



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

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

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

چکیده

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

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

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

mohammadfarjadi79@yahoo.com

۲- دانشیار دانشگاه تهران

۳- دانشیار دانشگاه تربیت معلم تهران

مقدمه

پلی آمین های گیاهی مولکول های کاتیونی با وزن مولکولی کم می باشند (بوچرو و همکاران، ۱۹۹۹) که در pH فیزیولوژیکی دارای بار مثبت بوده و به نوکلئیک اسیدها، فسفولیپید های اسیدی و تعداد زیادی از پروتئین ها شامل آنزیم های مختلف متصل شده و در محدوده وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله رشد گیاهی، نمو و پاسخ به تنش های مختلف نقش ایفا می کنند (پندی و همکاران، ۲۰۰۰). یکی از مهمترین فرآیندهای متأثر از آن ها پاسخ به تنش های محیطی و حذف رادیکال های آزاد می باشد (کاکار و همکاران، ۲۰۰۰؛ مارتین-تانگوی ۲۰۰۱). همچنین از آنجایی که پلی آمین ها در برخی فرآیندهای فیزیولوژیکی همچون پیری به صورت تقاضای رقابتی برای SAM^۱ دخیل هستند، بازدارنده های تولید اتیلن نیز محسوب می گردند (سود و ناگار، ۲۰۰۸). این مسأله موجب گردیده است که علاوه بر نقش تغذیه ای پلی آمین ها به وسیله باز داشتن آنزیم ACC Synthesis پیری را به تأخیر بباندازند (لی و همکاران، ۱۹۹۷). اگرچه پلی آمین های درونی به عنوان یک هورمون مطرح نیستند، لیکن کاربرد خارجی آن ها می تواند فرآیندهای متنوع فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار داده و به عنوان یک تنظیم کننده رشد مورد استفاده قرار گیرند (گالستون و همکاران، ۱۹۹۷). متأسفانه تاکنون مطالعه جامعی در خصوص تغذیه سیکلامن و یا تیمار آن با پلی آمین ها صورت نگرفته است. لذا در این پژوهش کاربرد خارجی (محللول پاشی) پلی آمین اسپرمیدین بر کمیت و کیفیت این گل با ارزش بومی از سه جنبه فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی مورد بررسی قرار گرفت تا بدین وسیله گامی در جهت بهبود آن برداشته شود.

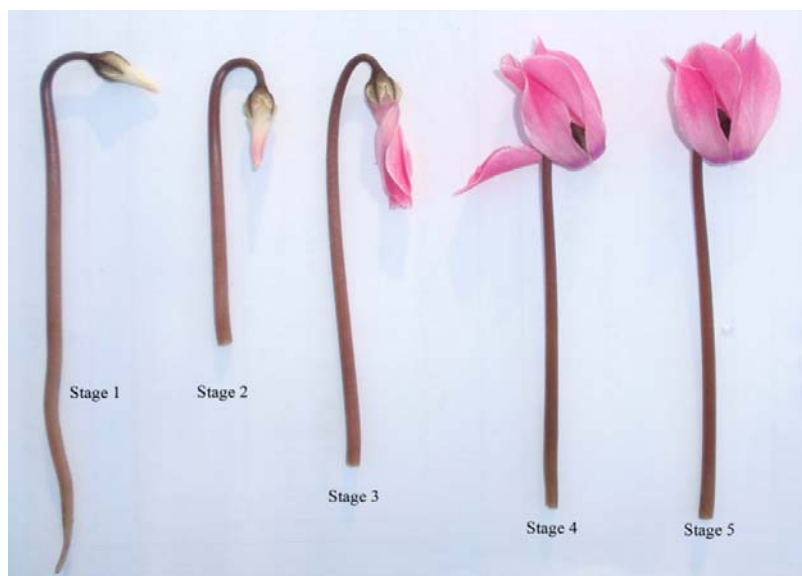
سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Miller.) گیاه ژوخه ای چند ساله متعلق به خانواده Primulaceae می باشد (قاسمی قهساره و کافی، ۱۳۹۰؛ دول و ویلکینز، ۱۹۹۹). این گیاه به دلیل گلدهی در طول زمستان و دارا بودن گل های متنوع و جذاب در بین گیاهان زینتی از اهمیت و جایگاه ویژه ای برخوردار بوده (قاسمی قهساره و کافی،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

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

مواد و روش ها

گل های سیکلامن ایرانی از یک گلخانه تولید سیکلامن در منطقه گلزار از توابع شهرستان پاکدشت تهیه و آزمایشی در دو بخش طراحی و اجرا گردید. بخش اول در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و بخش دوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به بررسی تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین بر خصوصیات بیوشیمیایی گل سیکلامن ایرانی پرداخت. فاکتور اصلی در بخش بیوشیمیایی مرحله برداشت و فاکتور فرعی سطوح محلول پاشی بودند. محلول پاشی اسپرمیدین روی مریستم ژوخه به میزان ۱۰ میلی لیتر و با غلظت های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی مولار صورت گرفت. مرحله گلدهی مورد بررسی نیز عبارت بودند از: مرحله ۱:

غنچه بدون رنگ، مرحله ۲: زمانی که رنگ گلبرگ ظاهر می شود، مرحله ۳: زمانی که طول گلبرگ بلند می شود و یکی از گلبرگ ها حالت شکوفایی می گیرد، مرحله ۴: شکوفایی اولیه گیاه که نمادش باز نشدن کامل تنها یکی از گلبرگ ها می باشد و مرحله ۵: یا شکوفایی کامل گل (شکل ۱). جهت نمونه برداری با توجه به مدت زمان لازم برای انگیخته شدن گل در سیکلامن، بعد از گذشت ۳۰ روز به یکی از غنچه های تازه تشکیل شده نخ بسته شد تا نمایانگر گل های تشکیل شده بعد از محلول پاشی بوده و نمونه برداری و محاسبات بعدی با استفاده از گل هایی باشد که بعد از اسپری کردن تشکیل شده اند. سپس ۱۵ روز بعد نسبت به برداشت نمونه های گیاهی از هر تکرار اقدام گردید.



شکل ۱- مراحل مختلف گلدهی در سیکلامن ایرانی.

الف) مطالعات مورفولوژیکی

مطالعات مربوط به خصوصیات مورفولوژیکی سیکلامن ایرانی در گلخانه تولید کننده گل صورت

گرفت که شامل: الف) تعداد روز از مرحله ۲ گل دهی تا باز شدن کامل، ب) تعداد روز از باز شدن گل تا پیری گل، پ) تعداد روز از مرحله ۲ گل دهی تا

برای محاسبه درصد وزن خشک گلبرگ گل های سیکلامن ایرانی گل های مرحله ۵ گلدهی از هر تیمار در قالب سه تکرار در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون الکتریکی (مدل Astell ساخت کشور انگلستان) قرار گرفت و درصد وزن خشک آن ها با استفاده از ترازو دیجیتال تعیین شد.

محتوای آب نسبی گلبرگ ها (RWC)

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

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

مطالعات بیوشیمیایی

سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

ابتدا محلول عصاره برای اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز توسط روش حسین و همکاران (۲۰۰۶) تهیه گردید. برای این کار گلچه های گل سیکلامن در ۵ مرحله گلدهی و با چهار تکرار به میزان ۱ گرم در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند سپس در ۴ میلی لیتر محلول سرد عصاره گیری پیشنهادی حسین و همکاران (۲۰۰۶) مخلوط گردیدند. این کار در ظرف هاون سرد و در حمام یخ انجام گرفت. سپس محلول عصاره در سرعت ۱۵/۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی برای اندازه گیری آنزیم جدا و مورد استفاده قرار گرفت.

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

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

ب) مطالعات فیزیولوژیکی

۱) شاخص پایداری غشاء (MSI)

شاخص پایداری غشاء بر حسب نشت یونی طبق روش سایرام و همکاران (۱۹۹۷) بر روی گلبرگ های گل سیکلامن صورت گرفت، و به صورت درصد شاخص پایداری غشاء (MSI) بیان شد. برای این کار، قطعات دیسکی گلبرگ های مرحله ۵ گلدهی سیکلامن ایرانی (۰/۲ گرم) در داخل ۲۰ میلی لیتر آب مقطر دی یونیزه ۲ بار تحت تیمار قرار گرفتند. بار اول در در داخل حمام بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی بوسیله EC meter (مدل Crison ساخت کشور ژاپن) ثبت شد (C₁). بار دوم در حمام بن ماری در حال جوش (۱۰۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند و هدایت الکتریکی ثبت شد (C₂). شاخص پایداری غشاء به صورت درصد بر طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$Membrane\ stability\ index = (1 - (C_1 / C_2)) \times 100$$

وزن تر گلبرگ

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

درصد وزن خشک گلبرگ

محلول رویی برای اندازه گیری آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش آبی (۱۹۸۴) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر بکمن و بر اساس کاهش جذب پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر انجام گرفت. برای این کار، ۳ میلی لیتر از محلول واکنش شامل ۵۰ میلی مولار بافر پتاسیم فسفات و ۱۲/۵ میلی مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرو لیتر از محلول عصاره و مقداری آب مقطر برای به حجم رسانی ریخته شد. سپس پراکسید هیدروژن اضافه گردید و کاهش در جذب بعد از ۱ دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم بر اساس حجمی از پراکسید هیدروژن که تخریب می شود، با ارجاع به منحنی استاندارد از یک غلظت شناخته شده از پراکسید هیدروژن سنجیده شد.

تعیین غلظت پروتئین

غلظت پروتئین با استفاده از روش سود و همکاران (۲۰۰۶) تعیین گردید. بدین منظور ابتدا ۱۰۰ میلی گرم وزن تر گلبرگ های گل سیکلامن ایرانی در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند. سپس گلبرگ های پودر شده در محلول عصاره گیری حاوی ۵۰ میلی مولار بافر فسفات، ۲ میلی مولار EDTA، ۱ میلی مولار PMSF، ۳ میلی مولار DTT، ۰/۵ درصد حجمی تریتون X-100 و ۱۵ درصد PVPP (پلی و نیل پیرولیدون) مخلوط شدند. محلول عصاره گیری شده در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رویی در ۲۰٪ محلول سرد TCA (1:1, v/v) رسوب داده شد و یک شب تا صبح در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس در سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ دور برای ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. سپس محلول رویی مجدداً در ۱۰٪ محلول سرد TCA (1:1, v/v)

ویج (۱۹۸۷) اندازه گیری شد. در این روش ۱ میلی لیتر از محلول محتوی ۵۰ میلی مولار بافر فسفات پتاسیم، ۹/۹ میلی مولار متیونین، ۵۷ میکرو مولار نیترو بلو تترازولیوم و محلول ۰/۲۵ تریتون X-100 به یک تیوب شیشه ای کوچک اضافه شد و ۲۰ μL از نمونه استخراج شده اضافه گردید. واکنش با اضافه کردن ۱۰ میکرو لیتر محلول ریبوفلاوین و قرار دادن تیوب ها در جعبه حاوی ۲ لامپ فلورسنت برای ۷ دقیقه انجام شد. پس از اتمام واکنش، اندازه گیری ها صورت گرفت. نمونه موازی شاهد با استفاده از بافر به جای نمونه ران شد. و سپس جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. و نمونه شاهد به عنوان بلانک استفاده شد. در پایان میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بر اساس U/mg.Pro به دست آمد. در حقیقت یک واحد آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به مقداری از آنزیم که نیاز است ۵۰٪ بازدارندگی احیاء NBT را در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر انجام دهد، اطلاق می گردد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

ابتدا محلول عصاره گیری برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش اژیلمائی و همکاران (۲۰۰۷) تهیه گردید. برای این کار گلچه های هر ۵ مرحله گلدی در چهار تکرار به مقدار ۱ گرم در نیتروژن مایع منجمد شده و در هاون پودر شدند و سپس در ۱۰ میلی لیتر محلول عصاره گیری پیشنهادی اژیلمائی و همکاران (۲۰۰۷) مخلوط شدند. محلول عصاره گیری شامل ۰/۱ مولار بافر پتاسیم فسفات و ۰/۵ میلی مولار EDTA بود. عمل مخلوط کردن نمونه و محلول عصاره گیری در ظرف هاون سرد و در حمام یخ انجام گرفت. سپس محلول عصاره در سرعت ۱۵/۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ،

و ۵٪ ارزیابی گردید. نتایج حاصله نیز توسط نرم افزار Excell به صورت نمودار رسم گردیدند.

نتایج و بحث

الف) خصوصیات مورفولوژیکی

اگرچه تیمار گل‌های سیکلامن ایرانی با اسپرمیدین تعداد روز از مرحله دو گلدهی تا باز شدن کامل گل را افزایش داد، لیکن همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، این افزایش از نظر آماری معنی دار نبود. در بین تیمارهای اعمال شده، بیشترین تعداد روز از مرحله دو گل دهی تا باز شدن کامل گل‌ها در اثر کاربرد غلظت ۱۰ میلی مولار اسپرمیدین خارجی به مدت ۱۹/۳۳۳ روز مشاهده گردید. این درحالی بود که غلظت مذکور تأخیر در باز شدن گل را بیشتر از تیمار ۲۰ میلی مولار اعمال کرد. از آنجایی که تأخیر در باز شدن گل از جنبه‌های اقتصادی به دلیل افزایش مدت زمان بازاریابی و حمل و نقل گل سیکلامن اهمیت ویژه‌ای داشته و صادرات آن را تسهیل می‌نماید، لذا مناسب‌ترین تیمار از این جنبه به ترتیب محلول پاشی با اسپرمیدین ۱۰ و ۲۰ میلی مولار است. همانطور که در جدول ۱ نیز مشاهده می‌گردد، کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش طول عمر گل سیکلامن در مقایسه با شاهد گردید. این افزایش موجب اختلاف معنی داری در تعداد روز از باز شدن گل تا پیری بین تیمارها و شاهد نگردید. افزایش عمر گل سیکلامن ایرانی تا سطح ۱۰ میلی مولار با سطح اسپرمیدین محلول پاشی همبستگی نشان داد و پس از آن در سطوح بالاتر موجب افزایش عمر گل در مقایسه با سطح پایتتر نگردید به نحوی که طولانی‌ترین عمر گل به ترتیب در گل‌های تیمار ۱۰، ۵ و ۲۰ میلی مولار مشاهده گردید. دست یافتن به بیشترین طول عمر گل با تیمار اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار با یافته تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت

رسوب داده شد و در شرایط مشابه قبل سانتیفریوژ گردید. رسوبات ترکیب شده، در ۰/۵ مولار هیدروکسید سدیم حل گردید و محتویات بر طبق روش لوری و همکاران (۱۹۵۱) تخمین زده شد. تمامی اندازه‌گیری‌ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر سبز و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بکمن انجام گرفت.

سنجش پلی آمین‌های اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Sp)

میزان پلی آمین‌های اسپرمیدین و اسپرمین با استفاده از دستگاه HPLC و بر اساس روش تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) صورت گرفت. بدین منظور ۰/۱۵ گرم وزن تر از پودر گلبرگ‌ها با ۱۰ قسمت حجمی از پر کلریک اسید (PCA) ۴٪ به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۸ درجه سانتیگراد در سرعت ۲۰۰۰ دور سانتیفریوژ شد. رسوبات ۳ بار شسته شد و در محلول تازه PCA مخلوط شدند. سپس محلول رویی در اسید هیپوکلریدریک ۶ نرمال در ویال‌های مقاوم به آتش در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت به منظور جدا شدن پلی آمین‌ها از حالت Conjugate نگه‌داری شدند. سپس رسوبات با $(3\text{mg mL}^{-1} \text{ of acetone})$ dansyl-chloride مخلوط شدند و با تولوئن استخراج گردیده و با دستگاه HPLC (مدل Unicam crystal 200) توسط ستون C18 و آشکار ساز ماوراء بنفش (Spherisorb ODS2, 5 μM particle diameter, 4.66250mm) سنجش گردیدند.

تجزیه آماری داده‌ها

نتایج با استفاده از نرم افزارهای SAS 9.1 تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین صفات مورد آزمایش نیز با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطوح آماری ۱

موجب افزایش تعداد گلچه های گل گلابول از ۵ عدد به ۱۴/۱۳ عدد می گردد.

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

تعداد کل برگ ها نیز همانند سطح برگ تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت و با افزایش سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده، افزایش یافت (جدول ۱). اگرچه افزایش تعداد برگ در سطوح مختلف اسپرمیدین اختلاف معنی داری نداشت، لیکن بین تیمار شاهد و تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد مشاهده گردید. این امر موجب گردید بیشترین تعداد کل برگ در واحد گیاه در تیمار ۲۰ میلی مولار با ۳۹/۶۶ عدد برگ مشاهده گردد. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نیز با کاربرد پلی آمین دیگری نتیجه مشابه ای به دست آوردند. آن ها نیز همانند این پژوهش دریافتند که کاربرد خارجی پوترسین موجب افزایش تعداد برگ های گل بریدنی گلابول می گردد. میزان افزایش در آزمایش آن ها دو برابر بوده که در نتیجه آن تعداد برگ های گل بریدنی گلابول از ۷ عدد به ۱۳/۳۳ عدد افزایش می یابد. این در حالی است که در این پژوهش از ۳۰/۳۳ به ۳۹/۶۶ عدد افزایش یافت.

دارد. تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه ای بر روی گل بریدنی میخک دریافتند که کاربرد خارجی اسپرمیدین به صورت افزونه محلول گلجای موجب تأخیر حداکثری پیری گردید. در خصوص افزایش عمر گل با تیمار اسپرمیدین به نظر می رسد به دلیل اختلال در مکانیزم عمل اتیلن می باشد. سود و ناگار (۲۰۰۳) نیز مکانیسم بازداشتن پیری توسط پلی آمین-ها را مربوط به بازداشتن سنتز اتیلن توسط بازداشتن فعالیت ACC Synthase دانسته اند.

تعداد روزهای شکوفا بودن گل یا تعداد روز از مرحله دوم گلدهی تا پیری نیز تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت و با تیمار مذکور افزایش یافت (جدول ۱). این افزایش تا غلظت ۱۰ میلی مولار روند افزایشی و پس از آن روند کاهش را طی نمود به نحوی که طولانی ترین دوره گلدهی در گل های تیمار اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار با ۴۴/۴۳ روز مشاهده گردید. این در حالی بود که اختلاف معنی داری در تعداد روزهای شکوفا بودن گل در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید.

تعداد گل در واحد گیاه نیز با الگویی مشابه تعداد روزهای شکوفا بودن گل ها تحت تأثیر کاربرد خارجی اسپرمیدین قرار گرفت (جدول ۱). افزایش تعداد گل در گیاه با افزایش سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده ابتدا روند افزایشی و پس از آن روند کاهش را طی نمود به نحوی که بیشترین تعداد گل با ۴۶/۶۶ عدد در گیاه در تیمار ۱۰ میلی مولار و پس از آن به ترتیب با ۴۱ و ۳۷/۳۳ عدد به ترتیب به تیمارهای ۵ میلی مولار و شاهد تعلق داشت. افزایش سطح محلول پاشی تا ۲۰ میلی مولار باعث کاهش غیر معنی دار تعداد گل ها به ۳۷ عدد در بوته در مقایسه با شاهد گردید. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نتیجه مشابه ای با کاربرد پلی آمین دیگری به دست آوردند. آن ها دریافتند که کاربرد خارجی پوترسین

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

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

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

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

خصوصیات فیزیولوژیکی

خصوص کاربرد پلی آمین پوترسین بر روی گل بریدنی گلابول همخوانی دارد. آن ها دریافتند که کاربرد پلی آمین وزن تر برگ ها و گلچه ها را تا سه برابر افزایش می دهد. در گیاه توت فرنگی نیز موحد و همکاران (۲۰۱۲) به طور مشابه ای دریافتند کاربرد خارجی پلی آمین های اسپرمیدین و پوترسین موجب افزایش وزن تر برگ می گردد.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می گردد، کاربرد اسپرمیدین خارجی موجب افزایش وزن تر گل سیکلامن ایرانی گردید. این افزایش وزن تر تنها در تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی داری با شاهد داشت و موجب گردید بیشترین افزایش وزن تر به میزان ۰/۴۸۷ گرم را به خود اختصاص دهد. یافته های این پژوهش با یافته های ناهد و همکاران (۲۰۰۹) در

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

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

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

گردید. این در حالی بود که اختلاف معنی داری در سطح پنج درصد در بین تیمارهای اعمال شده و شاهد مشاهده نگردید. ناهد و همکاران (۲۰۰۹) نیز همانند پژوهش پیش رو دریافتند که کاربرد پلی آمین در راستای افزایش وزن تر برگ ها و گلچه ها در گل

همچنین محلول پاشی اسپرمیدین موجب افزایش وزن خشک گردید (جدول ۲). با افزایش غلظت محلول پاشی، وزن خشک گل نیز افزایش یافت به نحوی که بیشترین وزن خشک افزایش یافته به میزان ۰/۱۹۶ گرم در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار مشاهده

آمین های اسپرمیدین و پوترسین موجب افزایش وزن خشک برگ در توت فرنگی می گردد.

بریدنی گلاپول، موجب افزایش دو برابری وزن خشک آن ها نیز می گردد موحد و همکاران (۲۰۱۲) نیز به طور مشابه ای دریافتند کاربرد خارجی پلی

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

مرحله برداشت	تیمار	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)
مرحله ۱	شاهد	۱۵/۲۰ jk [†]	۱۰/۴۷ ij
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۵/۸۳ ijk	۱۰/۲۷ ij
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۷/۵۷ ijk	۱۱/۰۱ hij
مرحله ۲	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲۴/۷۰ fgh	۱۳/۲۰ ghi
	شاهد	۱۸/۵۳ hij	۱۰/۵۳ ij
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۷/۵۳ efg	۱۴/۷۰ gh
مرحله ۳	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۹/۹۰ ef	۱۹/۴۷ g
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۴/۷۷ bc	۲۰/۸۰ ef
	شاهد	۱۷/۳۷ ijk	۱۳/۵۰ ghi
مرحله ۴	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۹/۵۳ ef	۲۳/۰۰ def
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۱/۷۳ de	۲۴/۳۰ cde
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۵۱/۷۷ a	۲۷/۷۰ bc
مرحله ۵	شاهد	۱۱/۳۳ k	۸/۷۶ j
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۳۶/۹۰ cd	۲۲/۶۰ ef
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۸/۷۳ bc	۲۵/۲۰ bcde
مرحله ۵	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۴۴/۲۰ b	۲۸/۹۷ b
	شاهد	۳/۶۰ l	۴/۱۰ k
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۲/۳۳ ghi	۱۵/۶۰ g
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۰/۹۳ ghij	۲۶/۹۳ bcd
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۴۳/۱۳ bc	۳۴/۱۳ a

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

مولار به میزان ۱۰/۴۱ گرم مشاهده گردید. با توجه به عدم معنی دار بودن اختلاف وزن خشک کلیه تیمارها، تنها اختلاف معنی دار در محتوی آب نسبی بین تیمار ۲۰ میلی مولار با شاهد مشاهده گردید و سایر تیمارها اختلاف معنی داری در این خصوص با شاهد نداشتند.

محلول پاشی گل های سیکلامن ایرانی با اسپرمیدین نیز موجب افزایش محتوی آب نسبی گلبرگ گردید. از آنجایی که بیشترین افزایش وزن تر و خشک گل های سیکلامن ایرانی در تیمار محلول پاشی ۲۰ میلی مولار مشاهده گردید، بیشترین محتوی آب نسبی گلبرگ نیز در تیمار اسپرمیدین ۲۰ میلی

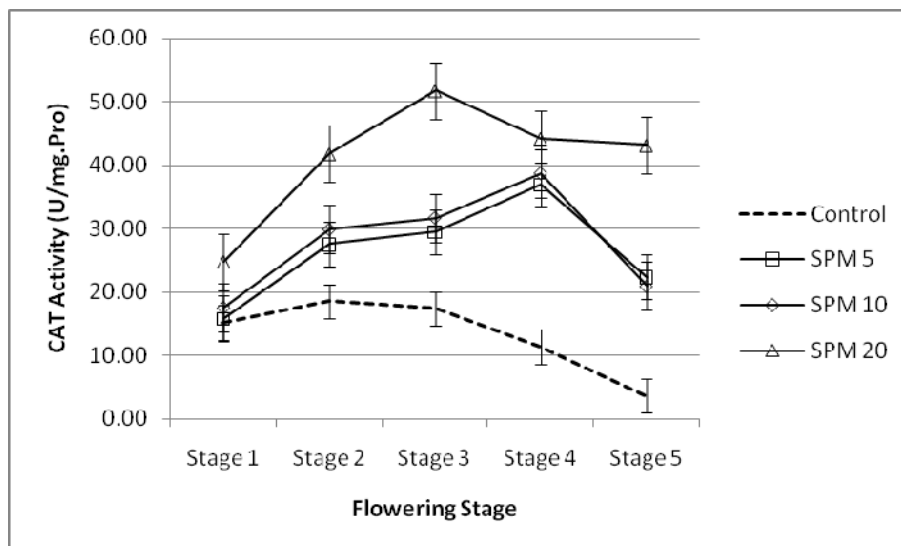
گل های تیمار شده گردید. افزایش در میزان فعالیت کاتالاز با میزان اسپرمیدین محلول پاشی شده همسو بود به نحوی که بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار به میزان ۵۱/۷۷ واحد بر میلی گرم پروتئین مشاهده گردید. اگرچه میزان فعالیت کاتالاز در تیمار ۱۰ میلی مولار بیشتر از گل- های تیمار ۵ میلی مولار بود، لیکن اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده نگردید. این در حالی بود که اختلاف معنی دار و قابل ملاحظه ای بین میزان فعالیت کاتالاز در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار و سایر تیمارها در طی کلیه مراحل نموی گل سیکلامن مشاهده گردید. نتیجه فوق با یافته های اژیلما تی و همکاران (۲۰۰۷) در خصوص کاربرد 5-SSA در گلابول همخوانی دارد. آن ها دریافتند که تیمار گل- های گلابول با 5-SSA موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می گردد. در خصوص سیر نزولی فعالیت کاتالاز در گل های تیمار شده سیکلامن، سود و همکاران (۲۰۰۶) نیز مشاهده نمودند که با گذشت عمر گلجایی و نزدیک شدن به پایان عمر گلجایی میزان فعالیت کاتالاز در گل های رز نیز کاهش می- یابد. این در حالی بود که در مرحله پنجم نمو گل سیکلامن تیمار شده با اسپرمیدین میزان فعالیت کاتالاز باز هم بیشتر از میزان فعالیت حداکثری آن در گل های شاهد می باشد. از آنجایی که کاتالاز موجب تبدیل پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می گردد و از این طریق سطح پراکسید هیدروژن را در سلول کاهش می دهد (اسکاندالیوس، ۱۹۹۳). افزایش فعالیت این آنزیم با کاربرد خارجی اسپرمیدین موجب حفاظت سلول ها در مقابل رادیکال های آزاد و انواع تنش ها می گردد (ویلکینز و همکاران، ۱۹۹۷).

نشان داده شده است که پلی آمین ها توانایی حفظ سیالیت غشاء را بوسیله فعالیت حذفی رادیکال های آزاد را دارند (ماک کارونی و همکاران، ۱۹۹۸). همانطور که در جدول ۲ نیز مشاهده می گردد، کاربرد اسپرمیدین نیز موجب افزایش شاخص پایداری غشاء سلول های گلبرگ در مقایسه با شاهد گردید. با افزایش غلظت تیمار اسپرمیدین، شاخص پایداری نیز افزایش یافت به نحوی که بیشترین افزایش پایداری غشاء در تیمار ۲۰ میلی مولار به میزان ۸۴/۴۳ مشاهده گردید. اگرچه کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش پایداری غشاء گردید، لیکن افزایش پایداری تنها در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار اختلاف معنی داری با شاهد داشت. تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) نیز به طور مشابه ای در گل های بریدنی میخک رقم ریکو دریافتند که استفاده از اسپرمیدین روی گل های مذکور موجب افزایش DNA، RNA، محتوای پروتئینی و افزایش پایداری غشاء می گردد.

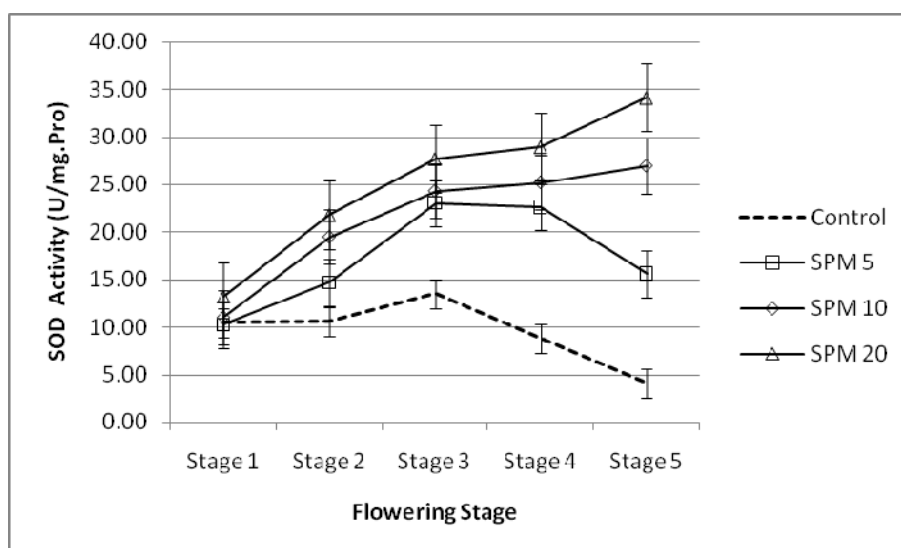
خصوصیات بیوشیمیایی

میزان فعالیت کاتالاز

همانطور که در نمودار ۱ و جدول ۳ مشاهده می- گردد، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گل سیکلامن ایرانی در مرحله دوم نمو گل تا حدودی افزایش و پس از آن روند کاهشی را طی نمود به نحوی که در پایان مرحله پنجم به یک سوم میزان فعالیت اولیه خود رسید. این در حالی است که در گل های میخک روند متفاوتی مشاهده گردیده است. فعالیت کاتالاز در گل های میخک در طی پیری افزایش و به طور غیر قابل تغییر باقی می ماند (بارتولی و همکاران، ۱۹۹۵). محلول پاشی سیکلامن با اسپرمیدین نیز موجب افزایش معنی دار سه تا پنج برابری فعالیت کاتالاز در



نمودار ۱- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز.



نمودار ۲- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز.

میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز

همانطور که در نمودار ۲ و جدول ۳ مشاهده می-گردد، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طی مراحل نمو گل در ابتدا تا حدودی افزایش و از مرحله ۴ به بعد کاهش یافت به نحوی که در مرحله ۵ به نصف میزان ابتدایی خود رسید. محلول پاشی سیکلامن با اسپرمیدین موجب افزایش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در طی مراحل نمو گل گردید.

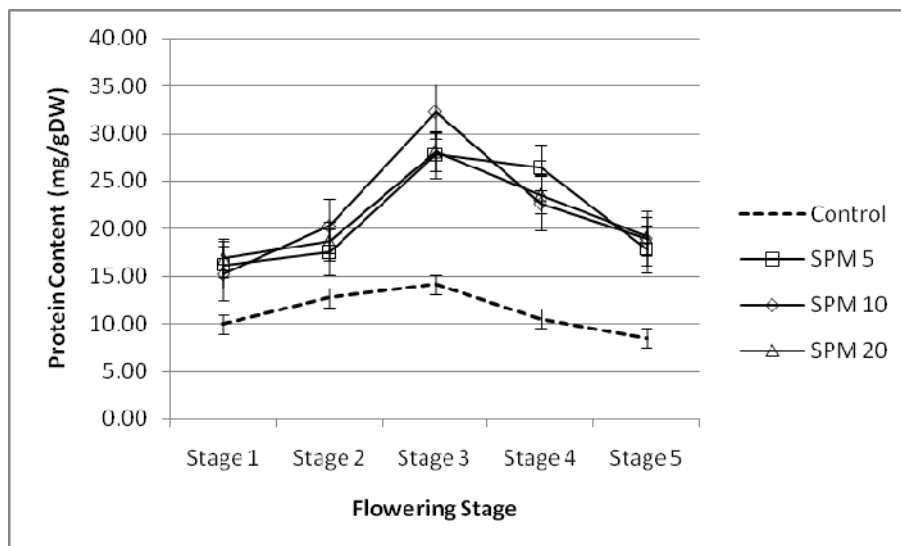
این روند افزایشی با افزایش غلظت محلول پاشی افزایش یافت به نحوی که بیشترین میزان فعالیت به میزان ۳۴/۱۳ واحد بر میلی گرم پروتئین در تیمار محلول پاشی ۲۰ میلی مولار و در مرحله ۵ مشاهده گردید. محلول پاشی با غلظت ۵ میلی مولار اسپرمیدین کارایی لازم را در خصوص حفظ سطح بالای فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز به خصوص در مرحله ۴ و ۵ موجب نگردید و همانطور که در

موجب گردید تا کلیه تیمارها اختلاف معنی دار و قابل ملاحظه ای با شاهد داشته باشند. این در حالی بود که بین تیمارهای اسپرمیدین اختلاف معنی داری در میزان پروتئین کل مشاهده نگردید. لازم به ذکر است بیشترین میزان پروتئین کل در تیمار ۱۰ میلی مولار در مرحله سوم گلدهی و به میزان ۳۲/۳۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک و کمترین آن در تیمار شاهد و در مرحله ۵ گلدهی به میزان ۸/۴۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد. افزایش میزان پروتئین در نتیجه کاربرد اسپرمیدین با یافته های تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) روی رقم ریکو میخک همخوانی دارد. تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که با تیمار نمودن گل های میخک میزان محتوای پروتئین ها افزایش و تخریب DNA به تاخیر می افتد. از آنجائیکه پلی آمین های درونی به RNA و DNA (پوحجادپلتو و هولتا، ۱۹۹۶) و پروتئین ها (تاسونی و همکاران، ۱۹۹۶) به صورت قوی می چسبند و همچنین موجب باز داشتن فعالیت RNase (آیسولا و فرانزونی، ۱۹۸۹) و پروتئاز می شوند (والدن و همکاران، ۱۹۹۷)، بنابراین علت حفظ بالاترین سطح پروتئین در تیمار اسپرمیدین با غلظت ۲۰ میلی مولار در این آزمایش ممکن است به علت خاصیت چسبندگی پلی آمین ها به پروتئین و جلوگیری از تخریب پروتئین ها توسط آنزیم ها باشد. در مطالعه ای که روی دو گونه رز *R. damascena* و *R. bourboniana* انجام شد نشان داده شد که تاثیر تأثیر پلی آمین ها در به تاخیر انداختن پیری برگ ها در دو گونه رز فوق ممکن است در نتیجه تقابل با RNA و باز داشتن فعالیت آنزیم ها و یا سنتز آنزیم ها باشد (سود و ناگار، ۲۰۰۴).

نمودار ۲ مشاهده می گردد، میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در مرحله ۵ شدیداً کاهش یافت. پژوهش- های پیشین بیانگر کاهش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و افزایش رادیکال سوپر اکسید و افزایش غلظت پراکسید هیدروژن همزمان با پیری و مرگ سلول در گل های بریدنی می گردد (دبایسیس و همکاران، ۲۰۰۷). این در حالی است که سوپر اکسید دیسموتاز رادیکال های آزاد سلول را خنثی و بدین روش از خسارت به سلول ها و پیری جلوگیری می- نماید (اسمارت، ۱۹۹۴؛ کالیس، ۱۹۹۵). محلول پاشی در گل های بریدنی جهت افزایش فعالیت سیستم آنتی اکسیدانسی به خصوص سوپر اکسید دیسموتاز در گل- های مختلفی صورت گرفته است. همانند این پژوهش گرایلو و قاسم نژاد (۲۰۱۱) دریافتند که محلول پاشی گل های رز رقم یلو آیلند با سالیسیلیک اسید موجب تأخیر پیری از طریق بهبود سیستم آنتی اکسیدانسی و کاهش خسارت اکسیداتیو در طی پیری گل های رز می گردد. آنها به طور به خصوص دریافتند که محلول پاشی موجب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در گلبرگ های گل رز می گردد.

میزان پروتئین کل

محتوی پروتئین کل در تمامی تیمارها یک روند مشابه ای داشت که شامل افزایش محتوی پروتئین از مرحله ۱ تا مرحله ۳ و سپس کاهش آن در مراحل ۴ و ۵ گلدهی بود (نمودار ۳ و جدول ۴). این روند از الگوی مطرح شده برای سایر گل ها پیروی نمود. میزان تغییر پروتئین کل در تیمار شاهد کمتر از ۶ میلی گرم بر گرم وزن خشک بود در حالی که در گل- های تیمار شده میزان تغییر تا دو برابر میزان اولیه (۱۷ میلی گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده گردید. افزایش در میزان پروتئین کل در نتیجه تیمار با اسپرمیدین



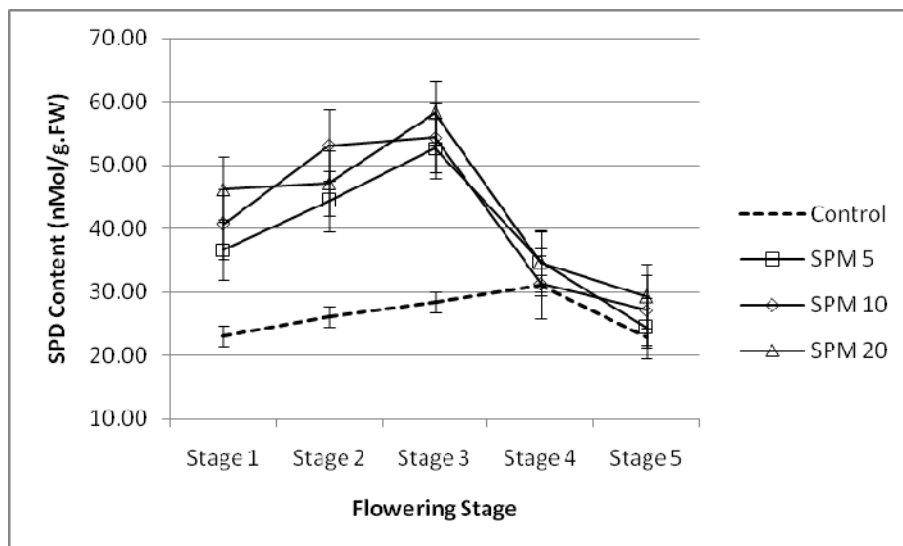
نمودار ۳- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان پروتئین کل گلبرگ سیکلامن ایرانی

میزان اسپرمیدین

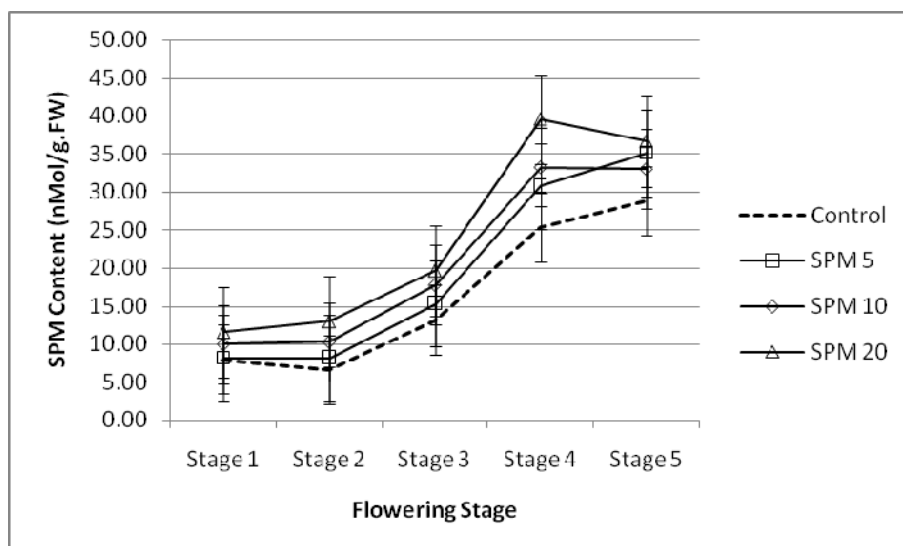
میزان اسپرمیدین داخلی در تیمار شاهد تا مرحله چهارم گلدهی روند افزایشی ملایم و پس از آن روند کاهشی ملایمی را طی نمود (جدول ۴ و نمودار ۴). این درحالی بود که با کاربرد اسپرمیدین خارجی میزان اسپرمیدین داخلی تا مرحله گلدهی سوم روند افزایشی شدید و پس از آن روند کاهشی شدیدی را به نحوی طی نمود که میزان آن علیرغم دو برابر بودن تا مرحله سوم، در مرحله پنجم نزدیک به میزان آن در گل های شاهد رسید. بیشترین میزان افزایش اسپرمیدین داخلی در مرحله سوم و در گل های تیمار شده با ۱۰ میلی مولار اسپرمیدین خارجی مشاهده گردید. همانند این پژوهش تاسونی و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که تیمار گل های بریدنی میخک رقم ریکو باعث تغییر سطوح پلی آمین ها و به تاخیر انداختن تخریب DNA می گردد.

میزان اسپرمین

به طور کلی میزان اسپرمین گلبرگ گل در سیکلامن ایرانی با پیشرفت مرحله نمو گل افزایش می یابد (نمودار ۵ و جدول ۴) به نحوی که میزان آن در مرحله پنجم به بیش از سه برابر میزان اولیه خود یعنی ۲۸/۸۷ نانو مول بر گرم وزن تر رسید. تیمار گل ها با اسپرمیدین نیز اگرچه موجب افزایش میزان اسپرمین داخلی گشت، لیکن موجب تغییر در روند ذکر شده برای گل های شاهد نگردید. میزان اسپرمین داخلی با سطح اسپرمیدین محلول پاشی شده همسو بود به نحوی که با افزایش غلظت اسپرمیدین، میزان اسپرمین داخلی افزایش یافت. این افزایش تنها در گل های تیمار ۲۰ میلی مولار با شاهد اختلاف معنی داری داشت. افزایش میزان اسپرمین داخلی با یافته های پیشین در خصوص افزایش پلی آمین های داخلی در نتیجه محلول پاشی ترکیبات همچون سالیسیلیک اسید مختلف همسو می باشد (نمت و همکاران، ۲۰۰۲).



نمودار ۴- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان اسپرمیدین گلبرگ سیکلامن ایرانی



نمودار ۵- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان اسپرمین گلبرگ سیکلامن ایرانی

نتیجه گیری

مطلوب بر رشد جنسی (همچون تعداد روز لازم برای باز شدن گل، تعداد روزهای گلدهی و تعداد گل در گیاه) کاسته می شود (این درحالی است که همچنان گل های تیمار ۲۰ میلی مولار تأثیر مطلوبی در مقایسه با شاهد در بر داشته است). لذا با توجه به اهمیت گل در بازاریسندی سیکلامن ایرانی مناسبترین سطح محلول پاشی با اسپرمیدین جهت این گل ۱۰ میلی مولار می باشد. با توجه با اینکه پژوهش پیش رو

به نظر می رسد با افزایش میزان محلول پاشی اسپرمیدین تا ۲۰ میلی مولار خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل سیکلامن ایرانی بهبود و افزایش می یابد لیکن از نظر گلدهی، نمو و پیری گل کاربرد خارجی اسپرمیدین تنها تا سطح ۱۰ میلی مولار تأثیر مطلوب دارد. زیرا سطوح بالاتر بر جنبه های رشد رویشی گل تأثیر مطلوب داشته و از اثرات

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

جدول ۴- برهمکنش اسپرمیدین و مرحله نمو گل بر میزان پروتئین، پلی آمین های اسپرمیدین و اسپرمین

مرحله برداشت	تیمار	میزان پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن خشک)	میزان اسپرمیدین (نانو مول بر گرم وزن تر)	میزان اسپرمین (نانو مول بر گرم وزن تر)
مرحله ۱	شاهد	۹/۹۳ ij [†]	۲۳/۰۳ i	۸/۰۰ i
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۶/۲۰ efghi	۳۶/۶۷ efg	۸/۱۶ i
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۵/۲۷ fghij	۴۰/۷۳ def	۹/۹۶ hi
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۶/۹۳ defgh	۴۶/۲۰ bcde	۱۱/۵۳ ghi
مرحله ۲	شاهد	۱۲/۷۳ ghij	۲۶/۰۷ hi	۶/۶۶ i
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۷/۵۳ defg	۴۴/۳۳ cde	۸/۲۰ i
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۰/۳۰ cdef	۵۳/۱۷ abc	۱۰/۲۷ hi
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۸/۷۳ defg	۴۷/۱۷ bcd	۱۲/۹۳ ghi
مرحله ۳	شاهد	۱۴/۱۳ fghij	۲۸/۴۳ ghi	۱۳/۲۰ ghi
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۷/۷۷ ab	۵۲/۶۳ abc	۱۵/۳۷ fgh
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۳۲/۳۰ a	۵۴/۳۷ ab	۱۷/۷۷ fg
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲۸/۱۳ ab	۵۸/۲۷ a	۱۹/۶۰ ef
مرحله ۴	شاهد	۱۰/۵۰ hij	۳۱/۰۷ fghi	۲۵/۳۰ de
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۲۶/۴۳ abc	۳۴/۷۳ fgh	۳۰/۷۷ bcd
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۲۲/۶۳ bcde	۳۱/۳۰ fghi	۳۳/۲۷ abc
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۲۳/۶۰ bcd	۳۴/۶۳ fgh	۳۹/۵۳ a
مرحله ۵	شاهد	۸/۴۶ j	۲۲/۸۰ i	۲۸/۸۷ cd
	اسپرمیدین ۵ میلی مولار	۱۷/۸۳ defg	۲۴/۳۳ i	۳۵/۱۰ abc
	اسپرمیدین ۱۰ میلی مولار	۱۹/۰۰ defg	۲۷/۱۷ ghi	۳۳/۰۳ bc
	اسپرمیدین ۲۰ میلی مولار	۱۹/۱۷ defg	۲۹/۳۰ ghi	۳۶/۶۳ ab

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

منابع

- شیراوند، د. ۱۳۸۹. گل های آپارتمانی و شاخه بریدنی. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. تهران، ایران. ۲۵۹ ص.
- قاسمی قهساره، م. و م. کافی. ۱۳۹۰. گلکاری علمی و عملی. انتشارات مؤلف. تهران، ایران. صص: ۲۶۹-۲۷۳.
- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Meth Enzymol. 105:121-126.
- Bartoli, C.G., M. Simontacchi, J. Guiamet, E. Montaldi and S. Puntarulo. 1995. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation during aging of *Chrysanthemum morifolium* RAM petals. Plant Sci. 104: 161-168.

- Bayer, W.F and I. Fridovich .1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in condition. *Annals Biochem.* 161:559–566.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and J. Martin-Tanguy. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* 140: 103–125.
- Callis, J. 1995. Regulation of protein degradation. *Plant Cell.* 7: 845–857.
- Debasis, C., J. Chatterjee and S.K. Datta. 2007. Oxidative stress and antioxidant activity as the basis of senescence in *Chrysanthemum* florets. *Plant Growth Regul.* 53: 107-115.
- Dole, J.M. and H.F. Wilkins. 1999. *Floriculture, Principles and Species.* Prentice Hall. New Jersey, USA. pp: 282-287.
- Ezhilmathi, K. 2001. Physiological and biochemical studies of senescence in *Gladiolus*. M.Sc. Thesis. Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India.
- Galston, A.W., R. Kaur-Sawhney, T. Altabella and A.F. Tiburcio. 1997. Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. *Bot. Acta.* 110: 197–207.
- Gerailoo, S. and M. Ghasemnezhad. 2011. Effect of salicylic acid on antioxidant enzyme activity and petal senescence in 'Yellow Island' cut rose flowers. *J. Fruit Ornamental Plant Res.* 19(1): 183-193.
- Hossain, Z., A.K. Azad Mandal, S. Kumar Datta and A. Krishna Biswas. 2006. Decline in ascorbate peroxidase activity a prerequisite factor for tepal senescence in *gladiolus*. *J. Plant Physiol.* 163: 186-194.
- Isola, M.C. and L. Franzoni. 1989. Inhibition of net synthesis of ribonuclease by polyamines in potato tuber slices. *Plant Sci.* 63: 39–45.
- Kakkar, R.K., P.K. Nagar, P.S. Ahuja and V.K. Rai. 2000. Polyamines and plant morphogenesis. *Biol. Plant.* 43: 1–11.
- Kumar, A., T. Altabella, M.A. Taylor and A.F. Tiburcio. 1997. Recent advances in polyamine research. *Trends Plant Sci.* 2: 124–130.
- Lee, M.H., S.H. Lee and K.Y. Park. 1997. Effects of spermine on ethylene biosynthesis in cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) flowers during senescence. *J. Plant Physiol.* 151: 68–73.
- Liu, J.H., H. Kitashiba, J. Wang, Y. Ban and T. Moriguchi. 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnol.* 24: 117-126.
- Lowry, O.H., N.H. Rosebrough, S.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Anal. Biochem.* 193: 265–275.
- Maccarrone, M., A. Baroni and A. Finazzi-Agro. 1998. Natural polyamines inhibit soybean (*glycine max*) lipoxigenase-1, but not the lipoxigenase-2 isozyme. *Arch Biochem. Biophys.* 356: 35-40.
- Martin-Tanguy, J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regul.* 34: 135-148.
- Movahed, N., Eshghi, S., Tafazoli, E., Jamali, B. 2012. Effects of polyamins on vegetative characteristics, growth, flowering and yield of strawberry ('Paros' and 'Selva'). *Acta Horticulturae.* 926: Lisbon, Portugal.
- Nahed, A.A.; G. Taha Lobna, S., Ibrahim Soad. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of *Gladiolus* plants at Nubaria. *Ozean J. Appl. Sci.* 2(2).

- Nemeth, M., T. Janda, E. Horvath, E. Paldi and G. Szalai. 2002. Exogenous salicylic acid increases polyamine content but may decrease drought tolerance in maize. *Plant Sci.* 162:569-574.
- Pandey, S., S.A. Ranande, P.K. Nagar and N. Kumar. 2000. Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *India Acad. Sci.* 25: 291-299.
- Pohjanpelto, P. and E. Holtta. 1996. Phosphorylation of Okazaki-like DNA fragments in mammalian cells and role of polyamines in the processing of this DNA. *EMBO J.* 15: 1193-1200.
- Sairam, R.K., P.S. Deshmukh and D.S. Shukla. 1997. Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Agron. Crop Sci.* 178: 171-1.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101: 7-12.
- Smart, C. 1994. Gene expression during leaf senescence. *New Phytol.* 126: 419-448.
- Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Regul.* 39: 155-160.
- Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2004. Changes in endogenous polyamines during flower development in two diverse species of rose. *Plant Growth Regul.* 44: 117-123.
- Sood, S.H. and P.K. Nagar. 2008. Post-harvest alterations in polyamines and ethylene in two diverse rose species. *Acta Physiol. Plant.* 30: 243-248.
- Sood, S.H., D. Vyas and P.K. Nagar. 2006. Physiological and biochemical studies during flower development in two rose species. *Sci. Hort.* 108: 390-396.
- Tassoni, A., P. Accettulli and N. Bagni. 2006. Exogenous spermidine delays senescence of *Dianthus caryophyllus* flowers. *Plant Biosystems.* 140:107-114.
- Tassoni, A., F. Antognoni and N. Bagni. 1996. Polyamine binding to plasma membrane vesicles from zucchini hypocotyls. *Plant Physiol.* 110: 817-824.
- Walden, R., A. Cordiero and A.F. Tiburcio. 1997. Polyamines: Small molecules triggering pathways in plant growth and development. *Plant Physiol.* 113: 1009-1013.
- Willekens, H., S. Chamnongpol, M. Davey, M. Schrauder, C. Langebartels, M. van Montagu, D. Inze and W. van Camp. 1997. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C3 plants. *EMBO J.* 16: 4806-4816.

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

M. Farjadi Shakib¹, R. Naderi², M. Mashhadi Akbar Boujar³

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

Abstract

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

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

1- PhD Student, Islamic Azad University, Science and Research Branch

2 - Professor Associated, Tehran University

3- Professor Associated, Tabyat Modares University of Tehran