



اثر اسپرمیدین بر تحمل به سرمای بوته‌های خیار در مرحله نهال‌دزری

محمد سلیمانی^۱ - مصطفی مبلی^۲ - علی اکبر رامین^۳ - بهرام بانی نسب^۴ - لیلا اصلانی^{۵*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۰۷

چکیده

به منظور بررسی اثر اسپرمیدین بر تحمل به سرمای دانه‌های خیار رقم مزرعه‌ای 'رشید'، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و چهار تیمار شامل غلظت‌های صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین در انکوباتور در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت دو آزمایش مجزا اجرا شد. به این منظور بذرها در محیطی مرطوب، به مدت ۷ روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و پس از تیمار با اسپرمیدین، ۸ روز در دماهای ۶ یا ۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. در پایان هر آزمایش ویژگی‌هایی شامل طول، وزن تر و خشک، نشت یونی و پرولین در ساقه و ریشه اندازه‌گیری شد. جهت مقایسه اثر دما و برهمکنش آن با غلظت‌های متفاوت اسپرمیدین داده‌های دو آزمایش با همدیگر در یک طرح کورت‌های خرد شده (۲ دمای متفاوت انکوباتور به صورت ۲ کورت اصلی و ۴ غلظت اسپرمیدین به صورت ۴ کورت فرعی) آنالیز آماری شد. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که کاربرد اسپرمیدین در بالاترین غلظت (۱ میلی‌مولار) اثرات معکوسی در تعدیل سرمازدگی در دمای ۹ درجه سلسیوس داشت، به طوری که وزن تر و خشک ریشه را کاهش داد. غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین در دمای ۶ درجه سلسیوس مؤثرتر از سایر غلظت‌ها بود و باعث افزایش وزن تر ریشه، کاهش میزان نشت یونی ریشه و افزایش پرولین ساقه شد. نتایج آنالیز کورت‌های خرد شده نشان داد که در مجموع غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه شد. مقایسه میانگین برهمکنش دما و غلظت اسپرمیدین نشان داد که بر خلاف این که در مجموع تیمارهای ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه شد، به دلیل وجود برهمکنش معنی‌دار بین دما و غلظت اسپرمیدین این اثرات افزایش صرفاً در دمای ۶ درجه سلسیوس مشاهده شد و در دمای ۹ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت.

واژه‌های کلیدی: پلی‌آمین، دانه‌ال، سرمازدگی

مقدمه

فتوستتوز و تغییر الگوهای سنتز پروتئین‌ها به ویژه پروتئین‌های غشاء سلولی است (۱۵). نشت املاح از سلول به درون آب خارج سلولی در اثر سرمازدگی، نشان دهنده خسارت وارد شده به غشای پلاسمایی و احتمالاً غشای تونوپلاست است و ممانعت از فتوستتوز و تنفس نیز منعکس کننده خسارت وارد شده به غشاهای کلروپلاست و میتوکندری است (۹). سرمازدگی در دانه‌های جوان عموماً باعث کاهش توسعه برگ، پژمردگی و کلروز می‌شود در موارد شدیدتر قهوه‌ای شدن و پیدایش بافت مرده (نکروزه) و یا مرگ گیاه مشاهده می‌شود (۹ و ۱۵).

خیار گیاهی حساس به سرما است و کشت آن به جز بخشی از مناطق جنوبی و مرکزی کشور، در مناطقی انجام می‌شود که به دلیل پایین بودن دما، احتمال سرمازدگی در اوایل فصل رشد وجود دارد. روش‌های مختلفی جهت کنترل سرمازدگی به کار گرفته شده، از جمله کاشت زیر پلاستیک یا قرار دادن کلاهک روی بوته‌های جوان

سرما یکی از بزرگترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصولات در بسیاری از نقاط جهان می‌باشد که از دیر باز مورد توجه بوده است. سرما از طریق تغییر در فعالیت ماکرومولکول‌ها، کاهش پتانسیل اسمزی در محیط سلولی (۲۱) و تغییر قابل توجه در دیگر بخش‌های سلول به سلول‌ها آسیب می‌رساند (۱۱). علائم ظاهری سرمازدگی بسته به گونه، سن و طول دوره قرار گرفتن در معرض دمای پایین متفاوت است. این علائم در بافت‌های حساس به سرما از جمله برگ شامل تخریب جریان پروتوپلاسمی^۲، کاهش تنفس،

۱، ۲، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادان، دانشیار و

دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران

(Email: l.aslani@ag.iut.ac.ir)

*- نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/jhorts4.v32i3.66614

2- Impaired protoplasmic streaming

تحمل به سرما در مرحله دانه‌های خیار بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های متفاوت اسپرمیدین (صفر (شاهد)، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) بر افزایش تحمل به سرمای خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌های در انکوباتور دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به صورت دو آزمایش مجزا هر یک در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد.

آزمایش اول

تعداد ۱۶ عدد ظرف پلاستیکی درب‌دار با ابعاد ۱۷×۱۲×۶ سانتی‌متر انتخاب شد. داخل هر یک از آن‌ها ۵۰ عدد بذر خیار رقم 'رشید' بر روی دو لایه کاغذ صافی قرار داده و سپس به هر ظرف ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. ظروف به مدت ۷ روز درون انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا بذور جوانه‌زده و گیاهچه‌ها بزرگ شد. سپس به هر ظرف ۱۵ میلی‌لیتر از محلول اسپرمیدین بر اساس تیمار مربوط اضافه شد و ظروف داخل انکوباتور با دمای ۹ درجه سلسیوس قرار داده شد، به طوری که پس از ۷ روز دریافت دمای ۲۰ درجه سلسیوس جهت رشد اولیه، گیاهچه‌ها ۸ روز باقیمانده را در دمای ۹ درجه سلسیوس قرار گرفتند. تیمارها تا روز دوم جوانه‌زنی در شرایط تاریکی قرار داشتند و از روز دوم تا پایان آزمایش روزانه ۸ ساعت نور دریافت کردند.

آزمایش دوم

کلیه مراحل این آزمایش مانند آزمایش اول انجام شد با این تفاوت که پس از قرار دادن بذور به مدت ۷ روز در دمای ۲۰ درجه سلسیوس، گیاهچه‌ها ۸ روز باقی مانده را در دمای ۶ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

ویژگی‌های اندازه‌گیری شده

طول ساقه و ریشه

در انتهای آزمایش، طول ساقه‌ها از ناحیه طوقه تا محل خروج برگ‌های لپه‌ای و طول ریشه‌ها از ناحیه طوقه تا انتهای ریشه با استفاده از خط کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد.

وزن تر ساقه و ریشه

ساقه‌ها و ریشه‌های جدا شده با استفاده از حوله کاغذی خشک و وزن تر آن‌ها به طور جداگانه با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد.

است. از روش‌های مدرن می‌توان به استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسپرمیدین اشاره کرد. اسپرمیدین از گروه پلی‌آمین‌ها و یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است که در سال‌های اخیر کاربرد آن در مقابله با سرمازدگی مورد مطالعه قرار گرفته است.

اثر تیمار سرما بر میزان پلی‌آمین‌های برگ ارقام حساس به سرما و مقاوم به سرما متفاوت گزارش شده است. در طول دوره اعمال تنش سرما میزان اسپرمیدین در برگ‌های ارقام خیار مقاوم به سرما به میزان چشم‌گیری افزایش و در رقم حساس بدون تغییر بوده است. افزایش محتوای پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در ارقام مقاوم به سرما در طول دوره اعمال تنش سرما احتمالاً به دلیل افزایش فعالیت اورتین دیکربوکسیلاز (ODC) بوده است (۵ و ۱۹). استفاده خارجی از اسپرمیدین، سطح کربوهیدرات‌ها را در دانه‌های برنج را تعدیل کرد و باعث تحریک القا سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و متابولیسم هورمون‌های درون‌زا در گیاه و افزایش مقاومت به تنش سرما در دانه‌های برنج شد (۲۲). نایار (۱۷) گزارش کرد که میزان پلی‌آمین‌ها در گیاهان نخود قرار گرفته در معرض دمای پایین (۱۵-۱۲ درجه سلسیوس و ۶-۴ درجه سلسیوس به ترتیب مربوط به متوسط حداکثر و حداقل دمای مزرعه) شش تا نه برابر افزایش یافت. افزودن اسپرمیدین به محیط رشد خیار پیش از اعمال تیمار سرما، سبب شد که میزان اسپرمیدین در همه اندام‌های آن را افزایش دهد و موجب تحمل بیشتر به سرما شود (۷). هنگامی که دانه‌های برنج پرورش یافته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند، در روز اول پس از اعمال تیمار، مقدار بالایی از mRNA OsSPDS2 در ریشه‌ها مشاهده شد و مقدار آن به طور پیوسته تا روز ۱۰ افزایش یافت. زمانی که دانه‌ها مجدداً به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند، میزان mRNA OsSPDS2 به سرعت کاهش یافت. در مقابل تغییر قابل توجهی در سطوح OsSPDS2 mRNA در شاخساره در طول دوره اعمال تیمار سرما مشاهده نشد (۸).

گزارش شده که پوترسین در ابتدای اعمال تیمار سرما در دانه‌های صنوبر پرورش یافته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تجمع یافت، در حالی که تجمع اسپرمیدین و اسپرمین به ترتیب پس از ۴ و ۷ روز پس از اعمال تیمار سرما رخ داد (۱۸). این امکان وجود دارد که تغییرات پوترسین بازتاب‌کننده شرایط رشدی نامطلوب باشد، در حالی که اسپرمیدین و اسپرمین احتمالاً در سمیت‌زدایی رادیکال‌های آزاد و یا پایداری ماکرومولکول‌ها و غشاهای شرکت دارد (۱۰). با این که میزان اسپرمیدین و اسپرمین پایین‌تر است و کندتر از تنش تأثیر می‌گیرد، به نظر می‌رسد علائم‌های بهتری برای ارزیابی میزان تنش وارد شده به گیاه است (۶).

با توجه به اثرات گزارش شده پلی‌آمین‌ها در کاهش خسارت سرمازدگی، هدف از این پژوهش مطالعه تأثیر اسپرمیدین بر افزایش

تجزیه و تحلیل آماری

مقایسه اثر دماهای مورد بررسی در دو آزمایش فوق و غلظت‌های متفاوت هورمون بر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده با اجرای طرح کرت‌های خرد شده (۲ دمای متفاوت انکوباتور به صورت ۲ کورت اصلی و ۴ غلظت اسپرمیدین به صورت ۴ کورت فرعی) انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها و محاسبه همبستگی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون کم‌ترین اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد.

نتایج

آزمایش اول

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین در دمای ۹ درجه سلسیوس بر ویژگی‌های وزن تر و خشک ریشه دانه‌ها خیار در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد، ولی بر ویژگی‌های طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، نشت یونی ساقه و نشت یونی ریشه دانه‌ها اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

وزن تر ریشه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما تیمار ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه شد (جدول ۲)، به طوری که این کاهش برابر با ۲۸/۹۳ درصد نسبت به شاهد بود.

وزن خشک ریشه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما تیمار ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین با اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد (۲۲/۲۲ درصد) وزن خشک ریشه را کاهش داد، در حالی که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین نداشت (جدول ۲).

آزمایش دوم

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین در دمای ۶ درجه سلسیوس بر ویژگی‌های وزن تر ریشه، نشت یونی ریشه و پرولین ساقه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد، ولی بر ویژگی‌های طول ساقه و ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه و ریشه، نشت یونی ساقه و پرولین ریشه اثر معنی‌داری نداشت

نشت یونی

اندازه‌گیری نشت یونی بر اساس روش لاتنس (۳) انجام شد. بدین ترتیب که نمونه ۱ گرمی از بافت ساقه یا ریشه، سه بار توسط آب دیونیزه شسته شد. سپس نمونه‌ها درون لوله آزمایش قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به هر یک از آن‌ها اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۰ درجه سلسیوس) و بر روی شیکر قرار گرفتند. میزان هدایت الکتریکی محلول (Lt) توسط ای-سی متر (ساخت کشور لهستان مدل: CC-501) اندازه‌گیری شد. برای کشتن بافت، لوله‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و هم‌زمان با هم دما شدن نمونه‌ها با دمای اتاق، مجدداً هدایت الکتریکی آن‌ها اندازه‌گیری شد (Lo). در نهایت درصد نشت یونی از رابطه زیر به دست آمد:

$$[Lo / Lt] \times 100 = \text{درصد نشت یون}$$

پرولین

میزان پرولین آزاد نمونه‌های برگ به روش بیتز و همکاران (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شد. در این روش معرف ناین‌هیدرین^۱ با حل کردن ۱/۲۵ گرم ناین‌هیدرین در ۳۰ میلی‌لیتر استیک اسید خالص و ۲۰ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۶ مولار تهیه شد. ۱۰۰ میلی‌گرم از وزن تازه بافت در هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ همگن شد. سپس مخلوط حاصل به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره به دست آمده به همراه ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط و سپس به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. لوله‌های آزمایش بلافاصله به مدت ۱۰-۵ دقیقه در ظرف محتوی یخ قرار گرفتند. به نمونه‌ها ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شد و به مدت ۱ دقیقه ورتکس شدند. فاز حاوی اسید آمینه پرولین (فاز قرمز رنگ رویی) جدا و درون کووت منتقل و جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (مدل: UV-160A-SHIMADZN) قرائت شد. از غلظت‌های مختلف پرولین برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. مقدار پرولین موجود در نمونه‌ها بر حسب میکرومول در گرم وزن تر نمونه با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\mu\text{mol proline/grFw} = [(\mu\text{g proline/ml} \times \text{ml toluene} / 115.5) / (\text{g samples} / 5)]$$

(جدول ۳).

غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین باعث کاهش میزان نشت یونی ریشه نسبت به شاهد (۳۱/۲۸ درصد) شد، در حالی که اختلاف معنی داری با غلظت ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین نداشت (جدول ۴).

وزن تر ریشه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی مولار اسپرمیدین و شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. اما غلظت ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین با اختلاف معنی داری با شاهد (۱۶/۷۳ درصد) وزن تر ریشه را افزایش داد (جدول ۴).

پرولین ساقه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بین تیمارهای ۰/۱ و ۱ میلی مولار اسپرمیدین و شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. اما تیمار ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین با اختلاف معنی داری نسبت به شاهد (۹۳/۴۳ درصد) پرولین ساقه را افزایش داد (جدول ۴).

نشت یونی ریشه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بین غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین و شاهد اختلاف معنی داری وجود ندارد. اما

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات اندازه‌گیری شده مربوط به دانه‌ها خیار رقم 'رشید' در دمای ۹ درجه سلسیوس در مرحله دانه‌ها

Table 1- ANOVA for the effect of different concentrations of spermidine on characteristics of cucumbers seedling cv. 'Rashid' in 9 °C

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean square							
		طول ساقه Shoot length	طول ریشه Root length	وزن تر ساقه Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ساقه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot	نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root
اسپرمیدین Spermidine	3	6.6 ^{ns}	46.49 ^{ns}	0.33 ^{ns}	0.712 ^{**}	0.001 ^s	0.00085 [*]	114.2 ^{ns}	48.8 ^{ns}
خطا Error	12	12.18	44.14	0.23	0.115	0.001 ⁶	0.00019	89.1	77.8
ضریب تغییرات CV (%)		15.93	9.25	8.64	11.95	6.5	8.66	12.8	11.1

^{ns}: عدم وجود اختلاف معنی دار، * : اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** : اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد
^{ns}: none significant, * : significant at 5% and ** : significant at 1% of probability level.

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات اندازه‌گیری شده مربوط به دانه‌ها خیار رقم 'رشید' در دمای ۹ درجه سلسیوس در مرحله دانه‌ها

Table 2- Effect of different concentrations of spermidine on characteristics of cucumbers seedling cv. 'Rashid' in 9 °C

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	طول ساقه Shoot length (mm)	طول ریشه Root length (mm)	وزن تر ساقه Shoot fresh weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot (%)	نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root (%)
۰ (شاهد) 0 (Control)	21.37 a	73.36 a	5.79 a	3.18 a	0.64 a	0.18 a	70.39 a	76.83 a
0.1	20.34 a	75.86 a	5.42 a	3.12 a	0.60 a	0.17 a	72.16 a	76.59 a
0.5	23.03 a	69.47 a	5.88 a	2.83 a	0.63 a	0.16 ab	69.84 a	80.05 a
1	22.88 a	68.55 a	5.27 a	2.26 b	0.60 a	0.14 b	81.30 a	84.06 a

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

Mean values are followed by the same letters in each column are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test.

جدول ۳- تجزیه واریانس داده‌های اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات اندازه‌گیری شده مربوط به دانه‌های خیار رقم 'رشید' در دمای ۶ درجه سلسیوس در مرحله دانه‌های
Table 3- ANOVA for the effect of different concentrations of spermidine on characteristics of cucumbers seedling cv. 'Rashid' in 6 °C

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean Square											
		طول ساقه Shoot length (mm)	طول ریشه Root length (mm)	وزن تر ساقه Shoot fresh weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	ساقه ریشه Shoot dry weight (g)	ریشه ریشه Root dry weight (g)	نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot (%)	نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root (%)	پرولین ساقه Proline concentration of shoot (µmol g ⁻¹ F.W.)	پرولین ریشه Proline concentration of root (µmol g ⁻¹ F.W.)
اسپرمیدین Spermidine	3	4.94 ^{ns}	362.42 ^{ns}	0.878 ^{ns}	0.712 ^{**}	0.0017 ^{ns}	0.778 ^{ns}	93.5 ^{ns}	517.2 [*]	3.43 ^{**}	0.095 ^{ns}		
خطا Error	12	1.43	119	0.64	0.115	0.0018	0.284	86.5	142.7	0.166	0.038		
ضریب تغییرات CV (%)		5.75	14.8	11.59	11.95	7.42	9.66	12.77	16.8	16.52	20.96		

^{ns}: عدم وجود اختلاف معنی دار؛ * : اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ** : اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۴- اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات اندازه‌گیری شده مربوط به دانه‌های خیار رقم 'رشید' در دمای ۶ درجه سلسیوس در مرحله دانه‌های
Table 4- Effect of different concentrations of spermidine on characteristics of cucumbers seedling cv. 'Rashid' in 6 °C

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	طول ساقه Shoot length (mm)	طول ریشه Root length (mm)	وزن تر ساقه Shoot fresh weight (g)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	وزن خشک ساقه ریشه Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه ساقه Root dry weight (g)	نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root (%)	نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot (%)	پرولین ساقه Proline concentration of shoot (µmol g ⁻¹ F.W.)	پرولین ریشه Proline concentration of root (µmol g ⁻¹ F.W.)
0 (کنترل) (شاهد)	19.60 a	62.92 a	7.36 a	5.08 b	0.60 a	0.13 a	74.80 a	79.47 a	1.98 b	0.73 a		
0.1	21.97 a	80.44 a	7.23 a	5.87 ab	0.57 a	0.20 a	77.57 a	77.80 a	2.22 b	1.10 a		
0.5	21.56 a	82.90 a	6.67 a	5.93 a	0.55 a	0.22 a	72.63 a	72.24 ab	3.83 a	0.94 a		
1	20.24 a	68.62 a	6.36 a	5.20 ab	0.58 a	0.16 a	66.21 a	54.61 b	1.83 b	0.94 a		

در هر ستون میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

Mean values are followed by the same letters in each column are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر دما و غلظت‌های مختلف اسپرمیدین بر صفات اندازه‌گیری شده مربوط به دانه‌های خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌های
Table 5- ANOVA for the effect of temperature and different concentrations of spermidine on characteristics of cucumber seedling cv. 'Rashid'

منابع تغییرات Sources of changes	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean Square									
		طول ساقه Shoot length	طول ریشه Root length	وزن تر ساقه Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک ساقه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	نسبت ساقه یونی Electrolyte leakage of shoot	نسبت ریشه یونی Electrolyte leakage of root	خطای دما Error 1	خطای ۲ Error 2
دما Temperature	1	20780.97878 ^a	21478.35380 ^a	13.74190313 ^{**}	57.13805000 ^{**}	0.01445000 ^a	0.00195313 ⁿ	3.062813 ^{ns}	558.197578 ^a		
خطای دما Error of temperature	3	5.94179 ^{ns}	29.09351 ^{ns}	0.28538646 ^{ns}	0.11897500 ^{ns}	0.00064167 ^{ns}	0.00125312 ⁿ	38.104687 ^{ns}	210.485736 ⁿ		
اسپرمیدین Spermidine	3	29.62114 ^{ns}	185.18372 ^a	0.78990313 ^{ns}	0.92702083 ^a	0.00190833 ^{ns}	0.00283646 ^a	19.429738 ^{ns}	127.832645 ⁿ		
دما × اسپرمیدین Temperature × spermidine	3	21.82472 ^{ns}	183.85277 ^a	0.42146979 ^{ns}	0.56457500 ^a	0.00127500 ^{ns}	0.00376146 ^a	188.330004 ⁿ	438.174361 ^a		
خطای ۲ Error 2	18	28.76197	75.37460	0.44027812	0.20363681	0.00170000	0.00063785	109.763346	104.884242		
ضریب تغییرات CV (%)		11.58	18.15	10.62	10.79	6.90	14.99	14.32	13.62		

^{ns}: عدم وجود اختلاف معنی‌دار؛ ^a: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ^{**}: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد
^{ns}: none significant, ^a: significant at 5%, ^{**}: significant at 1%.

شده نشان داد که اثر دماهای متفاوت در مرحله دانه‌های بر ویژگی‌های طول ریشه، طول ساقه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک

مقایسه دماها

تجزیه واریانس داده‌های دو آزمایش به صورت کرت‌های خرد

میلی مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه شد و با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۸). مقایسه میانگین برهمکنش دما و غلظت اسپرمیدین نشان داد که بر خلاف این که در مجموع تیمارهای ۰/۱ و ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه شد، به دلیل وجود برهمکنش معنی‌دار بین دما و غلظت اسپرمیدین این افزایش صرفاً در دمای ۶ درجه سلسیوس مشاهده شد و این دو غلظت در دمای ۹ درجه سلسیوس اثر افزایشی قابل مشاهده‌ای نداشت (جدول ۸).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به وزن خشک ساقه در دماهای مختلف نشان داد که با کاهش دما از ۹ درجه به ۶ درجه سلسیوس وزن خشک ساقه به میزان معنی‌داری (۶/۹۵ درصد) کاهش یافت (جدول ۶).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به نشت یونی ریشه در دماهای مختلف نشان داد که به طور کلی کاهش دما از ۹ به ۶ درجه سلسیوس باعث کاهش نشت یونی ریشه (۱۰/۵۲ درصد) شد (جدول ۱۰). مقایسه میانگین برهمکنش بین دما و غلظت اسپرمیدین نشان داد، در حالی که در مجموع تیمارهای متفاوت اسپرمیدین اثر معنی‌داری بر نشت یونی ریشه نداشت اما به دلیل برهمکنش معنی‌دار بین هورمون و دما، غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در دمای ۶ درجه سلسیوس سبب کاهش نشت یونی ریشه شد (جدول ۱۰).

همبستگی بین ویژگی‌ها

همبستگی بین ویژگی‌های مورد بررسی در گیاه خیار رقم 'رشید' نشان داد که ویژگی طول ریشه با ویژگی‌های وزن تر ساقه و وزن تر ریشه و ویژگی وزن تر ریشه با ویژگی وزن تر ساقه همبستگی مثبت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد دارد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن خشک ساقه با طول ساقه و نشت یونی ساقه با نشت یونی ریشه در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد. همبستگی منفی معنی‌داری بین طول ساقه با ویژگی‌های وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و طول ریشه در سطح احتمال ۱٪ و بین وزن خشک ساقه با وزن تر ریشه در سطح احتمال ۵٪ مشاهده شد (جدول ۱۱).

ساقه در سطح احتمال ۱ درصد و بر نشت یونی ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد، ولی بر ویژگی‌های وزن خشک ریشه و نشت یونی ریشه اثر معنی‌داری نداشت. همچنین اثر متقابل دما و غلظت‌های متفاوت اسپرمیدین بر ویژگی‌های طول ریشه، وزن تر ریشه و نشت یونی ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین دماهای متفاوت اختلاف معنی‌داری در ویژگی طول ساقه وجود داد. به طوری که با کاهش دما از ۹ به ۶ درجه سلسیوس طول ساقه (۷۰/۹۹ درصد) کاهش یافت (جدول ۶).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به طول ریشه در دماهای مختلف نشان داد که به طور کلی با کاهش دما از ۹ به ۶ درجه سلسیوس طول ریشه به طور معنی‌داری افزایش (۷۰/۲۹ درصد) یافت (جدول ۷). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به غلظت‌های متفاوت اسپرمیدین در مجموع نشان داد که تیمار ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه (۲۰/۴۱ درصد) شد و با غلظت‌های ۰/۱ و ۱ میلی مولار تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۷). مقایسه میانگین برهمکنش دما و غلظت اسپرمیدین نشان داد که بر خلاف این که در مجموع تیمارهای ۰/۵ میلی مولار اسپرمیدین باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه شد، به دلیل وجود برهمکنش معنی‌دار بین دما و غلظت اسپرمیدین این افزایش صرفاً در دمای ۶ درجه سلسیوس مشاهده شد و در دمای ۹ درجه سلسیوس تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (جدول ۷).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به وزن تر ساقه در دماهای مختلف نشان داد که با کاهش دما از ۹ درجه به ۶ درجه سلسیوس وزن تر ساقه به میزان معنی‌داری (۱۸/۹۸ درصد) افزایش یافت (جدول ۶).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به وزن تر ریشه در دماهای مختلف نشان داد که به طور کلی با کاهش دما از ۹ به ۶ درجه سلسیوس وزن تر ریشه (۴۸/۳۷ درصد) به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۸). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به غلظت‌های متفاوت اسپرمیدین در مجموع نشان داد که غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵

جدول ۶- اثر دما بر طول ساقه، وزن تر ساقه و وزن خشک ساقه خیار رقم 'رشید' در مرحله دانتهالی

Table 6- Effect of temperature on stem length, stem fresh and dry weight of cucumber seedling cv. 'Rashid' in seeding stage

تیمار Treatment	طول ساقه Shoot length (mm)	وزن تر ساقه Shoot fresh weight (g)	وزن خشک ساقه Shoot dry weight (g)
دما	9	71.81 a	0.619 a
Temperature (°C)	6	20.84 b	0.576 b

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند.

Mean values are followed by the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test.

جدول ۷- برهمکنش غلظت‌های مختلف اسپرمیدین × دما بر طول ریشه (میلی‌متر) خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌الی

Table 7- Interaction effect between different concentrations of spermidine × temperature on root length (mm) of cucumber seedling cv. 'Rashid'

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	دما در مرحله دانه‌الی Temperature in seedling stage (°C)		میانگین Mean
	9	6	
۰ (شاهد) 0 (Control)	21.37 d	62.92 c	42.15 B
0.1	20.34 d	80.44 ab	50.39 AB
0.5	23.02 d	82.90 a	52.96 A
1	22.88 d	68.62 bc	45.75 AB
میانگین Mean	21.90 B	73.72 A	

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور (اثرات اصلی) است.

Mean values are followed by the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test. Upper and lower-case letters are used to compare main and interaction effects, respectively.

جدول ۸- برهمکنش غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و دما بر وزن تر ریشه (گرم) خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌الی

Table 8- Interaction effect between different concentrations of spermidine × temperature on root fresh weight (g) of cucumber seedling cv. 'Rashid'

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	دما در مرحله دانه‌الی Temperature in seedling stage (°C)		میانگین Mean
	9	6	
۰ (شاهد) 0 (Control)	3.18 c	5.08 b	4.13 AB
0.1	3.12 c	5.86 a	4.49 A
0.5	2.84 cd	5.93 a	4.38 A
1	2.25 d	5.20 b	3.72 B
میانگین Mean	2.85 B	5.52 A	

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور (اثرات اصلی) است.

Mean values are followed by the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test. Upper and lower-case letters are used to compare main and interaction effects, respectively.

جدول ۹- برهمکنش غلظت‌های مختلف اسپرمیدین × دما بر وزن خشک ریشه (گرم) خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌الی

Table 9- Interaction effect between different concentrations of spermidine × temperature on root dry weight (g) of cucumber seedling cv. 'Rashid'

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	دما در مرحله دانه‌الی Temperature in seedling stage (°C)		میانگین Mean
	9	6	
۰ (شاهد) 0 (Control)	0.178 bc	0.135 d	0.156 B
0.1	0.165 bcd	0.198 ab	0.181 A
0.5	0.185 cd	0.218 a	0.188 A
1	0.142 cd	0.155 cd	0.149 B
میانگین Mean	0.161 A	0.176 A	

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور (اثرات اصلی) است.

Mean values are followed by the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test. Upper and lower-case letters are used to compare main and interaction effects, respectively.

جدول ۱۰- برهمکنش غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و دما بر نشت یونی ریشه (درصد) خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌الی

Table 10- Interaction effect between different concentrations of spermidine and temperature on electrolyte leakage of root (%) of cucumber seedling cv. 'Rashid'

غلظت اسپرمیدین Spermidin concentration (mM)	دما در مرحله دانه‌الی Temperature in seedling stage (°C)		میانگین Mean
	9	6	
۰ (شاهد) 0 (Control)	76.83 a	79.47 a	78.15 A
0.1	76.59 a	77.80 a	77.20 A
0.5	80.04 a	72.24 a	76.14 A
1	84.06 a	54.62 b	69.34 A
میانگین Mean	79.38 A	71.03 B	

میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌دار ندارند. حروف کوچک برای مقایسه اثر متقابل و حروف بزرگ برای مقایسه میانگین‌های هر فاکتور (اثرات اصلی) است.

Mean values are followed by the same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$ by the LSD test. Upper and lower-case letters are used to compare main and interaction effects, respectively.

جدول ۱۱- ضرایب همبستگی بین ویژگی‌های اندازه‌گیری شده در خیار رقم 'رشید' در مرحله دانه‌الی

Table 11- Correlation coefficients between measured characteristics of cucumber cv. 'Rashid' in seedling stage

	نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot	نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root	وزن خشک ساقه Stem dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ساقه Stem fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	طول ریشه Root length	طول ساقه Shoot length
طول ساقه Shoot length	0.05	0.48	0.76*	-0.25	-0.89**	-0.94**	-0.97**	1
طول ریشه Root length	-0.01	-0.45	-0.85**	0.48	0.86**	0.98**	1	
وزن تر ریشه Root fresh weight	-0.13	-0.48	-0.79*	0.52	0.88**	1		
وزن تر ساقه Stem fresh weight	-0.02	-0.17	-0.54	0.25	1			
وزن خشک ریشه Root dry weight	-0.06	-0.12	-0.54	1				
وزن خشک ساقه Stem dry weight	-0.21	0.33	1					
نشت یونی ریشه Electrolyte leakage of root	0.72*	1						
نشت یونی ساقه Electrolyte leakage of shoot	1							

** و * به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد را نشان می‌دهد.

** and * are not significant and significant at 1 and 5% probability level, respectively.

بحث

معنی‌دار وزن تر ریشه شد (جدول ۲). غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین با اختلاف معنی‌داری با شاهد وزن تر ریشه را در دمای ۶ درجه سلسیوس افزایش داد (جدول ۴). لی (۱۲) گزارش کرد که تیمار ریشه‌های برنج با غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار اسپرمیدین قادر است رشد کل گیاه را به دلیل افزایش رشد ریشه تسهیل کند که با نتایج

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بین غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین و شاهد در دمای ۹ درجه سلسیوس اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و تیمار ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث کاهش

پژوهش حاضر همسو است.

تنش سرما منجر به ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بافت گیاه می‌شود. در این آزمایش، ویژگی‌های رویشی در اثر تیمار با اسپرمیدین بهبود یافت، که ممکن است به دلیل درگیری اسپرمیدین در تنظیم رشد گیاه در شرایط تنش باشد. لیو و همکاران (۱۳) گزارش کردند که پلی آمین‌های تیمار شده به صورت خارجی روی دانه‌های ذرت به سرعت وارد کلروپلاست شده و نقش حمایت از دستگاه فتوسنتزی را در مقابل اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی بازی می‌کند. محمدشتوی و همکاران (۱۶) نیز گزارش کردند که اسپرمیدین از طریق فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی قادر است غشای کلروپلاست را از آسیب تنش سرما حمایت کند. احتمالاً حفظ کلروپلاست از آسیب تنش سرما در اثر تیمار با اسپرمیدین، منجر به بهبود فتوسنتز و در نتیجه بهبود رشد دانه‌ها شده است.

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به وزن خشک ریشه نشان داد که تیمار ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین در دمای ۹ درجه سلسیوس با اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد وزن خشک ریشه را کاهش داد، در حالی که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین نداشت (جدول ۲). که علت این کاهش وزن تر ریشه بود.

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به نشت یونی ریشه نشان داد غلظت ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث کاهش میزان نشت یونی ریشه در دمای ۶ درجه سلسیوس نسبت به شاهد شد و اختلاف معنی‌داری با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین نداشت (جدول ۴). لو و همکاران (۱۴) گزارش کردند که غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسپرمیدین نشت یونی دانه‌های خیار تحت تنش سرما را به میزان معنی‌داری نسبت به شاهد و غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسپرمیدین کاهش داد، که با

نتایج پژوهش حاضر همسو است. در حالی که نایار و همکاران (۱۷) گزارش کردند که غلظت ۰/۱ میلی‌مولار اسپرمیدین بیشترین اثر را در تعدیل سرمازدگی دانه‌های نخود داشت و غلظت‌های بالاتر به نسبت اثر کمتری داشتند.

مشخص شده است که درجه غیر اشیاعی لیپیدهای غشا سلول‌های گیاهان مقاوم شده به سرما، در مقایسه با گیاهان مقاوم نشده افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد و این افزایش با کاهش نشت یونی سلول همراه است (۲۰). همچنین نتایج تحقیقات نشان داده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر تیمار با اسپرمیدین افزایش می‌یابد و افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به بهبود پایداری غشای سلولی از طریق کاهش نشت یونی می‌شود (۱۶).

مقایسه میانگین داده‌های مربوط به غلظت پرولین در دمای ۶ درجه سلسیوس نشان داد که غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسپرمیدین با اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد و سایر غلظت‌ها، پرولین ساقه را افزایش داد (جدول ۴). دیاو و همکاران (۵) گزارش کردند که تیمار دانه‌های گوجه فرنگی با اسپرمیدین ۱ میلی‌مولار میزان نشت یونی را کاهش داد، همچنین نتایج به دست آمده با نتایج گزارش شده توسط لو و همکاران (۱۴) بر روی دانه‌های خیار تحت تنش سرما همسو است. بنابراین مقاومت به سرما در گیاهان در اثر استفاده از اسپرمیدین با افزایش ترکیبات سازگار کننده محلول به ویژه پرولین همراه است.

پرولین به عنوان مخزن ذخیره نیتروژن و یا به صورت ماده محلول کاهش دهنده پتانسیل اسمزی عمل کرده و گیاه را در تحمل تنش یاری می‌کند (۱). این اسید آمینه به عنوان یک محلول آبکی پروتئین سازگار و یک عامل کلاته کننده رادیکال هیدروکسیل ایفای نقش می‌کند (۴).

منابع

- 1- Akhondi M., Safarnejad A., and Lahouti M. 2006. Effect of drought stress on proline accumulation and mineral nutrients changes in alfalfa (*Medicago sativa* L.). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 10: 165-175. (In Persian with English abstract)
- 2- Bates L.S., Waldren R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
- 3- Bouchereau A., Aziz A., Larher F., and Martin-Tanguy J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development, Plant Science, 140: 103-125.
- 4- Claussen W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plant. Plant Science, 168: 241-248.
- 5- Diao Q., Song Y., and Qi H. 2015. Exogenous spermidine enhances chilling tolerance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings via involvement in polyamines metabolism and physiological parameter levels. Acta Physiology Plant, 37: 230-245.
- 6- Groppa M.D., and Benavides M.P. 2008. Polyamines and abiotic stress recent advances. Amino Acids, 34: 35-45.
- 7- He L., Nada K., and Tachibana S. 2002. Effects of Spermidine pretreatment through the roots on growth and photosynthesis of chilled cucumber plants (*Cucumis sativus* L.). Journal of Japensis Society for Horticultural Science, 71: 490-498.
- 8- Imai R., Ali A., Pramanik M., Nakaminami K., Sentoku N., and Kato H. 2004. A distinctive class of spermidine synthase is involved in chilling response in rice. Journal of Plant Physiology, 161: 883-886.
- 9- Kafi M., Zand A., Sharifi H., Kamkar B., and Goldani M. 2000. Plant Physiology. Mashhad University Press,

Mashhad. (In Persian)

- 10- Larher F.R., Aziz A., Gibon Y., Tritel-Aziz P., Sulpice R., and Bouchereau A. 2003. An assessment of the physiological properties of the so-called compatible solutes using *in vitro* experiments with leaf discs. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 657-666.
- 11- Lee S.H., Singh A.P., Chung G.C., Kim Y.S., and Kong I.B. 2002. Chilling root temperature causes rapid ultrastructural changes in cortical cells of cucumber (*Cucumis sativus* L.) root tips. *Journal of Experimental Botany*, 53: 2225-2237.
- 12- Lee T.M. 1997. Polyamine regulation of growth and chilling tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) roots cultured *in vitro*. *Plant Science*, 122: 111-117.
- 13- Liu J., Jiang M.Y., Zhou Y.F., and Liu Y.L. 2005. Production of polyamines is enhanced by endogenous abscisic acid in maize seedlings subjected to salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47: 1326-1334.
- 14- Lu-lu Y., Xiu-hua Y., Kun L., Dao-jie H., Ying-hua W., Zhen-hang X., and Xian-chang Y. 2007. Effect of spermidine on chilling tolerance in cucumber seedlings. *Acta Horticulture*, 34: 1309-1312.
- 15- Lynch D.V. 1990. Chilling injury in plants: the relevance of membrane lipids. p. 17-34. In F. Katterman. (Ed.). *Environmental Injury to Plants*. Academic Press, New York.
- 16- Mohamed Sheteiwy M., Shen H., Xu J., Guan Y., Song W., and Hu J. 2017. Seed polyamines metabolism induced by seed priming with spermidine and 5-aminolevulinic acid for chilling tolerance improvement in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Environmental and Experimental Botany*; 137: 58-72.
- 17- Nayyar H. 2005. Putrescine increases floral retention, pod set and seed yield in cold stressed chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 191: 340-345.
- 18- Renaut J., Hoffmann L., and Hausman J.F. 2005. Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets. *Physiologia Plantarum*, 125: 82-94.
- 19- Shen W., Nada K., and Tachibana S. 2000. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. *Physiologia Plantarum*, 124: 431-439.
- 20- Wilson J.M. 1972. The mechanism of chill and drought hardening of *Phaseolus vulgaris* leaves. *New Phytologist*, 76: 257-270.
- 21- Xiong L., Schumaker K.S., and Zhu J.K. 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell*, 14: 165-183.
- 22- Zeng Y., Zahng Y., Xiang J., Wu H., Chen H.Z., Zhang Y., and Zhu D. 2016. Effects of chilling tolerance induced by spermidine pretreatment on antioxidative activity, endogenous hormones and ultrastructure of Indica-Japonica hybrid rice seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, 15: 295-308.



Effect of Spermidine on Cold Tolerance of Cucumber Plants in Seedling Stage

M. Solaimani¹ -M. Mobli² -A.A. Ramin³ -B. Baninasab⁴ -L. Aslani^{5*}

Received: 04-09-2017

Accepted: 29-08-2018

Introduction: Cold stress is one of the limiting factors for plant growth and yield production in most parts of the world. Cold stress damages cells through changes in the activity of macromolecules, decreasing osmotic potential, and significant changes in other parts of the cell. Cold stress in young seedlings generally reduces leaf development, induces wilting and chlorosis and in more severe cases, browning and necrosis become visible. Cucumber is a sensitive plant to low temperature and its cultivation, except the southern and central parts of Iran, occurs in areas where there is a possibility of cold stress in the early part of the growing season due to the low temperature. The different ways for controlling cold stress had been used; one of them is using plant growth regulators such as spermidine. Spermidine is one of the polyamines that has been used in recent years to control cold stress. The effect of cold treatment on the amount of indigenous leaf polyamines has been reported differently between cold-resistant and sensitive cucumber cultivars. During the cold stress, the amount of indigenous spermidine in leaves of cold-resistant cucumber cultivars and sensitive cultivars increased significantly and remained unchanged, respectively. The increase in the content of putrescent, spermidine and spermine in cold resistant cultivars during cold stress was probably due to the increased activity of ornithine decarboxylase (ODC). The amount of polyamines in chickpea plants that were exposed to low temperatures (12-15°C and 4-6°C are related to mean maximum and minimum temperature of the farm, respectively) increased six to nine times. Adding spermidine to the cucumber growing medium before applying cold treatment increased spermidine amount in all organs and increased cold tolerance.

Materials and Methods: To study the effect of spermidine on cold tolerance of cucumber, seedling of 'Rashid' cultivar, an experiment was conducted based on completely randomized design with four replications and four treatments consist of different concentrations of spermidine (0, 0.1, 0.5 and 1 mM) in incubator of College of Agriculture, Isfahan University of Technology. So seeds were exposed to 20°C for 7 days in a humid condition and then were treated with 0, 0.1, 0.5 or 1 mM spermidine, the remaining 8 days they were kept at 6 or 9°C. The treatments performed in dark conditions until the second day of germination and received 8 hours of light daily from the third day until the end of the experiment. At the end of each experiment, shoot and root length were measured by use of the ruler, shoot and root fresh and dry weight were measured by use of digital scale, shoot and root ion leakage were measured based on Lates method (3) and shoot and root proline concentration were measured based on Bites et al., (2) method. To compare the effects of temperature and its interactions with spermidine, data of two experiments analyzed as split plot experiment (Different temperatures and spermidine concentrations were as main and subplots, respectively).

Results and Discussion: The findings of this study showed that application of the highest concentration of spermidine (1 mM) in 9°C had the inverse effect on cold tolerance, so it decreased the fresh and dry weight of root. In 6°C, 0.5 mM spermidine was more effective than other concentrations, and it increased root fresh weight, shoot proline concentration and decreased root ion leakage. It has been shown that the non-saturated lipid profile of membranes of cold-resistant plants in comparison of non-resistant plants is significantly increased, and this increase is associated with a decrease in cell ion leakage. Proline works as a nitrogen source and soluble substance that helps the plant to combat again stress conditions. The split-plot analysis of data showed that 0.5 and 0.1 mM spermidine treatments increased root length, root fresh and dry weight significantly. The study of spermidine concentrations × temperatures showed that the increasing effect of 0.5 mM spermidine on root length, root fresh and dry weight was only visible in 6°C.

Keywords: Chilling injury, Polyamine, Seedling

1, 2, 3, 4 and 5- Former M.Sc. Student, Professors, Associate Professor and Ph.D. Student, Isfahan University of Technology (IUT), Isfahan, Iran, Respectively
(* - Corresponding Author Email: l.aslani@ag.iut.ac.ir)