

کاهش اثرات کم آبیاری بر رشد و عملکرد نخود (*Cicer arietinum* L.) توسط اسپرمیدینوحید شریفی^۱، منوچهر قلی پور^{۲*} و حمید عباس دخت^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود،

استان سمنان، ایران؛ vsharifi543@gmail.com

۲- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود، استان سمنان، ایران

۳- دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شهرستان شاهرود، استان سمنان، ایران؛

habbasdokht@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۲۹

چکیده

به منظور بررسی تأثیر اسپرمیدین بر برخی صفات کمی و کیفی نخود در شرایط فاریاب، مطالعه‌ای در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۵ انجام شد. آزمایش به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. عوامل آزمایش شامل رژیم آبیاری در سه سطح (دور آبیاری هفت‌روز (شاهد)، دور آبیاری ۱۰ روز و دور آبیاری ۱۳ روز) و محلول پاشی برگی اسپرمیدین در سه سطح (شاهد، محلول پاشی با غلظت ۰/۳ میلی‌مولار و محلول پاشی با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار) بود. نتایج نشان داد که در شرایط استفاده از غلظت ۰/۳ میلی‌مولار اسپرمیدین، فعالیت آنزیم کاتالاز ۴۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. در غلظت ۰/۶ میلی‌مولار اسپرمیدین، تغییر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم وجود نداشت. در دور آبیاری ۱۳ روز، غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار اسپرمیدین باعث شد که فعالیت آنزیم گواکول پراکسیداز به ترتیب ۳۸ درصد و ۶۷ درصد کاهش یابد و در مقابل، محتوای نسبی کلروفیل برگ به ترتیب ۱۲ درصد و ۲۴ درصد افزایش نشان دهد. این افزایش در صفات تعداد غلاف در بوته (به ترتیب ۲۳ درصد و ۳۱ درصد)، زیست‌توده (۲۳ درصد و ۴۴ درصد)، عملکرد دانه (۲۰ درصد و ۳۴ درصد) و پروتئین دانه (۳ درصد و ۶ درصد) نیز مشاهده شد. اسپرمیدین ۰/۶ میلی‌مولار به عنوان بهترین سطح تیمار برای شرایط وجود و عدم وجود تنش خشکی شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: رادیکال‌های آزاد، فتوسنتز، کارایی استفاده از آب

مقدمه

پژوهش‌های زیادی در خصوص واکنش نخود به تنش خشکی انجام شده است که نتایج آن‌ها بر کاهش عملکرد و اجزای عملکرد (Goldani & Rezvani, 2007) و تغییر در محتوای اسید آبسازیک برگ (Kafi et al., 2006)، کارایی مصرف آب (Singh et al., 1991)، و مورفولوژی ریشه (Kashiwagi et al., 2005) دلالت دارد. اخیراً در پژوهشی، با محلول پاشی اسپرمین و اسپرمیدین بر روی نخود تحت شرایط تنش شوری مزرعه توانسته‌اند تأثیر منفی تنش شوری را بر نخود کاهش دهند (Ashori et al., 2019). از این‌رو این سؤال مطرح شد که آیا اسپرمیدین می‌تواند اثر تنش خشکی را بر نخود کاهش دهد؟

به طوری که در بالا به آن اشاره شد، در شرایط کمبود آب، تغییرات فیزیولوژیکی و کاهش رشد در گیاه به وقوع می‌پیوندد. یکی از دلایل این کاهش، عدم تعادل بین جذب و استفاده از نور در گیاه تحت تنش است (Noctor et al., 2017). کاهش فعالیت فتوسنتز II در اثر تنش کم‌آبی، باعث از بین رفتن تعادل بین تولید و استفاده از الکترون‌ها و نهایتاً تغییر عملکرد

حبوبات زیرگروه لگوم‌ها بوده و به طور گسترده‌ای در سرتاسر جهان مورد کشت قرار می‌گیرند (Padhi & Ramdath, 2017). نخود (*Cicer arietinum* L.) به همراه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.)، عدس (*Pisum sativum* L.) و نخودفرنگی (*Lens culinaris* L.) از مهم‌ترین حبوبات به‌شمار می‌آیند (Padhi & Ramdath, 2017). میزان تولید نخود در جهان حدود ۱۷ درصد تولید حبوبات برآورد شده است (Padhi & Ramdath, 2017).

از نقطه نظر زراعی، تنش خشکی شرایطی است که آب از نظر مقدار و توزیع به اندازه‌ای نیست تا گیاه بتواند عملکرد بالقوه خود را تولید نماید و این امر موجب آسیب به گیاه و محدودیت در بروز پتانسیل ژنتیکی عملکرد می‌شود. تغییر صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی از مهم‌ترین مکانیسم‌ها برای سازگاری گیاه به شرایط تنش خشکی است (Liu et al., 2017).

*نویسنده مسئول: manouchehr.gholipoor@gmail.com

کوانتومی الکترون می‌گردد. نتیجه این امر، بروز اتلاف انرژی خورشیدی در فتوسیستم II هست (Weits et al., 2014). تغییر در انتقال الکترون فتوسنتزی گیاه در شرایط کم آبیاری از عوامل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال‌های آزاد) از جمله پراکسید هیدروژن، سوپراکسید و هیدروکسیل به‌شمار می‌آید. علت این فرایند، عبارت از این واقعیت می‌باشد که اکسیژن در محل پذیرنده فتوسیستم I با NADP برای احیاء، رقابت می‌نماید. هورمون ABA نیز از عواملی به‌شمار می‌آید که نقش عمده‌ای در تشکیل رادیکال‌های آزاد به‌عهده دارد. این هورمون گیاهی با تحریک فرایند بسته‌شدن روزنه‌ها باعث تقلیل اتلاف آب، کاهش تثبیت CO₂ و کم‌شدن احیاء NADP⁺ در چرخه کالوین می‌شود (Anbessa & Bejiga, 2002).

بر همین اساس، هدف از این آزمایش مطالعه امکان کاهش اثرات مضر کم آبیاری بر رشد و عملکرد نخود از طریق محلول پاشی اسپرمیدین بود. طی این آزمایش، واکنش برخی صفات و فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدان به این پلی‌آمین مطالعه گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. شهرستان شاهرود با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی دارای اقلیم سرد و خشک می‌باشد. ارتفاع مکان مورد استفاده در آزمایش از سطح دریا ۱۳۶۷ متر است.

در اوایل اردیبهشت‌ماه، اقدام به آماده‌سازی زمین شد. هر کرت آزمایشی شامل چهار ردیف کشت به طول پنج‌متر و فواصل ۵۰ سانتی‌متر (مساحت ۱۰ مترمربع) بود و فاصله بذور روی ردیف‌های کاشت ۱۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. یک خط به‌صورت نکاشت به‌عنوان حایل بین کرت‌های اصلی قرار گرفت. جوی‌های آبیاری به‌نحوی تعبیه شدند که آب آبیاری اضافی هر تکرار توسط یک جوی خروجی در انتهای کرت‌ها از مزرعه خارج گردد. بذور نخود در اول خردادماه به‌عنوان کشت دوم (پس از برداشت جو) با دست کشت گردید. بذر مورد استفاده در این آزمایش، توده محلی نخود بود که از منطقه بسطام تهیه گردید. تراکم گیاهی برابر با ۲۰ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد.

تیمارهای آزمایش شامل رژیم‌های آبیاری (توزیع شده در کرت‌های اصلی) در سه سطح (دور آبیاری هفت‌روز (آبیاری معمول منطقه؛ شاهد)، دور آبیاری ۱۰ روز و دور آبیاری ۱۳ روز) و محلول پاشی برگی اسپرمیدین در سه سطح (شاهد) پاشش آب بر گیاه، غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار) در زمان چهار برگی (۲۰ خرداد)، گلدهی (۱۶ مرداد) و شیرینی شدن دانه (۳ شهریور) بود. انتخاب این سطوح اسپرمیدین، بر اساس نتایج آزمایش‌های گلدانی انجام شده توسط نگارندگان در خصوص تأثیر سطوح این پلی‌آمین بر سه گیاه نخود، عدس و لوبیای روئیده در تنش کم آبیاری بود (نتایج منتشر نشده). آبیاری به روش جوی و پشته انجام شد و تا استقرار کامل گیاه (تکمیل مرحله

رادیکال‌های آزاد عمدتاً در کلروپلاست، میتوکندری و پراکسیزوم‌ها تولید می‌شوند. به‌عنوان نمونه، در فرایند تنفس نوری هنگامی که گلیکولات توسط آنزیم گلیکولات اکسیداز به گلی اکسیلیک اسید اکسید می‌گردد، H₂O₂ در پراکسیزوم‌ها تولید می‌شود (Noctor et al., 2017). شایان توجه است که رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های پایین (شرایط بدون تنش) به‌عنوان مولکول پیام‌رسان عمل نموده و در فرایندهای بیان ژن و متابولیسم سلول، به‌طور مثبت مشارکت می‌کنند. این در حالی است که با افزایش غلظت آن‌ها، تأثیر تخریبی و مضر بر سلول به‌جا گذاشته می‌شود. زیرا در این شرایط، اکسیدشدن پروتئین‌ها، رنگدانه‌های فتوسنتزی، اسیدهای چرب و اسیدهای نوکلئیک رخ داده و کلروز و نکروز شدن بافت گیاه بروز می‌نماید (Gilroy et al., 2016). این تأثیر دوسویه مثبت و منفی رادیکال‌های آزاد باعث شده است که توجه زیادی به آن‌ها معطوف گردد.

پلی‌آمین‌ها هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم و دارای زنجیره راست سه تا ۱۵ کربنه و دو گروه آمین انتهایی می‌باشند. اسیدهای آمینه آرژینین و اورنیتین پیش‌ماده بیوسنتز پلی‌آمین‌ها هستند. دو مسیر عمده برای سنتز پوتریسین از اسیدهای آمینه آرژینین و اورنیتین در سلول‌های گیاهی وجود دارد که این مسیرها را بر اساس آنزیم‌های کاتالیزکننده آن‌ها نام‌گذاری کرده‌اند. مسیر اول به‌عنوان مسیر اورنیتین دکربوکسیلاز و مسیر دوم مسیر آرژینین دکربوکسیلاز است. پس از سنتز پوتریسین، در مراحل بعدی پلی‌آمین‌های بزرگ‌تر (اسپرمیدین) توسط آنزیم اسپرمیدین سینتاز با افزودن متوالی گروه‌های آمینوپروپیل به پوتریسین سنتز می‌شوند (Pál et al., 2015). بر اساس مطالعات، در گیاهان تحت تنش، ترکیب‌های پلی‌آمینی آندوزن از جمله اسپرمیدین افزایش می‌یابند که در اصل پاسخ دفاعی گیاه به تنش اکسیداتیو به‌شمار می‌رود

کلش پس از خشک شدن در هوای آزاد، به ترتیب حدود ۱۴ و ۱۳ درصد به دست آمد.

دانه‌های سه بوته برداشت شده در زمان رسیدگی برای تعیین درصد پروتئین دانه مورد استفاده قرار گرفت. درصد پروتئین دانه به روش کجلدال اندازه‌گیری گردید. بدین منظور، یک گرم از بافت خوب پودر شده به بالن‌های مخصوص کجلدال منتقل شد و کاتالیزور واجد یک‌ونیم گرم سولفات پتاسیم و ۰/۱۵ گرم سولفات مس به هر فلاسک اضافه گردید. برای انجام عمل هضم، ۲۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ اضافه شد و بالن‌ها به درون اجاق مخصوص انتقال داده شدند. زمان تغییر رنگ محلول سیاه‌رنگ داخل فلاسک‌ها به رنگ سبز بسیار کم رنگ به عنوان پایان عمل هضم در نظر گرفته شد. میزان نیتروژن نمونه‌ها پس از سرد شدن محلول‌ها در دمای آزمایشگاه توسط دستگاه کجلدال سنجیده شد. دستگاه دارای سه مخزن آب مقطر، سود سوزآور ۴۰ درصد و اسید بوریک ۱۰ درصد بود. پس از قرار گرفتن هر فلاسک در دستگاه، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۳۰ میلی‌لیتر سود سوزآور ۴۰ درصد به نمونه اضافه شده و با فشار بخار آب عمل تقطیر انجام گرفت. از اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال برای تیتراسیون استفاده شد. با توجه به مقدار اسیدکلریدریک مصرف شده در تیتراسیون، مقدار نیتروژن موجود در نمونه تعیین شد. برای نخود، ضریب تبدیل نیتروژن ۵/۳ در نظر گرفته شد (Bradford, 1976).

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال متناسب با سطح احتمال معنی دار شدن مندرج در جدول تجزیه واریانس استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های گوایکول پراکسیداز و کاتالاز: نتایج

نشان داد که در شرایط عدم استفاده از اسپرمیدین، دور - آبیاری ۱۰ روز باعث کاهش فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز به - میزان ۳۱ درصد گردید (شکل ۱). این در حالی است که دور - آبیاری ۱۳ روز، فعالیت آن را به سطحی بالاتر از شاهد افزایش (۸۰ درصد) داد. در شرایط دور آبیاری ۱۳ روز، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین به کاررفته، فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز کاهش نشان داد. بر اساس شیب خط رگرسیون محاسبه شده، میزان کاهش برابر با حدود ۰/۰۷ میکرومول بر دقیقه بر گرم وزن تر به ازای ۰/۱ میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین بود. در شرایط شاهد، اختلاف معنی‌داری بین سطوح صفر و ۰/۳ میلی‌مولار اسپرمیدین از لحاظ فعالیت این آنزیم وجود نداشت. برای دور آبیاری ۱۰ روز نیز این حالت

سبزشدن گیاه، آبیاری کامل اعمال گردید. برای اندازه‌گیری صفات مورد سنجش، اقدام به نمونه برداری شد. بدین منظور، دو ردیف کشت کناری هر کرت به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. دو بوته از ابتدا و انتهای دو ردیف کشت میانی نیز اثر حاشیه‌ای به حساب آمد.

در مرحله خمیری شدن دانه، اقدام به سنجش محتوای نسبی کلروفیل برگ توسط دستگاه کلروفیل سنج اسپد (SPAD) شد. در همین مرحله نموی، نمونه‌هایی از برگ‌های فوقانی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گوایکول پراکسیداز تهیه گردید. سپس اقدام به استخراج عصاره گردید. بدین منظور، مخلوط واکنش با حجم سه میلی‌لیتر تهیه شد که شامل ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 6/8$ و عصاره آنزیمی بود. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز، آب اکسیژنه ۰/۴۵ مولار به مخلوط واکنش اضافه شد. افزودن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، به عنوان شروع فعالیت آنزیمی در نظر گرفته شد. یک دقیقه اول بعد از افزودن آب اکسیژنه، کاهش میزان جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر یادداشت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس ضریب خاموشی (ϵ) برابر با $40 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (Cavalcanti et al., 2004).

همانند آنزیم کاتالاز، اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، به عنوان شروع فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز در نظر گرفته شد. پس از سپری شدن یک دقیقه، تغییر جذب نور در طول موج ۴۷۰ نانومتر یادداشت گردید. در نهایت، فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میکرومول تتراکوایکول تشکیل شده و با استفاده از ضریب خاموشی (ϵ) برابر با $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ محاسبه گردید (Cavalcanti et al., 2004).

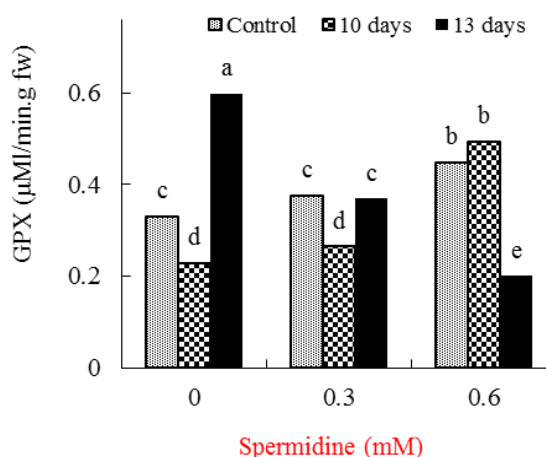
برای اندازه‌گیری صفات زیست‌توده، عملکرد دانه و تعداد غلاف در بوته، اقدام به برداشت گیاهان در زمان رسیدگی در سطحی برابر با هفت‌ونیم متر مربع شد. پس از خشک شدن بوته‌ها در هوای آزاد به مدت پنج روز، اقدام به توزین بوته‌ها توسط ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم گردید و مقدار زیست‌توده و عملکرد دانه تعیین شد. شایان ذکر است که بلافاصله پس از برداشت و پنج روز بعد از برداشت، نمونه‌هایی جهت تعیین درصد رطوبت دانه و کاه و کلش تهیه، و به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نتایج اولیه حاکی از عدم تأثیر معنی‌دار تیمارها و برهمکنش آن‌ها بر درصد رطوبت دانه، و کاه و کلش تهیه شده در زمان‌های برداشت و پنج روز پس از برداشت بود. متوسط درصد رطوبت دانه و کاه و

سنتز پیش‌ماده‌های پروتئین دیواره سلولی مشارکت دارد؛ ولی در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی بوده و آسیب‌های اکسیداتیو را به دنبال دارد (Terzi & Kadioglu, 2006). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی همچون کاتالاز به گیاه این امکان را می‌دهد تا خود را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت نمایند. میزان افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های متحمل روئیده در شرایط کم آبیاری به مراتب بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس به دست آمده است (Gao et al., 2014).

کاهش خطی فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز در اثر افزایش غلظت اسپرمیدین به کاررفته در دور آبیاری ۱۳ روز و همچنین کاهش (۴۸ درصد) فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط محلول پاشی گیاه با اسپرمیدین ۰/۳ میلی‌مولار ممکن است تأییدی بر گزارش‌های قبلی در خصوص توانایی ترکیبات پلی آمینی در حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد و بهبود ثبات و پایداری بخشی به غشاء باشد (Gupta et al., 2013). شواهد آزمایشی حاکی از آن است که کاربرد خارجی پوتریسین میزان پلی‌آمین‌ها در غشاهای تیلوکوئیدها را افزایش داده است. این نتایج با کاربرد خارجی اسپرمین نیز تکرار گردیده است (Shu et al., 2013). همچنین بر اساس گزارش پژوهشگران، افزودن پلی‌آمین‌ها به گیاهان تحت تنش موجب ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ماکرومولکول‌ها شده و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله گلوکاتایون و کاروتنوئیدها را به دنبال داشته است (Queval et al., 2011). گزارش‌هایی نیز وجود دارد که پلی‌آمین‌ها باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند (Shu et al., 2013).

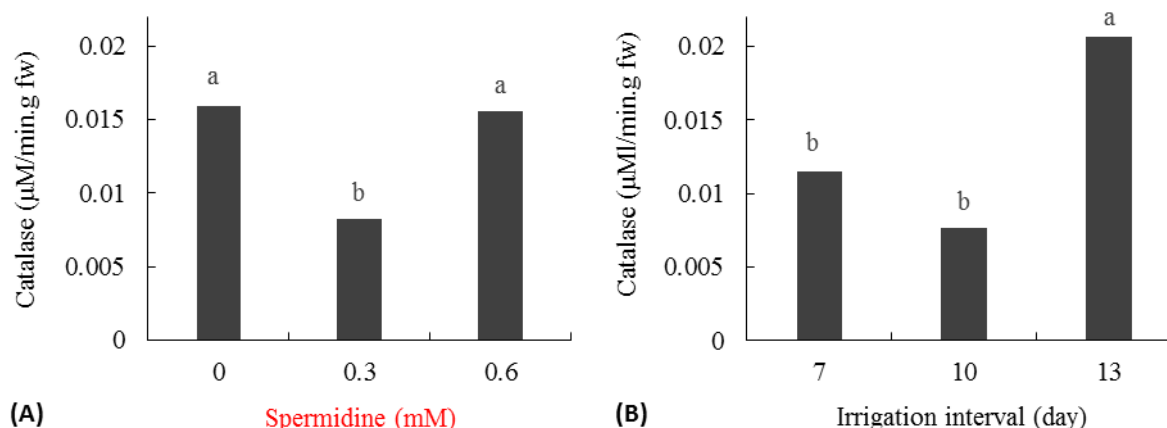
صادق بود. در کل، ۰/۶ میلی‌مولار باعث افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط دوره‌های آبیاری هفت‌روز (۳۶ درصد) و ۱۰ روز (۱۱۶ درصد) نسبت به شرایط عدم استفاده از آن گردید. گوایکول پراکسیداز آنزیمی مؤثر در تجزیه پراکسید هیدروژن می‌باشد که با کمک آسکوربات زدودن پراکسید هیدروژن را انجام می‌دهد. آسکوربات دهنده الکترون بوده و سبب کاهش پراکسید هیدروژن به آب می‌شود. از آنجاکه توازن بین گونه‌های فعال اکسیژن و پالاینده‌ها برای ادامه حیات ضروری می‌باشد، گیاه در پاسخ به تنش اکسیداتیو ایجاد شده، میزان بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را زیاد نموده که به دنبال آن‌ها، فعالیت آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی افزایش پیدا می‌کند (Noctor et al., 2017).

اثرات اصلی تیمارها بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار به دست آمد، ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد. بین سطوح صفر (شاهد) و ۰/۶ میلی‌مولار اسپرمیدین از لحاظ فعالیت این آنزیم، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. این سطوح اسپرمیدین دارای بالاترین (حدود ۹۸ درصد بیشتر از شاهد) فعالیت آنزیم کاتالاز بودند (شکل ۲). در دور آبیاری ۱۰ روز، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از لحاظ آماری مشابه فعالیت آن در شرایط شاهد بود. ولی در شرایط دور آبیاری ۱۳ روز، فعالیت این آنزیم به حدود ۸۰ درصد بالاتر از شاهد افزایش یافت. کاتالاز از آنزیم‌های مهم برای حذف پراکسید هیدروژن موجود در پروکسیزوم‌ها به شمار می‌رود. وجود پراکسید هیدروژن در گیاه از این نظر حائز اهمیت است که در غلظت‌های متوسط، به عنوان مولکول علامت عمل نموده و در



شکل ۱- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در آزمون LSD است. GPX: گوایکول پراکسیداز

Fig. 1. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on guaiacol peroxidase enzyme activity
The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.
GPX: guaiacol peroxidase



شکل ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در سطوح مختلف اسپرمیدین (A) و رژیم آبیاری (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 2. Mean comparison of catalase enzyme activity for different levels of spermidine (A) and irrigation regime (B)
The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.

غلظت اسپرمیدین) نشان داد که این امر بر تأثیر مثبت اسپرمیدین بر وضعیت فتوسنتزی خود دلالت دارد. نقش‌های حفاظتی اسپرمیدین در ممانعت از کاهش کلروفیل در برنج نیز اثبات شده است (Salethong *et al.*, 2011). در پژوهش‌های انجام‌شده مشخص شده است که مقدار کل کلروفیل برگ تیمار شده یا پلی‌آمین‌ها در مقایسه با شاهد افزایش یافته و پیری به تأخیر می‌افتد (Minocha *et al.*, 2014). پلی‌آمین‌ها نقشی امیدبخش در استحکام‌بخشی پروتئین‌های فتوسنتزی الگومریک به‌ویژه پروتئین‌های اتصال‌شونده به کلروفیل a و b را به‌عهده دارند (Gupta *et al.*, 2013). پلی‌آمین‌ها به‌عنوان ترکیبات خنثی‌کننده اسیدهای آلی، گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش داده و پراکسیداسیون لیپیدها را کم می‌نمایند. این امر به‌صورت کاهش مالون دی‌آلدئید در بافت منعکس می‌گردد و تجزیه کلروفیل را کاهش می‌دهد (Sen *et al.*, 2014). پلی‌آمین‌ها به لحاظ ایجاد برهمکنش با ماکرومولکول‌هایی نظیر DNA، RNA، و کمپلکس‌های نسخه‌برداری و بیان ژن، سنتز کلروفیل را افزایش داده و همچنین باعث افزایش پایداری غشای اندامک‌های سلول می‌گردند (Minocha *et al.*, 2014). افزایش کلروفیل در گیاهان پلی‌آمین دریافت کرده به افزایش بیان ژن‌های کدکننده سنتز پروتئین کیناز و آنزیم‌های مرتبط با بیوسنتز آبسزیک اسید، جاسمونیک اسید نسبت داده شده است (Zepeda-Jazo *et al.*, 2016).

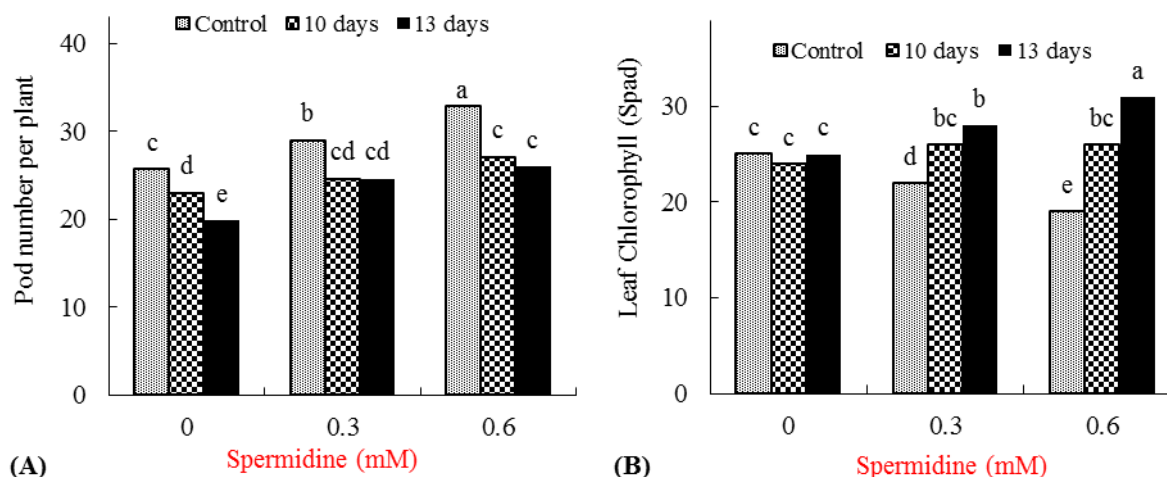
تعداد غلاف در بوته: دور آبیاری بالاتر باعث کاهش تعداد غلاف در بوته شد (شکل ۳) که می‌تواند مربوط به عواملی از جمله ریزش گل‌ها قبل از گرده‌افشانی یا اختلال در گرده افشانی باشد (Liu *et al.*, 2004). در هر یک از سطوح آبیاری،

محتوای نسبی کلروفیل برگ: در شرایط عدم استفاده از اسپرمیدین، اختلاف معنی‌داری بین سطوح آبیاری از لحاظ محتوای نسبی کلروفیل برگ وجود نداشت (شکل ۳)؛ ولی در سطوح دیگر اسپرمیدین، متناسب با افزایش دور آبیاری، محتوای نسبی کلروفیل برگ افزایش یافت. بر اساس شیب خط رگرسیون در سطح ۰/۳ میلی‌مولار اسپرمیدین، به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری، محتوای نسبی کلروفیل برگ به میزان حدود یک عدد اسید بیشتر شد. در سطح ۰/۶ میلی‌مولار اسپرمیدین، این افزایش حدود دو عدد اسید به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری بود. بالاترین محتوای نسبی کلروفیل برگ در تیمار اسپرمیدین با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار و در دور آبیاری ۱۳ روز حاصل شد. در شرایط شاهد، اسپرمیدین باعث کاهش محتوای نسبی کلروفیل برگ گردید. بر اساس گزارش‌ها، در شرایط بدون تنش‌های غیرزنده، نیتروژن موجود در پلی‌آمین‌ها باعث کاهش سنتز پیش‌ماده کلروفیل یعنی پروتوکلروفیلاید می‌گردد (Shu *et al.*, 2013). در شرایط استفاده از اسپرمیدین، تنش خشکی باعث افزایش محتوای نسبی کلروفیل برگ گردید. یافته‌های مربوط بررسی اثر تنش خشکی بر چند وارپته کلزا حاکی از اثر افزایشی تنش خشکی بر محتوای کلروفیل در برخی ارقام و کاهش محتوای کلروفیل در ارقام دیگر بوده است (Sepeshri & Golparvar, 2011). این تفاوت‌ها به متغیر بودن فعالیت آنزیم کلروفیلاز نسبت داده شده است.

به‌طور کلی، در دور آبیاری ۱۳ روز، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، محتوای نسبی کلروفیل برگ نیز به‌طور خطی افزایش (یک عدد اسید به‌ازای ۰/۱ میلی‌مولار افزایش در

(شکل ۳). این امر می‌تواند نشان‌گر اثر افزایشی اسپرمیدین بر گل‌های بارور گیاه باشد.

متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، تعداد غلاف در بوته افزایش (به‌طور متوسط، حدود یک غلاف در بوته به‌ازای ۰/۱ میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین) نشان داد



شکل ۳- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر تعداد غلاف در بوته (A) و محتوای نسبی کلروفیل برگ (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد در آزمون LSD است.

Fig. 3. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on pod number per plant (A) and relative leaf chlorophyll content (B)

The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.

غیریونی از قبیل DNA و RNA است که در بسیاری از فرآیندهای درون گیاه شامل تقسیم و بزرگ‌شدن سلول، توسعه و تشکیل میوه نقش دارند (Do et al., 2016).

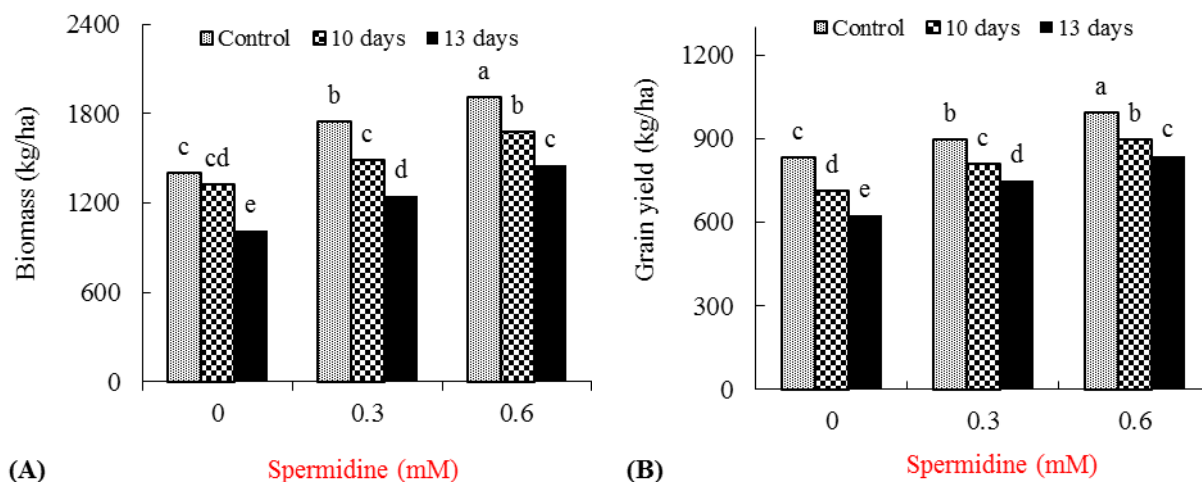
درصد پروتئین دانه: دور آبیاری ۱۰ روز موجب کاهش حدود سه درصدی پروتئین دانه نسبت به شاهد (دور آبیاری هفت‌روز) شد، اما دور آبیاری ۱۳ روز تأثیری بر آن نداشت (شکل ۵). در شرایط تنش خشکی به‌خصوص در مرحله پرشدن غلاف، به‌واسطه کاهش طول دوره پرشدن دانه و کاهش فتوسنتز خالص، تغییراتی در تجمع نشاسته در دانه رخ می‌دهد. از طرف دیگر، متابولیسم ترکیبات نیتروژن‌دار از جمله آمیدها نیز از تنش خشکی تأثیر می‌پذیرد. میزان تأثیرپذیری متابولیسم نیتروژن و تجمع کربوهیدرات‌ها در دانه، اثر تعیین‌کننده‌ای بر نسبت (درصد) پروتئین دانه به‌جای می‌گذارد (Minocha et al., 2014). در این آزمایش، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، درصد پروتئین دانه نیز افزایش یافت (شکل ۵): به‌طوری‌که در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۶ میلی‌مولار اسپرمیدین، درصد پروتئین دانه به ترتیب حدود سه و هفت درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. تأثیر مثبت اسپرمیدین بر درصد پروتئین دانه ممکن است به‌این‌علت باشد که این ترکیب، سرشار از یون نیتروژن بوده و این عنصر را به سهولت در اختیار گیاه قرار می‌دهد (Pál et al., 2015).

زیست‌توده و عملکرد دانه: در هر یک از سطوح دور آبیاری، متناسب با افزایش غلظت اسپرمیدین، زیست‌توده و عملکرد دانه افزایش یافت (شکل ۴) که بر تقلیل اثرات منفی دور آبیاری زیاد توسط اسپرمیدین دلالت دارد. با توجه به میانگین شیب خط رگرسیون، به‌ازای ۰/۱ میلی‌مولار افزایش در غلظت اسپرمیدین، میزان افزایش در زیست‌توده و عملکرد دانه به ترتیب برابر با ۷۲ و ۳۱ کیلوگرم در هکتار بود. بالاترین عملکرد دانه در شرایط آبیاری معمول و محلول‌پاشی با غلظت ۰/۶ میلی‌مولار و کمترین آن نیز در بالاترین دور آبیاری و عدم استفاده از اسپرمیدین حاصل شد. اسپرمیدین ۰/۶ میلی‌مولار توانست اثر مخرب دور آبیاری متوسط و زیاد را بر عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۲۰ درصد و ۳۴ درصد کاهش دهد.

به‌طور کلی، این دو صفت از بیشتر شدن دور آبیاری تأثیر منفی پذیرفتند (شکل ۴). به‌طور متوسط، میزان کاهش زیست‌توده و عملکرد دانه به‌ازای یک‌روز افزایش در دور آبیاری برابر با ۷۴ و ۲۸ کیلوگرم در هکتار بود که می‌تواند ناشی از عوامل مختلف از جمله عوامل روزنه‌ای و غیرروزنه‌ای و همچنین تنش اکسیداتیو باشد (Noctor et al., 2002). پلی‌آمین‌ها از جمله اسپرمیدین به‌دلیل این‌که یک منبع نیتروژنی هستند، می‌توانند رشد گیاه را تحریک کنند (Alcázar et al., 2006). تأثیر مثبت آن‌ها بر رشد به‌دلیل اتصال این ترکیبات به مولکول‌های

باعث بهبود تغذیه‌ای (پروتئین) دانه نخود در کلیه دوره‌های آبیاری می‌گردد.

معنی‌دار نشدن اثر متقابل دور آبیاری و اسپرمیدین بر درصد پروتئین دانه این امر را گوشزد می‌نماید که کاربرد اسپرمیدین

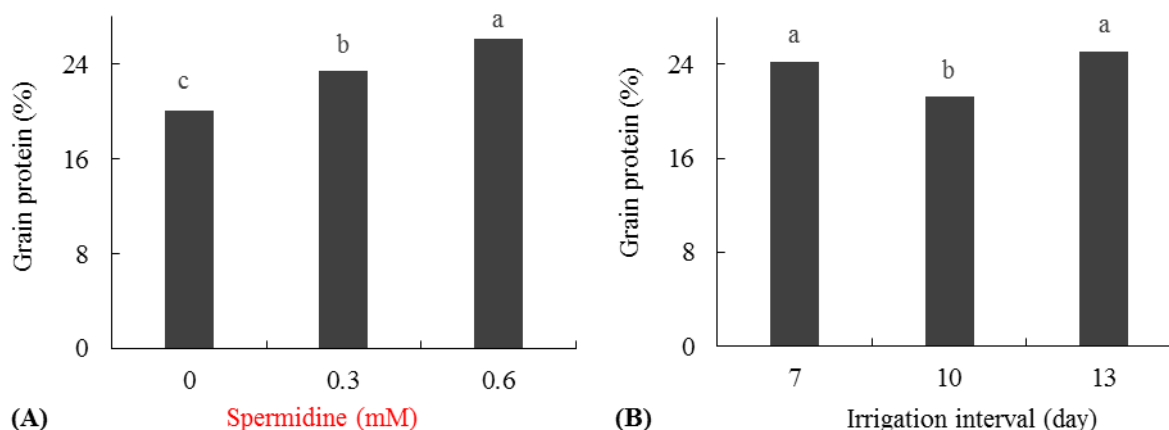


شکل ۴- برهمکنش رژیم آبیاری و اسپرمیدین بر زیست توده (A) و عملکرد دانه (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 4. Interactive effects of irrigation regime and spermidine on biomass (A) and grain yield (B)

The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.



شکل ۵- مقایسه میانگین درصد پروتئین دانه در سطوح مختلف اسپرمیدین (A) و رژیم آبیاری (B)

حروف مشابه در شکل، نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک‌درصد در آزمون LSD است.

Fig. 5. Mean comparison of grain protein percent for different levels of spermidine (A) and irrigation regime (B)

The bars with similar letter are not significantly different ($p \leq 0.01$) by LSD test.

گل‌های بارور) بود. افزون بر این، تغییراتی نیز در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و گوایکول پراکسیداز به وقوع پیوست. اسپرمیدین ۰/۶ میلی‌مولار توانست بالاترین تأثیر افزایشی را بر عملکرد دانه (۱۹ درصد، ۲۰ درصد و ۳۴ درصد، به ترتیب در دوره‌های آبیاری هفت، ۱۰ و ۱۳ روز) به‌جای گذارد. بر همین اساس، اسپرمیدین ۰/۶ میلی‌مولار به عنوان بهترین سطح تیمار برای شرایط وجود و عدم وجود تنش خشکی شناخته شد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که افزایش دور آبیاری، کلیه صفات مورد بررسی را تحت تأثیر قرار داد. کاربرد پلی‌آمین اسپرمیدین در سه مرحله چهاربرگی، گلدهی و شیری شدن دانه توانست تأثیر منفی افزایش دور آبیاری را بر رشد و عملکرد دانه نخود زراعی کاهش دهد. این امر در راستای افزایش محتوای نسبی کلروفیل برگ و افزایش تعداد غلاف در بوته (کاهش ریزش گل و افزایش

منابع

- Alcázar, R.F., Marco, J.C., Cuevas, M., Patrón, A., Ferrando, P., and Carrasco, A.F. 2006. Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnological Letters* 28: 1867-1876.
- Anbessa, Y., and Bejiga, G. 2002. Evaluation of ethiopian chickpea landraces for tolerance to drought. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49: 557-564.
- Ashori, A., Gholipour, M., and Heydari, M. 2019. Effect of spermine and spermidine spraying on growth and some physiological traits of chickpea. *Iranian Journal of Pulses Research* 10(2) (In Press). (In Persian with English Summary).
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cavalcanti, F.R., Oliveira, J.T.A., Martins-Miranda, A.S., Viégas, R.A., and Silveira, J.A.G. 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *New Phytologist* 163: 563-571.
- Do, P.T., Degenkolbe, T., Erban, A., Heyer, A.G., Kopka, J., Köhl, K.I., Hinch, D.K., and Zuther, E. 2016. Dissecting rice polyamine metabolism under controlled long-term drought stress. *Plus One* 8: 1-14.
- Gao, X., Yuan, H.M., Hu, Y.Q., Li, J., and Lu, Y.T. 2014. Mutation of Arabidopsis CATALASE2 results in hyponastic leaves by changes of auxin levels. *Plant and Cell Environment* 37: 175-88.
- Gilroy, S., Bialasek, M., Suzuki, N., Gorecka, M., Devireddy, A.R., Karpinski, S., and Mittler, R. 2016. ROS, calcium, and electric signals: key mediators of rapid systemic signaling in plants. *Plant Physiology* 171: 1606-1615.
- Goldani, M., and Rezvani, P. 2007. The effects of different irrigation regimes and planting dates on phenology and growth indices of three chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars in Mashhad. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 14: 229-242. (In Persian with English Summary).
- Gupta, K., Dey, A., and Gupta, B. 2013. Plant polyamines in abiotic stress responses. *Acta Physiologiae Plantarum* 35: 2015-2036.
- Kafi, M., Ganjeali, A., and Abbasi, F. 2006. Study of changes in leaf abscisic acid (ABA) and stomatal resistance in drought resistant and sensitive genotypes of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Science Journal of Tehran University* 33(4): 26-19 (In Persian with English Summary).
- Kakkar, R.K., and Sawhney, V.K. 2002. Polyamine research in plants: a changing perspective. *Physiologia Plantarum* 116: 281-292.
- Kashiwagi, J., Krishnamurthy, L., Upadhyaya, H.D., Krishna, H., Chandra, S., Vadez, V., and Serraj, R. 2005. Genetic variability of drought-avoidance root traits in mini-core germplasm collection of chickpea. *Euphytica* 146: 213-222.
- Liu, H.P., Dong, B.H., Zhang, Y.Y., Liu, Z.P., and Liu, Y.L. 2004. Relationship between osmotic stress and the levels of free conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. *Plant Science* 166: 1261-1267.
- Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., and Yang, R. 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in Karst habitats of southwestern China. *Environmental and Experimental Botany* 71: 174-183.
- Minocha, R., Majumdar, R., and Minocha, S.C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship. *Frontiers in Plant Science* 5: 175-184.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S.D., Driscoll, S., Novitskaya, L., and Foyer, C.H. 2002. Drought and oxidative load in wheat leaves. A predominant role for photorespiration? *Annals of Botany* 89: 841-850.
- Noctor, G., Reichheld, J.P., and Foyer, C.H. 2017. ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 25: 112-119.
- Padhi, E.M.T., and Ramdath, D.D. 2017. A review of the relationship between pulse consumption and reduction of cardiovascular disease risk factors. *Journal of Functional Foods* 38: 635-643.
- Pál, M., Szalai, G., and Janda, T. 2015. Speculation: polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Science* 237: 16-23.
- Queval, G., Jaillard, D., Zechmann, B., and Noctor, G. 2011. Increased intracellular H₂O₂ availability preferentially drives glutathione accumulation in vacuoles and chloroplasts. *Plant Cell Environment* 34: 21-32.
- Salethong, P., Sanitchon, J., Kong-Ngern, K., and Theerakulpisut, P. 2011. Pretreatment with spermidine reverses inhibitory effects of salt stress in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity tolerance. *Asian Journal of Plant Science* 24: 23-32.

23. Sen, G., Eryilmaz, I.E., and Ozakca, D. 2014. The effect of aluminum stress and exogenous spermidine on chlorophyll degradation, glutathione reductase activity and the photosystem II D1 protein gene (psbA) transcript level in lichen (*Xanthoria parietina* L.). *Phytochemistry* 98: 54-59.
24. Sepehri, A., and Golparvar, A.R. 2011. The effect of drought stress on water relations, chlorophyll content and leaf area in canola cultivars (*Brassica napus* L.). *Electronic Journal of Biology* 7: 49-53.
25. Shu, S., Yuan, L.Y., Guo, S.R., Sun, J., and Yuan, Y.H. 2013. Effects of exogenous spermine on chlorophyll fluorescence antioxidant system and ultrastructure of chloroplasts in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 63: 209-216.
26. Singh, J., Singh, K.P., Mehta, O.P., and Malik, R.S. 1991. Seasonal consumptive use, moisture extraction pattern and water use efficiency of Kabuli gram (*Cicer arietinum* L.) cultivars under different levels of irrigation. *Agricultural Digest* 11: 142-144.
27. Terzi, R., and Kadioglu, A. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48: 89-96.
28. Wallace, H.M., Fraser, A.V., and Hughes, A. 2003. A perspective of polyamine metabolism. *Biochemistry Journal* 376: 1-14.
29. Weits, D.A., Giuntoli, B., Kosmacz, M., Parlanti, S., Hubberton, H.M., Riegler, H., Hoefgren, R., Perata, P., van Dongen, J.T., and Licausi, F. 2014. Plant cysteine oxidases control the oxygen-dependent branch of the N-end rule pathway. *Nature Communication* 5: 3425-3432.
30. Zepeda-Jazo, I., Velarde-Buendía, A.M., Enríquez-Figueroa, R., Jayakumar, B., Shabala, S., and Muñoz, J. 2016. Polyamines interact with hydroxyl radicals in activating Ca^{2+} and K^{+} transport across the root epidermal plasma membranes. *Plant Physiology* 157: 2167-2180.

Alleviation of low-irrigation effects on chickpea (*Cicer arietinum* L.) using spermidine

Sharifi¹, V., Gholipoor^{2*}, M. & Abbasdokht³, H.

1. MSc. Student in Agroecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran; vsharifi543@gmail.com
2. Associate Professor in Agricultural Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran
3. Associate Professor in Agricultural Ecology, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Semnan Province, Iran; habbasdokht@yahoo.com

Received: 9 June 2018
Accepted: 20 November 2018

DOI: 10.22067/ijpr.v11i1.73059

Introduction

Chickpea is one of the pulse crops and its protein percent is about 22 to 24 percent. Therefore it plays an important nutritional role in human being diet. All plants, including chickpea, experience physiological changes and decreased growth while facing water deficit. Change in photosynthetic electron transport under low-irrigation conditions is one of the factors causing formation of reactive oxygen species (free radicals) including oxygen peroxide, super oxide and hydroxyl (oxidative stress). These free radicals are mainly produced in chloroplast, mitochondrion, and peroxisomes which could inflict destructive and harmful effects on plant cells. In stressed plants, the endogenous polyamine compounds are increased which is mainly a defensive response of plant to oxidative stress. Polyamines are aliphatic hydrocarbons with low molecular weight, straight chain of 3 to 15 carbons, which arginine and ornithine amino acids are their precursor. There are two major biosynthetic pathways for putrescine including ornithine decarboxylase and arginine decarboxylase. After putrescine synthesis, the larger polyamines (spermidine) are synthesized. This process is catalyzed by spermidine synthase through consecutively adding aminopropyl groups to putrescine. This experiment aimed to study the possibility of decreasing harmful effects of low-irrigation on growth and yield of chickpea through spermidine spraying.

Materials & Methods

This study was carried out as split plot based on complete blocks design with three replications in research farm of Shahrood University of Technology in 2016 in which the chickpea was sown in June as a secondary planting. The experimental treatments were irrigation regimes (distributed in main plots) in three levels (control (the conventional irrigation; 7-day interval irrigation), 10-day interval irrigation, and 13-day interval irrigation) and spermidine spraying in three levels (control (spraying of water on plant), concentration of 0.3 and 0.6 mM) at 4-leaf, flowering and milky stages. The studied traits were biomass, grain yield, number of pods per plant, grain protein percent, chlorophyll content and activities of catalase and guaiacol peroxidase enzymes.

Results & Discussions

The results indicated that under 13-day interval irrigation conditions, the activity of guaiacol peroxidase decreased with increasing concentration of spermidine (About 0.07 $\mu\text{M}/\text{min.g}$ fw for 0.1 mM increase in spermidine concentration). No significant difference was found between zero (control) and 0.6 mM in terms of catalase enzyme; these spermidine levels appeared to have the highest activity of catalase enzyme. Under 10-day interval irrigation conditions, the catalase activity amount was statistically similar to its activity under control conditions. However, under 13-day interval irrigation conditions, the activity of mentioned enzyme was almost 80% higher than control. The linear decrease of guaiacol peroxidase activity with increasing spermidine concentration under 13-day interval irrigation conditions and also decrease in catalase enzyme activity under spraying plant with 0.3 mM spermidine may confirms the previous reports regarding the capability of polyamine compounds in direct elimination of free radicals and promoting stability and

*Corresponding Author: manouchehr.gholipoor@gmail.com

conserving the membrane. The experimental evidences have indicated that the application of exogenous putrescine has increased the polyamines amount in thylakoid membranes; these results have also been repeated by application of exogenous spermidine. Under 13-day interval irrigation conditions, the relative leaf chlorophyll content appeared to be linearly increased with enhancing the spermidine concentration (One Spad value for 0.1 mM increase in spermidine concentration). In each irrigation regimes, the number of pod per plant was proportionally increased with increasing spermidine concentration (Averagely, about one pod per plant for 0.1 mM increase in spermidine concentration). In each irrigation regimes, the biomass and grain yield were proportionally increased with increasing spermidine concentration (For 0.1 mM increase in spermidine concentration, the average increase in biomass and grain yield was about 72 and 31 Kg/ha, respectively), which proves that spermidine alleviates the harmful effects of low-irrigation. The 0.6 mM spermidine could alleviate the harmful impacts of 10- and 13-day irrigation regimes on grain yield by 20% and 34%, respectively. Proportional to spermidine concentration, grain protein content got increased (About one percent for 0.1 mM increase in spermidine concentration). So that for 0.3 and 0.6 mM spermidine concentrations, the grain protein content was higher than control by 3% and 6%, respectively.

Conclusion

The results indicated that imposing low-irrigation stress affected all measured traits. The application of spermidine polyamine at three stages of 4-leaf, flowering and milky stages caused some changes in activity of antioxidant enzymes catalase and guaiacol peroxidase. These changes took place along with increasing chlorophyll content and number of pod per plant (decreasing flower abortion and enhancing fertile flowers). The changes in the mentioned traits were some of the reasons for spermidine-resulted alleviating the negative effects of low-irrigation on growth and grain yield of chickpea. The 0.6 mM spermidine was found to be the best treatment level for both drought stress and no drought stress conditions.

Keywords: Free radicals, Photosynthesis, Water use efficiency