

اثر پلی‌آمین‌های برونزا بر برخی شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک گیاه گلنگ

(*Carthamus tinctorius L.*) تحت تنش کم‌آبی

ژیلا توپچی خسروشاهی^۱، سید یحیی صالحی لیسار^{*}^۲، کاظم قاسمی گلعدانی^۳ و روح‌الله متفرک آزاد^۱

^۱ ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم گیاهی

^۲ ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه اکوفیزیولوژی تبریز

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۸

چکیده

تنش خشکی رایج‌ترین تنش غیرزیستی در ایران است و بیشترین اثر منفی را بر رشد و تولید گیاهان دارد. پلی‌آمین‌ها، تنظیم-کننده‌های رشد گیاهان هستند و مقاومت آن‌ها را به تنش‌های محیطی مانند خشکی افزایش می‌دهند. در این پژوهش اثر غلظت-های مختلف پوتربیسین+ اسپرمین (۴۰+۴۰، ۴۰+۴۰ و ۴۰+۶۰ میکرومولار)، برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک گیاه گلنگ (*Carthamus tinctorius L.*) تحت آبیاری مطلوب (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و آبیاری محدود (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه تبریز انجام گرفت. بدون کاربرد پلی‌آمین‌ها، خشکی سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشد، محتوای آب نسبی، رنگیزهای فتوستزی، غلظت پروتئین محلول کل برگ و افزایش غلظت پرولین آزاد برگ و قند‌های محلول اندام هوایی گردید. کاربرد برگی ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتربیسین+ اسپرمین بیشتر این صفات را در برگ‌ها بهویژه تحت شرایط تنش افزایش داد. کاربرد پلی‌آمین-های برونزا میزان پرولین آزاد برگ را احتمالاً به دلیل افزایش غلظت کلروفیل کاهش داد. کاهش انباست اسمولیت‌های سازکار نظیر پرولین آزاد در ریشه و قند‌های محلول در برگ با تیمارهای ۴۰+۴۰ و ۶۰+۴۰ میکرومولار پوتربیسین+ اسپرمین می‌تواند به دلیل نقش پلی‌آمین‌ها به عنوان اسمولیت و همچنین پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. این نتایج نشان می‌دهد که اسپرمین برگی ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتربیسین+ اسپرمین می‌تواند برخی اثرات مخرب تنش خشکی را بر شاخص‌های فیزیولوژیک گلنگ کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسمولیتها، پلی‌آمین، خشکی و گلنگ

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۹۰۰۳۲۷۲، پست الکترونیکی: y_salehi@tabrizu.ac.ir

مقدمه

کلروفیل، کاهش فتوستز و در نهایت کاهش رشد می‌شود (۱۹). پلی‌آمین‌ها پلی‌کاتیون‌های آلی با وزن ملکولی پایین هستند که برای رشد پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها ضروری می‌باشند و در پاسخ و مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف نقش دارند (۳۰). در گیاهان عالی، پلی‌آمین‌ها به فرم پوتربیسین (Put)، اسپرمیدین (Spd) و اسپرمین (Spm) یافته می‌شوند. در سلول‌های گیاهی دی‌آمین پوتربیسین، از

تنش‌های غیرزیستی دارای اثرات منفی بر رشد و نمو گیاهان هستند. تنش خشکی مهم‌ترین تنش غیرزیستی در دنیا و به خصوص کشور ایران می‌باشد و در مقایسه با سایر عوامل تنش‌زا بیشترین تأثیر نامطلوب را بر رشد و تولید گیاهان دارد (۱۵). خشکی با کاهش پتانسیل آب در گیاه، سبب بسته شدن روزنه، کاهش تثبیت CO_2 ، تولید گونه‌های اکسیژن فعال و القاء تنش اکسیداتیو، کاهش غلظت

تحت خشکی، با تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب القاء تحمل به خشکی شده است (۸). محلول‌پاشی یک میلی‌مolar اسپرمنین در گیاه ارزن *(Panicum miliaceum L.)* تحت تنش خشکی سبب افزایش محتوای نسبی آب، رنگزه‌های فتوستزی و کاهش نشست الکتروولیت شد (۶). گونه زراعی گلنگ *(Carthamus tinctorius L.)* گیاهی یک‌ساله از تیره آفتابگردان است. گلنگ به عنوان گیاه زراعی چند منظوره روغنی، دارویی و صنعتی مطرح می‌باشد (۲۷). این گیاه به دلیل خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ویژه‌ای که دارد، به عنوان گیاه متحمل به خشکی شناخته شده است و برای کشت در اراضی مواجه با کمبود آب بسیار مناسب می‌باشد. با وجود این، عملکرد فیزیولوژیکی این گیاه در تنش‌های شدید کاهش می‌یابد (۲۷). تیمار کمبود آب در دو رقم گلنگ به طور معنی‌داری طول ساقه، ماده خشک ساقه و ریشه، مقدار آب نسبی برگ را در تنش آبی شدید ۵۵ درصد کاهش داده است (۲۲). همچنین تنش خشکی ۳۰ و افزایش پرولین در ارقام مختلف گلنگ بهاره شده است (۲۲) و باتوجه به این که پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه گلنگ (رقم گلدشت) به غلط‌های ترکیبی پلی‌آمین‌های اسپرمنین و پوتربیسین تحت شرایط کمبود آب مشخص نبود، در این افزایش احتمالی مقاومت به تنش خشکی گیاه گلنگ مورد بررسی قرارگرفته است تا نتایج حاصل از آن برای افزایش عملکرد گیاه در شرایط کمبود آب که یکی از مشکلات کشور ایران است مورد استفاده واقع گردد.

مواد و روشها

کشت، اعمال تیمارها و برداشت: بذرهای گیاه گلنگ کشت، اعمال تیمارها و برداشت: بذرهای گیاه گلنگ *(Carthamus tinctorius)* رقم گلدشت، از مرکز تحقیقات کشاورزی استان آذربایجان شرقی تهیه گردید. بذرها به مدت ۵ تا ۷ دقیقه با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۵ درصد

اورونی تین و آرژنین بترتیب توسط اورونی تین دکربوکسیلاز و آرژنین دکربوکسیلاز، تری‌آمین اسپرمنین و تترآمین اسپرمنین با آنزیم‌های اسپرمنیدین‌ستاز و اسپرمنین‌ستاز ستر می‌شوند. گروه آمین پلی‌آمین‌ها توسط پلی‌آمین اکسیداز جدا می‌شود. گاما آمینوبوتیریک اسید و پراکسیدهیدروژن حاصل از اکسیداسیون پلی‌آمین‌ها در نمو گیاه و پاسخ‌های تنش در گیر هستند (۱۴). پلی‌آمین‌ها در تنظیم تکثیر سلولی، تمایز و مورفوژنز، بیان ژن، حفظ یکپارچگی و بقای غشاهای زیستی هنگام مواجهه با تنش خشکی و مقابله با تنش‌های غیرزیستی نقش دارند (۲۰ و ۲۹). این ترکیبات در پاسخ به خشکی به مقدار زیادی انباسته شده و ملکول‌های مؤثر در مسیر تراسانی علامت تنش‌ها به شمار می‌روند (۱۱ و ۳۲). اخیراً کاربرد پلی‌آمین‌ها در جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش خشکی از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش راندمان فتوستزی، مورد توجه زیادی قرارگرفته است. به عنوان مثال، پلی‌آمین‌ها تحمل تنش آبی را در شبدر سفید *(Trifolium repense L.)* با افزایش توان دفاع آنتی-اکسیدانی افزایش دادند (۲۴). افزایش سطح کلسمیم NADPH سیتوسلی تحت تنش خشکی، با فعال کردن اکسیداز غشای پلاسمایی سبب تولید گونه‌های فعل اکسیژن از جمله پراکسیدهیدروژن می‌گردد. پلی‌آمین‌ها با تنظیم سطح کلسمیم سیتوسلی عملاً سبب کنترل تولید پراکسیدهیدروژن می‌شوند (۳۸). گیاهان آرابیدوپسیس تاریخته که بیان ژن‌های بیوسنتزی پلی‌آمین‌ها در آن‌ها افزایش یافته از طریق کاهش فعالیت گونه‌های فعل اکسیژن، تحمل بیشتری به تنش خشکی نشان داده‌اند (۳۱). کاربرد برونزاد پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنش خشکی از پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب ماکروملکول‌ها جلوگیری کرده و سبب افزایش مقاومت گیاهان به خشکی می‌شوند. البته نوع واکنش گیاهان تحت تنش به پلی‌آمین‌ها بسته به نوع گیاه متفاوت است (۳۳ و ۳۶). کاربرد ۰/۱ میلی‌مolar *(Matricaria Chamomilla L.)* پوتربیسین در بابونه آلمانی (۳۱).

غذایی هر هفته به گیاهچه‌ها داده شد. برای محاسبه میزان آب موردنیاز هر گلدان از روش توزین گلدان‌ها و تعیین میانگین آن به عنوان آب مصرفی تیمارها استفاده گردید (۵). گیاهان در مرحله شروع سه برگی با سطوح مختلف آبیاری (۴۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) به مدت دو هفته تیمار شدند. برای اعمال تیمار پلی‌آمین مقادیر لازم از اسپرمن و پوتربیسین در آب مقطر حل شدند. سپس پوتربیسین+اسپرمن با غلظت‌های مختلف (۰،۰۰۰، ۴۰، ۶۰+۴۰ و ۶۰+۶۰) میکرومولار فقط یکبار بر روی برگ گیاهان اسپری شدند. دو هفته پس از تیمار با پلی‌آمین‌ها، (۶۰ روز پس از کشت)، کلیه گیاهان جهت بررسی صفات رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیک برداشت شدند.

شاخص‌های رشد: وزن تر و خشک برگ، وزن تر ریشه، وزن تر و طول اندام هوایی، طول ریشه اصلی و میانگین سطح برگ گلرنگ تحت تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. سطح برگی با استفاده از کاغذ میلی‌متری اندازه‌گیری گردید.

محتوای آب نسبی برگ: ۶۰ روز پس از کشت گیاه، قبل از زمان آبیاری، نمونه‌برداری از برگ‌های توسعه‌یافته انجام شده و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن در حالت آماس کامل، برگ‌ها در آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت غوطه‌ور شدند. سطح برگ‌ها با کاغذ صافی خشک گردیدند و وزن در حالت آماس کامل برگ‌ها ثبت شد. سپس برگ‌ها در آون با دمای $^{\circ}\text{C}$ ۷۰ به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و دوباره وزن شدند (وزن خشک). میزان آب نسبی برگ با روش اسمارت و بینگهام (۱۹۷۴) و با فرمول زیر محاسبه گردید (۳۴).

$$\text{محتوای نسبی آب برگ} = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن تر}} \times 100$$

(Switzerland) با روش شوکران و همکاران (۱۹۹۸) محاسبه شد (۳۵).

$$C_a = \frac{11.75}{A_{662}} - \frac{2.35}{A_{645}}$$

ضدغfonی و چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در یک آزمایش مقدماتی گیاهان در مرحله شروع سه برگی (۳۰ روز پس از کشت) در پنج سطح ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (FC) با سه تکرار به مدت دو هفته برای تعیین مناسب‌ترین سطح تنش خشکی تیمار شدند. با اندازه‌گیری شاخص‌های رشد، میزان آبیاری به اندازه ۴۰ درصد ظرفیت زراعی برای اعمال تنش خشکی در آزمایش‌های بعدی انتخاب شد (داده‌ها نشان داده نشده است). در آزمایش مقدماتی دیگر گیاهان سه برگی پس از دو هفته تنش (۴۰ درصد ظرفیت زراعی)، با ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار پوتربیسین و اسپرمن به طور جداگانه، فقط یکبار اسپری برگی شدند. در نهایت پس از مدت دو هفته غلظت‌های ۴۰ و ۶۰ میکرومولار از هر پلی-آمین به عنوان مؤثرترین غلظت در ایجاد مقاومت به خشکی گیاه گلرنگ، پس از اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و فیزیولوژیک مانند وزن تر و خشک برگ، طول کل گیاهچه، طول و وزن تر اندام هوایی، سطح برگی، محتوای نسبی آب و رنگیزه‌های فتوستتری تعیین شد (داده‌ها نشان داده نشده است). پس از این آزمایش‌های مقدماتی، بذرها در گلدان‌های پلاستیکی و در بستر پرلیت کشت داده شدند. بذرها هر دو روز یکبار با آب مقطر تا حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. پس از ظاهر شدن برگ اولیه، دانه‌رس‌های جوان به روشنایی انتقال یافتند. گیاهان در گلخانه در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۸/۱۶ ساعت نگهداری شدند. دانه‌رس است ۱۴ هفت‌روزه با محلول هوگلن ۵۰ درصد و دانه‌رس ۱۰ روزه با محلول هوگلن ۱۰۰ درصد در حد ظرفیت زراعی جهت جبران آب از دست رفته گیاهان آبیاری شد. محلول (وزن خشک- وزن در حالت آماس کامل)/(وزن خشک- وزن تر) = محتوای نسبی آب برگ

سنجهش رنگیزه‌های فتوستتری برگ: غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتینوئید کل پس از ۲۴ ساعت استخراج در استون ۱۰۰ درصد در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۴ با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Dynamica, Halo- db-20 series,

منحنی استاندارد استفاده گردید. برای سنجش قندهای نامحلول، به رسوب خشک شده حاصل از سانتریفوژ، آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. پس از صاف کردن، دوباره با آب مقطر به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مراحل بعدی به روش قندهای محلول انجام شد (۲۳).

پرولین آزاد برگ و ریشه: عصاره‌ها در محلول آبی سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد استخراج شدند و پس از سانتریفوژ، معرف نین‌هیدرین و اسیداستیک گلاسیال به آنها اضافه گردید. محلول حاصل به مدت یک ساعت در بن ماری 100°C قرار گرفت و بلافاصله در داخل یخ سرد شد. و به محلول فوق تولوئن اضافه شده و به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط گردید. جذب فاز فوقانی در ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های استاندارد پرولین (صفرا تا ۵۰ میکرومولار) تهیه شد (۱۲).

طرح آزمایش و تجزیه تحلیل داده‌ها: آزمایش در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی و با دو عامل، شامل دو سطح خشکی ۴۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی و غلظت‌های مختلف پوتریسین+اسپرمین بترتیب (۰+۰، ۴۰+۴۰، ۶۰+۶۰ و ۴۰+۶۰) میکرومولار در سه تکرار اجرا گردید. تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SAS (۹/۲) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گردید. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ تهیه گردیدند.

نتایج

شاخص‌های رشد: آبیاری در حد ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها، تمامی شاخص‌های رشد را بهطور معنی‌داری تحت تأثیر قراردادند. اثر متقابل آبیاری \times محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها بر شاخص‌های رشد غیر از وزن خشک برگ معنی‌دار بود (جدول ۱) ($P \leq 0.01$). تیمار غلظت‌های ۶۰+۴۰ و ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتریسین+

$$C_b = 18/61 A_{645} - 3/96 A_{662}$$

$$C_t = 1000 A_{470} - 2/27 A_{C_a} - 81/4 C_b / 227$$

که در آن‌ها C_a : میزان کلروفیل a، C_b : میزان کلروفیل 470 میزان کاروتینوئید کل، A_{470} : جذب در طول موج نانومتر (مربوط به کاروتینوئیدها)، A_{645} : جذب در طول موج 645 نانومتر (مربوط به کلروفیل a)، A_{662} : جذب در طول موج 662 نانومتر (مربوط به کلروفیل b) می‌باشد.

غلظت پروتئین کل و آمینواسیدهای آزاد کل برگ و ریشه: جهت سنجش پروتئین محلول کل به روش برادفورد، روشناور تهیه شده برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها با آب مقطر و معرف برادفورد مخلوط شد و جذب نوری در طول موج 595 نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیه منحنی استاندارد از سرم آلبومین گاوی در محدوده صفر تا 200 میکروگرم بر لیتر استفاده گردید (۱۳). بر روی همان روشناور، معرف نین‌هیدرین اضافه گردید و پس از قرار دادن در بن ماری جوشان، جذب نمونه‌ها در 570 نانومتر خوانده شد. برای ترسیم منحنی استاندارد از اسیدآمینه گلیسین استفاده شد (۲۳). معادله خطی پروتئین و آمینواسیدهای آزاد کل بترتیب زیر است.

$$y = 0.886x + 0.00235$$

$$y = 0.497x - 0.4942$$

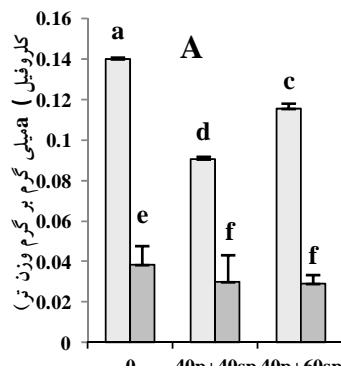
قندهای محلول و نامحلول اندام هوایی و ریشه: غلظت قندهای محلول و نامحلول به روش فنل سولفوریک اسید تعیین گردید. مقدار $0/05$ گرم از پودر خشک گیاه با پنج میلی‌لیتر اتانول 70 درصد مخلوط شد و مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. پس از سانتریفوژ نمونه‌ها، $0/5$ میلی‌لیتر از محلول رویی با آب مقطر به حجم دو میلی‌لیتر رسانده شد. یک میلی‌لیتر فنل 5 درصد و پنج میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به هریک از نمونه‌ها اضافه گردید و جذب نوری محلول‌ها در 485 نانومتر ثبت شد. از غلظت‌های مختلف گلوكز ($0-100$ میکروگرم) برای تعیین

۴۰ درصد ظرفیت زراعی، غلظت کلروفیل a و b و کارتوئیدها را به طور معنی‌داری کاهش داد. بیشترین غلظت رنگیزه‌های فتوستزی با تیمار غلظت‌های ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتریسین+ اسپرمین در خشکی مشاهده گردید (شکل ۲، C). در گیاهان با آبیاری کامل، محلول‌پاشی غلظت‌های ترکیبی پلی‌آمین‌ها سبب کاهش معنی‌دار کلروفیل a و کارتوئیدها شد (شکل ۲، A و C).

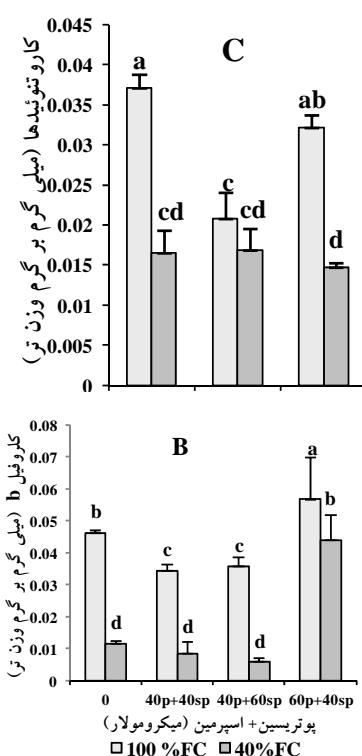
جدول ۳- تجزیه واریانس میزان رنگیزه‌های فتوستزی و محتوای نسبی آب برگ گلرنگ تحت سطوح مختلف آبیاری در واکنش به محلول‌پاشی پلی-

آمین‌ها

	میانگین مریعات	منابع تغییرات					
		تکرار	آبیاری	محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها	محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها × آبیاری	خطا	ضریب تغییرات (%)
۰/۳۱۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲ ^{ns}	۲			
۵۴۱/۳۱ ^{**}	۰/۰۰۰۴ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۰/۰۲ ^{**}	۱			
۲۷/۴۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{**}	۰/۰۰۱ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۳			
۷۵۸/۰۷ ^{**}	۰/۰۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۱ ^{**}	۰/۰۰۰۲ ^{**}	۳			
۶/۶۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۲	۱۴			
۳/۸۷	۱۲/۸۴	۱۸/۷۳	۶/۱۰	-			
ns. * و ** بترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.							



شکل ۲- اثر غلظت‌های ترکیبی پوتریسین+ اسپرمین بر غلظت رنگیزه‌های فتوستزی برگ گلرنگ، (A) کلروفیل a (B) کلروفیل b (C) کارتوئیدها تحت سطوح مختلف آبیاری. داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار را نشان می‌دهند. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند. sp. ۴۰ p+۴۰ sp. ۴۰ میکرومولار پوتریسین با ۴۰ میکرومولار اسپرمین، sp. ۴۰ p+۶۰ sp. ۶۰ میکرومولار پوتریسین با ۶۰ میکرومولار اسپرمین، sp. ۴۰ میکرومولار پوتریسین با ۴۰ میکرومولار اسپرمین.



از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند، ۴۰ sp+ ۴۰ میکرومولار پوترویسین با ۴۰ میکرومولار اسپرمن، ۶۰ sp+ ۴۰ میکرومولار پوترویسین با ۶۰ میکرومولار اسپرمن، ۴۰ sp+ ۶۰ میکرومولار پوترویسین با ۴۰ میکرومولار اسپرمن.

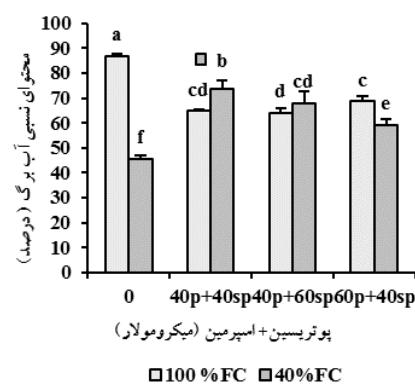
سطح آبیاری ۴۰ درصد ظرفیت زراعی، غلظت قندهای محلول اندام هوایی و ریشه را به طور معنی‌داری افزایش داد، ولی سبب کاهش غلظت قندهای نامحلول اندام هوایی شد. میزان قندهای محلول با تیمار ۴۰+۶۰ میکرومولار پوترویسین + اسپرمن تحت تنفس خشکی در اندام هوایی افزایش و در ریشه کاهش یافت. محلول‌پاشی سایر غلظت‌های ترکیبی پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنفس سبب کاهش قندهای محلول اندام هوایی شد. در شرایط آبیاری کامل نیز استفاده از غلظت‌های ترکیبی اسپرمن و پوترویسین سبب کاهش معنی‌دار غلظت قندهای محلول اندام هوایی و ریشه گردید ($P \leq 0.05$) (جدول ۵).

غلظت پرولین آزاد: اثرات آبیاری، پلی‌آمین‌ها و آبیاری × محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها روی پرولین برگ و ریشه معنی‌دار شد (جدول ۴).

تنفس خشکی سبب افزایش معنی‌دار غلظت پرولین برگ و ریشه گردید. اسپری برگی غلظت‌های ترکیبی اسپرمن و پوترویسین در شرایط تنفس خشکی غلظت پرولین را در برگ به طور معنی‌داری کاهش داد.

محتوای نسبی آب برگ: اثرات آبیاری و محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها بر محتوای نسبی آب معنی‌دار بود. اثر متقابل این عامل‌ها نیز برای این مورد نیز معنی‌دار گردید (جدول ۳). کاربرد غلظت‌های ترکیبی پوترویسین + اسپرمن در آبیاری محدود سبب افزایش معنی‌دار محتوای نسبی آب شد. تیمار با پلی‌آمین‌ها در شرایط آبیاری طبیعی محتوای نسبی آب را به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۳).

غلظت قندهای محلول و نامحلول اندام هوایی: آبیاری و پلی‌آمین‌ها، قندهای محلول و نامحلول اندام هوایی را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرارداد. اثر متقابل این عامل‌ها برای این موردها در برگ و ریشه معنی‌دار گردید (جدول ۴).



شکل ۳- محتوای نسبی آب گلرنگ تحت سطوح مختلف آبیاری در واکنش به محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها. میانگین‌های دارای حروف مشابه و اکتشاف به محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها. میانگین‌های دارای حروف مشابه

جدول ۴- تجزیه واریانس میزان اسموولیت‌های اندام هوایی، برگ و ریشه گلرنگ تحت سطوح مختلف آبیاری در واکنش به محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها

میانگین مربعات						
	درجه آزادی	متابع تغییرات				
پروتئین محلول کل آمینواسید آزاد						
کل برگ	برگ	برگ	اندام هوایی	اندام هوایی	آزادی	تکرار
۰/۰۰۰۴ns	۰/۰۳ns	۰/۱۰ns	۰/۳۳۴ns	۰/۳۶۸۳ns	۲	آبیاری
۰/۰۱۵**	۱۳/۷۸**	۱۱/۴۶**	۲۰/۹۲**	۱۰/۷/۸۰**	۱	محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها
۱/۷۹**	۸۶/۷۳**	۱۲/۵۱**	۱۵۵/۵۴**	۳۱۳/۲۹**	۳	محلول‌پاشی پلی‌آمین‌ها × آبیاری
۰/۶۰**	۷۴/۲۷**	۴/۲۳**	۱۰۶/۸۷**	۴۵/۵۲**	۳	خطا
۰/۰۰۱	۰/۰۴۹	۰/۰۱۹	۱/۴۵	۱/۹۹	۱۴	
۴/۸۵	۱/۸۸	۳/۸۳	۵/۷۳	۶/۲۷	-	ضریب تغییرات (%)
میانگین مربعات						

0.39 ± 0.01^d	12.77 ± 0.09^d	1.56 ± 0.08^ef	8.73 ± 0.34^g	10.61 ± 0.60^c	.	.
0.32 ± 0.03^e	6.70 ± 0.10^g	1.39 ± 0.00^f	8.33 ± 0.40^g	7.04 ± 0.63^e	$40\text{ p}+40\text{ sp}$	۱۰۰ درصد
0.26 ± 0.03^f	13.74 ± 0.09^b	2.95 ± 0.17^{cd}	14.22 ± 0.23^d	6.97 ± 0.13^e	$40\text{ p}+60\text{ sp}$	ظرفیت
0.51 ± 0.01^b	18.19 ± 0.02^a	3.94 ± 0.04^b	10.34 ± 0.14^f	5.05 ± 0.52^f	$60\text{ p}+40\text{ sp}$	زراعی
0.28 ± 0.01^ef	8.23 ± 0.31^e	2.03 ± 0.05^c	16.11 ± 0.05^a	8.17 ± 0.40^d	.	.
0.67 ± 0.03^a	6.42 ± 0.01^h	1.72 ± 0.01^e	22.33 ± 1.05^b	11.77 ± 0.20^b	$40\text{ p}+40\text{ sp}$	۴۰ درصد
0.30 ± 0.03^e	13.26 ± 0.02^c	2.76 ± 0.28^d	33.20 ± 1.05^a	35.67 ± 0.40^a	$40\text{ p}+60\text{ sp}$	ظرفیت
0.46 ± 0.007^c	6.94 ± 0.04^f	5.08 ± 0.04^a	12.89 ± 0.55^e	5.61 ± 0.57^f	$60\text{ p}+40\text{ sp}$	زراعی

داده‌ها میانگین سه تکرار ± انحراف معیار را نشان می‌دهند. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

۴۰: $40\text{ p}+40\text{ sp}$ میکرومولار پوتریسین با 40 sp میکرومولار اسپرین، $40\text{ p}+60\text{ sp}$ میکرومولار پوتریسین با 60 sp میکرومولار اسپرین، $40\text{ p}+60\text{ sp}$ میکرومولار پoterisine با 40 sp میکرومولار اسپرین.

فتوستزی و پروتئین برگ می‌شود و تیمار با پوتریسین سبب افزایش این صفات می‌گردد (۳۷). در بررسی دیگری مشخص شده است که تنفس خشکی در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی، باعث کاهش محتوای آب برگ گیاه برنج (*Oryza sativa L.*) می‌شود و اسپری برگی $10\text{ }\mu\text{M}$ میکرومولار (*Citrus aurantifolia L.*) باعث عملکرد بهتر در این شرایط می‌گردد (۱۸). در مطالعه دیگری که در گیاه سیتروس (*Citrus aurantifolia L.*) انجام شده است، محتوای رنگیزه‌های فتوستزی تحت تنفس خشکی کاهش نشان داده است که با تیمار اسپرمیدین $1/10$ و دو میکرومولار بهبود یافته است (۱۲).

در این بررسی افزایش محتوای قندهای محلول اندام هوایی و ریشه تحت تنفس خشکی ممکن است ناشی از کاهش نیاز به مواد فتوستزی به دلیل کاهش رشد و افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز باشد (۱۷). انباست قندهای محلول در شرایط تنفس، علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی که از نظر تأمین انرژی دارد، می‌تواند سبب کاهش پتانسیل آب گیاه و تداوم جذب آب و درنتیجه افزایش میزان تحمل گیاه به خشکی گردد (۲۶). نتایج مشابهی در گیاه بابونه آلمانی (*Matricaria Chamomilla L.*), گیاه کلنزا (*vulgaris L.*) و لوبيا سفید (*Brassica napus L.*) در شرایط خشکی نیز گزارش شده است (۲۱، ۲۱). در گیاه ارزن (*Panicum miliaceum L.*) از بین

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که تنفس خشکی در حد ۴۰ درصد ظرفیت زراعی سبب کاهش رشد گیاه گلنگ شد. کاهش شاخص‌های رشد، رنگیزه‌های فتوستزی و محتوای نسبی آب در شرایط خشکی به دلیل کاهش پتانسیل آب سبب بسته شدن روزنه می‌گردد. این موضوع به همراه کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوستزی منجر به کاهش فتوستز و درنتیجه کاهش رشد می‌گردد که با نتایج انجام شده در گیاه کتان (*Linum usitatissimum L.*) (۷) و گیاه زیره سیاه (*Carum copticum L.*) (۳۰) مطابقت دارد. وزن خشک برگ، وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی، طول اندام هوایی و سطح برگی تحت خشکی بترتیب $36/79$, $46/56$, $59/40$ و $50/96$ درصد نسبت به شاهد کاهش یافتند. در مطالعاتی که در گیاه گلنگ بهاره انجام شد، کمبود آب سبب کاهش محتوای نسبی آب و غلظت رنگیزه‌های فتوستزی گردیده است (۲۷، ۱۰). طول اندام هوایی، وزن خشک و تر برگ با غلظت $40+40$ میکرومولار پoterisine + اسپرمیدین کاهش یافتند ولی دو غلظت دیگر پلی‌آمین‌ها این صفات را افزایش دادند. تأثیر مثبت پلی‌آمین‌ها بر روی سایر صفات رشدی در شرایط تنفس و تحت آبیاری کامل مشابه بود. پژوهش‌های پیشین نشان داده است که استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول در گیاه یونجه (*Medicago sativa L.*) سبب کاهش رنگیزه‌های

پوتروسین (۲ppm و ۱۰) در شرایط خشکی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در گیاه پنبه (*Gossypium barbadense* L.) سبب کاهش پرولین آزاد شده است که با یافته حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (۲۱).

کاهش پروتئین برگ و ریشه و افزایش آمینواسیدهای آزاد ریشه در خشکی می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت پروتئاز یا کاهش بیوسنتر پروتئین‌ها در تنفس خشکی باشد (۱۸). افزایش محتوای پروتئین‌های محلول برگ و ریشه با ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتروسین + اسپرمین در گیاهان تحت تنفس خشکی نیز شاید به دلیل سنتز از نو پروتئین‌های خاص یا جلوگیری از تجزیه پروتئین‌ها با این تنظیم‌کننده‌های رشد باشد. پلی‌آمین‌ها جهت حفاظت از غشای پلاسمایی در برابر صدمات تنفس، از فعالیت پروتئاز ممانعت می‌کنند. همچنین پیوند کروالان پلی‌آمین‌ها با پروتئین‌ها به پایداری ساختار و عمل سلول کمک می‌کند (۲۸).

نتیجه‌گیری

تنفس خشکی سبب تغییرات فیزیولوژیک و کاهش رشد گیاه گلرنگ شد و کاربرد غلاظت‌های ترکیبی پوتروسین و اسپرمین در کاهش اثرات تنفس خشکی مؤثر بودند. محلول‌پاشی ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتروسین + اسپرمین بیشترین اثر مثبت در بهبود شاخص‌های رشد و افزایش رنگیزهای فتوستراتی، سطح برگی، پروتئین محلول کل برگ و قندهای محلول اندام هوایی را به همراه داشت. پلی‌آمین‌ها می‌توانند در کاهش اثرات مخرب تنفس خشکی مؤثر باشند و سبب افزایش تحمل خشکی و افزایش عملکرد در گیاه گلرنگ شوند. این نتیجه می‌تواند در استفاده از آن‌ها به منظور کشت گیاه گلرنگ در مناطق کم باران و همچنین کاهش مصرف آب در کشاورزی مفید واقع گردد.

تیمارهای صفر، نیم و یک میلی‌مولار اسپرمین در تنفس خشکی (۵۰ درصد ظرفیت زراعی)، اسپرمین یک میلی-مولار در رفع آسیب‌های ناشی از تنفس خشکی نقش موثرتری نشان داده است (۶). همچنین پرولین آزاد نیز به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی در گیاهان عمل می‌کند و در پایداری غشاه، پروتئین‌ها و خاموش‌سازی رادیکال‌های آزاد در شرایط تنفس نقش دارد. افزایش میزان پرولین در خشکی می‌تواند به دلیل القای فعالیت آنزیم پرولین -۵ کربوکسیلات سنتاز باشد (۱۶). بنا به گزارش نیکروش و همکاران (۱۳۹۵) مقادیر پرولین و قند محلول گیاهان کلزا تحت تنفس خشکی افزایش معنی‌داری نشان دادند (۹). میزان قند محلول اندام هوایی و پرولین برگ و ریشه بسته به غلاظت پلی‌آمین‌ها متفاوت بود. تنها غلاظت ۴۰+۶۰ میکرومولار پوتروسین + اسپرمین در ریشه سبب افزایش میزان پرولین شد. در این پژوهش، کاهش غلاظت پرولین برگ و قندهای محلول اندام هوایی در گیاهان تحت تنفس تیمار شده با پلی‌آمین‌ها نشان می‌دهد که پلی‌آمین‌ها با بهبود وضعیت آبی گیاه، سبب کاهش اثرات تنفس خشکی و درنتیجه نیاز کمتر گیاه به انباست پرولین آزاد و قندهای محلول شده‌اند. همچنین کاهش پرولین آزاد با پلی‌آمین‌ها می‌تواند به دلیل افزایش سنتز کلروفیل با تیمار ترکیبی پلی‌آمین‌ها باشد، چرا که پیش‌ساز هر دو ترکیب گلوتامات است. از سوی دیگر نقش پلی‌آمین‌ها به عنوان اسمولیت و پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان نیز مطرح می‌باشد (۲۵) که دلیلی بر کاهش تولید و انباست اسمولیت‌های سازگار نظری پرولین آزاد و قندهای محلول می‌تواند باشد. هرچند بین مقاومت به تنفس و تجمع پرولین آزاد در گیاهان عالی ارتباط قوی وجود دارد، ولی این ارتباط برای همه گیاهان صادق نیست، زیرا برخی از گیاهان تاریخت شده که مقادیر زیادی پرولین آزاد تولید می‌کنند، مقاومت چندانی به خشکی ندارند (۱۷). کاربرد

منابع

- ۱- آرزمجو، ا.، حیدری، م.، و قنبری، ا.، ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی و نوع کود بر عملکرد و کیفیت باونه آلمانی، مجله علوم زراعی ایران، ۱۲، صفحات ۱۱۱-۱۰۰.
- ۲- احمدی موسوی، ع.، منوچهری کلاتری، خ.، و ترکزاده، م.، ۱۳۸۴. اثر نوعی براسینواستروئید (24-epibrassinolide) بر مقدار تجمع مالونی‌آلدیید، پرولین، قند و رنگیزهای فتوستتری در گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) تحت تنش کم آبی، مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۸، صفحات ۲۹۵-۳۰۶.
- ۳- باغخانی، ف.، و فرجیخش، ح.، ۱۳۸۵. اثرات تنش خشکی بر عملکرد و برخی صفات فیزیولوژیکی سه رقم گلرنگ بهاره، مجله پژوهش کشاورزی، آب، خاک و گیاه در کشاورزی، ۸، صفحات ۴۵-۵۷.
- ۴- جوانمردی، ش.، زاده باقری، م.، و کامل منش، م. م.، ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی بر تجمع پرولین، قندهای محلول و تغییرات عناصر سدیم و پتاسیم در ژنوتیپ‌های لویبا سفید، مجله علوم زراعی ایران، ۲، صفحات ۸۳-۹۴.
- ۵- داشمندی، م. ح.، و عزیزی، م.، ۱۳۸۸. بررسی اثر تنش خشکی و کاربرد زئولایت معدنی بر خصوصیات کمی و کیفی ریحان، رقم اصلاح شده همارستانی، ششمین کنگره علوم باطنی ایران، صفحات ۱۲۳-۱۲۹.
- ۶- فرجیخش، ح.، توحیدی‌نژاد، ع.، و رشاد، س.، ۱۳۹۳. تأثیر پلی-آمین‌ها بر خصوصیات مورفو‌فیزیولوژیکی و شیمیایی ارزن.
- 15- Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, PP: 248-254.
- 16- Farhangi-Abriz, S., and Ghassemi-Golezani, K., 2018. How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants? *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 147, PP: 1010-1016.
- 17- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Barsa, S. M., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agric. Sustain. Dev.*, 29, PP: 185-212.
- 18- Farooq, M., Wahid, A., and Lee, D. J., 2009. Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties. *Acta Physiol. Plant.*, 31, PP: 937-945.
- ۱۰- معراجی‌پور، م.، موحدی‌دهنی، م.، دهداری، ا.، فرجی، م.، و معراجی‌پور، م.، ۱۳۹۱. تأثیر تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی چهار رقم گلرنگ بهاره در منطقه یاسوج، مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی، ۵، صفحات ۱۲۵-۱۳۴.
- ۱۱- Alcazar, R., Bitrián, M., Zarza, X., and Tiburcio, A. F., 2012. Polyamines metabolism and signaling in plant abiotic stress. *Recent Advances Pharmacol. Sci.* II, 5, PP: 29-47.
- 12- Amri, E., and Shahsavari, A. R., 2010. Response of lime seedling (*Citrus aurantifolia* L.) to exogenous spermidine treatments under drought stress. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 4, PP: 4483-4489.
- 13- Bates, L., Waldren, S. P., and Teare, I. D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil*, 39, PP: 205-207.
- 14- Bitrián, M., Zarza, X., Altabella, T., Antonio, F., and Alcázar, R., 2012. Polyamines under Abiotic Stress: Metabolic Crossroads and Hormonal Crosstalks in Plants. *Metabolites*, 2, PP: 516-528.

- 19- Ghassemi-Golezani, K., Dalil, B., and Dastborhan, S., 2013. Water stress in plants. West Azerbaijan Jahad Daneshgahi Publication, Iran. PP: 30-40.
- 20- Hajiboland, R., and Ebrahimi, N., 2011. Growth, photosynthesis and phenolic metabolism in tobacco plants under salinity and application of polyamines. *Iran. J. Plant Biol*, 3, PP: 13-26.
- 21- Hanafy Ahmed, A. H., Darvish, E., and 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 J. Plant Sci*, 16, PP: 9-23.
- 22- Hojati, M., Modarres-Sanavy, S. M. M., Karimi, M., and Ghanati, F., 2011. Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* under water deficit stress. *Acta Physiol. Plant*, 33, PP: 105-112.
- 23- Hwang, M., and Ederer, G. M., 1975. Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B *streptococci*. *J. Clin. Microbiol*, 1, PP: 14-115.
- 24- Kochert, G., 1978. Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method, In Helebust , J. A., Craig, J. S. (ed) Handbook physiological methods, Cambridge university, Press Cambridge, 9697 p.
- 25- Kotakis, C., Theodoropoulou, E., Tassis, K., Oustamanolakis, C., and Kotzabasis, K., 2014. Putrescine, a fast-acting switch for tolerance against osmotic stress, *J. Plant Physiol*, 171, PP : 48–51.
- 26- Li, Z., Jing, W., Peng, Y., Zhang, X. Q., and Huang, L. K., 2015. Spermine alleviates drought stress in white clover with different resistance by influencing carbohydrate metabolism and dehydrins synthesis, *PLOS J.*, 10, PP: 250-258.
- 27- Mohammadi, M., Ghassemi-Golezani, K., Zehtab-Salmasi, S., and Nasrollahzade, S., 2016. Assessment of some physiological traits in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars under water stress. *Int. J. Life Sci*, 10, PP: 58-64.
- 28- Pal, M., Szalai, G., and Janda, T., 2015. Polyamines are important in abiotic stress signaling. *Plant Sci*, PP: 1-34.
- 29- Pasban-Eslam, B., 2011. Evaluation of physiological indices for improving water deficit tolerance in spring safflower. *J. Agric. Sci, Technol*, 13, PP: 327-338.
- 30- Razavizadeh, R., Adabavazeh, F., Rostami, F., and Teimouri, A., 2017. Comparative study of osmotic stress effects on the defense mechanisms and secondary metabolites in *Carum copticum* seedling and callus. *J. Plant Proc. Function*, 18, PP: 23-33.
- 31- Sathe, A. P., Paserkar, N. G., Thakre, M. B., and Gaikwad, S. M., 2015. Engineering polyamines for abiotic stress tolerance. *Indian J. Appl. Res*, 5, PP: 20-25.
- 32- Shukla, V., Ma, Y., and Merevitz, V., 2015. Creeping Bentgrass responses to drought stress and polyamine application. *J. Am. Soc Hort. Sci*, 140, PP: 94-101.
- 33- Singh-Gill, S., and Tuteja, N., 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signal Behav*, 5, PP: 26-31.
- 34- Smart, R. E., and Bingham, G. E., 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiol*, 53, PP: 258-260.
- 35- Sukran, D., Gunes, T., and Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll A, B and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turk J. Bot*, 22, PP: 13-18.
- 36- Vladimir, V., Kuznetsov, N., and Shevyakova, I., 2007. Polyamines and stress tolerance of plants. *Plant Stress*, 1, PP: 50-71.
- 37- Zeid, I. M., and Shedeed, Z. A., 2007. Alterations in nitrogen matabolites after putrescine treatment in alfalfa under drought stress. *Pak. J. Biol. Sci*. 10, PP: 1513-1518.
- 38- Zhou, L., Yin, Z. H., Danda, P., Xiaojan, W., Yan, P., and Yan, Y., 2015. Polyamine regulates tolerance to water stress in leaves of white clover associated with antioxidant defense and dehydrin genes via involvement in calcium messenger system and hydrogen peroxide signaling. *Front. Physiol*, 6, PP: 1-16.

Effects of exogenous polyamines on some growth and physiological parameters of spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under drought stress

Toupchi Khosrowshahi Zh.,¹ Salehi-Lisar S.Y.,¹ Ghassemi-Golezani K.² and Motafakkerazad R.¹

1. Dept. of Plant Sciences, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran.

2. Dept. of Plant Eco-physiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, I.R. of Iran.

Abstract

Drought stress is the most prevalent abiotic stress in Iran and has highest negative effect on plant growth and productivity. Polyamines are plant growth regulators that enhance resistance of plants to environmental stresses such as water deficit. In this research, the effect of different putrescine+spermine concentrations (0+0, 40+40, 40+60, and 60+40 μM) on some of the physiological characters of spring safflower under well-watering (100% FC) and limited-watering (40% FC) were studied. The experiment was arranged as factorial based on randomized complete block design with three replications in a greenhouse at the University of Tabriz. Without polyamines application, water deficit was decreased growth parameters, leaf relative water content, photosynthetic pigments, and soluble protein in the leaves. Proline and soluble sugar contents of leaf were increased under water deficit. Foliar application of 60+40 μM putrescine+spermine improved most of these traits in the leaves, particularly under water stress conditions. However, exogenous polyamines reduced leaf proline content probably due to increase in chlorophyll content. Reduction in compatible osmolytes such as free proline in root and soluble sugars in leaf with application of 40+40 and 40+60 μM putrescine+spermine could be due to polyamines role as osmolyte as well as ROS scavenger. These results suggest that foliar spray of 60+40 μM putrescine+spermine can mitigate some of the harmful effects of drought stress on physiological parameters of safflower.

Key words: *Carthamus tinctorius*, drought stress, osmolytes, polyamine