# The Effect of Foliar Application of Putrescine on The Morphological and Physiological Characteristics of Lime Seedlings (*Citrus aurantifolia*) Under Drought Stress

Esmaeil Khaleghi[1], Masumeh Zamani Dehbari[2], Noorollah Moallemi[3]

## Introduction

Citrus fruits are one of the most commercial fruit products in the world, whose growth and production are affected by abiotic stresses. Drought stress is one of the most important abiotic stresses that affects all the vital processes of the plant. One of the ways to moderate the negative effects of drought stress is the use of polyamines. Polyamines are a group of biochemical compounds that are used as one of the most effective compounds to resist environmental stresses. Polyamines have a wide role in various plant growth processes, such that they play a significant role in modulating various types of biotic and abiotic stresses. Studies have shown that the use of putrescine increases the fresh and dry weight of the shoot and root parts, leaf relative water content, photosynthetic pigments, leaf surface, and photosynthesis in plants under drought stress.

## Materials and Methods

This study was conducted to investigate the effect of different levels of putrescine (0, 0.5, 1 and 2 mM) and different levels of irrigation (100, 75 and 50% of evotranspiration potential) on morpho-physical traits of lime seedlings as a factorial experiment based on randomized complete block design with 3 replications.

Two-year-old lime seedlings were obtained from a commercial nursery located in Dezful city (approved by the Khuzestan Agricultural Jihad Organization). Then, they were placed in 15-kilogram pots and kept for 2 months in the greenhouse to adapting to the environmental conditions. In order to apply the irrigation regime, 4 pots were considered as reference plants and the amount of irrigation water was determined by weighing these pots. First, the weight of reference pots was calculated in field capacity mode. Then, after 7 days, the pots were weighed again and the difference between the primary and secondary weights was considered as the amount of irrigation water of 100% plant evaporation and transpiration, and according to that, 75% irrigation and 50% evaporation and transpiration potential were applied. the first foliar spraying with putrescine was done on the first of March in Field capacity (foliar spraying was done once every month for 4 months from March to June). At the end of the experiment, the fresh and dry weight of root and shoot, number of leaves, relative water content, leaf water potential, photosynthesis, transpiration, stomatal conductance, were measured. Statistical data analysis was done using MSTATC software and, Duncan's multi-range test was used to mean comparation at the 5% probability level.

## Results and Discussion

Results showed that the rate of photosynthesis, stomatal conductance, relative water content of leaves, fresh and dry weight of aerial part and root decreased were decreased by by reducing the amount of irrigation from 100 to 75 and 50%, ETcrop. The reduction of growth parameters under drought stress can be due to the closing of the stomata and the reduction of carbon dioxide emission into the leaves, which can lead to lower levels of chlorophyll and photosynthesis, induction of oxidative stress, and finally less growth in plants. It has also been stated that the decrease in growth caused by drought stress in the initial stages of the stress can be due to the decrease in cell growth and development due to the decrease in turgor

pressure and the decrease in the intensity of photosynthesis due to the closing of stomata. Also, the results showed that foliar spraying with 2 mM putrescine increased photosynthesis, stomatal conductance, relative water content of leaves, wet and dry weight of aerial parts and roots at all irrigation levels. The researchers believed that the increase in growth parameters, relative water content and photosynthetic pigments with putrescine foliar spraying can be related to the antioxidant properties of putrescine and its osmolality role in dry conditions. Other researches have shown that putrescine may modulate certain ion channels and increase the permeability of the membrane to calcium and cause a decrease in the entry of potassium into the membrane, which causes a decrease in the exit of water from the cell. Also, putrescine may increase leaf water potential and leaf content through osmotic regulation of the plant by increasing proline.

**Conclusions**

In general, the results showed that foliar spraying of putrescine, especially at 2 mM concentration has the greatest effect on increasing growth parameters, including fresh and dry weight of shoots and roots, leaf area, increasing the relative water content, leaf water potential and Gas exchanges and reducing the amount of ion leakage under drought stress conditions.

**Keywords:** Growth Indices, Ion leakage, Photosynthesis, Stomatal conductance, Transpiration.

نسخه پیش انتشار

# اثر محلول‌پاشی برگی پوترسین بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های لیموترش (*Citrus aurantifolia*) تحت تنش خشکی

اسمعیل خالقی[۱]، معصومه زمانی دهبری[۲]، نوراله معلمی[۳]
Email: khaleghi@scu.ac.ir

**چکیده**

مرکبات یکی از تجاری‌ترین محصولات میوه در سراسر جهان به شمار می‌روند که رشد و تولید آن تحت تأثیر تنش‌های غیرزنده قرار می‌گیرد. تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده می‌باشد که همه‌ی فرایندهای حیاتی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از روش‌های تعدیل کننده اثرات منفی تنش خشکی، استفاده از پلی آمین‌ها می‌باشد. لذا آزمایشی جهت بررسی اثر سطوح مختلف پوترسین (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار) و سطوح مختلف آبیاری (۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق) بر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های ۲ ساله لیموترش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۸ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که با کاهش میزان آب شاخص‌های رشدی کاهش یافت بگونه‌ای که کمترین مقدار وزن‌تر و خشک‌ریشه و اندام‌های هوایی، تعداد برگ و سطح برگ دانهال‌های لیموترش در آبیاری ۵۰ درصد تبخیر و تعرق گزارش گردید درحالی‌که استفاده از پوترسین به ویژه در غلظت ۲ میلی‌مولار اثر مثبتی بر صفات رشدی دانهال‌های لیموترش در شرایط تنش خشکی داشت. علاوه براین، طی تنش خشکی ۵۰ و ۷۵ درصد تبخیر و تعرق، میزان محتوای نسبی آب برگ، فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای، دی‌اکسید کربن زیر روزنه کاهش یافت درحالی‌که استفاده از پوترسین سبب افزایش این خصوصیات فیزیولوژیک گردید. نشت یونی نیز تحت تأثیر تنش خشکی افزایش و تحت تیمار پوترسین کاهش یافت. بطورکلی نتایج نشان داد که کاربرد برگی پوترسین به خصوص در غلظت ۲ میلی‌مولار در تمام سطوح آبیاری می‌تواند موجب بهبود خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های لیموترش تحت شرایط تنش خشکی گردد.

**واژه‌های کلیدی:** تعرق، شاخص‌های رشدی، فتوسنتز، نشت یونی، هدایت روزنه‌ای.

**مقدمه**

لیموترش (*Citrus aurantifolia*) از جنس *Citrus* می‌باشد. این گیاه، از مناطق گرمسیری منشأ یافته است و گستره کشت آن نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری برخوردار از درجه حرارت بیشتر از ۳- درجه سانتی‌گراد است. درخت لیموترش، بسیار پر رشد، دارای رشد عمودی و شاخه‌های پراکنده و پوشیده از تیغ است (Fotohi Ghazvini and Fatahi Moghadam, 2016). این محصول جزء باارزش‌ترین، اقتصادی‌ترین و مهم‌ترین محصول باغبانی در سراسر جهان به شمار می‌رود و میزان تولید آن در کشورهای مختلف جهان بسیار بالاست که این میزان تولید می‌تواند تحت تأثیر تنش‌های غیرزنده ازجمله خشکی قرار بگیرد (Tripoli *et al.*, 2007).

تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی غیرزنده در تولید محصولات کشاورز در جهان شناخته‌شده است و آثار مخربی بر رشد و نمو گیاهان و فرآیندهای مختلف فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دارد (Yordanov *et al.*, 2000). تنش خشکی زمانی اتفاق می‌افتد که میزان تعرق در گیاه از میزان جذب آب توسط گیاه

نسخه پیش انتشار

فراتر رود (Wu and Zou, 2009). تنش خشکی، اندازه برگ‌ها، وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه، سطح برگ، تعداد برگچه و فشار تورژسانس در بافت‌های مختلف هر اندام را کاهش می‌دهد (Hu *et al*., 2013). همچنین سبب کاهش میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای در گیاه می‌شود و به دنبال آن، ذخیره کربن و ماده خشک نیز در گیاه کاهش پیدا می‌کند (Yordanov *et al*., 2000).

در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی برای افزایش و القای مقاومت به خشکی ارائه گردیده است که یکی از این موارد، کاربرد مواد شیمیایی مختلف ازجمله پلی آمین‌هاست. پلی آمین‌ها گروهی از ترکیبات بیوشیمیایی هستند که به‌عنوان یکی از مؤثرترین ترکیبات جهت مقاومت در برابر تنش‌های محیطی بکار می‌روند (Syed Sarfraz *et al*., 2011). پلی آمین‌ها نقش گسترده‌ای در فرآیندهای مختلف رشدی گیاه دارند به‌طور مثال در جوانه‌زنی بذور؛ فرآیند ریشه‌زایی، جنین‌زایی، پیری و ریزش برگ، انگیزش گل، نمو میوه، رشد و رسیدگی میوه، سنتز DNA، و پاسخ دفاعی در برابر انواع تنش‌های زنده و غیرزنده نقش دارند (Singh Gill and Tuteja, 2010).

بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از پوترسین سبب افزایش وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه، محتوای نسبی آب برگ، رنگیزه های فتوسنتزی، سطح برگ، فتوسنتز در گیاهان تحت تنش خشکی می‌گردد( Toupchi-Khosrowshahi and Slehi-Lisar, 2018 ;Mohamed *et al*., 2018). کامیاب و همکاران (۲۰۱۳) در نتایج حاصل از پژوهش خود بیان کردند که کاربرد پلی‌آمین‌ها مقاوت دانهال‌های پسته را نسبت به شرایط تنش افزایش داد. استفاده از پلی‌آمین‌ها همچنین موجب افزایش محتوای نسبی آب برگ، افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه، کاهش تولید رادیکال آزاد اکسیژن، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش مقاومت دانهال‌های گیلاس به تنش خشکی گردید (یین و همکاران، ۲۰۱۴). شایما (۲۰۱۸) گزارش کرد که کاربرد پوترسین موجب افزایش رشد رویشی، پروتئین و کربوهیدرات محلول برگ نارنج تحت شرایط تنش گردید.

کاربرد پوترسین تحت شرایط تنش خشکی موجب افزایش رشد ریشه، اندام هوایی، وزن خشک گیاه، محتوای نسبی آب، پرولین، کربوهیدرات و کاهش میزان نشت یونی در دو پایه سیترنج و ولکامریانا گردید که موجب افزایش تحمل این پایه‌ها به شرایط تنش شد (Mahdavian et al., 2017). همچنین کاربر پوترسین از طریق افزایش ژن‌های مرتبط با تنش خشکی موجب بهود خصوصیات رشدی، فتوسنتزی، وضعیت آبی گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی در مرکبات تحت تنش خشکی شد (Mahdavian et al., 2021). لذا هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر شاخص های مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های لیمو ترش تحت تنش خشکی است.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و سطوح مختلف آبیاری بر دانهال‌های جوان لیموترش (*Citrus aurantifolia*) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار (هر تکرار با ۲ گیاه) انجام شد. در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۱۳۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. دانهال‌های دوساله لیموترش از نهالستان تجاری واقع در شهر دزفول (مورد تائید سازمان جهاد کشاورزی خوزستان) تهیه شد و پس از انتقال به اهواز به گلدان‌های ۱۵ کیلویی با بستر کشت مخلوط خاکی (یک‌سوم خاک زراعی، یک‌سوم ماسه و یک‌سوم کود حیوانی پوسیده) منتقل و به مدت ۲ ماه در گلخانه به‌منظور سازگاری با شرایط محیطی نگه‌داری شد. پس از استقرار نسبت به شرایط جدید اثر غلظت‌های مختلف پوترسین شامل صفر (شاهد)، ۰/۵ ، ۱ و ۲ میلی‌مولار روی برخی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک دانهال‌های دوساله‌ی لیموترش در سه رژیم مختلف آبیاری ۱۰۰٪، ۷۵٪ و ۵۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه بررسی شد. به‌منظور اعمال رژیم آبیاری، ۴ گلدان به‌عنوان گیاه مرجع در نظر گرفته

شد و با توزین این گلدان‌ها میزان آب آبیاری مشخص شد. ابتدا وزن گلدان‌های مرجع در حالت ظرفیت مزرعه‌ای محاسبه گردید. سپس، بعد از گذشت ۷ روز مجدداً گلدان‌ها وزن شدند و اختلاف وزن اولیه و ثانویه به‌عنوان میزان آب آبیاری ۱۰۰ درصد تبخیر و تعرق گیاه در نظر گرفته شد و برحسب آن آبیاری ۷۵٪ و ۵۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق اعمال گردید (Shafiei *et al.*, 2019; Arji *et al.*, 2002). اولین محلول‌پاشی با پوترسین در اول اسفند در حالت FC انجام شد (محلول‌پاشی برگی هر یک ماه یک‌بار و به مدت ۴ ماه از اسفند تا خرداده‌ماه انجام شد).

اعمال تنش تا ظهور علائم تنش در گیاهان ادامه یافت و در پایان آزمایش (۳۰ خرداد ۱۳۹۹) ارتفاع، تعداد برگ اندازه‌گیری شد و بعد از جدا کردن اندام هوایی و ریشه و شست‌وشوی ریشه، بلافاصله وزن‌تر اندام هوایی و ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. وزن خشک بعد از قرار دادن اندام هوایی و ریشه در پاکت کاغذی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سطح برگ با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf area meter) مدل Delta-T Divises LTD ساخت کشور انگلستان اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ از روش ریچی و همکاران (Ritchie *et al.*, 1990) استفاده شد. میزان ۰/۵ گرم از بافت تر جدا و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در آب مقطر خیسانده شد و پس‌ازاین مدت، وزن اشباع برگ‌ها توزین گردید (وزن تورژسانس) سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و وزن خشک آن‌ها با ترازوی با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. با توجه به فرمول زیر درصد محتوای نسبی آب برگ محاسبه گردید:

$$RWC = (Fw – Dw / Sw – Dw) \times 100$$

برای اندازه‌گیری نشت یونی ۸ دیسک با اندازه یکسان تهیه و در لوله فالکن قرار داده شد و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه گردید. این نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار داده شد و میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه هدایت سنج دیجیتالی Fresenius مدل LF90 قرائت شد($EC_1$). سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند و پس از خنک‌شدن، مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه-گیری شد ($EC_2$) و درنهایت درصد نشت یونی با استفاده از رابطه زیر به‌دست‌آمده آمد.

درصد نشت یونی = $(EC_1/EC_2) \times 100$

اندازه‌گیری پتانسیل آب برگ با استفاده از دستگاه محفظه فشار مدل (Pressure Chamber, SKPM 1400, UK) اندازه‌گیری شد (Cameron *et al.*, 1999). همچنین اندازه‌گیری تبادلات گازی برگ (فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و $CO_2$ زیر روزنه‌ای) دانهال‌های لیموترش بر روی گره‌های ۳ تا ۶ از بالای گیاه در حالت اتصال به گیاه در شرایط نوری کامل بین ساعت ۹ تا ۱۱ صبح با استفاده از دستگاه LCi-SD ساخت انگلستان انجام شد. آنالیز داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و به‌منظور مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

**نتایج**

**خصوصیات مورفولوژیکی**

نتایج مربوط به تجزیه واریانس فاکتورهای مورد مطالعه بر خصوصیات مورفولوژیک دانهال‌های لیموترش در جدول ۱ آورده شده است.

نسخه پیش از انتشار

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات سطوح آبیاری و پوترسین بر خصوصیات مورفولوژیکی دانهال‌های لیمو ترش

Table 1- ANOVA (mean squares) for the effects of irrigation levels and putrescine on the morphological characteristics of lemon seedling

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی Df | میانگین مربعات Mean squares | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight | وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight | وزن تر ریشه Root fresh weight | وزن خشک ریشه Root dry weight | سطح برگ Leaf area | ارتفاع ساقه Stem height | تعداد برگ Leaf number |
| آبیاری irrigation | 2 | 4661.67** | 1579.6** | 1150.11** | 181.53** | 48593536.76** | 225.81** | 65662.17** |
| پوترسین putrescine | 2 | 4012.87** | 1628.67** | 541.44** | 141.88** | 29242360.95** | 271.27** | 271665.94** |
| آبیاری × پوترسین Irrigation×putrescine | 6 | 35.01 ns | 44.91* | 15.73** | 3.96** | 2756962.67** | 14.25ns | 16397.42** |
| خطا error | 22 | 27.81 | 16.31 | 2.89 | 0.73 | 515548.9 | 6.30 | 4246.75 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | | 4 | 5.9 | 2.62 | 2.64 | 11.2 | 8.9 | 10.3 |

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at p≤0.01 and p≤0.05, respectively

نسخه پیش انتشار

### وزن‌تر و خشک اندام هوایی

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول ۱ اثرات اصلی آبیاری و پوترسین بر میزان وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید. همچنین برهمکنش پوترسین در آبیاری بر وزن خشک اندام هوایی در سطح ۵ درصد معنی‌دار گردید. با توجه به شکل ۱ مشخص گردید که با کاهش آب آبیاری از ۱۰۰ به ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه از وزن‌تر اندام هوایی کاسته شد. بیشترین میزان وزن‌تر اندام هوایی ۱۵۳/۶۴ گرم بود که در آبیاری کامل به دست آمد که افزایش معنی‌داری نسبت به تیمارهای آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد داشت. بر اساس نتایج حاصل از شکل ۲ محلول-پاشی پوترسین باعث افزایش معنی‌دار میزان وزن‌تر اندام هوایی گردید. بیشترین میزان وزن‌تر اندام هوایی مربوط به غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین (۱۵۹/۳۱ گرم) و کمترین میزان وزن‌تر اندام هوایی در تیمار شاهد مشاهده گردید.

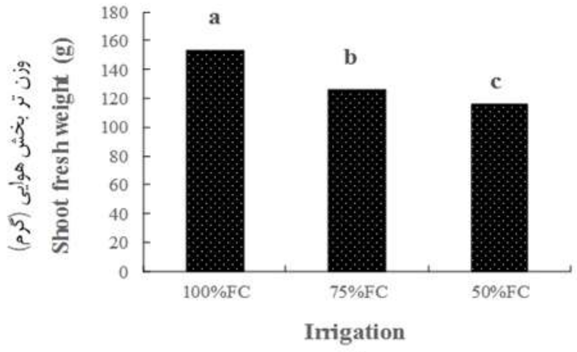
نتایج حاصل از شکل ۳ نشان داد که افزایش غلظت پوترسین وزن خشک اندام هوایی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد به‌طوری‌که بیشترین وزن خشک اندام هوایی (۱۰۰/۱۹ گرم) در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین و آبیاری کامل و کمترین مقدار آن (۴۴/۴۶ گرم) در تیمار رژیم آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و عدم محلول‌پاشی با پوترسین به دست آمد.

### وزن تر و خشک ریشه

وزن تر و خشک ریشه تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری، پوترسین و همچنین برهمکنش آبیاری در پوترسین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). در تمام سطوح آبیاری کاربرد پوترسین باعث افزایش وزن‌تر ریشه شد. همچنین با افزایش میزان غلظت پوترسین در هر تیمار آبیاری بر وزن‌تر ریشه افزوده شد. بیشترین وزن‌تر ریشه (۸۲/۸۷ گرم) در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین و آبیاری کامل به دست آمد که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نشان داد.

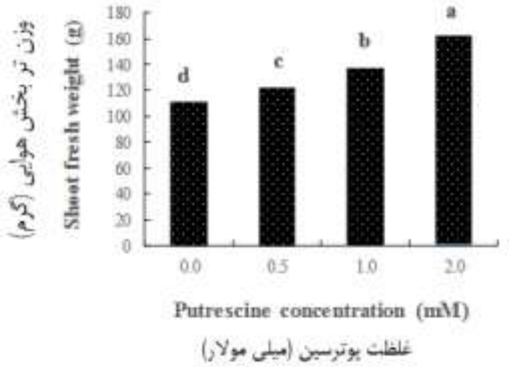
همچنین کمترین میزان وزن‌تر ریشه (۴۵/۲۲ گرم) در تیمار با غلظت صفر میلی‌مولار پوترسین و۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه حاصل شد. در آبیاری کامل با افزایش غلظت پوترسین از صفر به ۲ میلی‌مولار میزان وزن‌تر ریشه از ۶۲/۱۲ به ۸۲/۸۷ گرم افزایش یافت. همچنین در آبیاری ۷۵ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه با افزایش غلظت پوترسین از صفر به ۲ میلی‌مولار میزان وزن‌تر ریشه از ۵۶/۸۹ به ۷۲/۶ گرم افزایش یافت و در آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه با افزایش غلظت پوترسین از صفر به ۲ میلی‌مولار میزان وزن‌تر ریشه از ۴۵/۲۲ به ۶۲/۱۲ گرم افزایش یافت (شکل ۴).

اثر متقابل آبیاری در پوترسین بر وزن خشک‌ریشه (شکل ۵) نشان داد که با کاهش آب آبیاری از ۱۰۰ به ۷۵ و ۵۰ درصد در گیاهان محلول‌پاشی شده با پوترسین نسبت به شاهد وزن خشک‌ریشه افزایش‌یافته و با افزایش غلظت محلول‌پاشی پوترسین بر مقدار وزن خشک‌ریشه در تمام تیمارهای آبیاری افزوده شد.



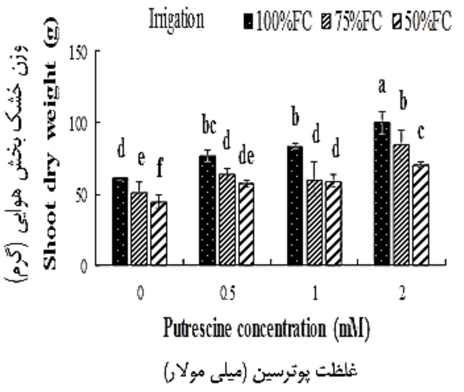

**شکل ۱- اثر آبیاری بر وزن تر بخش هوایی**

**Figure 1- Effect of Irrigation on shoot fresh weight**



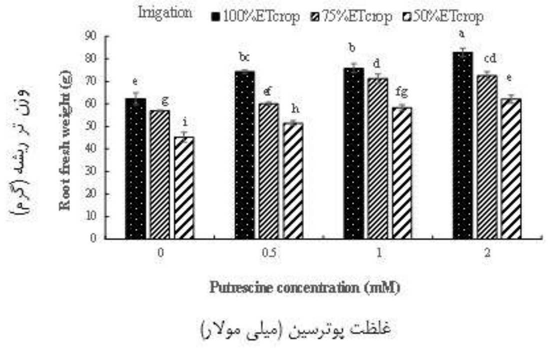

**شکل ۲- اثر پوترسین بر وزن‌تر بخش هوایی**

**Figure 2- Effect of putrescine on shoot fresh weight**




**شکل ۳- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر وزن خشک بخش هوایی**

**Figure 3- Effect of irrigation×putrescine on shoot dry weight**

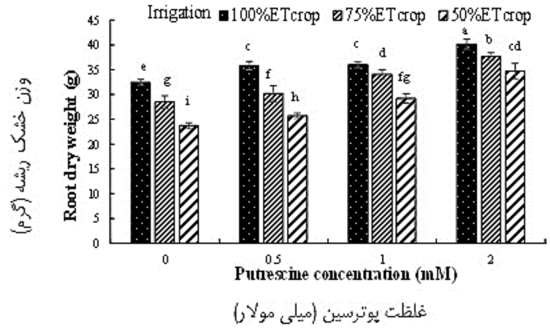



**شکل ٤- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر وزن تر ریشه**

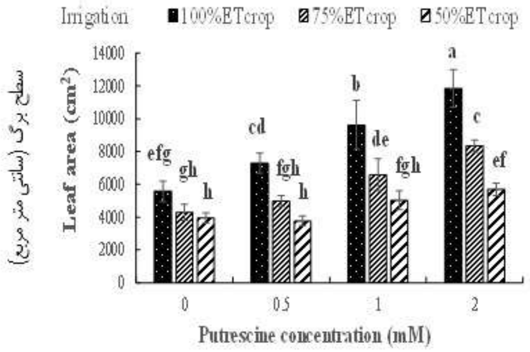
**Figure 4- Effect of irrigation×putrescine on root fresh weight**

## سطح برگ

مطابق با نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) اثرات اصلی آبیاری، پوترسین و همچنین برهمکنش آبیاری در پوترسین در سطح ۱ درصد بر میزان سطح برگ معنی‌دار گردید.
کاهش مقدار آبیاری از ۱۰۰ به ۷۵ و ۵۰ درصد میزان سطح برگ دانهال‌های لیموترش را کاهش داد و افزایش محلول-پاشی پوترسین باعث افزایش سطح برگ در تمام تیمارهای آبیاری شد. بیشترین مقدار سطح برگ (۱۱۸۵۰/۲۵ سانتی-متر مربع) در تیمار ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد که با تمام تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت. همچنین کمترین مقدار آن (۳۷۷۳/۳۷ سانتی‌متر مربع) در تیمار ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد که با مقادیر به‌دست‌آمده از تیمارهای شاهد و ۱ میلی‌مولار در همین رژیم آبیاری و شاهد و ۰/۵ میلی‌مولار رژیم آبیاری ۷۵ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه تفاوت معنی‌دار نداشت (شکل ۶).




**شکل ۵- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر وزن خشک ریشه**
**Figure 5- Effect of irrigation×putrescine on root dry weight**



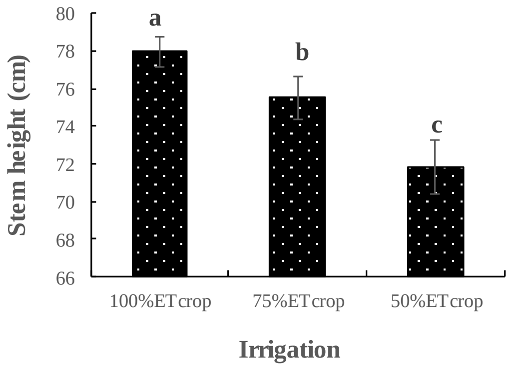

**شکل ۶ – اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر سطح برگ**
**Figure 6- Effect of irrigation×putrescine on leaf area**

## ارتفاع ساقه

ارتفاع ساقه تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری و پوترسین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). اعمال تنش خشکی ارتفاع ساقه را به طور معنی‌داری کاهش داد و با افزایش شدت تنش این کاهش بیشتر شد. کمترین میزان ارتفاع ساقه در بالاترین شدت تنش خشکی به دست آمد و بیشترین میزان ارتفاع ساقه(۷۷/۹۶ سانتی‌متر) در آبیاری کامل حاصل شد که به طور معنی‌داری از ارتفاع ساقه در آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد تبخیر و تعرق بیشتر بود (شکل۷). کاربرد پوترسین موجب افزایش طول ساقه گردید. در غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین بیشترین ارتفاع ساقه (۸۰/۰۷ سانتی‌متر) به دست آمد که با ارتفاع ساقه در غلظت‌های کم‌تر پوترسین تفاوت معنی‌داری داشت و کمترین ارتفاع ساقه در شرایط بدون کاربرد پوترسین به دست آمد (شکل۸).

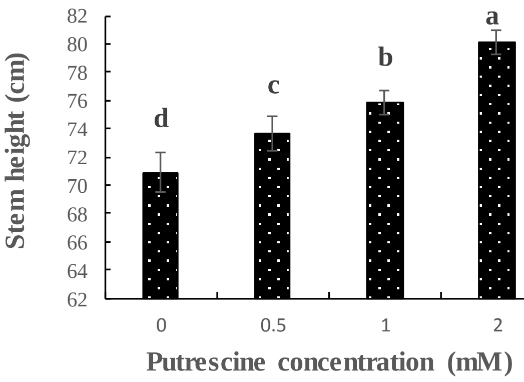
### تعداد برگ گیاه

اثرات اصلی آبیاری، پوترسین و همچنین برهمکنش آبیاری در پوترسین در سطح ۱ درصد بر تعداد برگ معنی‌دار گردید (جدول۱). با توجه به شکل ۷ مشخص گردید که با کاهش میزان آب، از تعداد برگ کاسته شد درحالی‌که استفاده از پوترسین در تمامی سطوح آبیاری سبب افزایش تعداد برگ گردید بیشترین تعداد برگ در غلظت ۲ میلی مولار پوترسین در سه سطح آبیاری ( ۶۵۸/۵، ۶۴۵ و ۵۴۲/۸۳) به دست آمد که به‌طور معناداری با سایر تیمارها تفاوت معنادار داشت و کمترین تعداد برگ در بالاترین شدت تنش بدون کاربرد پوترسین به دست آمد (شکل ۹).



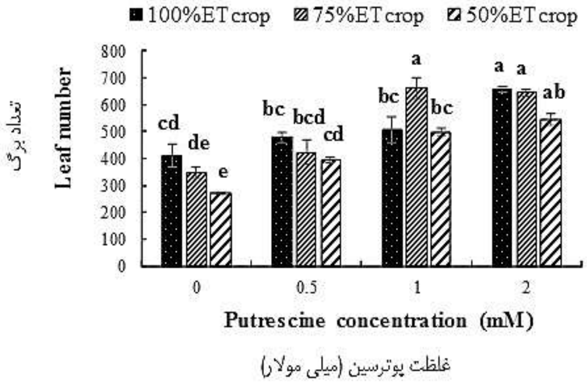

شکل۷- اثر آبیاری بر میزان ارتفاع ساقه

Figure 7 - Effect of Irrigation on shoot length




شکل۸: اثر پوترسین بر میزان ارتفاع ساقه

Figure 8- Effect of putrescine on shoot length




شکل ۹- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر تعداد برگ

Figure 9- Effect of irrigation×putrescine on leaf number

**خصوصیات فیزیولوژیکی**

**آنالیز واریانس مربوط به خصوصیات فیزیولوژیک دانهال‌های لیموترش در جدول ۲ آورده شده است.**

**محتوای نسبی آب**

**اثرت اصلی آبیاری و پوترسین در سطح ۱ درصد و برهمکنش آبیاری در پوترسین در سطح ۵ درصد بر میزان محتوای نسبی آب معنی‌دار گردید (جدول ۲).** نتایج حاصل از شکل ۱۰ نشان داد که افزایش غلظت پوترسین موجب افزایش معنی‌دار میزان محتوای نسبی آب در اغلب موارد تحت تنش خشکی گردید. در غلظت ۲ میلی مولار پوترسین و آبیاری کامل بیشترین محتوای نسبی آب (۷۶/۹۷ درصد) به دست آمد که نسبت به بقیه تیمارها افزایش معنی‌داری

داشت و کمترین میزان محتوای نسبی آب در تنش خشکی ۵۰ درصد تبخیر و تعرق بدون کاربرد پوترسین به دست آمد.

**جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات سطوح آبیاری و پوترسین بر خصوصیات فیزیولوژیکی دانهال‌های لیمو ترش**

**Table 1- ANOVA (mean squares) for the effects of irrigation levels and putrescine on the physiological characteristics of lemon seedling**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی Df | میانگین مربعات Mean squares | | |
|---|---|---|---|---|
| | | محتوای نسبی آب Relative water content | پتانسیل آب برگ Leaf water potential | نشت یونی Electrolyte leakage |
| آبیاری irrigation | 2 | 108.7** | 195.36** | 1089.03** |
| پوترسین putrescine | 2 | 172.06** | 96.63** | 195.47** |
| آبیاری × پوترسین Irrigation× putrescine | 6 | 26.72 * | 2.55$^{ns}$ | 13.75$^{ns}$ |
| خطا error | 22 | 7.16 | 1.91 | 5.42 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | | 3.36 | 5.9 | 2.62 |

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

$^{ns}$, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively

نسخه پیش از انتشار

**پتانسیل آب برگ**

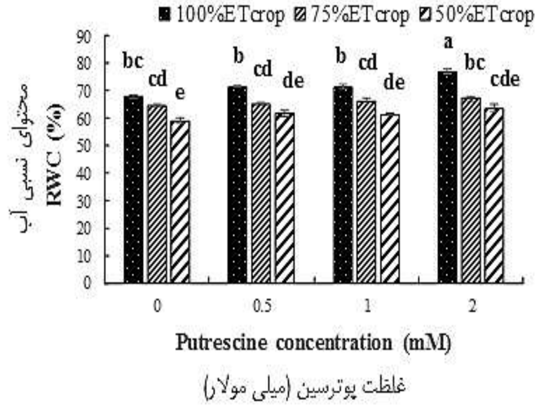
**با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۲ پتانسیل آب برگ تحت تأثیر اثرات اصلی آبیاری و پوترسین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید.** با بررسی شکل ۱۱ مشخص گردید که با کاهش مقدار آب آبیاری از ۱۰۰ به ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه، میزان پتانسیل آب برگ کاهش یافت. کمترین مقدار پتانسیل آب برگ (۲/۲۰- مگا پاسکال) در تیمار ۵۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه مشاهده گردید که از مقادیر به‌دست‌آمده در آبیاری کامل (۱/۴- مگا پاسکال) و ۷۵ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه (۱/۷- مگا پاسکال) کمتر بود. همچنین بین تیمارهای آبیاری ازنظر میزان پتانسیل آب برگ تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

علاوه براین نتایج نشان داد که در گیاهان محلول‌پاشی شده با پوترسین نسبت به شاهد میزان پتانسیل آب برگ بیشتر بود. نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان پتانسیل آب برگ در تیمار با ۲ میلی‌مولار پوترسین حاصل شد (۱/۴۱- مگا پاسکال). همچنین میزان پتانسیل آب برگ در تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار به ترتیب ۲/۱۳-، ۱/۹۸- و ۱/۶۴- مگا پاسکال بود. بین تمام تیمارهای پوترسین ازنظر میزان پتانسیل آب برگ تفاوت معنی‌دار وجود داشت (شکل ۱۲).

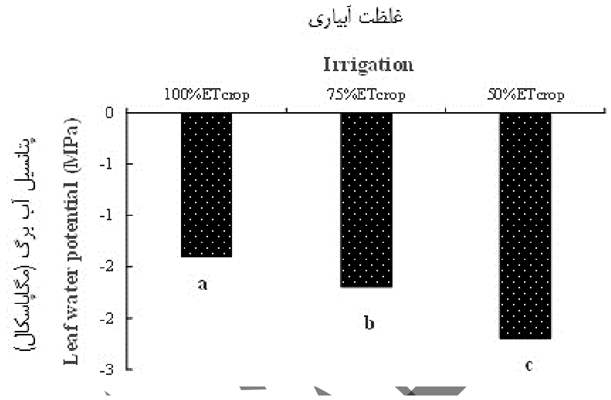
**نشت یونی**

**درصد نشت یونی تحت تأثیر اثرات اصلی پوترسین و آبیاری در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).** افزایش شدت تنش خشکی میزان نشت یونی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بیشترین میزان نشت یونی (۵۹/۷۷ درصد) در آبیاری ۵۰ درصد تبخیر و تعرق به دست آمد که نسبت به دیگر سطوح آبیاری معنی‌دار بود (شکل ۱۳). همچنین نتایج حاصل از شکل ۱۴ نشان داد که بیشترین میزان نشت یونی در تیمار شاهد مشاهده گردید که بیش‌تر از میزان نشت یونی در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین بود نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد غلظت‌های بالاتر پوترسین

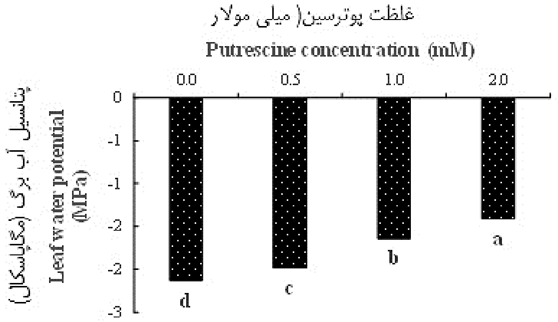
سبب کاهش میزان نشت یونی از برگ‌های گیاه لیموترش شد. به‌طوری‌که کمترین میزان نشت یونی در تیمار ۲ میلی-مولار پوترسین به دست آمد.



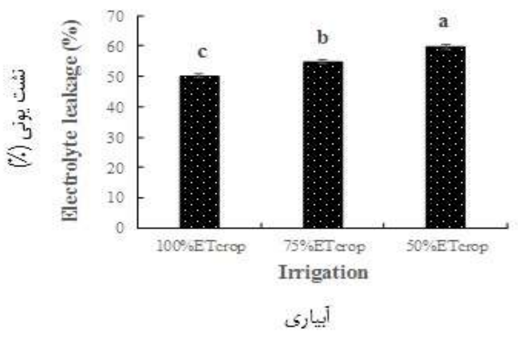

**شکل ۱۰- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر محتوای نسبی آب**
**Figure 10- Effect of irrigation×putrescine on RWC**



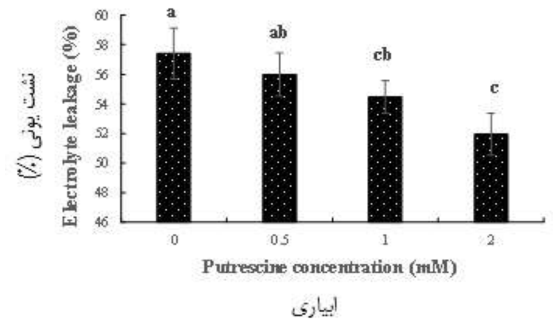

**شکل ۱۱- اثر متقابل آبیاری بر پتانسیل آب برگ**
**Figure 11- Effect of irrigation on leaf water potential**




**شکل ۱۲- اثر پوترسین بر پتانسیل آب برگ**
**Figure 12- Effect of putrescine on leaf water potential**




**شکل ۱۳- اثر آبیاری بر نشت یونی**
**Figure 13- Effect of irrigation on electrolyte leakage**




**شکل۱٤- اثر پوترسین بر نشت یونی**
**Figure 14- Effect of putrescine on electrolyte leakage**

## تبادلات گازی

**نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس تبادلات گازی در جدول ۳ گزارش شده است.**

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثرات سطوح آبیاری و پوترسین برتبادلات گازی دانهال‌های لیمو ترش

**Table 3- ANOVA (mean squares) for the effects of irrigation levels and putrescine on gas exchange parameters of lemon seedling**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی Df | میانگین مربعات Mean squares: فتوسنتز Photosynthesis | تعرق Transpiration | هدایت روزنه‌ای Stomatal conduction | دی اکسید کربن زیرروزنه‌ای Sub stomatal carbon dioxide |
|---|---|---|---|---|---|
| آبیاری irrigation | 2 | 10.21** | 21.04** | 0.04** | 9551.69** |
| پوترسین putrescine | 2 | 9.70** | 4.27** | 0.006** | 7545.36** |
| آبیاری × پوترسین Irrigation×putrescine | 6 | 1.14 ns | 0.33** | 0.001** | 384.47** |
| خطا error | 22 | 0.58 | 0.02 | 0.0003 | 156.22 |
| ضریب تغییرات C.V (%) | | 9.3 | 4.6 | 12.8 | 3.6 |

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at p≤0.01 and p≤0.05, respectively

### فتوسنتز

**نتایج به دست آمده از جدول ۳ نشان داد که اثرات اصلی آبیاری و پوترسین در سطح ۱ درصد بر میزان فتوسنتز معنی‌دار گردید.** با توجه به نتایج حاصل از شکل ۱۵ با کاهش میزان آبیاری از ۱۰۰ به ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه از میزان فتوسنتز دانهال‌های لیموترش کاسته شد و بین هر سه سطح آبیاری ازنظر میزان فتوسنتز تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. بیشترین میزان فتوسنتز در آبیاری کامل ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه حاصل شد (۹/۰۹ میکرو مول دی‌اکسید کربن در مترمربع بر ثانیه) که به‌طور معنی‌داری از میزان فتوسنتز در آبیاری ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه به ترتیب با مقادیر ۸/۲۳ و ۷/۲۵ میکرو مول دی‌اکسید کربن در مترمربع بر ثانیه بیش‌تر بود. در گیاهان محلول‌پاشی شده با پوترسین نسبت به عدم محلول‌پاشی با پوترسین میزان فتوسنتز بیشتر بود. نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان فتوسنتز (۹/۳۷ میکرو مول دی‌اکسید کربن در مترمربع بر ثانیه) در تیمار ۲ میلی‌مولار پوترسین به دست آمد که به‌طور معنی‌داری از میزان فتوسنتز در تیمارهای شاهد، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار (به ترتیب با مقادیر ۶/۳۴، ۸/۲۸ و ۸/۲۷ میکرو مول دی‌اکسید کربن در مترمربع بر ثانیه) بیش‌تر بود. همچنین کمترین میزان فتوسنتز (۶/۳۴ میکرو مول دی‌اکسید کربن در مترمربع بر ثانیه) مربوط به گیاهان شاهد بود (شکل ۱۶).

### تعرق

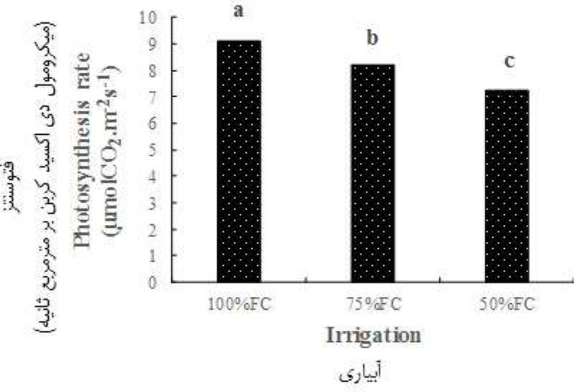
**با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۳) میزان تعرق تحت تأثیر اثرات اصلی پوترسین، آبیاری و برهمکنش آبیاری در پوترسین در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید.** بیشترین میزان تعرق در آبیاری ۱۰۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه در تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب با مقادیر ۵/۵۲ و ۵/۵۵ میلی‌مول $H_2O$ در مترمربع بر ثانیه به دست آمد که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت. به‌طورکلی با افزایش شدت خشکی از تعرق

نسخه پیش از انتشار

کاسته و با افزایش غلظت پوترسین بر تعرق افزوده شد. تیمار ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق بدون کاربرد پوترسین دارای کمترین میزان تعرق بود (شکل ۱۷).

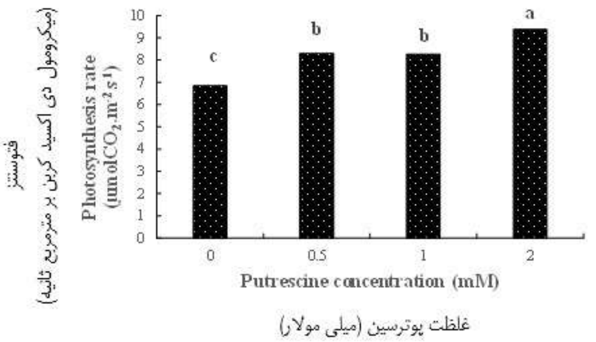
**هدایت روزنه‌ای**

**اثرات اصلی پوترسین، آبیاری و برهمکنش آبیاری در پوترسین بر میزان هدایت روزنه در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۳).** اثر متقابل آبیاری در پوترسین (شکل ۱۸) بر میزان هدایت روزنه‌ای نشان داد که با کاهش رژیم آبیاری میزان هدایت روزنه‌ای کاهش یافت به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن (۰/۲۴ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) در آبیاری کامل و غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین و کمترین میزان آن (۰/۰۶ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) در ۵۰٪ پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه و شاهد مشاهده گردید. استفاده از پوترسین باعث افزایش میزان هدایت روزنه‌ای در سطوح آبیاری شد. همچنین در آبیاری ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق در هیچ‌کدام از سطوح پوترسین تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد.



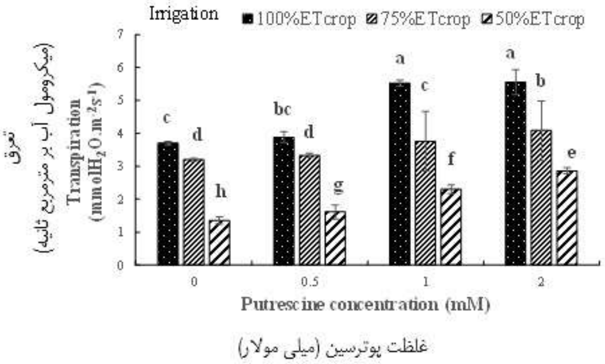

**شکل ۱۵- اثر متقابل آبیاری بر فتوسنتز**

**Figure 15- Effect of irrigation on photosynthesis**



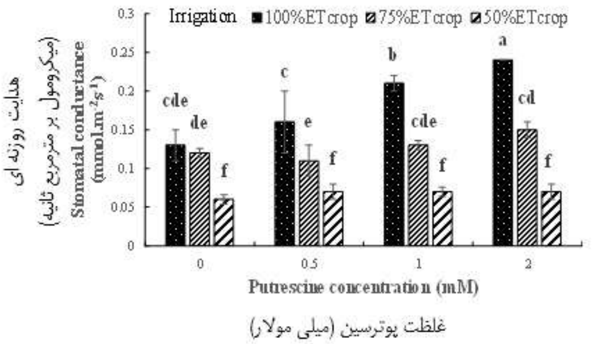

**شکل۱۶- اثر پوترسین بر فتوسنتز**

**Figure 16- Effect of putrescine on on photosynthesis**




**شکل ۱۷- اثر متقابل آبیاری × پوترسین بر تعرق**

**Figure 17- Effect of irrigation×putrescine on transpiration**



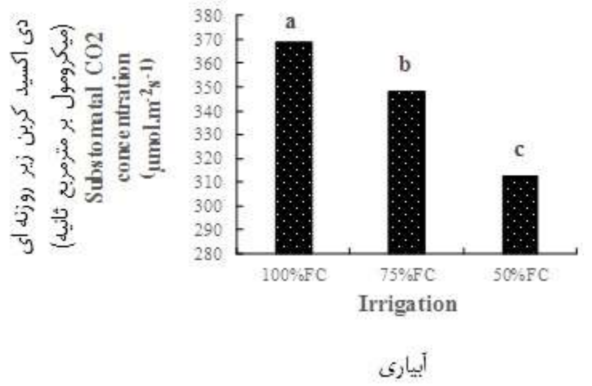

**شکل ۱۸- اثر آبیاری × پوترسین بر هدایت روزنه ای**

**Figure 18- Effect of irrigation×putrescine on stomatal conductance**

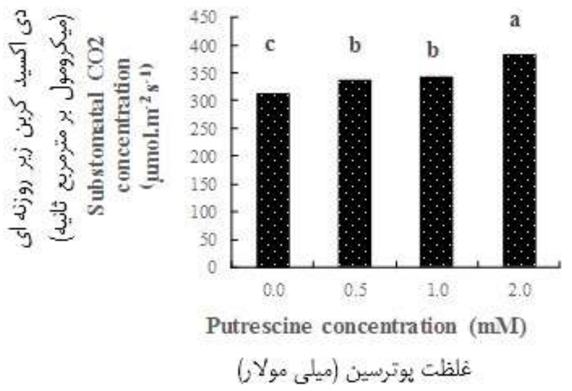
**دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای**

**مطابق با نتایج به دست آمده اثرات اصلی پوترسین و آبیاری بر میزان دی اکسید کربن زیر روزنه در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول۳).** با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از شکل ۱۹ بیشترین میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای در آبیاری کامل به دست آمد (۳۶۸/۵ میکرو مول در مترمربع بر ثانیه) که به‌طور معنی‌داری از میزان دی‌اکسید کربن زیر

روزنه‌ای در تیمارهای ۷۵ و ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق گیاه (به ترتیب با مقادیر ۳۴۸/۱۷ و ۳۱۲/۷۵ میکرو مول در مترمربع بر ثانیه) بیشتر بود. مطابق نتایج شکل ۲۰ غلظت ۲ میلی‌مولار پوترسین بیشترین تأثیر را بر میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای داشت (۳۸۲/۱۱ میکرو مول در مترمربع بر ثانیه) که با میزان دی‌اکسید کربن زیر روزنه‌ای در غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار پوترسین به ترتیب با مقادیر ۳۱۲/۲۲، ۳۳۷/۱۱ و ۳۴۱/۱۱ میکرو مول در مترمربع بر ثانیه تفاوت معنی‌دار داشت.




**شکل ۱۹- اثر آبیاری بر دی اکسید کربن زیر روزنه ای**
**Figure 19- Effect of irrigation on substomatal $Co_2$**




**شکل ۲۰- اثر پوترسین بر دی اکسید کربن زیر روزنه ای**
**Figure 20- Effect of putrescine on on substomatal $Co_2$**

پیش انتشار

## بحث

براساس نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر اعمال تنش خشکی به ویژه در ۵۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق خصوصیات مورفولوژیکی از قبیل وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، تعداد برگ و ارتفاع ساقه را دانهال‌های لیموترش به طور معنی‌داری کاهش و کاربرد پوترسین موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در این گیاه گردید. کاهش وزن تر و خشک گیاه تحت شرایط تنش می‌تواند به علت بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تبادلات گازی از جمله میزان فتوسنتز و کاهش محتوای نسبی آب باشد که این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش کروما و همکاران (Krouma *et al.*, 2015) مطابقت دارد که بیان کردند کاهش پارامترهای رشدی تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش انتشار دی‌اکسید کربن به داخل برگ‌ها باشد که منجر به کاهش میزان فتوسنتز، کلروفیل، القاء تنش اکسیداتیو و سرانجام رشد کم‌تر در گیاهان می‌گردد.

کاهش رشد تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به دلیل کاهش رشد و توسعه‌ی سلول ناشی از کاهش فشار تورژسانس باشد (Nilsen and Orcutt, 1996). خشکی همچنین بر روی تشکیل سلول‌های اولیه برگ و تمایز آن‌ها اثر می‌گذارد و تعداد برگ را کاهش می‌دهد که در نهایت موجب کاهش وزن تر و خشک گیاه می‌گردد (Lobato *et al.*, 2008). یکی دیگر از مهم‌ترین دلایل کاهش پارامترهای رشد تحت شرایط تنش کاهش جذب مواد مغذی، است (Hasan *et al.*, 2018). کاهش جذب مواد غذایی به طور غیرمستقیم تشکیل شاخه‌های رویشی، سطح برگ‌ها و وزن‌تر و خشک گیاه را کاهش می‌دهد (Ahmed *et al.*, 2017).

موحامد و همکاران (Mohamed *et al.*, 2018) بیان کردند که اعمال تنش خشکی در نارنج وزن‌تر و خشک اندام هوایی و تعداد برگ را به طور معنی‌داری کاهش و کاربرد پوترسین این صفات را به طور معنی‌داری افزایش داد.

در آزمایش حاضر استفاده از پوترسین به ویژه در غلظت ۲ میلی‌مولار موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه، اندام هوایی و ارتفاع ساقه گردید که افزایش پارامترهای رشد تحت کاربرد پوترسین می‌تواند به علت تأثیر این ماده در افزایش محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ و تبادلات گازی از جمله میزان فتوسنتز باشد که این نتایج با نتایج ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2009) مطابقت دارد که بیان کردند محلول‌پاشی پوترسین باعث تنظیم اسمزی، بهبود روابط آبی گیاه، عدم تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی و در نتیجه افزایش تبادلات گازی گردید.

کاربرد پوترسین تحت شرایط تنش خشکی موجب افزایش وزن‌تر و خشک ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها در گیاه گلرنگ گردید (Toupchi-Khosrowshahi and Slehi-Lisar, 2018). افزایش وزن‌تر و خشک در دانهال‌های تیمار شده با پوترسین می‌تواند به تأثیر پلی آمین‌ها در بهبود شاخص‌های رشد، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و نقش محافظتی آن‌ها در پایداری سلول‌ها مرتبط باشد (Hussein *et al.*, 2006). پلی آمین‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد، تنظیم پتانسیل اسمزی و متابولیسم پرولین در تنش‌های غیرزنده نقش دارند. برخی از فرایندهای فیزیولوژیکی همچون تقسیم سلولی و نمو گیاه با این تنظیم‌کننده‌های رشدی قابل‌تغییر هستند (Singh Gill and Tuteja, 2010).

افزایش پارامترهای رشد، محتوای نسبی آب و رنگیزه‌های فتوسنتزی با محلول‌پاشی پوترسین می‌تواند مربوط به خاصیت آنتی‌اکسیدانی پوترسین و نقش اسمولیتی آن در شرایط خشکی باشد (Toupchi-Khosrowshahi and Slehi-Lisar, 2018). پوترسین پلی آمینی است که در فرایندهای گوناگون رشد و نمو گیاه درگیر است. با افزایش القاکننده‌های درونی همچون اکسین، جیبرلین و سیتوکینین و کاهش مقدار بازدارنده آبسیزیک اسید یا کاهش فعالیت آن باعث تحریک رشد می‌شود. از طرفی پلی آمین منبعی از نیتروژن بوده و این عنصر نیز رشد را تحریک می‌کند (Ahmed *et al.*, 2017). نتایج حاصل از محلول‌پاشی برگی پوترسین بر افزایش پارامترهای رشدی تحت شرایط تنش با نتایج حاصل از مطالعات قبل مطابقت دارد.

همچنین نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که افزایش شدت تنش خشکی در دانهال‌های لیموترش موجب کاهش و استفاده از پلی‌آمین‌ها موجب افزایش سطح برگ گردید که کاهش سطح برگ تحت تنش می‌تواند به علت کاهش محتوای نسبی آب و کاهش رشد باشد که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات حسین و همکاران ۱۹۹۰ مطابقت دارد (Hossain *et al.*, 1990) که بیان کردند کاهش سطح برگ تحت شرایط تنش به‌منظور کاهش هدر رفت آب صورت می‌گیرد و باعث کاهش جذب تبادلات گازی می‌گردد. کاهش سطح برگ تحت شرایط تنش می‌تواند به دلیل کاهش محتوای نسبی آب، کوچک شدن اندازه سلول‌ها، کاهش تقسیم سلول‌های مریستمی و درنتیجه کند شدن رشد برگ، توقف تولید برگ، تسریع پیری و ریزش برگ‌هاست (Osuagwu and Edeoga, 2012).

موحامد و همکاران (Mohamed *et al.*, 2018) در مطالعه‌ای روی نارنج بیان کردند که کاربرد پوترسین با غلظت ۱۵۰ پی پی‌ام موجب افزایش سطح برگ نسبت به گیاهان شاهد گردید که این افزایش سطح برگ در اثر استفاده از پوترسین می‌تواند به علت اثرات تنظیم‌کنندگی این پلی‌آمین در رشد و مقابله با اثرات هورمون آبسیزیک اسید باشد. علاوه بر این پوترسین اثرات دفاعی در گیاه در برابر تنش‌های محیطی دارد. این تأثیرات مثبت پوترسین مربوط می‌شود به نقشی که در افزایش تقسیم سلولی، افزایش هورمون‌های گیاهی همچون اکسین و جیبرلین و کاهش آبسیزیک اسید دارد که سبب بهبود رشد می‌گردد (Hussein *et al.*, 2006). تأثیر پوترسین بر افزایش سطح برگ با نتایج حاصل از پژوهش‌های قبلی مطابقت دارد.

مطابق با نتایج به دست آمده اعمال تنش خشکی در ۵۰ و ۷۵ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق موجب کاهش میزان محتوای نسبی آب و پتانسیل آب برگ گیاه لیموترش شد که این کاهش در میزان محتوای نسبی آب گیاه تحت شرایط تنش می‌تواند به علت آسیب به غشاء و در نتیجه افزایش نشت یونی باشد. در آزمایشی از موحامد و همکاران

(Mohamed *et al*., 2018) گزارش گردید که در تنش خشکی شدید نسبت به آبیاری کامل (شاهد) محتوای نسبی آب گیاه نارنج از ۶۲/۸۷ به ۵۳/۱۵ درصد کاهش یافت. محتوای نسبی آب انعکاسی است از فعالیت متابولیکی بافت‌ها که در طی تنش خشکی بسیار کاهش پیدا می‌کند. علت آن عدم وجود آب کافی در خاک و عدم توان جبران آب ازدست‌رفته با تعرق است  و درنتیجه پتانسیل آب در گیاه کم می‌شود (Bolat *et al*., 2014).

رابطه بین پتانسیل آب برگ و محتوای نسبی آب برگ نشان می‌دهد که گیاهانی که در معرض تنش هستند پتانسیل آب برگ منفی‌تری دارند و محتوای نسبی آب برگ کم‌تری خواهند داشت. یکی از علت‌های کاهش پتانسیل آب مربوط به تنظیم اسمزی است و با کاهش پتانسیل آب برگ بسته شدن روزنه‌ها شدت می‌گیرد ( Chartzoulakis *et al*., 1993). محتوای نسبی آب احتمالاً مناسب‌ترین معیار برای وضعیت آب گیاه از نظر پیامد فیزیولوژیکی کم آبی است و به عنوان تخمینی از وضعیت آب گیاه در برخورد با انتقال آب در خاک-گیاه-اتمسفر است ( Mullan and Pietragalla, 2012).

در این آزمایش محلول‌پاشی برگی پوترسین به خصوص در غلظت ۲ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب و افزایش پتانسیل آب برگ نسبت به غلظت‌های کم‌تر پوترسین گردید. پوترسین با تنظیم بسته شدن روزنه‌ها و کاهش از دست دهی آب موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی گردید که از این طریق محتوای نسبی آب را بهبود می‌بخشند (Ahmed and Sadak, 2016). روبینوسکا و همکاران (Rubinowska *et al*., 2012) بیان کردند که پلی آمین‌ها ممکن است کانال‌های یونی خاصی را تعدیل و نفوذپذیری غشا را به کلسیم افزایش دهند و مقدار این عنصر در سیتوپلاسم بالا رفته که نتیجه آن غیرفعال‌شدن ورود یک‌سویه پتاسیم در غشا شده و نتیجه آن تحریک انسداد روزنه و کاهش خروج آب از آن خواهد شد. افزایش آب برگ با پلی آمین‌ها ممکن است به تنظیم اسمزی گیاه با افزایش پرولین نیز نسبت داده شود (Duan et al., 2008). نتایج حاصل از کاربرد پوترسین بر خصوصیات فیزیولوژیکی دانهال لیموترش از جمله محتوای نسبی آب و پتانسیل آب برگ تحت شرایط تنش خشکی با نتایج حاصل از مطالعات قبل مطابقت دارد.

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر افزایش شدت تنش خشکی میزان نشت یونی را افزایش و کاربرد برگی پوترسین موجب کاهش میزان نشت یونی شد که این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش عموآقایی و مقیم (Amooaghaie and Moghym, 2011) مطابقت دارد که بیان کردند افزایش نشت یونی تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به علت آسیب رساندن به غشای پلاسمایی، افزایش نفوذپذیری غشاء و نشت یون‌ها به بیرون از سلول‌ها باشد. میزان آسیب تنش خشکی به غشا سلولی با افزایش دوره‌ها و طولانی شدن مدت‌زمان تنش خشکی بیش‌تر می‌شود زیرا مقاومت و کشش سلول به خشکی با طولانی شدن تنش رفته‌رفته کم‌تر می‌شود ( Amri and Mohammadi, 2012). یکی از صدمات تنش خشکی تجمع رادیکال‌های آزاد هست که موجب خسارت به غشا، آزاد شدن یون‌ها به داخل فضای بین سلولی، پر اکسیداسیون لیپیدی  و درنهایت خسارت به سلول می‌شود. پلی آمین‌ها در حفظ یکپارچگی و انسجام غشا و اندام‌های سلولی در شرایط بروز تنش خشکی نقش اساسی دارند که موجب کاهش نفوذپذیری غشاء و درنتیجه کاهش میزان نشت یونی می‌گردد (Zhang and John, 2005). پوترسین میزان فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز و فسفولیپاز را کاهش و فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز را افزایش می‌دهد در نتیجه موجب انسجام غشاء و کاهش میزان نشت یونی می‌گردد (Majidiyan, 2013).

در آزمایش حاضر افزایش شدت تنش خشکی به ۷۵ و ۵۰ درصد پتاسیل تبخیر و تعرق موجب کاهش تبادلات گازی و افزایش غلظت پوترسین بویژه در ۲ میلی‌مولار میزان تبادلات گازی را به طور معنی‌داری افزایش داد که کاهش تبادلات گازی تحت شرایط تنش می‌تواند به علت کاهش محتوای نسبی آب، پتانسل آب برگ و در نتیجه بستن روزنه‌ها و جلوگیری از خروج آب تحت شرایط تنش باشد که این نتایج با نتایج حاصل از لوپز و همکاران

(Lopez *et al.*, 1988) مطابقت داشت که گزارش کردند گیاهان برای مقابله نسبت به تنش خشکی و حفظ رطوبت اقدام به بستن روزنه‌های خود می‌کنند تا از هدر رفت آب جلوگیری شود. تأثیر محتوای نسبی آب و پتانسیل آب برگ بر روی سرعت تبادلات گازی از جمله فتوسنتز توسط سیدیق و همکاران (Siddique *et al.*, 2001) تائید شده است. خشکی باعث کاهش چشم‌گیر میزان فتوسنتز در کاریزو سیترنج و نارنگی کلئوپاترا گردید (Zandalinas *et al.*, 2016).

افزایش تبادلات گازی در اثر استفاده از پوترسین می‌تواند به علت تأثیر این پلی‌آمین در بهبود روابط آبی گیاه از جمله افزایش محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ و درنتیجه کاهش اثرات نامطلوب تنش باشد. این نتایج با نتایج پژوهش ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2009) مطابقت دارد که گزارش کردند کاربرد پوترسین فتوسنتز را در گیاهان خیار تحت تنش افزایش داد. پوترسین در افزایش بقا و عدم تجزیه کلروفیل‌ها نقش مهمی دارد و از این طریق می‌تواند سبب افزایش فتوسنتز و کربوهیدرات محلول شود.

همان‌طور که نتایج این آزمایش نشان داد بیشترین میزان تعرق در آبیاری کامل ۱۰۰ درصد پتانسیل تبخیر و تعرق به دست آمد و سرعت تعرق در شرایط تنش کاهش پیدا کرد. خشکی فاکتوری تأثیرگذار بر عملکرد و کیفیت مرکبات در تنش غیرزنده است و سبب کاهش میزان تعرق گردید (Tie *et al.*, 2022). در آزمایشی دیگر از زندلیناس و همکاران (Zandalinas *et al.*, 2016) خشکی سبب کاهش تعرق در سیترنج کاریزو و نارنگی کلئوپاترا شد. کاربرد پوترسین موجب افزایش میزان تعرق گردید که این افزایش تعرق به دلیل تأثیر پوترسین در باز شدن روزنه است. ارتباط مثبتی بین تعرق و فتوسنتز وجود دارد (Gupta *et al.*, 2012).

ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2009) گزارش کردند که کاربرد پوترسین سبب تنظیم اسمزی و افزایش هدایت روزنه‌ای در گیاهان خیار تحت تنش شد. بسیاری از شرایط تنش‌زا می‌توانند سبب کاهش اسیمیلاسیون دی‌اکسید کربن شوند آن‌هم به دلیل بسته شدن روزنه و کاهش ظرفیت فتوسنتزی است (Downton *et al.*, 2006). کاهش میزان دی‌اکسید کربن داخلی ممکن است به دلیل بسته شدن روزنه‌ها و کاهش بیش‌تر ظرفیت فتوسنتزی در تنش خشکی باشد (Gupta *et al.*, 2012). در آزمایشی از ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2009) کاربرد پوترسین توانست سبب بهبود $CO_2$ بین سلولی شود. پوترسین مواد موردنیاز در فتوسنتز و رشد را فراهم می‌کند و با نقش مهمی که در تنظیم سازگاری نوری دستگاه فتوسنتزی دارد سبب اسیمیلاسیون بهبودیافته دی‌اکسید کربن طی تنش می‌شود (Ioannidis and Kotzabasis, 2007). نتایج حاصل از پژوهش حاضر مبنی بر کاربرد پوترسین بر خصوصیات تبادلات گازی درخت لیموترش تحت تنش خشکی با نتایج حاصل از مطالعات قبلی مطابقت دارد.

## نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج نشان داد که محلول‌پاشی برگی پوترسین به ویژه در غلظت ۲ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را در افزایش پارمترهای رشد از جمله وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، افزایش محتوای نسبی آب، پتانسیل آب برگ و تبادلات گازی و کاهش میزان نشت یونی تحت شرایط تنش خشکی داشت.

## سپاسگزاری

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

## منابع


1. Ahmed, A. H. H., Darwish, E., & Alobaidy, M.G. (2017). Impact of putrescine and 24-epibrassinolide on growth, yield and chemical constituents of cotton (*Gossypium barbadense* L.) plant grown under drought stress conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 16(1), 9-23. http://doi.org/10.3923/ajps.2017.9.23.
2. Ahmed, M.MR. M., & Sadak, M.Sh. (2016). Effect of putrescine foliar application on Wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) under water stress conditions. *International Journal of Pharmtech Research*, 9 (8), 94-102.
3. Amooaghaie, R., & Moghym, S. (2011). Effect of polyamines on thermo tolerance and membrane stability of soybean seedling. *African Journal of Biotechnology*, 10, 9673- 9679. https://doi.org/10.5897/ajb10.2446
4. Amri, E., & Mohammadi, M.J. (2012). Effects of timing of drought stress on pomegranate seedlings (*Punica granatum* L. cv ‘Atabaki’) to exogenous spermidine and putrescine polyamines. *African Journal of Microbiology Research*, 6(25), 5294-5300. https://doi.org/10.5897/AJMR11.1355
5. Arji, I., Arzani, K., & Mirlatifi, M. (2002). Effect of different irrigation amounts on physiological and anatomical responses of olive (*Olea europaea* L. cv. Zard). *International Journal of Soil and Plant Sciences*, 16(1), 112-120.
6. Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A., & Tonkaz, T. (2014). The effect of water stress on some morphological, physiological, and biochemical characteristics and bud success on apple and quince rootstocks. *The Scientific World Journal*, 769732, 1-8. https://doi.org/10.1155/2014/769732
7. Cameron, R.W.f., Harrison- murray, R.S., & Seott. M.A., (1999). The use of controlled water stress to manipulate growth of container- grown Rhododendron CV. Happy. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 74, 161-169. https://doi.org/10.1080/14620316.1999.11511089
8. Chartzoulakis, K., Bosabalidis, A., Patakas, A., & Vemmos, S. (1993). Effect of water stress on water realtions, gas exchange and leaf structure of olive trees. *Acta Horticulturae*, 537, 241-247. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.537.25
9. Downton, W.J. ., Loveys, B.R., & Grant, W.J.R. (2006). Salinity effects on the stomatal behavior of grapevine. *New Phytology*, 116, 499–503. https://doi.org/ 10.1111/j.1469-8137.1990.tb00535.x
10. Duan, J., Li, J., Guo, Sh., & Kang, Y. (2008). Exogenous spermidine affects polyamine metabolism in salinity-stressed Cucumis sativus roots and enhances short-term salinity tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 165, 1620- 1635. https://doi.org/ 10.1016/j.jplph.2007.11.006
11. Fotohi Ghazvini, R. O., & Fatahi Moghadam, J. (2016). Breeding citrus in Iran. (4th ed.). Gilan University Press. (In Persian)
12. Gupta, S., Agarwal, V.P. & Gupta, N.K. (2012). Efficacy of putrescine and benzyladenine on photosynthesis and productivity in relation to drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 18(4): 331–336. https://doi.org/10.1007/s12298-012-0123-9

13. Hasan, M., Skalicky, M., Jahan, M.S., Hossain, M., Anwar, Z., Nie, Z.F., Alabdallah, N.M., Brestic, M., Hejnak, V., & Fang, X.W. (2021). Spermine: Its emerging role in regulating drought stress responses in plants. *Cells*, 10 (2), 261. https://doi.org/10.3390/cells10020261
14. Hossain, A.B.S., Sears, R.G., Cox, T.S., & Paulses, G. M. 1990. Desiccation tolerance and its relationship to assimilate partitioning in winter wheat. *Crop Science*, 30(3): 622-627.https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000030030x
15. Hu, Y.Y., Zhang, Y.L., Yi, X.P., Zhan, D.X., Luo, H.H., Chow, W.S., & Zhang, W.F. (2013). The relative contribution of non-foliar organs of cotton to yield and related physiological characteristics under water deficit. *Journal of Integrative Agriculture*, 3119 (13), 60568-7. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60568-7
16. Hussein, M.M., Nadia EL-Gereadly, H.M., & EL-Desuki, M. (2006). Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research*, 2 (9), 598-604.
17. Ioannidis, N.E., & Kotzabasis, K. (2007). Effects of polyamines on the functionality of photosynthetic membrane in vivo and in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1767, 1372–1382. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2007.10.002
18. Kamiab, F., Talaie, A.R., Khezri, M. and Javanshah, A. 2013. Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. Plant Growth Regulators, 72 (3): 257-268 .
19. Krouma, A., Fujimura, T., & Abdely, C. (2015). Growth, photosynthetic activity and water relations three Tunsian chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) subjected to a progressive water deficit stress. *International Research Journal*, 5, 206-214.
20. Lobato, A.K.S., Oliveira Neto, C.F., Santos Filho, B.G., Costa, R.C.., Cruz, F.J.R., Neves, H.K.B., & Lopes, M.J.S. (2008). Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max*) plants under water deficit. *Australian Journal Crop Science*, 2(1), 25-32.
21. Lopez, F.B., Setter, T.L., & McDavid, C.R. (1988). Photosynthesis and water vapor exchange of pigeonpea leaves in response to water deficit and recovery. *Crop Science*, 28(1), 141-145. https://doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800010030x
22. Majidiyan, N. (2013). Study some aspects of flower Senescence in Asiatic hybrid lily Seb Dassel. Ph.D. thesis. Faculty of Agriculture Tehran University, Iran . (in persian)
23. Mahdavian, M., Sarikhani, H., Hadadinejad, M., & Dehestani, A. (2017, September). Biochemical and morphological response of Carrizo citrange and Volkameriana rootstocks to putrescine and water stress. In I International Conference and X National Horticultural Science Congress of Iran (IrHC2017) 1315 (pp. 55-62)
24. Mahdavian, M., Sarikhani, H., Hadadinejad, M., & Dehestani, A. (2021). Exogenous application of putrescine positively enhances the drought stress response in two citrus rootstocks by increasing expression of stress-related genes. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 21(3), 1934-1948.
25. Mohamed, S.A., Ahmed, H.S., & El-Baowab, A.A. (2018). Effect of chitosan, putrescine and irrigation levels on the drought tolerance of sour orange seedlings. *Egyptian Journal of Horticulture*, 45, 257-273. http://doi.org/10.21608/ejoh.2018.3063.1050
26. Mullan, D., & Pietragalla, J. (2012). Leaf relative water content. Physiological breeding II: *A field guide to wheat phenotyping*, 25-27.
27. Nilsen, E.T., & Orcutt, D.M. (1996). *The physiology of plants under stress (Abiotic factors).* John Wiley and Sons, New York. 689 p.

28. Osuagwu, G.G.E., & Edeoga, H.O. (2012). The influence of water stress (drought) on the mineral and vitamin content of the leaves of *Gongronema latifolium* (Benth). *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 2 (2), 301-309
29. Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., & Haloday, A.S. (1990). Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotype differing in drought resistance. *Crop Science*, 30, 105-111. http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
30. Rubinowska, K., Pogroszewska, E., & Michalek, W. (2012). The effect of polyamines on physiological parameters of post- harvest quality of cut stems of Rosa 'Red Berlin'. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11, 81-93.
31. Shafiei, N., Khaleghi, E., & Moallemi, N. (2019). Effect of salicylic acid on some morphological and biochemical characteristics of olive (*Olea europaea* cv. 'Konservalia') under water stress. *Plant Production*, 42(1), 15-30. http://doi.org/10.22055/ppd.2019.22031.1477. (In Persian with English abstract)
32. Shaimaa, M. 2018. Effect of chitosan, putrescine and irrigation levels on the drought tolerance of sour orange seedlings. Egyptian Journal of Horticulture, 45 (2): 257-273.
33. Siddique, M.R.B., Hamid, A., & Islam, M.S. (2001). Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 41, 35–39.
34. Singh Gill, S., & Tuteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plant. *Plant signaling and Behavior*, 5 (1), 26-33. http://doi.org/10.4161/psb.5.1.10291.
35. Syed Sarfraz, H., Muhammad, A., Maqbool, A., & Kadambot H.M.S. (2011). Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances*, 29 (3), 300-311. http://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.003.
36. Tie, Z., Bin, P., Feifei, L.I., Xiaochuan, M.A, Mengjing, T., Xuefei, L., Yuanyuan, C., Yuewen, C., & Xiaopeng, L. (2022). Effects of Drought Stress at Enlargement Stage on Fruit Quality Formation of Satsuma Mandarin and the Law of Water Absorption and Transportation in Tree After Re-watering. Acta Horticulturae Sinica, 49(1), 11-22. http://doi.org/ 10.16420/j.issn.0513-353x.2021-0040
37. Toupchi Khosrowshahi, Zh., & Slehi-Lisar, S.Y. (2018). Physiological responses of safflower to exogenous putrescine under water deficit. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 14(3), 38-48.
38. Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: *A review Food Chemistry*, 104 (2), 466-479. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.054
39. Wu, Q.S., & Zou, Y.N. (2009). Mycorrhizal influence on nutrient uptake of citrus exposed to drought stress. *Philippin Agriculture Scientist*, 92 (1), 33-38.
40. Yin, Z. P., Li, S., Ren, J. and Song, X. S. 2014. Role of spermidine and spermine in alleviation of drought-induced oxidative stress and photosynthetic inhibition in Chinese dwarf cherry (*Cerasus humilis*) seedlings. Plant Growth Regulation, 74 (3): 209-218.
41. Yordanov, I., Velikova, V., & Tsoev, T. (2000). Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Journal of Photosynthica*, 38 (2), 171-186. http://doi.org/10.1023/A:1007201411474
42. Zandalinas, S. I., Rivero, R. M., Martínez, V., Gómez-Cadenas, A., & Arbona, V. (2016). Tolerance of citrus plants to the combination of high temperatures and drought is associated to the increase in transpiration modulated

by a reduction in abscisic acid levels. *BMC Plant Biology*, 16,105. http://doi.org/10.1186/s12870-016-0791-7

43. Zhang, K., & John, P.C.L. (2005). Raised level of cyclin dependent kinase after prolonged suspension culture of *Nicotiana plumbaginifolia* is associated with more rapid growth and division, diminished cytoskeleton and lost capacity for regeneration: implications for instability of cultured plant cells. *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, 82(3), 295-308. http://doi.org/10.1007/s11240-005-1542-x
44. Zhang, R.H., Li, J., & Guo, S.R. (2009). Effects of exogenous putrescine on gas-exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of NaCl-stressed cucumber seedlings. *Photosynthesis Research*, 100, 155–162. http://doi.org/10.1007/s11120-009-9441-3

نسخه پیش انتشار