زیست‌شناسی گیاهی، سال سوم، شماره هشتم، تابستان ۱۳۹۰، صفحه ۱۳-۲۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۸/۱۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۱۲/۲۴
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۰۳/۳۰

تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم فنل‌ها در گیاه توتون تحت تنش شوری

رقیه حاجی‌بلند * و نشمین ابراهیمی
گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

چکیده

در این پژوهش، تأثیر سدیم کلرید (غلظت ۵۰ میلی‌مولار) و دو نوع پلی‌آمین (غلظت ۰/۵ میلی‌مولار) بر روی رشد و فتوسنتز گیاه گلیکوفیت توتون (*Nicotiana rustica* L.) در محیط کشت هیدروپونیک بررسی گردید. شوری منجر به کاهش رشد گیاه منجر گردید. کاربرد پوترسین در شرایط شاهد (بدون شوری) موجب افزایش و اسپرمیدین موجب کاهش رشد آن‌ها شد. پوترسین تنها در ریشه عامل تخفیف اثر تنش شوری بود، ولی اسپرمیدین این کار را در هر دو اندام انجام داد. بدون کاربرد پلی‌آمین‌ها، شوری موجب کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a و نسبت کلروفیل a/b گردید، ولی پس از کاربرد پلی‌آمین‌ها این دو شاخص افزایش یافت. هرچند کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب کاهش تثبیت خالص CO_2 در گیاهان شاهد گردید، ولی در گیاهان تیمار شده با شوری آن را افزایش داد. مقدار فنل کل برگ‌ها تحت تأثیر تنش شوری قرار نگرفت، ولی کاربرد پوترسین در شرایط شوری موجب کاهش مقدار فنل‌ها و اسپرمیدین موجب افزایش آن گردید. فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز و پلی فنل اکسیداز در برگ‌ها تحت تأثیر شوری کاهش یافت، ولی کاربرد پلی‌آمین‌ها به ترتیب موجب افزایش و کاهش فعالیت این دو آنزیم شد. کاهش رشد در گیاهان شاهد تحت تأثیر کاربرد اسپرمیدین، احتمالاً نتیجه کاهش فتوسنتز و مقدار پروتئین و افزایش مقدار فنل‌های برگ بوده است. تخفیف اثر تنش شوری می‌تواند نتیجه بهبود برخی واکنش‌های فتوشیمیایی برگ و افزایش تبادل گاز فتوسنتزی باشد. هرچند متابولیسم ترکیبات فنلی به شدت تحت تأثیر کاربرد پلی‌آمین‌ها قرار گرفت، ولی ارتباطی بین تغییر در متابولیسم فنل‌ها و اثر تخفیف‌دهندگی پلی‌آمین‌ها دیده نشد.

واژه‌های کلیدی: توتون، تنش شوری، پلی‌آمین، ترکیبات فنلی

مقدمه

شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیر زیستی است که رشد و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گونه‌های گیاهی بر اساس توانایی رشد در شرایط شور به دو گروه هالوفیت و گلیکوفیت طبقه‌بندی می‌شوند (Pitman and Läuchli, 2004). گونه‌های زراعی مهم

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: ehsan@tabrizu.ac.ir، شماره تماس: ۰۴۱۱۳۳۹۲۷۱۹

به طور عمده گیاهان گلیکوفیت هستند که شوری عملکرد آنها را به شدت کاهش می‌دهد (Marschner, 1995). شوری ناشی از سدیم کلرید از رایج‌ترین انواع شوری در خاک‌های زراعی ایران است. گیاهان برای مقابله با شوری از روش‌های متنوعی استفاده می‌کنند تا تأثیرات ناشی از تنش را تخفیف دهند. افزایش سنتز و انباشتگی اسمولیت‌ها یکی از این روش‌هاست که موجب تداوم جذب آب شده، تنش اسمزی را تخفیف می‌دهد. از جمله اسمولیت‌های با وزن مولکولی کم می‌توان به پرولین، گلیسین بتائین و سرانجام پلی‌آمین‌ها اشاره نمود (Rhodes *et al.*, 2004).

پلی‌آمین‌ها پلی کاتیون‌های مهمی هستند که در مراحل مختلف فیزیولوژیک و نموی گیاهان نقش دارند. پلی‌آمین‌ها در القای تقسیم سلولی، جنین‌زائی، ریخت‌زائی، نمو گل، میوه و دانه و پیری نقش ایفا می‌کنند. مهمترین پلی‌آمین‌ها شامل اسپرمیدین (تری آمین) اسپرمین (تترا آمین) و پیش‌ساز آنها پوترسین (دی آمین) است. در بافت گیاهان پلی‌آمین‌ها به شکل هم‌یوغ (conjugate) با مولکول‌های آلی دیگر و یا آزاد یافت می‌شوند (Martin-Tanguy, 2001).

اخیراً نقش پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل گیاهان به تنش‌های غیر زیستی، از جمله شوری و خشکی مورد توجه قرار گرفته است (Groppa and Benavides, 2008). در بسیاری از موارد، تنش به انباشتگی پلی‌آمین‌های آزاد و هم‌یوغ منجر می‌گردد که نشان می‌دهد بیوسنتز پلی‌آمین‌ها یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاهان به تنش است (Martin-Tanguy, 2001). تحت تنش شوری، بیان ژن‌های درگیر در سنتز این آنزیم‌ها از جمله آرژینین دکربوکسیلاز و فعالیت آنها افزایش می‌یابد که موجب افزایش مقدار پلی‌آمین‌ها شده و به افزایش مقاومت به تنش شوری منجر می‌گردد. از سوی دیگر، کاهش سنتز پلی‌آمین‌ها به دلیل کاهش فعالیت آنزیم آرژینین دکربوکسیلاز باعث کاهش تحمل به شوری می‌شود (Liu *et al.*, 2008).

انواع پلی‌آمین‌ها از نظر تأثیر تخفیف تنش با یکدیگر متفاوتند. رقم‌های متحمل شوری در گیاه برنج، مقدار بالایی اسپرمیدین انباشته می‌کنند، در حالی که ارقام حساس پوترسین را انباشته می‌نمایند. به بیان دیگر در این گیاه انباشتگی بالای پوترسین و کاهش اسپرمیدین و اسپرمین همراه با حساسیت به شوری است. مشابه این نتایج در سایر گونه‌ها دیده شده و به همین دلیل برخی پژوهشگران نسبت (اسپرمیدین+اسپرمین)/ پوترسین را در تعیین پاسخ گیاه به شوری، مهم قلمداد کرده‌اند (Krishnamorthy and Bhagwat, 1989). نقش اسپرمیدین و اسپرمین در حفاظت از غشاها و ممانعت از نشت الکترولیت‌ها و اسیدهای آمینه در طی تنش شوری در گیاه جو دیده شده است (Liu *et al.*, 2006).

در کنار مطالعه نقش پلی‌آمین‌های آندوژن در ایجاد تحمل شوری، اثر کاربرد اگزوژن این ترکیبات در القای مقاومت نیز در گیاهان مختلف بررسی شده است. کاربرد پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنش شوری، از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ماکرومولکول‌ها جلوگیری می‌کند (Tang and Newton, 2005). البته، درآزمایش با پلی‌آمین‌های اگزوژن نتایج متفاوتی بسته به نوع پلی‌آمین و گیاه مورد مطالعه به دست آمده است و مشخص نیست چرا انواع مختلف پلی‌آمین‌ها

نقش‌های متفاوتی در القای تحمل تنش ایفا می‌کنند (Liu *et al.*, 2007).

همه انواع تنش‌های غیر زیستی، از جمله شوری، تنش اکسیداتیو را القا می‌کنند (Apel and Hirt, 2004). اثر آنتی‌اکسیدانتی پلی‌آمین‌ها به طور عمده به ویژگی کاتیونی آنها مربوط است که برای برداشت رادیکال‌های آزاد عمل می‌کنند و در نتیجه قادر به مهار پراکسیداسیون لیپیدها هستند. با این حال شواهد و داده‌های ضد و نقیضی در مورد نقش آنتی‌اکسیدانی پلی‌آمین‌های اگزوژن به دست آمده است. در برخی موارد این ترکیبات به عنوان پرواکسیدانت و القاکننده تنش و گاهی به عنوان آنتی‌اکسیدانت و کاهش‌دهنده رادیکال‌های آزاد معرفی شده‌اند (Groppa and Benavides, 2008). دلیل تفاوت در نقش این ترکیبات که بستگی به نوع پلی‌آمین و شرایط کاربرد آنها دارد، روشن نیست.

از میان پلی‌آمین‌ها، انواع هم‌یوغ شده با مولکول‌های دیگر، از اهمیت بیشتری در القای تحمل تنش برخوردارند. اتصال پلی‌آمین‌های آزاد به درشت مولکول‌ها، موجب حفاظت آنها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود، در حالی که نقش پلی‌آمین‌های آزاد، عمدتاً در تعادل اسمزی وpH سلولی است (Martin-Tanguy, 2001). پلی‌آمین‌ها معمولاً با ترکیبات فنلی، از جمله هیدروکسی سینامیک اسید هم‌یوغ می‌شوند. این آمیدهای فنولیک در اتصال کووالانسی به ماتریکس دیواره سلولی در ساختارهایی مانند لیگنین دیده شده‌اند. اصولا نه تنها پلی‌آمین‌ها، بلکه ترکیبات فنلی نیز به تنهایی به عنوان شاخص‌های تنش اکسیداتیو محسوب می‌شوند (Górecka *et al.*, 2007). انباشتگی انواع ترکیبات فنلی در شرایط تنشی می‌تواند به عنوان یک علامت عمل کند و برای راه‌اندازی زنجیره‌ای از واکنش‌های دیگر که در نهایت به افزایش تحمل تنش منجر می‌شوند، عمل نماید. نقش ترکیبات فنلی در دفاع آنتی‌اکسیداتیو در سلول‌های جانوری اثبات شده، ولی عمل آنها به عنوان آنتی‌اکسیدانت در سلول‌های گیاهی هنوز مورد تردید است (Anderson and Jordheim, 2005). با این حال مشاهده شده است که کاهش رشد در طی تنش‌هایی مانند سمّیت فلزات سنگین، عمدتاً به افزایش انباشتگی فنل‌ها و تسریع در پلی‌مریزه شده آنها مربوط است که موجب توقف رشد می‌شود (Schützendübel *et al.*, 2001).

به رغم اینکه دلایل مختلفی در مورد سازوکار عمل پلی‌آمین‌ها در القای تحمل تنش در طی کاربرد آنها ارائه شده است (Groppa and Benavides, 2008)، ولی تاکنون نقش احتمالی این ترکیبات از طریق ایجاد تغییراتی در متابولیسم ترکیبات فنلی مطالعه نشده است. این احتمال وجود دارد که پلی‌آمین‌های اگزوژن از طریق تغییر در متابولیسم، هم‌یوغ شدگی و یا انباشتگی فنل‌ها موجب تغییر در تحمل تنش‌ها شوند.

توتون گیاهی یک‌ساله از تیره سیب‌زمینی است. دو گونه توتون معمولی (*Nicotiana tabaccum* L.) و توتون شرقی (*Nicotiana rustica* L.) اهمیت زراعی بیشتری دارند. گسترش کشت توتون شرقی از توتون معمولی بیشتر است که به دلیل بالاتر بودن مواد مؤثره و بهتر بودن رایحه آن است (خواجه‌پور، ۱۳۸۳). توتون گیاهی گلیکوفیت بوده، به شوری بسیار حساس است و رشد آن در بیش از ۵۰ میلی‌مول سدیم کلرید که در

خاک معادل هدایت الکتریکی ۵ دسی زیمنس بر متر است، متوقف شده، گیاه می‌میرد(Marschner, 1995).

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر کاربرد پلی‌آمین در القای تحمل تنش شوری در گیاه توتون انجام گرفته است. از دو پلی‌آمین پوترسین و اسپرمیدین به دلیل وجود گزارش‌های متفاوت از تأثیر دو پلی‌آمین پوترسین و اسپرمیدین بر القای تحمل شوری، از این دو پلی‌آمین استفاده شده است. میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های مربوطه در متابولیسم این ترکیبات، تحت تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن، مورد سنجش قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

کشت، اعمال تیمارها و برداشت

بذر گیاه توتون (*Nicotiana rustica* L.) رقم باسماس (Basmas) که از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه گردید، استفاده شد. بذرها به مدت ۵ تا ۷ دقیقه با استفاده از هیپوکلریت سدیم تجاری ۵ درصد ضدعفونی شده و سپس به دفعات با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرهای ضدعفونی شده بر روی پرلیت مرطوب و در تاریکی جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند و هر روز با سولفات کلسیم ۰/۰۵ میلی‌مولار محلول‌پاشی شدند. مدت زمان لازم جهت جوانه‌زنی ۷ روز بود.

پس از ظهور برگ اولیه، دانه‌رُست‌های جوان به مدت ۲۴ ساعت به روشنایی انتقال یافته، پس از سبز شدن برگ‌ها، به محیط هیدروپونیک منتقل شدند. سپس دانه‌رُست‌های ۱۰ روزه به طور متوالی در محلول‌های غذایی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد هوگلند (Johnson *et al.*, 1957) هر کدام به مدت یک هفته سازگار شدند. دانه‌رُست‌های چهار هفته‌ای به تیمار شوری (۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید) انتقال داده شدند. یک هفته بعد، تیمار پلی‌آمین‌ها شامل کاربرد یکی از دو ترکیب پوترسین و اسپرمیدین (Sigma) با غلظت نهایی ۰/۵ میلی‌مولار به محلول غذایی آغاز شد. بنابراین تیمار شوری به مدت دو هفته و تیمار پلی‌آمین به مدت یک هفته اعمال گردید. گیاهان در اتاق رشد با شرایط دمایی ۲۰-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰-۸۰ درصد و در دوره روشنایی/ تاریکی ۷/۱۷ ساعت نگهداری شدند. محلول غذایی هر هفته یک بار تعویض و pH آن روزانه، بر روی ۶ تنظیم شد. شش هفته پس از کاشت (دو هفته پس از تیمار شوری)، گیاهان برداشت شدند و وزن تر آنها تعیین گردید.

گروه دیگری از گیاهان برای سنجش شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل و تبادل گازی بررسی شده، سپس برای سنجش رنگیزه‌ها برداشت شدند. برای اندازه‌گیری فلوئورسانس کلروفیل و شاخص‌های تبادل گاز از سومین برگ جوان استفاده شد.

سنجش شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل

تعیین فلوئورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلوئورسانس سنج (Opti-Sciences, ADC, UK) انجام شد. شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش‌یافته به تاریکی شامل F_0 (فلوئورسانس پایه) و F_m (فلوئورسانس بیشینه) و شاخص‌های فوق در برگ‌های سازش‌یافته با روشنایی شامل F_t (شدت فلوئورسانس پایه) و F_{ms} (شدت فلوئورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد. سپس محاسبات لازم برای به دست آوردن سایر شاخص‌ها از جمله کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، ظرفیت برانگیختگی

فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (q_P) و غیر فتوشیمیایی (q_N) انجام گردیدند (Oxborough, 2004).

سنجش شاخص‌های تبادل گاز

برای اندازه‌گیری شاخص‌های مختلف تبادل گاز فتوسنتزی از دستگاه (LCA4, ADC, UK) استفاده شد. شاخص‌ها شامل شدت فتوسنتز (A) بر حسب $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$، تعرق (E) بر حسب $mol\ m^{-2}s^{-1}$ و هدایت روزنه‌ای (gs) بر حسب $mol\ m^{-2}s^{-1}$ سنجش گردیدند.

سنجش رنگیزه‌ها و مقدار فنل کل

برای سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو و بر روی کاغذ صافی خشک شدند. استخراج رنگیزه با استفاده از حلال یا بافر استخراج مربوطه بر روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل به وسیله اسپکتروفتومتر،پس از ۲۴ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت کلروفیل a، b و کل طبق فرمول‌های مربوطه محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

برای سنجش مقدار فنل کل، عصاره حاصل از استخراج در حلال متانول/ کلریدریک اسید ۲:۹۸ (v/v) به مدت ۲۰ دقیقه در g ۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سنجش فنل کل در محلول روشناور با استفاده از معرف فولین شیکالتو (Folin-Ciocalteu) در ۷۶۰ نانومتر انجام شد. جهت تهیه محلول‌های استاندارد از غلظت‌های ۰ تا ۱۲ میکرومولار گالیک اسید استفاده شد. نتایج بر حسب $mg\ gallic\ acid\ g^{-1}\ FW$ ارائه گردید (Plessi *et al.*, 2007).

سنجش فعالیت آنزیم‌ها و مقدار پروتئین کل

برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL, EC 4.3.1.5) نمونه‌های گیاهی در بافر استخراج شامل بافر بورات (۱۰ میلی‌مولار و اسیدیته ۷) و ۰/۱ گرم پلی وینیل پیرولیدون و ۲- مرکاپتواتانل (۱/۴ میلی‌مولار) در دمای یخ هموژن شده و سپس سانتریفیوژ گردیدند. فعالیت آنزیم در عصاره گیاه در بافر بورات (اسیدیته ۸/۸) واجد L-فنیل آلانین (۱۲ میلی‌مولار) پس از قرار گرفتن در حمام آب در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه با تشکیل سینامیک اسید سنجش گردید. فعالیت آنزیم با استفاده از تغییر جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید و بر حسب $\mu mol\ trans\text{-cinnamic acid}\ min^{-1}\ mg^{-1}\ protein$ محاسبه گردید (Dickerson *et al.*, 1984).

برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO, EC 1.14.18.1) نمونه‌های گیاهی در بافر فسفات (۲۰۰ میلی‌مول و اسیدیته ۶/۵) و در دمای یخ هموژن و سپس سانتریفیوژ گردیدند. بافر فسفات واجد ۱۰ میلی‌مولار پیروگالل در حمام آب در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفته، سپس عصاره آنزیم به محلول واکنشی گرم اضافه شد. تغییر جذب در طول موج ۳۳۴ نانومتر به مدت ۲ دقیقه دنبال شد و فعالیت آنزیم با استفاده از محاسبه تغییر در جذب در طی یک دقیقه ($\Delta Abs\ min^{-1}\ g^{-1}\ Pro.$) گزارش گردید (Singh *et al.*, 1999).

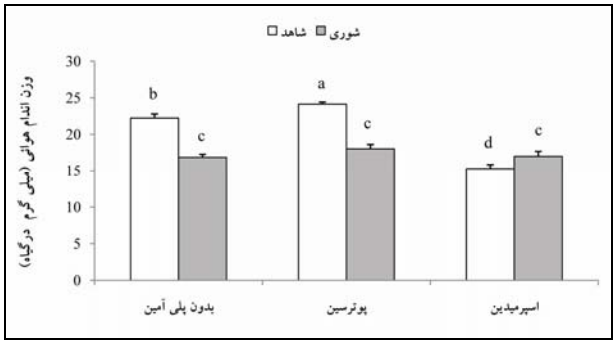
پروتئین کل با استفاده از روش برادفورد با استفاده از سرم آلبومین گاوی (Merck) به عنوان استاندارد و معرف تجاری برادفورد (Sigma) سنجش گردید (Bradford, 1976).

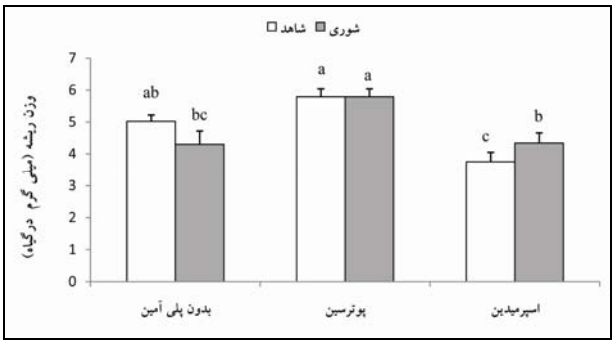
طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

آزمایش در طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با دو عامل شامل دو سطح شوری و سه سطح از کاربرد پلی‌آمین‌ها اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار Sigma Stat (نسخه ۳/۰۲) و با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵٪ انجام گردید.

نتایج

شوری در گیاهانی که با پلی‌آمین‌ها تیمار نشده بودند، سبب کاهش وزن اندام هوایی گیاهان تا ۲۴ درصد گردید (شکل ۱). کاربرد پلی‌آمین‌ها در گیاهان شاهد بسته به نوع پلی‌آمین نتیجه متفاوتی داشت. پوترسین موجب افزایش وزن اندام هوایی و اسپرمیدین موجب کاهش آن شد. در حضور پوترسین اثر منفی شوری بر رشد گیاهان ۲۵ درصد بود و در نتیجه، تفاوتی با گیاهان بدون کاربرد پلی‌آمین‌ها نداشت. درگیاهان تیمار شده با اسپرمیدین، هرچند خود تحت تأثیر کاربرد این پلی‌آمین رشد کمتری داشتند، ولی وزن آنها به صورت معنی‌داری در شرایط شوری بیش از شاهد بود. رشد ریشه در غیاب پلی‌آمین‌های اگزوژن تحت تأثیر شوری قرار نگرفت ولی مشابه اندام هوایی، کاربرد پوترسین موجب افزایش و کاربرد اسپرمیدین موجب کاهش آن شد. اثر تخفیف‌دهندگی کاربرد پلی‌آمین‌ها بر رشد ریشه گیاهان در شرایط شور، مشابه اندام هوایی تنها درمورد اسپرمیدین مشاهده شد (شکل ۱).





شکل ۱- تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن بر وزن اندام هوایی و ریشه در گیاه توتون شاهد و تحت تیمار شوری (۵۰ میلی‌مول سدیم کلرید). تفاوت بین ستون‌هایی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، معنی‌دار نبوده است ($P<0.05$).

تیمار شوری در غیاب پلی‌آمین‌های اگزوژن سبب کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a گردید، در حالی که تأثیر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b نداشت (جدول ۱). به همین دلیل، نسبت کلروفیل a/b درگیاهان تحت تنش شوری کاهش یافت. در حضور پوترسین اگزوژن مقدار کلروفیل a در هر دو گروه شاهد و شوری افزایش معنی‌داری نشان داد و در مورد کلروفیل b این افزایش در گیاهان شاهد معنی‌دار بود. برعکس پوترسین، اسپرمیدین اگزوژن موجب

تغییر در مقدار کلروفیل a گیاهان شاهد نشد، ولی مشابه پوترسین باعث چنین افزایشی در گیاهان تیمار شده با شوری در مقایسه با برگ‌ها در غیاب پلی‌آمین‌ها گردید.

کارآیی بیشینه فتوسیستم II به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری یا تیمار پلی‌آمین قرار نگرفت، ولی ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II در گیاهان تیمار شده با شوری کاهش یافت. هر دو پلی‌آمین در شرایط شوری، ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II را افزایش دادند. شوری موجب کاهش خاموش‌شدگی فتوشیمیایی و غیر فتوشمیایی گردید و بر خلاف تأثیری که بر روی ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II داشت، کاربرد پلی‌آمین‌ها نه تنها این شاخص‌ها را بهبود نبخشید، بلکه موجب کاهش ملایم و یا معنی‌دار آنها در هر دو گروه شاهد و شوری گردید (جدول ۱).

جدول ۱- تأثیر کاربرد دو نوع پلی‌آمین بر مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل (mg g^{-1} FW) و نسبت کلروفیل a/b و شاخص‌های مختلف فلوئورسانس کلروفیل شامل کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستمII (F_v/F_m)، ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش‌شدگی فتوشیمیایی (q_P) و غیرفتوشیمیایی (q_N) در گیاه توتون تحت تیمار شاهد و شوری (۵۰ میلی‌مول سدیم کلرید). تفاوت بین داده‌های مربوط به یک ستون که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، معنی‌دار نبوده است ($P<0.05$).

نوع تیمار	تیمار پلی‌آمین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کلروفیل a/b
شاهد	بدون پلی‌آمین	۱/۵۳±۰/۰۳ b	۰/۶۱±۰/۰۱ b	۲/۲۱±۰/۰۴ b	۲/۵۳±۰/۰۶ a
	پوترسین	۱/۷۶±۰/۰۴ a	۰/۷۰±۰/۰۵ a	۲/۵۳±۰/۱۰ a	۲/۵۲±۰/۱۳ a
	اسپرمیدین	۱/۵۴±۰/۱۱ b	۰/۶۰±۰/۰۴ b	۲/۱۹±۰/۱۵ b	۲/۵۵±۰/۰۳ a
شوری	بدون پلی‌آمین	۱/۲۷±۰/۰۸ c	۰/۵۹±۰/۰۲ b	۲/۰۴±۰/۰۸ b	۲/۱۳±۰/۰۴ b
	پوترسین	۱/۵۰±۰/۰۵ b	۰/۶۱±۰/۰۶ b	۲/۲۲±۰/۰۸ b	۲/۴۸±۰/۲۸ a
	اسپرمیدین	۱/۵۶±۰/۰۷ b	۰/۶۲±۰/۰۳ ab	۲/۲۱±۰/۱۵ b	۲/۵۴±۰/۰۲ a
		F_v/F_m	F'_v/F'_m	q_P	q_N
شاهد	بدون پلی‌آمین	۰/۸۳۹±۰/۰۰۵ a	۰/۵۹±۰/۰۱ b	۰/۸۷۰±۰/۰۰۶ a	۰/۳۳۸±۰/۰۲۶ a
	پوترسین	۰/۸۴۱±۰/۰۰۳ a	۰/۶۱±۰/۰۱ ab	۰/۷۹۰±۰/۰۱۸ bc	۰/۲۴۲±۰/۰۱۸ bc
	اسپرمیدین	۰/۸۴۸±۰/۰۰۳ a	۰/۶۰±۰/۰۱ b	۰/۷۹۸±۰/۰۰۶ bc	۰/۲۶۱±۰/۰۰۷ b
شوری	بدون پلی‌آمین	۰/۸۳۴±۰/۰۱۰ a	۰/۵۴±۰/۰۱ c	۰/۸۱۶±۰/۰۱۲ b	۰/۲۵۶±۰/۰۱۷ bc
	پوترسین	۰/۸۲۶±۰/۰۳۵ a	۰/۶۳±۰/۰۱ a	۰/۷۶۲±۰/۰۰۶ c	۰/۲۲۲±۰/۰۰۷ c
	اسپرمیدین	۰/۸۵۰±۰/۰۰۴ a	۰/۶۱±۰/۰۲ ab	۰/۷۹۵±۰/۰۲۴ bc	۰/۲۵۴±۰/۰۱۵ bc

شوری سبب کاهش ۳۹ درصدی در شدت تثبیت خالص CO_2 گردید که همراه با کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش تعرق بود. تثبیت خالص CO_2 در گیاهان شاهد با کاربرد پلی‌آمین‌ها کاهش یافت. این کاهش تحت تأثیر تیمار پوترسین بیش از آن بر اثر کاربرد اسپرمیدین بود. کاهش فتوسنتز خالص تحت تأثیر پلی‌آمین‌ها همراه با کاهش هدایت روزنه‌ای نبود. در گیاهان تیمار شده با شوری، برعکس، کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب افزایش تثبیت خالص CO_2، هدایت روزنه‌ای و تعرق برگ‌ها گردید (جدول ۲).

جدول ۲- تأثیر کاربرد دو نوع پلی‌آمین بر مقدار شاخص‌های تبادل گاز شامل فتوسنتز (A ($\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$)، تعرق (E ($mol\ m^{-2}s^{-1}$) و هدایت روزنه‌ای (g_s ($mol\ m^{-2}s^{-1}$) در گیاه توتون تحت تیمار شاهد و شوری (۵۰ میلی‌مول سدیم کلرید). تفاوت بین داده‌های مربوط به یک ستون که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، معنی‌دار نبوده است ($P<0.05$).

نوع تیمار	تیمار پلی‌آمین	A	E	g_s
شاهد	بدون پلی‌آمین	۵/۶۵±۰/۰۸ a	۱/۰۹±۰/۱۵ a	۱/۰۶±۰/۷۹ ab
	پوترسین	۴/۳۸±۰/۰۶ c	۱/۱۸±۰/۱۰ a	۱/۵۹±۰/۷۷ ab
	اسپرمیدین	۴/۹۰±۰/۰۵ b	۱/۲۵±۰/۰۷ a	۱/۹۶±۰/۶۴ ab
شوری	بدون پلی‌آمین	۳/۴۷±۰/۰۶ d	۰/۷۶±۰/۰۸ b	۰/۳۴±۰/۰۸ b
	پوترسین	۵/۰۵±۰/۱۶ b	۱/۲۶±۰/۱۲ a	۲/۷۴±۱/۶۶ a
	اسپرمیدین	۵/۴۶±۰/۱۴ a	۱/۲۷±۰/۰۴ a	۲/۲۱±۰/۶۴ ab

مقدار فنل کل برگ‌ها تحت تأثیر تنش شوری قرار نگرفت و تأثیر پلی‌آمین‌ها به نوع آنها بستگی داشت. پوترسین در گیاهان شاهد تأثیری بر مقدار کل فنل‌های برگ نداشت، ولی در شرایط شوری موجب کاهش غلظت فنل‌ها شد. برعکس، اسپرمیدین سبب افزایش ترکیبات فنلی برگ هم در شرایط شاهد و هم در تیمار شوری گردید. در ریشه‌ها، نه تنها شوری موجب کاهش فنل کل گردید، بلکه هر دو نوع پلی‌آمین به کار رفته نیز این کاهش را تشدید کردند (جدول ۳).

فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز برگ‌ها تحت تأثیر شوری تا ۲۰ درصد کاهش یافت. کاربرد پلی‌آمین‌ها بسته به تیمار، تأثیر متفاوتی روی فعالیت این آنزیم داشت. در گیاهان شاهد کاهش معنی‌دار و در گیاهان تیمار شده با شوری افزایش معنی‌دار در فعالیت این آنزیم تحت تأثیر کاربرد پلی‌آمین‌ها مشاهده شد. اثر کاربرد اسپرمیدین در هر دو کاهش و افزایش فعالیت آنزیم، چشمگیرتر از اثر پوترسین بود. بر خلاف اندام هوایی، شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز ریشه شد و کاربرد اسپرمیدین نیز موجب افزایش فعالیت در هردو تیمار شوری و شاهد گردید. پوترسین بر خلاف اسپرمیدین فعالیت این آنزیم را کاهش داد که درگیاهان تحت تنش شوری این اثر معنی‌دار بود (جدول ۳).

مشابه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز، شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گردید. تأثیر مشابهی نیز توسط کاربرد پلی‌آمین‌ها مشاهده شد و اثر اسپرمیدین مشابه آنچه برای آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز مشاهده شده بود، بیش از اثر پوترسین بوده است. در ریشه برخلاف برگ‌ها، شوری موجب افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز گردید و کاربرد پلی‌آمین‌ها نیز سبب افزایش این فعالیت شد و اثر اسپرمیدین بیش از اثر پوترسین بوده است. در عین حال، مقایسه بین تیمارهای شاهد و شوری پس از کاربرد اسپرمیدین نشان داد که فعالیت این آنزیم در شرایط شوری کاهش می‌یابد. مشابه این تأثیر در برگ‌ها نیز دیده شد (جدول ۳).

مقدار پروتئین کل برگ‌ها و ریشه به دنبال تیمار شوری تا ۳۰ درصد کاهش یافت. کاربرد پلی‌آمین‌ها نیز چنین تأثیری را بر روی مقدار کل پروتئین گیاهان داشت. تأثیر اسپرمیدین در کاهش مقدار پروتئین کل بیش از اثر کاربرد پوترسین بود (جدول ۳).

جدول ۳- تأثیر کاربرد دو نوع پلی‌آمین بر مقدار فنل کل (mg gallic acid g^{-1} FW)، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (nmol trans-cinnamic acid min^{-1} mg^{-1} pro.)، پلی فنل اکسیداز (ΔAbs min^{-1} g^{-1} pro.) و مقدار پروتئین کل (mg g^{-1} FW) در گیاه توتون تحت تیمار شاهد و شوری (۵۰ میلی‌مول سدیم کلرید). تفاوت بین داده‌های مربوط به یک ستون که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، معنی‌دار نبوده است ($P<0.05$).

نوع تیمار	تیمار پلی‌آمین	فنل کل	فنیل آلانین آمونیالیاز	پلی فنل اکسیداز	پروتئین کل
			اندام هوایی		
شاهد	بدون پلی‌آمین	۸/۴۲±۰/۳۵ c	۲۶۸۶±۱۳۵ a	۵۹±۲ a	۴۱۴±۶ a
	پوترسین	۷/۶۴±۰/۲۸ c	۲۴۰۹±۱۴۸ b	۵۴±۱ b	۳۴۲±۸ b
	اسپرمیدین	۱۰/۸۹±۱/۷۲ b	۱۶۷۷±۵۴ d	۴۴±۲ d	۲۹۸±۷ cd
شوری	بدون پلی‌آمین	۸/۶۷±۰/۲۶ c	۲۱۶۳±۶۱ c	۴۷±۲ cd	۲۹۱±۷ d
	پوترسین	۵/۹۰±۰/۳۱ d	۲۴۶۴±۹۱ ab	۵۰±۲ c	۳۳۳±۶ b
	اسپرمیدین	۱۷/۱۲±۰/۱۴ a	۲۶۱۴±۸۲ ab	۳۵±۲ e	۳۰۹±۳ c
			ریشه		
شاهد	بدون پلی‌آمین	۸/۷۵±۰/۱۱ a	۷۴±۳ c	۱۴۳±۳ d	۳۶۱±۱۲ a
	پوترسین	۵/۲۵±۰/۱۴ e	۷۰±۲ cd	۱۵۷±۵ cd	۳۰۰±۸ c
	اسپرمیدین	۶/۵۲±۰/۱۱ d	۹۴±۴ a	۲۳۲±۱۰ a	۲۴۱±۱۱ e
شوری	بدون پلی‌آمین	۷/۰۱±۰/۱۸ c	۸۲±۲ b	۱۵۶±۵ cd	۲۷۵±۵ d
	پوترسین	۶/۴۷±۰/۱۸ d	۶۷±۱ d	۱۷۰±۵ c	۳۲۲±۱۰ b
	اسپرمیدین	۶/۴۹±۰/۰۷ d	۹۲±۲ a	۱۹۴±۱۰ b	۲۶۹±۹ d

بحث

رشد گیاه توتون تحت تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار، کاهش چشمگیری نشان داد. توتون گیاهی حساس به شوری است و رشد آن به شدت تحت تأثیر نمک قرار می‌گیرد (Marschner, 1995). در پژوهش حاضر نیز غلظت‌های ۷۵ میلی‌مولار نمک و بالاتر موجب مرگ گیاهان شد (مشاهدات شخصی) و به همین دلیل حداکثر غلظت نمک برای مطالعه اثر شوری در این گیاه در محدوده ۵۰ میلی‌مولار انتخاب شد.

کاربرد پلی‌آمین‌ها روی رشد گیاهان در شرایط شاهد مؤثر بود که به نوع پلی‌آمین بستگی داشت. نقش پوترسین در افزایش رشد گیاهان در شرایط شاهد احتمالاً مربوط به اثر آنتی‌اکسیداتیو، کمک به تعادل کاتیون-آنیون (Tang and Newton, 2005) و یا احتمالاً عمل به عنوان منبع ازت بوده است. از سوی دیگر، اثر منفی کاربرد اسپرمیدین روی رشد گیاهان که دارای یک گروه آمینی بیشتر نسبت به پوترسین است، می‌تواند به دلایلی از جمله تحریک سنتز بازدارنده‌های رشد مانند اتیلن باشد (Gallardo *et al.*, 1996). دلیل احتمالی دیگر افزایش فعالیت پلی‌آمین اکسیدازها و تولید پراکسید ئیدروژن و اختلال در پتانسیل عرض غشائی میتوکندری‌هاست (Seiler, 2004). دلایل احتمالی دیگر در ادامه بحث ذکر خواهد شد.

بررسی اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها بر شرایط شوری، نشان داد که پوترسین تنها در ریشه عامل تخفیف اثر تنش شوری

است، ولی اسپرمیدین این کار را در هر دو اندام انجام می‌دهد. رشد گیاهان تحت تیمار مضاعف شوری و اسپرمیدین بیشتر از رشد گیاهان در شرایط فاقد نمک بوده است. می‌توان این تأثیر را به دلیل عمل پلی‌آمین‌ها به عنوان اسموتیکوم و نیز برقرار کردن تعادل بار (Zhu *et al.*, 2006) قلمداد کرد. این داده‌ها تفاوت بین عمل پلی‌آمین‌های مختلف را در رشد گیاهان و نیز تخفیف تنش نشان می‌دهد.

بررسی شاخص‌های فلوئورسانس کلروفیل و رنگیزه‌ها پیشنهاد می‌کند که کاهش مقدار کلروفیل a در طی تیمار شوری دلیل عمده کاهش ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II بوده است؛ به گونه‌ای که افزایش معنی‌دار در مقدار کلروفیل a توسط کاربرد پلی‌آمین‌های اگزوژن نیز در شرایط شوری موجب افزایش ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II گردید. مقدار کلروفیل a در مراکز واکنشی یکی از عوامل تعیین‌کننده کارآیی عملی یا ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II است (Oxborough, 2004). با این حال، کاهش خاموش‌شدگی فتوشیمیایی که معیاری برای انتقال الکترون به سمت واکنش‌های بیوشیمیایی فتوسنتز است و نیز خاموش‌شدگی غیر فتوشیمیایی که شاخص جلوگیری از آسیب الکترون‌های مازاد و تبدیل انرژی آنها به حرارت است (Oxborough, 2004)، نه تنها تحت تأثیر شوری کاهش یافت، بلکه کاربرد پلی‌آمین‌ها نیز موجب کاهش بیش از پیش آنها گردید. اصولاً کاهش خاموش‌شدگی فتوشیمیایی می‌تواند به دلیل آسیب فتوسیستم II باشد که می‌تواند به دلیل مهار نوری که یکی از دلایل آن کاهش کلروفیل (Pätsikkä *et al.* 2002) و نیز کاهش همزمان خاموش‌شدگی غیر فتوشیمیایی تحت تأثیر شوری است، اتفاق افتد. با این حال به دلیل اینکه کاربرد پلی‌آمین‌ها موجب افزایش کلروفیل a گردید، احتمال می‌رود در این مورد تنها سازوکار دوم؛ یعنی کاهش خاموش‌شدگی غیر فتوشیمیایی عمل کرده باشد. در واقع، افزایش ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II تحت تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن، موجب افزایش الکترون‌های پرانرژی در محل مراکز واکنشی شده و به دلیل کاهش همزمان خاموش‌شدگی غیر فتوشمیایی افزایش آسیب را سبب گردیده است. کاهش خاموش شدگی غیر فتوشیمیایی می‌تواند به دلیل کاهش رنگیزه‌های مسؤول از جمله کاروتنوئیدها باشد (Müller *et al.*, 2001).

بسته شدن روزنه‌ها در شرایط شوری به دلیل مقابله با اتلاف بیشتر آب و کاهش پتانسیل آب بافت‌های تحت تأثیر شوری است و در بسیاری دیگر از گونه‌ها نیز دیده شده است (Tattini *et al.*, 1999). با این حال، تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن بر روی تبادل گاز فتوسنتزی تاکنون بررسی‌های زیادی را به خود اختصاص نداده است. در پژوهش حاضر، تحت تأثیر پلی‌آمین‌ها، فتوسنتز گیاهان تیمار شده با شوری افزایش یافت که با تغییر رفتار روزنه‌ها بر اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها سازگار بود. در گیاهان تیمار شده با شوری، پلی‌آمین‌ها با باز کردن روزنه‌ها نه تنها تعرق را افزایش دادند، بلکه موجب افزایش تثبیت خالص CO_2 نیز شدند. احتمال می‌رود این کار به دلیل عمل پلی‌آمین‌ها به عنوان اسموتیکوم و افزایش تورژسانس سلول‌های روزنه و گشودگی آنها رخ داده باشد. نقش پلی‌آمین‌ها به عنوان اسمولیت‌های سازگار در سایر بافت‌های گیاهان گزارش شده است (Zhu *et al.*, 2006). هرچند نقش اختصاصی پلی‌آمین‌ها در سلول‌های روزنه تاکنون بررسی نشده است، لیکن افزایش فعالیت پمپ‌های پروتون تونوپلاستی در سلول‌های ریشه تحت تأثیر پلی‌آمین‌های اگزوژن مشاهده

شده است (Liu *et al.*, 2006) که به نوبه خود عامل افزایش جذب یون‌ها به داخل واکوئل‌هاست. با این حال، پلی‌آمین‌های اگزوژن در گیاهان شاهد نه تنها تثبیت خالص را افزایش ندادند، بلکه موجب کاهش معنی‌دار آن نیز شدند. با توجه به اینکه این کار همراه با کاهش هدایت روزنه‌ای نبود، احتمال می‌رود پلی‌آمین‌های اگزوژن اثر خود را از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های مسؤول تثبیت CO_2 انجام دهند. علت این تأثیر احتمالی مشخص نیست و شایسته بررسی‌های بیشتر است. با این حال، به نظر می‌رسد به دلیل اینکه پلی‌آمین‌های اگزوژن موجب کاهش اثر شوری در بستن روزنه‌ها شده اند، مانع از ظهور اثر این سازوکار در گیاهان تحت تیمار شوری گردیده‌اند.

افزایش مقدار فنل‌های برگ تحت تأثیر اسپرمیدین، احتمالاً یکی از دلایل کاهش رشد گیاهان تحت تأثیر این پلی‌آمین بوده است، در حالی که پوترسین چنین نقشی نداشت. اصولاً انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی است (Hirt and Shinozaki, 2004) که موجب کاهش رشد می‌گردد.

آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز شروع کننده مسیر سنتزی ترکیبات فنلی است و آنزیم پلی فنل اکسیداز موجب تبدیل ترکیبات فنلی به کوئینون‌هاست که تحت تابش نور می‌توانند به انواع رادیکال‌های آزاد تبدیل شده، موجب آسیب سلول‌ها شوند (Marschner, 1995). در بررسی حاضر ارتباط مشخصی بین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز و انباشتگی فنل‌ها دیده نشد.برای مثال، افزایش فعالیت این آنزیم تحت تأثیر شوری اثری روی مقدار فنل‌ها در این تیمار نداشت. البته به دلیل اینکه در این پژوهش تنها فنل‌های محلول مورد سنجش قرار گرفته‌اند، نمی‌توان اثر افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز را بر مقدار فنل‌های متصل به دیواره منتفی دانست. تأثیر پلی‌آمین‌ها روی فعالیت این آنزیم که در شرایط شاهد و شوری در جهت متفاوت بود، نشان داد که کاربرد پلی‌آمین‌ها متابولیسم فنل‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. اهمیت این تأثیر در تعیین اثر تخفیف‌دهندگی این ترکیبات معلوم نیست، به گونه‌ای که بین پاسخ رشدی گیاهان به کاربرد پلی‌آمین‌ها در شرایط شوری و فعالیت این آنزیم نمی‌توان ارتباطی یافت.

به طور مشابه در مورد پلی فنل اکسیداز ارتباطی بین اثر پلی‌آمین‌ها روی رشد یا تخفیف تنش با فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز دیده نشد؛ به گونه ای که هم شوری و هم پلی‌آمین‌ها هردو موجب کاهش فعالیت این آنزیم در برگ‌ها و افزایش آن در ریشه شدند. کاهش مقدار پروتئین بر اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها می‌تواند علت دیگر کاهش رشد ناشی از کاربرد این ترکیبات باشد.

جمع‌بندی

رشد گیاهان تحت تأثیر شوری به شدت کاهش یافت. در عین حال، در غیاب شوری کاربرد اسپرمیدین نیز موجب کاهش رشد گیاهان گردید. علی رغم اثر منفی روی رشد گیاهان، کاربرد پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنش شوری موجب تخفیف اثر تنش گردید. هرچند متابولیسم ترکیبات فنلی تحت تأثیر کاربرد پلی‌آمین‌ها قرار گرفت، ولی ارتباطی بین تغییر در متابولیسم فنل‌ها و اثر تخفیف‌دهندگی پلی‌آمین‌ها دیده نشد.

منابع

خواجه‌پور، م. ر. (۱۳۸۳) گیاهان صنعتی. مرکز نشر جهاد دانشگاهی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

Anderson, O. M. and Jordheim, M. (2005) The anthocyanins. In: Flavonoids: Chemistry, biochemistry and applications (eds. Anderson, O. M. and Markham, K. R.) 471-553. CRC Press, London.

Apel, K. and Hirt, H. (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review of Plant Biology 55: 373-399.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Dickerson, D. P., Pascholati, S. F., Hagerman, A. E., Butler, L. G. and Nicholson, R. L. (1984) Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxyl cinnamate CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. Physiological Plant Patholgy 25: 111-123.

Gallardo, M., Sanchez-Calle, J., Rueda P. M. D. and Matilla, A. J. (1996) Alleviation of thermoinhibition in chickpea seeds by putrescine involves the ethylene pathway. Australian Journal of Plant Physiology 23: 479-487.

Górecka, K., Cvikrová, M., Kowalska, U., Eder, J., Szafrańska, K., Górecki, R. and Janas, K. M. (2007) The impact of Cu treatment on phenolic and polyamine levels in plant material regenerated from embryos obtained in anther culture of carrot. Plant Physiology and Biochemistry 45: 54-61.

Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids 34: 35-45.

Hirt, H. and Shinozaki, K. (2004) Plant responses to abiotic stress (Vol. 4). Springer Verlag, Netherlands.

Johnson, C. M., Stout, P. R., Broyer, T. C. and Carlton, A. B. (1957) Comparative chloride requirements of different plant species. Plant and Soil 8: 337-353.

Krishnamorthy, R. and Bhagwat, K. A. (1989) Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. Plant Physiology 91: 500-504.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biological Society Transactions 11: 591-592.

Liu, J. H., Inoue, H. and Moriguchi, T. (2008) Salt stress-induced changes in free polyamine titers and expression of genes responsible for polyamine biosynthesis of apple *in vitro* shoots. Environmental Experimental Botany 62: 28-35.

Liu, J., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y. and Morigushi, T. (2007) Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. Plant Biotechnology 24: 117-126.

Liu, J., Yu, B. J. and Liu, Y. L. (2006) Effects of spermidine and sperimine levels on salt tolerance associated with tonoplast H^+ ATPase and H^+-PPase activities in barley roots. Plant Growth Regulation 49: 119-126.

Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed, Academic Press, London.

Martin-Tanguy, J. (2001) Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). Plant Growth Regulation 34: 135-148.

Müller, P., Li, X. P. and Niyogi, K. K. (2001) Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiology 125: 1558-1566.

Oxborough, K. (2004) Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. Journal of Experimental Botany 55: 1195-1205.

Pätsikkä, E., Kairavuo, M., Šeršen, F., Aro, E. M. and Tyystjärvi, E. (2002) Excess copper predisposes photosystem II to photoinhibition *in vivo* by outcompeting iron and causing

decrease in leaf chlorophyll. Plant Physiology 129: 1359-1367.

Pitman, M. and Läuchli, A. (2004) Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Salinity: Environment-plants-molecules (eds. Läuchli, A. and Lüttge, U.) 3-20. Springer Verlag, Netherlands.

Plessi, M., Bertelli, D. and Albasini, A. (2007) Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. Food Chemistry 100: 419-427.

Rhodes, D., Nadolska-Orczyk, A. and Rich, P. J. (2004) Salinity, osmolytes and compatible solutes. In: Salinity: Environment-plants-molecules (eds. Läuchli, A. and Lüttge, U.) 181-204. Springer Verlag, Netherlands.

Schützendübel, A., Schwanz, P., Teichmann, T., Gross, K., Langenfeld-Heyser, R., Godbold, D. L. and Polle, A. (2001) Cadmium-induced changes in antioxidative systems, hydrogen peroxide content, and differentiation in scots pine roots. Plant Physiology 127: 887-898.

Seiler N. (2004) Catabolism of polyamines. Amino Acids 26: 217-33.

Singh, N., Singh, R., Kaur, K. and Singh, H. (1999) Studies of the physioco-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. Food Chemistry 66: 241-247.

Tang, W. and Newton, J. R. (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation 46: 31-43.

Tattini, M., Marzi, L., Tafani, R. and Traversi, M. L. (1999) A review on salinity-induced changes in leaf gas exchange parameters of olive plants. Acta Horticulturae (ISHS) 474: 415-418.

Zhu, H., Ding, G. H., Fang, K., Zhao, F. G. and Qin, P. (2006) New perspective on the mechanism of alleviating salt stress by spermidine in barley seedlings. Plant Growth Regulation 49: 147-156.

Growth, photosynthesis and phenolics metabolism in tobacco plants under salinity and application of polyamines

Roghieh Hajiboland * and Nashmin Ebrahimi

Department of Plant Science, Faculty of Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Abstract

The Effect of salinity (50 mM NaCl) and exogenous putresine and spermidine (0.5 mM) on growth and photosynthesis of tobacco (*Nicotiana rustica* L) plants were studied in hydroponic medium. Salinity caused reduction of plants growth. Application of putresine increased dry weight of control plants while exogenous spermidine decreased it. Exogenous putresine ameliorated salinity stress only in roots, but spermidine exerted this effect on both shoot and roots. In the absence of polyamines, salinity decreased chlorophyll a significantly and chlorophyll a/b ratio as well but application of polyamines increased these parameters. Salinity caused reduction of net CO_2 assimilation rate. Under control conditions, polyamines reduced net CO_2 assimilation ratebut the rate was increased in the treated plants. Total leaf phenolics was not influence by salinity, but application of putresine in salinity conditions reduced phenolic contents and of spermidine increased total phenolics of leaves. The activities of leaf phenylalanine ammonia lyase and polyphenol oxidase decreased in salinized plants, while exogenous polyamines increase and decrease in their activity, respectively. Growth impairment due to exogenous spermidine in control plants could be resulted from reduction of photosynthesis and increase of leaf phenolics. In spite of a negative effect of exogenous spermidine on growth of control plants, application of both polyamines ameliorated salinity stress. This effect was likely mediated by the improvement of leaf photochemical parameters and increase of CO_2 assimilation. Phenolics metabolism was greatly influenced by exogenous polyamines, however, no correlation was found between ameliorative effect of polyamines and changes in the phenolics metabolism.

Key words: Tobacco, Salinity stress, Polyamines, Phenolics

***** Correspong Author: ehsan@tabrizu.ac.ir