هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ١٤ تا ١٧ شهریور ماه ١٣٩٠، دانشگاه صنعتی اصفهان

بررسی تاثیر اسپرمیدین بر برخی تغییرات بیوشیمیایی دانهال های نارنج تحت تنش شوری

منصوره نجف زاده (١)، رضا فتوحی قزوینی (٢)، وهب جعفریان (٣)، پرستو مرادی (٤)

١- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه گیلان، ٢- استاد علوم باغبانی، ٣- دانشجوی دکتری بیوشیمی دانشگاه گیلان، ٤- دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه گیلان

رشد گیاهان در شرایط شوری تحت تنش اسمز و سمیت یونی ناشی از آن قرار می گیرد. در مطالعه حاضر در طرح تصادفی به صورت فاکتوریل با تیمار تنش شوری در ٤ سطح (٠mM NaCl، ٣٠، ٦٠ و ٩٠) و تیمار اسپرمیدین در ٤ سطح (٠ mMol، ٠/٤، ٠/٨ و ١/٢) در ٣ تکرار اثرات تنش شوری در گیاهچه های نارنج بررسی شد. در این پژوهش شاخص های میزان لیپیدپراکسیداسیون، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، پروتئین کل و میزان پرولین اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز پس از تیمار با ١/٢ میلی مول در لیتر اسپرمیدین و ٩٠ میلی مولار نمک به ٥٧/١٣ $u.mg\ protein^{-1}$ نسبت به نمونه های شاهد در همان غلظت شوری افزایش یافت. نتایج نشان داد که اسپرمیدین با اثر حفاظتی بر ترکیبات غشاء سبب کاهش لیپید پراکسیداسیون گردید بطوریکه میزان لیپید پراکسیداسیون به میزان ٥٩٪ نسبت به شاهد کاهش یافت و به ٢٦/٠٧ nmMDA/grDM رسید. میزان پروتئین و پرولین نیز در دانهال های تیمار شده با اسپرمیدین به ترتیب $٠/٥٦٤mg.ml^{-1}$ و ٣٦٣/٣ nmol/gr مشاهده شد که با شاهد اختلاف معنی دار داشت. بنابر تاثیر قابل ملاحظه ای که تیمار اسپرمیدین بر شاخص های آنتی اکسیدانی داشته اند می توان نتیجه گرفت کاربرد اسپرمیدین مانع از اثرات سوء تنش شوری بر دانهال های نارنج بوده است.

کلمات کلیدی: اسپرمیدین، تنش شوری، تنش اکسیداتیو

مقدمه

تنش شوری مربوط به غلظت‌های بالای نمک ها به ویژه نمک‌های سدیم در محلول خاک است. مرکبات به عنوان گیاهان حساس به شوری شناخته می‌شوند و رشد و بازده تولید در مرکبات تحت تاثیر شوری قرار می‌گیرد (١). انواع تنش‌ها منجر به تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن شده که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان آور هستند و سبب خسارت به لیپیدهای غشاء ،اسیدهای نوکلئیک، تخریب و رسوب پروتئین ها شده و در نهایت موجب تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند (١٠). نتایج تحقیقات متعدد نشان می‌دهد پلی‌آمینها به عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل کرده و نقش مهمی در سازگاری گیاهان به شرایط تنش دارند (٩).

مواد و روش ها

برای این آزمایش دانهال‌های ٨ برگی نارنج از موسسه مرکبات تهیه شد و جهت سازگاری گیاه به شرایط آزمایش به مدت ٢ ماه در گلخانه نگهداری شد. در این مدت دانهال‌ها با محلول غذایی هوگلند تغذیه گردید. تیمار

شوری در ٤ سطح (٠mM NaCl، ٣٠، ٦٠ و ٩٠) هر ٢ روز یکبار به مدت ١ ماه و تیمار اسپرمیدین در ٤ سطح (٠ mMol، ٠/٤، ٠/٨ و ١/٢) به صورت محلول پاشی به صورت ٢ روز یکبار و هر١٢ ساعت یکبار به مدت یک ماه انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی به صورت فاکتوریل انجام شد. فعالیت کل آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از کاهش فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم(NBT) تعیین می‌شود (٦). برای سنجش غلظت پروتئین، از محلول پروتئینی استاندارد سرم آلبومین گاوی به روش بردفورد استفاده شد (٢). برای سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها از روش هیت و پاکرکه بر مبنای اندازه گیری غلظت مالوندی‌آلدئید (MDA) است استفاده شد (٧). ارزیابی میزان پرولین به عنوان یکی از شاخص‌های مقاومت به تنش‌های محیطی با استفاده از روش باتز(١٩٧٣) صورت گرفت (٣).

نتایج و بحث

نتایج نشان داد افزایش غلظت اسپرمیدین موجب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد. به طوری که فعالیت آنزیم در غلظت ١/٢ میلی‌مولار اسپرمیدین و شوری ٩٠ میلی مولار به میزان $u.mg\ protein^{-1}$ ٥٧/١٣مشاهده شد. بررسی جدول اثرات متقابل مقایسه میانگین ها (جدول١) نشان می دهد افزایش غلظت شوری در گیاهان شاهد موجب کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز گردیده است. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در تنش شوری به عنوان یک پالاینده آنزیمی نشان دهنده توانایی این آنزیم در تجزیه رادیکال سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن است (٢).

افزایش غلظت شوری موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شد بطوریکه میزان لیپیدپراکسیداسیون در غلظت شوری ٩٠ میلی گرم در لیتر در روز سی ام در نمونه های شاهد بدون تیمار اسپرمیدین به ٤٤/٣١ nmMDA/grDM رسید که نسبت به نمونه های شاهد در همان روز ٥٦٪ افزایش نشان داد. نتایج نشان داد افزایش غلظت اسپرمیدین باعث کاهش لیپیدپراکسیداسیون گردید بطوریکه میزان لیپیدپراکسیداسیون در روز سی‌ام در غلظت ١/٢ میلی مولار اسپرمیدین و در شوری ٩٠ میلی مولار به ١٩/٤٥٢ nmMDA/grDM رسید. کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدها در تیمار با اسپرمیدین به عنوان یک پلی‌آمین به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی و حفاظتی آن در برابر آسیب‌های اکسیداتیو تحت تنش شوری است (٨).

افزایش غلظت شوری موجب کاهش پروتئین کل شد بطوریکه میزان پروتئین کل در روز سی‌ام در غلظت ۹۰ میلی‌مولار در لیتر شوری در نمونه های شاهد بدون تیمار اسپرمیدین به ۰/٤٤٢ $mg.ml^{-1}$ کاهش یافت. نتایج جدول مقایسات میانگین (جدول۱) نشان داد که افزایش غلظت اسپرمیدین موجب موجب افزایش پروتئین کل شده است به طوریکه در غلظت ۱/۲ میلی مولار اسپرمیدین و ۹۰ میلی مولار شوری به ۰/٥٦٤ $mg.ml^{-1}$ رسید. تنش شوری موجب تغییر ساختار پروتئین‌ها شده که این امر موجب کاهش میزان پروتئین کل در زمان تنش می‌شود. احتمالا تیمار با اسپرمیدین موجب بهبود ساختار فضایی پروتئین ها شده و سنتز پروتئین ها ادامه یافته است. بعبارت دیگر تیمار با اسپرمیدین موجب افزایش پروتئین کل شد

کاربرد تیمار اسپرمیدین موجب افزایش میزان پرولین در دانهال‌های تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد گردید. گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین تحت تمام غلظت‌ها نسبت به گیاهان شاهد در همان غلظت میزان پرولین بیشتری را نشان دادند. بطوریکه میزان پرولین در غلظت ۱/۲ میلی**مولار** اسپرمیدین و غلظت ۹۰ میلی مول شوری در روز سی‌ام ۳٦۳/۳ nmol/gr مشاهده شد. نتایج جدول ۱ نشان می دهد که افزایش غلظت شوری موجب افزایش میزان پرولین در گیاهان تحت تنش شده است. پرولین به عنوان یک شاخص معتبر در ارزیابی تنش‌های محیطی در گیاهان است. نتایج تحقیقات متعدد نشان می‌دهد میزان پرولین در گیاهان درشرایط تنش برای ایجاد مقاومت افزایش می‌یابد(۵).

جدول ١-١- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسپرمین و تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، میزان لیپید پراکسیداسیون، پروتئین کل و پرولین در برگ های نارنج در روز سی ام

شوری(میلی مولار)	SOD u.mg protein^{-1}				nMDA/gr DM Peroxiadation Lipid				Protein mg.ml^{-1}				Prolin nmol/gr			
	اسپرمیدین (میلی مول در لیتر)				اسپرمیدین (میلی مول در لیتر)				اسپرمیدین (میلی مول در لیتر)				اسپرمیدین (میلی مول در لیتر)			
	٠	./٤	٠/٨	١/٢	٠	./٤	٠/٨	١/٢	٠	./٤	٠/٨	١/٢	٠	./٤	٠/٨	١/٢
٠	٥٥/١٧ e	٦٩/٤٢ ^{c}	٧٧/٣١ ^{a}	٧٨/١٧ ^{a}	٢٥/٣٢ ^{ef}	٢٢/٤٤ ^{f}	٢٢/٣٦ ^{f}	١٩/١٧ ^{g}	٠/٨٤٣ ^{c}	٠/٨٩٤ ^{b}	٠/٩٣٥ ^{b}	٠/٩٧٢ ^{ab}	٣٤١/١ ^{f}	٣٤٢/٥ ^{f}	٣٥٢/٧ cd	٣٥٣/٨ cd
٣٠	٥٤/٢٥ e	٥٨/٢٨ ^{d}	٧١/١٣ ^{b}	٧٣/٩٢ ^{b}	٣٠/٢٦ ^{d}	٢٦/٣٣ ^{ef}	٢٢/٧٥ ^{f}	٢٢/٣٥ ^{f}	٠/٥٥٩ ^{h}	٠/٦٤٣ ^{fg}	٠/٧١٩ ^{ef}	٠/٧٥٣ ^{d}	٣٤٢/١ ^{f}	٣٤٧/٤ ^{e}	٣٥٥/٧ ^{c}	٣٥٦/٥ ^{c}
٦٠	٤٦/٣٤ f	٤٨/٣٨ ^{f}	٦٦/١٧ ^{c}	٦٨/٨٤ ^{c}	٣٨/٣٦ ^{b}	٣٢/٤٧ ^{cd}	٢٨/٣٦ ^{e}	٢٥/١٤ ^{ef}	٠/٤٦٣ ^{h}	٠/٦٠١ ^{gh}	٠/٦٤٨ ^{g}	٠/٦٩٣ ^{ef}	٣٤٦/٣ e	٣٥٢/٤ cd	٣٥٨/٥ ^{b}	٣٥٩/٢ ^{b}
٩٠	٤٤/٥٢ f	٤٦/١٣ ^{f}	٥٥/٧٨ ^{e}	٥٧/١٣ ^{d}	٤٤/٣١ ^{a}	٣٣/١٧ ^{c}	٢٩/١٤ ^{de}	٢٦/٠٧ ^{ef}	٠/٤٤٢ ^{h}	٠/٤٣٨ ^{h}	٠/٥٣٩ ^{g}	٠/٥٦٤ ^{f}	٣٤٨/٧ e	٣٥٤/٨ cd	٣٦١/٢ ^{b}	٣٦٣/٣ ^{a}

منابع

[1] Al-Yassin, A. 2005. Adverse effects of salinity on citrus. Review: Int J. Agr. Bio. 7:668-680.

[2] Arbona, V., V. Flors, J. Jacas, P.Garcia-Agustin and G. Cadenas. 2003. Enzymatic and non-enzymatic antioxidant response of Carrizo citrange, a salt-sensetive Citrus rootstock to different levels of salinity. Plant Cell Physiol. 44(4): 388-394.

[3] Bates, L.S., R .P. Waldern and I. D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline Plant Soil. 39: 205-207. for water stress.

[4] Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. Analytical Biochem. 72: 248–254.

[5] El-Tayeb, M. A. 2006. Differential responses of pigments, lipid per-oxidation, organic solutes. Catalase and per-oxidase activity in the leaves of two *Vicia Faba* L. cultivars to drought. Int. J. Agri. Biol. 8(1): 116-122.

[6] Giannopolitis, C. N., and S. K. Rise. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiol. 59: 309-314.

[7] Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stochiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198.

Rehman and E. S. Rha. 2006. Does polyamine seed . Ashraf, S., M.[8] Iqbal, M pretreatment modulate growth and levels of some plant growth regulators in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under salt stress? Bot. Stud. 47: 239-250.

[9] Jiménez-Bremont, J. F., A. Ruiz-Oscar and M. Rodríguez-Kessler. 2007. Modulation of spermine and spermidine levels in maize seedlings subjected to long-term salt stress. Plant Physiol. Biochem. 45: 812-821.

[10] Sairam, R. K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity and osmolyte concentration. Plant Sci. 163:1073-1046.

seedlings Effect of spermidin on some of biochemical chengeson *Citrus aurantium* L.

under salt stress.

Najafzadeh [1], M., Fotuohi Ghazvini, R[2]., Jafarian, V[3]. and Moradi, P[4].

1-Former MS.c student, 2- Professor of Horticultural Science 3 and 4- Ph.D. Student of University of Guilan

Plants growth in saline condition are affecting osmotic stress and ion toxicity due to is. In this study, effects of spermidin at four levels (0, 0.4, 0.8, 1.2 Mm l^{-1}) were investigated on exposed to NaCl in 4 levels (0, 30, 60, 90 mM NaCl). (*Citrus aurantium* L.) seedlings after The experiment was conducted under complete randomizeddesign with three replications in factorial design. Measurement of SOD activity enzymes shoewd that spermidin treatments increased 57.13 u.mg $protein^{-1}$. . The experiment show that spermidin had protective effects on membrane compound and lead to decline in lipid peroxidation about 26.07nm MDA/grDM. Total proteins and prolin amounts increased 0.564 $mg.ml^{-1}$ and 363.3 nmol/gr. Therefore, concerning with spermidin treatment, (*Citrus aurantium* L.) seedlings have been protected against salin stress and many inhibited the oxidative stress.

Key word: Spermidin, Salt stress, Oxidative stress