اثرات کاربرد متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه فلفل

زهرا نوح پیشه* و خسرو منوچهری کلانتری

کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۲۷

چکیده

تنش شوری یکی از عوامل محیطی محدود کننده رشد و نمو گیاهان است و بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان اثر منفی دارد. بنابراین، ترکیبات زیادی در زمینه کاهش اثرات زیان آور این تنش مورد استفاده قرار گرفته اند. این پژوهش، به منظور بررسی اثرات اسپرمیدین بر تخفیف تنش شوری گیاه فلفل در مرحله رویشی انجام شده است. در مرحله چهار برگی، اثر اسپرمیدین در سه سطح(۰، ۱ و ۲ میلی مولار) بر تنش شوری محلول کلرید سدیم با غلظتهای ۰، ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار مورد بررسی قرار گرفت. محلول اسپرمیدین در سه دوره زمانی: ۱- همزمان با افزودن محلول کلرید سدیم به خاک، ۲- یک روز قبل از افزودن محلول کلرید سدیم و ۳- یک روز بعد از افزودن محلول کلرید سدیم، بر روی برگهای گیاه فلفل اسپری شد. در هفته بعد نیز همین مراحل تکرار شد. سپس، طول ریشه و برخی از پارامترهای بیوشیمیایی مانند مقدار پراکسیداسیون لیپیدها، پروتئین و آسکوربات و دهیدروآسکوربات اندازه گیری و نتایج به دست آمده با نرم افزار SPSS آنالیز شد. اثر متقابل و همزمان غلظت ۲ میلی مولار اسپرمیدین و شوری بالا تأثیر مثبتی بر طول ریشه داشت. همچنین، نتایج نشان داد که غلظت ۱۵۰ میلی مولار محلول کلرید سدیم موجب افزایش مقدار مالون دی آلدئید، کاهش پروتئین و کاهش مقدار آسکوربات برگ گردید. در حالی که، اسپرمیدین این وضعیت را بهبود بخشیده و علائم ناشی از تنش و آسیبها در گیاهان تیمار شده توسط اسپرمیدین کمتر مشاهده گردید. بنابراین، به نظر می رسد که می توان از این ماده در جهت مقاومت به تنش اکسیداتیو گیاهان استفاده کرد.

واژه های کلیدی: فلفل، تنش شوری، اسپرمیدین.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۱۳۲۸۹۶۹، پست الکترونیکی: Zahra_noohpishe@yahoo.com

مقدمه

شوری خاک یکی از مشکلات عمده کشاورزی در جهان می باشد که از مهم ترین پیامد های آن، کاهش محصولات کشاورزی است (۵). اثرات زیان آور غلظتهای بالای نمک به صورت کاهش رشد یا مرگ گیاهان نمایان می شود که در میان گونه های مختلف گیاهی متغیر می باشد. تنش شوری فرآیند های عمده ای از قبیل رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم چربی را تحت تأثیر قرار می دهد (۲۶). رادیکالهای آزاد تولید شده در شرایط تنش، ممکن است موجب آسیب اکسیداتیو در ساختار DNA و پروتئین گردند. اکسیداسیون پروتئینها موجب کاهش فعالیت و در نهایت تجزیه آنها می گردد (۲۱). کاهش محتوای پروتئین کل در برگهای گیاه توت (۲۶) و گیاه گلرنگ (۱) گزارش گردیده است. تنش شوری به علت اثرات اسمزی در یک محدوده وسیع از فعالیتهای متابولیک موجب اختلال در ذخیره آب گیاه می شود. این ناکارآمدی در آب منجر به تشکیل گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) از قبیل سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن منفرد می شود. این گونه های اکسیژن فعال شده می توانند به واسطه آسیب اکسیداتیو به چربی، پروتئین و نوکلئیک اسید ها در متابولیسم طبیعی ایجاد مشکل کنند. گونه های مختلف گیاهی دارای مقادیر متفاوتی از ترکیبات آنتی اکسیدان هستند که آنها را در مقابل گونه های مضر

Archive of SID
www.SID.ir

اکسیژن فعال شده محافظت می کنند. زمانی که گیاهان در شرایط تنش زای محیطی قرار گیرند، تعادل میان ایجاد گونه های اکسیژن واکنش پذیر و فعالیت خنثی سازی آنها توسط آنتی اکسیدانها از بین می رود و در نتیجه پدیده ای بروز می کند که به آن آسیب اکسیداتیو گویند (۲۶).

پلی آمینهای رایج شامل پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین هستند که در همه سلولهای گیاهی یافت شده اند (۲۵). در گیاهان عالی و باکتریها پوترسین یا مستقیماً به واسطه فعالیت آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز (ODC) از اورنیتین تولید می شود یا به طریق غیر مستقیم، به واسطه آنزیم آرژینین دکربوکسیلاز (ADC) از آرژینین تولید شده است که در این مسیر بیوسنتزی، دو آنزیم آگماتین ایمینوهیدرولاز و N-کربومویل پوترسین آمیدو هیدرولاز نقش دارند و دو حد واسط آگماتین و N-کربومویل پوترسین در این فرآیند تولید می شود (۲۰). پوترسین از طریق آنزیم اسپرمیدین سنتاز (SPDS) و با افزودن یک نیمه آمینو پروپیل که از دکربوکسیلاسیون S-آدنوزیل متیونین (SAM) توسط آنزیم S-آدنوزیل متیونین دکربوکسیلاز فراهم می شود، به اسپرمیدین تبدیل می شود (۲۰). پلی آمینها در pH فیزیولوژیکی دارای بار مثبت هستند و به نوکلئیک اسیدها، فسفولیپید های اسیدی و تعداد زیادی از پروتئینها شامل آنزیمهای مختلف متصل می شوند (۲۵). این ترکیبات در محدوده وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله رشد گیاهی، نمو و پاسخ به تنش نقش دارند(۲۰) و در پاسخهای متعدد به سیگنالهای هورمونی به عنوان پیامبرهای ثانویه یا تنظیم کننده های رشد عمل می کنند. پلی آمینها اثرات فیزیولوژیکی و نموی مجزا روی گیاهان دارند و بنابراین باید به عنوان یک گروه از تنظیم کننده های رشد گیاهی شناخته شوند (۲۵). گزارشات مختلفی در مورد نقش پلی آمینها در کاهش اثرات ناشی از تنش شوری وجود دارد. گزارش گردیده است که تیمار اسپرمیدین بر روی گیاهچه های برنج قرار گرفته در معرض تنش شوری، موجب کاهش آسیب به غشای پلاسمایی و پمپ H^+-ATP_{ase} و مقاومت به تنش شوری می شود (۱۹ و ۲۷). گزارش دیگری مبنی بر نقش پوترسین در مقاومت به شوری در نخود فرنگی وجود دارد (۱۵). در این تحقیق، اثر اسپرمیدین بر تخفیف تنش شوری در گیاه فلفل مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

کشت گلدانی: ۶ عدد از بذر گیاه فلفل(*Capsicum annuum* cv california wonder) در گلدانهایی با قطر ۱۴ سانتیمتر کاشته شدند. گلدانهای حاوی مخلوطی از ماسه، رس و خاک برگ به نسبت (۲:۱:۱) در گلخانه با دمای ۲±۲۳ درجه سانتی گراد، شدت روشنایی ۵۰۰۰ لوکس و دوره نوری ۱۶ ساعته قرار گرفتند. در نهایت در هر گلدان ۲ گیاه نگه داشته شد.

اعمال تیمارها: در مرحله چهار برگی تیمار گیاهان آغاز گردید. گیاهان به ۱۷ گروه با ۳ تکرار در هر گروه تقسیم شدند و تیمارها در طی دو هفته اعمال گردید. در هفته اول در روز اول اعمال تیمارها به این صورت بود که یک گروه از گیاهان به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. دو گروه از گیاهان تنها با ۵۰ میلی لیتر محلول کلرید سدیم در دو سطح ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار و دو گروه دیگر تنها با اسپرمیدین در دو سطح ۱ و ۲ میلی مولار تیمار شدند و در ۱۲ گروه دیگر اثر متقابل اسپرمیدین و شوری به سه روش تیمار همزمان اسپرمیدین و شوری، تیمار با تقدم اسپرمیدین در دو سطح و تیمار با تقدم شوری در دو سطح شوری اعمال شدند. کلرید سدیم به صورت افزودن محلول به خاک و اسپرمیدین به صورت محلول پاشی بر روی گیاهان اعمال گردید. در هفته دوم هم همین روش تکرار شد و در هفته سوم، گیاهان را از خاک خارج نموده، نمونه تازه برگ و ریشه برای مطالعه پارامترهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

اندازه گیری طول ریشه گیاه: طول ریشه از یقه تا نوک ریشه با استفاده از خط کش میلی متری اندازه گیری شد. برای هر گروه تیماری سه تکرار محاسبه گردید و اعداد به دست آمده بر حسب واحد سانتیمتر گزارش گردیدند.

سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدئید حاصل از این واکنش اندازه گیری شد (۲۹). اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید به روش Heat and packer (۱۴) انجام شد. بر طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی توزین شد و در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر اسید تری کلرو استیک اسید(TCA) ۰/۱ درصد، ساییده شد. عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. به ۱ میلی لیتر از محلول رویی، ۴ میلی لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود، افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس بلافاصله در یخ خرد شده سرد گردید. دوباره مخلوط سرد شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. سپس شدت جذب نور در طول موج ۵۲۳ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون دی آلدئید از ضریب خاموشی معادل $155 mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه گیری بر حسب وزن تر محاسبه گزارش گردید (۱۴).

سنجش پروتئین: سنجش غلظت پروتئین با استفاده از روش Bradfor (۸) انجام شد.

تهیه معرف: به منظور تهیه معرف ، ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلو G250 در ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد به مدت یک ساعت حل گردید. سپس ۱۰۰ میلی لیتر فسفوریک اسید ۸۵ درصد قطره قطره به آن افزوده و حجم کل محلول به کمک آب مقطر به یک لیتر رسانده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید.

استخراج پروتئین: ابتدا پروتئینها از برگهای گیاه در دمای ۰-۴ درجه سانتی گراد استخراج شدند. به این منظور ۰/۱ گرم از بافت تر در یک هاون چینی حاوی ۳ میلی لیتر بافر فسفات با pH= ۷/۵ به طور کامل ساییده شد. سپس محلول همگن به دست آمده به لوله سانتریفیوژ منتقل و پس از ۱۰دقیقه سکون، به مدت ۲۵ دقیقه در ۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. در پایان مرحله سانتریفیوژ، لوله ها به آرامی از دستگاه خارج و محلول رویی در چند لوله آزمایش توزیع گردید. عصاره های حاصل برای سنجش غلظت پروتئین مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور سنجش غلظت پروتئین، به لوله های آزمایش مقدار ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی و ۵ میلی لیتر معرف افزوده و به سرعت ورتکس شد. پس از ۲ دقیقه و قبل از یک ساعت جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

اندازه گیری میزان آسکوربات کل: اندازه گیری میزان آسکوربات کل به روش .D pinot et al (۱۰) انجام شد. برای اندازه گیری مقدار آسکوربات کل، مقدار ۰/۵ گرم از بافت برگ در ۱۰ میلی لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. برای اندازه گیری میزان آسکوربات کل، ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفیوژ شده با ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم و ۱۵۰ میکرولیتر دی تیو ترایتول (DTT) ۱۰ میلی مولار مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. سپس ۱۵۰ میکرولیتر N-اتیل مالامید (NEM) ۰/۵ درصد به آن افزوده و پس از به هم زدن با ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. سپس ۶۰۰ میکرولیتر TCA ۱۰ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر اورتوفسفریک اسید ۴۴ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر آلفا-آلفا دی پیریدیل ۴ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (۴۷۵

Archive of SID

www.SID.ir

میلی گرم در ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر) اضافه شد. مخلوط حاصل دوبار و هر بار به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. قبل و بعد از هر بار مخلوط کاملاً ورتکس شد و با استفاده از جذب نمونه ها در ۵۲۵ نانومتر و منحنی استاندارد مقدار آسکوربات کل محاسبه شد.

نتایج

تیمار گیاهان با هر یک از دو غلظت محلول کلرید سدیم (۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار) موجب کاهش معنی دار در طول ریشه نسبت به گروه شاهد گردید (شکل۱- نمودارهای a، b وc). در تیمار همزمان اسپرمیدین و تنش شوری، غلظت ۲ میلی مولار اسپرمیدین در شوری بالا باعث افزایش معنی دار در طول ریشه نسبت به هر یک از تیمارهای شوری مورد نظر گردیدند (شکل ۱- نمودار a). نتایج بررسی سایر اثرات متقابل در هر یک از سه گروه زمانی مذکور، تغییرات معنی داری را در سطح ۵ درصد از نظر آماری نشان ندادند.

در گیاهان قرار گرفته در معرض تنش شوری بالا، مقدار مالون دی آلدئید به طور معنی داری در سطح ۵ درصد از نظر آماری در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت ($p\leq ۰/۰۵$). تیمار همزمان گیاهان با هر یک از دو غلظت اسپرمیدین و غلظت ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم موجب افزایش معنی دار مالون دی آلدئید در مقایسه با سطح پایین شوری گردید (شکل ۲- نمودار a). در تیمار با تقدم اسپرمیدین، اثر متقابل هر یک از دو غلظت هورمون و تنش شوری بالا موجب کاهش معنی دار مالون دی آلدئید در مقایسه با تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم گردید (شکل ۲- نمودار b). در تیمار با تقدم شوری، اسپری برگها با غلظت ۱ میلی مولار اسپرمیدین در تنش شوری بالا مالون دی آلدئید را به مقدار معنی داری کاهش داد (شکل ۳- نمودار c)؛ ولی تیمار با اسپرمیدین ۲ میلی مولار اثری در این مورد نداشت.

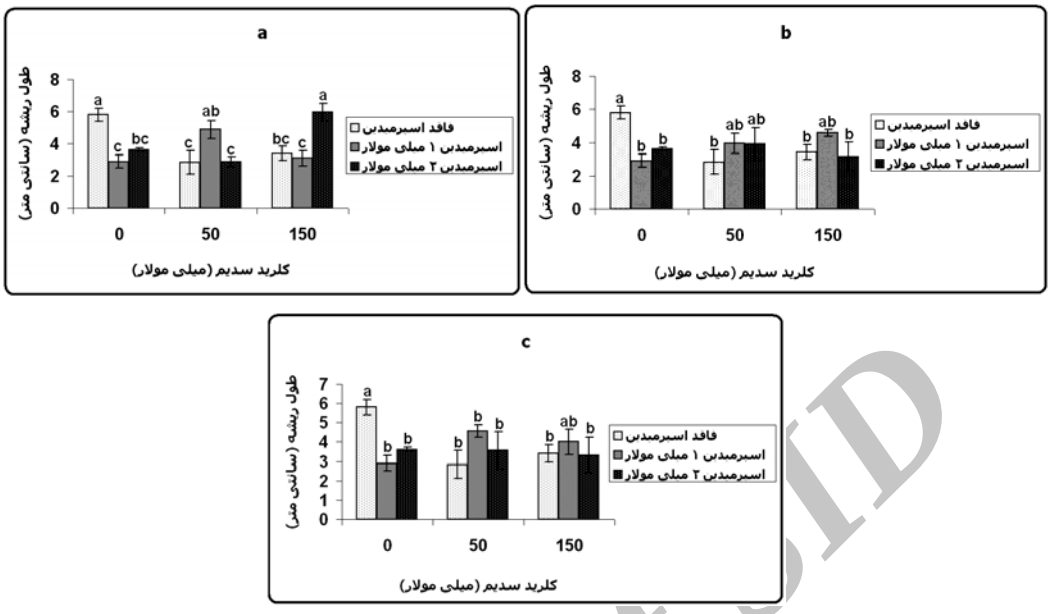
افزودن محلول کلرید سدیم با غلظت ۱۵۰ میلی مولار به خاک، موجب کاهش و اسپری برگها با غلظت ۲ میلی مولار از محلول اسپرمیدین باعث افزایش معنی دار مقدار پروتئین برگ نسبت به گروه شاهد گردید (شکل ۳- نمودارهای a، b و c). اثر متقابل هر یک از دو غلظت اسپرمیدین و غلظت ۱۵۰ میلی مولار از محلول کلرید سدیم، موجب افزایش معنی دار مقدار پروتئین برگ در مقایسه با تیمار شوری بالا در هر دو گروه زمانی شامل تیمار همزمان (شکل ۳- نمودار a) و تیمار با تقدم شوری (شکل ۳- نمودارc) گردید ($p\leq ۰/۰۵$). در تیمار با تقدم اسپرمیدین نیز غلظت ۲ میلی مولار اسپرمیدین در شوری بالا منجر به افزایش مقدار پروتئین برگ و در نتیجه تخفیف تنش گردید (شکل ۳-نمودار b). سایر تیمارها، تأثیر معنی داری بر مقدار پروتئین برگ و در نتیجه تخفیف تنش شوری در سطح ۵ درصد از نظر آماری نداشتند.

گیاهان قرار گرفته در معرض تنش شوری بالا، کاهش معنی داری را در مقدار آسکوربات کل خود نشان دادند ($p\leq ۰/۰۵$) و اسپری برگها با محلول ۱ میلی مولار اسپرمیدین به تنهایی موجب افزایش معنی دار این پارامتر نسبت به گروه شاهد گردید (شکل ۴- نمودارهای a، b و c). اثر متقابل اسپرمیدین ۲ میلی مولار و غلظت ۵۰ میلی مولار محلول کلرید سدیم موجب کاهش معنی دار آسکوربات کل نسبت به سطح پایین شوری هم در تیمار همزمان (شکل ۴- نمودار a) و هم در تیمار با تقدم اسپرمیدین (شکل ۴- نمودار b) گردید. در تیمار همزمان، اثر متقابل هر یک از دو غلظت اسپرمیدین و تنش شوری بالا موجب افزایش معنی دار مقدار آسکوربات کل شد (شکل ۴- نمودار a). در تیمار با تقدم اسپرمیدین، اسپری برگها با غلظت ۲ میلی مولار اسپرمیدین در تنش شوری بالا مقدار آسکوربات کل را نسبت به تیمار با غلظت ۱۵۰ میلی مولار از محلول کلرید سدیم به تنهایی افزایش داد (شکل ۴- نمودار b). در تیمار با تقدم کلرید سدیم، اثرات

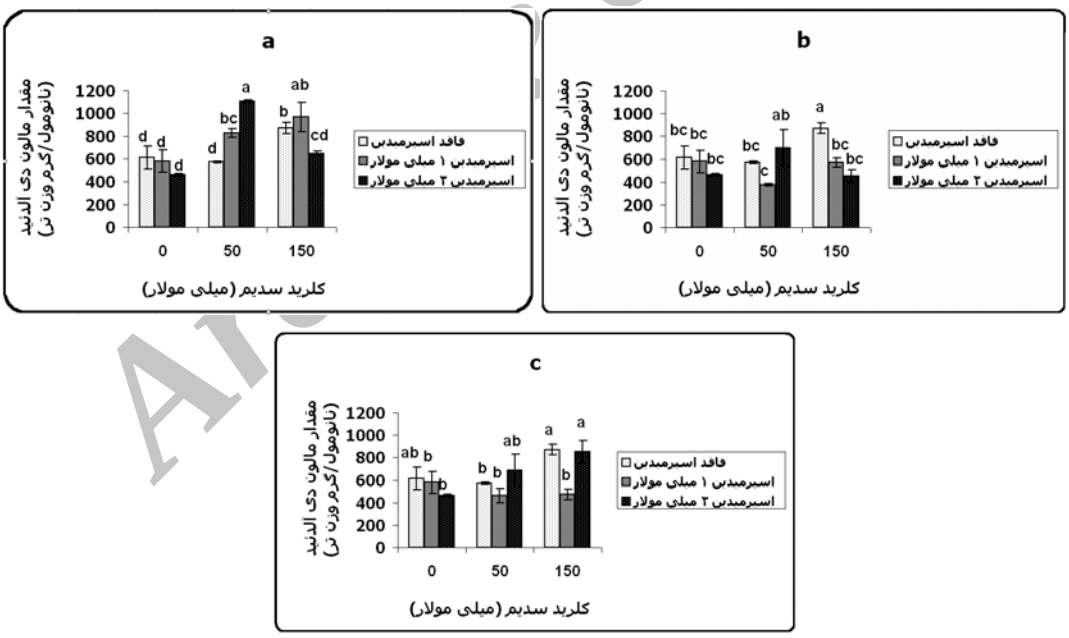
Archive of SID

www.SID.ir

متقابل اسپرمیدین و تنش شوری تأثیر معنی داری بر مقدار آسکوربات کل نداشت (شکل ۴- نمودار c).

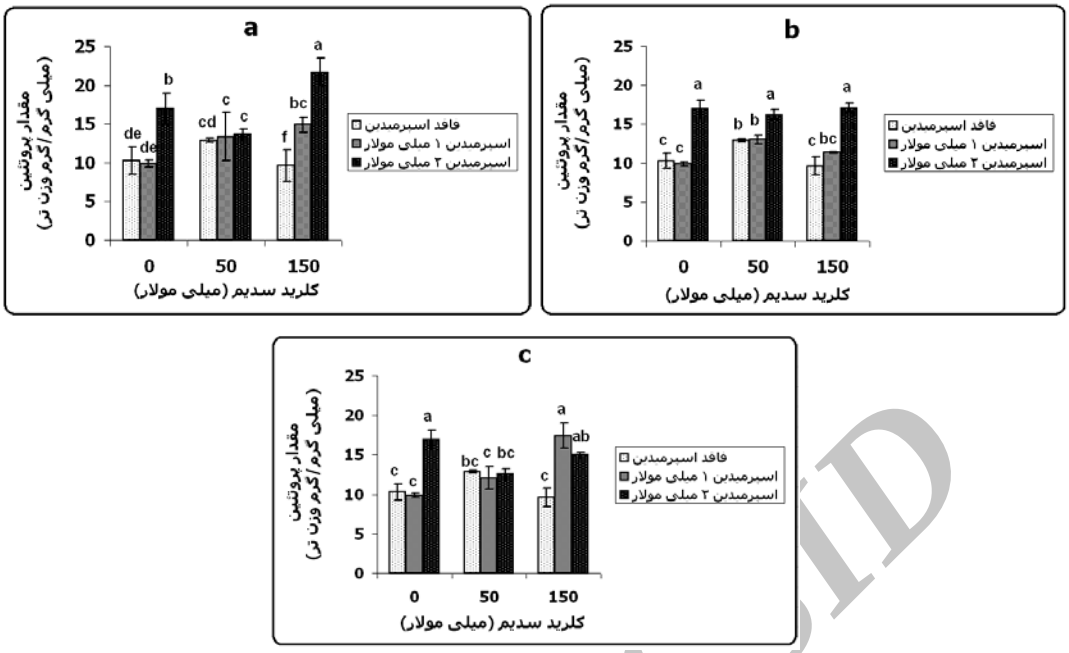


شکل۱- اثر متقابل اسپرمیدین و تنش شوری بر طول ریشه: (a)، تیمار همزمان اسپرمیدین و تنش شوری؛ (b)، تیمار با تقدم اسپرمیدین؛ (c)، تیمار با تقدم شوری. میانگین داده ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار ±انحراف معیار) بر اساس آزمون LSD می باشد ($p\leq ۰/۰۵$). حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

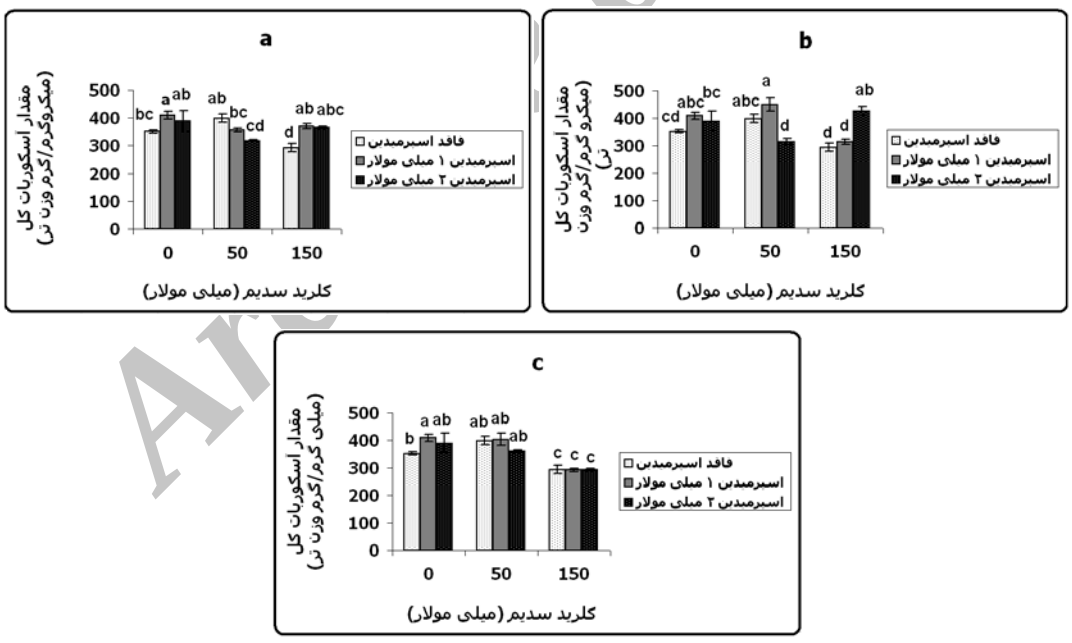


شکل ۲- اثر متقابل اسپرمیدین و تنش شوری بر مقدار مالون دی آلدئید برگ: (a)، تیمار همزمان اسپرمیدین و تنش شوری؛ (b)، تیمار با تقدم اسپرمیدین؛ (c)، تیمار با تقدم شوری. میانگین داده ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار±انحراف معیار) بر اساس آزمون LSD می باشد ($p\leq ۰/۰۵$). حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

www.SID.ir



شکل۳- اثر متقابل اسپرمیدین و تنش شوری بر مقدار پروتئین برگ: (a)، تیمار همزمان اسپرمیدین و تنش شوری؛ (b)، تیمار با تقدم اسپرمیدین؛(c)، تیمار با تقدم شوری. میانگین داده ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار±انحراف معیار) بر اساس آزمون LSD می باشد (p≤۰/۰۵). حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.



شکل ۴- اثر متقابل اسپرمیدین و تنش شوری بر مقدار آسکوربات کل: (a)، تیمار همزمان اسپرمیدین و تنش شوری؛(b)، تیمار با تقدم اسپرمیدین؛(c)، تیمار با تقدم شوری، میانگین داده ها حاصل از سه تکرار و مقایسه میانگینها (میانگین سه تکرار±انحراف معیار) بر اساس آزمون LSD می باشد (p≤۰/۰۵). حروف غیر مشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

www.SID.ir

بحث

کاهش معنی دار در طول ریشه گیاه فلفل مورد مطالعه، احتمالاً مربوط به کاهش انعطاف پذیری دیواره سلولی در مناطق در حال توسعه ریشه است (۲۲). کاهش طول ریشه نیز در گیاه گوجه فرنگی (۲۶) و چغندر قند (۱۶) تحت تنش شوری گزارش گردیده است. تأثیر مثبت اسپرمیدین احتمالاً مربوط به نقش این هورمون در افزایش فعالیت تقسیم سلولی، افزایش هورمونهای گیاهی از قبیل اکسین و جیبرلین و کاهش آبسیزیک اسید است (۱۵). اکثر تحقیقات نیز نشان دهنده این است که تیمار با پلی آمینها موجب به حداقل رساندن آسیب سلولی ایجاد شده در اثر تنش می شود.

هنگامی که گیاهان در معرض تنش شوری قرار می گیرند، معمولاً ساختار لیپید های خود را تغییر می دهند (۱۲). پراکسیداسیون القاء شده در غشاهای لیپیدی توسط تنش شوری نشان دهنده آسیب در سطح سلولی می باشد و سطح مالون دی آلدئید تولید شده در طی این فرآیند به عنوان یک شاخص از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفته شده است (۹). در این پژوهش، افزایش معنی دار در مقدار مالون دی آلدئید به علت افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها می باشد. بنابراین، تنش شوری احتمالاً موجب اختلال در فرآیند انتقال الکترون در میتوکندری و کلروپلاست شده و با تولید رادیکالهای فعال اکسیژن، موجب آسیب اکسیداتیو به غشاء و در نتیجه افزایش در مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و تولید مالون دی آلدئید در این گیاه گردیده است. در این تحقیق، به طور کلی اسپرمیدین در تنش شوری بالا باعث کاهش معنی دار مقدار مالون دی آلدئید و تخفیف تنش شوری در دو گروه زمانی شامل تیمار با تقدم اسپرمیدین و تیمار با تقدم شوری گردید. نقش پلی آمینها در حفاظت گیاهان در مقابل پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان یک مکانیسم دفاعی غیر فعال سلول در ممانعت از آسیب اکسیداتیو است (۲۷). این گروه از ترکیبات دارای خواص آنتی اکسیدانی، توانایی خنثی سازی اسید، پایداری دیواره سلولی و غشاء هستند (۱۵) و از تخریب آن در شرایط تنش جلوگیری می کنند (۲۰). علت کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در این گیاه را می توان در نتیجه عملکرد پلی آمینها در از بین بردن رادیکالهای فعال اکسیژن دانست. احتمالاً این هورمون با تأثیر بر روی فعالیت آنزیمهای پالاینده رادیکالهای آزاد موجب کاهش در محتوای رادیکالهای سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن گردیده است و از فعالیت لیپوکسیژناز و تجزیه اسیدهای چرب غشاء جلوگیری کرده است (۴). اکثر گزارشات بیانگر نقش اسپرمیدین در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط تنش می باشد. افزایش در محتوای مالون دی آلدئید در شرایط تنش شوری در برنج (۹ و ۲۴)، خاکشیر (۲)، گندم (۳) و عدس (۶، ۱۸) گزارش گردیده است. همچنین، این اثرات در گیاه *Nymphides peltatum* تحت تنش فلز مس (۳۲) و یا فلز جیوه (۳۱)، و گیاه نخود فرنگی در شرایط تنش سرما و کمبود آب (۲۳) گزارش گردیده است. به علاوه، گیاهان آرابیدوپسیس ترانس ژنیک حاوی بیان بالای ژن اسپرمیدین سنتاز، حاوی توانایی بالاتری برای از بین بردن رادیکالهای فعال اکسیژن و حفاظت از غشاء در برابر تخریب بوده اند (۱۷).

در این تحقیق، افزایش غلظت شوری موجب کاهش مقدار پروتئین کل در برگهای گیاه فلفل گردید. این کاهش، احتمالاً به دلیل افزایش در میزان تجزیه پروتئین می باشد؛ به این صورت که رادیکالهای فعال اکسیژن که در شرایط تنش شوری ایجاد می شوند، موجب اکسیداسیون زنجیره های آمینو اسید و تشکیل اتصالات پروتئین-پروتئین گردیده و در نهایت منجر به افزایش تجزیه پروتئین می شوند (۷). همچنین، گزارشات مختلف مبنی بر افزایش فعالیت آنزیمهای پروتئاز در شرایط تنش شوری وجود دارد (۲۶). بنابراین افزایش مقدار تجزیه پروتئین توسط آنزیمهای پروتئاز احتمالاً موجب کاهش مقدار پروتئین کل در گونه مورد نظر از گیاه فلفل گردیده است. کاهش مقدار

Archive of SID

www.SID.ir

پروتئین در گندم (۳) و تربچه (۲۷) در شرایط تنش شوری نیز گزارش گردیده است. اسپری برگها با محلول اسپرمیدین در تنش شوری بالا موجب افزایش مقدار پروتئین کل در برگهای گونه مورد نظر از گیاه فلفل گردید. اسپرمیدین در نابودی رادیکالهای فعال اکسیژن نقش داشته و ماکرومولکولهایی مانند DNA و پروتئین را از جمله این گونه های واکنش پذیر اکسیژن حفظ می کند (۱۷). همچنین، گزارش شده است که اسپرمیدین فعالیت بیوسنتز پروتئین را افزایش می دهد (۱۳). بنابراین، اسپرمیدین احتمالاً با از بین بردن رادیکالهای فعال اکسیژن در کاهش تجزیه و افزایش بیوسنتز پروتئین در برگهای گیاه فلفل مورد آزمایش نقش داشته است. نقش اسپرمیدین در افزایش سنتز پروتئین در اسفناج (۳۰) و ممانعت از کاهش مقدار پروتئین در گیاه *Nympoides peltatum* تحت تنش فلز سنگین مس (۳۲) گزارش گردیده است.

در این تحقیق، آسکوربات کل در گیاهان فلفل تیمار شده با غلظت بالای محلول کلرید سدیم کاهش معنی داری را نشان داد. کاهش در مقدار آسکوربات در گیاهان پنبه، نخود فرنگی (۲۶) و گندم (۲۸) در شرایط تنش شوری گزارش گردیده است. اثر متقابل اسپرمیدین و تنش شوری بالا در تیمار همزمان و تیمار با تقدم اسپرمیدین، موجب افزایش مقدار آسکوربات کل در برگهای گونه مورد آزمایش از گیاه فلفل گردید. اثر اسپرمیدین در ممانعت از کاهش آسکوربات در این گیاه ممکن است به علت توانایی این هورمون در از بین بردن رادیکالهای آزاد باشد. بنابراین، اسپرمیدین با افزایش در محتوای آسکوربات می تواند موجب افزایش مقاومت اکسیداتیو در برابر تنش شوری در گیاه فلفل گردد. آسکوربات یک آنتی اکسیدان قوی است که در اندامکها و آپوپلاست سلولهای گیاهان وجود دارد. آسکوربات در کلروپلاست می تواند مستقیماً رادیکالهای هیدروکسیل و سوپراکسید را از بین ببرد و همچنین، H_2O_2 را از طریق واکنش آسکوربات پراکسیداز به آب احیاء کند (۴).

افزایش در آسکوربات کل در گیاهان فلفل تیمار شده با اسپرمیدین می تواند نشان دهنده افزایش توانایی این گیاه در از بین بردن گونه های واکنش پذیر اکسیژن باشد. افزایش در مخزن آسکوربات در برگهای ذرت تیمار شده با پلی آمینها نیز مشاهده گردیده است (۱۱). همچنین، گزارش گردیده است که وجود غلظت بالای پلی آمین در بافتهای میوه گوجه فرنگی و فلفل از کاهش آسکوربات جلوگیری کرده و تیمار این گیاهان با پلی آمینها نیز غلظت درونی آسکوربات را افزایش داده است (۳۳). بنابراین بنظر می رسد که بتوان از پلی آمینها به عنوان تخفیف دهنده آسیبهای ناشی از تنش در شرایط محیطی سخت بهره گرفت.

منابع

۱- چاوشی، م. ۱۳۸۵. مطالعه اثر متیل ژاسمونات بر برخی پارامتر های رشد، شیمیایی و بیوشیمیایی در رقم های گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) تحت تنش شوری .پایان نامه کارشناسی ارشد، بخش زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ص: ۵۲-۹۹.

۲- مظفری، ح. ۱۳۸۳. بررسی نقش کلسیم در مقاومت گیاه خاکشیر (*Descurainia Sophia*)به تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد، بخش زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان و مرکز بین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی (ICST)، ص: ۹۲-۱۰۴.

۳- نژاد علیمرادی، ح. ۱۳۸۶. بررسی اثرات اشعه ماوراء بنفش-C(UV) در مقاوم سازی دو رقم گیاه گندم (*Triticum aestivum L.*) به تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد، بخش زیست شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان، ص: ۳۷-۸۳.

4-Ali, A. and Alquarainy, F. 2006. The lutein-preventation and treatment for age-related diseseases. Biological sciences. Chaper8: 187-256.

5- Aktas, H., Abak, K., Cakmak, I. 2006. Genotypic variation in the responses of pepper to salinity. *Scientia Horticulturae*. 110: 260-266.

Archive of SID
www.SID.ir

6- Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M. and Oktem, H. A. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of Lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth regulation*. 42L: 69-77.

7- Bartels, D. and Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Plant science*. 24: 23-58.

8- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.

9- Demiral, T. and Turkan, I. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in root of two rice cultivars differing in salt tolerance. 2005. *Environmental and Experimental Botany*. 53: 247-257.

10- De Pinto, M. C., Francies, D. and Gara, L. D. 1999. The redox state of the Ascorbate-dehydroascorbate pair as a specific sensor of cell division in tobacco BY-2 cells. *Protoplasma*. 209: 90-97.

11- Durmu, N. and Kadioglu, A. 2005. Spermidine and putrescine enhance oxidative stress tolerance in maize leaves. *Acta physiologia plantarum*. 27: 515-522.

12- Fadzilla, N. M., Finch, R. P. and Burdon, R. H. 1997. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice, *Experimental Botany*. 48: 325-331.

13- Ha, H. C., Sirisoma, N. S., Kuppusamy, P., Zweier, J. L., Woster, P. M. and Casero, R. A. 1998. The natural polyamines spermdine functions directly as a free radicle scavenger. *Biochemistry*. 95: 11140- 11145.

14- Heath, R. L. and Packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated Chlroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198.

15- Hussein, M. M., Nadia, EL-Gereadly, H. M. and EL-Desuki, M. 2006. Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum L.*). *Applied Science Research*. 2: 598-604.

16- Jafarrzadeh, A. A. and Aliasgharzad, N. 2007. Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugar beet cultivars. *Biologia, Bratislava*. 62: 562-564

17- Kasukabe, Y., He, L., Nada, K., Misawa, S., Ihara, I. and Tachibana, S. 2004. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulated genes in transgenic *Arabidopsis Thaliana. Plant Cell Physiol*ogy. 45: 712-72

18- Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and praline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*. 60:344-351.

19- Krishnamurthy, R. and Bhagwat, k. A. 1989. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. 91: 500-504.

20- Liu, J. H., Kitashiba, H., Wang,J., Ban, Y. and Moriguchi, T. 2007. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*. 24: 117-126.

21- Moller, I. M. and Kristensen, B. K. 2004. Protein oxidation in plant mitocondria as a stress indicator. *Photochemical and Photobiological Science*. 3: 730-735.

22- Munns, R. 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypothesis. *Plant, Cell and Environment*. 16: 15-24

23- Nayyar, H., Chander, S. 2004. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stressn in chickpea. *Agronomy and Crop Science*. 190: 355-365.

24- Ndayiragije, A. and Lutts, S. 2005. Do exogenous polyamines have an impact on the response of salt- sensitive rice cultivars to Nacl? *Plant Physiology*. 163: 506-516.

25- Pandey, S., Ranande, S. A., Nagar, P. K. and Kumar, N. 2000. Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *India Academy of Science*. 25: 291-299.

26- Parida, A. k. and Das, A. B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Exotoxicology and environmental Safety*. 60: 324-349.

27- Roy, K., Niyogi, K., SenGupta, D. N. and Goush, B.2005. Spermidine treatment to rice seedlings recovers salinity stress-induced damage of plasma membrane and PM-bound H+-ATPase in salt- tolerant and salt sensitive rice cultivars. *Plant science*. 168: 583-591.

28- Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. c. 2005. differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum*. 49: 85-91.

29- Satto, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., Tokuda, S. 2004. Physiological response of cabbage plug seedlings to water

Archive of SID

www.SID.ir

stress during low temperature storage darkness. *Scientia Horticulturae*. 101: 345-357.

30- Suleiman, S., Wilson, C., and Grieve, C. M. 2002. Effect of salinity and exogenously applied polyamines on growth and ion relations in spinach. *plant nutrition*. 25: 2705-2717.

31- Wang, X., Shi, G. X., Ma, G.Y., Xu, Q. S., Khaled, R., Hu, J. Z. 2004. Effect of exogenous spermidine on resistance of peltatum to Hg+2 stress. *PubMed*. 30: 69-74.

32- Wang, X., Shi, G., Xu, Q., Hu, J. 2006. Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatum. Plant Physiology*. 64: 1062-1070.

33- Yahia, E. M., Contreras-Padilla, M. and Conzelez-Aguilar, G. 2001. Ascorbic acid in relation to ascorbic acid oxidase activity and polyamine content in tomato and bell pepper fruit during development, maturation and scenescence. *Lebensm.-Wiss. U.-Technology.* 34: 452-457.

The interaction effects of spermidine application and salinity stress in pepper plants

Noohpishe Z. and Kalantari Kh.M.

Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

Salinity stress is a limiting factor for plant growth and development and has negative effects on the plant physiological processes. Many compounds are being used to reduce harmful effects of salinity. The purpose of this study was to investigate the effect of spermidine and salt stress on vegetative growth of pepper (*Capsicum annuum*) plant. In 4 leafy stages, the interactive effects of spermidine solution (0, 1 and 2 mM) and salinity stress (0, 50 and 150 mM NaCl) were studied. The foliar spray of spermidine solution carried out on pepper plants at three different times: (1) simultaneous with the application of NaCl solution to soil, (2) one day before and (3) one day after adding salinity. Treatments were repeated a week later. The effects of spermidine and salinity stress were investigated on root length and some biochemical parameters such as lipid peroxidation, protein and ascorbate content. Data were analyzed with SPSS. The results showed the increase of lipid peroxidation, reduction of protein and total ascorbate contents. In timing 1, the interactive effect of spd2mM and high salinity enhanced root length. Spermidine ameliorated high salinity stress effects on plants. We suggest that spermidine increases resistance to oxidative stress in pepper plants subjected to high salinity stress.

Keywords: pepper, salinity stress, spermidine.

Archive of SID

www.SID.ir