

بررسی اثر محلول پاشی پوترسین بر افزایش تحمل دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) به تنش خشکی

پریسا پروین^{۱*} و مسعود خضری^۲

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۴/۹)

چکیده

به منظور بررسی اثر محلول پاشی غلظت‌های مختلف پوترسین بر افزایش تحمل دانه‌های گردوی ایرانی به تنش خشکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۲۰ تکرار در یک گلخانه کاملاً کنترل شده اجرا شد. تیمارها شامل پوترسین در غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار و تنش خشکی در سه سطح شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج مربوط به پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان داد که محلول پاشی دانه‌ها با غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین با تأثیر بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (افزایش آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) سبب افزایش تحمل دانه‌های گردوی ایرانی به تنش خشکی می‌شود. بیشترین میزان طول ساقه (۳۵/۶۷ سانتی‌متر)، سطح برگ (۳۰۳/۶ سانتی‌متر مربع)، محتوای نسبی آب برگ (۵۸/۵۱ درصد)، وزن تر کل (۴۷/۲۰ گرم) و کمترین نشت یونی (۲۸/۲۸ درصد) مربوط به تیمار ۱ میلی‌مولار پوترسین است. مشخص شد که محلول پاشی پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار می‌تواند در افزایش تحمل دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) به تنش خشکی مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پلی‌آمین‌ها، ظرفیت زراعی.

مقدمه

گیاهان تحت تنش در برابر تأثیرات مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن به وسیله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز) محافظت می‌شوند و در واقع این سیستم آنتی‌اکسیدانی سبب تحمل گیاهان به تنش می‌شود (Fu et al., 2001; Pan et al., 2006).

ایران از نظر سطح زیر کشت گردو (۶۴ هزار هکتار) در جهان مقام چهارم و از نظر تولید بعد از چین، مقام دوم را داراست. تولید کل گردو در ایران ۴۸۵ هزار تن است (FAO, 2011). ایران در زمره کشورهای خشک و نیمه‌خشک جهان محسوب می‌شود. درختان گردو برای

تنش خشکی یکی از تنش‌های محیطی مهم مؤثر بر تولیدات کشاورزی در سراسر جهان است که می‌تواند به طور قابل توجهی به کاهش عملکرد منجر شود (Farahani et al., 2009) و بر استقرار، بقا، رشد و عملکرد درختان میوه مؤثر باشد (Fernandez et al., 2006). زمانی که گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، به کلیه فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه تأثیر می‌گذارند و سبب کاهش شاخص‌های رشدی، عملکرد و کیفیت محصول و در صورت تداوم تنش، موجب مرگ گیاه می‌شوند (Kafi, 2010). همچنین

Kamiab *et al.* (Hajiboland & Ebrahimi, 2011) (2013) نشان دادند که محلول پاشی پلی آمین ها در دانهال های پسته تحت تنش شوری، سبب افزایش مقاومت آن ها شده است (Kamiab *et al.*, 2013). همچنین پژوهش های دیگر نشان دادند که مقاومت دانهال های لیمو و انار به تنش های خشکی و شوری، با محلول پاشی پلی آمین ها افزایش می یابد (Amri *et al.*, 2010; Amri *et al.*, 2011). به رغم حساسیت زیاد گردو به تنش کم آبی هنوز گزارش مستندی مبنی بر کاربرد پلی آمین ها به منظور بهبود مقاومت گردوی ایرانی به تنش خشکی در دوره دانهالی گزارش نشده است. بنابراین، هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر محلول پاشی غلظت های مختلف پوترسین به منظور القای مقاومت در دانهال های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) تحت سطوح مختلف تنش خشکی است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

این پژوهش در یک گلخانه پژوهشی کاملاً کنترل شده در دانشگاه شهید باهنر کرمان، به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۹ تیمار و ۲۰ تکرار اجرا شد. برای تهیه دانهال ها، ابتدا بذره های گردوی ژنوتیپ پوست کاغذی از یک درخت ۲۵ ساله و از یک باغ تجاری واقع در ۲۰ کیلومتری شهرستان بافت در استان کرمان جمع آوری و به مدت ۷ روز در آب خیسانده شدند. سپس به منظور برطرف شدن نیاز سرمایی، به مدت ۸ هفته در سردخانه در دمای بین ۴ تا ۸ درجه سانتی گراد در معرض سرمای مرطوب قرار گرفتند. پس از طی دوره چینه سرمایی، بذرها در گلدان های پلاستیکی دو کیلوگرمی و در عمق میانگین ۸ سانتی متری کشت شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل شامل فاکتور تنش خشکی در سه سطح شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) و فاکتور محلول پاشی پوترسین در ۳ غلظت (۰، ۰/۵ و ۱ میلی مولار) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و در کل ۱۸۰ دانهال گردو بررسی شد. محلول پاشی پوترسین و اعمال تنش ها پس از رسیدن گیاهان به میانگین طول حدود

رشد مطلوب و بهره وری، مقدار زیادی آب نیاز دارند و از گیاهان حساس به تنش های غیرزیستی به ویژه تنش خشکی و تنش شوری، محسوب می شوند (Vahdati & Leslie, 2013; Fulton & Buchner, 2006). این گیاه در برابر تنش خشکی مقاومت کمتری نسبت به تنش شوری دارد و در شرایط تنش خشکی صفاتی مانند وزن تر و وزن خشک بافت، آب بافت و ضخامت می تواند از صفات مهم، برای بررسی مقاومت به تنش خشکی باشند (Vahdati *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2009). همچنین نشان داده است که برخی صفات بیوشیمیایی و همچنین آنزیم های آنتی اکسیدانی این گیاه در شرایط تنش خشکی تحت تأثیر قرار خواهند گرفت (Lotfi *et al.*, 2010a; Lotfi *et al.*, 2010b).

در سال های اخیر برای افزایش تحمل گیاهان به تنش ها، برخی روش ها از قبیل کاربرد خارجی تنظیم کننده های رشد استفاده می شود. بعضی از گزارش ها به روابط بین پلی آمین ها و تنش های محیطی اشاره کرده اند (Galston *et al.*, 1997; Bouchereau *et al.*, 1999). مهم ترین پلی آمین های آزاد شامل اسپرمیدین^۱ (تری آمین)، اسپرمین^۲ (تترا آمین) و پوترسین^۳ (دی آمین) است که از جمله ترکیبات آلی نیتروژن دار با وزن مولکولی پایین هستند و به منزله مواد تنظیم کننده رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرایندهای رشد و نمو، شامل تقسیم سلولی، رویان زایی، ریخت زایی، گل دهی، رسیدن میوه ها، تکوین ریشه، تأخیر پیری، پایداری غشاها، جمع آوری رادیکال های فعال و تحمل تنش های مختلف مشارکت دارند و در پاسخ گیاه به تنش خشکی به منزله تعدیل کننده اثر تنش عمل می کنند (Kusano *et al.*, 2008; Kaur-Sawhney *et al.*, 2003). پژوهش هایی در زمینه کاربرد خارجی پلی آمین ها به منظور افزایش مقاومت گیاهان به تنش ها گزارش شده است (Goyal & Asthir, 2010; Gupta *et al.*, 2012). گزارش های مختلفی در مورد نقش پلی آمین ها در کاهش آثار تنش ها در برخی گیاهان مانند لفل، توتون و نخود فرنگی وجود دارد (Hussein *et al.*, 2006; Noohpishhe & Kalantari, 2011).

1. Spermidine
2. Spermine
3. Putrescine

گرفتند. دیسک‌ها پس از این مدت از پتری خارج و با استفاده از کاغذ صافی خشک شدند، دوباره توزین شدند تا وزن حالت تورژ سانس کامل (TW) به دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW) دیسک‌ها درون فویل آلومینیوم پیچیده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ سانتی‌گراد آن قرار داده و سپس توزین شدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (Wheatherley, 1950).

$$RWC = \frac{Fw - Dw}{Tw - Dw} \times 100$$

نشت یونی

برای سنجش میزان نشت یونی غشا، ۰/۱ گرم از بافت برگ‌های تازه گیاه را پس از شست‌وشو (برای حذف یون‌های احتمالی از سطح برگ) درون لوله‌های آزمایش در پیچ‌دار قرار داده و ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها (EC₁) با استفاده از EC متر مدل methom (ساخت کشور سوئیس) قرائت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) قرار داده و بعد از آن، نمونه‌ها در دمای معمولی آزمایشگاه قرار داده شد میزان هدایت الکتریکی (EC₂) دوباره اندازه‌گیری و درصد نشت یونی از رابطه زیر محاسبه شد (Deshmukh et al., 1991):

$$EC = 1 - EC_1 / EC_2 \times 100$$

وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان در تیماری مختلف اندازه‌گیری و برحسب گرم گزارش شد. پس از توزین به مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۷۰ درجه قرار داده شد و پس از خشک‌شدن دوباره با ترازوی دیجیتالی توزین و برحسب گرم گزارش شد. برای سنجش شاخص کلروفیل از دستگاه کلروفیل‌سنج (مدل SPAD-502, Konica Minolta) ساخت کشور ژاپن، استفاده شد که این دستگاه امکان اندازه‌گیری کلروفیل بدون تخریب برگ را میسر می‌کند.

پارامترهای بیوشیمیایی

غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید رنگیزه‌ها به روش Lichtenthaler (1987) اندازه‌گیری شدند. بدین صورت که ۰/۲ گرم از برگ‌های فریز شده با

۱۵ سانتی‌متر آغاز شد و اعمال تیمارهای تنش خشکی به روش وزنی و پس از اندازه‌گیری ظرفیت زراعی خاک انجام شد. دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز، ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب و رطوبت نسبی هوا به‌طور میانگین ۶۵ درصد بود. اندازه‌گیری پارامترها، هشت هفته پس از اعمال تنش خشکی انجام گرفت. بعد از پایان آزمایش پارامترهای زیر اندازه‌گیری شد.

پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دانه‌ها

طول ساقه و ریشه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری و قطر ساقه با کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشدی ریشه پس از خارج کردن گیاه از گلدان اندازه‌گیری شدند. سطح برگ با استفاده از تعداد برگ و بزرگ‌ترین طول برگ طبق فرمول زیر محاسبه شد و برحسب سانتی‌متر مربع در نتایج ارائه شد (Spann & Heerema, 2010).

$$Y = 0.9397 X - 21.028$$

Y: سطح برگ

X: بزرگ‌ترین طول برگ × تعداد برگ

حجم ریشه از طریق قراردادن آن در یک سیلندر آب با حجم مشخص و محاسبه میزان افزایش حجم نشان داده شده در سیلندر تعیین شد. سطح ریشه‌ها با روش موسوم به Atkinson (1980) که فرمول آن به صورت زیر محاسبه شد و برحسب سانتی‌متر مربع در نتایج ارائه شد.

$$\left\{ \text{حجم ریشه ها} \times \text{طول ریشه ها} \right\}^{0.15} : \text{سطح ریشه‌ها}$$

محتوای نسبی آب برگ (RWC)^۱

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ‌ها، از هر برگ ۱۰ دیسک مشابه با قطر ۱cm تهیه شد و با ترازوی دقیق آزمایشگاهی METTLER TOLEDO مدل AX204 با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شدند تا وزن تر (FW) به دست آید. سپس دیسک‌ها در ظروف پتری دارای آب مقطر برای مدت ۴-۵ ساعت غوطه‌ور شدند. در طول این مدت ظروف پتری در تاریکی کامل قرار

اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن (H_2O_2)

مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش H_2O_2 با یدید پتاسیم (KI) و با روش (Alexieva 2001) انجام شد.

تهیه عصاره پروتئینی و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

برای تهیه عصاره پروتئینی ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه گیاه در ۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7/5) که دارای پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، ساییده شد. تمام مراحل استخراج در یخ انجام گرفت. سپس عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در $5000 \times g$ و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با استفاده از سانتریفیوژ Herolab (مدل 2028) ساخت کشور آلمان، سانتریفیوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. سنجش فعالیت کاتالاز به روش *Dhindsa et al.* (1981) و براساس کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز براساس روش *Nakano & Asada* (1981) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش *Zhang et al.* (2005) و با استفاده از پیش‌ماده گایاکول اندازه‌گیری شد.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از رویه GLM^۱ نرم‌افزار SAS انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

پارامترهای مورفولوژیکی اندام هوایی و ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دانه‌های گردو نشان داد که علاوه بر اینکه تأثیر هر یک از فاکتورهای اصلی تنش خشکی و پوترسین، اثرات متقابل این دو فاکتور نیز برای همه پارامترهای اندازه‌گیری شده معنادار شد (جدول‌های ۱ و ۲). بنابراین، مقایسه میانگین اثرات

۱۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۲۷۰۰ قرار داده و سپس ۳ میلی‌لیتر از عصاره بالایی برداشته شد و جذب آن‌ها در طول موج ۴۷۰، ۶۶۳ و ۶۴۷ نانومتر به کمک اسپکتروفتومتری UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا خوانده و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$Chl.a = (12/25A_{663/2} - 2/79A_{646/8})$$

$$Chl.b = (21/21A_{646/8} - 5/1A_{663/2})$$

$$Chl.T = Chl.a + Chl.b$$

$$Car = [(1000A_{470} - 1/8Chl.a - 85/02Chl.b)/198]$$

قندهای احیا

قند احیا به روش Somogy (1952) اندازه‌گیری شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS مدل (Cary-50) ساخت کشور آمریکا قرائت شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاکننده محاسبه شد. برای تهیه منحنی استاندارد قند احیا از D- فروکتوز به‌منزله استاندارد استفاده شد، بدین منظور محلول‌های با غلظت‌های متفاوت D- فروکتوز تهیه شده و با روش یادشده میزان جذب این محلول‌ها اندازه گرفته شد. قند احیای نمونه‌ها با قراردادن میزان جذب‌های خوانده‌شده در معادله خط نمونه‌های استاندارد محاسبه شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه شد.

$$\text{قند احیا} = \frac{X + 0.084}{0.0147} \times \frac{10}{1000}$$

X: میزان جذب قرائت‌شده

سنجش مقدار پروتئین کل و پرولین

برای سنجش غلظت پروتئین از روش Bradford (1976) استفاده شد. اندازه‌گیری میزان پرولین برگ براساس روش Bates (1973) انجام گرفت؛ بدین صورت که عصاره برگ در اسید سولفوسالیسیلیک استخراج شد و غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و با کمک غلظت‌های مشخص پرولین خالص به‌منزله استاندارد در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد.

متقابل این دو فاکتور برای پارامترهای مورد نظر در نتایج آمده است. نتایج این پژوهش نشان داد که پارامترهای مورفولوژیکی اندام هوایی تحت تأثیر سطوح متفاوت تنش و پوترسین واقع شدند. در هر سه سطح تنش، تیمار پوترسین در غلظت ۱ میلی‌مولار سبب بیشترین میزان طول ساقه، تعداد برگ و سطح برگ شد، اما اثر متقابل سطوح مختلف تنش و پوترسین بر قطر ساقه معنادار نبود (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی پارامترهای مورفولوژیکی ریشه و میزان شاخص کلروفیل کاهش یافت. این شاخص‌های رشدی در دانه‌های تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین افزایش پیدا کردند، اما در برخی موارد با تیمار شاهد تفاوت معناداری نداشتند (جدول ۳). به‌طور کلی، تنش خشکی سبب کاهش شاخص‌های رشدی دانه‌های گردو شد که پیش از این در برخی آزمایش‌های انجام‌شده روی گردو در شرایط تنش خشکی و شوری نیز گزارش شده بود (Lotfi *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2009). اما محلول پاشی پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار در دو سطح تنش متوسط و تنش شدید به‌طور قابل توجهی سبب بهبود و افزایش شاخص‌های رشدی شد. این نتایج با گزارش کامیاب و همکاران که نشان دادند پارامترهای رشدی دانه‌های پسته در شرایط تنش، با محلول پاشی پلی‌آمین‌ها بهبود بخشیده می‌شود، همخوانی دارد (Kamirab *et al.*, 2013). تأثیر مثبت پوترسین احتمالاً مربوط به نقش این هورمون در افزایش فعالیت تقسیم سلولی، افزایش هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و جیبرلین و کاهش آبسزیک اسید است که سبب بهبود رشد می‌شود (Hussein *et al.*, 2006).

پارامترهای فیزیولوژیکی

اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی و محلول پاشی پوترسین با غلظت‌های متفاوت بر محتوای نسبی آب برگ و شاخص نشت یونی معنادار بود. میزان محتوای نسبی آب برگ تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت و بیشترین میزان محتوای نسبی آب برگ در هر سه سطح تنش، مربوط به دانه‌های تیمار شده با غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین بود (جدول ۴). این نتایج با گزارش مطالعاتی بر روی پسته و زیتون مطابقت دارد (Rostami shahraji *et al.*, 2010; Kalantari, 2011).

(Natali *et al.*, 1991). در این گزارش‌ها با افزایش تنش خشکی محتوای نسبی آب برگ کاهش یافته است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان نشت یونی مربوط به تیمارهای تنش متوسط و تنش شدید با محلول پاشی پوترسین صفر و ۰/۵ میلی‌مولار و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با محلول پاشی غلظت ۱ میلی‌مولار پوترسین بود (جدول ۴). می‌توان گفت یکی از آسیب‌های جدی گزارش شده است که تنش خشکی، خسارت به غشا و رهاسازی یون‌ها از سلول به فضای بین‌سلولی است. این پدیده نتیجه تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به پراکسیداسیون لیپید، نفوذپذیری غشا و خسارت به سلول می‌شود. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج دیگر پژوهش‌ها مبنی بر اینکه پلی‌آمین‌ها در حفظ یکپارچگی و بقای غشای سیتوپلاسمی، اسیدهای نوکلئیک و اندام‌های سلولی در شرایط تنش خشکی نقش اساسی ایفا می‌کنند همخوانی دارد (Zhang & John, 2005; Hussein *et al.*, 2006). نتایج نشان داد که با افزایش سطوح تنش، وزن تر و وزن خشک کاهش یافت که با نتایج برخی آزمایش‌ها بر روی دانه‌های گردو هم‌راستا است (Lotfi *et al.*, 2009; Lotfi *et al.*, 2009). اما در هر سه سطح تنش خشکی، شاخص‌های وزنی دانه‌های محلول پاشی شده با پوترسین ۱ میلی‌مولار به میزان کمتری تحت تأثیر تنش واقع شدند (جدول ۴). همچنین نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه با تنش خشکی افزایش یافت و پوترسین ۱ میلی‌مولار سبب کاهش نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه شد (جدول ۴). در پژوهش‌های انجام‌شده بر روی انواع گیاهان روند نزولی وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی طی تنش‌های خشکی گزارش شده است (Sadrzadeh & Moalemi, 2006; Saxena *et al.*, 1993). از آنجاکه در شرایط تنش خشکی، شاخص‌های رشدی گیاه کاهش می‌یابد، به دنبال آن وزن تر و وزن خشک اندام هوایی کم می‌شود. از این‌رو افزایش وزن تر و خشک در دانه‌های تیمار شده با پوترسین ۱ میلی‌مولار را می‌توان به تأثیر پلی‌آمین‌ها در بهبود شاخص‌های رشدی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نقش محافظتی آن‌ها در پایداری سلول‌ها مرتبط دانست (Kusano *et al.*, 2008; Hussein *et al.*, 2006; Noohpishhe & Kalantari, 2011).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر محلول پاشی پوترسین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دانه‌های گردوی ایرانی
(*Juglans regia*) تحت تنش خشکی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		طول ساقه (cm)	قطر ساقه (mm)	تعداد برگ (cm ²)	سطح برگ (cm ²)	طول ریشه (cm)	حجم ریشه (cm ³)	سطح ریشه (cm ²)	شاخص کلروفیل
تنش خشکی	۲	۹۸/۱۲**	**۳/۷۰	۴۵۷/۷۳**	۱۰۱۶۹۱/۸۴**	۲۷۵/۹۴**	۳۹۴/۳۹**	۶۵۳/۷۳**	۲۹۹/۹۱**
پوترسین	۲	۱۴۰/۱۹۰**	۰/۸۰ ns	۷۱۴/۷۷**	۸۳۳۳۰/۸۴**	۷۹/۷۹**	۱۷۱/۴۹**	۲۲۹/۹۶**	۵۷۵/۴۶**
تنش خشکی × پوترسین	۴	۲۶/۳۱**	۰/۶۱ ns	۹۱/۴۹**	۱۷۲۴۵/۴۰**	۴۰/۰۷**	۱۹/۸۴*	۵۰/۷۴**	۲۳/۲۴**
خطا	۵۴	۲/۷۸	۰/۵۵	۷/۵۲	۲۷۸/۵۵	۹/۲۶	۷/۳۱	۱۰/۹۸	۶/۱۷
نشت یونی		محتوای نسبی آب برگ (%)	وزن تر کل (gr)	وزن تر ساقه (gr)	وزن تر ریشه (gr)	وزن خشک ساقه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه	
تنش خشکی	۲	۲۹۷/۹۴**	۱۳۱۵/۵۵**	۱۱۶/۶۳**	۶۵۲/۶۶**	۳۸/۶۹**	۲۲۶/۹۳**	۴۰/۶۳**	
پوترسین	۲	۹۸۲/۶۹**	۵۱۶/۴۵**	۱۰۸۰/۶۶**	۱۰۶/۱۸**	۵۰/۹۵۸**	۱۷۷/۵۱**	۷۰/۳۵**	
تنش خشکی × پوترسین	۴	۷۵/۸۶**	۴۱/۰۳**	۶۰/۰۹**	۶/۵۵**	۲۷/۸۴**	۶/۷۴**	۴۱/۳۶**	
خطا	۵۴	۱۰/۶۹	۳/۷	۶/۶۹	۱/۵۱	۴/۹۲	۰/۵۵	۹/۲۶	

ns ** و * به ترتیب یعنی عدم معناداری، معنادار در سطح ۱ درصد و معنادار در سطح ۵ درصد.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر محلول پاشی پوترسین بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم)	کارتونوئید (میلی گرم بر گرم)	قندهای احیا (میلی گرم بر گرم)	پروتئین (میلی گرم بر گرم)
تنش خشکی	۲	۷۹/۲۲**	۴۰/۶۲**	۶/۵۵**	۳/۳۸**	۰/۷۰**	۸/۶۳**
پوترسین	۲	۲۰۵/۸۷**	۱۰۹/۰۵**	۲۰/۳۰**	۲۲/۸۸**	۲/۴۲**	۱۲/۳۴**
تنش خشکی × پوترسین	۴	۱۷/۸۰**	۱۵/۶۶**	۱/۶۴**	۰/۸۵**	۰/۲۶**	۰/۴۵*
خطا	۵۴	۱/۲۷	۱/۱۰	۰/۳۰	۰/۲۱	۰/۰۵	۰/۱۴
تنش خشکی	۲	۶۱۸۹/۸۲**	۱۳۸۸۰/۴/۶۷**	۲/۰۶**	۲/۰۶**	۴/۳۶**	۲/۰۹**
پوترسین	۲	۹۷۱۸۱/۱۶**	۱۲۱۲۲۲/۸۰**	۳۵/۶۲**	۱۲۱۲۲۲/۸۰**	۹/۶۸**	۲۵/۴۲**
تنش خشکی × پوترسین	۴	۱۹۵۶/۰۴**	۱۶۰۷۸/۴۶**	۱/۴۹**	۱۶۰۷۸/۴۶**	۰/۹۱**	۱/۶۹**
خطا	۵۴	۳۸۴/۳۱	۵۷۲/۲۵	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۱۲	۰/۰۴

ns ** و * به ترتیب یعنی عدم معناداری، معنادار در سطح ۱ درصد و معنادار در سطح ۵ درصد.

جدول ۳. اثر محلول پاشی پوترسین بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی

تنش خشکی	پوترسین	طول ساقه (سانتی متر)	قطر ساقه (میلی متر)	تعداد برگ	سطح برگ (سانتی متر مربع)	طول ریشه (سانتی متر)	حجم ریشه (سانتی متر مکعب)	سطح ریشه (سانتی متر مربع)	شاخص کلروفیل
۰ (میلی مولار)	b *	۲۴/۶۹±۰/۵	۴/۹۸±۰/۲a	۱۹/۱۴±۰/۳b	۲۵۸/۹±۱۷/۳ab	۲۶/۸۵±۱/۵a	۲۴/۸۵±۰/۵bc	۳۶/۴۶±۱/۳ab	۲۸/۶۱±۱/۹ cd
۰/۵ (میلی مولار)	** شاهد	۲۲/۶۹±۰/۵c	۵/۱۴±۰/۱a	۲۰/۸۵±۱/۱ab	۲۷۹/۹±۲۹/۸a	۲۴/۲۰±۱/۴abc	۲۷/۵۷±۰/۸ab	۳۶/۰۲±۱/۵ab	۲۷/۱۷±۰/۵d
۱ (میلی مولار)		۳۵/۱۳±۰/۷a	۵/۳۷±۰/۳a	۲۳/۵۶±۱/۶a	۳۰۳/۶±۱۴/۵a	۲۵/۰۸±۱/۱ab	۲۸/۴۲±۲/۵a	۳۷/۶۶±۲/۳a	۳۴/۰۸±۰/۹a
۰ (میلی مولار)		۱۹/۴۶±۰/۵d	۴/۵۰±۰/۴a	۱۲/۷۱±۰/۷c	۱۸۳/۸±۱۳/۹c	۲۰/۶۷±۱/۳cd	۲۰/۲۸±۰/۲d	۲۸/۸۹±۰/۹d	۲۳/۹۳±۰/۶e
تنش متوسط ۰/۵ (میلی مولار)		۲۲/۶۱±۰/۵c	۴/۳۸±۰/۲a	۱۴/۴۲±۰/۸c	۲۱۱/۳±۲۰/۵bc	۱۹/۹۵±۱/۷d	۲۲/۴۲±۰/۵cd	۲۹/۷۶±۱/۴cd	۲۲/۶±۰/۷e
۱ (میلی مولار)		۳۵/۶۷±۰/۷a	۴/۲۹±۰/۲a	۲۳/۴۲±۱/۱a	۲۹۱/۴±۳۰/۹a	۲۳/۸۲±۰/۶abc	۲۵/۴۲±۰/۷abc	۳۴/۷۷±۰/۷ab	۳۱/۷۳±۱/۱ab
۰ (میلی مولار)		۱۷/۱۱±۰/۲e	۴/۱۴±۰/۱a	۶/۰۱±۰/۳d	۸۶/۶±۶/۸d	۱۴/۹۹±۰/۶e	۱۵/۲۸±۰/۲e	۲۱/۳۷±۰/۵e	۱۸/۵۸±۰/۷f
تنش شدید ۰/۵ (میلی مولار)		۱۸/۴۶±۰/۳de	۴/۲۹±۰/۱a	۷/۲۲±۰/۳d	۶۷/۱±۹/۱d	۱۶/۶۴±۰/۷e	۱۶/۱۴±۰/۷e	۲۳/۰۹±۰/۷e	۱۷/۹۵±۰/۸f
۱ (میلی مولار)		۳۴/۱۱±۰/۶a	۵/۰۶±۰/۳a	۲۲/۸۵±۱/۶a	۲۷۵/۵±۲۲/۳a	۲۲/۷۷±۰/۶bcd	۲۲/۴۲±۰/۶c	۳۲/۶۴±۰/۷bc	۳۰/۶۵±۱/۴bc

* اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که حرف مشابه دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معناداری ندارد.

** تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) است.

جدول ۴. اثر محلول پاشی پوترسین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی

نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن تر کل (گرم)	محتوای نسبی آب برگ (درصد)	نشست یونی (درصد)	پوترسین	تنش خشکی
۳/۰۷±۰/۲b	۱۳/۸۲±۰/۶b	۴/۵۷±۰/۲a	۳۲/۵۹±۰/۹b	۷/۳۹±۰/۹ab	۳۹/۹۸±۱/۵b	۵۱/۳۴±۰/۳c	۳۷/۴۲±۱/۳ b *	۰ (میلی مولار)	۰ شاهد **
۳/۱۸±۰/۳b	۱۴/۹۱±۰/۶ab	۴/۸۳±۰/۳a	۳۳/۳۸±۱/۲b	۷/۳۳±۰/۷b	۴۰/۷۲±۱/۴	۵۲/۱۹±۰/۷bc	۳۵/۳۰±۰/۸b	۱ (میلی مولار)	۱
۳/۴۰±۰/۴b	۱۷/۰۲±۰/۸a	۵/۲۴±۰/۳a	۳۷/۷۶±۰/۹a	۹/۴۳±۰/۲a	۴۷/۲۰±۰/۸a	۵۸/۱۴±۰/۷a	۲۸/۲۸±۱/۴c	۰ (میلی مولار)	۰
۱۰/۳۰±۰/۳a	۹/۵۷±۰/۴c	۱/۴۹±۰/۳bc	۲۵/۲۲±۰/۸c	۳/۳۶±۰/۲c	۲۸/۵۸±۱/۴c	۴۳/۲۷±۰/۸d	۵۴/۸۸±۰/۵a	۰ (میلی مولار)	۰
۳/۶۴±۰/۳b	۸/۴۴±۰/۳cd	۲/۴۴±۰/۳b	۲۴±۰/۸c	۳/۲۰±۰/۵c	۲۷/۲۱±۰/۶c	۴۳/۹۵±۰/۵d	۵۳/۸۱±۰/۸a	۰/۵ (میلی مولار)	۰/۵
۲/۹۶±۰/۲b	۱۴/۰۲±۰/۸b	۴/۸۲±۰/۳a	۳۴/۳۰±۰/۶ab	۷/۵۲±۰/۳ab	۴۱/۸۳±۰/۹	۵۷/۵۱±۰/۲a	۳۱/۹۵±۰/۲c	۱ (میلی مولار)	۱
۶/۸۶±۰/۶ab	۶/۲۸±۰/۴d	۰/۹۷±۰/۱c	۲۰/۳۳±۰/۵d	۲/۶۸±۰/۱c	۲۲/۰۲±۰/۶d	۳۴/۵۵±۰/۷e	۵۹/۳۰±۱/۷a	۰ (میلی مولار)	۰
۷/۰۶±۱/۳ab	۶/۵۲±۰/۳d	۱/۰۹±۰/۱c	۱۹/۳۱±۰/۶d	۱/۷۵±۰/۲c	۲۱/۰۶±۰/۶d	۳۷/۶۳±۰/۳c	۵۶/۶۶±۱/۳۱a	۰/۵ (میلی مولار)	۰/۵
۲/۹۳±۰/۲b	۱۳/۸۳±۰/۸b	۴/۷۷±۰/۲a	۳۰/۹۱±۰/۴b	۷/۰۸±۰/۱b	۳۸±۰/۴b	۵۴/۹۸±۱/۲ab	۳۴/۸۲±۲/۱b	۱ (میلی مولار)	۱

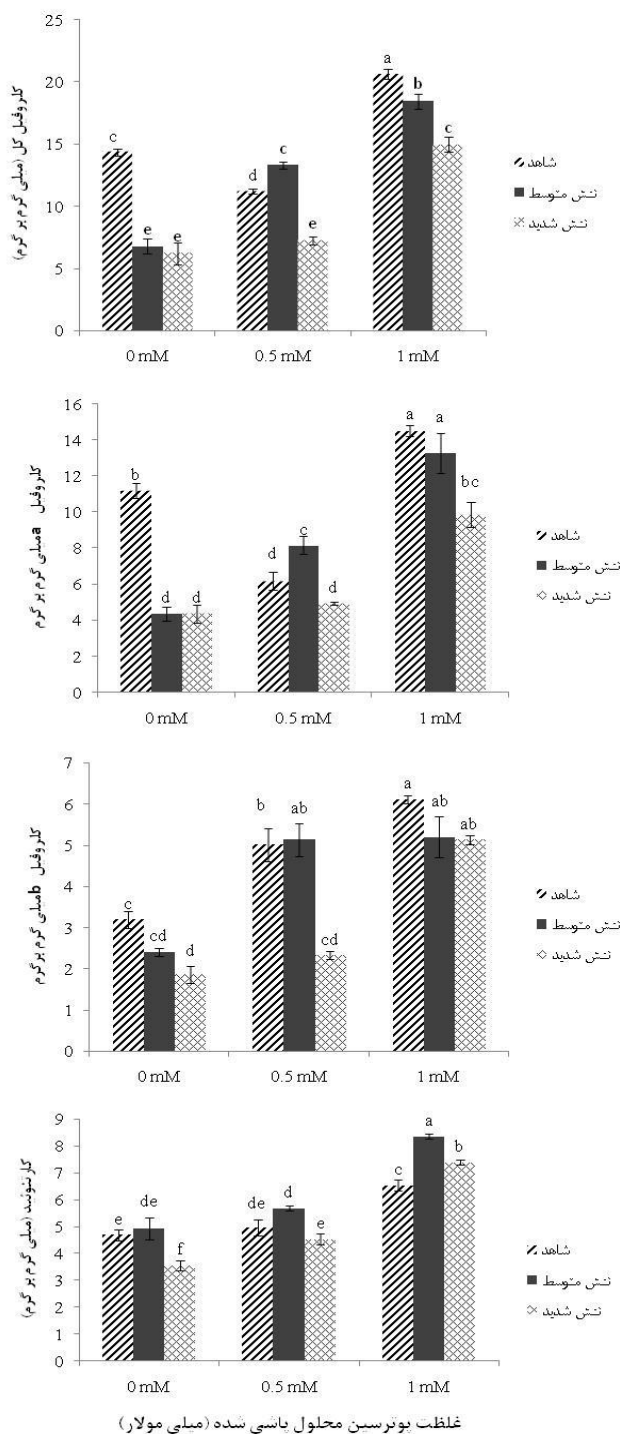
* اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد و میانگین‌هایی که حرف مشابه دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معناداری ندارند.
** تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) است.

پارامترهای بیوشیمیایی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان کلروفیل‌های (کل، a و b) با افزایش تنش خشکی کاهش معناداری یافت در حالی که پوترسین ۱ میلی مولار سبب افزایش میزان آن‌ها شد (شکل ۱). همچنین پوترسین ۱ میلی مولار سبب افزایش میزان کارتنوئیدها در دو سطح تنش متوسط و شدید شد (شکل ۱). از طرفی میزان قندهای احیای برگ تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت و با افزایش سطوح تنش و افزایش غلظت پوترسین میزان آن افزایش یافت، به طوری که پوترسین ۱ میلی مولار در تنش شدید بیشترین میزان قندهای احیا را داشت (شکل ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان پروتئین تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی کاهش یافت، در حالی که محلول پاشی پوترسین با غلظت ۱ میلی مولار در تنش متوسط و تنش شدید سبب افزایش میزان پروتئین نسبت به پوترسین صفر و ۰/۵ میلی مولار شد (شکل ۲). نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی و محلول پاشی پوترسین با غلظت‌های متفاوت بر میزان پرولین و پراکسید هیدروژن معنادار است. پوترسین ۱ میلی مولار در هر سه سطح تنش خشکی سبب افزایش معنادار میزان پرولین شد (شکل ۲). میزان پراکسید هیدروژن بر اثر تنش خشکی افزایش یافت اما تیمار پوترسین ۱ میلی مولار در تنش متوسط و تنش شدید سبب کاهش غلظت آن شد (شکل ۲).

پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که تنش خشکی در گردو میزان کلروفیل (کل، a و b) را کاهش (Vahdati

2013, Leslie &) و میزان قندهای محلول و پرولین را افزایش می‌دهد (Lotfi et al., 2010a) که مطابق با نتایج این پژوهش است. نتایج به دست آمده در این پژوهش با گزارش‌های دیگر بر روی برخی گیاهان از جمله پسته و توتون که نشان دادند این پارامترهای بیوشیمیایی تحت تأثیر شرایط تنش و محلول پاشی پلی آمین‌ها تغییر می‌کنند، همخوانی دارد (Sharma & Dubey, 2010; Hajiboland & Ebrahimi, 2011; Kamiab et al., 2013). یکی از تغییرات بیوشیمیایی که در گیاه تحت تنش ایجاد می‌شود تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل) است که محصول اجتناب‌ناپذیر متابولیسم طبیعی سلول است. این گونه‌های فعال اکسیژن سمی و بسیار واکنش‌پذیرند و در غیاب مکانیسم‌های حفاظتی می‌توانند متابولیسم طبیعی سلول را به میزان زیادی مختل کنند. این رادیکال‌ها از طریق پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تخریب غشا، تخریب پروتئین‌ها و غیرفعال کردن آنزیم‌ها، از بین بردن رنگیزه‌ها و اختلال در عملکرد DNA، تنش ثانویه اکسیداتیو ایجاد می‌کنند که منجر به خسارت‌های جدی به ساختارهای سلولی و گیاه می‌شود. گیاهان در مقابله با تنش خشکی مکانیسم‌های حفاظتی متفاوتی را در پیش می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به تجمع اسمولیت‌هایی مثل پرولین، قندهای احیا، مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی اشاره کرد (Lotfi et al., 2010a; Lotfi et al., 2010b; Nasibi et al., 2011). از این رو با افزایش میزان کلروفیل‌ها، کارتنوئید،



شکل ۱. تأثیر تنش خشکی بر میزان کلروفیل (کل، a و b) و کارتنوئید برگ دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی.

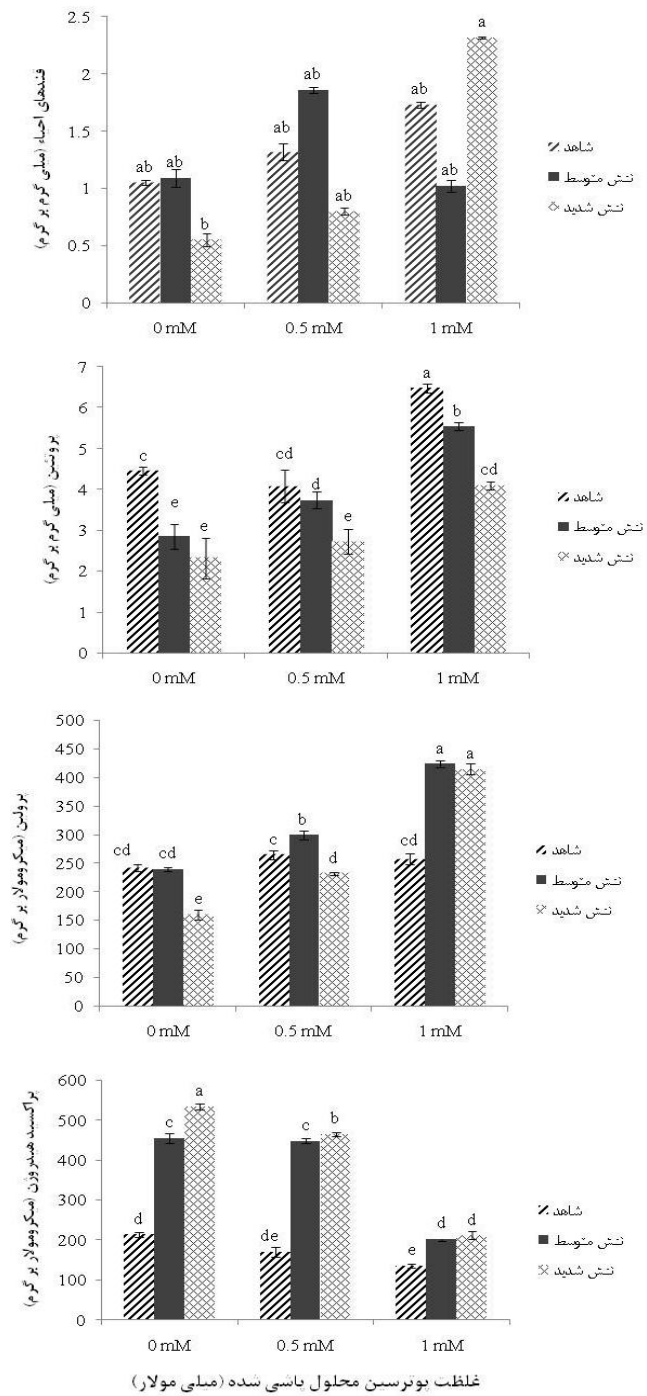
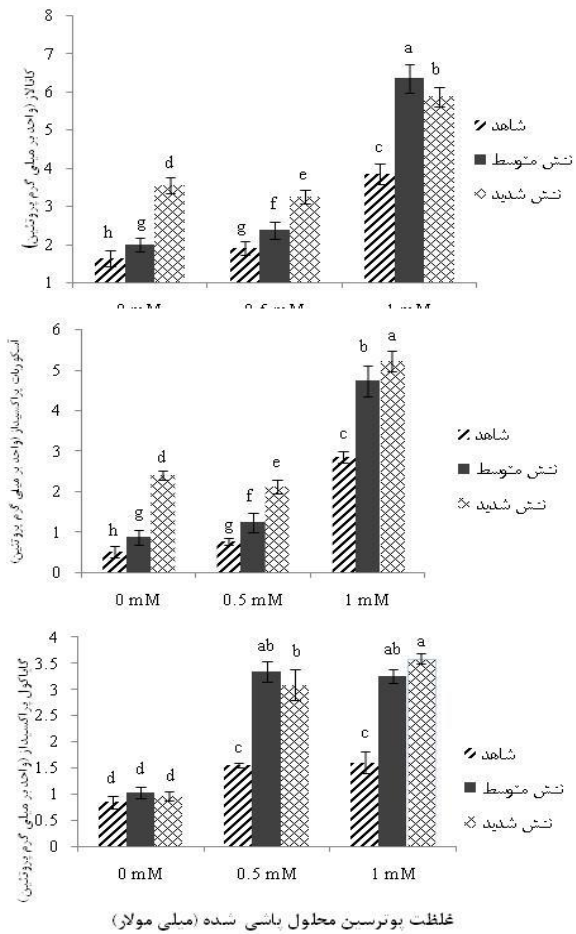
اعداد به صورت میانگین \pm خطای استاندارد و میانگین‌هایی که حرف مشابه دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معناداری ندارد. تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) است.

قندهای احیا، پروتئین و پرولین در دانه‌های محلول‌پاشی شده با پوترسین ۱ میلی‌مولار، می‌توان به نقش پلی‌آمین‌ها در حفاظت گیاهان در مقابل پراکسیداسیون لیپیدها به‌منزله یک مکانیسم دفاعی غیرفعال سلول در ممانعت از آسیب اکسیداتیو پی برد. پلی‌آمین‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی، توانایی خنثی‌سازی اسید، پایداری دیواره سلولی و غشا دارند و از تخریب آن در شرایط تنش جلوگیری می‌کنند. همچنین پلی‌آمین‌ها در نابودی رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش دارند و قندهای احیا را از تخریب رنگریزه‌ها، تجزیه ماکرومولکول‌هایی مانند DNA و پروتئین و تنظیم‌کننده‌های اسمزی مثل پرولین حفظ می‌کنند (Noohpishie & Kalantari., 2011; Liu *et al.*, 2007).

سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی و محلول‌پاشی پوترسین با غلظت‌های متفاوت بر میزان آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز معنادار بود. میزان این آنزیم‌ها تحت تنش خشکی افزایش یافت و پوترسین با غلظت ۱ میلی‌مولار در هر سه سطح تنش سبب افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شد (شکل ۳).

مشخص شده است که تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه پراکسیدازها را در دانه‌های گردو افزایش می‌دهد (Lotfi *et al.*, 2010b). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش با برخی مطالعات دیگر بر روی گیاهانی از قبیل سیب و خردل که نقش دفاعی پلی‌آمین‌ها را در القا و افزایش میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزودن پوترسین برون‌زا گزارش کرده بودند، همخوانی دارد (Zhao & Yang., 2008; Verma & Mishra, 2005). به نظر می‌رسد اهمیت پلی‌آمین‌ها در رویارویی با تنش‌ها می‌تواند به‌دلیل ویژگی چندگانه آن‌ها و نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی، پایداری غشا و حذف رادیکال‌های اکسیژنی فعال از محیط سلول‌ها و به‌منزله آنتی‌اکسیدان باشد (Singh *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2007). این ترکیبات در pH فیزیولوژیکی (حدود ۷) به‌صورت پلی‌کاتیونی هستند که با گروه‌های منفی سر فسفولیپیدها پیوند الکتروستاتیک برقرار می‌کنند و سبب حفظ ثبات و نفوذپذیری غشا در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (Zhao & Yang., 2008).



شکل ۲. تأثیر تنش خشکی بر میزان قندهای احیا، پروتئین، پرولین و پراکسید هیدروژن برگ دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی. اعداد به صورت میانگین \pm خطای استاندارد و میانگین‌هایی که حرف مشابه دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معناداری ندارد. تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مربوط به پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دانه‌های گردوی ایرانی نشان داد که این پارامترها تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و غلظت‌های مختلف پوترسین واقع شدند. در این آزمایش محلول پاشی پوترسین (به ویژه غلظت ۱ میلی‌مولار) با تأثیر بر پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و از طریق بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (افزایش آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز) سبب افزایش مقاومت دانه‌های گردوی ایرانی به تنش خشکی شد.

شکل ۱. تأثیر تنش خشکی بر میزان قندهای احیا، پروتئین، پرولین و پراکسید هیدروژن برگ دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) تحت تنش خشکی.

اعداد به صورت میانگین \pm خطای استاندارد و میانگین‌هایی که حرف مشابه دارند، در سطح ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معناداری ندارد. تیمار شاهد (۸۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۰ درصد ظرفیت زراعی) است.

REFERENCES

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environmental*, 24, 1337-1344.
- Amri, E. & Shamsavar, A. R. (2010). Response of lime seedlings (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(9), 4483-4489.
- Amri, E., Mirzaei, M., Moradi, M. & Zare, K. (2011). The effect of spermidin and putrescine polyamine on growth of pomegranate (*Punica granatum*) in salinity circumstance. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3, 43-49.
- Atkinson, D. (1980). The distribution and effectiveness of the roots of tree crops. *Horticulture Review*, 2, 424-490.
- Bates, L. S., Waldran, R. P. & Tear, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil*, 39, 205-208.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. & Martin-Tanguy, J. (1999). Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sciences*, 140, 103-125.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Deshmukh, P. S., Sairam, R. K. & Shukla, D. S. (1991). Measurement of ion leakage as a screening technique for drought resistance in wheat genotypes. *Indian journal of plant physiology*, 34, 89-91.
- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. & Thorpe, T.A. (1981). Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32, 93-101.
- F. A. O. (2011). Production Year Book. Vol. 62. F.A.O. Rome, Italy.
- Farahani, H., Valadabadi, A., Daneshian, J. & Khalvati, M. (2009). Medicinal and aromatic plants farming under drought conditions. *Journal of Horticulture and Forestry*, 1(6), 86-92.
- Fernandez, J. A., Balenzategui, L., Bañón, S. & Franco, J. A. (2006). Induction of drought tolerance by paclobutrazol and irrigation deficit in (*Phillyrea angustifolia*) during the nursery period. *Scientia Horticulturae*, 107, 277-283.
- Fu, J. & Huang, B. (2001). Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 45, 105-114.
- Fulton, A. & Buchner, R. (2006). The effect of water stress on walnut tree growth, productivity, and economics. *University of California*, 15pp.
- Galston, A. W., Kaur-Sawhney, R., Altabella, T. & Tiburcio, A. F. (1997). Plant polyamines in reproductive activity and response to a biotic stress. *Acta Botanica*, 110, 197-207.
- Goyal, M. & Asthir, B. (2010). Polyamine catabolism influences antioxidative defense mechanism in shoots and roots of five wheat genotypes under high temperature stress. *Plant Growth Regulators*, 60, 13-25.
- Gupta, S., Agarwal, V. P. & Gupta, N. K. (2012). Efficacy of putrescine and benzyladenine on photosynthesis and productivity in relation to drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18(4), 331-6.
- Hajiboland, R. & Ebrahimi, N. (2011). Growth, photosynthesis and phenolics metabolism in tobacco plants under salinity and application of polyamines. *Journal of Plant Biology*, 8, 13-26.
- Hussein, M. M., Nadia, EL-Geready, H. M. & EL-Desuki, M. (2006). Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research*, 2, 598-604.
- Kafi, M., Borzoi, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi. & Nabatei, J (2010). Environmental Stress Physiology of Plants. *Press Jahad Daneshgahi*. 502 PP.
- Kamiab, F., Talaie, A.R., Khezri, M. & Javanshah, A. (2013). Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regulators*, 72, 257-268.
- Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A. F. & Galston, A. W. (2003). Polyamines in plants: An overview. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2, 1-12.
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. & Takahashi, Y. (2008). Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*, 228, 367-381.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Liu, J. H., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y. & Moriguchi, T. (2007). Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnology*, 24, 117-126.
- Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B. & Najafian Ashrafi, E. (2009). Germination, mineral composition and ion uptake in walnut under salinity conditions. *HortScience*, 44(5), 1352-1357.
- Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B. & Amiri, R. (2010a). Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. *Fruits*, 65, 97-112.

28. Lotfi, N., Vahdati, K., Kholdebarin, B., Hassani, D. & Amiri, R. (2010b). Peroxidase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase activity accumulation in leaves and roots of walnut trees in response to drought stress. *Acta Horticulturae*, 861, 309-316.
29. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880.
30. Nasibi, F., Manouchehri Kalantari, Kh. & Yaghoobi, M. M. (2011). Comparison the effects of sodium nitroprusside and arginine pretreatment on some physiological responses of tomato plant (*Lycopersicon esculentum*) under water stress. *Iranian Journal of Biology*, 24(6) , 833-847 (In Farsi)
31. Natali, S., Begnami, C. & Fusari, A. (1991). Water consumption, photosynthesis transpiration and leaf water potential in *Olea europaea* L. cv. 'Frantoio' at different levels of available water. *Acquires Global Agri-Med Technologies*, 121(3), 205-212.
32. Noohpishhe, Z. & Kalantari Kh. M. (2011). The interaction effects of spermidine application and salinity stress in pepper plants. *Iranian Journal of Biology*, 24(6), 848-857.
33. Pan, Y., Wu, L. & Yu, Z. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrriza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulators*, 301, 564-571.
34. Rostami Shahraji, T., Hajimerzai, A. & Shabaian, N. (2010). Physiological responses of Pistacia khinjuck (stocks) seedling to water stress. *Indian Journal of Biology Technology*, 1,44-49.
35. Sadrzadeh, M. & Moalemi, N. (2006). Effects of drought stress and potassium in vegetative intimacy olive seedling cultivars 'Zard and Baghmalek'. *Plant, soil and water Agriculture research*, 6(4),139-148 (In Farsi)
36. Saxena, N. P., Krishnamurthy, L. & Johansen, C. (1993). Registration of a drought resistance chickpea gerplasm. *Crop Sciences*, 33, 1424.
37. Sharma, P. & Dubey, R. S. (2010). Protein synthesis by plants under stressful conditions. In: Pessaraki, M. (Ed.) *Handbook of plant and crop stress*. CRC Press, Boca Raton, 465-518 pp.
38. Singh, D. B., Verma, S. & Mishra, S. N. (2002). Putrescine effect on nitrate reductase activity, organic nitrogen/protein and growth in heavy metal and salinity stressed mustard seedlings. *Plant Biology*, 45, 605-608.
39. Somogy, M. (1952). Note on sugar determination. *Journal of Biochemistry*, 195, 19-29.
40. Spann, T. M. & Heerema, R. J. (2010). A simple method for non-destructive estimation of total shoot leaf area in tree fruit crops. *Scientia Horticulturae*, 125, 528-533.
41. Vahdati, K. & Leslie, C. A. (Eds.) (2013). *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*. 410 pp.
42. Vahdati, K., Lotfi, N., Kholdebarin, B., Hasani, D. & Amiri, R. (2009). Screening for drought tolerant genotypes of Persian walnuts (*Juglans regia* L.) during seed germination. *HortScience*, 44(7), 1815-1819.
43. Verma, S. & Mishra, S. N. (2005). Putrescine alleviation of growth in salt stressed *Brassica juncea* by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology*, 62, 669-677.
44. Wheatherley, P. E. (1950). Studies in water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. *New phytologist*, 49, 81-87.
45. Zhang, K. & John, P.C.L. (2005). Raised level of cyclin dependent kinase after prolonged suspension culture of *Nicotiana plumbaginifolia* is associated with more rapid growth and division, diminished cytoskeleton and lost capacity for regeneration: implications for instability of cultured plant cells. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 82, 295-308.
46. Zhao, H. & Yang, H. (2008). Exogenous polyamines alleviate the lipid peroxidation induced by cadmium chloride stress in *Malus Hupehensis* rehd. *Scientia Horticulturae*, 116, 442-447.