

تأثیر سطوح مختلف اسید فولویک و پوترسین بر برخی ویژگی‌های رویشی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در انگور رقم شاهانی در شرایط تنش قلیایی

بهرام رضاوندی^۱ و جعفر امیری^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۱)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر اسید فولویک و پوترسین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نهال‌های انگور رقم شاهانی تحت شرایط خاک قلیایی، پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی و در شرایط گلخانه صورت گرفت. آزمایش با دو فاکتور شامل چهار غلظت اسید فولویک (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به صورت خاکی و چهار غلظت پوترسین (۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی برگی انجام گرفت. یک ماه پس از استقرار کامل بوته‌ها در گلدان، تیمارها اعمال شد. خاک قلیایی باعث بروز اثرات منفی بر ویژگی‌های رویشی انگور گردید. سطح برگ در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک، ۵/۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد و میزان افزایش طول ریشه در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب ۲/۹۸ و ۵/۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشت. بالاترین میزان کلروفیل a در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک به همراه ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد. میزان افزایش پرولین در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک همراه با تیمار ۴ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب ۱/۶۱ و ۱/۷۴ برابر شاهد گزارش گردید. با افزایش غلظت اسید فولویک و پوترسین، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافت. یافته‌های این پژوهش نشان داد که تیمارهای اسید فولویک و پوترسین در تعدیل اثرات تنش قلیایی در انگور رقم شاهانی موثر بوده و می‌توانند اثرات مثبتی بر رشد و نمو این رقم انگور داشته باشند.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، شاخص‌های رویشی

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* پست الکترونیک: j.amiri@urmia.ac.ir

مقدمه

یکی از عوامل محیطی مهم که مانع رشد و نمو گیاهان و تولید محصول می‌شود، تنش قلیایی است. خاک‌های قلیایی با pH زیاد، تأثیر منفی بر جذب عناصر غذایی توسط ریشه‌های گیاهان دارند (سلیم^۱ و همکاران، ۲۰۲۳). با افزایش pH محیط رشد، غلظت کربنات و بی‌کربنات افزایش می‌یابد (ولی‌پور^۲ و همکاران، ۲۰۲۰). از مشکلات اصلی تغذیه‌ای در خاک‌های ایران می‌توان، به کیفیت پایین آب آبیاری، pH بالا، شوری خاک، وفور کربنات کلسیم، فراوانی بی‌کربنات آب آبیاری و میزان بسیار پایین مواد آلی اشاره کرد. قابلیت جذب فسفر و عناصر کم‌مصرف به‌ویژه آهن و روی در خاک‌های آهکی بسیار کم است و این خاک‌ها ظرفیت بالایی برای تثبیت این عناصر را دارا هستند (داورپناه و همکاران، ۱۳۹۲).

شوری و قلیایی شدن خاک‌ها از مشکلات محیطی گسترده‌ای هستند که رشد و عملکرد انگور را محدود می‌نمایند. تنش قلیایی، تأثیر منفی بر برگ‌های انگور، ساختار کلروپلاست، فتوسنتز، فعالیت آنزیم روبیسکو و تعادل یونی می‌گذارد (لو^۳ و همکاران، ۲۰۲۲). از نظر اقتصادی، انگور یکی از مهم‌ترین میوه‌ها در جهان است و مساحت اختصاص داده شده به باغ‌های انگور حدود دو درصد در سال در حال افزایش است (کوچر و نیک‌هنج^۴، ۲۰۱۹). یکی از ارقام انگور در ایران، رقم شاهانی می‌باشد که به‌صورت تازه‌خوری یا فرآوری شده مصرف می‌شود و به‌دلیل داشتن ترکیبات با ارزش غذایی و دارویی تقاضای زیادی در بازار کشور دارد. نام دیگر این رقم، "سلطانی" است و در برخی نقاط به نام "شانی" نیز می‌شناسند. به دو رنگ سفید و قرمز تیره مایل به سیاه می‌باشد. حبه‌های آن درشت، کروی و هسته‌دار هستند، دارای خوشه استوانه‌ای، متورم و پر است. بوته‌های شاهانی، جزء ارقام کند رشد است و طول شاخه‌های آن بین ۱ تا ۱/۵ متر می‌باشد. دمبرگ، فاقد کرک بوده و رنگ آن زرد مایل به قرمز می‌باشد. انگور رقم شاهانی دارای حبه‌های گرد و خوشه‌های متراکم بوده که از لحاظ زمان رسیدن، جزء ارقام میان‌رس است (مجد و همکاران، ۱۳۹۰).

در سال‌های اخیر، کاربردهای برون‌زا محرک‌های زیستی^۵ و کودها برای بهبود تحمل گیاه به تنش‌های محیطی توجه روزافزونی از سوی محققان در سراسر جهان را به خود جلب کرده است (زوان^۶ و همکاران، ۲۰۲۲؛ حسن‌زمان^۷ و همکاران، ۲۰۲۱). در کشاورزی پایدار و ارگانیک، هدف اصلی کاربرد کودهای آلی و زیستی در افزایش کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی است (حاج سیدهادی و رضایی قلعه^۸، ۲۰۱۶). یکی از منابع مهم مواد آلی، اسیدهای آلی هستند (کریمی^۹ و همکاران، ۲۰۱۶).

اسیدفولویک، ماده‌ای با ساختار مولکولی با زنجیره کوتاه است که از اسید هیومیک طبیعی با فعالیت فیزیولوژیکی و ظرفیت بارگیری^{۱۰} بالا مشتق شده است (ایسلام^{۱۱} و همکاران، ۲۰۲۰؛ برازین^{۱۲} و همکاران، ۲۰۲۱). اسیدفولویک می‌تواند با اکسیدها، هیدروکسیدها، یون‌های فلزی، مواد آلی و مواد معدنی موجود در محیط واکنش داده و دسترسی به عناصر غذایی خاک را به‌طور موثری بهبود بخشد. همچنین این ماده، شوری خاک را کاهش داده و رشد گیاه را تقویت می‌کند (برازین و همکاران، ۲۰۲۱؛ لیو^{۱۳} و همکاران، ۲۰۲۲). اسیدفولویک علاوه بر اینکه دارای وزن مولکولی کمتری نسبت به هیومین و اسیدهیومیک می‌باشد، ظرفیت تبادل کاتیونی و اکسیژن بیشتری نسبت به آن‌ها دارد. این مولکول، دارای وزن مولکولی پایین و از نظر بیولوژیکی بسیار فعال است. به‌دلیل وزن کم و اندازه کوچک این مولکول، آمادگی ایجاد کمپلکس با عناصر مختلف و در نتیجه بالا بردن حلالیت و تحرک این عناصر در گیاه و خاک را دارد. اسیدفولویک کمک می‌کند عناصر مغذی در شرایطی کاملاً طبیعی توسط ریشه گیاه جذب و وارد سلول‌های گیاه گردد. گیاهان می‌توانند مقادیر بالایی از اسید فولویک را جذب کنند و در بافت‌های خود نگهداری و ذخیره نمایند. اسیدفولویک برای محلول‌پاشی و کشت‌های هیدروپونیک و بدون خاک نیز خیلی مؤثر و قوی است. این ترکیب ظرفیت تبادل کاتیونی را به‌شدت افزایش می‌دهد و بدین ترتیب گیاه می‌تواند مقدار عنصر بیشتری را

8. Haj Seyyedhadi and Rezai Ghale

9. Karimi

10. Loading capacity

11. Islam

12. Brazien

13. Liu

1. Saleem

2. Valipour

3. Lu

4. Kocher and Nikhanj

5. Biostimulants

6. Xuan

7. Hasanuzzaman

دکربوکسیلاز یا به‌طور غیرمستقیم توسط دکربوکسیلاسیون آرژنین توسط آرژنین دکربوکسیلاز از طریق آگماتین ساخته می‌شود. پوترسین یک ماده جامد و ترکیب شیمیایی بی‌بو است. ساختار مولکولی آن $C_4H_{12}N_2$ می‌باشد. پوترسین همانند سایر پلی‌آمین‌ها به‌عنوان فاکتورهای رشد تقسیم سلولی عمل می‌کند. با این حال، پوترسین در دوزهای بالا، سمی است (خسروشاهی، ۱۳۸۶). اسمولیت‌ها، ترکیباتی هستند که گیاهان جهت سازگاری خود با تغییرات محیطی و مقابله با تنش‌های غیرزیستی تولید می‌کنند. از جمله نقش‌های اسمولیت‌ها می‌توان با کمک به جذب آب، حفظ تورژسانس سلولی، ایجاد تعادل ردوکس سلولی و حذف مقادیر اضافی گونه‌های فعال اکسیژن اشاره کرد (قوش^{۱۲} و همکاران، ۲۰۲۱). با توجه به اهمیت ویژه اقتصادی انگور در ایران به‌ویژه در استان آذربایجان غربی، پژوهش حاضر با هدف بررسی و ارزیابی تأثیر کاربرد خاکی اسید فولویک و محلول‌پاشی برگ‌ی پوترسین بر انگور رقم شاهانی در شرایط خاک قلیایی انجام گرفت تا ضمن مطالعه اثرات خاک قلیایی بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی در انگور رقم شاهانی، اثرات دو ترکیب پوترسین و اسید فولویک در کاهش اثرات خاک قلیایی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در گلخانه و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه طی سال‌های ۹۹ تا ۱۳۹۸ به اجرا درآمد. به منظور بررسی تأثیر دو ترکیب اسیدفولویک و پوترسین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم شاهانی در شرایط خاک قلیایی، پژوهشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل اسیدفولویک (کاربرد خاکی) در چهار سطح صفر (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و تیمار پوترسین (محلول‌پاشی برگ‌ی) با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار و همچنین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین با سه تکرار اجرا شد (هر تکرار شامل یک گلدان بود). در این پژوهش، بوته‌های دوساله یک

جذب نماید. همچنین مولکول‌های اسید فولویک با نفوذ به درون بافت‌های گیاهی با پیوند به مولکول‌های آب، تعرق و تعریق گیاه را کم نموده به حفظ آب درون گیاه کمک می‌نمایند (برونیک و لای^۱، ۲۰۰۵). اسیدفولویک ممکن است در انتقال ریزمغذی‌ها از خاک به گیاه، افزایش جذب آب، افزایش سرعت جوانه‌زنی بذر، رشد ریشه و رشد شاخه‌ها کمک کند و در تحریک جمعیت میکروفلورا خاک مؤثر باشد (گیوناوردی^۲ و همکاران، ۲۰۱۶).

پلی‌آمین‌ها، به‌عنوان جارب‌کننده^۳ رادیکال‌های آزاد اکسیژن عمل نموده، جزء محلول‌های سازگار^۴ بوده، ماکرومولکول‌ها و غشاهای زیستی سلولی را در شرایط تنش تثبیت می‌نمایند و در سایر واکنش‌های گیاهی مرتبط با تنش شرکت می‌کنند. بنابراین پلی‌آمین‌ها به‌عنوان نشانگر برای دنبال نمودن تأثیر تنش‌های محیطی بر وضعیت متابولیک گیاهان استفاده می‌شوند (لچوسکا^۵ و همکاران، ۲۰۲۱). آلکازار^۶ و همکاران، ۲۰۲۰. مطالعات مختلفی نقش پلی‌آمین‌ها را در گیاهان در تنش‌های مختلفی مانند دما، خشکی، شوری، فلزات سنگین و غیره گزارش کرده‌اند (تیاجی^۷ و همکاران، ۲۰۲۳).

پلی‌آمین‌ها در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک مانند رشد و نمو گیاهان، جوانه‌زنی بذر، اندام‌زایی، چوبی شدن بافت، ریزش، پیری، جنین‌زایی، گلدهی، گرده‌افشانی، نمو میوه و رسیدن نقش دارند (تیاجی و همکاران، ۲۰۲۳). از مکانیسم‌های رایج عمل پلی‌آمین‌ها در گیاهان، حذف گونه‌های فعال اکسیژن از طریق فعال‌سازی سیستم آنتی‌اکسیدانی و محافظت از مولکول‌های زیستی و غشاهای زیستی می‌باشد (چادھاری^۸ و همکاران، ۲۰۲۳؛ تری‌پاتی^۹ و همکاران، ۲۰۲۳). کاربرد پلی‌آمین‌ها در تنباکوی تراریخته^{۱۰} منجر به رشد رویشی سریع از جمله سطح برگ بزرگتر و ارتفاع گیاه بیشتر از گیاهان نوع وحشی شد (زو^{۱۱} و همکاران، ۲۰۲۰). یکی از مهم‌ترین پلی‌آمین‌ها، پوترسین می‌باشد. پوترسین از چهار دی‌آمین کربن تشکیل شده است که از دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه مثل آرژنین و اورنیتین ایجاد می‌شود. پوترسین از دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه مثل اورنیتین، کاتالیز شدن اورنیتین

7. Tyagi
8. Choudhary
9. Tripathi
10. *Nicotiana tabacum*
11. Zhu
12. Ghosh

1. Bronick and Lai
2. Giovanardi
3. Scavenger
4. Compatible solutes
5. Lechowska
6. Alcázar

دست و هم‌اندازه انگور رقم شاهانی از یک نهالستان تجاری واقع در استان آذربایجان غربی، تهیه و به گلدان‌هایی به ابعاد ۲۵×۲۷ سانتی‌متر منتقل شدند به نحوی که هر گلدان محتوی یک نهال بود. زمان کاشت نهال‌ها در گلدان، اردیبهشت‌ماه ۱۳۹۸ بود. گیاهان در گلخانه‌ای با شرایط نوری ۱۶ ساعت طول روز و دمای بین ۱۸ تا ۲۸ درجه

سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد مستقر شدند. قبل از شروع تیمارها، کل بوته‌ها به صورت تک‌شاخه و یکنواخت هرس شده و به قیم بسته شدند. محیط کشت در این گلدان‌ها شامل خاک قلیایی بود. برخی ویژگی‌های محیط کشت گلدان‌ها در جدول ۱ بیان شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش حاضر

آهک Mg kg ⁻¹	EC (ds. m ⁻¹)	pH	شن	سیلت	رس	CEC (cmol ⁺ . kg ⁻¹)
۱۶/۷	۰/۸۵	۸/۲	۲۳ درصد	۳۵ درصد	۴۲ درصد	۳۳ درصد
درصد ماده آلی	مس (mg kg ⁻¹)	روی (mg kg ⁻¹)	آهن (mg kg ⁻¹)	نیتروژن (%)	فسفر (mg kg ⁻¹)	پتاسیم (mg kg ⁻¹)
۰/۹	۰/۲	۱	۴	۰/۱۴	۵	۱۲۰

یک ماه پس از استقرار کامل بوته‌ها در گلدان، تیمارها اعمال شد (شروع تیمارها اول خرداد ماه بود). طول دوره آزمایش، یک ماه بود و هفته اول تیرماه ۱۳۹۸، نمونه‌گیری از بوته‌ها آغاز گردید. تیمارهای اسیدفولویک و پوترسین در سه مرحله، ابتدا یک ماه بعد از کاشت نهال‌ها در گلدان و مراحل بعدی به ترتیب ۱۵ و ۳۰ روز بعد استفاده شد. به منظور بررسی برخی از ویژگی‌های رویشی گیاهان در انتهای آزمایش (یک هفته بعد از آخرین محلول‌پاشی پوترسین و کاربرد اسیدفولویک به صورت خاکی)، صفاتی نظیر طول ریشه با استفاده از خط‌کش، سطح برگ توسط دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf Area Meter, AM 200) اندازه‌گیری گردید (سه برگ بالغ از قسمت‌های مختلف میانی انتخاب و سطح آن‌ها توسط دستگاه سطح‌سنج اندازه‌گیری شد). همچنین تعداد برگ‌ها شمارش شد.

برای اندازه‌گیری رنگی‌های کلروفیل و کاروتنوئید از روش لیچتن‌هالر و ویلبورن^۱ (۱۹۸۵) استفاده شد. ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور (RCF)، سانتریفیوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌های سانتریفیوژ شده توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۲ نانومتر، ۶۴۵ نانومتر و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه کلروفیل a، b و کاروتنوئید از روابط ۱، ۲ و ۳ استفاده شد:

$$\text{رابطه ۱} \quad \text{Chl a} = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{Chl b} = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662} \quad \text{رابطه ۳} \quad \text{Car} = 22.70 A_{470} - 1000 \text{Chl a} - 81.4 \text{Chl b}$$

در این رابطه Chla، Chlb و Car به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید می‌باشد (A میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد). اندازه‌گیری شاخص کلروفیل (SPAD) توسط دستگاه سنجش شاخص کلروفیل (SPAD) مدل Konika Minolta Saka Japan 502، صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ به همراه ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در داخل هاون چینی کوبیده و له شد. قسمت بالایی محلول حاصله، جدا گشته و رسوبات آن دو بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد شستشو شده و فاز بالایی آن به قسمت رویی قبلی اضافه گردید. محلول به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰ دور (RCF)، سانتریفیوژ گردید. سپس فاز رویی برداشته شده و عصاره الکلی به دست آمده تا زمان اندازه‌گیری پرولین در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (اریگوین^۲ و همکاران، ۱۹۹۲). برای تعیین غلظت پرولین، یک میلی‌لیتر از عصاره الکلی تهیه شده با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده و به هم زده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین (به ازای هر نمونه ۰/۱۲۵ گرم نین‌هیدرین، ۲ میلی‌لیتر فسفریک اسید ۶ مولار) و ۵ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال به آن اضافه گردید و به صورت دستی هم زده شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تمام تیمارها و تکرارها با استفاده از روش ناکانو و آسادا^۵ (۱۹۸۱) سنجیده شد. محلول واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH=7، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آسکوربات سدیم یک میلی‌مولار، ۰/۲ میلی‌لیتر (۲۰۰ میکرولیتر) H_2O_2 یک درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر (۱۰۰ میکرولیتر) عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت این آنزیم از ضریب خاموشی $2.8 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و رابطه ۶ استفاده شد.

رابطه ۶

$$\text{Units } \left(\frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta OD / \text{min}(\text{slope}) \times \text{Vol. of assay (0.0003)}}{\text{Extinction Coefficient (2.8)}}$$

تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد بررسی از نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌های تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. همچنین برای رسم شکل از نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شاخص‌های مورفولوژیک و رنگی‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای مختلف اسید فولویک و پوترسین در انگور رقم شاهانی قرار گرفتند (جدول ۲).

تعداد برگ

اثرات اصلی اسیدفولویک و پوترسین در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ معنی‌دار شد، اما اثرات متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۲). کاربرد پوترسین و اسیدفولویک تأثیر مثبت در افزایش تعداد برگ داشت. تعداد برگ در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب ۳/۹۴، ۵/۲۱ و ۵/۵۳ درصد و در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به ترتیب ۴/۹۷، ۵/۴۳ و ۸/۳۳ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد. بیشترین

محلول حاصله به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آبگرم (بن‌ماری) با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از خنک شدن آن‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر بنزن به آن اضافه شد و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن گردد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حالت سکون رها شدند و در نهایت یک میلی‌لیتر از فاز بالایی نمونه‌ها برداشته شد و با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت گردید. استانداردهای پرولین از غلظت صفر تا ۰/۱ میکرومول بر میلی‌لیتر تهیه شد و جذب آن به همراه نمونه‌ها خوانده شد (پاکوئین و لی‌چاسور^۱، ۱۹۷۹).

برای تهیه عصاره گیاهی جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از روش کانگ و سالت‌ویت^۲ (۲۰۰۲) استفاده شد (از برگ تازه برای تهیه عصاره آنزیمی استفاده شد). سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از روش ایبی^۳ (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت کاهش در جذب طی یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از ضریب خاموشی $(43.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})$ و از رابطه ۴ استفاده شد.

رابطه ۴

$$\text{Units } \left(\frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta OD / \text{min}(\text{slope}) \times \text{Vol. of assay (0.0003)}}{\text{Extinction Coefficient (43.6)}}$$

$$\frac{\Delta OD}{\text{min}(\text{slope})} = \text{اختلاف بین دو قرائت در یک دقیقه}$$

$$\text{Vol. of assay (0.0003)} = \text{حجم محلول داخل سل}$$

$$\text{Extinction coefficient (43.6)} = \text{ضریب خاموشی}$$

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش اپدیا^۴ و همکاران (۱۹۸۵) انجام گرفت. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش در جذب طی ۱ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شد. برای سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز از ضریب خاموشی $(26.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})$ استفاده شد.

رابطه ۵

$$\text{Units } \left(\frac{\text{mM}}{\text{min}} \right) = \frac{\Delta OD / \text{min}(\text{slope}) \times \text{Vol. of assay (0.0001)}}{\text{Extinction Coefficient (26.6)}}$$

4. Updhyaya
5. Nakano and Asada

1. Paquin and Lechasseur
2. Kang and Saltveit
3. Aebi

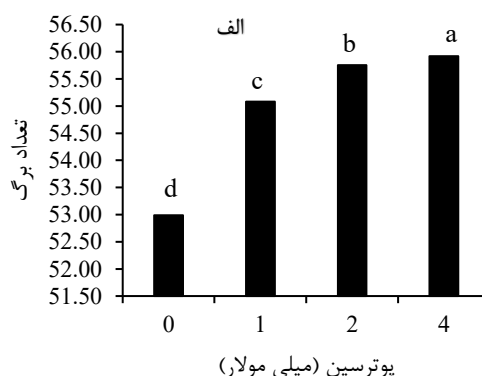
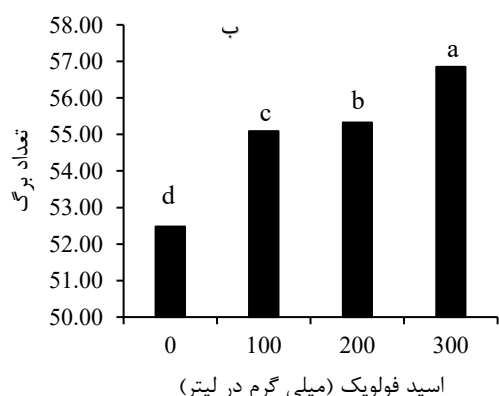
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف اسید فولویک و پوترسین و برهمکنش آن‌ها بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیک و رنگی‌های فتوسنتزی انگور رقم شاهانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	سطح برگ	طول ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	شاخص کلروفیل	میانگین مربعات
اسیدفولویک	۳	۱۲۳**	۳۵۲*	۲۴/۳۰*	۲۵**	۱۹/۱۰**	۲۷/۱۲**	۲۰۳**	
پوترسین	۳	۱۵۸**	۳۲۲ ^{ns}	۲۹/۷۰**	۱۸/۹۰*	۱۶/۳۰**	۲۵/۸۰**	۳۰۴**	
اسیدفولویک × پوترسین	۹	۸۰ ^{ns}	۶۴ ^{ns}	۱/۱۰ ^{ns}	۳/۶۰*	۲۳**	۴/۱۳ ^{ns}	۱۴۹**	
خطای آزمایش	۱۵	۴۷	۵۹	۶/۸۰	۲/۲۰	۱۹	۳/۲	۳۷	
ضریب تغییرات (درصد)	-	۵/۸۸	۴/۹۸	۹/۴۷	۱۱/۶۰	۹/۲۰	۷/۶۰	۱۲/۳۰	

ns، * و **: به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

(روستا^۱ و همکاران، ۲۰۱۶). در خاک‌های قلیایی به دلیل بالا بودن pH به همراه افزایش غلظت کربنات و بی‌کربنات، سبب کاهش حلالیت عناصر غذایی به‌ویژه عناصر ریزمغذی شده و رشد گیاه را مختل می‌کند (والدیز آگویلار و رید^۲، ۲۰۰۸). یکی از دلایل اصلی بروز مشکلات تغذیه‌ای در

تعداد برگ در غلظت‌های ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک و ۴ میلی‌مولار پوترسین مشاهده گردید (شکل ۱، الف و ب). pH محیط کشت، یک فاکتور کلیدی در محدودیت رشد و نمو گیاه تحت شرایط خاک قلیایی محسوب می‌شود



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات اصلی پوترسین و اسیدفولویک بر تعداد برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها طبق آزمون دانکن می‌باشد.

توده گیاهی به‌عنوان یک شاخص قابل اعتماد برای ارزیابی میزان آسیب و قابلیت تحمل گیاه به تنش عمل می‌نماید (سون^۳ و همکاران، ۲۰۲۰).

در پژوهش حاضر، غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک و غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین، بیشترین تأثیر را در بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک در خاک قلیایی نشان دادند. تشکیل کمپلکس میان یون‌های معدنی

محیط رشد گیاهان، وجود غلظت‌های زیاد بی‌کربنات در محلول خاک و محیط ریشه است که دلیل آن به‌وجود آهک فراوان در خاک بر می‌گردد. بی‌کربنات از طریق افزایش pH شیره سلولی درون آوندها و در نهایت رسوب و غیرفعال شدن برخی از عناصر غذایی از جمله فسفر، آهن، روی و نیز تأثیرات برهمکنشی آن با سایر یون‌ها، سبب ایجاد اختلال در رشد می‌گردد (ملکوتی و همایی، ۱۳۸۳). کاهش زیست

نیتروژن برای رشد و نمو گیاه و پاسخ به تنش بسیار مهم هستند.

سطح برگ

اثر اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال ۵ درصد بر سطح برگ معنی‌دار شد ولی اثر اصلی پوترسین و اثرات متقابل اسیدفولویک و پوترسین معنی‌دار نگردید (جدول ۲). سطح برگ در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به ترتیب ۳/۲، ۴/۹۴ و ۵/۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (شکل ۲).

حبابه^۵ و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند در جنس *Populus euramericana* که پوترسین در غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام بیشترین تأثیر را بر سطح برگ و وزن تر و خشک برگ داشت. نقش اسپرمین در افزایش رشد گیاهان نسبت به شرایط تنش احتمالا مربوط به اثر آنتی‌اکسیداتیو، کمک به تعادل کاتیون-آنیون و یا احتمالا عمل به‌عنوان منبع نیتروژن بوده است (کانگ^۶ و همکاران، ۲۰۱۶). کاربرد پلی آمین‌ها به‌ویژه اسپرمین و اسپرمیدین باعث افزایش فتوسنتز، افزایش جاروب‌کنندگی گونه‌های فعال اکسیژن و بهبود رشد گیاه می‌گردد (ال‌سید^۷ و همکاران، ۲۰۲۲).

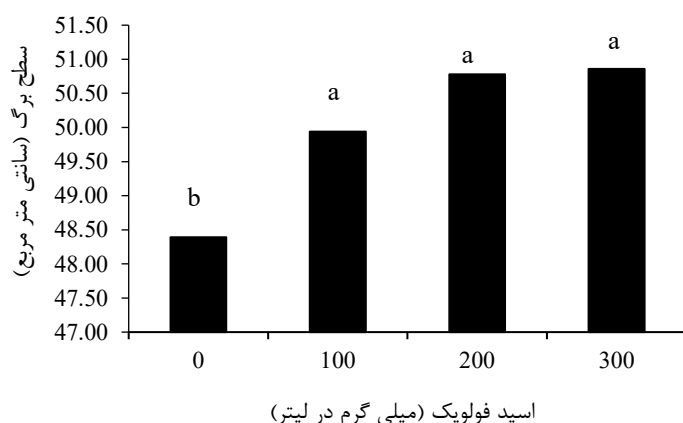
تأثیر مثبت پوترسین بر رشد رویشی را می‌توان به ارتباط آن با جذب عناصر غذایی نسبت داد که نقش مهمی در تنظیم تقسیم سلولی، تمایز و رشد ایفاء می‌نماید (تیالا^۸ و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش تعداد برگ تحت تأثیر پلی‌آمین پوترسین در این پژوهش با مطالعه موحد^۹ و همکاران (۲۰۱۰) در رابطه با کاربرد اسپرمیدین و پوترسین در توت فرنگی همخوانی دارد. افزایش تعداد برگ گیاهان در اثر تیمار با پلی‌آمین‌ها توسط برخی پژوهش‌گران دیگر نیز گزارش شده است (طلعت^{۱۰} و همکاران، ۲۰۰۵). ممکن است تأثیر مثبت پوترسین بر رشد از طریق افزایش تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول‌ها باشد (کائورساوونی^{۱۱} و همکاران، ۲۰۰۳) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت. در پژوهش حاضر، غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فلولویک بیشترین تأثیر را در افزایش سطح برگ داشت که این افزایش را می‌توان به تأثیر مثبت اسید فلولویک بر

و اسیدفولویک، تأثیر اسیدفولویک بر تنفس و فتوسنتز، محتوای پروتئین، تحریک متابولیسم اسیدنوکلئیک، فعالیت آنزیم‌ها و فعالیت هورمونی اسیدفولویک از جمله دلایل مؤثر تأثیر اسیدفولویک بر شاخص‌های رویشی گیاهان است (ال‌مونجی^۱ و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین اسیدفولویک از طریق تأثیرات مثبت فیزیولوژیک از جمله تأثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و افزایش غلظت کلروفیل برگ، افزایش عملکرد گیاهان را در پی خواهد داشت. اسید فلولویک با افزایش جذب عناصر غذایی از راه ویژگی‌های کلات‌کنندگی و احیاء‌کنندگی و حفظ نفوذپذیری غشاء، افزایش متابولیسم ریزجانداران، بهبود وضعیت فیزیکی خاک، سبب افزایش رشد ریشه و ساقه می‌گردد (نیکبخت و همکاران، ۱۳۸۹). همچنین اسیدفولویک به‌عنوان عامل کلات‌کنندگی، مانع از تشکیل رسوب، تثبیت، آب‌شویی و اکسیداسیون عناصر غذایی در خاک می‌شود (ایشوار^۲ و همکاران، ۲۰۱۷).

در پژوهش حاضر، غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فلولویک بیشترین تأثیر را بر تعداد برگ داشت که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان داد. در پژوهش حاضر، افزایش در تعداد برگ تحت تأثیر اسیدفولویک، احتمالا به دلیل گسترش سریع سیستم ریشه‌ای گیاه در غلظت‌های زیادتر اسیدفولویک می‌باشد که این خود منجر به افزایش جذب بیشتر عناصر غذایی، رشد بهتر گیاه و به‌دنبال آن افزایش تعداد برگ می‌شود. از طرفی در مطالعه حاضر تعداد برگ‌ها تحت تأثیر کاربرد پوترسین هم قرار گرفت و با افزایش سطح پوترسین تا ۲ میلی‌مولار، افزایش یافت، هرچند که بین غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. پلی‌آمین‌ها نقش مهمی در تنظیم پاسخ گیاهان به تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفاء می‌نمایند (رمضان^۳ و همکاران، ۲۰۲۲). پلی‌آمین‌ها به عنوان منبع نیتروژن عمل می‌کنند و رشد را تحریک می‌کنند. پلی‌آمین‌ها از نظر فیزیولوژیکی نقش مهمی در جذب و متعادل کردن نسبت C:N و در نتیجه رشد و پاسخ گیاه به تنش دارند (مصطفوی^۴ و همکاران، ۲۰۱۸). کربن و

7. ElSayed
8. Thialla
9. Movahed
10. Talaat
11. Kaur-Sawhney

1. Elmongy
2. Eshwar
3. Ramazan
4. Mustafavi
5. Habba
6. Gong



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات اصلی اسید فولویک بر سطح برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها طبق آزمون دانکن می‌باشد.

نشان داد. اسیدفولویک، جذب نیترات و فعالیت آنزیم ATPase را در غشاء پلاسمایی سلول‌های ریشه افزایش می‌دهد که به‌نظر می‌رسد فعال‌شدن پمپ پروتون غشاء، پاسخ اولیه به اسیدفولویک در جذب عناصر غذایی باشد. اسیدفولویک با حفظ نفوذپذیری، حفظ ساختمان خاک و در دسترس قراردادن عناصر غذایی، همچنین به‌دلیل تأثیرات مشابه اکسین سبب افزایش رشد ریشه می‌گردد (فاطی^۴ و همکاران، ۲۰۱۰). احتمال دارد این افزایش به این دلیل باشد که اسید فولویک می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر فیزیولوژی گیاه داشته باشد و سبب توسعه ریشه و ریشه‌های جانبی گردد (کوردیرو^۵ و همکاران، ۲۰۱۱). مخلوط‌کردن اسیدفولویک با خاک، سبب تحریک رشد و تکثیر ریشه می‌شود که در نهایت این افزایش در رشد ریشه به جذب مواد غذایی از خاک کمک می‌کند. اسیدفولویک سبب افزایش طول، تعداد ریشه و تحریک تولید ریشه‌های فرعی می‌گردد و به‌طور کلی ریشه‌زایی بیشتر از شاخساره تحت تأثیر اسیدفولویک قرار می‌گیرد (ناردی^۶ و همکاران، ۲۰۰۲). پژوهش‌ها نشان داده که پلی‌آمین‌ها در فرایند نمو ریشه دخالت دارند و کاربرد پلی‌آمین‌های خارجی موجب بهبود ساختار ریشه از طریق افزایش درصد ریشه‌های باریک و موئین و کاهش ریشه‌های ضخیم می‌شود. این تغییرات موجب بهبود جذب عناصر و افزایش غلظت آنها در گیاه می‌شود. از سوی دیگر پلی‌آمین‌ها می‌توانند به‌عنوان منبع نیتروژن اضافی برای گیاه عمل کنند و موجب افزایش

افزایش سطح برگ‌ها و زیست‌توده گیاه دانست (اکینچی^۱ و همکاران، ۲۰۰۹). اسیدفولویک به‌دلیل افزایش میزان نیتروژن گیاه، سبب افزایش شاخص سطح برگ می‌گردد (شریف^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). سطح برگ بیشتر به‌دلیل دریافت بیشتر نور و افزایش فتوسنتز می‌تواند عاملی تأثیر گذار در تجمع ماده خشک در گیاه باشد. یکی از مهم‌ترین خواص اسید هیومیک‌ها که اسید فولویک مهمترین نمونه آن است این است که هم به آزادسازی عناصر تثبیت شده در خاک‌های قلیایی کمک می‌کند (آنلو^۳ و همکاران، ۲۰۱۱) و هم عناصر اضافی موجود را در خود ذخیره کرده و در زمان مورد نیاز در اختیار ریشه قرار می‌دهد و به این ترتیب به رشد گیاه کمک می‌نماید (ایشوار و همکاران، ۲۰۱۷).

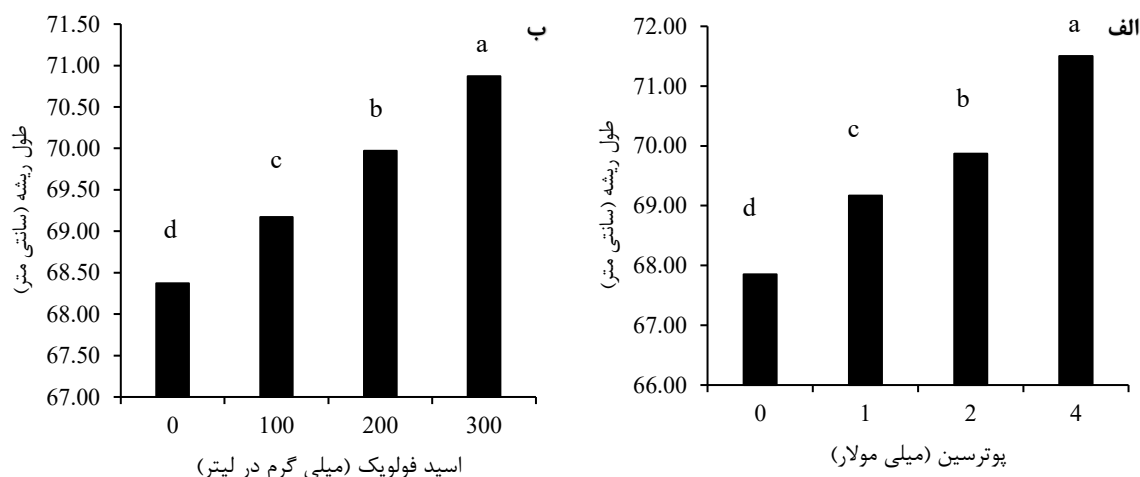
طول ریشه

براساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، اثرات اصلی اسید فولویک در سطح احتمال پنج درصد و پوترسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. میزان افزایش طول ریشه در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک به‌ترتیب ۱/۱۷، ۲/۳۳ و ۳/۶۶ درصد و در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به‌ترتیب ۱/۹۴، ۲/۹۸ و ۵/۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشت (شکل ۲- الف و ب).

با کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک، بیشترین طول ریشه به‌دست آمد و اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد

4. Fathy
5. Cordeiro
6. Nardi

1. Akinci
2. Sharif
3. Unlu



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات اصلی پوترسین و اسید فولویک بر طول ریشه انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

هر دو تیمار بر شاخص کارتنوئید معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان کارتنوئید در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به ترتیب ۱۱/۷۵، ۱۵/۲۶ و ۱۶/۱۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت و در غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب ۶/۹، ۱۲/۱ و ۱۵/۵۲ درصد در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد (شکل ۶- الف و ب).

شاخص کلروفیل (SPAD)

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثرات اصلی و متقابل اسیدفولویک و پوترسین در سطح احتمال یک درصد بر میزان شاخص کلروفیل معنی‌دار شد. افزایش سطح هر دو تیمار اسیدفولویک و پوترسین سبب افزایش معنی‌دار شاخص کلروفیل در برگ گردید. بیشترین میزان شاخص کلروفیل (۳۸/۵ اسپد) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به همراه پوترسین ۲ و ۴ میلی‌مولار مشاهده شد. میزان افزایش شاخص کلروفیل در این تیمار در مقایسه با شاهد ۱/۵ برابر گزارش گردید (شکل ۷).

کاربرد اسیدفولویک و پوترسین، تأثیر مثبت بر مقادیر کلروفیل a، b، کارتنوئید و شاخص کلروفیل داشت. بیشترین مقادیر کلروفیل a در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید فولویک و ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد. خاک‌های قلیایی به دلیل دارا بودن pH زیاد بر ساختار و عملکرد ریشه مانند جذب آب و یون‌ها، تأثیر منفی گذاشته و باعث کاهش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و اختلال در سیستم غشایی

رشد ریشه گیاه شوند (کینگ-شنگ^۱ و همکاران، ۲۰۱۲؛ کوسانو^۲ و همکاران، ۲۰۰۸).

کلروفیل a

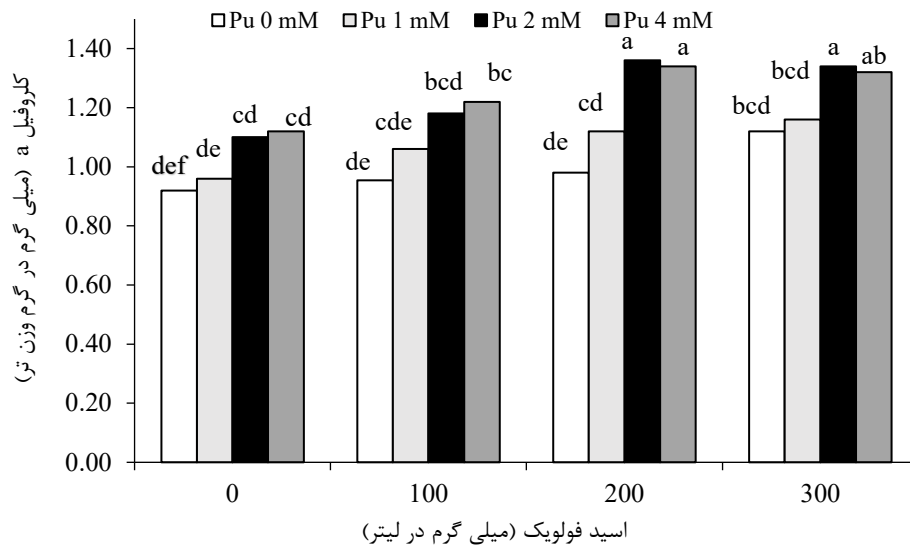
بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲)، اثرات اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال یک درصد و پوترسین در سطح احتمال ۵ درصد و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان کلروفیل a معنی‌دار گردید. میزان کلروفیل a در تیمار شاهد (بدون کاربرد پوترسین و اسیدفولویک) ۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. بالاترین میزان این شاخص (۱/۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر)، در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید فولویک به همراه ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد (شکل ۴).

کلروفیل b

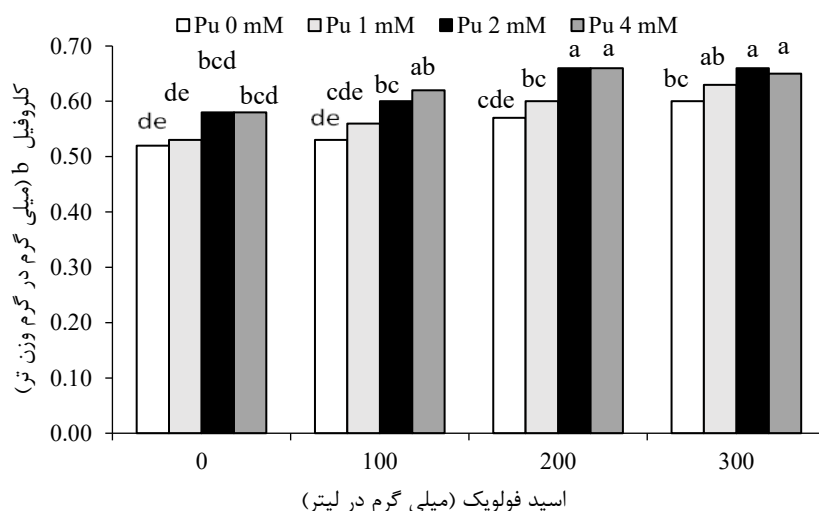
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثرات اصلی غلظت‌های مختلف اسیدفولویک و پوترسین و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل b معنی‌دار گردید. با افزایش سطوح اسیدفولویک و پوترسین، مقادیر مربوط به کلروفیل b افزایش یافت. بیشترین میزان کلروفیل b در تیمارهای ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به همراه تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین مشاهده شد (شکل ۵).

کارتنوئید

اثرات اصلی اسیدفولویک و پوترسین در سطح احتمال یک درصد بر میزان کارتنوئید معنی‌دار گردید، اما اثرات متقابل



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک (میلی گرم در لیتر) و پوترسین (Pu) (میلی مولار) بر میزان کلروفیل a انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.



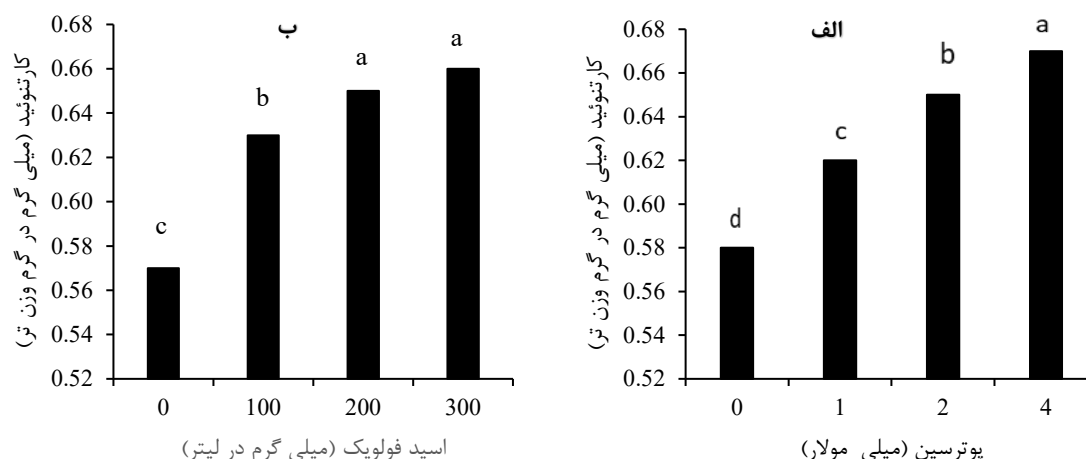
شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک (میلی گرم در لیتر) و پوترسین (Pu) (میلی مولار) بر میزان کلروفیل b انگور رقم شاهانی. حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

در پژوهش حاضر، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی با کاربرد اسیدفولویک افزایش نشان داد. در مطالعات قبلی، نقش مثبت اسیدفولویک برای افزایش محتویات رنگدانه‌های فتوسنتزی گوجه‌فرنگی^۱ در شرایط گلخانه (سو^۲ و همکاران، ۲۰۱۴) و بومادران^۳ در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه (بیات^۴ و همکاران، ۲۰۲۱) به اثبات رسید. در نارتج سه‌برگ^۵ کاربرد

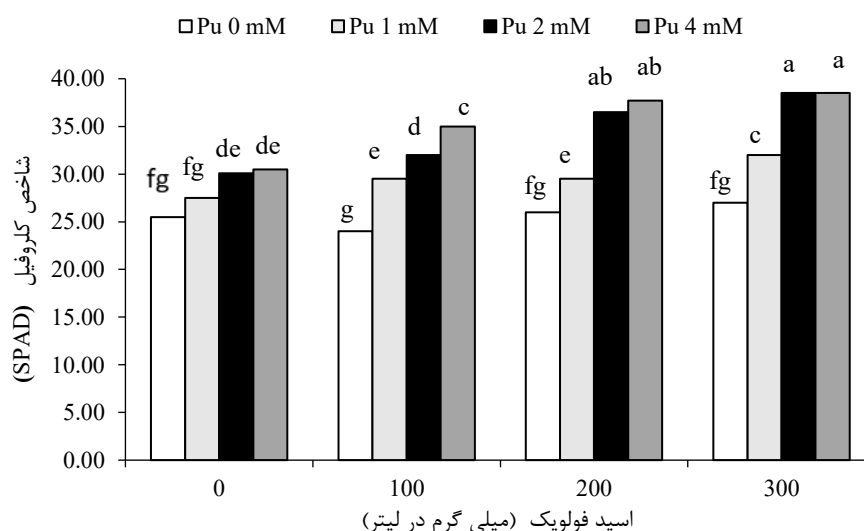
می‌شود (روستا و همکاران، ۲۰۱۶). اسیدهیومیک، سبب افزایش جذب عناصر غذایی و افزایش متابولیسم درون سلولی می‌شود، همچنین از طریق افزایش میزان کلروفیل برگ‌ها سبب ماندگاری بیشتر برگ‌ها و افزایش سرعت فتوسنتز می‌گردد (ناردی و همکاران، ۲۰۰۲).

4. Bayat
5. *Poncirus trifoliata*

1. *Lycopersicon esculentum* L.
2. Suh
3. *Achillea millefolium* L.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات اصلی پوترسین و اسید فولویک بر میزان کارتنوئید در برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین (Pu) بر میزان شاخص کلروفیل انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

تقسیم سلولی و تکثیر در تمامی سلول‌ها حیاتی‌اند و در فرایندهای مختلف رشد و نمویی از جمله عملکرد رنگیزه‌ها، سنتز پروتئین‌ها، یکپارچگی ساختار اسیدهای نوکلئیک و یکپارچگی غشاء سلولی دخیل هستند (والاس^۲، ۲۰۰۹). پلی‌آمین‌ها ساختار و عمل غشاءهای دخیل در فرایندهای فتوسنتزی را تنظیم می‌نمایند. مشخص شده است که تغییرات بار سطح این غشاءها باعث تغییر در ساختار کمپلکس‌های پروتئین رنگدانه می‌شود. کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب حفظ پایداری غشاءهای کلروپلاست و مانع از تجزیه کلروفیل می‌شوند (اثنی‌عشری و زکایی‌خسروشاهی، ۱۳۸۷).

پتاسیم فولویک اسید باعث افزایش کلروفیل a, b و کاروتنوئید به ترتیب به میزان ۳۰/۰۹، ۱۷/۵۵ و ۲۷/۴۳ درصد گردید (زنگ^۱ و همکاران، ۲۰۲۳). احتمالاً بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان تغذیه شده با اسید فولویک، ناشی از تأثیر مثبت این ماده بر بهبود جذب عناصر غذایی و در نتیجه افزایش کلروفیل در انگور تحت شرایط خاک قلیایی می‌باشد.

در سلول‌های گیاهی، پلی‌آمین‌ها در دیواره سلولی، هسته، واکوئل‌ها، میتوکندری و کلروپلاست‌ها قرار دارند (اثنی‌عشری و زکایی‌خسروشاهی، ۱۳۸۷). پلی‌آمین‌ها برای

احتمالا پلی‌آمین‌ها از طریق ممانعت از فعالیت پراکسیدازها از تجزیه کلروفیل جلوگیری می‌کنند (ناهید^۱ و همکاران، ۲۰۰۹).

یکی از فاکتورهایی که بر محتوای کلروفیل یا سبزی برگ‌ها تأثیر می‌گذارد، وضعیت نیتروژن گیاه است. کمبود نیتروژن می‌تواند از شکل‌گیری کلروفیل ممانعت کند و موجب کاهش در میزان کلروفیل برگ شود (نجم^۲ و همکاران، ۲۰۱۲). از آنجا که اتیلن سبب تجزیه کلروفیل می‌شود، پلی‌آمین‌ها به‌ویژه پوترسین به‌علت نقش ضداتیلنی که دارند مانع از تولید آنزیم‌های مداخله‌کننده در ساخت اتیلن می‌شوند و از تولید رادیکال‌های آزاد که سبب تجزیه کلروفیل می‌شوند جلوگیری می‌کنند. همچنین پلی‌آمین‌ها از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک در غشاء تیلاکوئید از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کنند (والرو^۳ و همکاران، ۲۰۰۲). پلی‌آمین‌ها از بیوسنتز اتیلن و سایر فرایندهای تخریبی همراه با پیری از جمله کاهش کلروفیل، افزایش نشت غشاء و افزایش فعالیت ریبونوکلئاز و پروتئاز جلوگیری می‌نمایند (اثنی‌عشری و زکایی‌خسروشاهی، ۱۳۸۷). پلی‌آمین‌های برون‌زاد تجزیه کلروفیل در پروتوپلاست‌ها را به تعویق انداخته و مانع فعالیت آنزیم پروتئاز می‌شوند. مشاهده گردیده است در برگ‌های جدا شده از بسیاری از گیاهان، پلی‌آمین‌ها مانع از افزایش فعالیت RNase شده و همچنین پلی‌آمین‌ها افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز را به عقب انداخته و آن را کاهش می‌دهند. تیمار مذکور از تجزیه کلروفیل نیز جلوگیری می‌نماید. احتمالا تمامی این نتایج با نقش ضداتیلنی پلی‌آمین‌ها مرتبط می‌باشد (اثنی‌عشری و زکایی‌خسروشاهی، ۱۳۸۷). همچنین پلی‌آمین‌ها با سنتز هورمون‌های سایتوکینین مرتبط می‌باشند بنابراین یکی از وظایف مهم سایتوکینین‌ها تأخیر در پیری برگ‌ها است (هووانگ^۴ و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین با توجه به نقش ضداتیلنی پلی‌آمین‌ها و ارتباط آنها با سنتز سایتوکینین‌ها و همچنین با ممانعت در فعالیت آنزیم‌های پروتئاز و RNase، پوترسین احتمالا مانع از تجزیه کلروفیل شده که در پژوهش حاضر بیشترین تأثیر را پوترسین در غلظت‌های دو و چهار میلی‌مولار داشت. در پژوهش حاضر با افزایش غلظت پوترسین، محتوای

کاروتنوئید برگ نیز افزایش یافت. کاروتنوئیدها رنگیزه‌هایی هستند که در تمامی برگ‌های سبز و همچنین در قسمت‌های بدون سبزینه گیاه یافت می‌شوند. در برگ‌های سبز، کاروتنوئیدها همراه با کلروفیل در داخل کلروپلاست قرار دارند که در اثر غالب بودن رنگ سبز کلروفیل، رنگ زرد یا نارنجی آنها مخفی می‌باشد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۸۹). در پژوهشی در میوه‌های گوجه‌فرنگی با بیان بالای ژن سنتزکننده آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌آمین‌ها، نتایج نشان داد که گوجه‌فرنگی‌های تراریخت نسبت به گوجه فرنگی‌های وحشی دارای مقادیر بیشتری از انواع کاروتنوئیدها هستند. آنالیز وابسته به رونویسی نشان داد که تغییر در محتوای پلی‌آمین در میوه‌های تراریخت، وضعیت پایدار سطوح رونویسی ژن‌های درگیر در متابولیسم کاروتنوئید را تحت تأثیر قرار داد و منجر به افزایش در محتوای کاروتنوئید گردید (نیلی^۵ و همکاران، ۲۰۱۱).

پرولین

اثرات اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال یک درصد و پوترسین در سطح احتمال ۵ درصد و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر میزان پرولین برگ معنی‌دار شد. بیشترین میزان پرولین در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به‌همراه تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به‌دست آمد. میزان افزایش پرولین در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک همراه با تیمار ۴ میلی‌مولار پوترسین به‌ترتیب ۱/۵۸، ۱/۶۱ و ۱/۷۴ برابر شاهد حاصل شد (شکل ۸).

در پژوهش حاضر، بیشترین میزان پرولین مربوط به غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار اسیدفولویک و غلظت‌های دو و چهار میلی‌مولار پوترسین بود. گیاهان در پاسخ به تنش اکسیداتیو، سیستم‌های محافظتی خود را فعال می‌کنند (علی^۶ و همکاران، ۲۰۲۲) و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین، قندهای محلول، پروتئین‌های محلول و گلیسین بتائین را می‌سازند (اوزتورک^۷ و همکاران، ۲۰۲۱). اسمولیت‌ها، ترکیبات غیرسمی هستند که غالبا در سیتوپلاسم سلول‌ها یافت می‌شوند و با تنظیم اسمزی سلول‌ها از آن‌ها محافظت می‌کنند (نعیم^۸ و همکاران، ۲۰۲۲). نقش اساسی اسمولیت‌های آلی (مانند قندهای

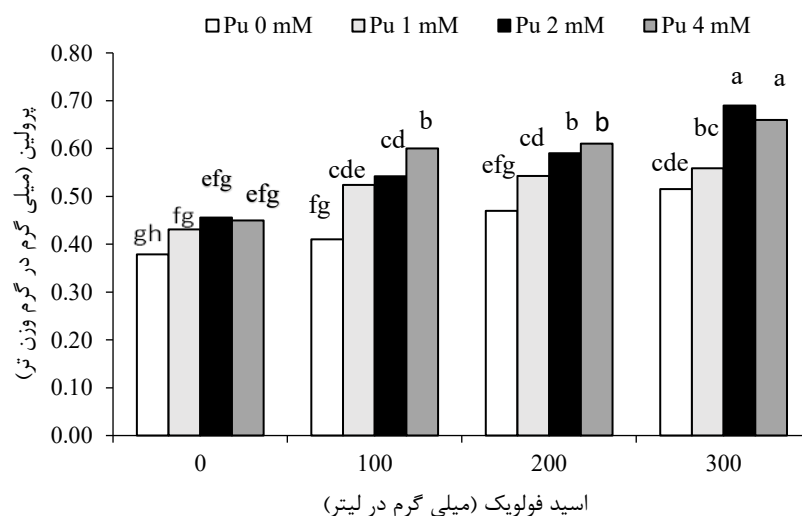
5. Neily
6. Ali
7. Ozturk
8. Naeem

1. Nahed
2. Najm
3. Valero
4. Hwang

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف اسید فولویک و پوترسین و برهمکنش آن‌ها بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی انگور رقم شاهانی

میانگین مربعات					منابع تغییرات
آسکورات	گایاکول	کاتالاز	پرولین	درجه آزادی	
پراکسیداز	پراکسیداز				
۱۶/۸۲**	۳۲/۱۰**	۲۸/۷۰**	۳/۶۲**	۳	اسید فولویک
۱۵/۳۳**	۲۸/۱۷*	۴/۰۲*	۲/۴۳*	۳	پوترسین
۱۴/۹۱**	۲۲/۴۱*	۳/۰۴*	۱/۹۸*	۹	اسید فولویک × پوترسین
۴/۳۲	۵/۸۳	۲/۹۸	۰/۶۹	۱۵	خطا
۱۵/۵۰	۱۴/۳۰	۱۳/۶۰	۹/۴۰	-	ضریب تغییرات (درصد)

ns: به ترتیب نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۸- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین (Pu) بر میزان پرولین در برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

تنش، محافظت می‌نماید (وربروگن و هرمان^۵، ۲۰۱۰). پرولین با جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن، باعث کاهش آسیب نوری در غشای تیلکوئیدها می‌گردد (زبادوز و ساوور^۵، ۲۰۱۰). در پژوهشی در برخی ارقام انگور تحت تنش کمبود آهن با کاربرد بی‌کربنات ۱۰ میلی‌مولار، غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در برگ افزایش یافت کریمی و سلیمی^۶، ۲۰۲۱). در مطالعه ساحین^۷ و همکاران (۲۰۲۲) در پایه‌های گل‌ابی در محیط درون‌شیشه‌ای مشاهده شد که میزان پرولین با کمبود آهن در محیط کشت افزایش یافت. در پژوهشی در چهار رقم انگور در شرایط فقر آهن مستقیم و در حضور بی‌کربنات مشاهده گردید که میزان پرولین تحت تیمار بی‌کربنات زیاد به طور

محلول، پروتئین‌های محلول و پرولین) تنظیم اسمزی از طریق تدوam جریان آب می‌باشد. علاوه براین در خنثی‌سازی گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، حفظ یکپارچگی غشا، حفظ عملکرد آنزیم‌ها و همچنین تثبیت پروتئین نقش دارند، بنابراین به‌عنوان محافظت‌کننده اسمزی نیز شناخته می‌شوند (ایولین^۱ و همکاران، ۲۰۱۹).

پژوهش‌های زیادی، تجمع پرولین را در گونه‌های مختلف گیاهی تحت شرایط تنش نشان داده‌اند (گای^۲ و همکاران، ۲۰۲۰؛ جوراکو^۳ و همکاران، ۲۰۲۱). تجمع پرولین با میزان مقاومت به تنش، همبستگی داشته و این ترکیب به عنوان اسمولیت سازگار عمل نموده و ساختار پروتئین‌ها را ثبات می‌بخشد، بنابراین، سلول‌ها را از آسیب ایجاد شده توسط

5. Szabados and Savoure
6. Karimi and Salimi
7. Şahin

1. Evelin
2. Gai
3. Juurakko
4. Verbruggen and Herman

تیمار ۴ میلی‌مولار پوترسین به‌ترتیب ۱/۵۵، ۱/۴۶ و ۱/۶۱ برابر در مقایسه با شاهد گزارش گردید (شکل ۹).

آنزیم گایاکول پراکسیداز

اثرات اصلی غلظت‌های مختلف اسیدفولویک در سطح احتمال یک درصد و پوترسین در سطح احتمال پنج درصد و اثرات متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳). در تمامی تیمارها با افزایش غلظت اسیدفولویک و پوترسین، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز افزایش یافت. بیشترین فعالیت این آنزیم در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به‌همراه تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین گزارش گردید (شکل ۱۰).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

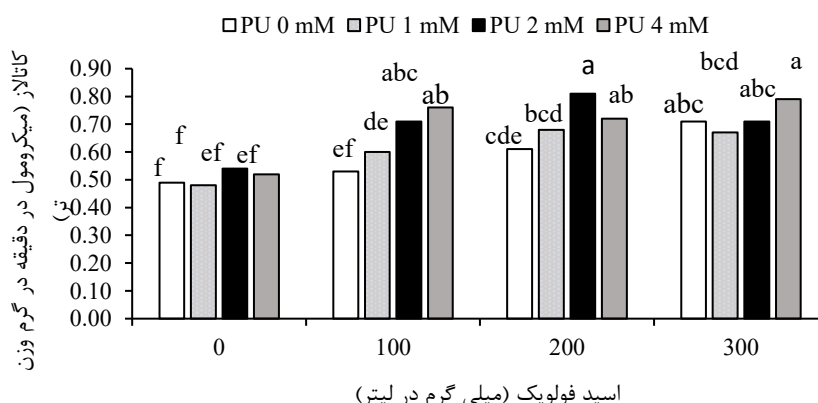
براساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳)، اثرات اصلی و متقابل اسیدفولویک و پوترسین در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار شد. میزان افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک و سطوح ۱، ۲ و ۴ میلی‌مولار پوترسین به‌ترتیب ۲۲/۸، ۳۶/۷۸ و ۴۸/۲۷ درصد در مقایسه با شاهد گزارش گردید (شکل ۱۱).

در گیاهان، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان اجزای اصلی پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن، نقش مهمی در تنظیم غلظت پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسید و کاهش تنش اکسیدی ایفا می‌نمایند (دیسوکی^۴ و همکاران، ۲۰۲۱).

معنی‌داری افزایش یافت (شاهسوندی و عشقی^۱، ۲۰۲۱). بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی در پایه سیب *Malus halliana* در شرایط تنش قلیایی (ناشی از بی‌کربنات سدیم) نشان داد که پرولین به‌طور معنی‌داری تحت تنش قلیایی تجمع یافت (جیا^۲ و همکاران، ۲۰۱۹). در *Malus baccata* تحت تنش کمبود آهن، محتوای اسمولیت‌ها از جمله پرولین، قندمحلول و پروتئین محلول اندازه‌گیری شد. تنش کمبود آهن به‌طور قابل توجهی میزان قند محلول و پرولین را افزایش داد، اما میزان پروتئین محلول را کاهش داد (زینگ^۳ و همکاران، ۲۰۲۱). همچنین سون و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که میزان پرولین در پایه سیب *Malus hupehensis* در شرایط فقر آهن (۴ میکرومولار Fe-EDTA) افزایش یافت اما این افزایش معنی‌دار نبود. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد کاتابولیسم پلی‌آمین‌ها منجر به افزایش میزان پرولین می‌شود. ارتباط مثبت بین تجمع پرولین و محتوای پوترسین گزارش شده است. کاربرد پلی‌آمین‌های برون‌زا^۴ در افزایش سطوح پلی‌آمین و پرولین گزارش شده است (جانکوسکا-بورتکیوی^۵ و همکاران، ۲۰۲۳).

آنزیم کاتالاز

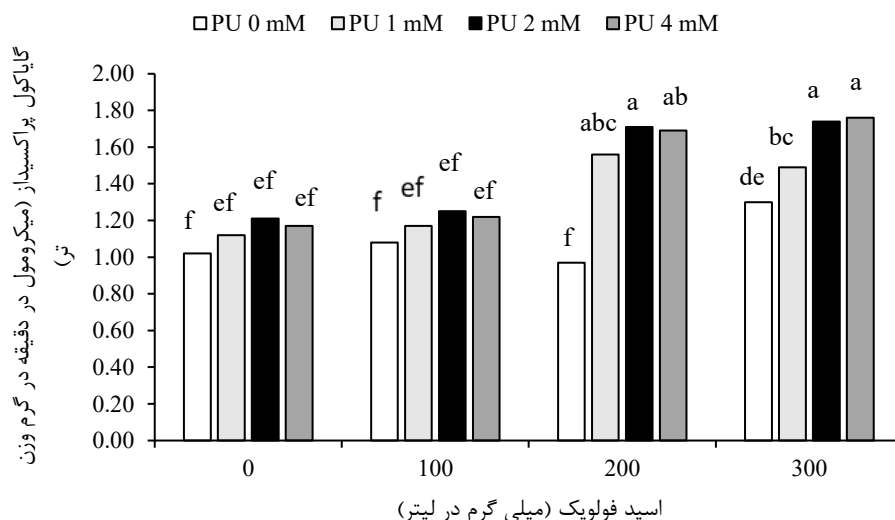
اثرات اصلی اسیدفولویک در سطح احتمال یک درصد و پوترسین در سطح احتمال پنج درصد و اثرات متقابل آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد (جدول ۳). میزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدفولویک به‌همراه



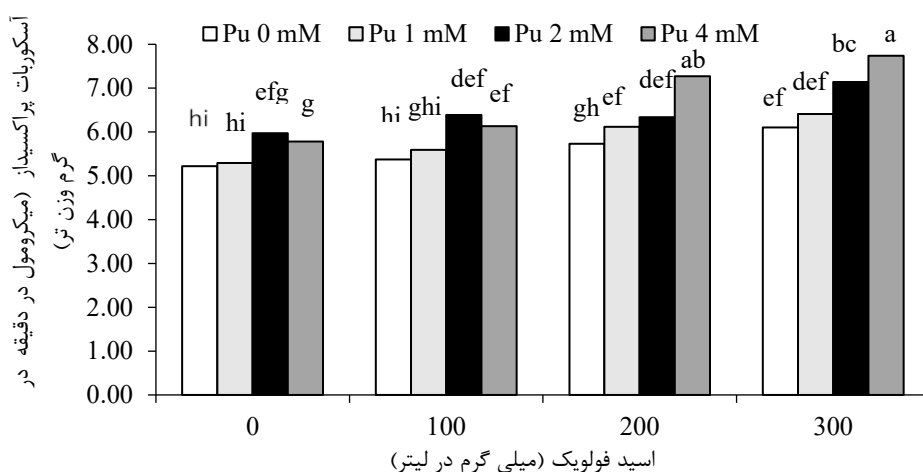
شکل ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین (Pu) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

4. Exogenous
5. Jankovska-Bortkevič
6. Desoky

1. Shahsavandi and Eshghi
2. Jia
3. Zheng



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین (Pu) بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها طبق آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل اسید فولویک و پوترسین (Pu) بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ انگور رقم شاهانی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در بین میانگین‌ها در آزمون دانکن می‌باشد.

غشاء سلولی را از آسیب حفظ می‌نمایند (ستار^۱ و همکاران، ۲۰۲۱).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در پایه‌های گلابی شامل کلون‌های گلابی وحشی، پایه‌های 333 OHx و QA در محیط درون‌شیشه‌ای و در شرایط کمبود آهن افزایش یافت (ساحین و همکاران، ۲۰۲۲). در مطالعه‌ای که روی *Malus hupehensis* انجام شد، مشاهده شد که سطوح هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در برگ‌های سیب تحت تنش قلیایی، به طور معنی‌داری کاهش یافت (جیو^۲ و همکاران، ۲۰۱۹). در پژوهشی زنگ و همکاران (۲۰۲۳) در نارنج سه‌برگ نشان

در شرایط رشد طبیعی، گونه‌های فعال اکسیژن، توسط سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان حذف گردیده، اما زمانی که گیاهان در شرایط تنش قرار می‌گیرند، میزان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، به شدت افزایش یافته به طوری که بر میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی غلبه نموده در نتیجه تنش اکسیدی رخ داده که در نهایت، باعث صدمه به پروتئین‌ها، DNA، RNA و غشاء سلولی شده و پراکسیداسیون لیپیدی رخ می‌دهد. همچنین این آنزیم‌ها در شرایط تنش، علاوه بر پاکسازی رادیکال‌های سوپراکسید،

افزایش داد (اسفندیاری غلاتی^۶ و همکاران، ۲۰۲۰). محلول پاشی اسپرمیدین و اسپرمین در گیاه کلزا^۷ rapeseed باعث افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به ترتیب به میزان ۲۸/۴ و ۱۱/۷ درصد در مقایسه با شاهد در شرایط تنش شوری گردید (ال سید و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین کاربرد اسپرمین در این گیاه، فعالیت آنزیم کاتالاز را ۶۱/۵ درصد افزایش داد. همچنین پلی آمین‌ها، توانایی آنتی اکسیدانی در برخی گونه‌های گیاهی دیگر مانند خیار را افزایش داد (وو^۸ و همکاران، ۲۰۱۸). تمامی این پژوهش‌ها با نتایج پژوهش حاضر در مورد کاربرد پوترسین (پلی آمین‌ها) در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی همخوانی داشت.

نتیجه‌گیری کلی

تمامی صفات رویشی مورد بررسی و رنگی‌های فتوسنتزی در انگور رقم شاهانی تحت تأثیر تنش قلیایی قرار گرفت. کاربرد اسیدفولویک (کاربرد خاکی) و پوترسین (محلول پاشی برگی) تأثیر مثبت در بهبود صفات رویشی داشت، به‌طوری که بهترین تأثیر در غلظت‌های ۴ میلی‌مولار پوترسین همراه با ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسیدفولویک مشاهده گردید. با افزایش غلظت اسیدفولویک و پوترسین، میزان رنگی‌های فتوسنتزی، پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی از یک روند صعودی تبعیت نمود. کاربرد هر دو تیمار اسیدفولویک و پوترسین در تعدیل اثرات منفی تنش قلیایی در انگور رقم شاهانی موثر بود.

دادند که کاربرد پتاسیم فولویک اسید باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسیددسموتاز و پراکسیداز در مقایسه با شاهد شد. پلی آمین‌ها می‌توانند به‌عنوان غیر فعال کننده‌های رادیکال‌های آزاد، عمل نموده و نیز با اتصال به مولکول‌های پروتئین که در سنتز آنزیم‌ها دخالت دارند نقش ایفا کنند. پلی آمین‌ها به‌طور مستقیم و یا از طریق کاهش گونه‌های فعال اکسیژن باعث افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی می‌شوند (کائورسانی و همکاران، ۲۰۰۳). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تأثیر کاربرد پوترسین را می‌توان به دلیل باند شدن آنها با مولکول‌های پروتئین دانست که مانع از شکسته شدن آنها می‌شود. در چندین گزارش نقش تنظیمی پلی آمین‌ها در دفاع آنتی اکسیدانی به اثبات رسیده است (چن^۱ و همکاران، ۲۰۱۸؛ پائول^۲ و همکاران، ۲۰۱۸). در پژوهشی، محلول پاشی اسپرمیدین در جنس *Brassica juncea* باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز شده در نتیجه با کاهش میزان پراکسید هیدروژن و رادیکال سوپراکسیداز از آسیب اکسیداتیو به غشاها کاسته شد (حسین^۳ و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین گزارش شده که پلی آمین‌ها، فعالیت H^+-PPas و $H^+-ATPas$ تونوپلاست را افزایش می‌دهند و در نتیجه قادر به ایجاد شیب پروتون در سراسر غشاء واکوئل شده و در شرایط بیش بود سدیم سیتوزول، باعث پمپاژ سدیم به واکوئل و تنظیم نسبت یونی سلول و تعادل pH سلولی می‌شوند (لیو^۴ و همکاران، ۲۰۱۵). در دانه‌های گواوا^۵، کاربرد برون‌زاد پوترسین (با غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) تحمل به نمک کلرید سدیم را

منابع

- اثنی‌عشری، م. و زکایی خسروشاهی، م. ۱۳۸۷. پلی آمین‌ها و علوم باغبانی. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، ۱۹۳ ص.
- حاج‌سیدحاجی، م. ر. و رضایی قلعه، ه. ۱۳۹۴. بررسی تأثیر مقادیر مختلف ورمی کمپوست و محلول پاشی اسیدهای آمینه و اوره بر عملکرد کمی و کیفی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۱ (۶): ۱۰۵۸-۱۰۷۰.
- خسروشاهی، م. ۱۳۸۶. اثر پوترسین بر عمر پس از برداشت میوه‌های توت‌فرنگی، زردآلو، هلو و گیلاس. مجله علوم و فنون کشاورزی، ۱۲ (۴۵): ۲۱۹-۲۲۸.
- خوشخوی، م.، شیبانی، ب.، روحانی، ا. و تفضلی، ع. ۱۳۸۹. اصول باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز، چاپ نوزدهم، ۵۹۶ ص.

5. *Psidium guajava* L.
6. Esfandiari Ghalati
7. *Brassica napus* L.
8. Wu

1. Chen
2. Paul
3. Hussain
4. Liu

- داورپناه، س.، عسگری سرچشمه، م.، بابالار، م. و حسینی، م. ۱۳۹۲. بررسی ضرورت تغذیه برگ‌ها از عناصر در خاک‌های آهکی. اولین همایش ملی الکترونیکی مباحث نوین در علوم باغبانی، جهرم.
- مجد، ا.، صفاری، پ.، جنوبی، پ. و مهربان، ص. ۱۳۹۰. بررسی مراحل تکوینی بخش‌های رویشی و زایشی انگور شاهانی. فصلنامه علمی پژوهشی زیست‌شناسی تکوینی، ۳(۱۰): ۵۱-۶۱.
- ملکوتی، م. و همایی، م. ۱۳۸۳. حاصلخیزی خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۸۱ ص.
- نیکبخت، ع.، کافی، م.، بابالار، م.، اعتمادی، ن.، ابراهیم‌زاده، ح. و پینگشی، ی. ۱۳۸۹. اثر هیومیک اسید بر جذب کلسیم و رفتار فیزیولوژیکی پس از برداشت گل ژربرا. مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۸(۴): ۲۳۷-۲۶۸.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. In *Methods in enzymology* (Vol. 105, pp. 121-126). Academic press.
- Akinci, S., Bueyuekkeskin, T., Eroglu, A. and Erdogan, B.E. 2009. The effect of humic acid on nutrient composition in broad bean (*Vicia faba* L.) roots. *Notulae Scientia Biologicae*, 1(1): 81-87.
- Alcázar, R., Bueno, M. and Tiburcio, A.F. 2020. Polyamines: Small amines with large effects on plant abiotic stress tolerance. *Cells*, 9(11): 2373.
- Ali, B., Wang, X., Saleem, M.H., Sumaira, Hafeez, A., Afridi, M.S., Khan, S., Ullah, I., Amaral Júnior, A.T.D., Alatawi, A. and Ali, S. 2022. PGPR-mediated salt tolerance in maize by modulating plant physiology, antioxidant defense, compatible solutes accumulation and bio-surfactant producing genes. *Plants*, 11(3): 345.
- Bayat, H., Shafie, F., Aminifard, M.H. and Daghighi, S. 2021. Comparative effects of humic and fulvic acids as biostimulants on growth, antioxidant activity and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Scientia Horticulturae*, 279: 109912.
- Braziene, Z., Paltanavicius, V. and Avizienytė, D. 2021. The influence of fulvic acid on spring cereals and sugar beets seed germination and plant productivity. *Environmental Research*, 195: 110824.
- Bronick, C.J. and Lal, R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124(1-2): 3-22.
- Chen, J., Fang, J., Guo, Z. and Lu, S. 2018. Polyamines and antioxidant defense system are associated with cold tolerance in centipedegrass. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 5(1): 129-138.
- Choudhary, S., Wani, K.I., Naeem, M., Khan, M.M.A. and Aftab, T. 2023. Cellular responses, osmotic adjustments, and role of osmolytes in providing salt stress resilience in higher plants: polyamines and nitric oxide crosstalk. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(2): 539-553.
- Cordeiro, F.C., Santa-Catarina, C., Silveira, V. and De Souza, S.R., 2011. Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(1): 70-74.
- Desoky, E.S.M., Merwad, A.R.M., Abo El-Maati, M.F., Mansour, E., Arnaout, S.M., Awad, M.F., Ramadan, M.F. and Ibrahim, S.A. 2021. Physiological and biochemical mechanisms of exogenously applied selenium for alleviating destructive impacts induced by salinity stress in bread wheat. *Agronomy*, 11(5): 926.
- Elmongy, M.S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B. and Xia, Y. 2018. The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during in vitro rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 227: 234-243.
- ElSayed, A.I., Mohamed, A.H., Rafudeen, M.S., Omar, A.A., Awad, M.F. and Mansour, E. 2022. Polyamines mitigate the destructive impacts of salinity stress by enhancing photosynthetic capacity, antioxidant defense system and upregulation of calvin cycle-related genes in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5): 3675-3686.
- Esfandiari Ghalati, R., Shamili, M. and Homaei, A. 2020. Effect of putrescine on biochemical and physiological characteristics of guava (*Psidium guajava* L.) seedlings under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 261: 108961.
- Eshwar, M., Srilatha, M., Rekha, K.B., Sharma, S.H.K. and Eshwar, C.M. 2017. Effect of humic substances (humic, fulvic acid) and chemical fertilizers on nutrient uptake, dry matter production of aerobic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(5): 1063-1066.
- Evelin, H., Devi, T.S., Gupta, S. and Kapoor, R. 2019. Mitigation of salinity stress in plants by arbuscular mycorrhizal symbiosis: current understanding and new challenges. *Frontiers in Plant Science*, 10: 470.

- Fathy, M.A., Gabr, M.A. and El Shall, S.A. 2010. Effect of humic acid treatments on 'Canino' apricot growth, yield and fruit quality. *New York Science Journal*, 3(12): 109-115.
- Gai, Z., Liu, L., Zhang, J., Liu, J. and Cai, L. 2020. Effects of exogenous α -oxoglutarate on proline accumulation, ammonium assimilation and photosynthesis of soybean seedling (*Glycine max* (L.) Merr.) exposed to cold stress. *Scientific Reports*, 10(1): 17017.
- Ghosh, U.K., Islam, M.N., Siddiqui, M.N. and Khan, M.A.R., 2021. Understanding the roles of osmolytes for acclimatizing plants to changing environment: a review of potential mechanism. *Plant Signaling and Behavior*, 16(8):1913306.
- Giovanardi, D., Dallai, D., Dondini, L., Mantovani, V. and Stefani, E. 2016. Elicitation of resistance to bacterial canker of stone fruits by humic and fulvic acids (glucohumates): a cDNA-AFLP-dHPLC approach. *Scientia Horticulturae*, 212: 183-192.
- Gong, X., Liu, Y., Huang, D., Zeng, G., Liu, S., Tang, H., Zhou, L., Hu, X., Zhou, Y. and Tan, X. 2016. Effects of exogenous calcium and spermidine on cadmium stress moderation and metal accumulation in *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich. *Environmental Science and Pollution Research*, 23: 8699-8708.
- Habba, E.E., Abdel Aziz, N.G., Sarhan, A.M.Z., Arafa, A.M.S. and Youssefi, N.M. 2016. Effect of putrescine and growing media on vegetative growth and chemical constituents of *Populus euramericana* plants. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3(1): 61-73.
- Hasanuzzaman, M., Parvin, K., Bardhan, K., Nahar, K., Anee, T.I., Masud, A.A.C. and Fotopoulos, V., 2021. Biostimulants for the regulation of reactive oxygen species metabolism in plants under abiotic stress. *Cells*, 10(10): 2537.
- Hussain, A., Nazir, F. and Fariduddin, Q. 2019. 24-epibrassinolide and spermidine alleviate Mn stress via the modulation of root morphology, stomatal behavior, photosynthetic attributes and antioxidant defense in *Brassica juncea*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(4): 905-919.
- Hwang, I., Sheen, J. and Müller, B., 2012. Cytokinin signaling networks. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1): 353-380.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1): 55-60.
- Islam, M.A., Morton, D.W., Johnson, B.B. and Angove, M.J. 2020. Adsorption of humic and fulvic acids onto a range of adsorbents in aqueous systems, and their effect on the adsorption of other species: A review. *Separation and Purification Technology*, 247:116949.
- Jankovska-Bortkevič, E., Jurkonienė, S., Gavelienė, V., Šveikauskas, V., Mockevičiūtė, R., Vaseva, I., Todorova, D., Žižytė-Eidetienė, M., Šneideris, D. and Prakas, P. 2023. Dynamics of Polyamines, proline, and ethylene metabolism under increasing cold in winter oilseed rape. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(14): 11402.
- Jia, X.M., Zhu, Y.F., Hu, Y., Zhang, R., Cheng, L., Zhu, Z.L., Zhao, T., Zhang, X. and Wang, Y.X. 2019. Integrated physiologic, proteomic, and metabolomic analyses of *Malus halliana* adaptation to saline-alkali stress. *Horticulture Research*, 6: 91.
- Jiao, X., Li, Y., Zhang, X., Liu, C., Liang, W., Li, C., Ma, F. and Li, C. 2019. Exogenous dopamine application promotes alkali tolerance of apple seedlings. *Plants*, 8(12): 580.
- Juurakko, C.L. and Walker, V.K. 2021. Cold acclimation and prospects for cold-resilient crops. *Plant Stress*, 2: 100028.
- Kang, H.M. and Saltveit, M.E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115(4): 571-576.
- Karimi, R. and Salimi, F. 2021. Iron-chlorosis tolerance screening of 12 commercial grapevines (*Vitis vinifera* L.) cultivars based on phytochemical indices. *Scientia Horticulturae*, 283: 110111.
- Karimi, E., Tadayyon, A. and Tadayyon, M.R. 2016. The effect of humic acid on some yield characteristics and leaf proline content of safflower under different irrigation regimes. *Journal of Crops Improvement*, 18(3): 609-623.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A.F., Altabella, T. and Galston, A.W. 2003. Polyamines in plants: an overview. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2:1-12.
- Kocher, G.S. and Nikhanj, P. 2019. Development of red and white wines from locally adapted grape cultivars using indigenous yeast. In *Fermented Beverages* (pp. 147-170). Woodhead Publishing.
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. and Takahashi, Y. 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*, 228: 367-381.

- Lechowska, K., Wojtyla, Ł., Quinet, M., Kubala, S., Lutts, S. and Garnczarska, M. 2021. Endogenous polyamines and ethylene biosynthesis in relation to germination of osmoprimed *Brassica napus* seeds under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1): 349.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology* (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press.
- Liu, J.H., Wang, W., Wu, H., Gong, X. and Moriguchi, T. 2015. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. *Frontiers in plant science*, 6: 827.
- Liu, X., Yang, J., Tao, J. and Yao, R. 2022. Integrated application of inorganic fertilizer with fulvic acid for improving soil nutrient supply and nutrient use efficiency of winter wheat in a salt-affected soil. *Applied Soil Ecology*, 170: 104255.
- Lu, X., Ma, L., Zhang, C., Yan, H., Bao, J., Gong, M., Wang, W., Li, S., Ma, S. and Chen, B. 2022. Grapevine (*Vitis vinifera*) responses to salt stress and alkali stress: transcriptional and metabolic profiling. *BMC Plant Biology*, 22(1): 528.
- Movahed, N., Eshghi, S., Tafazoli, E. and Jamali, B. 2010. Effects of polyamines on vegetative characteristics, growth, flowering and yield of strawberry ('PAROS'AND'SELVA'). In XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium, 926: 287-293.
- Mustafavi, S.H., Naghdi Badi, H., Şekara, A., Mehrafarin, A., Janda, T., Ghorbanpour, M. and Rafiee, H. 2018. Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40:1-19.
- Naeem, M., Shahzad, K., Saqib, S., Shahzad, A., Nasrullah, Younas, M. and Afridi, M.I. 2022. The *Solanum melongena* COP1LIKE manipulates fruit ripening and flowering time in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Plant Growth Regulation*, 96: 369-382.
- Nahed, G.A.A., Lobna, S.T. and Soad, M.I. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical constituents of gladiolus plants at Nubaria. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(2):169-179.
- Najm, A.A., Hadi, M.R.H.S., Fazeli, F., Darzi, M.T. and Rahi, A. 2012. Effect of integrated management of nitrogen fertilizer and cattle manure on the leaf chlorophyll, yield, and tuber glycoalkaloids of *Agria* potato. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43(6): 912-923.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5): 867-880.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A. and Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(11): 1527-1536.
- Neily, M.H., Matsukura, C., Maucourt, M., Bernillon, S., Deborde, C., Moing, A., Yin, Y.G., Saito, T., Mori, K., Asamizu, E. and Rolin, D. 2011. Enhanced polyamine accumulation alters carotenoid metabolism at the transcriptional level in tomato fruit over-expressing spermidine synthase. *Journal of Plant Physiology*, 168(3): 242-252.
- Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A. and Hasanuzzaman, M. 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 172(2): 1321-1335.
- Paquin, R. and Lechasseur, P. 1979. Observations ssue une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 75:1851-1854.
- Paul, S., Banerjee, A. and Roychoudhury, A. 2018. Role of polyamines in mediating antioxidant defense and epigenetic regulation in plants exposed to heavy metal toxicity. In *Plants under metal and metalloid stress: Responses, tolerance and remediation*. Singapore: Springer Singapore, pp. 229-247.
- Ramazan, S., Nazir, I., Yousuf, W. and John, R. 2022. Environmental stress tolerance in maize (*Zea mays*): role of polyamine metabolism. *Functional Plant Biology*, 50(2): 85-96.
- Roosta, H.R., Manzari Tavakkoli, M. and Hamidpour, M. 2016. Comparison of different soilless media for growing gerbera under alkalinity stress condition. *Journal of Plant Nutrition*, 39(8): 1063-1073.
- Şahin, Ö., Dumanoglu, H., Sarıkamış, G., Javadisaber, J., Ergül, A. and Aydemir, B.Ç. 2022. Tolerance of *Pyrus* spp. and *Cydonia oblonga* as pear rootstocks to iron chlorosis determined by in vitro growth, antioxidant and molecular responses. *Scientia Horticulturae*, 296: 110911.
- Saleem, A., Zulfiqar, A., Saleem, M.Z., Ali, B., Saleem, M.H., Ali, S., Tufekci, E.D., Tufekci, A.R., Rahimi, M. and Mostafa, R.M. 2023. Alkaline and acidic soil constraints on iron accumulation by Rice cultivars in relation to several physio-biochemical parameters. *BMC Plant Biology*, 23(1): 397.

- Sattar, A., Wang, X., Abbas, T., Sher, A., Ijaz, M., Ul-Allah, S., Irfan, M., Butt, M., Wahid, M.A., Cheema, M. and Fiaz, S. 2021. Combined application of zinc and silicon alleviates terminal drought stress in wheat by triggering morpho-physiological and antioxidants defense mechanisms. *PloS one*, 16(10): 0256984.
- Shahsavandi, F. and Eshghi, S. 2021. Effects of bicarbonate and Fe sources on vegetative growth and physiological traits of four grapevine cultivars. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(20): 2401-2413.
- Sharif, M., Khattak, R.A. and Sarir, M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(19-20): 3567-3580.
- Suh, H.Y., Yoo, K.S. and Suh, S.G. 2014. Effect of foliar application of fulvic acid on plant growth and fruit quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 55: 455-461.
- Sun, M., Wang, T., Fan, L., Wang, H., Pan, H., Cui, X., Lou, Y. and Zhuge, Y. 2020. Foliar applications of spermidine improve foxtail millet seedling characteristics under salt stress. *Biologia Plantarum*, 64(1).
- Szabados, L. and Savouré, A. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2): 89-97.
- Talaat, I.M., Bekheta, M.A. and Mahgoub, M.H. 2005. Physiological response of periwinkle plants (*Catharanthus roseus* L.) to tryptophan and putrescine. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 7(2): 210-213.
- Thialla, L.A., Damiana, C.M., Arthur, A.S.O., Reinaldo, A.P., Walter, S.E.J. and Djair, A.M. 2017. Gibberellin and polyamines in plant growth, development, and postharvest senescence of ornamental plants. *Amazonian Journal of Plant Research*, 1(10): 1-13.
- Tripathi, D.K., Bhat, J.A., Ahmad, P. and Allakhverdiev, S.I., 2023. Polyamines and nitric oxide crosstalk in plant development and abiotic stress tolerance. *Functional Plant Biology*, 50(2): 1-4.
- Tyagi, A., Ali, S., Ramakrishna, G., Singh, A., Park, S., Mahmoudi, H. and Bae, H. 2023. Revisiting the role of polyamines in plant growth and abiotic stress resilience: mechanisms, crosstalk, and future perspectives. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(8): 5074-5098.
- Unlu, H. O., Unlu, H., Karakurt, Y. and Padem, H. 2011. Changes in fruit yield and quality in response to foliar and soil humic acid application in cucumber. *Scientific Research and Essays*, 6(13): 2800-2803.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smith, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121(5): 453-461.
- Valdez-Aguilar, L.A. and Reed, D.W. 2008. Influence of potassium substitution by rubidium and sodium on growth, ion accumulation, and ion partitioning in bean under high alkalinity. *Journal of Plant Nutrition*, 31(5): 867-883.
- Valero, D., Martínez-Romero, D. and Serrano, M. 2002. The role of polyamines in the improvement of the shelf life of fruit. *Trends in Food Science and Technology*, 13(6-7): 228-234.
- Valipour, M., Baninasab, B., Khoshgoftarmanesh, A.H. and Gholami, M. 2020. Oxidative stress and antioxidant responses to direct and bicarbonate-induced iron deficiency in two quince rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 261: 108933.
- Verbruggen, N. and Hermans, C. 2008. Proline accumulation in plants: A review. *Amino Acids*, 35: 753-759.
- Wallace, H.M. 2009. The polyamines: past, present and future. *Essays in Biochemistry*, 46: 1-10.
- Wu, J., Shu, S., Li, C., Sun, J. and Guo, S. 2018. Spermidine-mediated hydrogen peroxide signaling enhances the antioxidant capacity of salt-stressed cucumber roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 128: 152-162.
- Qiang-Sheng, W.U., Ying-Ning, Z.O.U., Min, L.I.U. and Cheng, K. 2012. Effects of exogenous putrescine on mycorrhiza, root system architecture, and physiological traits of *Glomus mosseae*-colonized trifoliate orange seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(2): 80-85.

- Xuan, T.D., Huong, C.T., Quan, N.V., Anh, L.H., Khanh, T.D. and Rayee, R. 2022. Improvement of salinity tolerance in rice seedlings by exogenous magnesium sulfate application. *Soil Systems*, 6(3): 69.
- Zhang, M., Li, X., Wang, X., Feng, J. and Zhu, S. 2023. Potassium fulvic acid alleviates salt stress of citrus by regulating rhizosphere microbial community, osmotic substances and enzyme activities. *Frontiers in Plant Science*, 14:1161469.
- Zheng, X., Wang, L., Zhou, J., Shan, D., Wang, N. and Kong, J. 2021. Melatonin enhances the tolerance to iron deficiency stress through scavenging ROS in apple. *Fruit Research*, 1(1): 1-8.
- Zhu, H., Tian, W., Zhu, X., Tang, X., Wu, L., Hu, X. and Jin, S. 2020. Ectopic expression of GhSAMDC 1 improved plant vegetative growth and early flowering through conversion of spermidine to spermine in tobacco. *Scientific Reports*, 10(1): 14418.