Archive of SID

به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵
صفحه‌های ۲۴۴-۲۳۱

ارزیابی کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین بر کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی

علی‌رضا خالقی[1*]، روح‌انگیز نادری[2]، علی‌رضا سلامی[3]، مصباح بابالار[4]، ایمان روح‌اللهی[5]، غلامرضا خالقی[6]

۱. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران
۲. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۴. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۵. استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۶. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۰۲

چکیده

خشکی یکی از مهمترین عوامل محیطی محدودکننده کشت گیاهان چوبی می‌باشد. ایران جزء مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود که کمبود آب، کاشت درختان و درختچه‌های زینتی را در آن محدود می‌سازد. به همین منظور، اثر محلول‌پاشی برگی اسید سالیسیلیک و یا اسپرمیدین (صفر، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار) بر کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی (عدم آبیاری) بر نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در ایستگاه تحقیقات باغبانی دانشگاه تهران، در سال ۱۳۹۲ مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا نهال‌ها توسط تنظیم‌کننده‌های رشد در دو روز متوالی، در دو نوبت صبح و عصر محلول‌پاشی برگی شدند و سپس به مدت ۱۰ روز تحت تنش خشکی به صورت عدم آبیاری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که غلظت ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و یا اسپرمیدین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش نشت یونی و افزایش محتوای پرولین، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و همچنین حفظ محتوای کلروفیل و کارایی فتوشیمیایی کلروفیل در گیاهان تحت تنش شدند، اما غلظت‌های بالا بی‌تأثیر یا بازدارنده بودند. بنابراین، غلظت‌های ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک یا اسپرمیدین جهت افزایش تحمل به خشکی نهال‌های جوان، به‌ویژه در طی فرایند حمل و نقل و انتقال به زمین اصلی توصیه می‌شوند.

کلیدواژه‌ها: توت آمریکایی، تنش خشکی، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، محلول‌پاشی برگی

* نویسنده مسئول
Email: Khaleghi979@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

تـــوت آمریکـــایی (*Maclura pomifera*) از خـــانواده Moraceae و بومی آمریکای مرکـزی است. ایـن درخـت مقاوم به آفات و بیماری‌ها، گرما و کم‌آبـی، شـوری، وزش بادهای تند و آلودگی هوا می‌باشد و می‌توانـد در هـر نـوع خاکی از جمله خاک‌های آهکی رشد نماید. این ویژگی‌هـا آن‌را به گیاهی ارزشمند جهت کاشت در فضای سبز شهری تبدیل نموده است [۲۷]. با این وجود، در حال حاضر ایـن درخت به فضای سبز شهری ایران معرفی نشده است.

نهال‌های جوان بسیار حساس به تنش خشکی هستند و از عوامل اصلی صـدمه بـه نهـال‌هـا پـس از کشـت، عـدم مقاومت و یا سازگاری به خشکی است [۱۹]. تـنش‌هـای محیطی مانند تنش خشکی موجب تولید گونـه‌هـای فعـال اکسیژن در گیاهان و موجب خسارت به ملکول‌های زیستی نظیر لیپیدها، پروتئین‌هـا و اسـیدهای نوکلئیـک مـی‌شـوند [۲۳]. در بسیاری از موارد، ارتباط نزدیکی بین مقاومت گیاه به تنش‌ها و تولید و تجمع پلی‌آمین‌ها در گیاهـان مشـاهده شده است. بنابراین، علاوه بر دستکاری ژنتیکی گیاهـان بـا ژن‌های کدکننده آنـزیم‌هـای مسیر بیوسـنتز پلـی‌آمـین‌هـا، می‌توان با کاربرد خارجی آنها مانند پوترسین، اسـپرمین و اسپرمیدین مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی را افـزایش داد [۲۱].

کاربرد خارجی پلـی‌آمـین‌هـا باعـث افـزایش ثبـات و یکپارچگی غشای سلولی در گیاهان تحت تنش می‌شـود و پلی‌آمین‌های درونی نیز در حفظ این یکپارچگی مشـارکت دارند. پلی‌آمین‌ها پس از کاربرد خارجی مـی‌تواننـد سـریعاً وارد کلروپلاست‌ها شده و یک نقـش حفـاظتی از دسـتگاه فتوسنتزی در برابر اثرات مضر تنش‌های محیطی بازی کنند [۵]. میـزان فتوسـنتز خـالص، هـدایت روزنـه‌ای، تعـرق و مقاومت به خشکی دو رقم گوجه‌فرنگی با به کار بردن ۰/۱ میلی‌مول اسپرمیدین خارجی افزایش یافت [۳۱]. همچنین، اثرات تعدیل‌دهنده اسپرمیدین بر فتوسنتز در ارقام حسـاس به خشکی نسبت به ارقام مقاوم به خشکی بیشتر اسـت. در نهال‌های یک و نیم سـاله کـاج (*Pinus banksana*) تحـت تنش خشکی، فتوسنتز و کارایی مصرف آب با کاربرد اسید آبسیزیک، اسپرمیدین و اسپرمین بـا غلظـت ۱۰ میکروگـرم در لیتر افزایش می‌یابد. حفظ یکپارچگی غشاء توسـط ایـن ترکیبات بـا بازدارنـدگی اتـیلن، کـاهش سـرعت تعـرق و افزایش سـرعت فتوسـنتز و افـزایش کـارایی مصـرف آب تحت تـنش خشـکی همـراه اسـت [۲۵]. بنـابراین، نقـش پلـی‌آمـین‌هـا در تـنش‌هـای محیطـی شـامل خنثـی‌سـازی گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش نفوذپذیری غشاء نسبت به ضداکسـایش‌هـا، حفاظـت غشـاء در مقابـل آسـیب اکسیدکنندگی، تغییر وضعیت اکسیداسیون و احیاء سلول‌ها و تنظیم بیان ژن می‌باشد [۱].

اسید سالیسیلیک نقش کلیدی در بهبود مقاومت گیاهان به تنش خشکی بازی می‌کنـد. اسـید سالیسـیلیک بـه طـور بالقوه رنج وسیعی از پاسـخ‌هـای متـابولیکی در گیاهـان را ایجاد می‌کند و بر شاخص‌هایی مانند فتوسنتز و روابط آبی گیاه مؤثر است. در محلول‌پاشی برگـی خـردل (*Brassica Juncea*) بـا غلظـت‌هـای پـایین اسـید سالیسـیلیک (10^{-5} مولار)، محتوای کلروفیل به‌طور معنی‌داری افـزایش یافـت، درحالی‌که غلظت‌هـای بـالاتر بازدارنـده بودنـد. همچنـین، کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک سرعت فتوسـنتز خـالص، غلظت دی‌اکسید کربن درونی، کارایی مصرف آب، هدایت روزنه‌ای و سرعت تعرق در این گیـاه را افـزایش داد [۱۰]. استفاده از اسید سالیسیلیک روی گوجه‌فرنگی تحـت تـنش خشکی، فعالیت آنـزیم‌هـای ضداکسایشـی ماننـد کاتـالاز، پراکسـیداز و سوپراکسـید دیسـموتاز و همچنـین محتـوای پرولین را افزایش داد [۱۵]. تجمع اسـید آبسـیزیک بعـد از تیمار با اسید سالیسیلیک گزارش شده است و از آنجایی‌که اسـید آبسـیزیک سـنتز رنـج وسـیعی از پـروتئین‌هـای

www.SID.ir

Archive of SID

ضداکسایشی را تحریک می‌کند، بنابراین موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شود [۲۶]. فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی به طور مستقیم یا غیرمستقیم توسط اسید سالیسیلیک تنظیم و موجب حفاظت گیاه از تنش‌های محیطی می‌شود [۲۶]. همانطورکه ذکر شد درخت توت آمریکایی پتانسیل بالایی برای کاربرد در فضای سبز شهری از جمله کمربند سبز شهری دارد، اما از آنجایی‌که نهال‌های جوان پیش از سازگاری، حساس به تنش خشکی هستند، هدف از انجام پژوهش حاضر، شناخت اثرات کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین بر کاهش صدمات ناشی از تنش خشکی در نهال‌های یکساله توت آمریکایی می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

در پژوهش حاضر، کاربرد اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین در کاهش صدمات تنش‌های اکسیدکننده ناشی از تنش خشکی، مورد مطالعه قرار گرفت. بدین‌منظور نهال‌های بذری یکساله، اواسط فروردین ماه ۱۳۹۲ پس از رفع خطر یخبندان در گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر، حاوی چهار قسمت خاک رس، دو قسمت ماسه شسته شده و یک قسمت خاکبرگ دارای اسیدیته ۷/۴ و هدایت الکتریکی ۱/۳۶ دسی‌زیمنس بر متر کشت و در محوطهٔ فضای باز گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران قرار داده شدند (شکل ۱). در شهریور ماه ۱۳۹۲، نهال‌های یک‌ساله با رشد یکنواخت انتخاب و برای آزمایش به‌کار برده شدند.

شکل ۱. نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی پس از انتقال به گلدان

۲. ۱. مواد شیمیایی و انجام تیمارها

پیش از اعمال تنش خشکی، به مدت سه روز متوالی و در هر روز در دو نوبت ۸ الی ۱۰ صبح و ۱۶ الی ۱۸ بعد از ظهر نهال‌ها با صفر، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار اسپرمیدین و یا اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی برگی شدند (جدول ۱). پس از آن، تنش خشکی به صورت عدم آبیاری تا زمانی‌که ۸۰ درصد گیاهان تحت تنش در سپیده دم علائم پژمردگی (لوله‌ای شدن برگ‌ها) را نشان دادند، اعمال و طی روزهای اول، چهارم و نهم از شروع تنش خشکی نمونه‌برداری انجام شد. سپس با مشاهده علائم

www.SID.ir

Archive of SID

پژمردگی در ۸۰ درصد نهال‌ها، با آبیاری کلیه گلدان‌ها، عملیات بازیابی انجام و ۲۴ ساعت پس از بازیابی، مجدداً نمونه‌برداری صورت پذیرفت. علاوه بر گیاهان تیمار شده با ترکیبات ذکر شده، گروهی از نهال‌ها به عنوان شاهد، بدون محلول‌پاشی برگی، یک روز در میان آبیاری کامل شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول تیمارهای اسید سالیسیلیک و یا اسپرمیدین و فاکتور دوم زمان نمونه‌برداری (روزهای اول، چهارم، نهم و دهم) در نظر گرفته شد. از آنجایی‌که شاخص‌های کلروفیل فلورسانس و محتوای کلروفیل کل تنها در زمان حداکثر تنش اندازه‌گیری شدند، برای تجزیه این صفات فاکتور زمان در نظر گرفته نشد.

جدول ۱. محلول‌پاشی برگی نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و یا اسید سالیسیلیک

	تیمارهای آزمایشی
تیمار اول	شاهد (آبیاری کامل)
تیمار دوم	نهال‌های تحت تنش بدون محلول‌پاشی برگی تنظیم‌کننده‌های رشد
تیمار سوم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین
تیمار چهارم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۵۰۰ میکرومولار اسپرمیدین
تیمار پنجم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۱۰۰۰ میکرومولار اسپرمیدین
تیمار ششم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید
تیمار هفتم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۵۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید
تیمار هشتم	نهال‌های تحت تنش همراه با محلول‌پاشی برگی ۱۰۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید

۲. ۲. ارزیابی صفات

برای ارزیابی پایداری غشای سلولی، میزان نشت یونی در طی دوره اعمال تنش خشکی بر گیاهان، مورد آزمون قرار گرفت. در این روش از هر تیمار، شش برگ جدا شد و سپس ۰/۵ گرم برگ از نمونه‌های جدا شده به صورت قطعات یک سانتی‌مترمربع به لوله آزمایش حاوی ۱۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر منتقل و بلافاصله در دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و سپس هدایت الکتریکی بخش مایع (EC_1) اندازه‌گیری شد. لوله‌های آزمایش حاوی برگ و آب مقطر به حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شدند. سپس، لوله‌ها سریعاً با قرار دادن در بین قطعات یخ سرد شدند و پس از خنک شدن هدایت الکتریکی کل آن (EC_T) اندازه‌گیری گردید. پس از آن، درصد نشت یونی از طریق فرمول (۱) محاسبه شد [۱۷]:

$$\text{درصد نشت یونی} = EC_1/EC_T \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری میزان پرولین، پس از توزین ۰/۲ گرم نمونه تر گیاهی، ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد اضافه و سانتریفیوژ شدند. سپس ۲ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک به ۲ میلی‌لیتر از روشناور حاصل افزوده و به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. به منظور توقف واکنش، نمونه‌ها در بستر یخ قرار داده شدند

www.SID.ir

Archive of SID

و پس از خنک شدن ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه نموده و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شدند و پرولین محلول در فاز روئی در کرویت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و میزان جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. درنهایت، غلظت پرولین هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین خالص محاسبه شد [۸].

جهت سنجش غلظت پروتئین پنج میکرولیتر از محلول پروتئین استخراج شده را با ۴۹۵ میکرولیتر آب در فالکون‌های ۱/۵ میلی‌لیتری مخلوط و به خوبی ورتکس شدند. سپس در چهار تکرار، ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول آماده شده با یک میلی‌لیتر محلول بردفورد مخلوط و به خوبی ورتکس شدند. بعد از پنج دقیقه میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر قرائت گردید. غلظت پروتئین کل نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد [۹]. محتوای کلروفیل برگ‌ها از طریق عصاره‌گیری با استون ۸۰ درصد در سه تکرار صورت گرفت. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری و ثبت شد و کلروفیل کل براساس فرمول زیر محاسبه گردید [۶]:

$$\text{Chlorophyll a + b} = 8.02(A_{663}) + 20.21(A_{645}) \quad (۲$$

شاخص کلروفیل فلورسانس با استفاده از دستگاه کلروفیل فلورسنسی[1] اندازه‌گیری شد. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز براساس میزان احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم[2] در حضور ریبوفلاوین و توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از این واکنش سنجیده شد. بدین منظور ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و یا ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی استخراج شده را با مخلوط واکنش به حجم سه میلی‌لیتر رسانده شد. مخلوط واکنش شامل بافرفسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH = ۷/۸)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار بود. سپس نمونه‌ها برای انجام واکنش به مدت ۳۰ دقیقه زیر نور فلورسنت با شدت ۳۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه قرار داده شدند. با قطع نور واکنش متوقف و بلافاصله میزان جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت گردید. همچنین از یک مخلوط فاقد آنزیم نیز توسط فویل آلومینیوم پوشانده و به عنوان بلانک استفاده شد. مقداری از عصاره که بتواند احیای نیتروبلوتترازولیوم را ۵۰ درصد بازداری کند، معادل یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز درنظر گرفته می‌شود. فعالیت آنزیم بر اساس واحد در میلی‌گرم پروتئین بیان شد [۱۳].

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش اسپکتروفتومتری در دمای آزمایشگاه (۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری گردید. مخلوط واکنش شامل بافرفسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ و پراکسید هیدروژن بود. نسبت این دو واکنش به گونه‌ای انتخاب شد که میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر بین ۲/۴ تا ۲/۶ باشد. این نسبت جذب در نسبت ۱:۱۸ حاصل شد یعنی پنج میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد در ۹۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار و از این محلول به عنوان بلانک استفاده گردید. سپس، ۷۸۰ میکرولیتر از مخلوط واکنش تهیه شده با ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی استخراج شده مخلوط و بلافاصله ورتکس شد و مدت زمان کاهش جذب از ۰/۴۵۰ تا ۰/۴۰۰ ثبت گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از فرمول (۲) محاسبه شد:

$$\text{۲) nkat.ml}^{-1} = (\text{۱۱۵۰nmol/مدت زمان})/(\text{حجم نمونه})$$

فعالیت ویژه آنزیم براساس نانوکات بر میلی‌گرم پروتئین با تقسیم عدد حاصل از فرمول فوق بر غلظت

1 Plant Efficiency Analyzer
2 Nitro Blue Tetrazolium (NBT)

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین در نمونه که به روش بردفورد محاسبه گردید، حاصل شد [۲۴]. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱/۳) و مقایسه میانگین‌ها برای تجزیه همبستگی از روش پیرسون و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹/۰) انجام گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۳. ۱. نشت یونی

نتایج نشان داد که مدت زمان تنش خشکی، محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک و همچنین برهمکنش آنها در میزان نشت یون‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار بود. با اعمال تنش خشکی، میزان نشت یون‌ها در گیاهان تحت تنش خشکی نسبت به گیاهان شاهد در روز نهم، افزایش ۵۶ درصدی را نشان داد. تیمار نهال‌ها با اسپرمیدین و یا اسید سالیسیلیک باعث کاهش میزان نشت یون‌ها نسبت به گیاهان تحت تنش بدون محلول برگی شد. حداکثر کاهش در این شاخص با تیمار ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین و ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک به ترتیب با ۲۳/۲۷ و ۱۶/۸۶ درصد کاهش در روز نهم حاصل شد (جدول ۲). تیمار نهال‌ها با ترکیبات ذکر شده باعث افزایش پایداری غشاء و کاهش نشت یون‌ها می‌گردد. به نظر می‌رسد که غلظت‌های بالاتر این مواد اثر قابل توجهی در پایداری غشاء ندارند. پس از آبیاری مجدد نیز بیشترین سطح بازیابی نسبت به گیاهان شاهد با تیمار ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین و ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک حاصل شد، درحالی‌که میزان نشت یون‌ها در گیاهان تحت تنش بدون محلول‌پاشی برگی پس از آبیاری مجدد ۱۷/۳۷ درصد بیشتر از گیاهان شاهد بود. پلی‌آمین‌ها در محافظت از غشای سلولی و کاهش تنش‌های اکسایشی نقش دارند و کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها باعث افزایش ثبات و یکپارچگی غشای سلولی در گیاهان تحت تنش می‌شود [۱۴]. تنش خشکی ممکن است باعث افزایش تدریجی تولید اتیلن و متعاقب آن کاهش پایداری غشاء و افزایش سیالیت غشاءها شود [۱۹].

جدول ۲. برهمکنش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین و مدت زمان تنش خشکی بر درصد نشت یون‌ها در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی

تیمار	زمان نمونه‌برداری			
	روز اول	روز چهارم	روز نهم	روز دهم-بازیابی
شاهد (آبیاری کامل)	۷/۶۱^{ij}	۷/۷۶^{ij}	۷/۷۳^{ij}	۷/۸۶^{ij}
نهال‌های تحت تنش بدون محلول‌پاشی برگی	۷/۹۰^{hij}	۸/۹۳^{defghi}	۱۲/۱۰^{a}	۹/۲۳^{cdefg}
۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۷/۶۳^{ij}	۸/۱۸^{ghij}	۹/۲۸^{cdefg}	۸/۵۳^{efghij}
۵۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۷/۷۰^{ij}	۸/۵۰^{efghij}	۱۰/۸۳^{abc}	۹/۷۰^{cdef}
۱۰۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۷/۸۶^{ij}	۸/۶۶^{defghij}	۱۱/۲۳^{ab}	۱۰/۱۰^{bcd}
۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۷/۳۰^{j}	۸/۰۶^{ghij}	۱۰/۰۶^{bcd}	۸/۹۰^{defghi}
۵۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۷/۷۶^{ij}	۸/۵۰^{efghij}	۱۱/۲۰^{ab}	۹/۹۳^{bcde}
۱۰۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۷/۹۰^{hij}	۸/۰۳^{ghij}	۱۱/۳۳^{ab}	۹/۴۰^{cdefgh}

* میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن نشان ندادند.

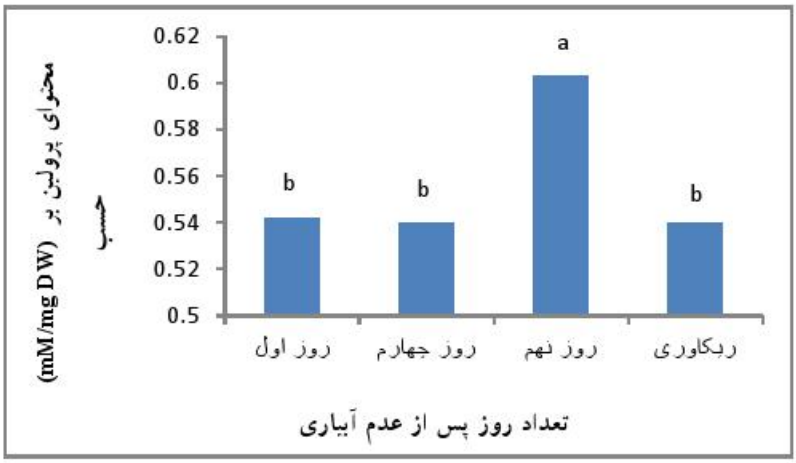
www.SID.ir

Archive of SID

پلی‌آمین‌ها از جمله اسپرمیدین بازدارنده تولید اتیلن هستند. کاربرد پلی‌آمین اسپرمین، نهال‌های کاج را در برابر تنش‌های اکسیدکننده محافظت می‌کند و پیری را در برگ‌های نهال‌های تحت تنش خشکی به تأخیر می‌اندازد. این احتمال داده شده است که ترکیبات ضداکسایشی و عوامل ضداتیلن می‌توانند موجب حفظ غشاء و عملکرد فیزیولوژیکی آنها تحت تنش خشکی شوند [۱۹]. تیمار اسید سالیسیلیک با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدان، موجب کاهش رادیکال‌های آزاد و حفاظت غشاءها در برابر پراکسیداسیون لیپید می‌شود [۱۶].

۳. ۲. پرولین

مقدار پرولین در طی مدت زمان تنش خشکی اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان داد. در روز نهم پس از شروع تنش خشکی، محتوای پرولین به طور چشم‌گیری افزایش یافت (شکل ۲). به دنبال تنش‌های غیرزنده پرولین در سلول‌های گیاهی تجمع می‌یابد که این تجمع پرولین ممکن است از طریق افزایش سنتز یا کاهش تجزیه آن باشد [۷].



شکل ۲. اثر مدت زمان تنش خشکی بر محتوای پرولین نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی

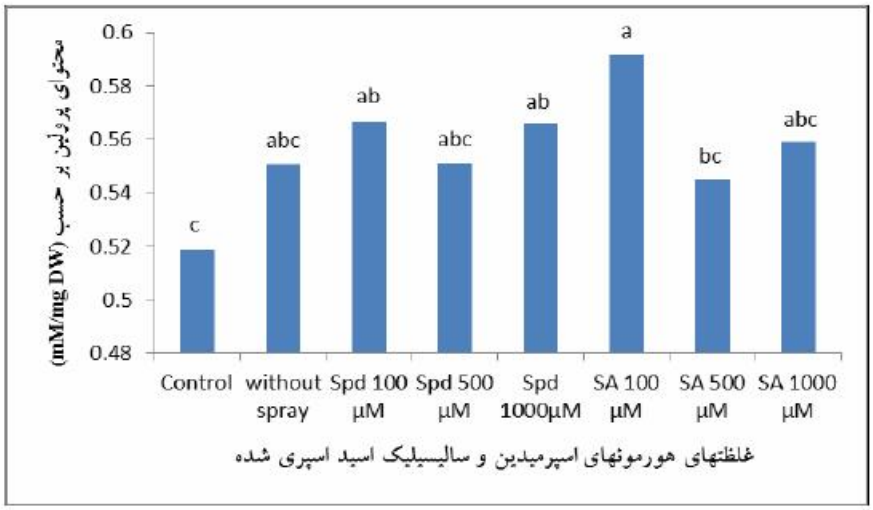
حروف مشترک در ستون‌ها، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد آزمون دانکن است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار گیاهان تحت تنش خشکی با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک باعث افزایش تجمع پرولین شد، هرچند که این افزایش محتوای پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی تیمار شده نسبت به گیاهان تیمار نشده معنی‌دار نبود (شکل ۳).

در گوجه‌فرنگی نیز تنش خشکی و تیمار گیاهان با اسید سالیسیلیک باعث افزایش محتوای پرولین می‌گردد. اسید سالیسیلیک می‌تواند به عنوان یک عامل سیگنال‌دهنده موجب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت به تنش‌ها از جمله آنزیم‌های متابولیسم پرولین و متعاقب آن تجمع پرولین شود. با این حال، کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک همیشه باعث ایجاد مقاومت به تنش نمی‌شود و میزان مقاومت حاصل شده نه تنها به غلظت و روش کار برد، بلکه به وضعیت گیاه از جمله مرحله نموی آن نیز بستگی دارد [۱۵].

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین بر محتوای پرولین در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی تحت تنش خشکی*

حروف مشترک در ستون‌ها، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

نتایج حاضر مطابق با نتایج دیگر محققین که افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین‌ها در ارقام مقاوم انگور و همچنین تحت تنش‌های شدید را گزارش نمودند [۲]، افزایش میزان پروتئین‌های کل در این بررسی می‌تواند با مکانیزم تحمل در تنش در ارتباط باشد. به وجود آمدن حالت تراکم درون سلولی (پلاسمولیز) ناشی از تنش زنده یا غیرزنده منجر به افزایش بیان برخی ژن‌ها و تجمع موادی همچون اسموتین می‌گردد [۲]. از سوی دیگر، افزایش مقدار پروتئین‌های کل در مرحله بازیابی ممکن است به دلیل تغییر فعالیت برخی آنزیم‌ها در تبدیل اسیدهای آمینه‌هایی نظیر پرولین به پروتئین‌های ساختاری و غیرساختاری باشد.

۳. ۴. محتوای کلروفیل کل برگ

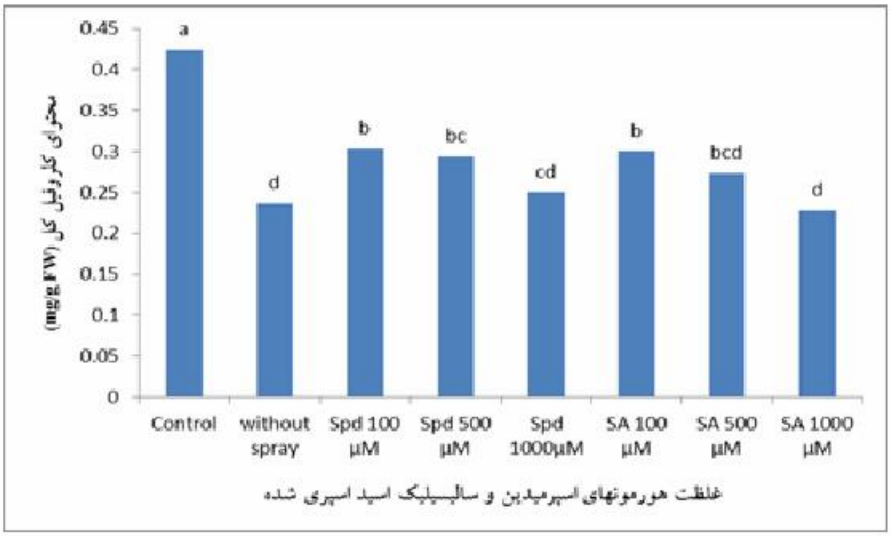
تنش خشکی به طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای کلروفیل کل برگ‌های گیاهان تحت تنش گردید، به گونه‌ای که در روز نهم از شروع آزمایش، محتوای کلروفیل کل از ۰/۴۲۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در گیاهان شاهد به ۰/۲۳۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در گیاهان تحت تنش خشکی که محلول‌پاشی برگی نشده بودند، رسید (شکل ۵). کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌تواند مربوط به فتواکسیداسیون کلروفیل توسط گونه‌های فعال اکسیژن، افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، انتقال مجدد نیتروژن از برگ‌ها و کاهش جذب عناصر غذایی از خاک از جمله نیتروژن می‌باشد [۲۲]. داده‌های حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که پیش‌تیمار نهال‌های تحت تنش کم‌آبی با اسپرمیدین و یا اسید سالیسیلیک موجب افزایش محتوای کلروفیل کل نسبت به گیاهان تحت تنش خشکی بدون تیمار گردید و این اثر در غلظت‌های پایین هر دو گروه از تنظیم‌کننده‌های رشد

* Spd: اسپرمیدین, SA: اسید سالیسیلیک, Without spray: نهال‌های تحت تنش بدون محلول پاشی برگی تنظیم کننده‌های رشد, Control: (آبیاری کامل) شاهد

www.SID.ir

Archive of SID

گیاهی به‌کار برده شده مشهود بود، به گونه‌ای که با محلول‌پاشی برگی گیاهان تحت تنش خشکی با ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین و یا اسید سالیسیلیک باعث افزایش حدود ۲۸ درصد محتوای کلروفیل این گروه از نهال‌ها شد (شکل ۵).



شکل ۵. اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین بر محتوای کلروفیل کل در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی پس از نه روز از عدم آبیاری

حروف مشترک در ستون‌ها، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

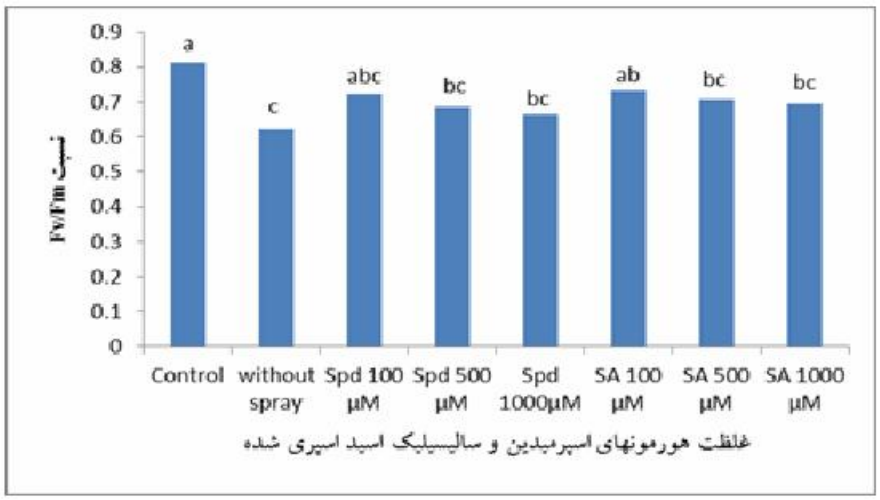
محلول‌پاشی برگی کلزا با غلظت‌های پائین اسید سالیسیلیک موجب افزایش محتوای کلروفیل، فتوسنتز خالص و کارایی کربوکسیلاسیدن می‌شود، اما محلول‌پاشی غلظت‌های بالاتر اسید سالیسیلیک باعث کاهش مقادیر ذکر شده می‌گردد [۱۰]. پلی‌آمین‌ها نیز از بین رفتن کلروفیل را به تأخیر می‌اندازند و یا کاهش می‌دهند و منجر به افزایش کارایی جذب نور و بهبود فتوسنتز خالص می‌شوند. پلی‌آمین‌ها به اندامک‌های کلروپلاست و خصوصاً به بخش‌های فتوسیستم II منتقل می‌شوند که حاوی کمپلکس جذب نور و آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌باشد [۵].

۳. ۵. اندازه‌گیری شاخص‌های کلروفیل فلورسانس

براساس نتایج، اثر غلظت‌های مختلف اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک بر F_v/F_m در سطح پنج درصد معنی‌دار بود و بر سایر پارامترهای کلروفیل فلورسنس اثر معنی‌داری نداشتند. نه روز پس از عدم آبیاری نهال‌ها، کارآیی فلورسانس کلروفیل در نهال‌های تیمار نشده از ۰/۸۱۴ به ۰/۶۲۱ کاهش یافت (شکل ۶). کاهش کارآیی فلورسانس کلروفیل تحت تنش خشکی در راش [۱۲] و صنوبر [۲۹] نیز گزارش شده است. تنش خشکی بر فتوسیستم II اثرات منفی می‌گذارد. پیش‌تیمار نهال‌ها با اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک اثرات منفی تنش خشکی بر کارایی فتوسیستم II را تعدیل نمود. تیمار گیاهان با ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین موجب افزایش نسبت F_v/F_m در گیاهان تحت تنش کم آبی می‌شود که مطابق با نتایج حاضر می‌باشد [۱۸].

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷. اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین بر نسبت Fv/F_M در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی پس از نه روز از عدم آبیاری

حروف مشترک در ستون‌ها، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن است.

هرچند که بالاترین نسبت F_v/F_m در گیاهان تحت تنش تیمار شده با غلظت‌های پایین ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک به ترتیب با ۰/۷۲ و ۰/۷۳ حاصل شد، اما اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف تیمارهای اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک مشاهده نشد. غلظت‌های بالای اسپرمیدین و اسپرمین اثر معکوسی بر کارآیی فتوشیمیایی فتوسیستم II دارند و موجب کاهش نسبت F_v/F_m می‌شوند که مغایر با نتایج حاصل در این مطالعه است [۱۸]. همچنین، نتایج حاکی از همبستگی مثبت و معنی‌دار بین محتوای کلروفیل و کارآیی فتوسیستم II دارد. باتوجه به اینکه محتوای کلروفیل و کارآیی فتوسیستم II همبستگی مثبت بسیار بالایی با فعالیت آنزیم‌های ضداکسایشی و همچنین همبستگی منفی و معنی‌دار با نشت یون‌ها داشتند، حاکی از نقش بسیار حیاتی این آنزیم‌ها در حفظ یکپارچگی غشاهای زیستی و ملکول‌های حیاتی کلروفیل دارد.

۳. ۶. فعالیت آنزیم کاتالاز

اثر تیمار اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین و مدت زمان تنش خشکی در سطح یک درصد معنی‌دار است. پس از محلول‌پاشی برگی نهال‌ها با اسپرمیدین و اسید سالیسیلیک و شروع تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تیمار شده و نیز گیاهان تیمار نشده تحت تنش خشکی روند نزولی را نشان داد، به گونه‌ای که بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز در روز اول پس از تیمار و کمترین فعالیت آنزیم در روز نهم و قبل از آبیاری مجدد نهال‌ها مشاهده شد (جدول ۳). با این وجود، تیمار نهال‌ها با غلظت پایین اسید سالیسیلیک باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاهان تیمار نشده گردید. در روز نهم که گیاهان تحت تنش شدید خشکی قرار داشتند، در بین نهال‌های تحت تنش بالاترین فعالیت آنزیم کاتالاز با میزان ۴/۵۱ و ۴/۲۹ نانوکاتال بر میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در تیمار ۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید و ۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین حاصل شد.

کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز ممکن است به

www.SID.ir

Archive of SID

غیرفعال‌سازی نوری آن و بازدارندگی سنتز مجدد آنزیم در تاریکی مربوط باشد که باعث تجمع پراکسید هیدروژن و خسارت به غشای سلولی می‌شود [۳]. کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک بر روی گوجه‌فرنگی تحت تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد [۱۵]. از سوی دیگر، تیمار اسید سالیسیلیک منجر به کاهش موقتی فعالیت کاتالاز و افزایش سطح پراکسید هیدروژن می‌شود که نقش کلیدی را در ایجاد مقاومت اکتسابی سیستمیک بازی می‌کند [۲۰]. در نتایج حاضر، با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان تحت تنش خشکی که با ۱۰۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک تیمار شده بودند، در روز نهم حاصل شد، هر چند که اختلاف معنی‌داری با گیاهان تیمار نشده نداشتند. به نظر می‌رسد غلظت‌های بالای اسید سالیسیلیک موجب افزایش تنش اکسیدکننده می‌شود. زمانی‌که غلظت اسید سالیسیلیک درونی از یک حد معینی فراتر رود، به طور مستقیم به آنزیم‌های کاتالاز متصل می‌شوند و از فعالیت آنها جلوگیری می‌کنند. این بازدارندگی فعالیت کاتالاز ممکن است باعث افزایش سطح پراکسیدهیدروژن پس از تیمار اسید سالیسیلیک شود که این حالت خود عاملی برای به راه انداختن فرآیند مقاومت اکتسابی سیستمیک می‌باشد [۱۶].

جدول ۳. برهمکنش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین و مدت زمان عدم آبیاری بر فعالیت آنزیم کاتالاز در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی تحت تنش خشکی

تیمار	زمان نمونه‌برداری			
	روز اول	روز چهارم	روز نهم	روز دهم
شاهد (آبیاری کامل)	۵/۴۱^{abcde}	۵/۶۸^{abc}	۵/۳۴^{abcdef}	۵/۹۱^{a}
نهال‌های تحت تنش بدون محلول‌پاشی برگی	۵/۶۱^{abc}	۴/۶۸^{defg}	۳/۶۲^{jk}	۵/۰۵^{abcdefg}
۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۵/۷۳^{ab}	۴/۹۹^{bcdefg}	۴/۲۹^{ghij}	۵/۴۱^{abcde}
۵۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۵/۹۳^{a}	۴/۹۱^{bcdefg}	۳/۸۴^{hijk}	۵/۱۸^{abcdef}
۱۰۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۵/۶۵^{abc}	۴/۸۰^{cdefg}	۳/۵۵^{jk}	۵/۴۷^{abcd}
۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۵/۶۵^{abc}	۴/۹۹^{bcdefg}	۴/۵۱^{fghi}	۵/۲۷^{abcdef}
۵۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۵/۷۹^{ab}	۴/۷۳^{defg}	۳/۷۶^{ijk}	۵/۴۱^{abcde}
۱۰۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۵/۴۲^{abcde}	۴/۵۷^{efgh}	۳/۴۲^{k}	۴/۹۵^{bcdefg}

* میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن نشان ندادند.

۳. ۷. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

اثر تیمار اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین، مدت زمان تنش خشکی و برهمکنش آنها در سطح یک درصد معنی‌دار است. یک روز پس از محلول‌پاشی برگی نهال‌ها، اختلاف قابل توجهی بین گیاهان تحت تنش و شاهد در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده نشد، اما این

www.SID.ir

Archive of SID

اختلاف در روز چهارم و نهم بسیار مشهود و قابل توجه بود، به گونه‌ای که نهال‌های تحت تنش خشکی تیمار نشده نسبت به گیاهان شاهد افزایش ۸۰ درصدی در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را در روز نهم نشان دادند. تنش خشکی باعث افزایش رادیکال‌های سوپراکسید و فعال شدن مسیرهای انتقال پیام در سلول می‌شود که در نهایت بیان ژن‌های کدکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهند [۴]. محلول‌پاشی غلظت‌های پایین اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب به میزان ۱۵ و ۱۹ درصد نسبت به گیاهان تیمار نشده تحت تنش خشکی گردید. درصورتی‌که غلظت‌های بالای به‌کار برده شده (۱۰۰۰ میکرومولار) اختلاف معنی‌داری با نهال‌های تیمار نشده نشان ندادند (جدول ۴). پلی‌آمین‌ها می‌توانند با تحریک فعالیت انواع سیستم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها باعث افزایش مقاومت به تنش در گیاهان شوند [۳۰]. همچنین، حداکثر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برنج با به‌کار بردن یک میلی‌مولار سالیسیلیک اسید پس از ۱۲ روز از تنش خشکی حاصل گردید [۱۱].

جدول ۴. برهمکنش غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین و مدت زمان عدم آبیاری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نهال‌های یک‌ساله توت آمریکایی تحت تنش خشکی

تیمار	زمان نمونه‌برداری			
	روز اول	روز چهارم	روز نهم	روز دهم
شاهد (آبیاری کامل)	۲/۱۱^{o}	۲/۲۶^{lmno}	۲/۱۴^{o}	۲/۱۶^{no}
نهال‌های تحت تنش بدون محلول‌پاشی برگی	۲/۲۵^{lmno}	۲/۹۵^{fghij}	۳/۸۶^{cd}	۲/۶۶^{ijklmno}
۱۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۲/۲۶^{lmno}	۳/۳۶^{defg}	۴/۶۱^{a}	۲/۵۳^{ijklmno}
۵۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۲/۳۰^{klmno}	۳/۳۰^{defgh}	۴/۰۳^{bc}	۲/۷۶^{ghijklmno}
۱۰۰۰ میکرومولار اسپرمیدین	۲/۲۶^{lmno}	۳/۱۳^{efghi}	۳/۶۳^{cde}	۲/۷۰^{hijklmno}
۱۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۲/۲۶^{lmno}	۳/۵۴^{cdef}	۴/۴۵^{ab}	۲/۶۲^{ijklmno}
۵۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۲/۴۳^{jklmno}	۲/۹۳^{fghijk}	۳/۷۷^{cd}	۲/۸۱^{ghijklmn}
۱۰۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید	۲/۲^{mno}	۲/۸۶^{ghijkl}	۳/۶۶^{cde}	۲/۸۳^{ghijklm}

* میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۱ درصد آزمون دانکن نشان ندادند.

۴. نتیجه‌گیری کلی

تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل از بین رفتن نهال‌های تازه کشت شده، خصوصاً نهال‌هایی با ریشه‌های آسیب‌دیده می‌باشند که این حالت در کمربندهای سبز شهری به خوبی قابل رویت است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که پیش‌تیمار نهال‌ها با اسید سالیسیلیک و اسپرمیدین روشی بسیار کارآمد برای کاهش تنش‌های غیرزنده از جمله خشکی است که این امر بستگی زیادی به غلظت و نحوه کاربرد، مرحله رشد و شرایط فیزیولوژیکی گیاه دارد. براساس نتایج ارائه شده، به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی

www.SID.ir

Archive of SID

نهال‌ها پیش از جابه‌جایی با غلظت ۱۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک و یا اسپرمیدین، می‌تواند مقاومت گیاه به تنش‌های اکسیدکنندگی را افزایش و باعث کاهش تأثیرهای مخرب ناشی از ریشه‌های آسیب‌دیده نهال‌ها به دلیل جابه‌جایی، انتقال و تنش خشکی احتمالی شود.

منابع

۱. عیسوند ح و عشوری پ (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش (ترجمه). انتشارات دانشگاه لرستان. لرستان. ۲۸۸ ص.

۲. حدادی‌نژاد م (۱۳۹۲) گزینش ژنوتیپ‌های انگور متحمل به خشکی با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک، روابط ژنتیکی و شاخص‌های فیزیولوژیک. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. کرج. رساله دکتری.

۳. جباری ف (۱۳۸۴) بررسی مکانیزم‌های فیزیولوژیکی تحمل خشکی در ارقام مقاوم و حساس گندم نان. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. کرج. رساله دکتری.

۴. توکلی ا (۱۳۸۷) واکنش برخی اجرای سیستم آنتی‌اکسیدانتی به تنش خشکی در ارقام حساس و مقاوم گندم. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران. کرج. رساله دکتری.

5. Adam S and Murthy S (2013) Role of Polyamines and Their Effect on Photosynthesis in Plants. Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 4: 596-605.

6. Arnon D (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgari*. Plant Physiology. 24: 1-15.

7. Ashraf M and Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206-216.

8. Bates LS, Waldren RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39: 205-207.

9. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 72: 248-54.

10. Fariduddin Q, Hayat S and Ahmad A (2003) Salicylic acid influences net photosynthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity, and seed yield in *Brassica juncea*. Photosynthetica. 41: 281-284.

11. Farooq M, Wahid A, Lee DJ, Cheema SA and Aziz T (2010) Comparative Time Course Action of the Foliar Applied Glycinebetaine, Salicylic Acid, Nitrous Oxide, Brassinosteroids and Spermine in Improving Drought Resistance of Rice. Agronomy and Crop Science. 196: 336-345.

12. Galle A and Feller U (2007) Changes of photosynthetic traits in beech saplings (*Fagus sylvatica*) under severe drought stress and during recovery. Physiologia Plantarum. 131: 412-421.

13. Giannopolitis CN and Reis SK (1977) Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology. 59: 309-314.

14. Gill SS and Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48: 909-930.

15. Hayat S, Hasan SA, Fariduddin Q and Ahmad A (2008) Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. Plant Interactions. 3(4): 297-304.

16. Horvath E, Szalai G and Janda T (2007) Induction of Abiotic Stress Tolerance by Salicylic Acid Signaling. Journal of Plant Growth Regulation. 26: 290-300.

www.SID.ir

Archive of SID

17. Hu L, Wang Z, Du H and Huang B (2010) Differential accumulation of dehydrins in response to water stress for hybrid and common Bermuda grass genotypes differing in drought tolerance. Plant Physiology. 167: 103-109.

18. Ioannidis NE and Kotzabasis K (2007) Effects of polyamines on the functionality of photosynthetic membrane in *vivo* and *in vitro*. Biochimica et Biophysica Acta. 1767: 1372-1382.

19. Islam MA, Blake TJ, Ferit Kocacinar F and Rajasekaran L (2003) Ambiol, spermine, and aminoethoxyvinylglycine prevent water stress and protect membranes in *Pinus strobus* L. under drought. Trees. 17: 278-284.

20. Janda T, Szalai G, Rios-Gonzalez K, Veisz O and Paldi E (2003) Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. Plant Science. 164: 301-306.

21. Koyro H, Ahmad P and Geissler N (2012) Abiotic Stress Responses in Plants: An Overview. Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change. Pp. 1-28.

22. Kranner I, Beckett RP, Wornik S, Zorn M and Pfeifhofer HW (2002) Revival of a resurrection plant correlates with its antioxidant status. The Plant Journal. 31: 13-24.

23. Krasensky J and Jonak C (2012) Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. Experimental Botany. 63: 1593-1608.

24. Racchi ML, Bagnoli F, Balla I and Danti S (2001) Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and *in vitro* micropropagated oak (*Quercus robur* L.). Plant Cell Reports. 20: 169-174.

25. Rajasekaran LR and Blake TJ (1999) New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of Jack pine seedlings. Plant Growth Regulation. 18: 175-181.

26. Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA and Fatkhutdinova DR (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Science. 164: 317-322.

27. Ullah F, Bano A and Nosheen A (2012) Effects of plant growth regulators on growth and oil quality of canola (*Brassica napus* L.) under drought stress. Botany. 44: 1873-1880.

28. USDA Forest Service (2012) Silvics of Trees of North America. "Maclura pomifera". From: http://www.na.fs.fed.us/pubs/silvics_manual/volume_2/maclura/pomifera.htm.

29. Yin C, Peng Y, Zang R, Zhua Y and Li C (2005) Adaptive responses of *Populus kangdingensis* to drought stress. Physiologia Plantarum. 123: 445-451.

30. Yiu JC, Juang LD, Fang DYT, Liu CW and Wu SJ (2009) Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. Scientia Horticulturae. 120: 306-314.

31. Zhang CM, Zou ZR, Huang Z and Zhang ZX (2010) Effects of exogenous spermidine on photosynthesis of tomato seedlings under drought stress. Agricultural Research in the Arid Areas. 3: 182-187.

www.SID.ir