

بررسی تأثیر محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر بهبود برخی شاخص های فیزیولوژیکی و عملکرد سویا در شرایط کم آبیاری

معصومه حیدرقلی نژاد^۱، منوچهر قلی پور^۲، همت اله پیردشتی^۳ و حمید عباس دخت^۲

۱- دانشجوی دکتری بوم شناسی کشاورزی، ۲- دانشگاه صنعتی شاهرود، دانشکده کشاورزی بسطام ۳- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری

کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۳/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۹/۱۰)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی و عملکرد سویا (رقم کاسپین) در شرایط کم آبیاری، آزمایشی به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۹۵-۱۳۹۴ در مزرعه مرکز جهاد کشاورزی چپکروود جویبار، در استان مازندران انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل آبیاری در چهار سطح (۱۰۰، ۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد نیاز آبی) به عنوان فاکتور اصلی و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین در سه سطح (صفر (شاهد)، نیم و یک میلی مولار) به عنوان فاکتور فرعی بودند. صفات مورد اندازه گیری شامل تعداد برگ، تعداد غلاف در گیاه، ارتفاع گیاه، تعداد دانه در گیاه، وزن هزار دانه، عملکرد ماده خشک تک بوته، عملکرد دانه تک بوته، شاخص پایداری غشاء (MSI)، میزان نسبی آب برگ (RWC)، نشت الکترولیت (EL)، مالون دی آلدئید (MDA)، و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) بود. نتایج نشان داد که در شرایط کم آبیاری استفاده از پلی آمین اسپرمیدین در غلظت های مختلف بر تمامی صفات به جز تعداد برگ تأثیر معنی داری داشت. در بررسی اثرات متقابل نتایج نشان داد که با کاهش میزان آبیاری از ۱۰۰ درصد نیاز آبی تا کمترین میزان آن (۳۰ درصد نیاز آبی) محلول پاشی غلظت یک میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین باعث افزایش معنی دار در تعداد غلاف و دانه در گیاه، وزن هزار دانه و عملکرد ماده خشک تک بوته به ترتیب به میزان ۲۰، ۵۰، ۹۰، ۹۰ درصد گردید. همچنین مقدار محتوای نسبی آب برگ نسبت به شرایط شاهد (بدون استفاده از پلی آمین اسپرمیدین) به ترتیب به میزان ۶۳ درصد افزایش و میزان نشت الکترولیت، ۱۶ درصد کاهش یافت. مقدار شاخص پایداری غشاء نسبت به شرایط بدون استفاده از پلی آمین اسپرمیدین ۱/۱۳ برابر افزایش یافت. با کاهش سطح آبیاری به ۳۰ درصد نیاز آبی، غلظت نیم میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین باعث افزایش عملکرد دانه به میزان ۹۰ درصد و کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و مالون دی آلدئید به ترتیب ۶۷ و ۳۴ درصد گردید که حاکی از افزایش تحمل به خشکی در گیاه بوده است. در مجموع، نتایج بیانگر تأثیر مثبت استفاده از پلی آمین اسپرمیدین بر تحمل به خشکی در سویا (رقم کاسپین) در شرایط کم آبیاری از طریق بهبود خصوصیات بیوشیمیایی و اجزای عملکرد گیاه بوده است.

واژه های کلیدی: شاخص پایداری غشاء، ماده خشک، مالون دی آلدئید، نشت الکترولیت

The evaluation of spermidine polyamine foliar spraying effects on improving some physiological indices and yield in soybean under low-irrigation condition

Masoumeh Heidargholinezhad¹, Manoochehr Gholipoor², Hematollah Pirdashti³, Hamid Abbasdokht²

1- Phd student of Agroecology, Industrial Shahrood University, Agriculture College of Bastam

2- Associate Professor, Industrial Shahrood University, Agriculture College of Bastam

3- University of Agricultural Sciences and Natural Resources of Sari

(Received: June 1, 2018 - Accepted: December 1, 2018)

ABSTRACT

To evaluate of spermidine polyamine (SPD) foliar spraying effect on physiological indices and soybean yield (cv.'Caspian') under low-irrigation condition, a split-plot experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications in Chapakrood, Joybar, Mazandaran province, in the year of 2016. The treatments incorporated the four levels of irrigation (100, 70, 50 and 30% of water requirement) as main plots and the three levels of foliar spraying SPD (0 (control), 0.5, 1 mM) as sub-plots. The evaluated parameters includes leaf number, pod number per plant, plant height, seed number per plant, the thousands seeds weights, the dry matter yield in a single plant, seed yield in a single plant, membrane stability index (MSI), relative water content (RWC), electrolyte leakage (EL), malondialdehyde (MDA), and hydrogen peroxide (H_2O_2). The results displayed that the application of SPD in various concentration had a significant effect on all characteristics except leaf numbers under low-irrigation conditions. In the evaluation of the interaction effects, the exhibited results showed that between low- irrigation and SPD, the SPD spraying concentration at the rate of 1 mM by reduced irrigation conditions from normal water requirement (100%) to its 30% requirement will result in significant increase in the pod number, seed number per plant, one thousands seeds weight, and dry matter yield by 90, 90, 50 and 20 %, respectively. Also, RWC and MSI increased up to 63% and 1.13 times, respectively, while EL decreased by 16% as compared to no-SPD conditions. With the decrease of irrigation rate to 30 % water requirement, the SPD concentration of 0.5 mM made seed yield to increase up to 90%, while H_2O_2 and MDA decreased to 67% and 34%, respectively that is the indication of plant drought

tolerance. In sum, the results indicated the positive effect of the application of SPD improved drought tolerance in soybean (cv.'Caspian') under low-irrigation condition through the improvement of physiological characteristics and yield components.

Keywords: Dry matter, electrolyte leakage, malonaldehyde, membrane stability index.

مقدمه

(Cornic, 2000). که منجر به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن و بازدارندگی نوری و تنش اکسیداتیو می‌شود (Hakala et al., 2005; Nishiyama et al., 2006). گیاهان دارای روش‌های متعددی جهت جلوگیری از تأثیر مخرب گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند که از جمله آن می‌توان به از بین بردن مازاد انرژی برانگیخته و یا تولید رنگدانه‌های حفاظتی (کاروتنوئید و آنتوسیانین) اشاره کرد (Gould et al., 2002). واکنش گیاهان به تنش خشکی به طور معنی‌داری در سطوح اندام‌های مختلف، متفاوت است که بسته به شدت، مدت تنش در گونه‌های گیاهی و مرحله نمو دارد (Chaves et al., 2003).

در گیاهان مقادیر متفاوتی از پلی آمین‌های دی آمین پوتریسین (PUT)، تری آمین اسپرمیدین (SPD) و تترا آمین اسپرمین (SPM) وجود دارد. این پلی آمین‌ها دارای مولکول‌های کاتیونی با وزن مولکولی کم می‌باشند که در pH سلول دارای بار مثبت بوده و به اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدهای اسیدی و تعداد زیادی از پروتئین‌ها شامل آنزیم‌های مختلف متصل شده و در محدوده وسیعی از فرآیندهای بیولوژیکی از جمله رشد گیاهی، نمو و پاسخ به تنش‌های مختلف نقش ایفا می‌کنند (Pandy et al., 2000). یکی از فرآیندهای متأثر از آنها پاسخ به تنش‌های محیطی و حذف رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Kakkar et al., 2000; Martin-Tanguy, 2001). اگرچه پلی آمین‌های موجود در گیاهان هورمون نیستند، اما از اجزای ضروری سلول‌های گیاهی‌اند که قادرند همانند هورمون‌های گیاهی فرآیندهای مختلف را در شرایط طبیعی و تنش تنظیم نمایند. استفاده خارجی این مواد می‌تواند فرآیندهای متنوع فیزیولوژیکی، مرفولوژیکی و بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار داده و به عنوان یک تنظیم کننده رشد مورد استفاده قرار گیرند (Kuznetsov et al., 2006). در بافت‌های گیاهان پلی آمین‌ها به صورت متصل با مولکول‌های آلی دیگر و یا به شکل آزاد یافت می‌شوند. در بسیاری از موارد، تنش به انباشتگی پلی آمین‌ها منجر می‌گردد که نشان‌دهنده

اثر تغییر اقلیم بر تولید محصولات زراعی از زمینه‌های تحقیقاتی مهم در طول دو دهه گذشته می‌باشد. با تغییر اقلیم جهانی و نیاز به امنیت غذایی برای آینده، فهم تأثیر تغییر اقلیم روی تولید گونه‌های مهم زراعی امری ضروری است و در این میان تنش خشکی اثرات زیادی بر تولید گیاهان زراعی در آینده دارد (Shanker et al., 2014). تنش خشکی از دلایل اصلی کاهش عملکرد گیاهان زراعی در سرتاسر جهان است که منجر به کاهش میانگین عملکرد تا بیش از ۵۰ درصد می‌گردد (Wang et al., 2003). در بیشتر گیاهان تنش خشکی موجب تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی می‌شود که ممکن است منجر به تنش اکسیداتیو در گیاه و تأثیر بر متابولیسم و سرانجام عملکرد آن شود. در نتیجه تنش خشکی، جذب عناصر غذایی در گیاهان به علت کاهش ترقق، تخریب انتقال فعال و نفوذپذیری غشاء و در نتیجه جذب ریشه، کاهش می‌یابد. بیشترین تأثیر مخرب خشکی مربوط به فرآیند فتوسنتزی گیاه است. بیشتر گزارش‌ها بیانگر کاهش فعالیت فتوسنتزی تحت شرایط تنش خشکی است که می‌تواند به علت محدودیت روزنه‌ای یا غیرروزنه‌ای باشد (Yordanov et al., 2003; Zlatev & Yordanov, 2004). بسته شدن روزنه باعث محدودیت ترقق می‌شود اما منجر به محدودیت جذب دی اکسید کربن نیز می‌گردد که کاهش فعالیت فتوسنتزی را به همراه دارد (Nayyar & Gupta, 2006; Yang et al., 2006). در نتیجه ممکن است عدم تعادل بین فعالیت فتوسنتزی PSII و نیاز الکترونی چرخه کالوین - بنسون روی دهد که منجر به افزایش انرژی برانگیخته و بازدارندگی نوری و آسیب به مراکز واکنش PSII گردد. کمبود آب باعث آسیب به کمپلکس حاوی اکسیژن PSII و غیر فعال شدن آن همراه با تخریب پروتئین D1 (یکی از غشاء‌های پروتئینی بخش میانی مرکز واکنش PSII) می‌گردد

مواد و روش‌ها:

آزمایش به صورت مزرعه‌ای در قالب اسپلیت-پلات با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در مرکز جهاد کشاورزی چپکروند-جویبار (۳۶ درجه و ۳۳ دقیقه تا ۳۶ درجه و ۴۷ دقیقه شمالی و ۵۲ درجه و ۴۸ دقیقه تا ۵۳ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ با ارتفاع ۲۱ متر پایین‌تر از سطح دریای آزاد) در استان مازندران انجام شد. تیمارها شامل آبیاری در چهار سطح ۱۰۰ (شاهد)، ۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد نیاز آبی، برای شرایط تنش خشکی به عنوان فاکتور اصلی و محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین در سه سطح شامل، غلظت صفر (شاهد)، نیم و یک میلی‌مولار به عنوان فاکتور فرعی بودند. نیاز آبی سویا در شرایط اقلیمی جویبار توسط برنامه *Netwat* محاسبه گردید. این برنامه در تحقیقات مختلف کشور نیز مورد استفاده قرار گرفته است (Azizi & FallahToosi, 2001; Alizadeh & Kamali, 2007; Anjamshoaa et al., 2011). سیستم آبیاری به صورت قطره‌ای و جهت افزایش دقت از کنتور برای اعمال نیاز آبی بر حسب تیمارهای اعمال شده، استفاده گردید. گیاهان در فصل رشد در معرض بارندگی طبیعی قرار گرفتند. به این صورت که با وجود تشک تبخیر در محل آزمایش، بارندگی-های روزانه ثبت و میزان بارندگی مؤثر در فاصله آبیاری‌ها به حجم آبیاری‌های انجام شده اضافه و در نهایت میزان آب مصرفی کرت‌ها محاسبه گردید (Mosavi et al., 2010). قبل از اجرای آزمایش از خاک مزرعه نمونه‌ای از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر تهیه و برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن تعیین شد (جدول ۱). کود مورد نیاز بر اساس نتایج آنالیز خاک به مقدار اوره ۹۰، سوپرفسفات‌تریپل ۵۰ و سولفات-پتاسیم ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار در نظر گرفته شده و مصرف گردید.

اهمیت نقش پلی‌آمین‌ها در پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاهان به تنش است (Martin-Tanguy, 2001). تمام تنش‌های غیرزیستی، تنش اکسیداتیو را القاء کرده که یکی از پیامدهای آن در سلول، پراکسیداسیون لیپیدها می‌باشد (Apel & Hirt, 2004). در این راستا، پلی‌آمین‌ها به واسطه ویژگی پلی‌کاتیونی خود مانند ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و سبب برداشت رادیکال‌های آزاد و در نتیجه مهار پراکسیداسیون لیپیدها می‌گردند. از میان پلی‌آمین‌ها انواع متصل شده با مولکول‌های دیگر از اهمیت بیشتری در مقاومت به تنش برخوردارند. اتصال پلی‌آمین‌های آزاد به مولکول‌های درشت موجب حفاظت آنها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود در حالی که نقش پلی‌آمین‌های آزاد عمدتاً در تعادل اسمزی و pH سلولی است (Martin-Tanguy, 2001). نقش پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی، از جمله شوری و خشکی مورد توجه می‌باشد (Groppa & Benavides, 2008). در بررسی تنش سرما در نخود و کمبود آب در سویا، استفاده خارجی از پلی‌آمین‌های پوتریسین و اسپرمیدین تأثیرات تنش را به‌ویژه در سویا کاهش داده است (Nayyar et al., 2005). استفاده از پلی‌آمین‌های اسپرمیدین و اسپرمین از طریق حفاظت از غشاء پلاسمایی باعث افزایش تحمل به شوری شده است (Chattopadhyay et al., 2002). استفاده از پلی‌آمین پوتریسین در شرایط تنش غرقابی در گیاه پیاز نیز باعث کاهش صدمات اکسیداتیو ناشی از تنش شده است (Yiu et al., 2009). بر این اساس با توجه به حساسیت سویا به تنش خشکی به خصوص در کشت تابستانه در استان مازندران که با کمبود بارندگی مواجه شده و اغلب دچار تنش خشکی می‌شوند، پژوهش حاضر جهت بررسی تأثیر محلول پاشی پلی‌آمین اسپرمیدین در دو مرحله رویشی و زایشی بر بهبود عملکرد دانه و ماده خشک و برخی صفات بیوشیمیایی این گیاه مهم تحت شرایط کم‌آبیاری، طراحی و اجرا شد.

جدول ۱- برخی ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

Table 1- Some physical and chemical characteristics of the field soil

Depth (cm)	Soil Text.	Organic Matter (%)	Organic carbon (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	EC (ds/m)	pH
0-30	Clay	2.02	1.17	18	38	44	1.24	7.76

درجه سانتی گراد قرار داده شده تا آب جذب نموده و سپس وزن (TW) آنها اندازه گیری شده است. بعد از آن برای تعیین وزن خشک، به مدت ۲۴ ساعت در آون، با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند (DW). و میزان محتوای نسبی آب برگ از فرمول زیر به دست آمد:

$$RWC (\%) = \frac{FW - DW}{TW - DW}$$

برای اندازه گیری شاخص پایداری غشاء (MSI) به روش زیر عمل شد (Talaat et al., 2015):

نمونه های برگ (۲۰۰ میلی گرم) در ده سی سی آب مقطر قرار داده شدند. نمونه ها در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (دستگاه بن ماری مدل NB-301) قرار داده شده و سپس با EC متر (مدل Multi3407) هدایت الکتریکی آنها برآورد شده است (C1). گروهی دیگر از نمونه ها در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفته و سپس با EC متر هدایت الکتریکی آنها برآورد شده است (C2). شاخص MSI با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$MSI = \left[1 - \left(\frac{C1}{C2} \right) \right] \times 100$$

جهت برآورد نشت الکترولیت (EL) به روش زیر عمل شد (Talaat et al., 2015):

برگ ها بعد از برداشت شسته شده و سپس با کاغذ صافی خشک گردیدند. یک گرم برگ تازه به قطعات یک سانتی متر مربع بریده شده و در ۲۰ سی سی آب مقطر با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شده، و با دستگاه EC متر EC₁ اندازه گیری شد. سپس، نمونه ها در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو قرار داده شدند. بعد از اینکه دمای نمونه ها به ۲۵ درجه سانتی گراد رسید هدایت الکتریکی نمونه ها با دستگاه EC متر اندازه گیری شد (EC₂). EL با

کشت سویا (رقم کاسپین) در کرت هایی به ابعاد ۲/۵×۴ متر صورت گرفت. در هر کرت چهار خط کشت با فاصله ۶۰ سانتی متر بین ردیف و ده سانتی متر بین دو بوته کشت شدند. کنترل علف های هرز در طول مرحله رویشی قبل از استقرار گیاه و بسته شدن کانوبی به صورت مکانیکی انجام شد. بعد از استقرار گیاه (در مرحله چهار برگ) تیمار تنش خشکی اعمال شد. محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین بعد از قطع یک دوره نیاز آبی در دو مرحله رویشی (هفت برگ) و مرحله گلدهی (R2) در غلظت های مورد آزمایش (نیم و یک میلی مولار) با حجم محلول پاشی ۵۰ سی سی در مترمربع، انجام شد. جهت اعمال تیمار بدون محلول پاشی اسپرمیدین (شاهد)، آب مقطر محلول پاشی گردید. صفات مورد اندازه گیری شامل تعداد برگ، تعداد غلاف، ارتفاع ساقه، وزن هزار دانه، عملکرد دانه تک بوته، عملکرد ماده خشک تک بوته، مقدار محتوای نسبی آب برگ (RWC)، شاخص پایداری غشاء (MSI)، و برآورد نشت الکترولیت (EL)، مالون دی آلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن (H₂O₂) بوده و تعداد برگ در زمان گلدهی شمارش شده است.

بعد از رسیدگی فیزیولوژیکی در هر کرت پنج نمونه گیاهی انتخاب و تعداد غلاف شمارش شده و ارتفاع ساقه و وزن هزار دانه اندازه گیری و عملکرد دانه تک بوته برآورد گردید. جهت تعیین عملکرد ماده خشک تک بوته، بوته های به دست آمده از هر کرت را در پاکت قرار داده و در آون (مدل BM750) در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک نموده و سپس توزین شدند (Mosavi et al., 2010). برای اندازه گیری میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC) به روش زیر عمل شد (D'souza et al., 2014). برگ های تهیه شده از هر تیمار، وزن شده (برگ تازه FW) سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر و در دمای ۲۵

برگ و ارتفاع گیاه اثر معنی داری داشته است. و برهمکنش آبیاری و محلول پاشی اسپرمیدین بر تمامی صفات به جز تعداد برگ اثر معنی داری داشتند (جدول ۲ و ۳). با کاهش میزان آبیاری به ۳۰ درصد نیاز آبی، تعداد برگ تحت تأثیر تنش قرار گرفت و نسبت به شاهد ۱۱٪ کمتر شد. مقایسه میانگین داده ها نشان داد که با کاهش میزان آبیاری، تعداد غلاف در گیاه کاهش یافت اما استفاده از پلی آمین اسپرمیدین به خصوص در غلظت یک میلی مولار در شرایط کم آبیاری باعث افزایش تعداد غلاف در گیاه گردید بطوریکه در سطوح مختلف آبیاری بر اساس ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۱۰۰ درصد نیاز آبی، غلظت یک میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین به ترتیب باعث افزایش ۹۰، ۷۹، ۱۱، ۴۰ درصدی در تعداد غلاف نسبت به شرایط بدون استفاده از اسپرمیدین گردید و تیمار محلول پاشی غلظت نیم میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین در آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد نیاز آبی با تیمار شاهد (صفر میلی مولار) تفاوت معنی داری نداشته است، اما در سطوح آبیاری ۷۰، ۵۰، ۳۰ درصد نیاز آبی، تعداد غلاف در بوته به ترتیب به میزان ۱۷، ۲۶، ۶۲ درصد افزایش یافته است (جدول ۲). در پژوهش های قبلی نیز اعمال تنش خشکی باعث کاهش تعداد برگ در ذرت و تعداد غلاف در بوته در گیاه لوبیای معمولی گردید (Martinez et al., 2007; Talaat et al., 2015). با این وجود، استفاده از پلی-آمین اسپرمیدین تعداد برگ را در گیاه ذرت بهبود بخشید (Talaat et al., 2015). در مطالعه بر روی پنبه تحت شرایط شوری، استفاده از پلی آمین پوتریسین باعث افزایش تعداد غوزه در گیاه شده است. تعداد غلاف در گیاه سویا نیز با محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین و اسپرمیدین تحت شرایط شوری افزایش یافته است (Alobaidy, 2013).

فرمول زیر محاسبه گردید:

$$EL = \frac{EC1}{EC2} \times 100$$

جهت اندازه گیری میزان H_2O_2 ابتدا ۰/۲ گرم نمونه برگ به همراه ۱۸۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید یک درصد (TCA) در سانتریفوژ با دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه جهت تهیه محلول آنزیمی، قرار داده شد، سپس ۰/۵ سی سی از محلول آنزیمی به همراه ۰/۵ سی سی بافر فسفات و یک سی سی یدیدپتاسیم در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت و میزان H_2O_2 محاسبه گردید (Talaat et al., 2015). جهت اندازه گیری شاخص مالون دی آلدئید (MDA)، ۱۲۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی را به همراه ۱۲۰۰ میکرولیتر محلول ۲۰ درصد TCA و ۰/۵ درصد TBA در لوله آزمایش ریخته و به مدت نیم ساعت در حمام آب گرم (دستگاه بن ماری) در دمای ۹۵ درجه قرار داده شد. سپس بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج های ۵۳۲ (A532) و ۶۰۰ (A600) نانومتر قرائت گردید. میزان MDA از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$MDA(nmol.ml^{-1}) = [(A532 - A600) / 155000] \times 10^6$$

$$MDA(nmol.g.FW) = (MDA(nmol.ml^{-1}) * volume of reaction mixture) / gr plant fresh wight$$

ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، MDA و واحد اندازه گیری MDA، $nmol/g.FW$ در نظر گرفته شد (Hodges et al., 1999; Yaghoobian et al., 2014). تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 20 و مقایسه میانگین ها به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد، انجام شد. نمودارها نیز با نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث:

طبق نتایج تجزیه واریانس داده ها، تیمار آبیاری بر کلیه صفات اندازه گیری شده و تیمار محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین نیز بر همین صفات به جز تعداد

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آبیاری و پلی آمین اسپرمیدین (SPD) بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا تحت تأثیر تنش خشکی
 Table 2-the Variance analysis of the irrigation and SPD treatment effects on yield and yield components of soybean under drought stress

Source of variation	Degree of freedom	Leaf number	Pod number per plant	Plant height	Grain number per plant	Thousand of seed weight	Drymatter yield per plant
Irrigation (I)	3	2.852**	670.991**	30.333*	1907.88**	78880.33**	173.166**
E _a	6	0.63	19.102	7.583	132.21	39.194	4.592
SPD concentration(S)	2	0.028	2825.528**	9.528	5361.75**	50465.528**	177.814**
S×I	6	0.546	347.046**	45.417**	1302.71**	63623.083**	36.678**
E _b	16	0.25	4.583	6.236	162.97	20.986	6.29
C.V(%)	-	4.52	2.86	2.92	9.65	0.42	7.94

n.s, **, * no significant, significant in 1 and 5 probability level, respectively
 n.s, **, * به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای آبیاری و پلی آمین اسپرمیدین (SPD) بر شاخص های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی
 تحمل به تنش خشکی در سویا

Table 3- the Variance analysis of the irrigation and SPD treatment effects on the indices of physiological and biochemical drought tolerance in soybean

Source of variation	Degree of freedom	Seed yield per plant	MSI	RWC	EL	MDA	H ₂ O ₂
Irrigation(I)	3	439.241**	74.111**	162.593**	1540.519**	2711.003**	0.114**
E _a	6	1.275	4.667	6.176	4.546	0.493	0.001
SPD concentration (S)	2	100.681**	283.111**	361.75**	1017.528**	233.012**	19.099**
S×I	6	136.958**	219.333**	243.12**	55.157**	1729.465**	1.076**
E _b	16	4.944	5.528	9.611	3.875	0.268	0.001
C.V(%)	-	7.98	4.39	3.83	3.04	0.53	1.25

n.s, **, * no significant, significant in 1 and 5 probability level, respectively
 n.s, **, * به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

خشک و عملکرد بیشتری (Speeth *et al.*, 2001) هستند بذره های آنها نیز جوانه زنی بیشتری دارند (Purcell *et al.*, 2000). در بررسی تحمل به خشکی ۱۱ ژنوتیپ سویا در مرحله رویشی اثر خشکی بر طول ساقه معنی دار شده و با افزایش شدت تنش، طول ساقه کاهش یافته است. و کاهش ارتفاع بوته، کاهش موقعیت ایجاد شاخه های فرعی و در نتیجه کاهش تعداد برگ های گیاه و همچنین در نهایت، کاهش سطح برگ و وزن خشک سایر اندام های گیاه را به دنبال داشته است (Farrokhi *et al.*, 2003). استفاده از پلی آمین اسپرمیدین در ذرت باعث افزایش ارتفاع گیاه در شرایط تنش آبی گردید، بطوریکه در تنش آبی ۵۰ درصد

با افزایش تنش خشکی ارتفاع گیاه نسبت به شاهد کاهش یافت. در شرایط کم آبیاری مشابه، استفاده از پلی آمین اسپرمیدین در غلظت های مختلف تأثیری بر ارتفاع گیاه نشان نداد به جز در شرایط آبیاری ۵۰ درصد نیاز آبی که استفاده از پلی آمین اسپرمیدین با غلظت یک میلی مولار باعث افزایش شش درصدی ارتفاع گیاه شد. که با تیمار شاهد (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد نیاز آبی و صفر میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۲). ارتفاع گیاه به عنوان فاکتوری برای پیش بینی تحمل به خشکی است. ارقامی از سویا که طی وقوع تنش خشکی ارتفاع بیشتری دارند ضمن اینکه دارای وزن

ذرت شده است (Taalat et al., 2015). هر چند با افزایش شدت تنش وزن هزار دانه کاهش یافت، اما استفاده از پلی آمین اسپرمیدین موجب بهبود معنی دار این صفت شد. به طوری که کاربرد غلظت یک میلی مولار پلی آمین اسپرمیدین به میزان شش، ۵۰، ۲۵ و ۱۹ درصد و غلظت نیم میلی مولار به ترتیب به میزان یک، ۱۹، هشت و هفت درصدی وزن هزار دانه را به ترتیب در تیمارهای ۵۰، ۳۰، ۷۰، ۱۰۰ درصد نیاز آبی افزایش داده است (جدول ۲). با افزایش تنش خشکی عملکرد دانه تک بوته کاهش یافت، به طوری که با کاهش میزان آبیاری به ۳۰ درصد نیاز آبی میزان عملکرد دانه تک بوته ۶۷ درصد نسبت به شاهد (میزان آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی) کمتر بوده است. در این شرایط، استفاده از پلی آمین اسپرمیدین باعث افزایش معنی دار در عملکرد دانه شده است. در مقایسه، در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد نیاز آبی استفاده از پلی آمین اسپرمیدین باعث کاهش عملکرد دانه در غلظت های نیم میلی مولار و یک میلی مولار به ترتیب به میزان ۲۸ و ۲۶ درصد گردید. به طور کلی میزان عملکرد دانه تک بوته در تیمارهای آبیاری ۳۰، ۵۰، ۷۰ درصد نیاز آبی در غلظت نیم میلی مولار به ترتیب به میزان ۹۰، ۶۴، ۵۵ درصد و در غلظت یک میلی مولار ۵۷، ۵۴، ۲۵ درصد نسبت به شاهد (بدون اسپرمیدین) افزایش یافته است (جدول ۳). در آزمایشی وقوع تنش در مرحله زایشی، عملکرد نخود فرنگی را حدود ده درصد در مقایسه با مرحله رویشی بیشتر کاهش داده است (Mafakheri et al., 2010). کاهش عملکرد دانه در سویا عمدتاً به کاهش تعداد غلاف در گیاه نسبت داده می شود. در شرایط تنش خشکی با ریزش گل ها و غلاف ها قدرت انتقال مواد فتوسنتزی به اندام های زایشی گیاه کاهش یافته و عملکرد دانه به طور محسوسی کاهش می یابد (Farnia et al., 2006). در بررسی تأثیر اسپرمین روی وزن غلاف و دانه سویا در شرایط تنش خشکی، مشاهده شد که در شرایط تنش وزن غلاف و دانه کاهش یافت اما استفاده از اسپرمین باعث افزایش وزن غلاف ها و دانه ها گردید (Radhakrishnan & Lee, 2013). با کاهش میزان آبیاری عملکرد ماده خشک تک بوته کاهش یافته،

ظرفیت مزرعه، افزایش ارتفاع تا حدود ۵۵٪ نسبت به شاهد مشاهده شده است (Talaat et al., 2015). در گیاه نخود فرنگی در شرایط بدون تنش خشکی بیشترین ارتفاع و تعداد غلاف در گیاه مشاهده شد. البته تعداد غلاف بیشتر حاکی از عملکرد دانه بیشتر نیست بلکه به درصد دانه های پر شده و وزن هزار دانه بستگی دارد، بطوریکه رقم حساس نخود فرنگی بیشترین تعداد غلاف و کمترین عملکرد دانه را داشته است (Mafakheri et al., 2010). با افزایش شدت تنش، تعداد دانه در گیاه کاهش یافته و در سطوح مختلف آبیاری، استفاده از پلی آمین اسپرمیدین در غلظت نیم میلی مولار باعث افزایش تعداد دانه در گیاه، نسبت به تیمار شاهد و غلظت یک میلی مولار شده است. بیشترین تعداد دانه در گیاه در آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد نیاز آبی بدون کاربرد اسپرمیدین بوده و حتی استفاده از پلی آمین اسپرمیدین در این شرایط، در غلظت های نیم و یک میلی مولار تعداد دانه در گیاه را به ترتیب به میزان ۱۳ و ۱۲ درصد کاهش داده است. اما با افزایش شدت تنش استفاده از پلی آمین اسپرمیدین باعث افزایش معنی دار در تعداد دانه شده است. کمترین تعداد دانه در گیاه، در تیمار آبیاری با ۳۰ درصد نیاز آبی و بدون استفاده از پلی آمین اسپرمیدین به دست آمده که نسبت به تیمار شاهد ۶۷ درصد کمتر بوده است (جدول ۲). در این شرایط استفاده از پلی آمین اسپرمیدین با غلظت نیم و یک میلی مولار به ترتیب باعث افزایش ۹۰ و ۵۷ درصدی تعداد دانه در گیاه شده است. در مطالعه مارتینز و همکاران (Martinez et al., 2007) اعمال تنش خشکی بر شش رقم لوبیا معمولی، تعداد غلاف در گیاه را کاهش داده اما تأثیری بر تعداد دانه در غلاف نداشته است. تعداد دانه در غلاف نسبت به سایر اجزای عملکرد یعنی تعداد غلاف در بوته و وزن دانه از ثبات بیشتری در مواجه با تنش خشکی برخوردار است و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می گیرد که دلیل آن را می توان ثابت بودن تعداد تخمک های موجود در غلاف ذکر نمود (Farnia et al., 2006). استفاده از پلی آمین اسپرمین در شرایط تنش آبی باعث افزایش تعداد دانه در

هیدروژن و اکسیژن یگانه باشد که باعث آسیب اکسیداتیو به لیپیدها و افزایش میزان تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و می‌تواند منجر به ناپایداری غشاء سلولی و آسیب مستقیم به DNA، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها، لیپیدها و دیگر مولکول‌های ضروری سلولی شوند که منجر به مرگ سلول و کاهش زیست‌توده گردد (Miller et al., 2010). در شرایط کمبود آب استفاده از پلی‌آمین اسپرمین رشد گیاه را با ایجاد تغییرات درونی در متابولیسم گیاه بهبود می‌بخشد (Talaat et al., 2015).

بطوریکه با کاهش میزان آبیاری به ۳۰ درصد نیاز آبی، عملکرد ماده خشک ۲۵ درصد کاهش یافته است. استفاده از پلی‌آمین اسپرمیدین در آبیاری ۱۰۰،۷۰،۵۰،۳۰ درصد نیاز آبی به ترتیب در غلظت نیم‌میلی‌مولار باعث افزایش عملکرد به میزان ۱۸،۳۳،۲۴،۱۷ درصد و در غلظت یک میلی‌مولار باعث افزایش عملکرد ۳۴،۴۳،۳۹،۲۰ درصد گردید (جدول ۲). آزمایش‌های متعددی حاکی از افزایش قابل-ملاحظه در رشد گیاه و تولید آن در شرایط خشکی با استفاده از پلی‌آمین‌ها است (Behnamnia et al., 2009; Farooq et al., 2009; Mahesh et al., 2013). رشد ضعیف تحت شرایط خشکی می‌تواند به علت تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید-

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و پلی‌آمین اسپرمیدین (SPD) بر عملکرد و اجزای عملکرد سویا تحت تنش خشکی

Table 4- the Mean comparison of irrigation and SPD interaction effect on yield and yield components of soybean under drought stress

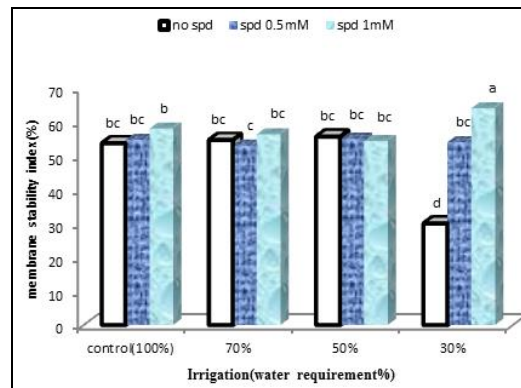
Irrigation (percentage of water requirement)	Spermidine (mM)	Pod number	Plant height (cm)	Seed number /plant	Thousand seed weights (g)	Seed yield (g/plant)	Dry matter yield (g/plant)
100	0	78.00d	92.67a	128.70cde	1104.00e	46.43a	30.47de
	0.5	76.33d	84.00bc	148.30bc	1186.00c	33.27b	35.97bc
	1	109.30a	80.67c	175.00a	1311.00b	34.27b	40.97a
70	0	64.00f	84.00bc	118.00def	924.70i	21.23e	24.97fg
	0.5	75.00de	84.33bc	124.00de	994.70g	32.87b	33.27cd
	1	71.33e	82.33bc	156.00ab	1155.00d	26.63cd	35.73bc
50	0	53.00g	85.67b	97.67g	931.00i	17.23f	27.83ef
	0.5	67.00f	86.67b	108.00ef	1106.00e	28.27c	34.40bcd
	1	94.67b	91.00a	139.70bcd	1394.00a	26.50cd	38.77ab
30	0	46.67h	83.33bc	83.67g	982.70h	15.13f	22.77g
	0.5	75.67d	84.67bc	152.00abc	995.30g	28.80c	26.67efg
	1	88.67c	85.33bc	156.00ab	1045.00f	23.77de	27.43efg

*در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه، فاقد اختلاف آماری معنی دار با استفاده از آزمون مقایسه ای دانکن می‌باشند.

با کاهش میزان آبیاری به ۳۰ درصد نیاز آبی، شاخص پایداری غشاء (MSI) کاهش یافت، اما با محلول پاشی پلی‌آمین اسپرمیدین در این شاخص افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد (بدون اسپرمیدین) نشان داد. بطوریکه کاربرد غلظت نیم میلی‌مولار اسپرمیدین باعث افزایش شاخص MSI به میزان ۸۰٪ و غلظت یک میلی‌مولار اسپرمیدین باعث افزایش این شاخص به میزان ۱/۱۳ برابر شاهد گردیده است (جدول ۴). در ارزیابی کاهش تنش اکسیداتیو حاصله از تنش خشکی بر گیاه ذرت، کمبود آب مقدار MSI را در برگ‌های شاهد کاهش داده، اما با محلول پاشی اسپرمیدین میزان MSI در شرایط تنش بهبود یافته است (Talaat et al., 2015). در آزمایشی روی برنج محلول پاشی اسپرمین و اسپرمیدین تحت شرایط شوری با حفاظت از غشاء پلاسمایی سبب بهبود تحمل به شوری شده است (Chattopadhyay et al., 2002).

محتوای نسبی آب برگ (RWC) با افزایش تنش خشکی اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد اما در آبیاری به میزان ۳۰ درصد نیاز آبی محتوای نسبی آب برگ نسبت به شاهد (آبیاری بر اساس ۱۰۰ درصد نیاز آبی) ۳۶ درصد کاهش یافت.

استفاده از اسپرمیدین با غلظت‌های نیم میلی‌مولار و یک میلی‌مولار میزان نسبی آب برگ را به ترتیب ۶۳ و ۶۰ درصد افزایش داده است (جدول ۴). در بررسی تأثیر تنش خشکی بر ارقام ذرت، میزان **RWC** به طور معنی‌داری کاهش یافت (Efeoglu *et al.*, 2009). به نظر می‌رسد گیاهانی که تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند، فضای بین سلولی و میزان آب موجود در آن را از طریق افزایش مواد محلول در درون بافت‌ها به حداقل می‌رسانند تا آب از خاک با مکش بیشتری وارد گیاه شود.

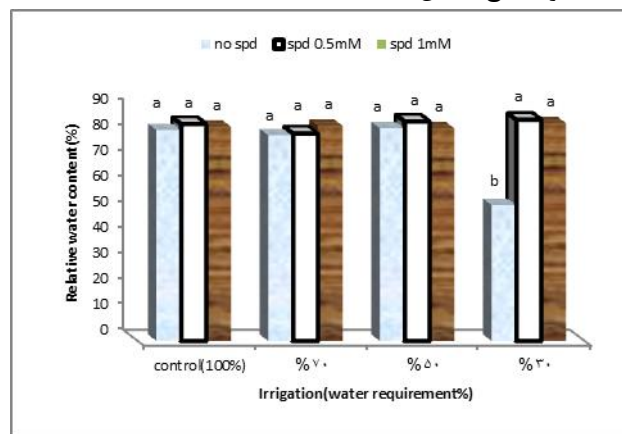


شکل ۱- تأثیر محلول‌پاشی اسپرمیدین (SPD) بر شاخص پایداری غشاء (MSI) در شرایط کم‌آبیاری در سویا

Figure 1- The effect of foliar spraying (SPD) on membrane stability index (MSI) under low-irrigation condition in soybean

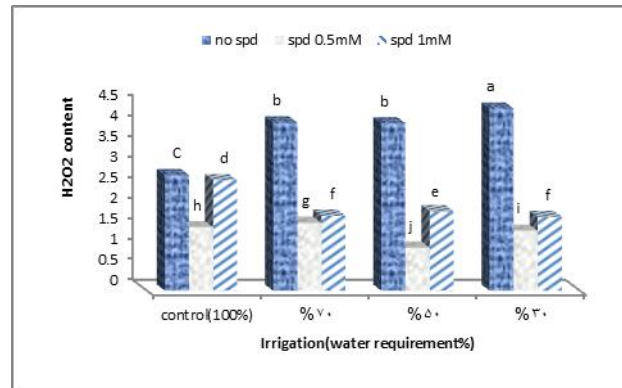
داد که تحت تنش آبی همه ارقام مورد مطالعه توانستند میزان **RWC** را علی‌رغم اینکه پتانسیل آب برگ کاهش معنی‌داری را نشان داد کم و بیش حفظ نمایند.

این امر موجب کاهش میزان آب نسبی در شرایط تنش خشکی می‌گردد (Jahan *et al.*, 2015). در مطالعه مارتینز و همکاران (Martinez *et al.*, 2007)، در ارقام لوبیای معمولی میزان **RWC** گیاهان تحت تنش تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشته و نتایج نشان



شکل ۲- تأثیر محلول‌پاشی با پلی‌آمین اسپرمیدین (SPD) بر روی میزان محتوی نسبی آب برگ (**RWC**) در شرایط کم‌آبیاری در سویا

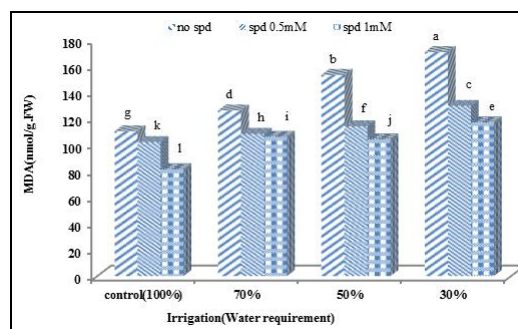
Figure 2- The effect of foliar spraying (of SPD) on RWC in under low-deficit irrigation condition in soybean



شکل ۳- تأثیر محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین (SPD) بر روی میزان H_2O_2 در شرایط کم آبیاری در سویا
Figure 3- The effect of foliar spraying (SPD) on H_2O_2 content under low- irrigation condition in soybean

با افزایش تنش خشکی میزان H_2O_2 افزایش یافت اما استفاده از پلی آمین اسپرمیدین باعث کاهش میزان H_2O_2 در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو گردید. میزان کاهش H_2O_2 در آبیاری های ۱۰۰، ۷۰، ۵۰، ۳۰ درصد نیاز آبی در غلظت نیم میلی مولار به ترتیب ۶۷، ۷۴، ۶۰، ۴۵ درصد و در غلظت یک میلی مولار اسپرمیدین به ترتیب ۵۹، ۵۳، ۵۵، ۵ بوده است. با کاهش میزان آبیاری میزان MDA افزایش یافت و محلول پاشی با اسپرمیدین در غلظت های نیم و یک میلی مولار باعث کاهش معنی داری در میزان MDA گردید. میزان کاهش MDA با محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین با غلظت نیم میلی مولار در میزان آبیاری

با افزایش تنش خشکی میزان H_2O_2 افزایش یافت اما استفاده از پلی آمین اسپرمیدین باعث کاهش میزان H_2O_2 در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو گردید. میزان کاهش H_2O_2 در آبیاری های ۱۰۰، ۷۰، ۵۰، ۳۰ درصد نیاز آبی در غلظت نیم میلی مولار به ترتیب ۶۷، ۷۴، ۶۰، ۴۵ درصد و در غلظت یک میلی مولار اسپرمیدین به ترتیب ۵۹، ۵۳، ۵۵، ۵ بوده است. با کاهش میزان آبیاری میزان MDA افزایش یافت و محلول پاشی با اسپرمیدین در غلظت های نیم و یک میلی مولار باعث کاهش معنی داری در میزان MDA گردید. میزان کاهش MDA با محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین با غلظت نیم میلی مولار در میزان آبیاری



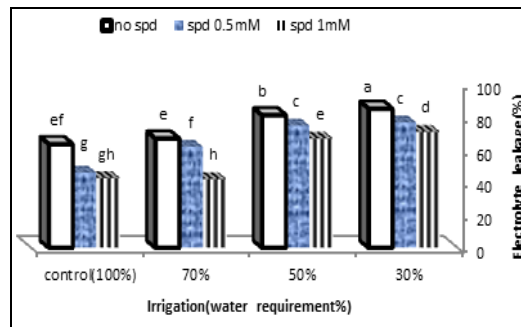
شکل ۴- تأثیر محلول پاشی پلی آمین اسپرمیدین (SPD) بر میزان مالون دی آلدئید (MDA) در شرایط کم آبیاری در سویا
Figure 4- The effect of foliar spraying (SPD) on MDA content under low- irrigation condition in soybean

تیمارهای ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۱۰۰ درصد نیاز آبی به ترتیب ۱۰، ۸، ۷، ۲۷٪ و غلظت یک میلی مولار ۱۶٪، ۱۸، ۳۷، ۳۳٪ از میزان EL کاسته شد. هر چند در شرایط تنش خشکی EL بیشتر شد اما در گیاهان

با کاهش میزان آبیاری، نشت الکترولیت (EL) به جزء در تیمار آبیاری با ۷۰ درصد نیاز آبی، در بقیه تیمارهای آبیاری تفاوت معنی داری نشان نداد و با استفاده از اسپرمیدین با غلظت نیم میلی مولار در

طریق اتصال به فسفولیپیدهای دارای بار منفی حفظ نمایندند (Takahashi & Kakehi, 2009).

تیمار شده با اسپرمیدین EL کمتر تحت تأثیر تنش قرار گرفتند (Li et al., Farooq et al., 2009); به نظر می رسد پلی-آمین ها می توانند پایداری و نفوذپذیری غشاء را از



شکل ۵- تأثیر محلول پاشی اسپرمیدین (SPD) بر درصد نشت الکترولیت (EL) در برگها در شرایط کم آبیاری در سویا
Figure 5- The effect of foliar spraying (SPD) on EL in leaves under low-irrigation condition in soybean

اسپرمیدین در کمترین میزان آبیاری (بر اساس ۳۰ درصد نیاز آبی) نشان دادند. در این میان، تأثیر غلظت یک میلی مولار اسپرمیدین بر تمامی صفات به جز عملکرد دانه، H_2O_2 و MDA نسبت به غلظت نیم میلی مولار بیشتر بود.

سپاس‌گزاری:

بخش آزمایشگاهی پژوهش حاضر در آزمایشگاه تنش-های محیطی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شده که بدینوسیله سپاسگزاری می‌گردد.

نتیجه‌گیری:

در پژوهش حاضر استفاده از پلی‌آمین اسپرمیدین به صورت محلول پاشی در مرحله رویشی و زایشی باعث بهبود برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و صفات بیوشیمیایی سویا در شرایط کم‌آبیاری گردید؛ با این وجود، میزان اثربخشی پلی‌آمین اسپرمیدین بسته به غلظت مورد استفاده متفاوت بود. در بین صفات مورد مطالعه، چهار صفت شاخص پایداری غشا (MSI)، تعداد دانه در گیاه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه، بیشترین پاسخ مثبت را نسبت به استفاده از پلی‌آمین

REFERENCES

1. Alizadeh, A. & Kamali, Gh. (2007). Water use of plants in Iran. Astan Qods Publication. (in Farsi).
2. Aliobaidy, M. G. (2013). Effect of putrescine and humic acid on cotton plant growing under salinity stress conditions. MSc Thesis. Cairo University, Egypt.
3. Anjamshoaa, S., Moeinrad, H. & Ebrahimi, H. (2011). The effect of different irrigation levels on grain yield and yield components of four chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.) in Mashhad climatic condition. Iranian Journal of Pulses Research, 2(2), 69-82. (in Farsi).
4. Apel, K., Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology, 55, 373-399.
5. Azizi, M. & Fallahtoosi, A. (2001). The final report of rapeseed research projects in Khorasan Province. Khorasan Agriculture Research Center, 11-13 (in Farsi).
6. Behnamnia, M., Kalantari, K. M. & Rezanejad, F. (2009). Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidative stress in *Lycopersicon esculentum* L., Application of Plant Physiology, 35, 22-34.
7. Chattopadhyay, M. K., Tiwari, B. S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D. N. & Ghosh, B. (2002). Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa* L.) plants. Plant Physiology, 116, 192-199.
8. Chaves, M., Maroco, J. P. & Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought

- from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology*, 30, 239-264.
9. Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science*, 5, 187-188.
 10. D'souza, M. R., Kokila, S. & Devaraj, V.R. (2014). Polyamine levels in leaves of hyacinth bean (*Lablab purpureus*) and their relation to drought- tolerance. *World Applied Science Journal*, 32(12), 2398-2402.
 11. Efeoglu, B., Ekmekci, Y. & Cicek, N. 2009. Physiological responses of three maize cultivars to drought stress and recovery. *South African Journal of Botany*, 75, 34-42.
 12. Farooq, M., Wahid, A. & Lee, D. (2009). Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiologia Plantarum*, 31, 937-945.
 13. Gould, K. S., McKelvic, J. & Markham, K. R. (2002). Do anthocyanins function as antioxidants in leaves? Imaging of H₂O₂ in red and green leaves after mechanical injury. *Plant Cell and Environment*, 25, 1261-1269.
 14. Groppa, M. D. & Benavides, M. P. (2008). Polyamines and abiotic stress: Recent Advances. *Aminoacids*, 34, 35-45.
 15. Farrokhi, A., Galeshi, S., Zeinali, E. & Abdoulzadeh, A. (2005). Evaluation of drought tolerance of soybean (*Glacine max* L.) in vegetative growth. *Agriculture Science Natural Resource*, 11(4) (in Farsi).
 16. Farnia, A., Noormohamadi, G., Naderi, A., Darvish, F. & Majid Hervan, I. (2006). Effect of drought stress and strains of *Bradyrhizobium japonicum* on grain yield and associated characteristics in soybean (cv. 'Clark') in Borujerd. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 8(3), 201-214 (In Farsi).
 17. Hakala, M., Touminon, I., Keranen, M., Tyystjarvi, T. & Tyystjarvi, E. (2005). Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photo inhibition of photosystemll, *Biochemical et Biphysica Acta*, 1706, 68-80.
 18. Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney, C. F., Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
 19. Jahan, M., Nassiri Mahallati, M., Ranjbar, F., Aryaee, M. & Kamayestani, N. (2015). The effect of super absorbant polymer application in to soil and humic acid foliar application on some agrophysiological criteria and quantitative and qualitative yield of sugar beet (*Beta vulgaris*) under Mashhad conditions. *Journal of Agroecology*, 6(4), 753-766. (In Farsi).
 20. Kakkar, R. K., Nagar, P. K., Ahuja, P. S. & Rai, V. K. (2000). Polyamines and plant morphogenesis. *Biology of Plant*, 43, 1-11.
 21. Kuznetsov, V. I. V., Radyukina, N. L. & Sheryakova, N. I. (2006). Polyamines and stress biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 53(5), 583-604.
 22. Li, Y. H., Liu, Y. J., Xu, X. L., Jin, M., An, L. Z. & Zhang, H. (2012). Effect of 24-epibrassinolide on drought stress- induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biology of Plant*, 56, 192-196.
 23. Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnezhad, B., Struik, P. C. & Sohrabi, E., (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 4(8), 580-585.
 24. Mahesh, K., Balaraju, P., Ramakrishnan, B. & Rao, S. S., (2013). Effect of brassinosteroids on germination and seedling growth of radish (*Raphanus sativus* L.) under PEG6000 induced water stress. *American Journal of Plant Science*, 4, 2305-2313.
 25. Martin-Tanguy, J., (2001). Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation*, 34, 135-148.
 26. Martinez, J. P., Silva, H., Ledent, J. F. & Pinto, M., (2007). Effect of drought stress on the osmotic adjustment, cell wall elasticity and cell volume of six cultivars of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *European Journal of Agronomy*, 26, 30-38.
 27. Miller, G., Suzuki, N., Cifter-Yilmaz, S. & Mittler, R. (2010). Reactive oxygen species homoestasis and signaling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environment*, 33, 453-467.
 28. Mitter, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerane. *Trends Plant Science*, 7, 405-410.
 29. Mosavi, S. H., Vafabakhsh, J. & Sadrabadi Haghghi, R., (2010). Effect of water stress on water use efficiency canola cultivars (*Brassica napus* L.) in Mashhad condition. *Journal of*

- Agroecology, 2(3), 484-491. (In Farsi).
30. Nayyar, H. & Chander, S. (2004). Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. *Journal Agronomy Crop Science*, 190, 355-365.
 31. Nayyar, H., Kaur, S., Singh, K. J. & Dhir, K. K. (2005). Involvement of polyamines in the contrasting sensitivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and soybean (*Glycine max* L. Merrill) to water deficit stress. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 333-338.
 32. Nayyar, H. & Gupta, D., (2006). Differential sensitivity of C₃ and C₄ plants to water deficit stress: Association with oxidation stress and antioxidant. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 166-173.
 33. Nishiyama, Y., Allakhverdiev, S. I. & Murata, N., (2006). A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem. *Biochemical et Biophysica Acta*, 1757, 742-749.
 34. Pandey, S., Ranande, S. A., Nagar, P. K. & Kumar, N., (2000). Role of polyamines and ethylene as modulators of plant senescence. *Indian Academic Science*, 25, 291-299.
 35. Purcell, L. C., King, C. A. & Ball, R. A., (2000). Soybean cultivar difference in uerides and relationship to drought tolerant nitrogen fixation and manganese nutrition. *Crop Science*, 40, 1062-1070.
 36. Radhakrishnan, R. & Lee, I. (2013). Spermine promotes acclimation to osmotic stress by modifying antioxidant, abscisic acid, and jasmonic acid signals in soybean. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32, 22-30.
 37. Shanker, A. K., Maheswari, M., Yadav, S. K., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N. B. & Venkateswarlu, B., (2014). Drought stress responses in crops. *Functional and Integrative Genomics*, 14, 11-22.
 38. Speeth, J. E., Chase, K., Macrandev, M., Greaf, G. L., Chung, J., Markwell, I. P., German, M., Orf, J. H. & Lark, K. G. (2001). Soybean response to water: A QTL analysis of drought tolerance. *Crop Science*, 40, 493-509.
 39. Takahashi, T. & Kakehi, J. I. (2009). Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. *Annals of Botany*, 105, 1-6.
 40. Talaat, N. B., Shasky, B. T. & Ibrahim, A. S. (2015). Alleviation of drought-induced oxidative stress in maize (*Zea mays* L.) plants by dual application of 24-epibrassinolide and spermine. *Environmental and Experimental Botany*, 113, 47-58.
 41. Wang, W., Vinocur, B. & Altman, A., (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetics engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14.
 42. Yaghoobian, Y., Mohammadi Goltapeh, E., Pirdashti, H., Esfandiari, E., Feiziasl, V., Kari Dolatabadi, H., Varma, A. & Hassim, M. H. (2014). Effect of *Glomus mosseas* and *Piriformospora indica* on growth and antioxidant defense responses of wheat plants under drought stress. *Agriculture Research*, 3(3), 239-245.
 43. Yang, X., Chen, X., Ge, Q., Li, B., Tong, Y., Zhang, A., Li, Z., Kuang, T. & Lu, C., (2006). Tolerance of photosynthesis to photoinhibition, high temperature and drought stress in flag leaves of wheat: a comparison between a hybridization line and its parents grown under field conditions. *Plant Science*, 171, 389-397.
 44. Yiu, J., Liu, C., Fang, D.Y. & Lai, Y. (2009). Waterlogging tolerance of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) enhanced by exogenous spermidine and spermine. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 710-716.
 45. Yordanov, I., Velicova, V. and Tsonev, T. (2003). Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology. Special Issue*, 187-206.
 46. Zlatev, Z.S. & Yordanov, I.T. (2004). Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30, 3-18.