02/2019, Accepted: 23/12/2019)

Abstract

Polyamines including spermidine play an important role in the tolerance of plants to water deficit stress. In order to investigate the effect of spermidine on physiological traits of *Lilium* under deficit irrigation stress, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Treatments included four levels of water deficit (100, 75, 50 and 25% of Field Capacity) and different levels of spermidine (0, 1 and 2mM). Based on the results, severe deficit irrigation (25% of FC) increased proline and electrolyte leakage compared to the control respectively by 174% and 55%. In contrast, decrease of carotenoids and proteins content (33% and 26%, respectively) were observed under severe deficit irrigation conditions compared to the well-watered conditions. Results showed that lower availability water in the *lilium* plants, stimulated higher activities of enzymes (catalase, ascorbate peroxidase, peroxidase) and malondialdehyde, but decreased chlorophyll content of leaves. Also, under severe stress (25% of FC), exogenous application of spermidine (2mM) enhanced the the activity of enzymes and decreased the level of malondialdehyde. Therefore, foliar application of spermidine (2mM) and mild stress level (75% of FC) were procedures capable to save water consumption and maintain the quality of *Lilium* shoot.

Keywords: Enzyme, Photosynthetic pigments, Proline, Electrolyte leakage