



The effect of putrescine foliar application on changes in some biochemical traits of lime seedling under drought stress

Esmaeil Khaleghi¹, Masumeh Zamani Dehbardi², Noorollah Moallemi³

1. Corresponding Author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: khaleghi@scu.ac.ir
2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: masumezamani20@gmail.com
3. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: n.moallemi@scu.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Drought stress is one of the abiotic stresses that has adverse effects on the growth process of plants such as citrus fruits. Polyamines, a type of nitrogenous growth regulators, such as putrescine, spermine and spermidine are the most effective substances to reduce and modulate the adverse effects of drought stress on plants and present in all living organisms. In order to investigate the effect of different levels of putrescine (0, 0.5, 1 and 2 mM) and different levels of irrigation (100, 75 and 50% of evaporation and transpiration potential) on biochemical traits of lime a factorial experiment was conducted in the form of randomized complete blocks design and repeated measurements with 3 repetitions during 2018-2019 in the greenhouse of the Faculty of Agriculture of Shahid Chamran University, Ahvaz. The results showed that drought stress at the levels of 50 and 75% evaporation and transpiration significantly increased the amount of proline, total soluble carbohydrate, malondialdehyde, protein and peroxidase activity and decreased chlorophyll. The use of putrescine with concentrations of 1 and 2 mM along with full irrigation increased the amount of chlorophyll, proline, total soluble carbohydrate, protein and peroxidase activity and decreased the amount of malondialdehyde. In general, the results showed that the use of polyamines improved the biochemical characteristics and increased the resistance of lime seedlings to drought stress.
Article history: Received: 16 February 2023 Received in revised form: 29 August 2023 Accepted: 10 September 2023 Published online: Autumn 2024	
Keywords: <i>Carbohydrate,</i> <i>Proline,</i> <i>Peroxidase,</i> <i>Stress.</i>	

Cite this article: Khaleghi, E., Zamani Dehbari, M. & Moallemi, N. (2024). The effect of putrescine foliar application on changes in some biochemical traits of lime seedling under drought stress. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 55 (3), 389-405. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.372635.2157>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.372635.2157>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Drought stress is one of the abiotic stresses that has a significant impact on growth and development of plants including citrus fruits. Polyamines are among the most efficacious substances to deal with various stresses, including drought. They are a type of nitrogenous growth regulator, present in all living organisms, and include putrescine, spermine and spermidine, which play a role in a wide range of growth and development processes such as cell division, morphogenesis, flowering, senescence delay, membrane stability, etc. The purpose of this research was investigating the effect of foliar application of putrescine on the changes of some biochemical traits of two-year-old lime seedlings under drought stress condition.

Material and methods

In order to study the effect of different levels of putrescine (0, 0.5, 1 and 2 mM) and different levels of irrigation (100, 75 and 50% of transpiration potential) an experiment was performed in the form of randomized

complete blocks design and repeated measurements with 3 repetitions during 2018-2019 in the greenhouse of the Faculty of Agriculture of Shahid Chamran University, Ahvaz. The first putrescine foliar spraying was done on the first of March in the condition of field capacity, and foliar spraying was done once every month and continued for 4 months. At the end of the experiment, the content of chlorophyll, proline, total soluble carbohydrate, protein and peroxidase enzyme activity were measured.

Results and Discussion

The obtained results showed that drought stress at the levels of 50 and 75% evaporation and transpiration potential significantly increased the amount of proline, total soluble carbohydrate, malondialdehyde, protein and peroxidase enzyme activity and decreased chlorophyll. The use of putrescine at the concentrations of 1 and 2 mM along with full irrigation increased the amount of chlorophyll, proline, total soluble carbohydrate, protein and peroxidase enzyme activity and decreased the amount of malondialdehyde. The lowest and highest amount of total chlorophyll was obtained at the highest level of drought stress and putrescine, respectively. The highest amount of proline and malondialdehyde was observed in the treatment of 50% evaporation and transpiration potential without putrescine solution spraying. Also, irrigation treatment at 50% plant evaporation and transpiration potential and 2 mM putrescine had the highest amount of carbohydrates and peroxidase enzyme activity.

Conclusion

According to the results, foliar application of putrescine at concentrations of 1 and 2 mM reduced the amount of malondialdehyde and increased chlorophyll, proline, carbohydrate content and peroxidase enzyme activity under drought stress conditions. In general, the use of putrescine improved the biochemical characteristics and increased the resistance of lime seedlings to drought stress.



بررسی تأثیر محلول پاشی پوترسین بر روند تغییرات برخی صفات بیوشیمیایی دانه‌های لیموترش تحت تنش خشکی

اسمعیل خالقی^۱ | معصومه زمانی دهبردی^۲ | نوراله معلمی^۳

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ایران. رایانامه: khaleghi@scu.ac.ir

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ایران. رایانامه: masumezamani20@gmail.com

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز ایران. رایانامه: n.moallemi@scu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله:</p> <p>مقاله پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۷</p> <p>تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۰۷</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۹</p> <p>تاریخ انتشار: پاییز ۱۴۰۳</p> <p>کلیدواژه‌ها: پراکسیداز، پرولین، تنش و کربوهیدرات.</p>	<p>تنش خشکی از جمله تنش‌های غیرزنده‌ای است که اثرات سوء بر فرایند رشد و نمو گیاهان نظیر مرکبات دارد. یکی از مواد تاثیرگذار در کاهش و تعدیل تنش خشکی بر گیاهان پلی‌آمین‌ها هستند. پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین) نوعی ماده تنظیم کننده رشد نیتروژنی هستند که در همه موجودات زنده وجود دارند. به منظور بررسی اثر سطوح مختلف پوترسین (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و سطوح مختلف آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق) بر صفات بیوشیمیایی لیموترش آزمایشی به صورت اندازه‌گیری تکراری در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۸ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز صورت گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که تنش خشکی در سطوح ۵۰ و ۷۵ درصد تبخیر و تعرق به طور معنی‌داری میزان پرولین، کربوهیدرات محلول کل، مالون‌دی‌آلدهید، پروتئین و فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش و کلروفیل را کاهش داد. کاربرد پوترسین با غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار به همراه آبیاری کامل میزان کلروفیل، پرولین، کربوهیدرات محلول کل، پروتئین و فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش داد و میزان مالون‌دی‌آلدهید را کاهش داد. به طور کلی نتایج نشان داد که کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب بهبود خصوصیات بیوشیمیایی و افزایش مقاومت نهال‌های لیموترش به تنش خشکی گردید.</p>

استناد: خالقی، اسمعیل؛ زمانی دهبردی، معصومه و معلمی، نوراله (۱۴۰۳). بررسی تأثیر محلول پاشی پوترسین بر روند تغییرات برخی صفات بیوشیمیایی دانه‌های لیموترش تحت تنش خشکی. نشریه علوم باغبانی ایران، ۵۵ (۳)، ۳۸۹-۴۰۵. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.372635.2157>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2024.372635.2157>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

مرکبات از جمله محصولات مهم باغی هستند که به صورت تجاری در کشور کشت میگردند. رشد و تولید این گیاهان تحت تأثیر تنش‌های زنده و غیرزنده قرار می‌گیرد (Khaleghi et al., 2015). خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده است که فرآیند رشد و نمو گیاهان را تحت الشعاع قرار می‌دهد و می‌تواند باعث مرگ گیاه شود و تقریباً ۲۵ درصد تولید کشاورزی را محدود می‌کند (Moallemi et al., 2022). از تاثیرگذارترین مواد برای مقابله با انواع تنش‌ها از جمله خشکی پلی‌آمین‌ها می‌باشند. پلی‌آمین‌ها از انواع مواد تنظیم کننده رشد نیتروژنی هستند که در همه موجودات زنده وجود دارند و شامل پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین می‌باشند (Alcázar et al., 2010). این مواد تنظیم کننده رشد گیاهی در طیف وسیعی از فرآیندهای رشد و نمو شامل تقسیم سلولی، ریخت‌زایی، گلدهی، تاخیر پیری، پایداری غشاء و ... نقش دارند (Kusano et al., 2008). کاربرد خارجی پوترسین با جلوگیری از سنتز اتیلن پیری گیاه را به تاخیر می‌اندازد و از تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل جلوگیری و رشد گیاه را بهبود می‌بخشد (Zokaei Khosroshahi et al., 2007).

پیشینه پژوهش

لیموترش (*Citrus aurantifolia*, Rutaceae) یکی از گونه‌های مرکبات است (Gao et al., 2022) که رشد آن تحت تأثیر تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی قرار می‌گیرد (Jafari & Shahsavari, 2021). حساسیت به تنش خشکی در مراحل مختلف رشد مرکبات متفاوت است. تنش خشکی سبب ایجاد اختلال در فرآیند گلدهی، ریزش گل و میوه‌های جوان می‌گردد (Faiber, 2015). وقوع تنش خشکی سبب تغییر رنگ برگ‌ها و پیچ‌خوردگی لبه برگ‌ها به سمت داخل شده و تداوم تنش باعث می‌شود که برگ‌ها مجمعی شکل شوند. با پیشرفت تنش مرگ و ریزش برگ‌ها اتفاق می‌افتد که این خود بر فتوسنتز و ادامه رشد درختان مرکبات از جمله لیموترش بسیار تاثیرگذار است (Wright, 2000).

گیاهان از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با تنش خشکی استفاده می‌کنند. یکی از مؤثرترین ترکیبات برای مقابله با تنش استفاده از پلی‌آمین‌ها است (Singh & Tuteja, 2010). کاربرد پوترسین در مرکبات موجب افزایش مقاومت به تنش‌های غیر زنده از جمله خشکی و شوری شده است (Mahdavian et al., 2020). همچنین، محلول پاشی مواد فعال اسمزی مانند پوترسین جایگزین مناسبی برای مقابله با اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی مختلف است که موجب بهبود محتوای آب برگ، ماده خشک، کاهش شاخص‌های آسیب سلولی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Mohammadi et al., 2018). کاربرد پوترسین با استفاده از افزایش بیان ژن موجب بهبود خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو پایه ولکامریانا و کاریزو سیترنج تحت شرایط تنش خشکی گردیده است (Mahdavian et al., 2021). محلول پاشی برگ‌ها با اسپرمیدین و اسپرمین با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار روی دانه‌های گیلاس در شرایط تنش خشکی موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید شد. همچنین کاربرد این پلی‌آمین‌ها (اسپرمیدین و اسپرمین) موجب افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه، کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی گردید (Yin et al., 2014). محلول پاشی پوترسین موجب تنظیم فعالیت اسمزی و مسیر هورمونی از جمله آبسازیک-اسید می‌گردد که موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و بهبود ظرفیت فتوسنتزی تحت شرایط تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی می‌شود (Ghahremani et al., 2023). پوترسین به عنوان دسته‌ای از تنظیم کننده‌های رشد گیاهان در نظر گرفته می‌شود که تحت شرایط تنش، سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی را تقویت می‌کند و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از تجمع گونه‌های فعال اکسیژن جلوگیری می‌کند، همچنین با تنظیم متابولیسم و تجمع اسمولیت‌ها موجب افزایش مقاومت به خشکی می‌گردد (Hussein et al., 2023). استفاده از پوترسین در پرتقال و نارنگی موجب کاهش تولید هیدروژن پراکسید و

1 Citrus volkameriana

2 Carrizo citrange

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش گردید (Mohammadrezakhani *et al.* 2021). همچنین محلول پاشی پوترسین با افزایش میزان پرولین آزاد، فعالیت آنزیم پراکسیداز و بازده مصرف آب و کاهش قابل توجه میزان نشت الکترولیت باعث افزایش تحمل به تنش خشکی در گیاه فلفل گردید (Ghahremani *et al.*, 2023). تیمار نهال‌های کلثوپاترا با پلی‌آمین‌ها (اسپرمیدین و دی آرژنین) موجب مقاومت به شرایط تنش شوری گردید (Anjum, 2010). همچنین کاربرد پلی‌آمین‌ها (پوترسین و اسپرمیدین) بر روی نهال‌های انگور موجب افزایش تحمل در برابر تنش خشکی گردید (Toumi *et al.*, 2010). این پژوهش با هدف بررسی اثر محلول پاشی برگ‌ی پوترسین بر خصوصیات بیوشیمیایی دانه‌های لیموترش تحت شرایط تنش خشکی انجام شد.

روش‌شناسی پژوهش

منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و سطوح مختلف آبیاری بر دانه‌های جوان لیموترش (*Citrus aurantifolia* cv. Mexican Lime) آزمایشی در سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۹ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شد. دانه‌های دوساله لیموترش از نهالستان تجاری مورد تایید سازمان جهاد کشاورزی خوزستان تهیه شد و پس از انتقال به گلدان‌های ۲۵ لیتری با بستر کشت مخلوط خاکی (یک سوم خاک زراعی، یک سوم ماسه و یک سوم کود حیوانی پوسیده) منتقل گردید و به منظور سازگاری با شرایط محیطی جدید به مدت ۲ ماه در گلخانه نگهداری شد. پس از سازگاری با شرایط جدید اثر غلظت‌های مختلف پوترسین شامل صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار در سه رژیم مختلف آبیاری ۱۰۰ درصد، ۷۵ درصد و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه بر برخی از صفات بیوشیمیایی دانه‌های دوساله‌ی لیموترش بررسی شد. جهت اعمال تیمار پوترسین، اولین محلول پاشی در اول اسفند در حالت ظرفیت زراعی خاک انجام گردید و به مدت ۴ ماه هر یک ماه یک بار محلول پاشی برگ‌ی انجام شد. جهت اعمال تیمار آبیاری، ۳ گلدان به عنوان گیاه مرجع در نظر گرفته شد. ابتدا وزن گلدان‌های مرجع در حالت ظرفیت مزرعه‌ای محاسبه و بعد از گذشت ۷ روز مجدداً گلدان‌ها وزن شدند. اختلاف وزن اولیه و ثانویه به عنوان میزان آب آبیاری ۱۰۰ درصد تبخیر و تعرق گیاه در نظر گرفته شد و برحسب آن آبیاری ۷۵٪ و ۵۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق اعمال گردید (Shafiei *et al.*, 2019). این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به روش اندازه‌گیری تکراری با سه تکرار (هر تکرار شامل ۲ گیاه) انجام شد. در طی چهار ماه هر یک ماه یک بار (یک بار در زمان شروع آزمایش و ۳ مرتبه در طی کاربرد تیمارها) صفات بیوشیمیایی به شرح زیر اندازه‌گیری گردید.

محتوای کلروفیل

به منظور استخراج و اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، ۰/۱ گرم برگ تازه در هاون چینی سائیده و ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد طی دو مرحله به آن افزوده و به فالکون منتقل شد. عصاره‌های به دست آمده بلافاصله به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید (Inskip & Bloom, 1985). میزان جذب روشناورها در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (مدل اسمارت اسپیک ۳۰۰۰، ساخت شرکت بایو-راد) قرائت گردید. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۳ محاسبه گردید (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

$$\text{Chl}_a (\text{mg/g}) = [12.15 A_{663} - 2.55 A_{646}] (V/W) \quad \text{رابطه ۱}$$

$$\text{Chl}_b (\text{mg/g}) = [18.29 A_{646} - 4.58 A_{663}] (V/W) \quad \text{رابطه ۲}$$

$$\text{Chl}_{\text{Total}} (\text{mg/g}) = \text{Chl}_a + \text{chl}_b \quad \text{رابطه ۳}$$

تهیه عصاره الکلی جهت اندازه‌گیری پرولین و کربوهیدرات

میزان ۰/۵ گرم از نمونه برگ منجمد شده با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی له گردید. قسمت روشن‌تر عصاره حاصل جمع‌آوری شد و عملیات استخراج بر روی رسوبات برگ باقی مانده طی دو مرحله شستشو (هر مرحله با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد) ادامه یافت. عصاره‌های الکلی جمع‌آوری شده، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و تا زمان تعیین مقادیر پرولین آزاد و کربوهیدرات‌های محلول کل، داخل لوله‌های آزمایش درپوش‌دار، در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Irigoyen et al., 1992).

پرولین

میزان دو میلی‌لیتر از عصاره الکلی تهیه شده، در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس، دو میلی‌لیتر ناین‌هیدرین اسید و دو میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال افزوده شد. محلول حاصل ابتدا به مدت یک ساعت در حمام آب جوش و پس از آن در ظرف آب یخ قرار داده شد تا واکنش ایمینواسید با ناین‌هیدرین متوقف گردد. پس از خنک شدن، چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله آزمایش اضافه گردید و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه با ورتکس کاملاً بهم زده شد. این کار باعث جدا شدن فازهای آلی و معدنی از یکدیگر و تشکیل کمپلکسی ارغوانی رنگ در فاز بالایی که حاوی تولوئن است، گردید. بلافاصله میزان جذب نور فاز بالایی نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (Bates et al., 1973).

کربوهیدرات محلول کل

جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول کل از روش (Irigoyen et al., 1992) استفاده شد. در این آزمایش از عصاره‌های تهیه شده جهت سنجش میزان پرولین استفاده گردید، به این صورت که ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه شده، در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد و ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون تازه آماده شده، به آن افزوده شد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌های آزمایش، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج مرئی فرابنفش خوانده شد.

اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید

میزان ۰/۱ گرم برگ تازه و بالغ گیاه در ۱/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد همگن و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشن‌تر ۲ میلی‌لیتر از محلولی که شامل تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیوباربتوریک اسید ۰/۵ درصد بود افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه درون حمام آب جوش با دمای ۹۵ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از آن، نمونه‌ها بلافاصله درون ظرف یخ سرد شدند و مجدداً با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در انتها، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از رابطه ۴ مقدار مالون‌آلدئید محاسبه شد (Heath & Packer, 1968).

$$\text{رابطه ۴} = \frac{(A_{532} - A_{600}) \times 155}{0.1} = \text{غلظت مالون دی‌آلدئید}$$

آماده‌سازی نمونه برای تعیین میزان پروتئین محلول کل و سنجش آنزیم پراکسیداز

یک گرم بافت برگ تازه در یک هاون سرد شده با استفاده از نیتروژن مایع سائیده شد. پس از اینکه بافت برگ خرد گردید، ۱۰۰ میلی‌گرم پلی‌وینیل‌پیرولیدون به آن اضافه و مخلوط حاصل دوباره سائیده شد. سپس سه میلی‌لیتر بافر استخراج (شامل

۱ Trichloroacetic acid

۲ Thiobarbituric acid

3 Polyvinylpyrrolidone (PVP)

بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7$ و سدیم متابی‌سولفات یک میلی‌مولار) اضافه گردید. پس از اینکه نمونه‌ها به خوبی له شدند، عصاره گیاهی حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. سپس لایه شفاف بالایی جدا شد، در حجم‌های کوچکتر تقسیم و به میکروتیوپ‌های ۲۰۰۰ میکرولیتر منتقل شد. نمونه‌ها پس از انجماد در نیتروژن مایع به فریزر با دمای -80 درجه سلسیوس انتقال داده شدند تا از آن‌ها جهت تعیین میزان پروتئین محلول کل و سنجش‌های آنزیمی استفاده گردد. همه مراحل در دمای چهار درجه سلسیوس صورت گرفت.

پروتئین

میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری گردید. میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه‌های فوق با یک میلی‌لیتر معرف بردفورد ۲۰ درصد مخلوط گردید و به مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر (لبومد مدل UV-3200، ساخت آمریکا) خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی غلظت پروتئین نمونه‌ها محاسبه گردید.

آنزیم پراکسیداز

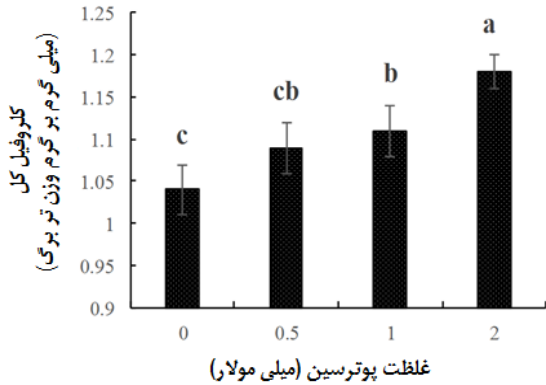
فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش Hemeda & Klein (1990) در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از مخلوط واکنش شامل ۸۱۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ($\text{pH}=6/6$) با غلظت ۵۰ میلی‌مولار، ۹۰ میکرولیتر گایاکول ۱ درصد، ۹۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳/۰ درصد و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود.

آنالیز داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.1 و MSTATC و به منظور مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

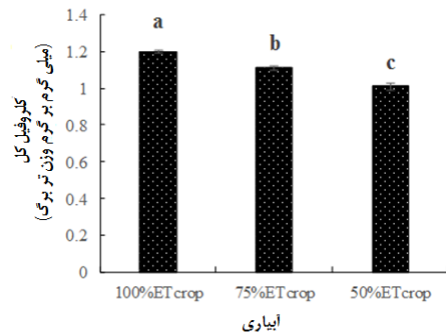
یافته‌های پژوهش

نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی به ویژه در سطح ۵۰ درصد موجب کاهش میزان کلروفیل (شکل ۱) و افزایش غلظت پوترسین موجب افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل گردید (شکل ۲). بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل ۳ با گذشت زمان و کاهش آب آبیاری از میزان کلروفیل کل کاسته شد و کمترین مقدار کلروفیل کل ($0/61$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در دانه‌های تیمار شده با آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و ۹۰ روز پس از اعمال تیمار به دست آمد. همچنین، در زمان ۹۰ روز پس از تیمار بیشترین مقدار کلروفیل کل در آبیاری کامل مشاهده گردید. نتایج نشان می‌دهد که در ۳۰ روز پس از شروع آزمایش غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار پوترسین نسبت به غلظت صفر میزان کلروفیل را به طور معنی‌داری افزایش دادند اما غلظت $0/5$ میلی‌مولار پوترسین تأثیر معنی‌داری نداشت. در ۶۰ روز پس از اعمال تیمار، بین گیاهان محلول‌پاشی شده با پوترسین و گیاهان شاهد در میزان کلروفیل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در این زمان بیشترین میزان کلروفیل کل در غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار پوترسین (به ترتیب $1/10$ و $1/11$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده گردید (شکل ۴). اثر متقابل زمان در آبیاری در پوترسین بر میزان پرولین نشان داد که با سپری شدن زمان و کاهش آب آبیاری بر میزان پرولین برگ‌های دانه‌های لیموترش افزوده شد. ۹۰ روز پس از شروع آزمایش و در تیمار ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه بین گیاهان محلول‌پاشی شده و عدم محلول‌پاشی پوترسین از نظر مقدار پرولین تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ولی در تیمار ۷۵ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه در این زمان و در تمام غلظت‌های پوترسین (صفر، $0/5$ ، ۱ و ۲ میلی‌مولار) تفاوت معنی‌دار آماری مشاهده نشد. همچنین نتایج حاکی از آن بود که بیشترین مقادیر پرولین در تیمار ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت صفر و $0/5$ میلی‌مولار پوترسین در این زمان به دست آمد (به ترتیب $28/72$ و $27/73$ میکرومول بر گرم وزن تر) که با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند. همچنین کمترین مقدار پرولین ($17/19$ میکرومول بر گرم وزن تر) در پایان آزمایش در تیمار ۱۰۰

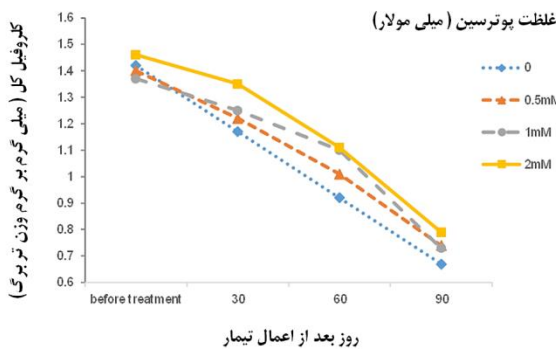
درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت یک میلی مولار پوترسین به دست آمد (شکل ۵). با سپری شدن زمان و کاهش آب آبیاری بر میزان کربوهیدرات محلول کل در دانه‌های لیموترش افزوده شد و کاربرد پوترسین باعث افزایش کربوهیدرات محلول کل در گیاهان محلول پاشی شده نسبت به گیاهان شاهد گردید. بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول کل (۲۷/۱۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در ۹۰ روز پس از شروع تیمار، در آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت دو میلی مولار پوترسین به دست آمد و در همین زمان کمترین میزان کربوهیدرات محلول کل (۱۱/۶۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در گیاهان مربوط به آبیاری کامل و غلظت صفر پوترسین به دست آمد (شکل ۶).



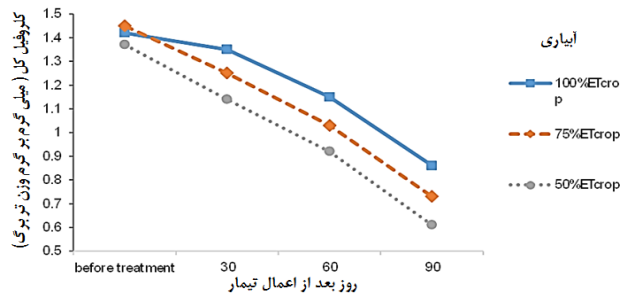
شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر میزان کلروفیل کل در لیموترش



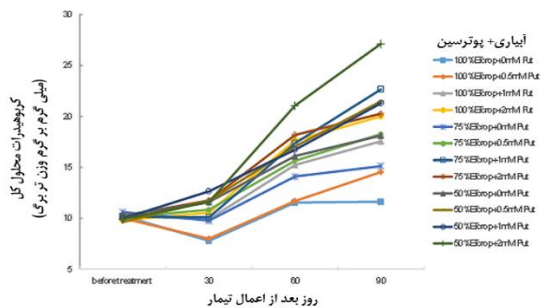
شکل ۱. اثر سطوح مختلف آبیاری بر میزان کلروفیل کل در لیموترش



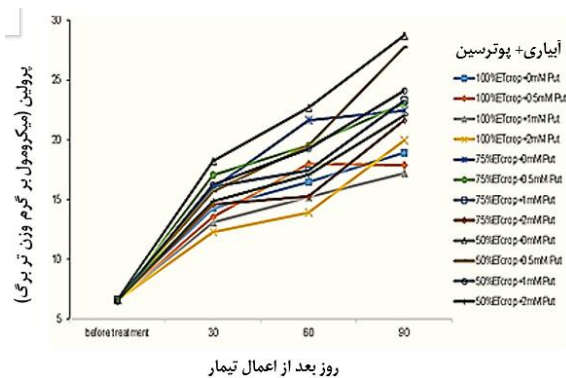
شکل ۴. اثر متقابل زمان × پوترسین بر میزان کلروفیل کل در لیموترش



شکل ۳. اثر متقابل زمان × آبیاری بر میزان کلروفیل کل در لیموترش

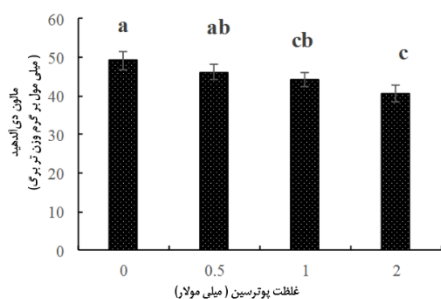


شکل ۶. اثر متقابل زمان × آبیاری × پوترسین بر میزان کربوهیدرات محلول کل در لیموترش

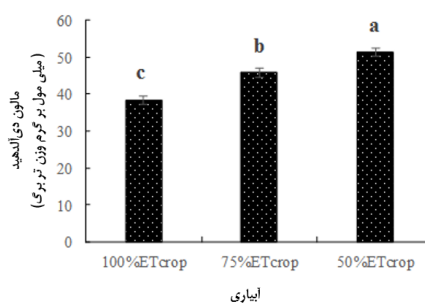


شکل ۵. اثر متقابل زمان × آبیاری × پوترسین بر تغییرات پروتئین در لیموترش

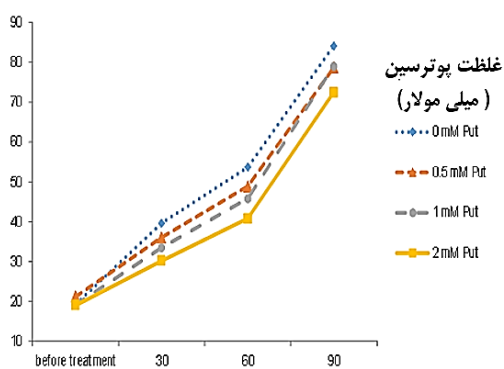
اعمال تنش خشکی به ویژه در شدت بالا موجب افزایش معنی‌دار میزان مالون دی‌آلدئید گردید (شکل ۷) و کاربرد پوترسین میزان این ماده را به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۸). با توجه به نتایج به دست آمده در شکل ۹ بیشترین مقادیر مالون دی‌آلدئید در ۹۰ روز پس از اعمال تیمار و در آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه حاصل شد (به ترتیب ۷۹/۸۲ و ۸۳/۰۸ میلی‌مول بر گرم وزن تر) که با مقدار مالون دی‌آلدئید در تیمار ۱۰۰ درصد آبیاری (۷۲/۸۴ میلی‌مول بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌دار داشت. به طور کلی با گذشت زمان و کاهش آب آبیاری بر مقدار مالون دی‌آلدئید افزوده شد و بالاترین مقدار مالون دی‌آلدئید در ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه به دست آمد. بیشترین مقادیر مالون دی‌آلدئید در ۹۰ روز پس از اعمال تیمار در تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار پوترسین (به ترتیب ۸۴/۱۷، ۷۸/۶۹ و ۷۹ میلی‌مول بر گرم وزن تر) حاصل شد که بیشتر از مقدار به دست آمده در گیاهان محلول پاشی شده با غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین (۷۲/۴۶ میلی‌مول بر گرم وزن تر) بود. به طور کلی در تمام زمان‌ها بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید در گیاهان محلول پاشی نشده مشاهده گردید (شکل ۹). با توجه به اثر متقابل زمان در آبیاری در پوترسین بر میزان پروتئین محلول کل، مشخص شد که با سپری شدن زمان مقدار پروتئین در گیاهان محلول پاشی شده با پوترسین نسبت به شاهد در تمام تیمارهای آبیاری افزایش یافت. ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در تیمار آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه در تمام غلظت‌های پوترسین نسبت به عدم کاربرد پوترسین تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ولی در تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه بین تیمارهای صفر و ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین تفاوت معنی‌دار وجود نداشت، در حالی که با دو غلظت دیگر پوترسین در این تیمار تفاوت معنی‌دار داشتند. همچنین، با بررسی نتایج این پژوهش مشخص شد که ۹۰ روز پس از شروع آزمایش بیشترین مقدار پروتئین محلول کل (۷۶/۴۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت دو میلی‌مولار پوترسین و کمترین مقدار آن (۳۷/۹۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تیمار آبیاری کامل و غلظت صفر میلی‌مولار پوترسین به دست آمد. به‌طور کلی نتایج نشان از افزایش مقدار پروتئین با کاهش مقدار آب آبیاری و افزایش غلظت پوترسین دارد (شکل ۱۱). با توجه به نتایج به دست آمده با گذشت ۹۰ روز پس از اعمال تیمار و کاهش میزان آب آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز افزوده شد و در تمام تیمارهای آبیاری فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان محلول-پاشی شده با پوترسین نسبت به گیاهان شاهد بیشتر بود. بیشترین مقدار آنزیم پراکسیداز (۳۲/۶۲ میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در ۹۰ روز پس از آزمایش در تیمار آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد. همچنین، کمترین مقادیر آن در تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین (به ترتیب ۱۶/۱۱ و ۱۷/۳۴ میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) به دست آمد که با هم تفاوت معنی‌دار نداشتند (شکل ۱۲).



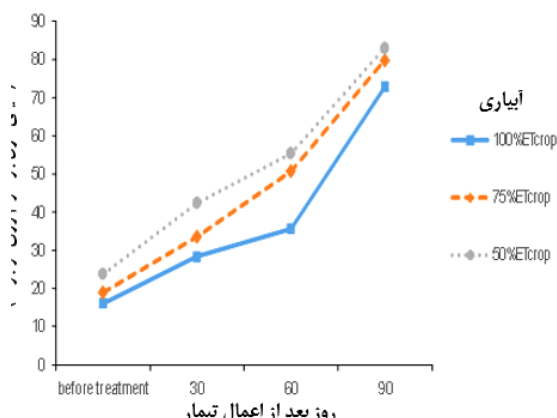
شکل ۸. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر میزان مالون دی‌آلدئید در لیموترش



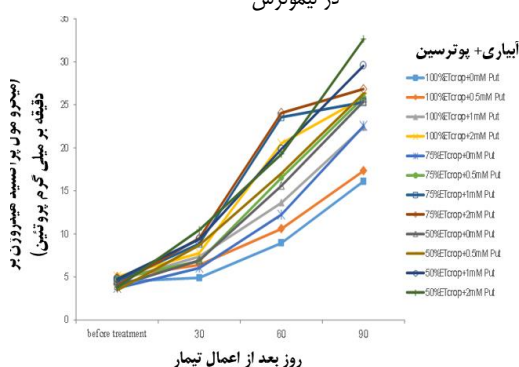
شکل ۷. اثر سطوح مختلف آبیاری بر میزان مالون دی‌آلدئید در لیموترش



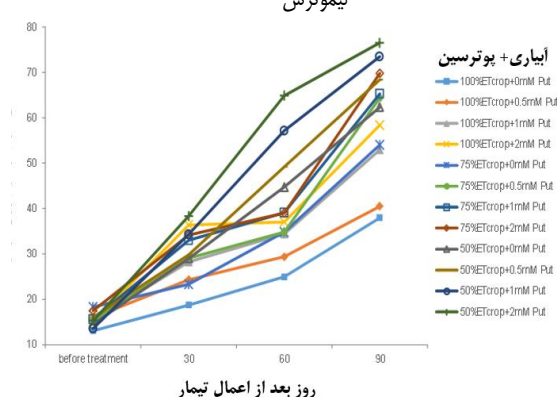
شکل ۱۰. اثر متقابل زمان × پوتاسیم بر میزان مالون دی آلدئید در لیموترش



شکل ۹. اثر متقابل زمان × آبیاری بر میزان مالون دی آلدئید در لیموترش



شکل ۱۲. اثر متقابل زمان × آبیاری × پوتاسیم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در لیموترش



شکل ۱۱. اثر متقابل زمان × آبیاری × پوتاسیم بر میزان پروتئین محلول کل در لیموترش

بحث

با توجه به نتایج به دست آمده اعمال تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل گردید. کاهش میزان کلروفیل برگ درختان نارنج در نتیجه اعمال تنش خشکی نشان داده شده است (Mohamed *et al.* 2018). همچنین Xie *et al.* (2012) گزارش کردند که با گذشت زمان و افزایش شدت تنش خشکی میزان کلروفیل در برگ‌های مرکبات به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. نتایج Parvin & Khezri (2015) نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان کلروفیل در برگ‌های دانه‌های گردو کاهش پیدا کرد و با افزایش تنش خشکی از ۸۰ به ۵۰ و سپس به ۲۰ درصد ظرفیت زراعی، کاهش معنی‌دار در مقدار کلروفیل a, b و کل مشاهده گردید. کاهش مقدار کلروفیل تحت تنش خشکی می‌تواند به دلیل تجزیه غشا و آسیب کلروپلاست به دنبال تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن باشد و یا مسیرهای تولید کلروفیل آسیب می‌بینند و کلروفیل‌ها طی تنش آبی اکسید می‌شوند (Salekjalali *et al.*, 2012). در پژوهشی کاربرد پوتاسیم توانست اثری مثبت بر میزان کلروفیل بگذارد به طوری که موجب افزایش میزان کلروفیل برگ‌های گیاه نارنج تحت تنش خشکی شد (Mohamed, 2018). کاربرد پوتاسیم در گیاه گلرنگ نیز موجب بهبود رنگ‌های فتوسنتزی شد و به طور معنی‌داری کلروفیل را در گیاهان تحت تنش خشکی افزایش داد (Toupchi Khosrowshahi *et al.*, 2018). Gupta *et al.* (2012) گزارش کردند که کاربرد پوتاسیم از غشا و دیگر ماکرومولکول‌ها در برابر خسارت اکسیداتیو محافظت کرده و باعث به تاخیر انداختن تخریب کلروفیل می‌شود. کاربرد خارجی پوتاسیم همچنین باعث القای داخلی سیتوکینین شده که باعث تحریک تولید کلروفیل می‌گردد (El Bassiouny & Mostafa, 2008). نتایج همچنین نشان دهنده افزایش میزان پرولین در برگ‌های گیاه لیموترش تحت تنش

خشکی بود که با یافته‌های (Mohamed *et al.*, 2018) در نارنج و Xie *et al.* (2012) در پرتقال های تحت تنش خشکی مطابقت داشت؛). نتایج مشابهی در درختان نارنج (Mohamed *et al.*, 2018) و پرتقال (Xie *et al.*, 2012) تحت تنش خشکی به دست آ گیاهان برای افزایش مقاومت به خشکی سطوح بالایی از اسمولیت‌ها را تولید میکنند. پرولین اسمولیتی شناخته شده است که از غشا در برابر گونه‌های فعال اکسیژن حفاظت می‌کند (Razavizadeh *et al.*, 2017). غلظت پرولین عاملی است که بر مقاومت به خشکی اثر می‌گذارد. با افزایش سطوح خشکی به منظور تنظیم اسمزی و نگه‌داشت آب سلول بر مقدار این عامل افزوده می‌گردد. افزایش پرولین در شرایط تنش خشکی می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت پرولین-5-کربوکسیلات سنتاز باشد (Amri & Mohammadi, 2012). علاوه بر این افزایش میزان پرولین تحت تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش پتانسیل آب برگ و فعالیت آنزیم‌های درگیر در تجمع پرولین باشد (Chaitanya *et al.*, 2009). تجمع پرولین در گیاه سبب ثبات ساختارهای زیرسلولی همچون غشا و پروتئین‌ها و مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش اسیدی شدن سیتوپلاسم می‌گردد (Karimi *et al.*, 2016) و از طریق تنظیم اسمزی، جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و خنثی‌سازی رادیکال‌های هیدروکسیل سبب افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی می‌شود (Kuznetsov & Shevyakova, 1997). گیاهان تحت تنش، اسیدآمینو پرولین تولید می‌کنند و با کاربرد پوترسین، پرولین بیشتری هم تولید می‌کنند که این امر توانایی گیاه را برای رشد و همچنین مقاومت به تنش خشکی بالا می‌برد (Amri & Mohammadi, 2012). با توجه به اینکه محلول پاشی پوترسین میزان پرولین تولیدی را در شرایط تنش افزایش می‌دهد می‌توان این‌گونه بیان نمود که تولید پوترسین از طریق دی‌آمین اکسیداز به تجمع پرولین کمک می‌کند (Ahmed *et al.*, 2017). همچنین، پوترسین می‌تواند در کنار نقش اسمولیتی خود سبب مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و اثرات مضر تنش را کاهش بدهد (Ahmed *et al.*, 2017). طبق نتایج به دست آمده تنش خشکی و طولانی‌شدن زمان تنش باعث افزایش میزان کربوهیدرات محلول در نمونه‌ها گردید. در پژوهشی میزان قندهای محلول در دو رقم مرکبات با تنش خشکی به شکلی معنی‌دار افزایش پیدا کرد و با گذشت زمان و افزایش شدت تنش خشکی بر میزان قندهای محلول افزوده شد (Xie *et al.*, 2012). افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان به گونه‌ای نشان‌دهنده آغاز فعالیت ساز و کار تنظیم اسمزی است که شرایط را برای جذب بیشتر آب و املاح از محیط ریشه به داخل گیاه فراهم می‌کند و بدون آسیب به فعالیت‌های بیوشیمیایی، تجمع یافته باعث یکپارچگی غشا می‌شوند (Sairam *et al.*, 2002) افزایش قندهای محلول کل تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به علت کاهش غلظت پتاسیم باشد که می‌تواند پتانسیل آب سلول را بدون این‌که از عمل آنزیم‌ها جلوگیری کند کاهش دهد و نیز بدون این‌که فشار تورگور سلول را کم کند، تجمع قندها سبب نگهداشتن ثبات و انسجام غشا شود (Ahmed *et al.*, 2017). در تحقیق حاضر کاربرد پوترسین با غلظت دو میلی‌مولار به افزایش کربوهیدرات محلول کمک کرد. در تحقیقی کاربرد ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر پوترسین سبب افزایش کربوهیدرات محلول در نارنج گردید (Mohamed *et al.*, 2018). پوترسین از طریق حفظ و افزایش میزان کلروفیل‌ها و تامین آب به عنوان عنصر اولیه فتوسنتز سبب افزایش میزان فتوسنتز و تولید کربوهیدرات محلول بیشتر گردید. افزایش شدت تنش خشکی سبب افزایش تولید مالون دی‌آلدئید شد. نتایج Wang *et al.* (2012) نیز نشان دادند که تنش خشکی موجب افزایش میزان مالون دی‌آلدئید در سیب گردید. مالون دی‌آلدئید محصول تجزیه‌شدن هیدروپراکسیدهای اسیدهای چرب غیراشباع است و اغلب به عنوان یک نشانگر زیستی برای پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد می‌شود. افزایش مالون دی‌آلدئید در طی تنش خشکی ممکن است به علت تخریب غشا در نتیجه تنش اکسایشی القا شده توسط انواع اکسیژن‌های فعال باشد (Danaeifar *et al.*, 2023). مالون دی‌آلدئید عاملی است که سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌گردد. افزایش مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش نشان می‌دهد که تنش خشکی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدی غشا می‌شود (Mittler, 2002). نتایج نشان داد که کاربرد پوترسین به خصوص در غلظت‌های بیش‌تر میزان مالون دی‌آلدئید

تولیدی را کاهش داد. نتایج حاصل باننایج (Toupchi Khosrowshahi *et al.*, 2018) که گزارش کردند استفاده از پوترسین میزان مالون دی‌آلدهید را تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری کاهش داد مطابق دارد. ترکیبات پلی‌آمین به صورت پلی‌کاتیون هستند که با گروه‌های منفی سر فسفولیپیدها پیوند الکتروستاتیکی برقرار می‌کنند و باعث حفظ ثبات و نفوذپذیری غشا در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در نتیجه کاهش میزان مالون دی‌آلدهید می‌شوند (Zokaee Khosrowshahi *et al.*, 2007). در تحقیق حاضر تنش خشکی سبب افزایش میزان پروتئین در برگ‌های گیاه لیموترش شد. احتمالاً این افزایش به این دلیل بوده که این گونه با تولید پروتئین بیش‌تر در شرایط تنش کم‌آبی توانایی خود را برای تنظیم اسمزی افزایش می‌دهد، همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تنش کم‌آبی مانع تجزیه پروتئین‌ها در این شرایط می‌گردد (Bacelar *et al.*, 2009). افزایش میزان پروتئین تحت شرایط تنش می‌تواند در ارتباط با افزایش بیوسنتز پروتئین برای سازش با شرایط جدید و تحمل به تنش باشد (Ebrahimi *et al.*, 2010) از تغییرات مهم بیوشیمیایی در اثر تنش کم‌آبی تغییر در میزان تولید پروتئین‌های گیاهی است، در این شرایط تجزیه و یا جلوگیری از سنتز برخی از پروتئین‌ها و همچنین تولید گروه‌های جدیدی از پروتئین‌ها روی می‌دهد (Dasgupta & Bewley, 1984). کاربرد پوترسین میزان پروتئین را تحت تنش افزایش داد. تجمع پروتئین در برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان تیمار شده با پوترسین نقش مهمی در تنظیم اسمزی دارد (Saruhan *et al.*, 2006). پلی‌آمین‌ها در نابودی رادیکال‌های فعال آزاد اکسیژن نقش داشته و ماکرومولکول‌هایی همچون پروتئین را از تخریب در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن حفظ می‌کنند (Groppa & Benavides, 2008) پلی‌آمین‌ها قندهای احیاء و رنگیزه‌ها را از تخریب بازداشته و از تجزیه ماکرومولکول‌هایی همچون DNA و پروتئین ممانعت می‌کنند و از پروتئین و تنظیم‌کننده‌های اسمزی همچون پرولین محافظت می‌کنند (Liu *et al.*, 2007). تنش خشکی همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز را افزایش داد. تحت تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز در برگ‌های درختان زیتون افزایش یافت (Sofa *et al.*, 2008). مشخص شده است که کمبود آب باعث القاء فعالیت‌های پراکسیداز می‌گردد و بیشترین فعالیت این آنزیم در تنش شدید حاصل شد. پراکسیداز نقشی حیاتی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن دارد. پراکسیداز از آنزیم‌های اصلی مهار هیدروژن پراکسید در کلروپلاست است و سبب سرکوب تخریب پروتئین می‌شود. همچنین، افزایش فعالیت پراکسیداز از لیپیدهای غشا در برابر حمله گونه‌های فعال اکسیژن دفاع کرده و از ساختار و عمل سیستم‌های سلول محافظت می‌کند و این بخشی از مکانیسم خودمحافظتی در گیاهان است (Liu *et al.*, 2017). گیاهان برای مهار رادیکال‌های آزاد اکسیژن به منظور تقلیل آسیب تنش اکسیداتیو تحت تنش از مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله پراکسیداز در طول تنش فعال شده و گونه‌های فعال اکسیژن را تجزیه می‌کنند (Hojati *et al.*, 2011). آنزیم پراکسیداز نقشی کلیدی در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن، حذف مالون دی‌آلدهید و ثبات دیواره سلولی دارد (Kim *et al.*, 2007). محلول‌پاشی دانه‌های لیموترش با پوترسین موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید نتایج مشابهی در درختان سیب توسط Zhao & Yang, (2008) بدست آمد آنها گزارش کردند که پلی‌آمین‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در سیب افزایش دادند. افزایش فعالیت این آنزیم موجب حفاظت از گیاهان در برابر اثرات مخرب پراکسید هیدروژن و آسیب‌های غشایی می‌گردد (Toumi *et al.*, 2010). به‌طور کلی پلی‌آمین‌ها می‌توانند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را فعال کرده و هموستازی گونه‌های فعال اکسیژن و خسارت اکسیداتیو را با بازدارندگی از تجمع پراکسید هیدروژن تعدیل کنند (Gill & Tuteja, 2010). احتمال می‌رود که پلی‌آمین‌ها در راه اندازی واکنش‌های دفاعی که موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردند نقش داشته باشند (Toumi *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

به‌طور کلی نتایج نشان داد که خصوصیات بیوشیمیایی تحت تأثیر اعمال تیمارها قرار گرفتند و کاربرد پوترسین به‌خصوص در غلظت دو میلی‌مولار تحت شرایط تنش خشکی موجب کاهش میزان مالون دی‌آلدهید و افزایش ترکیباتی از جمله کلروفیل،

پرویلین، کربوهیدرات و فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید. بنابراین، با افزایش میزان کلروفیل‌ها، قندهای احیاء و پروتئین در دانه‌های محلول پاشی شده با پوترسین می‌توان به نقش پلی‌آمین‌ها در حفاظت گیاهان در مقابله با پراکسیداسیون لیپیدها به منزله یک مکانیسم دفاعی سلول در جلوگیری از آسیب اکسیداتیو پی برد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین بار مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- پروین، پریسا و خضری، مسعود (۱۳۹۴). بررسی اثر محلول پاشی پوترسین بر افزایش تحمل دانه‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia*) به تنش خشکی. *تشریح علوم باغبانی ایران*، ۴۶ (۱)، ۹۹-۱۰۹.
- رضوی زاده، رویا؛ ادب آوازه، فاطمه؛ رستمی، فاطمه و تیموری، عباس (۱۳۹۴). بررسی مقایسه ای اثرات استرس اسمزی بر مکانیسم های دفاعی و متابولیت های ثانویه در گیاهچه و کالوس *Carum copticum*. *مجله فرآیند و عملکرد گیاه*، ۵ (۱۸)، ۲۳-۲۲.
- شفیعی، نرگس؛ خالقی، اسماعیل و معلمی، نوراله (۱۳۹۸). تأثیر اسیدسالیسیلیک بر برخی خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی زیتون رقم "کنسروالیا" (*Olea europaea* cv. 'Konservalia') تحت شرایط تنش خشکی. *تولیدات گیاهی*، ۴۲ (۱)، ۱۵-۳۰.
- کریمی، زهرا؛ توحیدی مقدم، حمیدرضا و کسرائی، پورنگ (۱۳۹۳). تأثیر محلول پاشی پوترسین روی مقاومت آنتی اکسیدانی گندم رقم SW-82-9 تحت شرایط تنش کم آبی. *پژوهش های زراعی در حاشیه کویر*، ۳ (۱۱)، ۲۰۹-۲۱۷.
- معلمی، نورالله؛ خالقی، اسماعیل و دانایی فر، عباس (۱۴۰۱). بررسی تأثیر استفاده از سه نوع پلیمر سوپرجاذب بر جذب N.P.K آکاسیا در شرایط تنش خشکی. *مجله مهندسی کشاورزی*، ۴۵ (۲)، ۱۵۳-۱۶۶.

RERERENCES

- Ahmed, A. H., Darwish, E. & Alobaidy, M. G. (2017). Impact of putrescine and 24-epibrassinolide on growth, yield and chemical constituents of cotton (*Gossypium barbadense* L.) plant grown under drought stress conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 16(1), 9-23. <http://dx.doi.org/10.3923/ajps.2017.9.23>
- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C. & Tiburcio, A. F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231(6), 1237-1249. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-010-1130-0>
- Amri, E. & Mohammadi, M.J. (2012). Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punica granatum* L. cv. 'Atabaki') to exogenous spermidine and putrescine polyamines. *African Journal of Microbiology Research*, 6(25), 5294-5300. <http://dx.doi.org/10.5897/AJMR11.1355>
- Anjum, M.A. (2010). Response of Cleopatra mandarin seedlings to a polyamine-biosynthesis inhibitor under salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 951-959.
- Bacelar, E. A., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Lopes, J. I. & Correia, C. M. (2009). Physiological responses of different olive genotypes to drought conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 611-621. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-009-0272-9>
- Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 7(72), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Chaitanya, K.V., Rasineni, G. K. & Reddy, A. R. (2009). Biochemical responses to drought stress in mulberry (*Morus alba* L.): evaluation of proline, glycine betaine and abscisic acid accumulation in five cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 437-443. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-008-0251-6>

- Danaeifar, A., Khaleghi, E., Zivdar, S. & Mehdikhanlou, K. (2023). Physiological, biochemical, and gene expression of Sour Orange (*Citrus aurantium* L.) to Iron (II)-Arginine Chelate under salinity, alkalinity, and salt-alkali combined stresses. *Scientia Horticulturae*, 319, 112146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112146>
- Dasgupta, J. & Bewley, J.D. (1984). Variations in protein synthesis in different regions of greening leaves of barley seedlings & effects of imposed water stress. *Journal of Experimental Botany*, 35(10), 1450-1459. <https://doi.org/10.1093/jxb/35.10.1450>
- Ebrahimi, A., Naqvi, M. & Sabokdast, M. (2010). Comparison of different species of barely landraces in terms of chlorophyll, carotenoids, protein and enzyme. *Crop Sci*, 41(1), 57-65.
- El-Bassiouny, H. M. Mostafa, H. A. El-Khawas, S. A. Hassanein, R. A., Khalil, S.I. & Abd El-Monem, A. A. (2008). Physiological responses of wheat plant to foliar treatments with arginine or putrescine. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(4), 1390-1403.
- Faiber, B. (2015). Irrigating citrus with limited water. *ANR publication*, 8549, 1-6.
- Gao, S., Kang, H., An, X., Cheng, Y., Chen, H., Chen, Y. & Li, S. (2022). Non-destructive storage time prediction of Newhall Navel oranges based on the characteristics of rind oil glands. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.811630>
- Ghahremani, Z., Alizadeh, B., Barzegar, T., Nikbakht, J., Ranjbar, M. E. & Nezamdoost, D. (2023). The mechanism of enhancing drought tolerance threshold of pepper plant treated with putrescine and salicylic acid. *Plant Stress*, 9(2), 100199. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stress.2023.100199>
- Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 5(1), 26-33. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.5.1.10291>
- 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), 331-336. <http://dx.doi.org/10.1007/s12298-012-0123-9>
- Groppa, M. & Benavides, M. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids*, 34(1), 35-45. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-007-0501-8>
- Heath, R. L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125(1), 189-198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
- Hemeda, H. & Klein, B. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55(1), 184-185. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06048.x>
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S. A. M., Karimi, M. & Ghanati, F. (2011). Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(1), 105-112. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-010-0521-y>
- Hussein, H. A. A., Alshammari, S. O., Abd El-Sadek, M. E., Kenawy, S. K. & Badawy, A. A. (2023). The promotive effect of putrescine on growth, biochemical constituents, & yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) plants under water stress. *Agriculture*, 13(3), 587. <http://dx.doi.org/10.3390/agriculture13030587>
- Inskip, W.P. & Bloom, P. R. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll a & b in N, N-dimethylformamide & 80% acetone. *Plant Physiology*, 77(2), 483-485. <https://doi.org/10.1104/pp.77.2.483>
- Irigoyen, J., Einerich, D. & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline & total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1), 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>
- Jafari, M. & Shahsavari, A. (2021). The effect of foliar application of melatonin on changes in secondary metabolite contents in two *Citrus* species under drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 692735. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.692735>
- Karimi, Z., Tohidi Moghadam, H. R. & Kasraee, P. (2016). The effect of putrescine foliar application on physiologic characteristics of wheat *Triticum aestivum* var. sw-82-9 under cut irrigation

- stress. *Agronomic Research in Semi Desert Regions*, 11(3), 209-217. (In Persian).
- Khaleghi, E., Arzani, K., Moallemi, N. & Barzegar, M. (2015). The efficacy of kaolin particle film on oil quality indices of olive trees (*Olea europaea* L.) cv 'Zard' grown under warm and semi-arid region of Iran. *Food Chemistry*, 166, 35-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.006>
- Kim, J. K., Bamba, T., Harada, K., Fukusaki, E. & Kobayashi, A. (2007). Time-course metabolic profiling in *Arabidopsis thaliana* cell cultures after salt stress treatment. *Journal of Experimental Botany*, 58(3), 415-424. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl216>
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. & Takahashi, Y. (2008). Polyamines: essential factors for growth and survival. *Planta*, 228(3), 367-381. <https://doi.org/10.1007/s00425-008-0772-7>
- Kuznetsov, V. & Shevyakova, N. I. (1997). Stress responses of tobacco cells to high temperature and salinity. Proline accumulation and phosphorylation of polypeptides. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 320-326. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb04789.x>
- Lichtenthaler, H.K. & Wellburn, A.R. (1983). Determinations of total carotenoids & chlorophylls a & b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society transactions*, 11, 591-592. <https://doi.org/10.1042/BST0110591>
- Liu, F., Savić, S., Jensen, C. R., Shahnazari, A., Jacobsen, S. E., Stikić, R. & Andersen, M. N. (2007). Water relations and yield of lysimeter-grown strawberries under limited irrigation. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 128-132. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.10.006>
- Liu, M., Chen, J., Guo, Z. & Lu, S. (2017). Differential responses of polyamines and antioxidants to drought in a centipedegrass mutant in comparison to its wild type plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, 792. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00792>
- Mahdavian, M., Sarikhani, H., Hadadinejad, M. & Dehestani, A. (2020). Putrescine effect on physiological, morphological, and biochemical traits of carrizo citrange and volkameriana rootstocks under flooding stress. *International Journal of Fruit Science*, 20(2), 164-177. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1605560>
- Mahdavian, M., Sarikhani, H., Hadadinejad, M. & Dehestani, A. (2021). Exogenous application of putrescine positively enhances the drought stress response in two citrus rootstocks by increasing expression of stress-related genes. *Journal of Soil Science & Plant Nutrition*, 21(3), 1934-1948. <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00491-3>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02312-9)
- Moallemi, N., Khaleghi, E. & Danaeifar, A. (2022). Investigating the effect of using three types of superabsorbent polymers on N.P.K absorption in acacia under drought stress conditions. *Journal of Agricultural Engineering*, 45(2), 153-166. (In Persian).
- Mohamed, S. (2018). Effect of chitosan, putrescine and irrigation levels on the drought tolerance of sour orange seedlings. *Egyptian Journal of Horticulture*, 45(2), 257-273. <https://doi.org/10.21608/ejoh.2018.3063.1050>
- Mohammadi, H., Ghorbanpour, M. & Brestic, M. (2018). Exogenous putrescine changes redox regulations and essential oil constituents in field-grown *Thymus vulgaris* L. under well-watered and drought stress conditions. *Industrial Crops and Products*, 122, 119-132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.064>
- Mohammadrezakhani, S., Rezanejad, F. & Hajilou, J. (2021). Effect of putrescine and proline on profiles of GABA, antioxidant activities in leaves of three *Citrus* species in response to low temperature stress. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 30(3), 545-553. <https://doi.org/10.1007/s13562-020-00645-x>
- Parvin, P. & Khezri, M. (2015). Effect of foliar application of putrescine to enhance drought tolerance of Persian walnut (*Juglans regia* L.) seedlings. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 46(1), 99-109. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.54129>. (In Persian)
- Razavizadeh, R., Adabavazeh, F., Rostami, F. & Teimouri, A. (2017). Comparative study of osmotic stress effects on the defense mechanisms and secondary metabolites in *Carum copticum*

- seedling and callus. *Journal of Plant Process and Function*, 5(18), 23-33. (In Persian)
- Sairam, R. K., Rao, K. V. & Srivastava, G. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Salekjalali, M., Haddad, R. & Jafari, B. (2012). Effects of soil water shortages on the activity of antioxidant enzymes and the contents of chlorophylls and proteins in barley. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 12(1), 57-63.
- Saruhan, N., Turgut-Terzi, R. & Kadioglu, A. (2006). The effects of exogenous polyamines on some biochemical changes during drought stress in *Ctenanthe setosa* (Ros.) Eichler. *Acta Biologica Hungarica*, 57(2), 221-229. <https://doi.org/10.1556/abiol.57.2006.2.9>
- Shafiei, N., Khaleghi, E. & Moallemi, N. (2019). Effect of salicylic acid on some morphological & biochemical characteristics of Olive (*Olea europaea* cv. 'Konservalia') under water stress. *Plant Productions*, 42(1) 15-30. (In Persian). <https://doi.org/10.22055/ppd.2019.22031.1477>
- Singh Gill, S. & Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plant. *Plant Signaling and Behavior*, 5(1), 26-33. <http://dx.doi.org/10.4161/psb.5.1.10291>
- Sofo, A., Manfreda, S., Fiorentino, M., Dichio, B. & Xiloyannis, C. (2008). The olive tree: a paradigm for drought tolerance in Mediterranean climates. *Hydrology and Earth System Sciences*, 12(1), 293-301. <http://dx.doi.org/10.5194/hessd-4-2811-2007>
- Toumi, I., Moschou, P. N., Paschalidis, K. A., Bouamama, B., Salem-Fnayou, A. B., Ghorbel, A. W. & Roubelakis-Angelakis, K. A. (2010). Abscisic acid signals reorientation of polyamine metabolism to orchestrate stress responses via the polyamine exodus pathway in grapevine. *Journal of Plant Physiology*, 167(7), 519-525. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.10.022>
- Toupchi Khosrowshahi, Z., Salehi-Lisar, S. Y., Ghassemi-Golezani, K. & Motafakkerzad, R. (2018). Physiological responses of safflower to exogenous putrescine under water deficit. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 14(3), 38-48.
- Wang, S., Liang, D., Li, C., Hao, Y., Ma, F. & Shu, H. (2012). Influence of drought stress on the cellular ultrastructure and antioxidant system in leaves of drought-tolerant and drought-sensitive apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 51, 81-89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.014>
- Wright, G. C. 2000. Irrigating citrus trees. 1-5. ag.arizona.edu/pubs/crops/az1151.pdf
<http://hdl.handle.net/10150/144778>
- Xie, S., Liu, Q., Xiong, X. & Lovatt, C. J. (2012). Effect of water stress on *Citrus* photosynthetic characteristics. *Acta Horticulturae*, (928), 315-322.
- Yin, Z. P., Li, S., Ren, J. & Song, X. S. (2014). Role of spermidine and spermine in alleviation of drought-induced oxidative stress and photosynthetic inhibition in Chinese dwarf cherry (*Cerasus humilis*) seedlings. *Plant Growth Regulation*, 74(3), 209-218. <http://dx.doi.org/10.1007/s10725-014-9912-1>
- Zhao, H. & Yang, H. (2008). Exogenous polyamines alleviate the lipid peroxidation induced by cadmium chloride stress in *Malus hupehensis* Rehd. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 442-447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2008.02.017>
- Zokaee Khosroshahi, M.R., Esna-Ashari, M. & Ershadi, A. (2007). Effect of exogenous putrescine on post-harvest life of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) fruit, cultivar Selva. *Scientia Horticulturae*, 114(1):, 27-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2007.05.006>