تأثیر شوری ملایم و کاربرد پلی آمینها بر رشد، فتوسنتز و متابولیسم فنلها در گیاه سدیم پسند چغندر قند

رقیه حاجی بلند* و نشمین ابراهیمی

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه زیست شناسی گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۲۰

چکیده

تأثیر غلظت پائین (۲۵ میلی مولار) سدیم کلرید بر روی رشد و فتوسنتز گیاه سدیم پسند چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) در محیط هیدروپونیک مورد بررسی قرار گرفت. به منظور مطالعه اثر کاربرد پلی آمینها روی پاسخ رشدی گیاهان به شوری ملایم، پوترسین و اسپرمیدین در غلظت ۰/۵ میلی مولار به محیط ریشه افزوده شد. تحت تأثیر شوری ملایم، رشد اندام هوایی و ریشه ۳۷ و ۵۸ درصد به ترتیب در اندام هوایی و ریشه تحریک شد. کاربرد پوترسین در شرایط شاهد تأثیر معنی داری روی رشد ریشه یا اندام هوایی نداشت، ولی اسپرمیدین موجب کاهش معنی دار رشد اندام هوایی گردید. به همین ترتیب تأثیر مثبت شوری ملایم بر رشد گیاهان، در حضور اسپرمیدین کاهش یافت. مقدار کلروفیل a،b و کلروفیل کل به صورت معنی داری در تیمار شوری افزایش یافت. کاربرد پوترسین موجب افزایش این پارامترها تنها در گیاهان شاهد شد، ولی کاربرد اسپرمیدین در هیچ کدام از گیاهان شاهد و یا تیمار شوری تأثیری نشان نداد. پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل تحت تأثیر تیمار شوری و یا کاربرد پلی آمینها قرار نگرفت. تثبیت خالص CO_2 تحت تأثیر تیمار شوری به صورت معنی داری افزایش یافت که همراه با افزایش هدایت روزنه ای بود. کاربرد پوترسین موجب کاهش تثبیت خالص CO_2 در هر دو گروه گیاهان شاهد و تیمار شوری گردید. برعکس، اسپرمیدین موجب افزایش تثبیت خالص CO_2 در گیاهان شاهد و کاهش آن در تیمار شوری شد. شوری موجب تغییری در مقدار فنلهای برگ نشد، ولی کاربرد هردو پلی آمین موجب افزایش آن گردید. فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز برگها تحت تأثیر شوری قرار نگرفت، ولی کاربرد پلی آمینها موجب افزایش فعالیت این آنزیم البته تنها در شرایط شاهد گردید. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ نیز تحت تأثیر شوری قرار نگرفت، در حالی که کاربرد اسپرمیدین موجب افزایش فعالیت این آنزیم در هر دو گروه شاهد و شوری شد. شوری موجب کاهش مقدار پروتئین کل گیاهان گردید و تیمار پلی آمینها نیز این کاهش را تشدید نمود. نتایج پیشنهاد می دهد که تحریک رشد در شوری ملایم به دلیل افزایش هدایت روزنه ای و افزایش تثبیت CO_2 بوده است. از سوی دیگر، افزایش فعالیت پلی فنل اکسیداز برگ تحت تأثیر اسپرمیدین که می تواند منجر به تولید انواع فنلهای اکسید شده و رادیکالهای آزادگردد، احتمالاً یکی از دلایل مهار رشد ناشی از کاربرد اسپرمیدین در برگها بوده است. نتایج پیشنهاد می کند که کاربرد پلی آمینها در گونه های سدیم دوست برخلاف گونه های حساس به شوری اثر مثبتی روی رشد ندارد، بلکه اثر تحریک کنندگی شوری را نیز کاهش می دهد.

واژه های کلیدی: چغندر قند، شوری ملایم، پلی آمین، ترکیبات فنلی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۱۱۳۳۹۲۷۱۹، پست الکترونیکی: ehsan@tabrizu.ac.ir

مقدمه

شوری خاک یکی از مهم ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی است (۲ و ۳). حدود ۲۰ درصد زمینهای کشاورزی جهان و نیمی از خاکهای زراعی تحت آبیاری در معرض شوری قرار دارند (۱۵). شوری منجر به تنش اسمزی و سمیت یونی می شود که هر دو جزء می تواند اثرات منفی بر رشد، متابولیسم و تعادل آبی گیاهان داشته باشد (۱۷).

گونه های مختلف گیاهان تفاوتهای قابل توجهی از نظر پاسخ به شوری با یکدیگر دارند. هرچند بسیاری از گونه های زراعی مهم در گروه گلیکوفیت ها طبقه بندی

می شوند و حساسیت بالایی به شوری از خود نشان می دهند (۱۳)، معدودی از گونه های زراعی ویژگی گیاهان هالوفیت را از خود نشان داده و به دلیل تمایل به سدیم، ناتروفیل یا سدیم پسند محسوب می شوند. یکی از گونه های مهم سدیم پسند گیاه چغندر قند می باشد (۱۳).

گیاهان برای مقابله با شوری از روشهای متنوعی استفاده می نمایند تا اثرات ناشی از تنش را تخفیف دهند. افزایش سنتز و انباشتگی اسمولیت ها یکی از این روشهاست که موجب تداوم جذب آب شده و تنش اسمزی را تخفیف می دهد. از جمله اسمولیت های با وزن مولکولی کم می توان به پرولین، گلیسین بتائین و سرانجام پلی آمینها اشاره نمود (۱۷).

پلی آمینها پلی کاتیونهای مهمی می باشند که در مراحل مختلف فیزیولوژیک و نموی گیاهان نقش دارند. پلی آمینها در القای تقسیم سلولی، جنین زایی، ریخت زایی، نمو گل، میوه و دانه و سرانجام پیری نقش ایفاء می کنند. مهم ترین پلی آمینها شامل اسپرمیدین (تری آمین) اسپرمین (تترا آمین) و پیش ساز آنها پوترسین (دی آمین) می باشد. در بافت گیاهان پلی آمینها به شکل هم یوغ با مولکولهای آلی دیگر و یا آزاد یافت می شوند (۱۲).

اخیراً نقش پلی آمینها در افزایش تحمل گیاهان به تنشهای غیر زیستی از جمله شوری و خشکی مورد توجه قرار گرفته است.

در بسیاری از موارد، شوری منجر به انباشتگی پلی آمینهای آزاد و هم یوغ می گردد که نشان می دهد بیوسنتز پلی آمینها یکی از مهم ترین پاسخهای بیوشیمیایی گیاهان به تنش شوری است (۱۲). در کنار مطالعه نقش پلی آمینهای آندوژن در ایجاد تحمل شوری، اثر کاربرد این ترکیبات در القای مقاومت نیز در گیاهان مختلف بررسی شده است. افزودن پوترسین به گیاهان تحت تنش شوری از پراکسیداسیون لیپید ها و تخریب ماکرومولکولها جلوگیری می کند و موجب افزایش مقدار گلوتاتیون و کاروتنوئید ها می گردد که به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند (۲۰). با این حال درآزمایش با پلی آمینهای اگزوژن نتایج متفاوتی بسته به نوع پلی آمین و گیاه مورد مطالعه به دست آمده است و مشخص نیست چرا انواع مختلف پلی آمینها نقش متفاوتی در القای تحمل تنش ایفاء می کنند (۱۱).

گیاهان سدیم پسند مانند چغندر قند در پاسخ به شوری ملایم، حداکثر تا ۵۰ میلی مول سدیم کلرید که معادل ۵ دسی زیمنس هدایت الکتریکی خاک است، بهتر رشد می کنند (۱۳). از سازوکارهای تأثیر مثبت سدیم کلرید روی رشد این گیاهان می توان به توانایی جایگزینی بیشتر پتاسیم توسط سدیم در عملکرد های اسمزی، رشد بیشتر برگها و بهبود تعادل آبی اشاره نمود (۷). به دلیل اثرات مثبت سدیم بر روی رشد، این عنصر به عنوان یک عنصر مفید برای گونه های سدیم دوست معرفی شده است (۱۳). با وجود اینکه سازوکار عمل پلی آمینها در القای تحمل تنش شوری به طور کامل شناخته نشده است، ولی در مورد اثر تخفیف دهندگی این ترکیبات در تنش شوری اتفاق نظر وجود دارد (۱۱). برعکس، تأثیر این ترکیبات در رشد گیاهان سدیم پسند در غلظتهایی از سدیم کلرید که تحریک کننده رشد می باشند، مورد بررسی قرار نگرفته است. احتمال می رود مشابه نقش در شرایط تنش ناشی از سدیم کلرید در گونه های گلیکوفیت، کاربرد این ترکیبات برای گونه های سدیم دوست موجب تقویت اثرات شوری ملایم روی رشد گردد. البته احتمال تأثیر منفی بر روی رشد این گیاهان نیز وجود دارد.

علی رغم اینکه دلایل مختلفی در مورد سازوکار عمل پلی آمینها در طی کاربرد آنها ارائه شده است (۶)، لیکن نقش احتمالی این ترکیبات از طریق ایجاد تغییراتی در متابولیسم ترکیبات فنلی تا کنون مطالعه نشده است. این احتمال وجود دارد که پلی آمینهای اگزوژن از طریق تغییر در انباشتگی فنلها موجب تغییر در تحمل تنشها شوند.

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر کاربرد پلی آمین در ایجاد تغییر در پاسخ به شوری ملایم در گیاه چغندر قند انجام گرفته است. از دو پلی آمین پوترسین و اسپرمیدین،

به دلیل وجود گزارشهای متفاوت از اثر آنها روی پاسخ گیاه به شوری استفاده شده است. تحت تأثیر پلی آمینهای اگزوژن، انباشتگی ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیمهای مسئول متابولیسم این ترکیبات، به دلیل نقش احتمالی آنها در تغییر پاسخ گیاه به شوری ملایم، مورد سنجش قرار گرفته است.

مواد و روشها

کشت گیاهان، اعمال تیمار ها و برداشت: بذر گیاه چغندر قند (*Beta Vulgaris* L.) رقم IC که از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه گردید، مورد استفاده قرار گرفت. بذور به مدت ۵ الی ۷ دقیقه با استفاده از هیپو کلریت سدیم تجاری ۵ درصد ضدعفونی شده، سپس به دفعات با آب مقطر شستشو داده شدند. بذور ضدعفونی شده بر روی پرلیت مرطوب جهت جوانه زنی در تاریکی قرار گرفتند. بذرها هر روز با سولفات کلسیم ۰/۰۵ میلی مولار محلول پاشی شدند. مدت زمان لازم جهت جوانه زنی ۷ روز بود.

پس از ظهور برگ اولیه، دانه رستهای جوان به مدت ۲۴ ساعت به روشنایی انتقال یافته و پس از سبز شدن برگها، به محیط هیدروپونیک منتقل شدند. دانه رستهای یک هفته ای در محلول غذایی ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد هوگلند (۹) به مدت هر کدام یک هفته پیش تیمار شدند و گیاهان چهار هفته ای به محیط تیمار انتقال داده شدند. تیمارها شامل شاهد (بدون افزودن سدیم کلرید) و شوری ملایم (۲۵ میلی مولار سدیم کلرید) بود. یک هفته بعد، تیمار پلی آمینها شامل کاربرد یکی از دو ترکیب پوترسین و اسپرمیدین (Sigma) درحد ۰/۵ میلی مولار به محلول غذایی آغاز شد. تیمار شوری به مدت دو هفته و تیمار پلی آمین به مدت یک هفته اعمال گردید. گیاهان در اتاق رشد با شرایط دمایی ۲۳-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد و در دوره روشنایی/ تاریکی ۷/۱۷ ساعت نگهداری شدند. محلولهای غذایی مداوماً هوادهی شده و 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 پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل و تبادل گاز مورد استفاده قرار گرفته سپس برای سنجش رنگیزه ها برداشت شدند. برای اندازه‌گیری فلوئورسانس کلروفیل و پارامترهای تبادل گاز از سومین برگ جوان استفاده شد.

سنجش پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل: تعیین فلوئورسانس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلوئورسانس سنج (OPTI-SCIENCES, ADC, UK) انجام شد. پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل در برگهای سازش یافته با تاریکی شامل F_0 (فلوئورسانس پایه) و F_m (فلوئورسانس بیشینه) و پارامتر های فوق در برگهای سازش یافته با روشنایی شامل F_t (شدت فلوئورسانس پایه) و F_{ms} (شدت فلوئورسانس بیشینه) اندازه گیری شد. سپس محاسبات لازم برای به دست آوردن سایر پارامترها از جمله کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (q_P) و غیر فتوشیمیایی (q_N) انجام گردید (۱۴).

سنجش پارامتر های تبادل گاز: جهت اندازه‌گیری پارامترهای مختلف تبادل گاز فتوسنتزی از دستگاه (LCA_4, ADC, UK) استفاده شد. پارامترها شامل شدت فتوسنتز (A) بر حسب $\mu mol\ CO_2\ m^{-2}s^{-1}$، تعرق ($E$) برحسب $mmol\ H_2O\ m^{-2}s^{-1}$ و هدایت روزنه ای (g_s) برحسب $mol\ H_2O\ m^{-2}s^{-1}$ بود.

سنجش رنگیزه ها و مقدار فنل کل: جهت سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو شده 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، بعد از ۲۴ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد و در دمای ۴ درجه سانتی گراد تعیین شد. جذب

در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و غلظت کلروفیل b ,a و کل طبق فرمولهای مربوطه محاسبه شد (۱۰).

جهت سنجش مقدار فنل کل، عصاره حاصل از استخراج در حلال متانول/اسید کلریدریک 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 ۷۶۰nm انجام شد. جهت تهیه محلولهای استاندارد از غلظتهای ۰ تا ۱۲ میکرومولار اسید گالیک استفاده شد. نتایج برحسب$mg\ gallic\ acid\ g^{-1}FW$ ارائه گردید (۱۶).

سنجش فعالیت آنزیمها و مقدار پروتئین کل: برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL, EC 4.3.1.5)نمونه های گیاهی در بافر استخراج شامل بافر بورات (۱۰ میلی مولار، pH=۷) و ۰/۱ گرم پلی وینیل پیرولیدون و ۲-مرکاپتواتانل (۱/۴ میلی مولار) در دمای یخ هموژن شده و سپس سانتریفیوژ گردید. فعالیت آنزیم در عصاره گیاه در بافر بورات (pH=۸/۸) واجد L-فنیل آلانین (۱۲ میلی مولار) پس از قرار گرفتن در حمام آب در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد 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 µmol *trans*- $cinnamic\ acid\ min^{-1}\ mg^{-1}\ pro$ محاسبه گردید (۵).

برای سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO, EC 1.14.18.1) نمونه های گیاهی در بافرفسفات (۲۰۰ میلی مولار، pH=۶/۵) و در دمای یخ هموژن شده و سپس سانتریفیوژ گردید. بافر فسفات واجد ۱۰ میلی مولار پیروگالل در حمام آب در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد 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 (۱۸).

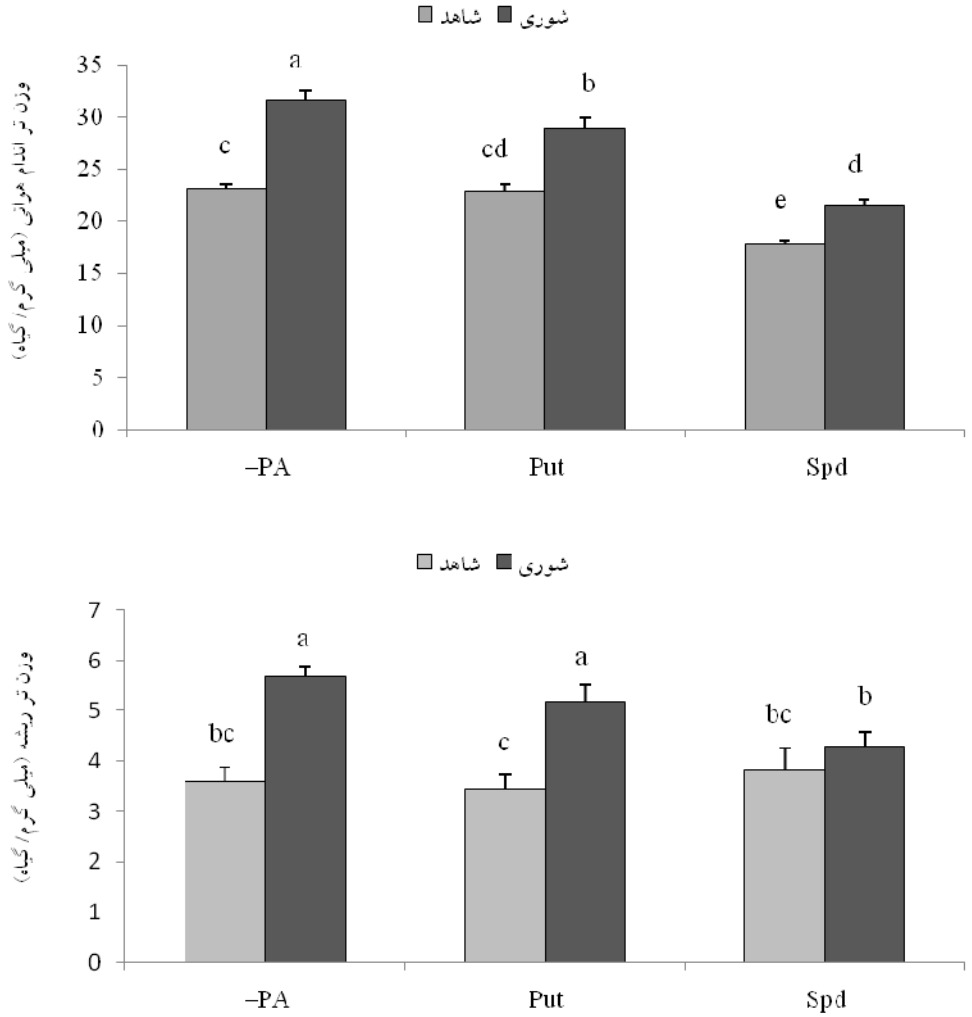
پروتئین کل با استفاده از روش برادفورد با استفاده از سرم آلبومین گاوی (Merck) به عنوان استاندارد و معرف تجاری برادفورد (Sigma) سنجش گردید (۴).

طرح آزمایشی و تجزیه داده ها: آزمایش در طرح بلوکهای کامل تصادفی و با دو عامل شامل دو سطح شوری و سه سطح از کاربرد پلی آمینها اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری با کمک نرم افزار سیگما استات (نسخه ۳/۰۲) و با استفاده از تست توکی در سطح پنج درصد انجام گردید.

نتایج

رشد اندام هوایی و ریشه هر دو تحت تأثیر شوری افزایش یافت. این افزایش در غیاب پلی آمینهای اگزوژن به ۳۷ و ۵۸ درصد به ترتیب در اندام هوایی و ریشه ها رسید. تأثیر کاربرد پلی آمینها به نوع آنها بستگی داشت. پوترسین تأثیر معنی داری روی رشد ریشه یا اندام هوایی نداشت، ولی اسپرمیدین موجب کاهش معنی دار رشد اندام هوایی – ولی نه ریشه– گردید. با این حال شوری ملایم در تیمار کاربرد پلی آمینها نیز مشابه تیمارهای بدون پلی آمین موجب تحریک رشد گردید (شکل ۱).

مقدار کلروفیل b،a و کلروفیل کل به صورت معنی داری در تیمار شوری افزایش پیدا کرد، ولی نسبت کلروفیل a/b کاهش یافت. تیمار کاربرد پلی آمینها نیز بر روی مقادیر کلروفیل مؤثر بود. پوترسین موجب افزایش معنی دار کلروفیل b،a و کلروفیل کل در گیاهان رشد یافته در شرایط شاهد شد، ولی تأثیر آن روی گیاهان تیمار شده با شوری معنی دار نبود. بر عکس، کاربرد اسپرمیدین در هیچ کدام از دو گروه شوری و شاهد موجب افزایش معنی دار مقادیر کلروفیل b،a و کلروفیل کل نشد و در برخی موارد تمایل به کاهش نیز مشاهده گردید. در عین حال نسبت کلروفیل a/b توسط کاربرد اسپرمیدین کاهش یافت که در گیاهان شاهد معنی دار بود (جدول ۱).



شکل ۱- وزن اندام هوایی و ریشه در گیاه چغندر قند تحت تیمار شاهد و شوری ملایم (۲۵ میلی مول سدیم کلرید) در غیاب (PA–) و یا پس از کاربرد پوترسین (Put) و اسپرمیدین (Spd). تفاوت ما بین ستونهایی که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است ($P<0.05$).

هیچکدام از پارامتر های فلوئورسانس کلروفیل شامل کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (q_P) و غیر فتوشیمیایی (q_N) تحت تأثیر تیمار شوری و یا کاربرد پلی آمینها قرار نگرفت (جدول ۱).

تثبیت خالص CO_2 تحت تأثیر تیمار شوری به صورت معنی داری افزایش یافت که همراه با افزایش هدایت روزنه ای بود، هرچند تعرق تحت تأثیر قرار نگرفت. تیمار پلی آمینها اثر معنی داری روی هر دو تثبیت خالص CO_2 و هدایت روزنه ای داشت. کاربرد پوترسین موجب کاهش تبادل گاز فتوسنتزی به دنبال کاهش هدایت روزنه ای بود، این اثر در هر دو گروه گیاهان شاهد و تیمار شوری مشاهده شد. برعکس، اسپرمیدین موجب افزایش تثبیت خالص CO_2 در گیاهان شاهد گردید ولی در تیمار شوری موجب کاهش هدایت روزنه ای و تثبیت شد (جدول ۲).

در برگها شوری موجب تغییری در مقدار فنل کل نگردید، ولی در ریشه افزایش معنی داری تحت تأثیر تیمار شوری دیده شد. کاربرد پوترسین موجب افزایش فنلها در برگها و بر عکس کاهش آنها در ریشه شد. مشابه چنین تأثیری در مورد اسپرمیدین دیده شد ولی شدت تأثیر آن در ریشه بیشتر از اندام هوایی بود، به نحوی که کمترین مقدار فنل

کل در ریشه های گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین یافت شد.

فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز در برگها تحت تأثیر شوری قرار نگرفت، در حالی که در ریشه ها افزایش یافت. کاربرد پلی آمینها موجب افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز برگ در شرایط شاهد گردید ولی چنین تأثیری در گیاهان تحت تیمار شوری مشاهده نشد. مشابه این پاسخ نیز در مورد پوترسین و در ریشه ها دیده شد، به جز اینکه اسپرمیدین اثری روی ریشه در گیاهان شاهد نیز نداشت.

جدول ۱- تغییرات مقدار کلروفیل a ، b ، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a/b و پارامترهای مختلف فلوئورسانس کلروفیل شامل کارآیی بیشینه فتوشیمیایی فتوسیستم II (F_v/F_m)، ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m)، خاموش شدگی فتوشیمیایی (q_P) و غیر فتوشیمیایی (q_N) در گیاه چغندر قند تحت تیمار شاهد و شوری ملایم (۲۵ میلی مول سدیم کلرید) در غیاب (PA–) و یا پس از کاربرد پوترسین (Put) و اسپرمیدین (Spd). تفاوت ما بین داده های مربوط به یک ستون که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است ($P<0.05$).

تیمار شوری	تیمار پلی آمین	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کلروفیل a/b
		میلی گرم/ گرم وزن تر			
شاهد	–PA	۰/۹۵±۰/۰۹ bc	۰/۳۵±۰/۰۲ c	۱/۳۳±۰/۱۱ b	۲/۶۸±۰/۱۴ a
	Put	۱/۲۰±۰/۰۵ a	۰/۴۴±۰/۰۱ ab	۱/۶۹±۰/۰۲ a	۲/۷۶±۰/۱۴ a
	Spd	۰/۸۷±۰/۱۳ c	۰/۴۰±۰/۰۸ bc	۱/۲۷±۰/۲۲ b	۲/۲۱±۰/۱۳ c
شوری	–PA	۱/۱۹±۰/۰۴ a	۰/۵۱±۰/۰۲ a	۱/۷۴±۰/۰۵ a	۲/۳۲±۰/۰۴ bc
	Put	۱/۱۱±۰/۰۸ ab	۰/۴۳±۰/۰۳ ab	۱/۵۷±۰/۱۲ ab	۲/۵۶±۰/۱۹ ab
	Spd	۰/۹۹±۰/۱۳ bc	۰/۴۶±۰/۰۵ ab	۱/۴۷±۰/۱۹ ab	۲/۱۶±۰/۰۷ c
		F_v/F_m	F'_v/F'_m	q_P	q_N
شاهد	–PA	۰/۸۴۷±۰/۰۰۳ a	۰/۶۳±۰/۰۲ a	۰/۸۶۰±۰/۰۰۶ a	۰/۲۳۸±۰/۰۲۶ a
	Put	۰/۸۴۶±۰/۰۰۹ a	۰/۶۳±۰/۰۲ a	۰/۸۵۰±۰/۰۱۸ a	۰/۲۴۲±۰/۰۱۸ a
	Spd	۰/۸۵۱±۰/۰۰۴ a	۰/۶۰±۰/۰۱ a	۰/۸۵۸±۰/۰۰۶ a	۰/۲۶۱±۰/۰۰۷ a
شوری	–PA	۰/۸۴۲±۰/۰۱۸ a	۰/۶۱±۰/۰۱ a	۰/۸۱۶±۰/۰۱۲ a	۰/۲۴۶±۰/۰۱۷ a
	Put	۰/۸۵۱±۰/۰۰۴ a	۰/۶۳±۰/۰۱ a	۰/۸۴۰±۰/۰۰۶ a	۰/۲۳۲±۰/۰۰۷ a
	Spd	۰/۸۱۹±۰/۰۶۸ a	۰/۶۱±۰/۰۲ a	۰/۸۴۰±۰/۰۲۴ a	۰/۲۳۴±۰/۰۱۵ a

جدول ۲- تغییرات مقدار پارامتر های تبادل گاز شامل فتوسنتز (A)، تعرق (E) و هدایت روزنه ای (g_s) در گیاه چغندر قند تحت تیمار شاهد و شوری ملایم (۲۵ میلی مول سدیم کلرید) در غیاب (PA–) و یا پس از کاربرد پوترسین (Put) و اسپرمیدین (Spd). تفاوت ما بین داده های مربوط به یک ستون که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است ($P<0.05$).

تیمار شوری	تیمار پلی آمین	A میکرومول/ متر مربع/ ثانیه	E میلی مول/ متر مربع/ ثانیه	g_s مول/ متر مربع/ ثانیه
شاهد	–PA	۴/۱۸±۰/۲۳ d	۱/۷۵±۰/۰۹ b	۱/۶۳±۰/۲۲ b
	Put	۳/۵۵±۰/۱۷ e	۱/۰۱±۰/۱۲ b	۰/۵۰±۰/۱۰ c
	Spd	۶/۰۵±۰/۰۸ b	۲/۴۸±۰/۱۵ a	۱/۵۵±۰/۱۶ b
شوری	–PA	۷/۴۷±۰/۲۲ a	۱/۶۴±۰/۲۹ b	۳/۶۲±۰/۲۸ a
	Put	۵/۱۵±۰/۲۲ c	۱/۷۱±۰/۳۰ b	۰/۶۱±۱/۱۱ c
	Spd	۶/۰۱±۰/۱۷ b	۲/۶۹±۰/۱۳ a	۱/۵۵±۰/۲۶ b

جدول ۳- تغییرات مقدار فنل کل، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز(PAL) و پلی فنل اکسیداز PPO) و مقدار پروتئین کل در گیاه چغندر قند تحت تیمار شاهد و شوری ملایم (۲۵ میلی مول سدیم کلرید) در غیاب (PA–) و یا پس از کاربرد پوترسین (Put) و اسپرمیدین (Spd). تفاوت ما بین داده های مربوط به یک ستون که با حروف یکسانی مشخص شده اند، معنی دار نبوده است ($P<0.05$).

تیمار شوری	تیمار پلی آمین	فنل کل (mg g^{-1} FW)	PAL (µmol min^{-1} mg^{-1} pro.)	PPO (ΔAbs min^{-1} g^{-1} pro.)	پروتئین کل (mg g^{-1} FW)
			اندام هوائی		
شاهد	–PA	۱۷/۴±۰/۳۴ ^{c}	۲/۲۶±۰/۲۶ ^{b}	۴۴±۲ ^{c}	۳۵۲±۸ ^{a}
	Put	۲۳/۳±۰/۳۲ ^{a}	۳/۱۰±۰/۳۹ ^{a}	۴۲±۲ ^{c}	۳۰۶±۱۵ ^{b}
	Spd	۲۳/۶±۰/۴۹ ^{a}	۳/۱۵±۰/۱۷ ^{a}	۵۱±۳ ^{b}	۲۸۰±۱۶ ^{bc}
شوری	–PA	۱۸/۵±۰/۵۶ ^{bc}	۲/۴۱±۰/۰۸ ^{b}	۴۶±۱ ^{c}	۲۸۸±۱۱ ^{b}
	Put	۲۲/۶±۰/۱۸ ^{a}	۲/۳۴±۰/۲۷ ^{b}	۳۶±۲ ^{d}	۲۸۴±۲۵ ^{b}
	Spd	۲۰/۰±۰/۱۴ ^{b}	۲/۱۰±۰/۰۸ ^{b}	۶۳±۳ ^{a}	۲۵۹±۱۱ ^{c}
			ریشه		
شاهد	–PA	۱۰/۰۰±۰/۸۲ ^{c}	۱/۳۱±۰/۱۷ ^{b}	۳۲۶±۲۲ ^{a}	۳۲۲±۲۰ ^{a}
	Put	۷/۱۹±۰/۳۴ ^{d}	۱/۶۸±۰/۰۹ ^{a}	۹۹±۸ ^{c}	۲۰۴±۱۳ ^{c}
	Spd	۶/۵۸±۰/۴۸ ^{de}	۱/۳۱±۰/۰۶ ^{b}	۹۱±۱ ^{c}	۲۱۹±۸ ^{c}
شوری	–PA	۱۵/۴۰±۰/۱۱ ^{a}	۱/۷۱±۰/۰۴ ^{a}	۱۳۱±۵ ^{b}	۲۶۹±۳ ^{b}
	Put	۱۳/۴۰±۰/۳۰ ^{b}	۱/۳۷±۰/۱۴ ^{b}	۱۳۲±۹ ^{b}	۹۷±۷ ^{d}
	Spd	۵/۶۷±۰/۲۴ ^{e}	۱/۳۸±۰/۱۳ ^{b}	۱۱۸±۱۶ ^{bc}	۱۲۱±۲۳ ^{d}

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ تحت تأثیر شوری قرار نگرفت در حالی که در ریشه کاهش معنی داری را متحمل شد. کاربرد پلی آمینها بسته به نوع آنها اثر متفاوتی روی فعالیت این آنزیم داشت. پوترسین موجب کاهش فعالیت این آنزیم در برگهای تحت تنش شوری و ریشه ها در شرایط شاهد گردید. اسپرمیدین نیز موجب افزایش فعالیت این آنزیم در اندام هوایی هر دو گروه شاهد و شوری شد، ولی چنین اثری را در ریشه نداشت.

شوری موجب کاهش مقدار پروتئین کل هردو اندام گردید. تیمار پلی آمینها نیز این کاهش را تشدید نمود که در هر دو اندام قابل توجه بود (جدول ۳).

بحث

در شوری ۲۵ میلی مول سدیم کلرید، نه تنها رشد گیاه چغندر قند کاهش نیافت بلکه تحریک معنی داری نیز در هر دو ریشه و اندام هوایی مشاهده گردید. گیاه چغندر قند به دلیل توانایی آن در جایگزینی بخشی از پتاسیم توسط سدیم در بافتهای خود قادر به تنظیم بهتر اسمز، گسترش برگی بیشتر و تنظیم روزنه ای سریع تر می باشد (۱۳). افزایش عملکرد این گیاه نه تنها در دوره رشد برگها بلکه در عملکرد ریشه های ذخیره ای و مقدار قندها نیز دیده شده است که نتیجه افزایش فتوسنتز و تولید فرآورده های قندی در شوری ملایم می باشد (۷).

کاربرد اسپرمیدین در گیاهان شاهد، موجب کاهش معنی دار رشد برگها شد. یکی از دلایل اثر منفی کاربرد اسپرمیدین روی رشد اندام هوایی می تواند تحریک سنتز بازدارنده های رشد مانند اسید آبسیسیک باشد (۱۹). همچنین اثر تحریک کننده شوری ملایم در رشد اندام هوایی و نیز ریشه در حضور اسپرمیدین کاهش یافت. این موضوع نشان می دهد که نقش مثبت سدیم در رشد گیاهان با سازوکارهای یاد شده در فوق، توسط اسپرمیدین بی تأثیر می شود. برخلاف چغندر قند، در گیاه حساس به شوری توتون هرچند اسپرمیدین در غیاب سدیم کلرید

موجب کاهش رشد گردیده است، ولی رشد گیاهان در شرایط شوری با کاربرد اسپرمیدین بهبود یافته است (۱). این موضوع نشان می دهد که کاربرد اسپرمیدین موجب تخفیف اثر تنش در گونه حساس به شوری می شود، ولی برعکس، اثر تحریک کننده رشد شوری ملایم را در گیاه سدیم پسند کاهش می دهد.

پوترسین اثر منفی روی رشد گیاهان نداشت و تأثیر شوری ملایم را نیز روی تحریک رشد به صورت قابل توجهی تغییر نداد. فقدان تأثیر منفی کاربرد پوترسین که دارای یک گروه آمینی کمتر نسبت به اسپرمیدین است، می تواند به عملکرد متفاوت این دو پلی آمین مثلا در تغییر مقدار بازدارنده های رشد مربوط باشد. در گیاه حساس به شوری توتون نیز، پوترسین تأثیری روی رشد گیاهان در شرایط شاهد نداشته و مشابه اسپرمیدین، موجب افزایش تحمل ریشه به تنش شوری گردیده است (۱).

کاربرد پوترسین نه تنها از نظر اثر روی رشد، بلکه از نظر اثر روی رنگیزه ها نیز متفاوت از اسپرمیدین بود. پوترسین موجب افزایش مقدار کلروفیل a شد، در حالی که کاربرد اسپرمیدین کاهش این رنگیزه را به دنبال داشت. با این حال این تغییرات در پارامترهای فلوئورسانس کلروفیل مانند ظرفیت انگیختگی فتوسیستم II (F'_v/F'_m) منعکس نگردید. از سوی دیگر، شوری ملایم تأثیری روی پارامترهای فلوئورسانس کلروفیل نداشت که نشان می دهد واکنشهای فتوشیمیایی برگ تحت تأثیر عمل سدیم در برگها قرار نگرفته اند. با این حال بالاتر بودن مقدار کلروفیل در شوری ملایم احتمالاً حفاظت بیشتر مراکز واکنشی در برابر نور را در حضور غلظتهای پایین سدیم کلرید نشان می دهد. این موضوع که به دلیل بالاتر بودن فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانتی و کمتر بودن پراکسیداسیون لیپید های برگ و نشت غشایی در شرایط شوری ملایم است، قبلاً نیز در این گیاه گزارش شده است (۷).

شوری ملایم موجب افزایش هدایت روزنه ای و افزایش تثبیت CO_2 شد که می تواند یکی از دلایل افزایش رشد گیاهان در این شرایط باشد، در عین حال اثبات کننده نقش کارآتر سدیم به عنوان یک اسموتیکوم در مقایسه با پتاسیم برای گشودگی روزنه هاست (۱۳).

اثر پوترسین و اسپرمیدین روی تبادل گاز فتوسنتزی با تأثیر این دو پلی آمین روی رنگیزه های فتوسنتزی همسو نبود. پوترسین موجب کاهش تثبیت شد و همزمان هدایت روزنه ای را کاهش داد در حالی که اثر اسپرمیدین برعکس بود. در شرایط شوری نیز کاربرد پوترسین موجب بستن روزنه ها و کاهش تثبیت CO_2 شد در حالی که این اثر در مورد اسپرمیدین خیلی کمتر بود. تأثیر کاربرد پلی آمینها روی گشودگی روزنه ها و تثبیت CO_2 تاکنون مطالعات زیادی را به خود اختصاص نداده است. به نظر می رسد این اثر نیز به تغییر در مقدار تنظیم کننده های رشد که بر روی گشودگی روزنه ها موثرند، مانند اسید آبسیسیک مربوط بوده و یا به تغییر در تعادل یون و ورود آنها به سلولهای روزنه مربوط باشد و شایسته بررسیهای بیشتری است.

شوری ملایم تغییری در مقدار فنلهای برگ ایجاد نکرد در حالی که موجب افزایش فنلهای ریشه شد. در گیاه گلیکوفیت توتون، شوری بالا نیز موجب تغییری در انباشتگی فنلها در برگ نشد و مقدار آنها را در ریشه کاهش داده است (۱). اصولا انباشتگی ترکیبات فنلی نوعی پاسخ دفاعی در برابر تنشهای زیستی و غیر زیستی است (۸) و اثر آنها در کاهش رشد قابل انتظار است. با توجه به پاسخ متمایز دو گیاه توتون و چغندر قند به شوری و الگوی متفاوت آنها در انباشتگی فنلها در ریشه، می توان نتیجه گرفت که تغییر در مقدار فنلهای ریشه نقشی در پاسخ این گیاهان به شوری ندارد.

کاربرد هردو پلی آمین موجب افزایش فنلهای برگ شد که این اثر در شرایط شوری می تواند یکی از دلایل کاهش اثر تحریک کنندگی شوری روی رشد در حضور پلی آمینهای اگزوژن باشد. البته اثر پلی آمینها روی فنلهای ریشه عکس آن در برگها بود. این موضوع تأیید کننده نتیجه گیری بالا در مورد نقش فنلهای ریشه بوده و نشان می دهد که کاهش

انباشتگی فنلها در ریشه به دنبال کاربرد پلی آمینها، تعیین کننده پاسخ رشدی این اندام به کاربرد پلی آمینها در شرایط شوری ملایم نیست.

آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز شروع کننده مسیر سنتزی ترکیبات فنلی است و آنزیم پلی فنل اکسیداز موجب تبدیل ترکیبات فنلی به کوئینون هاست که تحت تابش نور می توانند به انواع رادیکالهای آزاد تبدیل شده و موجب آسیب سلولها شوند (۱۳). در این بررسی افزایش مقدار فنلها در همبستگی با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز بود. سازوکار تأثیر کاربرد پلی آمینها بر روی افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز تا کنون بررسی نشده است و احتمال می رود پلی آمینها به عنوان مولکولهای علامتی (۶)، زنجیره ای از واکنشهای دفاعی را راه اندازی نمایند که افزایش فعالیت فنیل آلانین آمونیا لیاز یکی از نتایج آن است.

فعالیت پلی فنل اکسیداز برگ تحت تأثیر کاربرد پوترسین تغییر نیافت و یا کاهش پیدا کرد، در حالی که تحت تأثیر اسپرمیدین در هر دو گروه شاهد و شوری افزایش یافت. تولید انواع فنلهای اکسید شده در برگ در طی تابش نور، می تواند موجب افزایش تولید کوئینون ها و به دنبال آن رادیکالهای آزاد شده و منجر به آسیب رساندن به سلولها شود. این سازوکار احتمالاً یکی از دلایل مهار رشد ناشی از کاربرد اسپرمیدین در برگها بوده است. در تأیید این فرض می توان ملاحظه نمود که در ریشه ها که فعالیت این آنزیم تحت تأثیر کاربرد پلی آمینها افزایش نمی یابد، مهار رشد نیز مشاهده نمی شود.

نتیجه گیری کلی

هر چند در گیاهان حساس به شوری کاربرد پلی آمینها می تواند موجب تخفیف اثر تنش شود، ولی درمورد گونه های سدیم پسند این تأثیر نه تنها دیده نمی شود، بلکه اثر تحریک کنندگی شوری نیز کاهش می یابد. سازوکارهای این تأثیر شامل تغییر در متابولیسم فنلها، مهار گشودگی روزنه تحریک شده توسط شوری ملایم و احتمالاً تحریک تولید بازدارنده های رشد می باشد. نتایج نشان می دهد که پلی آمینها می توانند بسته به نوع آنها، اثرات متفاوتی داشته و نیز گونه های مختلف گیاهان بسته به تحمل شوری آنها، پاسخ متفاوتی به کاربرد این ترکیبات دهند.

منابع

۱. ابراهیمی، ن. ۱۳۸۸ بررسی فیزیولوژیک و بیوشیمیایی نقش پلی آمینها در رشد و تحمل تنش در دو گونه چغندر قند و توتون. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز.

۲. امینی، ف. و احسانپور، ع. ا. ۱۳۸۶ اثر تنش شوری بر باززایی گیاه گوجه فرنگی(*Lycopersicon esculentum* Mill.). مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۰ شماره ۴ صفحات ۳۲۶-۳۱۱.

۳. منصوری، ح. احمدی مقدم، ع. و روحانی ن. ۱۳۸۶ پاسخ گیاهان لوبیای میکوریزی و غیر میکوریزی به تنش شوری. مجله زیست شناسی ایران. جلد ۲۰ شماره ۱ صفحات ۷۹-۷۲.

4. 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. *Anal Biochem* 72: 248-254.
5. Dickerson, D.P., Pascholati, S.F., Hagerman, A.E., Butler, L.G., Nicholson, R.L. (1984) Phenylalanine ammonia-lyase and hydroxyl cinnamate CoA ligase in maize mesocotyls inoculated with *Helminthosporium maydis* or *Helminthosporium carbonum*. *Physiol. Plant Pathol.* 25: 111-123.
6. Groppa, M.D., Benavides, M.P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids* 34: 35-45.
7. Hajiboland, R., Joudmand, A., Fotouhi, K. (2009) Mild salinity improves sugar beet (*Beta vulgaris* L.) quality. *Acta Agri Scand Section B: Soil Plant Sci,* 59: 295-305.
8. Hirt, H., Shinozaki, K. (2004) Plant Responses to Abiotic Stress (Vol. 4). Springer Verlag.
9. Johnson, C.M., Stout, P.R., Broyer, T.C., Carlton, A.B. (1957) Comparative chloride requirements of different plant species. *Plant Soil* 8: 337-353.
10. Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biol. Soc. Trans.* 11: 591-592.

11. Liu, J., Kitashiba, H., Wang, J., Ban, Y., Morigushi, T. (2007) Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. *Plant Biotechnol.* 24: 117-126.
12. Martin-Tanguy, J. (2001) Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regul.* 34: 135-148.
13. Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants (2nd Ed.). Academic Press Inc., London, UK.
14. Oxborough, K. (2004) Imaging of chlorophyll a fluorescence: theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. *J. Exp. Bot.* 55: 1195-1205.
15. Pitman, M., Laüchli, A. (2004) Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: A. Laüchli, U. Lüttge (Eds.), Salinity: Environment-Plants-Molecules (pp. 3-20). Springer Verlag, Netherlands.
16. Plessi, M., Bertelli, D., Albasini, A. (2007) Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jams. *Food Chem.* 100: 419-427.
17. Rhodes, D., Nadolska-Orczyk, A., Rich, P.J. (2004) Salinity, osmolytes and compatible solutes. In: A. Laüchli, & U. Lüttge (Eds.), Salinity: Environment -Plants-Molecules (pp. 181-204). Netherlands, Springer Verlag.
18. Singh, N., Singh, R., Kaur, K., Singh, H. (1999) Studies of the physioco-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunflower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food Chem.* 66: 241-247.
19. Steiner, N., Santa-Catarina, C., Silveira, V., Floh, E. I. S., Guerra, M. P. (2007) Polyamine effects on growth and endogenous hormones levels in *Araucaria angustifolia* embryogenic cultures. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 89: 55-62.
20. Tang, W., Newton, J.R. (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreaseing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regul* 46: 31-43.

Effect of mild salinity and exogenous polyamines on growth, photosynthesis and phenolics metabolism in sugar beet plants

Hajiboland R. and Ebrahimi N.

Plant Science Dept., University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran

Abstract

The effect of mild salinity (25 mM NaCl) on growth and photosynthesis of sugar beet (*Beta vulgaris* L) plants in hydroponic medium was studied. Polyamines (PAs) including putrescine (Put) and spermidine (Spd) were applied at 0.5 mM to the rooting medium. Salinity caused a significant improvement of shoot and root weight up to 37% and 58% respectively. Application of Put did not influence plants growth significantly. However, exogenous Spd decreased growth of control plants and diminished positive effect of mild salinity. Mild salinity increased chlorophyll a and chlorophyll a/b ratio. Application of Put increased these parameters in control plants, while Spd did not affect them either in control or treated ones. Low salinity caused stimulation of net CO_2 assimilation rate following increased stomatal conductance. Exogenous Put led to reduction of CO_2 fixation, while Spd increased gas exchange parameters in control plants but decreased it in salinized ones. Total leaf phenolics did not influence by salinity, but increased after application of PAs. Activity of leaf phenylalanine ammonia lyase (PAL) was not affected by salinity and exogenous PAs caused a significant rise of its activity in control plants. Similar with PAL, polyphenol oxidase (PPO) activity of leaves was not influenced by salinity and increased after application of Spd. Total soluble proteins reduced under saline conditions in both leaves and roots and exogenous PAs further reduced it. Results suggested that, growth improvement due to low salinity is the result of stimulation of net CO_2 uptake following lowered stomatal resistance. Moreover, increased PPO activity of leaves that would lead to production of oxidized phenolics and free radicals is likely one of mechanisms for growth reduction by Spd. Results suggested that, in contrast to salt sensitive species, exogenous PAs not only did not affect positively growth of salinized halophyte species, but also diminished stimulating effect of mild salinity.

Keywords: Sugar beet, Mild salinity, Polyamines, Phenolics