

Cr⁶⁺胁迫对水花生 (*Alternanthera philoxeroides*) 愈伤组织多胺代谢的影响*

田秀丽, 施国新**, 徐君, 贾荣, 乔绪强, 徐小颖, 杨海燕, 王娟
(南京师范大学生命科学学院, 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 南京 210046)

摘要: 利用植物组织培养技术培养水花生愈伤组织并以此为实验材料, 研究了不同 Cr⁶⁺ 浓度 (0, 0.1, 0.3, 0.6, 0.9 mmol/L) 对水花生愈伤组织中腐胺 (putrescine, Put)、亚精胺 (spermidine, Spd)、精胺 (spermine, Spm)、脯氨酸 (Pro) 含量及精氨酸脱羧酶 (ADC)、鸟氨酸脱羧酶 (ODC)、多胺氧化酶 (PAO) 和二胺氧化酶 (DAO) 活性的影响。结果表明, 随着 Cr⁶⁺ 处理浓度的增大: (1) 游离态腐胺 (f-Put)、亚精胺 (f-Spd) 和精胺 (f-Spm) 的含量先升后降, 且均在 0.6 mmol/L 时达到峰值; (2) 结合态腐胺 (结合态 Put) 含量在 0.1 mmol/L 时达到最大值, 之后下降; 而结合态 Spd 和结合态 Spm 含量则逐渐上升; (3) 束缚态 Put、束缚态 Spd 和束缚态 Spm 含量先升后降, 在 0.6 mmol/L 时束缚态 Put 与 Spd 达到最大值; 而束缚态 Spm 则是在 0.1 mmol/L 时达到最大值, 之后逐渐下降; (4) ADC 酶和 ODC 酶活性逐渐上升; 而 PAO、DAO 酶活性则表现为先升后降; (5) Pro 含量呈先升后降趋势。可见, 重金属 Cr⁶⁺ 胁迫下, 破坏了水花生愈伤组织内多胺代谢平衡, 造成多胺 (polyamines, PAs) 大量积累, 较高的内源 PAs 在提高愈伤组织抵抗 Cr⁶⁺ 胁迫能力的过程中发挥重要作用。

关键词: 愈伤组织; 水花生; Cr⁶⁺ 胁迫; 多胺; 代谢

Effect of chrome stress on polyamine metabolism of callus of *Alternanthera philoxeroides*

TIAN Xiuli, SHI Guoxin, XU Jun, JIA Rong, QIAO Xuqiang, XU Xiaoying, YANG Haiyan & WANG Juan
(Jiangsu Key Laboratory of Biodiversity and Biotechnology, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, P. R. China)

Abstract: Callus of *Alternanthera philoxeroides*, as experimental material, was cultured by tissue culture technique. In this study, the calluses were subjected to different concentrations of Cr⁶⁺ (0, 0.1, 0.3, 0.6 and 0.9 mmol/L) and the impacts on contents of putrescine (Put), spermidine (Spd), spermine (Spm) and proline (Pro), activities of arginine decarboxylase (ADC), ornithine decarboxylase (ODC), polyamine oxidase (PAO) and Diamine Oxidase (DAO) were investigated. Results indicated that, with the increasing of Cr⁶⁺ concentration, (1) the contents of three free PAs increased at first and then decreased, and reached their peak values at 0.6 mmol/L Cr⁶⁺ treatments; (2) the content of PS-conjugated Put reached its peak value at 0.1 mmol/L Cr⁶⁺ treatment and then decreased slowly, while the contents of PS-conjugated spermidine (Spd) and spermine (Spm) increased significantly; (3) the peak values of PIS-conjugated Put and Spd were present at 0.6 mmol/L Cr⁶⁺ treatment; meantime the peak value of PIS-conjugated Spm was present at 0.1 mmol/L Cr⁶⁺ treatment; (4) the activities of ADC and ODC increased gradually, while PAO and DAO activities decreased sharply after a transient increase; (5) the level of Pro increased at 0.1–0.3 mmol/L Cr⁶⁺ treatments and decreased at 0.6–0.9 mmol/L Cr⁶⁺ treatments. These results suggested that Cr⁶⁺ stress disturbed metabolic balance of polyamines and increased the level of PAs. Obviously, the changes of PAs levels might be essential to Cr⁶⁺ adaption of cells.

Keywords: Callus; *Alternanthera philoxeroides*; Cr⁶⁺ stress; polyamines; metabolism

铬 (Cr) 作为植物体非必需元素, 以 Cr³⁺ 和 Cr⁶⁺ 形态最为普遍, 其中 Cr⁶⁺ 毒性最强, 主要以 Cr₂O₇²⁻ 形式

* 国家自然科学基金项目 (30870139) 资助。2010-11-22 收稿; 2011-03-02 收修改稿。田秀丽, 女, 1984 年生, 硕士研究生; E-mail: tian84007@163.com.

** 通讯作者; E-mail: gxshi@njnu.edu.cn.

存在^[1]. 近年来,许多研究表明 Cr^{6+} 可以破坏植物的形态结构,降低植物叶片中叶绿素含量,影响抗氧化酶活性、活性氧(ROS)水平和细胞超微结构^[2-4]. 多胺作为植物体内的一种活性物质,不仅可以促进植物的生长发育,延缓衰老,而且与植物的抗逆性有密切关系,如段九菊等^[5]和关军峰等^[6]研究发现多胺可提高植物体抵抗盐胁迫和干旱胁迫的能力. 多胺缓解重金属胁迫的研究多集中于外源多胺方面,如施加外源多胺可缓解锌胁迫下营养元素的失衡^[7],提高铜胁迫下生物膜的保护作用^[8],维持镉胁迫下植物体正常生长的生理状态^[9],而很少有文献涉及 Cr^{6+} 胁迫对植物体内源多胺含量及其代谢的影响. 目前研究中所采用的实验材料均为自然生长的植物,实验结果容易受外界环境的限制. 鉴于此,本文以植物组织培养技术诱导出的致密型水花生愈伤组织为实验材料,研究 Cr^{6+} 对愈伤组织生理的毒性效应,以期揭示多胺在植物体抵抗重金属胁迫方面的作用及其内在机制,并为植物的抗性原理增加可靠的理论依据.

1 材料和方法

1.1 供试材料

水花生 (*Alternanthera philoxeroides*), 属苋科 (Amaranthaceae) 莲子草属 (*Alternanthera* Forsk), 多年生草本植物. 实验用水花生于 2010 年 5 月采自南京师范大学生命科学学院水生生物培育池. 以水花生茎段诱导产生的愈伤组织为研究对象.

1.2 试验方法

1.2.1 愈伤组织的培养 选取水花生幼嫩的茎段作为外植体,用清水冲洗干净. 在无菌环境中依次经过 70% 酒精 30 s、0.1% 升汞 10 min 消毒,无菌水清洗 6 次后接种于添加 6-BA (3.0 mg/L) 和 NAA (0.2 mg/L) 的 1/2 MS 培养基中,放入 Forma 3744 控光、控温、控湿全封闭大型培养箱(英国产)中培养愈伤组织. 培养箱温度为 25 °C,每天光照 16 h,光照强度为 1200 - 1500 lx.

1.2.2 水花生愈伤组织 Cr^{6+} 的处理 无菌条件下,选取大小相同、生长状况一致的致密型水花生愈伤组织置于含 0、0.1、0.3、0.6 和 0.9 mmol/L $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (以纯 Cr^{6+} 计)的无菌液体培养基中,培养条件同培养愈伤组织时一致. 处理 7 天后取相同部位的愈伤组织块,去离子水洗净、揩干,进行多种生理指标测定. 实验重复 3 次. 其中系列 Cr^{6+} 离子浓度在徐勤松等^[3]和陈辉等^[4]的研究基础上经预实验获得.

1.2.3 多胺含量及其酶活性的测定 多胺含量(PAs)采用 Aziz 和 Larther^[10]的方法进行测定;精氨酸脱羧酶(ADC)和鸟氨酸脱羧酶(ODC)的活性测定根据赵福庚等^[11]的方法;多胺氧化酶(PAO)和二胺氧化酶(DAO)活性测定参照汪天等^[12]方法;游离态的脯氨酸(Pro)参照 Wang 等^[13]的方法进行测定.

1.3 统计分析

试验结果为 3 次实验的平均值 \pm 标准差,采用 Excel 和 SPSS 13.0 统计软件完成原始数据处理和制图,用相关系数 r 对各指标与 Cr^{6+} 浓度间进行相关性统计, $P \geq 0.05$, 表示无显著相关性; $P < 0.05$ 表示显著相关; $P < 0.01$, 表示极显著差异. 图中不同小写字母表示数值之间差异显著 ($P < 0.05$), 相同字母表示数值之间差异不显著.

2 实验结果

2.1 Cr^{6+} 胁迫对愈伤组织多胺含量影响

2.1.1 游离态多胺含量变化 随着 Cr^{6+} 离子浓度的升高,水花生愈伤组织游离态腐胺(f-Put)、游离态亚精胺(f-Spd)和游离态精胺(f-Spm)含量呈先升后降的趋势. 当 Cr^{6+} 为 0.6 mmol/L 时,三者均达到最大值,分别为 539.12、262.32 和 40.69 nmol/g(FW), 是对照组的 5.03、12.07 和 7.38 倍,但随着 Cr^{6+} 浓度的进一步升高,三者含量逐渐下降,但仍高于对照组(图 1a). 而 $f(\text{Spd} + \text{Spm})/\text{Put}$ 的值随着 Cr^{6+} 浓度的升高逐渐增大(图 1b),当 Cr^{6+} 浓度为 0.9 mmol/L 时,此比值达到最大,为 0.57. 统计分析表明, Cr^{6+} 处理组中 f-Put、f-Spd 和 f-Spm 的含量及 $f(\text{Spd} + \text{Spm})/\text{Put}$ 比值变化与对照组相比均达到显著差异水平 ($P < 0.05$). $f(\text{Spd} + \text{Spm})/\text{Put}$ 比值变化与 Cr^{6+} 浓度之间呈显著正相关 ($r_{f(\text{Spd} + \text{Spm})/\text{Put}} = 0.8187; P < 0.05$).

2.1.2 结合态多胺含量变化 当 Cr^{6+} 浓度为 0.1 mmol/L 时,结合态 Put 含量达到最大值,为 258.36 nmol/g(FW), 与对照组相比增加了 21.30%, 当 Cr^{6+} 浓度大于 0.1 mmol/L 时,其含量逐渐下降,但始终高于对照

组. 而结合态 Spd 和 Spm 含量随着 Cr⁶⁺ 浓度升高而增加, Cr⁶⁺ 浓度为 0.9 mmol/L 时, 二者含量达到最大值, 与对照相比分别增加了 14. 89 和 7. 96 倍(图 1c). 统计分析表明, 除 0. 6 mmol/L Cr⁶⁺ 处理组外, 其他各组结合态 Put 含量与对照组相比均达到显著差异水平($P < 0. 05$). Spd 和 Spm 含量变化与 Cr⁶⁺ 处理浓度之间呈显著正相关($r_{\text{Spd}} = 0. 8117, r_{\text{Spm}} = 0. 8187; P < 0. 05$).

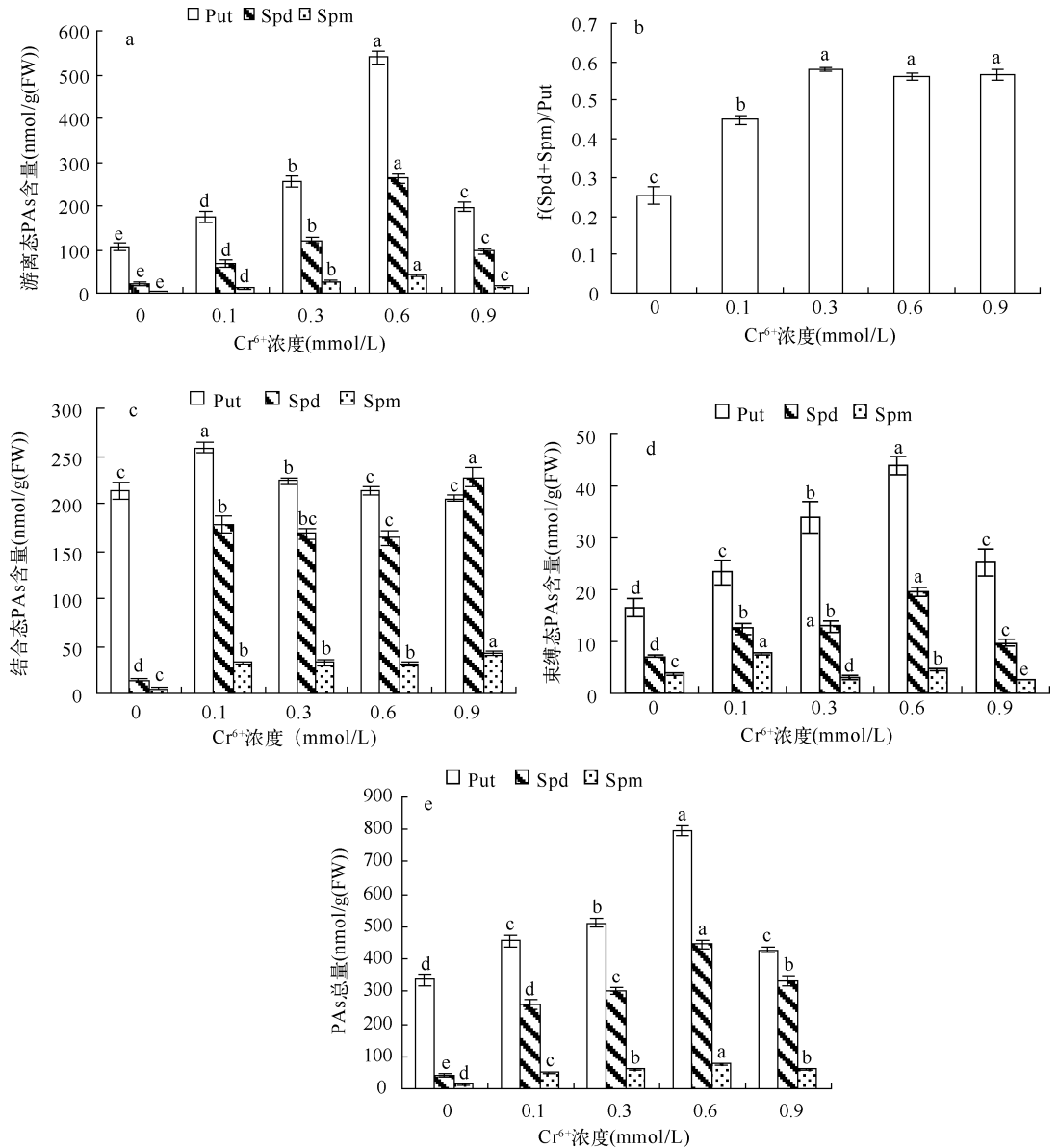


图 1 Cr⁶⁺ 胁迫对水花生愈伤组织多胺含量的影响

Fig. 1 Effects of Cr⁶⁺ on PAs content in callus of *A. philoxeroides*

2. 1. 3 束缚态多胺含量变化 在 Cr⁶⁺ 浓度为 0 - 0. 6 mmol/L 时, 束缚态 Put 和 Spd 含量呈上升趋势, 并在 0. 6 mmol/L 时达到最大, 与对照相比, 两者含量分别增加了 1. 68 和 1. 74 倍; 而当 Cr⁶⁺ 浓度继续增大时, 束缚态 Put 和 Spd 含量开始下降. 束缚态 Spm 含量在 Cr⁶⁺ 浓度为 0. 1 mmol/L 时达到最大值, 其最大值为 7. 75 nmol/g(FW), 比对照增加了 1. 05 倍. 当浓度大于 0. 1 mmol/L 时, 其含量逐渐下降(图 1d). 统计分析表

明, Cr^{6+} 处理组中束缚态 Put、Spd 和 Spm 的含量与对照组均有显著差异 ($P < 0.05$)。

2.1.4 多胺总含量变化 随着 Cr^{6+} 浓度升高, Put、Spd 和 Spm 三种形态多胺的总含量均呈先升后降趋势, 当 Cr^{6+} 浓度为 0.6 mmol/L 时三者含量达到最大值, 其最大值分别为 811.11、461.64 和 76.03 nmol/g(FW), 分别为对照组的 2.37、10.32 和 5.44 倍; 当 Cr^{6+} 浓度继续增大时, Put、Spd 和 Spm 的总含量开始下降 (图 1e)。统计分析表明, Cr^{6+} 处理组中 Put、Spd 和 Spm 的总含量与对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 ADC、ODC、PAO 和 DAO 活性变化

随着重金属 Cr^{6+} 浓度升高, 合成 Put 的两个关键酶即 ADC 和 ODC 活性均表现为逐步上升趋势, 在最高毒害浓度 0.9 mmol/L 时, 二者活性达到最大, 分别为 455.12 U/g(FW) 和 21.16 U/g(FW), 是对照组的 1.52 和 3.31 倍 (图 2a 和图 2b)。

PAO 活性则随 Cr^{6+} 浓度升高呈持续下降趋势 (图 2c), Cr^{6+} 浓度为 0.9 mmol/L 时, PAO 活性仅为对照组的 54.05%; 而 DAO 活性随 Cr^{6+} 浓度升高表现为先升后降趋势 (图 2d), Cr^{6+} 浓度为 0.1 mmol/L 时达到最大值, 之后酶活性下降, 且均低于对照。统计分析表明, 处理组中 ODC、DAO 和 PAO 活性变化与对照组相比均达到显著差异水平 ($P < 0.05$); 除 0.1 mmol/L Cr^{6+} 处理组外, 其他各组 ADC 活性变化与对照组相比均达到显著差异水平 ($P < 0.05$)。ADC 和 ODC 活性变化与 Cr^{6+} 处理浓度间呈极显著正相关 ($r_{\text{ADC}} = 0.9410, r_{\text{ODC}} = 0.9394; P < 0.01$); PAO 活性变化与 Cr^{6+} 处理浓度间达到显著负相关 ($r_{\text{PAO}} = -0.8257; P < 0.05$)。

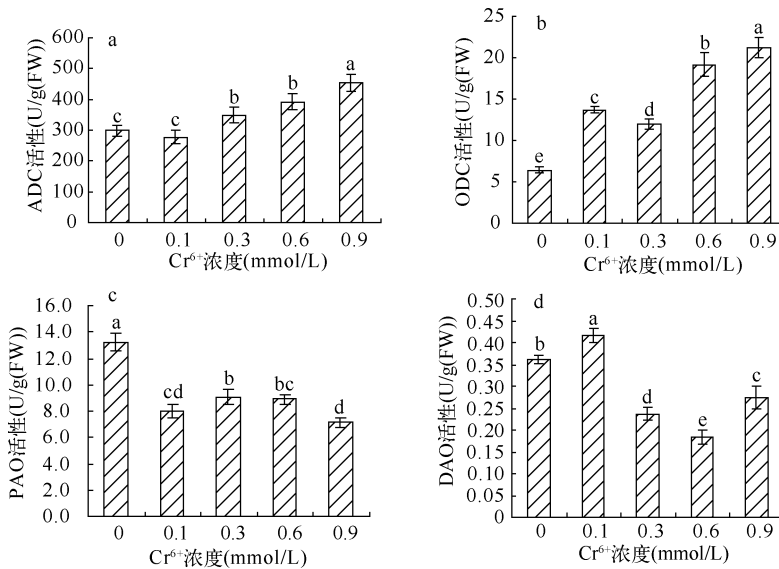


图 2 Cr^{6+} 胁迫对水花生愈伤组织 ADC、ODC、PAO 和 DAO 活性影响

Fig. 2 Effects of Cr^{6+} on ADC, ODC, PAO and DAO activities in callus of *A. philoxeroides*

2.3 Pro 含量变化

在 Cr^{6+} 浓度为 0 - 0.3 mmol/L 时, Pro 含量呈上升趋势, 并在 0.3 mmol/L 时其含量达到峰值, 为 88.45 nmol/g(FW), 是对照组的 1.19 倍; 当 Cr^{6+} 浓度高于 0.3 mmol/L 时, 脯氨酸含量逐渐降低, 甚至低于对照组 (图 3)。统计分析表明, 除 0.6 mmol/L Cr^{6+} 处理浓度外, 其他处理组 Pro 的含量与对照组相比均表现为显著差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

多胺被认为是类似“第二信使”的活性物质, 植物体受到外界环境胁迫时, 会造成体内 PAs 含量的变化。细胞内 PAs 含量由其生物合成、氧化和修饰所调节, 而影响多胺库的主要因素是它们的生物合成和氧化^[14]。

近年来,很多研究表明盐胁迫下可以提高内源 PAs 含量^[11,15]. 本实验发现, Cr⁶⁺ 胁迫下, Put、Spd 和 Spm 含量均呈现明显升高趋势(图 1e), 且三者含量增加与其代谢酶活性有密切关系. ADC 和 ODC 是 Put 合成的两个关键酶, Cr⁶⁺ 胁迫增强了 ADC 和 ODC 的生物活性(图 2a 和图 2b), 加快了 Put 的合成; 而催化 Put 氧化降解的酶 DAO 活性在短暂升高后降低(图 2d), 使得 Put 氧化降解缓慢, 致使 Put 含量进一步增加. PAO 是 Spd 和 Spm 的氧化降解酶, Cr⁶⁺ 胁迫下, PAO 活性降低(图 2c), 氧化分解 Spd 和 Spm 的速率减慢, 致使两者含量增加(图 1e).

内源 PAs 含量的增加对增强植物的抗逆性有重要作用. PAs 在细胞中以多聚阳离子方式存在, Put、Spd 和 Spm 分子所带正电荷依次增加(Spm > Spd > Put), 尤其是 Spd 和 Spm 可以与细胞膜上带负电荷分子相互作用, 以此增加细胞膜的稳定性^[16-17], 细胞膜稳定性提高后可使 H⁺-ATPase、H⁺-PPase 活性上升, 进而可以稳定环境胁迫下细胞质的 pH 值, 抑制细胞质酸化^[18]. 本实验中, Cr⁶⁺ 胁迫下, f-Spd 和 f-Spm 含量明显升高(图 1a), 表明 f-Spd 和 f-Spm 是愈伤组织遭受重金属胁迫的应激性产物, 二者含量的增加可增强细胞膜的稳定性. 而 f-Put 含量增加(图 1a)又可进一步促进 f-Spd 和 f-Spm 的生物合成. 长期以来, f(Spd + Spm)/Put 比值被看作是植物耐盐性的一个指标^[19], Yang^[20] 和 Ding^[21] 等也认为此比值的升高可提高植物体对重金属的抗性. 本研究发现, f-Put、f-Spd 和 f-Spm 三者含量虽均呈升高趋势, 但 f-Spd 和 f-Spm 升高幅度要远远大于 f-Put, 导致 f(Spd + Spm)/Put 比值逐渐升高(图 1b), 表明随着 Cr⁶⁺ 浓度升高, 愈伤组织抗性逐渐增强, 而在增强愈伤组织抗性方面 f-Spd 和 f-Spm 起着重要作用.

植物体受到环境胁迫时, 不同形态的多胺可以相互转化以缓解植物体所受的毒害^[22]. 在植物体需要较多活性物质保护时, 结合态 PAs 转变成 f-PAs 行使其功能^[17], 而 f-PAs 与肉桂酸、蛋白质、膜脂等结合转变为结合态 PAs 和束缚态 PAs, 以维持线粒体膜、质膜、原生质膜等生物膜的完整性而提高抗胁迫能力^[23]. 另外, 研究表明结合态 PAs 和束缚态 PAs 含量增加可增强植物体适应胁迫的能力^[24]. 本试验中, f-PAs 含量呈先升后降趋势, 而结合态 PAs 含量一直升高(图 1a, c, d), 降低的 f-PAs 可能发生了向结合态 PAs 的转变. 本实验还发现, 结合态 PAs 和束缚态 PAs 含量与对照相比虽均有明显升高趋势(图 1c, d), 但从二者含量与变化幅度中可看出, 结合态 PAs > 束缚态 PAs. 表明愈伤组织中, 结合态 PAs 对 Cr⁶⁺ 胁迫的敏感度要大于束缚态, 因此, 结合态 PAs 和束缚态 PAs 含量的增加有利于愈伤组织维持较高的膜稳定性, 提高其对 Cr⁶⁺ 胁迫逆境适应能力, 但与束缚态 PAs 相比, 结合态 PAs 对提高愈伤组织抗性发挥着更为重要的作用.

Pro 作为一种重要的渗透调节物质, 在植物体适应胁迫中起重要作用. Pro 在植物体中合成主要有谷氨酸(Glu)和鸟氨酸(Orn)两条途径, 而 Orn 也是 Put 合成的前体. 因此在 Put 和 Pro 合成中, 二者相互竞争起始底物^[25]. 也有研究表明, Pro 也可在鸟氨酸转氨酶(OAT)作用下逆向转化为 Orn^[26]. 本试验中, Cr⁶⁺ 胁迫下, Pro 含量先升后降, 在 0.3 mmol/L 时达到峰值, 之后下降(图 3), 甚至要低于对照组, 而游离态 Put 含量在 0.6 mmol/L 达到峰值(图 1a), 之后虽有所下降, 但仍高于正常水平. 实验表明, Cr⁶⁺ 胁迫下, 愈伤组织中的 PAs 和 Pro 之间存在上述代谢上的关系. Cr⁶⁺ 胁迫诱导了 Put 合成酶 ODC 的活性(图 2b), 致使 Put 生物合成加快, 进而抑制 Pro 的生物合成; 而减少的 Pro 可能发生了向 PAs 的转变.

综上所述, Cr⁶⁺ 胁迫, 打破了水花生愈伤组织内 PAs 正常代谢, 激发了合成 PAs 相关酶的活性, 从而抑制了解 PAs 相关酶的活性, 导致 PAs 大量积累, 其中 f-Spd 和 f-Spm 及结合态 PAs 和束缚态 PAs 含量增加有利于维持膜系统的完整性和稳定性, 较高的内源 PAs 在提高愈伤组织抵抗 Cr⁶⁺ 胁迫能力的过程中发挥重要作用.

4 参考文献

[1] Lien TF, Wu CP, Wang BJ *et al.* Effect of supplemental levels of chromium picolinate on the growth performance, serum

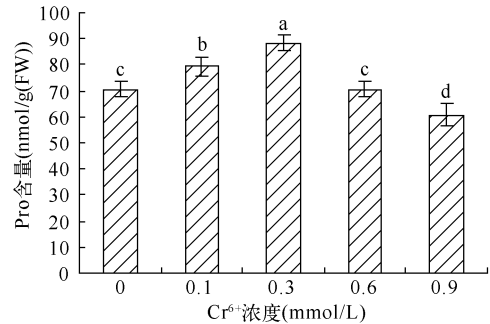


图 3 Cr⁶⁺ 胁迫对水花生愈伤组织 Pro 含量的影响

Fig. 3 Effects of Cr⁶⁺ on Pro content in callus of *A. philoxeroides*

- traits, carcass characteristics and lipid metabolism of growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 2001, **72**: 289-296.
- [2] 周红卫, 施国新, 徐勤松等. Cr^{6+} 和 Cr^{3+} 对水花生几种生理生化指标的影响比较. *农村生态环境*, 2002, **18**(4): 35-40.
- [3] 徐勤松, 施国新, 杜开和. 六价铬污染对水车前叶片生理生化及细胞超微结构的影响. *广西植物*, 2002, **22**(1): 92-96.
- [4] 陈 辉, 施国新, 潘秋红等. Cr^{6+} 对菹草叶绿素荧光参数、抗氧化系统和超微结构的胁迫影响. *植物研究*, 2009, **29**(5): 559-564.
- [5] 段九菊, 郭世荣, 康云艳等. 盐胁迫对黄瓜幼苗根系生长和多胺代谢的影响. *应用生态学报*, 2008, **19**(1): 57-64.
- [6] 关军锋, 刘海龙, 李广敏. 干旱胁迫下小麦幼苗根、叶多胺含量和多胺氧化酶活性的变化. *植物生态学报*, 2003, **27**(5): 655-660.
- [7] 王 学. 多胺对锌胁迫下水荷花叶片营养元素吸收的影响. *安徽农业科学*, 2008, **36**(30): 13027-13028.
- [8] 王 学, 徐恒骞. 外源多胺对铜胁迫下芥菜叶片生物膜的保护作用. *植物生理学通讯*, 2008, **44**(3): 449-453.
- [9] 李 阳, 施国新, 王红霞等. 外源亚精胺可缓解芥菜镉毒害. *植物学报*, 2009, **44**(5): 571-577.
- [10] Aziz A, Martin TJ, Larher F. Stress-induced changes in polyamine and tyramine levels can regulate proline accumulation in tomato leaf discs treated with sodium chloride. *Physiologia Plantarum*, 1998, **104**(2): 195-202.
- [11] Zhao FG, Sun C, Liu YL *et al.* Relationship between polyamine metabolism in roots and salt tolerance of barley seedlings. *Acta Botanica Sinica*, 2003, **45**: 295-300.
- [12] 汪 天, 郭世荣, 刘 俊等. 多胺氧化酶检测方法的改进及其在低氧水培黄瓜根系中的应用. *植物生理学通讯*, 2004, **40**: 358-360.
- [13] Wang X, Shi GX, Xu QS *et al.* Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatum*. *Journal of Plant Physiology*, 2007, **164**(8): 1062-1070.
- [14] Bagni N, Tassoni A. Biosynthesis, oxidation and conjugation of aliphatic polyamines in higher plants. *Amino Acids*, 2001, **20**(3): 301-317.
- [15] 陈淑芳, 朱月林, 刘友良等. NaCl 胁迫对番茄嫁接苗叶片 ABA 和多胺含量的影响. *园艺学报*, 2006, **33**(1): 58-62.
- [16] Roy P, Niyogi K, SenGupta DN *et al.* Spermidine treatment to rice seedlings recovers salinity stress induced damage of plasma membrane and PM-bound H^+ -ATPase in salt tolerant and salt-sensitive rice cultivars. *Plant Science*, 2005, **168**(3): 583-591.
- [17] Roussos PA, Pontikis CA. Changes of free, soluble conjugated and bound polyamine titers of jojoba explants under sodium chloride salinity in vitro. *Journal of Plant Physiology*, 2007, **164**(7): 895-903.
- [18] BorsW, Langebartels C, Michel C *et al.* Polyamines as radical scavengers and protectants against ozone damage. *Phytochemistry*, 1989, **28**(6): 1589-1596.
- [19] Rajam MV. Polyamines. In: Prasad MNV, ed. *Ecophysiology*. Toronto: Wiley, 1997: 343-374.
- [20] Yang HY, Shi GX, Wang HX *et al.* Involvement of polyamines in adaptation of *Potamogeton crispus* L. to cadmium stress. *Aquatic Toxicology*, 2010, **100**(3): 282-288.
- [21] Ding CX, Shi GX, Xu XY *et al.* Effect of exogenous spermidine on polyamine metabolism in water hyacinth leaves under mercury stress. *Plant Growth Regulation*, 2010, **60**(1): 61-67.
- [22] Baqqa S, Rochford J, Klaene Z. Puteascine aminopropyltransferase is responsible for biosynthesis of spermidine, spermine and multiple uncommon polyamines in osmotic stress tolerant alfalfa. *Journal of Plant Physiology*, 1997, **114**(2): 445-454.
- [23] 王红霞, 胡金朝, 施国新等. 外源多胺对铜胁迫下水鳖叶片多胺代谢、抗氧化系统和矿质营养元素的影响. *生态学报*, 2010, **30**(10): 2784-2792.
- [24] Liu HP, Zhu ZX, Liu TX *et al.* Effects of osmotic stress on the kinds, forms and levels of polyamines in wheat coleoptiles. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2006, **32**(3): 293-299.
- [25] 赵福庚, 孙 诚, 刘友良等. 盐胁迫下大麦幼苗多胺与脯氨酸合成竞争前体 L-Arg. *作物学报*, 2001, **27**(5): 622-626.
- [26] Le DF, Billard JP, Gaspar T *et al.* Disturbed nitrogen metabolism associated with the hyperhydric status of fully habituated callus of sugarbeet. *Physiologia Plantarum*, 1993, **88**: 129-134.