Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 3, Autumn 2021 (553-564)
DOI: 10.22059/ijhs.2021.291658.1734

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۰ (ص ۵۶۴-۵۵۳)

نشریه پژوهشی:

مطالعه اثر اسپرمین در شرایط تنش شوری بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاه پروانش (*Chatarantus roseus* L.)

میترا اعلایی[1*]، زهرا کرمی زرندی[2]، مسعود ارغوانی[1] و فهیمه صالحی[3]
۱، ۲ و ۳. استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.
۳۸۷۹۱-۴۵۳۷۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۹/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۲)

چکیده

به منظور مطالعه اثر اسپرمین در شرایط تنش شوری در گیاه پروانش آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلدان‌های که حاوی پیت ماس قهوه‌ای به پرلایت با نسبت ٤:١ بودند در گلخانه دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارها شامل اسپرمین در چهار سطح (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm) و تنش شوری در سه سطح (صفر، ٦٠ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) بودند. صفات مورد ارزیابی شامل صفات مورفولوژیکی(وزن تر، وزن خشک، ارتفاع، قطر گل، تعداد برگ)، صفات فیزیولوژی(محتوای نسبی آب، کلروفیل کل، کاروتنوئید) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و مقدار پرولین بودند. نتایج نشان داد کاربرد پلی‌آمین اسپرمین رشد و عملکرد گیاه پروانش را در شرایط تنش بهبود بخشید و بر صفات وزن تر و وزن خشک بوته، ارتفاع، تعداد گل، محتوای نسبی آب، پرولین، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید و آنزیم پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد و بر صفت تعداد برگ در سطح احتمال پنج درصد اثر معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان پرولین (۰/۳۷ µmol/g FW) در تیمار ۱۰پی‌پی‌ام و کمترین میزان (۰/۲۳ µmol/g FW) در تیمار شاهد بدست آمد. بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز (۰/۰۹۹ units.g-1 FW.min-1) در تیمار ۱۵ پی‌پی‌ام اسپرمین به دست آمد که نشان‌دهنده افزایش میزان فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد با افزایش سطح اسپرمین بود. بنابراین استفاده از اسپرمین در زمینه دستیابی به شاخص‌های رشد مطلوب در این گیاه سودمند است.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پرولین، شاخص‌های رشد، کاروتنوئید.

The Study of effects of spermine under salinity stress on morphophysiological characteristics of *Catharanthus roseus* L.

Mitra Alaei[1*], Zahra Karami Zarandi[2], Masoud Arghavani[1] and Fahimeh Salehi[3]
1, 2, 3. Assistant Professor, M.Sc. Student and Ph.D. Candidate, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, 45371-38791
(Received: Dec. 09, 2019- Accepted: Jan. 31, 2021)

ABSTRACT

In order to study the effects of spermine in *Catharanthus roseus* L under salinity stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design pots containing 4:1 brown peat moss to perlite in greenhouse of Zanjan University. Treatments were four spermine at four levels (0, 5, 10 and 15 ppm) and salinity stresses at three levels (0, 60 and 120 mM) of sodium chloride. Traits which were studied were as fresh and dry weight, plant height, flower diameter, leaf number as morphological traits, relative water content, total chlorophyll, carotenoids as physiological traits, activity of antioxidant enzymes such as peroxidase and proline. Results showed that application of polyamine spermine improves growth and yield of *Chatarantus roseus* L in stress condition and on fresh and dry weight, plant height, flower number, relative water content, proline, chlorophyll content, carotenoid, peroxidase enzyme and leaf number at 1% and 5% probability levels. The highest proline content (0.37 µmol/g FW) was obtained in 10 ppm and the lowest (0.23 µmol/g FW) in control treatment. The highest peroxidase enzyme (0.099 units. g-1 FW.min-1) was obtained in 15 ppm spermine treatment which showed an increase in spermine compared to the control. Therefore, the use of spermine in this plant for achieving desirable growth indices is recommended and can be beneficial.

Keywords: Carotenoid, growth indices, peroxidase, proline.

* Corresponding author E-mail: maelaei@znu.ac.ir

مقدمه

پروانش *Chatarantus roseus* L. گیاهی زینتی، دارویی و متعلق به تیره خرزهره Apocynaceae می‌باشد. این گیاه دارای برگ‌های کشیده، بیضی شکل، براق و به رنگ سبز تیره همراه با رگبرگ‌هایی به رنگ روشن است که به تشخیص آن کمک می‌کند (Ghahsare & Kafi, 2014 & Omid baigi, 2007). غالب آلکالوئیدهای این گیاه، اثر ضد توموری دارند که دو مورد از مهم‌ترین آنها وین‌بلاستین (Vinblastine) و وین‌کریستین (Vincristine) هستند (Omid baigi, 2007).

شوری خاک با ایجاد فشار اسمزی بالا در منطقه ریشه، برهم‌زدن تعادل مواد غذایی و ایجاد سمیت توسط برخی یون‌ها مانند کلر، سدیم، میزان در دسترس بودن آب و مواد غذایی را برای گیاهان کاهش داده و در چنین شرایطی فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاه، که تعیین کننده میزان رشد و عملکرد می‌باشند، تحت تاثیر اثر سوء شوری قرار گرفته و در نتیجه رشد و عملکرد محصول کاهش پیدا می‌کند (Homai, 2002).گیاهان در شرایط نامناسب محیطی با تجمع مواد اسمولیتی با وزن مولکولی کم مانند پلی‌آمین‌ها به آن پاسخ می‌دهند (Groppa & Benavides, 2008). کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها تحمل در برابر چندین تنش غیرزنده را تقویت می‌کند (Farooq *et al*., 2009) پوتریسین، اسپرمین و اسپرمیدین گروهی از پلی‌آمین‌هایی با وزن مولکولی کم و آلیفاتیک می‌باشند که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی چون پیری، تنش، تنظیم بیان ژن، نسخه برداری، تکثیر یاخته‌ای، پایداری غشای یاخته‌ای و فعال کردن دریچه‌های یونی شرکت دارند (Farjadi shakib *et al*., 2013). مطالعات متعددی در مورد شرکت پلی‌آمین‌ها در کسب تحمل گیاهان به تنش‌ها ازجمله دماهای بالا و پایین، شوری، کمبود اکسیژن و آلاینده‌های جوی نشان داده شده است(Farooq *et al*., 2009) سطح پلی‌آمین‌ها در گیاهان تنش داده شده که با این شرایط سازگار شدند افزایش پیدا کرد که دلیل آن مشارکت در تنظیم محیط یونی سلولی، حفظ یکپارچگی غشا، جلوگیری از دست رفتن کلروفیل و تحریک تولید پروتئین،نوکلئیک اسید و آلکالوئیدهای حفاظتی می‌باشد (Sharma, 1999). افزایش بیوسنتز این پلی‌آمین‌ها می‌تواند از گیاه در برابر شوری به وسیله حذف رادیکال‌های آزاد، تثبیت غشایی و ساختار سلولی، ایجاد تعادل کاتیون و آنیون، تنظیم کانال‌های یونی و افزایش میزان انرژی سلول محافظت کند (Santiago *et al*., 2004). افزایش محتوای پرولین تحت تنش شوری به وسیله اسپرمین باعث بهبود محتوای کلروفیل و میزان فتوسنتز در گیاه توت می‌شود که این کار را از طریق تغییر مسیر بیوسنتز پرولین و کلروفیل انجام می‌دهد (Das *et al*.,2002). طی تحقیقی که توسط Roychoudury *et al*. (2011) روی گیاه برنج تحت تنش شوری صورت گرفت، مشخص شد کاربرد خارجی اسپرمین باعث افزایش قابل توجه در تجمع پرولین می‌شود. گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌هد هورمون اسپرمین با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث جاروب کردن رادیکال‌های آزاد شده و از این طریق باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو شده و فعالیت آنزیم‌ها را کاهش می‌دهد (Engel *et al*., 2006). از این رو هدف از انجام این پژوهش افزایش مقاومت به تنش شوری تحت تاثیر پلی آمین اسپرمین در راستای بهبود خصوصیات رشد رویشی و زایشی گیاه پروانش بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی طراحی شد که در سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه زنجان انجام گرفت. تیمارها شامل اسپرمین در چهار سطح (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ ppm) و تنش شوری در سه سطح (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) بودند. این آزمایش شامل ۱۲ تیمار و ۳۶ واحد آزمایشی بود. برای انجام این پژوهش بذرهای F1 پروانش از شرکت بذر قدیری واقع در تهران تهیه شد و پس از خیساندن در مخلوط ۴:۱ پیت ماس قهوه‌ای به پرلایت در سینی‌های کاشت، کشت داده شدند. پیت‌ماس دارای ۶/۱- pH= ۵/۵ و EC=۱-۱/۲ m mohs/cm و متوسط دمای گلخانه ۲±۲۴ سانتی‌گراد بود. با رسیدن گیاهان به مرحله ۶ برگی و انتقال آن‌ها به داخل گلدان‌هایی با دهانه ۱۲ سانتی‌متری و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متری، اعمال

تنش شوری (۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) به مدت ۶ هفته به صورت آبیاری گلدان‌ها با محلول‌های سدیم کلرید انجام شد، همزمان با شروع اعمال تنش شوری محلول‌پاشی اول اسپرمین در چهار سطح (صفر، ۵، ۱۰، و ۱۵ ppm) صورت گرفت و محلول‌پاشی‌های بعدی به فاصله ۲۰ روز انجام شد. پس از اعمال تیمارها، صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع چند بوته توسط خط کش میلی‌متردار و بر حسب سانتی‌متر از محل طوقه تا نوک ساقه اصلی برای هر تکرار اندازه گیری و سپس میانگین آن‌ها محاسبه گردید. تعداد گل و تعداد برگ‌های توسعه یافته هر بوته تا زمان اتمام رشد، شمارش شدند. به منظور تعیین وزن تر و وزن خشک اندام هوایی، پس از قطع کردن بوته‌ها از سطح خاک وزن تر هر بوته توسط ترازوی دیجیتال قرائت شد. سپس بوته‌ها در آون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خشک شده و مجدداً وزن خشک هر بوته با ترازوی دیجیتال توزین گردید. جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از قسمت میانی هر واحد آزمایشی نمونه برگی تهیه شد سپس به روش Barres & Weatherly(1962) مراحل آزمایشی طی شد و طبق فرمول زیر محاسبه صورت گرفت (Ritchie et al., 1990).

$$\%RW=\frac{\text{وزن خشک- وزن تر}}{\text{وزن خشک- وزن تورژسانس}}\times 100 \qquad (1)$$

به منظور تعیین محتوی کلروفیل و کارتنوئید برگ به روش Arnon (1949) اندازه گیری انجام شد. در این روش ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از برگ وزن شده و در هاون چینی با ده میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس مخلوط حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت۶۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. میزان جذب عصاره جدا شده بالایی را در دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Analytikjena specord 250 در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل و ۵۱۰ و ۴۸۰ نانومتر برای کاروتنوئید قرائت شد. در نهایت میزان کلروفیل و کاروتنوئید کل برحسب میلی‌گرم بر گرم توسط فرمول‌های زیر محاسبه شد (Arnon, 1967).

$$\text{Total chlorophyll}= \{20.2(A645)+8.02(A663)\}\ *V/(W*1000) \qquad (2)$$

$$\text{Carotenoids}= \{7.6(A480)-1.49(A510)\}\ *V/(W*1000) \qquad (2)$$

V حجم نهایی عصاره کلروفیل در استون ۸۰٪، Wوزن بافت تازه، A جذب در طول موج مورد نظر.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای اندازه گیری آنزیم پراکسیداز یک گرم نمونه گیاهی به کمک نیتروژن مایع با ۵ میلی لیتر بافر استخراج فسفات پتاسیم (pH=۷) با غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار در هاون سابیده شد. سپس عصاره‌ها در میکروتیوب ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از پیش ماده گایاکول استفاده شد. در این روش ۲۹۴۵ میلی-لیتر بافر اندازه‌گیری پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH= 7±0.1)،۷ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد، ۶ میکرولیتر گایاگول ۲۰ درصد و ۴۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در کوت ریخته شد و کوت درون اسپکتروفتومتر قرار داده شد و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت ۳ دقیقه بر حسب (µmol/g FW) به روش طیف سنجی نوری (اسپکتروفتومتری JENWAY مدل UV-6505) در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتی گراد) قرائت شد (Dhindsa *et al*, 1981).

اندازه‌گیری مقدار پرولین

برای اندازه گیری میزان پرولین از روش Bates *et al.* (1973) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم از برگ تازه در هاون چینی ساییده شد و ۱۰ میلی لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد به آن اضافه شد. عصاره بدست آمده به مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. دو میلی‌لیتر از مایع شناور با ۲ میلی گرم معرف نین هیدرین و ۲ میلی لیتر اسیداستیک مخلوط شده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس لوله‌های حاوی محلول در حمام یخ سرد گردید. در ادامه ۴ میلی لیتر تولوئن به محلول اضافه شده و لوله ها به مدت ۲۰ ثانیه تکان داده شد. سپس ۱۵ تا ۲۰

ثانیه ثابت نگه داشته شد و دو لایه مجزا در آنها تشکیل شد. از لایه قرمز رنگ بالایی که حاوی پرولین محلول در تولوئن بود برای اندازه گیری غلظت پرولین استفاده شد. جذب مایع رنگی حاوی پرولین در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Analytikjena specord 250 اندازه گیری شد و میزان پرولین در هر نمونه با استفاده از محلول بلانک تولوئن، تعیین گردید.

(۴) = میلی گرم پرولین بر گرم وزن تر
(۱۱۵/۵/ میلی‌لیتر تولوئن× میلی‌گرم پرولین بر میلی‌لیتر)
(۰/۵ گرم نمونه)

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطوح آماری مختلف انجام گرفت.

نتایج و بحث

اثر شوری و اسپرمین بر وزن تر و وزن خشک بوته

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد کاربرد اسپرمین بر وزن تر و وزن خشک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱)، به‌طوری‌که کمترین میزان وزن تر مربوط به تیمار اسپرمین صفر و بیشترین میزان در تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین مشاهده شد. همین طور کمترین میزان وزن خشک مربوط به تیمار بدون مصرف اسپرمین و بیشترین میزان مربوط به تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین بود. سطوح شوری بر وزن تر و وزن خشک اثر معنی‌دار نشان داد و کمترین و بیشترین وزن تر به ترتیب در تیمار شوری۱۲۰ میلی‌مولار و شوری ۶۰ بود. کمترین و بیشترین وزن خشک نیز به ترتیب مربوط به تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و شوری صفر بود. همچنین وزن تر و وزن خشک در تیمار متقابل شوری و اسپرمین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد که بیشترین میزان وزن تر مربوط به تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین و شوری ۶۰ میلی‌مولار بود. بیشترین میزان وزن خشک نیز در تیمار اسپرمین ۱۰ پی‌پی‌ام و شوری صفر مشاهده شد. براساس نتایج استفاده از اسپرمین اثر مضر تنش شوری بر وزن تر و وزن خشک را کاهش داد. کاهش وزن خشک اندام هوایی گیاه در شرایط تنش شوری احتمالاً به علت اثر زیانبار تنش شوری بر میزان رشد، کاهش سطح برگ و سطح فتوسنتز کننده گیاه است که می‌تواند کل ماده خشک گیاه را کاهش دهد. در ضمن بیشتر مواد تولید شده جهت تامین شرایط اسمزی مورد نیاز گیاه، استفاده می‌شود (Amin & Wahab, 1998). از طرفی سمیت یونی حاصل از افزایش عناصر زیان‌بار که سبب اختلال در کلیه فعالیت‌های زیستی و متابولیسمی گیاهان می‌شود، در نهایت منجر به از بین رفتن و یا کاهش شدید شاخساره می‌شود. همین طور در شرایط تنش‌شوری فعالیت هیدرولازهای پیوند شده به دیواره سلولی کاهش می‌یابد و منجر به کاهش انعطاف‌پذیری دیواره و در نهایت کاهش رشد می‌گردد (Singh & Prasad, 2009). از طرفی پلی‌آمین‌ها در تنظیم حرکات روزنه‌ای به وسیله کنترل کانال‌های پتاسیمی در سلول‌های نگهبان روزنه شرکت دارند (Liu *et al*., 2000) و تاثیر مثبت پلی آمین‌ها به این دلیل است که در تقسیم و بزرگ شدن سلول دخالت دارند و چون یک منبع نیتروژنی هستند، می‌توانند رشد گیاه را تحریک کنند و سطح داخلی هورمون‌های درونی گیاه مثل جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها را بالا ببرند که انتقال مواد غذایی به جوانه‌ها را از طریق افزایش تقسیم سلولی و یا افزایش ارتباط آوندی بین جوانه‌های جانبی و ساقه اصلی تسهیل می‌کند، همچنین می‌تواند به دلیل اثر آنتی اکسیداتیو و کمک به تعادل کاتیون-آنیون مفید باشد (Tang & Newton, 2005). در این راستا پلی آمین‌ها با بهبود ثبات و پایداری غشا، طول عمر گل داوودی و وزن تر گلایول را به طور معنی‌داری افزایش دادند. کاربرد پلی آمین‌ها در راستای افزایش وزن تر برگ‌ها و گلچه‌ها در گل شاخه بریده گلایول موجب افزایش دو برابری وزن خشک آن‌ها نیز می‌گردد (Nahed *et al*., 2009). تیمار ۱۰ پی پی ام اسپرمین باعث افزایش وزن تر گل رز واریته Samurai (Tang & Newton, 2005) و بهبود شرایط رشد در گیاه پروانش شد. علت تاثیر بیشتر اسپرمین نسبت به دیگر پلی آمین‌ها به دلیل وجود تعداد گروه آمینی بیشتر در ساختار آن می‌باشد (Baniasadi *et al*., 2014).

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر شوری و اسپرمین بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی پروانش.

Table 1. Results of variance analysis effect of salinity and spermine on some mophophysiological traits of *Catharanthus roseus* L.

Source of variation	df	Mean of squares									
		Plant fresh weight	Plant dry weight	Plant height	Flower number	Leaf number	Relative water content	Proline	Total chlorophyll	Carotenoids	Peroxidase
Spermin	3	0.83**	2.32**	8.5**	27.30**	52.02*	91.83**	0.035**	12.40**	3.19**	0.0004**
Salt stress	2	0.22**	0.35**	0.69**	12.17**	18.11*	277.66**	0.012**	3.42**	0.014*	0.025**
Spermin×salt stress	6	0.34**	0.22**	0.27*	5.45*	6.48^{ns}	168.48**	0.005**	2.07**	0.004**	0.0001*
Error	22	0.066	0.12	0.08	2.03	05.01	84.61	0.000013	0.32	0.005	0.0008
CV (%)		6.8	17.72	3.73	3.43	5.74	12.1	1.28	23.02	21.16	11.40

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

ns, *, **: Non-Significantly difference and significantly difference at 5 and l% of probability levels, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر تنش شوری بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی پروانش.

Table 2. Mean comparison effect of salinity stress on some mophophysiological traits of *Catharanthus roseus* L.

Salt stress (mmol/l)	Plant fresh weight (g)	Plant dry weight (g)	Plant height (cm)	Flower number	Leaf Number	Relative water content (%)	Proline (µmol/g FW)	Total chlorophyll (mg/g FW)	Carotenoids (mg/g FW)	Peroxidase (units.g^{-1} FW.min^{-1})
0	3.96^{a}	2.10^{a}	8.1^{a}	32.91^{a}	39.91^{a}	80.84^{a}	0.25^{c}	0.53^{a}	0.76^{a}	0.042^{c}
60	3.72^{b}	1.90^{b}	7.8^{b}	32.55^{b}	39.31^{ab}	69.92^{b}	0.49^{b}	0.32^{b}	0.63^{b}	0.066^{b}
120	3.10^{c}	1.77^{c}	7.63^{c}	31.01^{b}	37.58^{c}	44.05^{c}	0.71^{a}	0.21^{c}	0.59^{bc}	0.094^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حروف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means within a column followed by the same letter, are not significantly different at probability 5% level.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر اسپرمین بر برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی پروانش.

Table 3. Mean comparison effect of spermin levels on some mophophysiological traits of *Catharanthus roseus* L.

Spermine (ppm)	Plant fresh weight (gr)	Plant dry weight (gr)	Plant height (cm)	Flower number	Leaf number	Relative water content (%)	Proline (µmol/g FW)	Total chlorophyll (mg/gFW)	Carotenoids (mg/g FW)	Peroxidase (units.g^{-1} FW.min^{-1})
0	3.58^{c}	1.27^{c}	6.02^{c}	30.80^{c}	37.66^{c}	72.46^{c}	0.23^{c}	0.30^{d}	0.29^{c}	0.043^{c}
5	3.86^{b}	1.53^{b}	7.09^{b}	31.96^{b}	38.44^{ab}	74.30^{b}	0.30^{b}	0.39^{b}	0.36^{b}	0.068^{b}
10	4.27^{a}	2.51^{a}	8.89^{a}	32.97^{a}	39.66^{ab}	79.54^{a}	0.37^{a}	0.44^{a}	0.39^{b}	0.090^{a}
15	3.84^{b}	1.52^{b}	6.62^{bc}	31.45^{b}	40.11^{a}	77.64^{ab}	0.24^{c}	0.36^{c}	0.49^{a}	0.099^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حروف مشترک، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means within a column followed by the same letter, are not significantly different at probability 5% level.

اثر شوری و اسپرمین بر ارتفاع گیاه، تعداد برگ

نتایج نشان داد کاربرد اسپرمین بر صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ اثر معنی‌داری داشت و بیشترین میزان این صفات به ترتیب در غلظت‌های۱۰ پی‌پی‌ام،۱۵ پی‌پی‌ام اسپرمین و کمترین میزان این صفات نیز در تیمار شاهد به دست آمد. شوری باعث کاهش ارتفاع گیاه پروانش شد، به طوری که بیشترین ارتفاع در عدم تنش شوری (۸/۱ سانتی‌متر) و کمترین میزان مربوط به شوری ۱۲۰ میلی‌مولار (۷/۶۳) بود. اثر شوری بر تعداد برگ در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول۱) و باعث کاهش تعداد برگ نسبت به شاهد شد. بیشترین میزان تعداد برگ در تیمار شاهد (۳۲/۹۱) و کمترین میزان مربوط به تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار بود که تعداد کمتری برگ در این تیمار رشد کرد. اثر متقابل تنش شوری و اسپرمین در سطح احتمال پنج درصد بر ارتفاع اثر معنی‌دار نشان داد. بیشترین میزان در تیمار شوری صفر و اسپرمین ۱۰ پی‌پی‌ام بود. اثر متقابل شوری و اسپرمین بر تعداد برگ اثر معنی دار نداشت. همین طور گیاهان تیمار شده با اسپرمین افت کمتری در شاخص ارتفاع و تعداد برگ دارند که این مسئله به اثر تنظیم‌کنندگی اسپرمین در رشد و مقابله با اثر هورمون ABAمرتبط می‌باشد، اسپرمین دارای اثر مثبت دفاعی برای گیاه در برابر تنش‌های محیطی است (Papenfus *et al.*, 2013). نتایج این پژوهش در خصوص تاثیر شوری در کاهش طول شاخساره و ارتفاع گیاه با نتایج آزمایش‌های انجام شده در فلفل (Gunes *et al.*, 1996) و توت فرنگی (Turhan & Eris, 2004) منطبق است. رشد یکی از فرآیندهای فیزیولوژیکی حساس به شوری است چون انبساط سلول فقط در شرایطی که فشار تورژسانس از آستانه فشار دیواره سلولی بزرگ‌تر باشد، اتفاق می‌افتد بنابراین کاهش رشد طولی گیاه با کاهش بزرگ شدن سلول‌ها و پیری برگ‌ها مرتبط است (Shao *et al.*, 2008). کاهش تعداد برگ در زمان تنش به علت پیری زودرس گیاه و تولید اتیلن جهت کاهش تعرق راهی برای

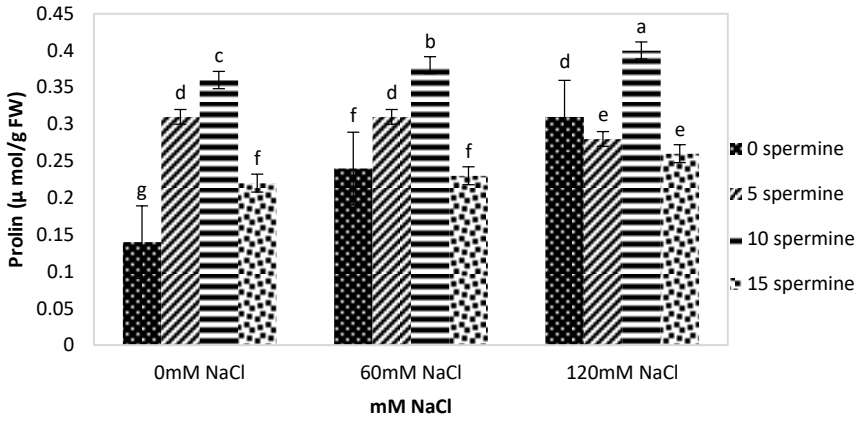
فرار از تنش می‌باشد (Saxena *et al*., 1993). همین طور در شرایط تنش، اثر استرس شوری در پایین آمدن راندمان فتوسنتز و ساخت ماده خشک و همچنین، کاهش جذب آب و املاح توسط ریشه می‌باشد که نهایتاً باعث پایین آمدن رشد رویشی است (Tang & Newton, 2005). پلی‌آمین‌ها در تنظیم حرکات روزنه‌ای به وسیله کنترل کانال‌های پتاسیمی در سلول‌های نگهبان روزنه شرکت دارند (Liu *et al*., 2000) و با اثرگذاری مثبت بر کنترل عوامل آسیب‌رسان شرایط تنش باعث بهبود رشد رویشی و نهایتاً تولید برگ می‌گردد (Tang & Newton, 2005). بنابراین راهی برای بهبود شرایط رشد در گیاه پروانش می‌باشد.

اثر شوری و اسپرمین بر تعداد گل

کاربرد اسپرمین بر تعداد گل در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. بیشترین تعداد گل در تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین و کمترین مقدار در تیمار شاهد بود و بین دو غلظت پنج و ۱۰ پی‌پی‌ام تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول۱). شوری در سطح احتمال یک درصد بر تعداد گل اثر معنی‌داری داشت و باعث کاهش تعداد گل شد، به طوری که کمترین میزان تعداد گل (۳۱/۰۱) در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و بیشترین آن (۳۲/۹۱) در تیمار شاهد بود. اثر متقابل شوری و اسپرمین در سطح احتمال پنج درصد بر تعداد گل اثر معنی‌دار داشت. کمترین و بیشترین میزان تعداد گل به ترتیب در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و اسپرمین صفر (۲۹/۰۱) و تیمار اسپرمین ۱۰ و شوری صفر (۳۵/۲۶) مشاهده شد.. غلظت ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر اسپرمین بیشترین تاثیر را نسبت به دیگر پلی آمین‌ها و گیاهان شاهد در گیاه زینتی گلایول داشت (Zadnour *et al*., 2011). طبق نتایج به دست آمده بر روی پروانش مشاهده شد که تیمار یک میلی‌مولار اسپرمین با میانگین ۱۳۴ گل در بوته، بهترین نتیجه را ایجاد کرد (Mirzaabolghasemi *et al*., 2021). همچنین تیمار یک میلی مولار اسپرمین موجب افزایش تعداد گلچه در گل آذین اصلی و تعداد گلچه در شاخه‌های گل‌دهنده جانبی در گل فریزیا نسبت به تیمار شاهد شد. محلول‌پاشی برگی پلی‌آمین‌ها در غلظت‌های مختلف موجب افزایش کمی و کیفی، مانند افزایش تعداد ساقه در گل کوکب شد (Mahgoub *et al*., 2011). اسپرمین سبب فعال‌شدن دریچه‌های کانال‌های یون کلسیم می‌شود و حضور کلسیم باعث افزایش تقسیم و طویل‌شدن و همچنین استحکام و حفظ دیواره اولیه یاخته‌ای می‌گردد (Zadnour *et al*., 2011). کاربرد اسپرمین در گیاه موجب کاهش میزان ریزش جوانه‌های گل می‌شود که به دلیل افزایش سنتز کربوهیدرات‌ها و آسیمیلات‌ها در گیاه می‌باشد. پلی آمین‌ها در فرآیندهای تقسیم و نمو سلولی گل‌ها، گلدهی، گل انگیزی و توسعه اندام گل شرکت دارند (Liu *et al*., 2006).

اثر شوری و اسپرمین بر محتوای پرولین

تاثیر اسپرمین بر میزان پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد، به طوری که بیشترین میزان پرولین (۰/۳۷ µmol/g FW) در تیمار ۱۰پی‌پی‌ام و کمترین میزان (۰/۲۳ µmol/g FW) در تیمار شاهد بدست آمد. اثر شوری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین معنی‌دار شد، به‌طوری‌که بیشترین میزان در تیمار شوری ۱۲۰ میلی مولار و کمترین میزان در تیمار شاهد بود(جدول ۲). اثر متقابل شوری و اسپرمین در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین اثر معنی‌دار داشت و بیشترین میزان (۰/۴۰ µmol/g FW) مربوط به تیمار ۱۰پی‌پی‌ام اسپرمین و شوری ۱۲۰میلی‌مولار و کمترین میزان (۰/۱۴ µmol/g FW) در تیمار شاهد بود. در تحقیقی که بر روی گیاه بامیه در شرایط تنش انجام شد، محتوای پرولین بر اثر تنش افزایش یافت و فعالیت پرولین اکسیداز کاهش داشت (Sankar *et al*., 2007). پرولین از طریق حفظ ظرفیت آبگیری در سیتوپلاسم سلول منجر به حفظ ماکرومولکول‌ها از جمله آنزیم‌ها می‌شود تا از تشکیل اشکال نامطلوب و یا قطعه قطعه شدن آن‌ها جلوگیری به عمل آید (Barker *et al*., 1993). تجزیه سریع پرولین در زمان بر طرف شدن تنش ممکن است مقادیر مناسبی از عوامل کاهنده‌ای را تولید نمایند که این ترکیبات شرایط را برای فسفوریلاسیون اکسیداتیو میتوکندری و تولید ATP لازم برای جبران خسارت ناشی از تنش و بازیافت ساختارهای آسیب دیده فراهم می‌کنند (Kuznetsov & Shevyakova, 1999).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و اسپرمین بر محتوای پرولین پروانش.

Figure 1. Mean comparison interaction effect of **sa**linity stress and spermine on the proline content of *Catharanthus roseus* L.

اثر شوری و اسپرمین بر محتوای کلروفیل و کاروتنوئید

اسپرمین در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید اثر معنی‌دار داشت. بیشترین میزان کلروفیل (۰/۴۴ mg/gFW) مربوط به تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین بود، کمترین و بیشترین میزان کاروتنوئید به ترتیب در تیمار شاهد و ۱۵ پی‌پی‌ام اسپرمین بدست آمد (جدول ۳). همچنین شوری در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل اثر معنی‌دار داشت و کمترین میزان (۰/۲۱ mg/gFW) در تیمار شوری ۱۲۰میلی مولار و بیشترین آن (۰/۵۳ mg/gFW) در عدم شوری بدست آمد و کمترین مقدار کاروتنوئید نیز در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار شوری و بیشترین مقدار در تیمار شاهد بود. اثر متقابل شوری و اسپرمین نیز بر این دو فاکتور معنی‌دار بود. گزارش شده است که کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب حفظ پایداری غشاهای کلروپلاست و مانع تجزیه کلروفیل می‌شود. پلی‌آمین‌ها با اتصال یونی به غشای تیلاکوئید سبب حفظ غشا شده و به این ترتیب به طور غیر مستقیم در حفظ فتوسنتز دخالت دارند (Jalili marandi, 2010). از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل، تخریب آن‌ها به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد. از طرفی دیگر رقابت و پیشی گرفتن آنزیم گلوتامیل کیناز به هنگام تنش از آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) باعث می‌شود تا پیش ساز گلوتامات بیشتر به مصرف اسید آمینه‌ها به‌ویژه پرولین برسد، بنابراین بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (Gibon *et al*., 2000). تنش منجر به افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد مانند اسید آبسیزیک و اتیلن می‌شود که تحریک کننده آنزیم کلروفیلاز هستند و به این ترتیب کلروفیل تحت تاثیر این آنزیم تجزیه می‌شود (Orabi *et al*., 2010). در این راستا، طی آزمایشی مشاهده شد که میزان ۲ میلی‌مولار پوتریسین به همراه ۲ میلی‌مولار اسپرمین سبب افزایش میزان کلروفیل برگ می‌گردد در واقع از آنجایی که پلی آمین‌ها خاصیت ضد اتیلنی دارند و مانع تولید آنزیم‌های مداخله کننده در ساخت اتیلن می‌شوند و در نتیجه از تولید رادیکال‌های آزاد که سبب تجزیه کلروفیل می‌شوند، جلوگیری می‌کنند (Mortazavi et al., 2021). تیمار یک و دو میلی مولار اسپرمین میزان کلروفیل را در گل میخک رقم رد کورسا نسبت به تیمار شاهد افزایش داد (Kamyab *et al*., 2016). در خربزه تیمار پلی آمین‌ها منجر به پراکسیداسیون کمتر غشا و نگهداری و حفظ بیشتر کلروفیل شد (Lester, 2000). تیمار ۱۰۰ میکرو مولار اسپرمین در شرایط *in vitro* سبب افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل در گل سوسن چلچراغ گردید و بهترین نتایج را نشان داد (Younesnia omran, 2015). تیمار گل‌های آلسترومریا رقم Sukari با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر اسپرمین موجب حفظ شاخص کلروفیل برگ شد و همچنین فعالیت آنزیم کلروفیلاز را کاهش داد (Alborz *et al*., 2014).

کاربرد اسپرمین روی برگ‌های گندم نیز مانع کاهش کلروفیل شد. پلی آمین‌های خارجی موجب حفظ پایداری غشاهای کلروپلاست و مانع از تجزیه و تخریب کلروفیل می‌شوند و تاثیر خود را از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک روی غشاهای تیلاکوئید کلروپلاست و کاهش تجزیه و اتلاف مواد می‌گذارند (Lee *et al*., 1997). اثر پلی آمین‌ها در مهار تخریب سبزینه ممکن است به مهار فعالیت آنزیم پروکسیداز مرتبط باشد، ازآنجاکه اتیلن موجب تجزیه کلروفیل می‌شود، پلی آمین‌ها به‌علت نقش ضد اتیلنی که دارند، مانع از تولید آنزیم‌های مداخله کننده در ساخت اتیلن می‌شوند و از تولید رادیکال‌های آزاد که سبب تجزیه‌ی کلروفیل می‌شوند، جلوگیری می‌کنند (Alcazar *et al*., 2006).

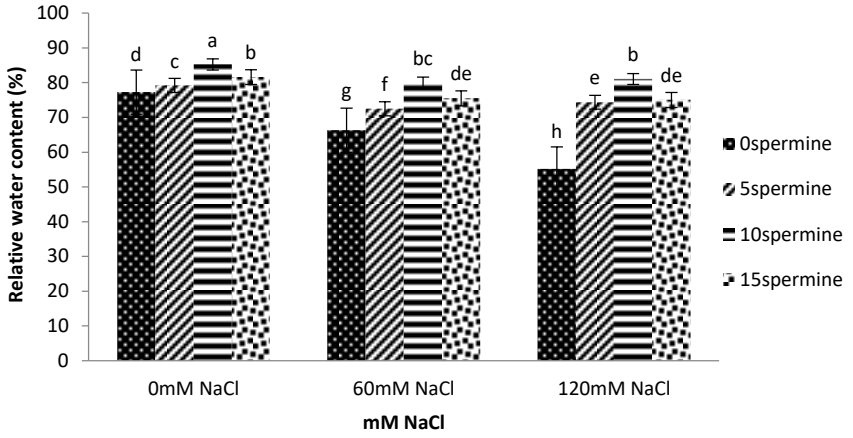
اثر شوری و اسپرمین بر محتوای نسبی آب برگ

با توجه به نتایج تجزیه واریانس تیمار اسپرمین و شوری هر دو در سطح احتمال یک درصد بر محتوای نسبی آب برگ اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱). تیمار اسپرمین باعث افزایش این فاکتور گردید، به طوری که بیشترین مقدار آن در تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین مشاهده شد که با تیمار ۱۵ پی‌پی‌ام آن تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین میزان نیز در تیمار اسپرمین صفر بود. تیمار شوری باعث کاهش این فاکتور گردید. بیشترین میزان در تیمار بدون شوری و کمترین در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار بود (جدول ۳). برهمکنش شوری و اسپرمین اثر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب نشان داد. بیشترین میزان در تیمار ۱۰ پی‌پی‌ام اسپرمین و شوری صفر و کمترین میزان در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و اسپرمین صفر بدست آمد. در مطالعه‌ای گزارش شد که محتوای نسبی آب برگ ممکن است تعادل بین آب تامین شده برای برگ و سرعت تعرق را بهتر از سایر اجزا نشان دهد، بنابراین آن را شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت آبی برگ دانستند (Sinclair & Ludlow, 1985). کاهش محتوی نسبی آب بر اثر تنش یک پدیده معمولی است که در آزمایش‌های مختلف مشاهده شده است. علت کاهش مقدار آب نسبی، کاهش جذب آب از خاک است که باعث به هم خوردن تعادل بین دو فرآیند جذب آب و تعرق می‌شود و در نتیجه آب گیاه کاهش می‌یابد (Moradi, 2002). پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین واسپرمین با غلظت مشخص به صورت پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی برگی در برنج استفاده شد. کاربرد پلی‌آمین‌ها باعث افزایش در فتوسنتز خالص گیاه، کاربرد مصرف آب، محتوای نسبی آب برگ، تولید پرولین، آنتوسیانین، فنل‌ها و عملکرد گیاه شد (Farroq *et al*., 2009) از طرفی محتوای نسبی بالای آب برگ ممکن است از طریق قابلیت تنظیم اسمزی و یا توانایی ریشه در جذب آب حاصل شود (Schonfeld *et al*., 1988).

اثر شوری و اسپرمین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز

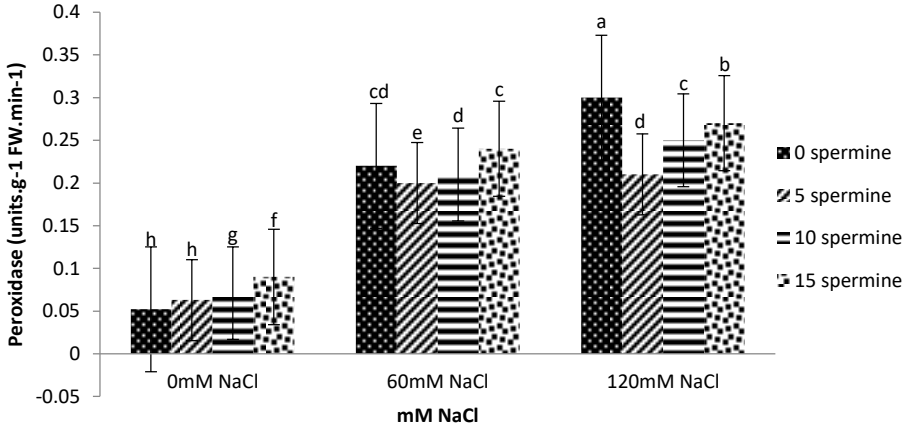
تیمار اسپرمین و شوری در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز داشت (جدول ۱). بالاترین میزان آنزیم پراکسیداز در تیمار ۱۵ پی‌پی‌ام اسپرمین به دست آمد که نشان دهنده افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد با افزایش سطح اسپرمین بود. تیمار شوری نیز باعث افزایش میزان این آنزیم شد در نتیجه گیاه برای مقابله با اثر شوری میزان این آنزیم را افزایش می‌دهد. بالاترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول۲). اثر متقابل شوری و اسپرمین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شوری ۱۲۰ میلی‌مولار و اسپرمین صفر و کمترین میزان آن در تیمار اسپرمین صفر و عدم اعمال تنش مشاهده شد (شکل ۳). هنگامی که سلول‌ها در شرایط تنش قرار می‌گیرند، تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و جاروب شدن آن‌ها به‌هم می‌خورد و اغلب منجر به تنش اکسیداتیو می‌گردد. آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را که برای سلول‌ها سمی است به آب و اکسیژن تبدیل می‌کنند (Liu *et al*., 2007). تولید گونه‌های اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی در طی تنش باعث پراکسیداسیون لیپیدها، غیرطبیعی‌شدن پروتئین‌ها و اکسیداسیون

DNA می‌شود و گیاه برای مقابله با این تغییرات، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز را برای خنثی سازی فعالیت این رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد (Dat *et al*., 2000). افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی و کاهش میزان انواع اکسیژن فعال در سلول گیاهی موجب حفاظت گیاه در برابر تنش های محیطی می‌شوند (Castilla & Lopez-Galvez, 1994). آنزیم پراکسیداز در اکسیداسیون پیش ماده-های ترکیبات فنلی، ساخت لیگنین و همپنین در مقابله و حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد (Kováčik *et al*., 2008). پلی آمین‌ها زنجیره‌ای از واکنش‌های دفاعی را راه‌اندازی می‌نمایند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از نتایج آن می‌باشد. محلول پاشی دانهال‌های بادام و هلو با تیمارهای مختلف پلی آمین منجر به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در وزن تازه برگ بادام و هلو شد. تاکنون گزارش‌های زیادی در ارتباط با تاثیر مثبت پلی آمین-ها بر افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهانی همچون بابونه، نخود، سیب، سویا و جو ذکر شده است (Emraei tabar *et al*., 2016). اسپرمین با غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه آلسترومریا گردید. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها را می‌توان ناشی از اتصال پلی‌آمین‌ها با مولکول‌های پروتئین دانست که مانع از شکستن آن‌ها می‌شود (Alborz *et al*., 2014).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و اسپرمین بر محتوای نسبی آب برگ پروانش.

Figure 2. Mean comparison interaction effect of salinity stress and spermine on relative water content of *Catharanthus roseus* L. leaf.



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و اسپرمین بر فعالیت آنزیم پراکسیداز پروانش.

Figure 3. Mean comparison interaction effect of salinity stress and spermine on the activity peroxidase enzyme of *Catharanthus roseus* L.

نتیجه‌گیری کلی

تنش‌های غیر زیستی مانند شوری خاک و آب تاثیرات مخرب زیادی بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاهان دارند. تنش شوری به دلیل ایجاد سمیت یونی و اختلال در جذب و فراهمی یون‌های مورد نیاز در تولید رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار این ترکیبات را کاهش می‌دهد که در این آزمایش بیشترین میزان کلروفیل و کارتنوئید در شوری صفر و کمترین در شوری ۱۲۰ppm مشاهده شد. از طرفی کاربرد خارجی اسپرمین تحمل در برابر چندین تنش غیرزنده را تقویت می‌کند. نتایج حاصل از بررسی محتوای پرولین نشان داد تنش شوری بر میزان فعالیت این پارامتر تاثیرگذار بوده و اسپرمین باعث بهبود اثرات مخرب تنش شوری در گیاه پروانش شده است، به طوری که اثر متقابل شوری و اسپرمین در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پرولین اثر معنی‌دار داشت که بیشترین میزان (۰/۴۰ µmol/g FW) مربوط به تیمار ۱۰پی‌پی‌ام اسپرمین و شوری ۱۲۰میلی‌مولار و کمترین میزان (۰/۱۴ µmol/g FW) در تیمار شاهد بود. به طور کلی طبق نتایج این پژوهش، استفاده از اسپرمین به عنوان محرک رشد و به عنوان تیماری کاربردی در برابر تنش شوری می‌تواند موجب بهبود صفات مورفوفیزیولوژیکی در مرحله رویشی و زایشی گیاه پروانش شود و بر کیفیت و عملکرد این گیاه ارزشمند در شرایط تنش شوری نیز بیافزاید.

REFERENCES

1. Alborz, Z., Habibi, F. & Mortazavi, S. (2014). Effect of spraying the putrescine and spermine on vase life of Alestromeria cv. "Sukari". *Journal of Agricultural Crop Management*, 17 (1), 241-255. (in Farsi).
2. Alcazar, R., Marco, F., Cuevas, J. C., Patron, M., Ferrando, A., Carrasco, P., Tiburcio, A. F. & Altabella, T. (2006). Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnology Letters,* 28, 1867-1876.
3. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24 (1), 1-3.
4. Baniasadi, F., Safari, V.R. & Maghsoudi moud, A.A. (2014). Effect of spermidine and spermine on some growth parameters (*Calendula officinalis* L.). In: Proceeding of 1th National Congress on Flowers and Ornamental Plants, 21-24 Oct., National Institute of Flowers and Ornamental Plants, Karaj, Iran, 6, 21-23. (in Farsi).
5. Barker, D., Sullivan, C. & Moser, L. E. (1993). Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity, and proline in five forage grasses. *Agronomy Journal,* 85 (2), 270-275.
6. Barres, H.D. & Weatherley, P.E. (1962). A re-examination of the relative turgidity techniques for sstimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413-428.
7. Bates, L.S., Waldren, R.P. & Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205-207.
8. Castilla, N. & Lopez-Galvez, J. (1994). Vegetable crop responses in improved low-cost plastic greenhouses. *Journal of Horticultural Science*, 69(5), 915-921
9. Dat, J., Vandenabeele, S., Vranová, E., Van Montagu, M., Inzé, D. & Van Breusegem, F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57 (5), 779-795.
10. Das, C., Sengupta, T., Chattopadhyay, S., Setua, M., Das, N.K. & Saratchandra, B. (2002). Involvement of kinetin and spermidine in controlling salinity stress in mulberry (Morus alba L. Cv. S 1*). Acta Physiologiae Plantarum*, 24(1), 53-57.
11. Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101.
12. Emraei tabar, S., Ershadi, A. & Robati, T. (2016). The effect of putrescine and spermine on almond and peach drought tolerance*. Journal of Agricultural Crop Management*, 18 (1), 203-218. (in Farsi).
13. Engel, N., Schmidt, M., LÜTz, C. & Feierabend, J. (2006). Molecular identification, heterologous expression and properties of light-insensitive plant catalases. *Plant*, *Cell & Environment*, 29 (4), 593-607.
14. Farjadi shakib, M., Naderi, R. & Mashhadi, M. (2013). The effect of spermidine foliar application on morphological, physiological and biochemical properties of Iranian cyclamen. *Journal of Plant Ecophysiology*, 31 (2), 21-23. (In Farsi).

15. Farooq, M., Wahid, A. & Lee, D. J. (2009). Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31 (5), 937-945.
16. Ghahsare, M. & Kafi, M. (2014). *Scientific and practical flowering.* Vol 1. Esfahan Publications. (In Farsi).
17. Gibon, Y., Sulpice, R. & Larher, F. (2000). Proline accumulation in canola leaf discs subjected to osmotic stress is related to the loss of chlorophylls and to the decrease of mitochondrial activity. *Physiologia Plantarum*, 110 (4), 469-476.
18. Groppa, M.D. & Benavides, M.P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino acids*, 34 (1), 35-36.
19. Gunes, A., Inal, A. & Alpaslan, M. (1996). Effect of salinity on stomatal resistance, proline, and mineral composition of pepper. *Journal of Plant Nutrition*, 19 (2): 389-396.
20. Homai, M. (2002). Plant response to salinity. Publication of the Scientific Committee on Irrigation and Drainage. No. 1. (In Farsi).
21. Jalili marandi, R. (2010) Physiology of environmental stresses and mechanisms of resistance in horticultural plants (Fruit trees, vegetables, ornamental plants and medicinal plants). First volume. University Jihad Publications, Urmia. (In Farsi).
22. Kamyab, F. (2016). Effect of different polyamines on vase life, ethylene production and some physiological traits of *Dianthus caryopyllus* L. Cv. Red Corsa. *Iranian Journal of Agronomy*, 18 (2), 275-288. (in Farsi).
23. Kalidass, C., Ramasamy Mohan, V. & Daniel, A. (2010). Effect of auxin and cytokinin on vincristine production by callus cultures of *Catharanthus roseus* L.(apocynaceae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12 (2), 10-13.
24. Koca, H., Ozdemir, F. & Turkan, I. (2006). Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*. *Biologia Plantarum*, 50 (4), 745-748.
25. Kováčik, J., Bačkor, M. & Kadukova, J. (2008). Physiological responses of *Matricaria chamomilla* to cadmium and copper excess. *Environmental Toxicology*, 23 (1), 123-130.
26. Kuznetsov, V.V. & Shevyakova, N. (1999). Proline under stress: biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology,* 46(2), 274-287.
27. Lee, M.M., Lee, S.H. & Park, K.Y. (1997). Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. *Journal of Plant Physiology*, 151, 68-73.
28. Lester, G.E. (2000). Polyamines and their cellular anti-senescence properties in honey dew muskmelon fruit. *Plant Science*, 160, 105-112.
29. Liu, J.H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y. & Moriguchi, T. (2007). Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotech*nology, 24, 117-126.
30. Liu, K., Fu, H., Bei, Q. & Luan, S. (2000). Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. *Plant Physiology*, 124(3), 1315-1326.
31. Liu, J., Tong, L.P., Shen, T.W., Li, J., Wu, L. & Yu, Z.L. (2006). Impact of ion implantation on licorice (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*) growth and antioxidant activity under drought stress. *Plasma Science and Technology*, 9 (3), 301-306.
32. Mahgoub, M.H., El Aziz, N.A. & Mazhar, M.A. (2011). Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 10(5), 769-775.
33. Miraabolghasemi, M., Aelaei, M., Kheiry, A. & Ghahramani, Z. (2021). Effect of γ-aminobutyric acid and spermine on morphophysiological traits and pigmentation of *Rosa damascena* Mill. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 52 (1), 47-60. (in Farsi).
34. Moradi, F. (2002). Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. PhD Thesis. The University of Philippines, Philippines.
35. Mortazavi, S.H., Arghavani, M., Hassanpour Asil, M. & Kheiri, A. (2021). Effect of polyamines on morphophysiological characteristics of Dutch iris (*Iris hollandica* 'Blue Magic') cut flower. *Iranian Journal of Horticultural Science.* 52 (2), 269-280. (in Farsi).
36. Nahed, A.A, Taha Lobna, G. & Ibrahim Soad, S. (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 Apple Science*, 2(2), 12-23.
37. Omid baigi, R. (2007). Production and processing approaches for medicinal plants. Astan Ghods Razavi Publications. (In Farsi).

38. Orabi, S.A., Salman, S.R. & Shalaby, M.A. (2010). Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6 (3), 252-259.
39. Papenfus, H., Kulkarni, M., Stirk, W., Finnie, J. & Van Staden, J. (2013). Effect of a commercial seaweed extract (Kelpak®) and polyamines on nutrient-deprived (N, P and K) okra seedlings. *Scientia Horticulturae*, 151, 142-146.
40. 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.
41. Roychoudhury, A., Basu, S. & Sengupta, D.N. (2011). Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 168 (4), 317-328.
42. Sankar, B.E., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Kishorekumar, A., Somasundaram, R. & Panneerselvam, R. (2007). Drought-induced biochemical modifications and proline metabolism in (*Abelmoschus esculentus* L.) Moench. *Acta Botanica Croatica*, 66 (1), 43-56.
43. Santiago, M., Diego, H., Sauchez, A. G., Alponso, V. & Oscar A. R. (2004). Effect of polyamines on growth and salinity resistance of two rice cultivars. *Biology Planta*, 54, 199-201.
44. Saxena, N. P., Krishnamurthy, L. & Johansen, C. (1993). Registration of a drought-resistant chickpea germplasm. *Crop Science*, 33(6), 1424-1424.
45. Schonfeld, M.A., Johnson, R.C., Carver, B.F. & Mornhinweg, D.W. (1988). Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28(3), 526-531.
46. Shao, H.B., Chu, L.Y., Jaleel, C.A. & Zhao, C.X. (2008). Water-deficit stress induced anatomical changes in higher plants. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 215-225.
47. Sharma, S. & Uppal, K.S.K. (1999). Influence of salt stress on growth and quality on sugarcane. *Indian Sugar*, 22, 1-4.
48. Sinclair, T. & Ludlow, M. (1985). Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Functional Plant Biology*, 12(3), 213-217.
49. 49 Singh, A. & Prasad, R. (2009). Salt stress effects growth and cell wall bound enzymes in *Arachis hypogaea* L. seedlings. *International Journal of Integrative Biology*, 7 (2), 117-123.
50. Tang, W. & Newton, J.R. (2005). Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in *Virginia pine*. *Plant Growth Regulation*, 46, 31-43.
51. Turhan, E. & Eris A. (2004), Effects of sodium chloride applications and different growth media on ionic composition in strawberry plant. *Journal Plant Nutrition*, 27, 1653- 1662.
52. Younesnia omran, F. (2015). The role of polyamines in salt stress tolerance under in-vitro condition in *Lilium ledebourii* Bioss. M.Sc. Thesis, Mohaghegh Ardebili University, Ardebil, Iran. (in Farsi)
53. Zadnour, P., Khosh-Khui, M. & Rahimian, A. (2011). Effects of putrescine, spermine and spermidine on flowering and vegetative growth of gladiolus plants. In: Proceeding of 7th Congress on Iranian Horticultural Science. 5-8 Sep., Isfehan University of Technology, Isfehan, Iran, 7, 651-654. (in Farsi).
54. Zargari, A. (1997). *Medicinal plants*. University of Tehran Publications, Vol 3, Tehran. (in Farsi).