

تغییرات محتوای آرژنین در مرحله جوانه زنی دانه‌های سویا رقم پرشینگ تحت تاثیر شوری و ژیبیرلین

شهناز میرا^۱، آرین ساطعی^{۲*}، مه لقا قربانلی^۳

۱. کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران
۲. استادیار فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران
۳. استاد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گرگان، ایران

مکان انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی گرگان، آزمایشگاه واحد تحقیقات، ساختمان شماره ۱

مسئول مکاتبات: دکتر آرین ساطعی، گرگان، بلوار شهید کلانتری، خیابان دانشجو، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد

گرگان، دانشکده علوم پایه، پست الکترونیکی: msaateyi@gmail.co

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۵/۲۹

چکیده

در پژوهش حاضر، تاثیرات تنش شوری ناشی از کلوروسدیم ۵۰ میلی مولار و تنش اسمزی ناشی از محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ هم فشار با آن با غلظت ۶۴ گرم بر لیتر با و یا بدون اسید ژیبیرلیک (GA3، ۱۰ میکروگرم بر لیتر) در حین رویش دانه‌های سویا رقم پرشینگ (*Glycine max L.cv.pershing*) مورد بررسی قرار گرفته است. دانه‌ها در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته با محلول فوق، محلول ژیبیرلین و یا آب مقطر به عنوان شاهد آبیاری شدند و در پایان هر ۸ ساعت، درصد جوانه زنی یا محتوای آرژنین، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، تیمارهای نمکی و پلی اتیلن گلیکول، قادر به ایجاد تاخیر در جوانه‌زنی دانه‌ها هستند و ژیبیرلین این تاخیر را جبران می‌نماید. به نظر می‌رسد تیمار نمکی به ویژه با ایجاد تاخیر در افزایش محتوای آرژنین، موجب تاخیر در جوانه‌زنی است. افزایش محتوای آرژنین در تنش نمکی به طور احتمالی مکانیسم‌های مهم مقابله با تنش‌های مزبور در حین رویش دانه هستند. ژیبیرلین به تنهایی و یا توأم با تنش‌های به کار رفته در این پژوهش باعث حفظ و یا افزایش محتوای ترکیبات مورد سنجش بوده است. پاسخ مقاطع زمانی مختلف به ویژه مراحل جوانه زنی مطلق و رشد در طی ۴۸ ساعت با تیمارهای مورد استفاده، مشابه نیست.

واژه‌های کلیدی: آرژنین، پلی اتیلن گلیکول، جوانه زنی، ژیبیرلین، سویا، شوری

مقدمه

از جذب ممانعت می‌کند یا در ارتباط با سمیت یون-های Na و Cl موثر است (۵،۱،۶). PEG و NaCl تاثیر معکوسی بر جوانه‌زنی و رشد دانه رست نخود دارند حتی نسبت به NaCl اثر مهاری وسیع‌تری دارد. به طوری که مشاهده شده، NaCl نسبت به PEG تاثیر کمتری بر جوانه‌زنی و رویش دانه رست لوبیا دارد (۶). فاکتورهای مخالف جوانه‌زنی دانه حساسیت به تنش خشکی و شوری را شامل می‌شوند (۲،۵). معمولاً جوانه‌زنی دانه مهم‌ترین مرحله ایجاد دانه رست و تعیین کننده محصول زراعی موفق است

جوانه‌زنی، حساس‌ترین مراحل رشد و نمو گیاهان است و جوانه‌زنی ضعیف در خاک‌های شور باعث استقرار کم و تولید ضعیف دانه رست و بالاخره منجر به کاهش محصول می‌شود (۱). حساسیت به تنش خشکی، نشان دهنده مراحل سخت‌تر رویش نسبت به حساسیت به شوری است (۲،۳). شوری به عنوان بستر موثر بر استقرار دانه مشخص شده که در مناطق بیابانی و نیمه‌بیابانی وجود دارد (۴). اثر شوری روی جوانه‌زنی دانه‌ها با ایجاد پتانسیل اسمزی

رطوبت نسبی ۹۰ درصد در تاریکی (با به کارگیری ژرمیناتور Faniran-747) قرار گرفتند. آبیاری با آب مقطر یا محلول نمکی کلرور سدیم ۵۰ میلی مولار و هورمون ژبیرلین ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر یا محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ هم فشار با آن (۶۴ گرم بر لیتر) یا محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۴ گرم بر لیتر و هورمون ژبیرلین (GA3) ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر و یا هورمون ژبیرلین ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر در ابتدای آزمایش و نیز فواصل ۸ ساعته انجام گرفت. بسته به نوع سنجش مورد نظر در پایان هر مقطع ۸ ساعته و یا در پایان ۴۸ ساعت، دانه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

روش سنجش آرژینین (تست ساکاگوچی) (۱۱)

ابتدا از هر تیمار ۵ دانه خشک برداشت می‌شود. سپس وزن هر دانه، مشخص و یادداشت شده و به لوله آزمایش انتقال می‌یابند. به هر لوله، ۱۰ میلی لیتر الکل اتانول ۷۰ درصد، اضافه شود و پس از یک هفته، سنجش آمینواسید فوق انجام می‌شود. یک میلی لیتر عصاره الکلی به لوله‌های آزمایش افزوده می‌شود. یک میلی لیتر محلول آلفانفتول اضافه می‌شود.

تهیه معرف آلفانفتول

تهیه معرف آلفانفتول شامل مراحل زیر است:

- افزودن ۱ گرم ماده آلفانفتول به ۱۰۰ میلی لیتر الکل ۹۵ درصد.
- افزودن ۲ تا ۳ قطره محلول هیپوکلرید سدیم یا هیپوکلرید سدیم.
- افزودن ۲ تا ۳ قطره هیدروکسید سدیم.
- خواندن جذب نوری در برابر شاهد در ۴۵۰ نانومتر.
- با استفاده از محلول‌های استاندارد تهیه شده از محلول آرژینین ۰/۰۱ مولار، غلظت آمینواسید آرژینین بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک قابل محاسبه است.

روش‌های آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS و در نظر گرفتن ۴ تکرار، پارامترهای میانگین و انحراف معیار (SD)

(۴). زراعت به رابطه متقابل بین محیط دانه و کیفیت دانه بستگی دارد (۱،۷). پتانسیل آبی زمان جوانه‌زنی را در NaCl نسبت به PEG با جذب سریع آب در محلول‌های نمکی توضیح می‌دهد (۱). جوانه‌زنی سویا در شوری سریع‌تر از خشکی است (۸). سطوح بالای شوری خاک می‌تواند به طور معنی‌داری جوانه‌زنی دانه و رشد دانه رست را نه تنها در گلیکوفیت‌ها، بلکه در هالوفیت‌ها باز دارد. این بازدارندگی به خاطر ترکیب پتانسیل اسمزی بالا و سمیت یونی ویژه است (۹).

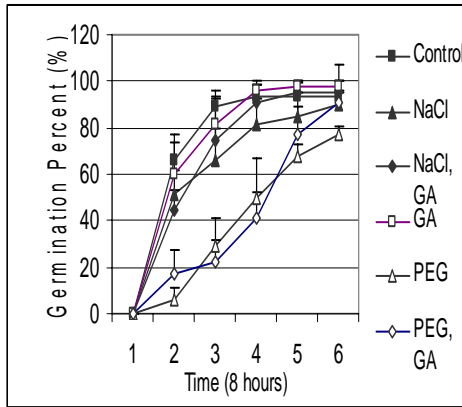
مهم‌ترین منبع نیتروژنه در سویا و دانه‌های پروتئینی مانند نخود آسپارژین است. آسپارژین نسبت نیتروژن به کربن بالاتری نسبت به گلوتامین دارد. در سویا این آمینواسید، ۱۸ درصد نیتروژن پروتئینه و بیش از ۶۲ درصد آمینو اسیدهای آزاد در جنین‌های در حال نمو را تشکیل می‌دهد (۱۰). در گونه‌ای از ریزوفورا، افزایش فعالیت آرژینین دکربوکسیلاز و مقادیر پوترسین و اسپرمین، قابل ملاحظه بوده است که به تدریج پوترسین در ادامه رشد، جای آن‌ها را می‌گیرد. قابل توجه است که پلی آمین اخیر نیز از آرژینین حاصل می‌شود (۳). اهداف پژوهش حاضر را می‌توان شامل چند محور عمده دانست:

- مشخص کردن حساس‌ترین مقاطع زمانی رویش دانه با تنش شوری.
- بررسی اثر احتمالی ژبیرلین در شرایط شور در بهبود جوانه‌زنی و محتوای آمینواسیدی.
- تفکیک اثرات اسمزی و یونی شوری بر جوانه‌زنی و محتوای آمینواسیدی.
- تفکیک اثرات اسمزی و یونی شوری بر جوانه‌زنی و محتوای آمینو اسیدی دانه‌ها در حین رویش.

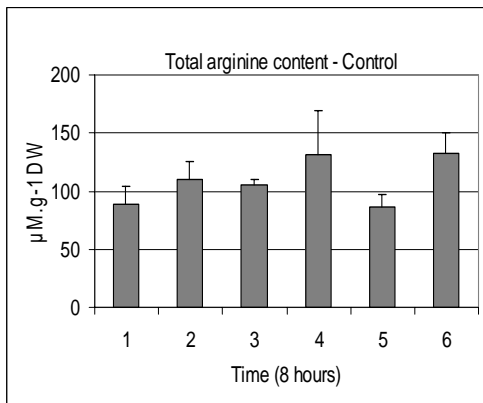
مواد و روش‌ها

جوانه‌زنی دانه‌ها و تیمارهای مختلف

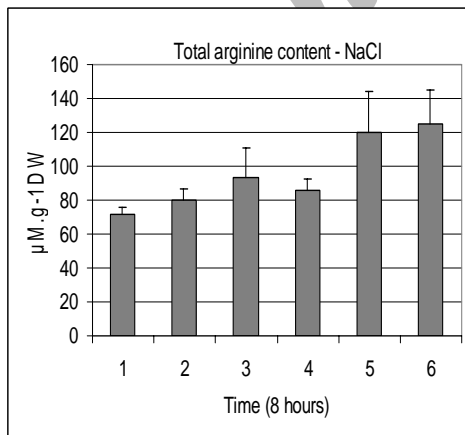
دانه‌های سویا رقم پرشینگ، مدت ۱۰ دقیقه را در محلول ۱۰ درصد هیپوکلریت سدیم جهت میکروب‌زدایی سپری کردند و سپس با آب مقطر شستشو شدند. پس از آن برای مدت ۴۸ ساعت در ظروف پتری بین کاغذ صافی واتمن نمره ۱ (۵ تکرار برای هر تیمار) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و



شکل ۱- مقایسه تغییرات درصد جوانه‌زنی دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در آب مقطر (نمونه‌های شاهد) و تیمارهای مختلف.



شکل ۲- مقایسه محتوای کلی آرژنین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در آب مقطر (نمونه‌های شاهد) و در پایان هر ۸ ساعت.



شکل ۳- مقایسه محتوای کلی آرژنین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در NaCl و در پایان هر ۸ ساعت.

تعیین شدند. همچنین در سطح ۰/۰۵، با استفاده از آنالیز واریانس یک عاملی و آزمون F، معنی‌دار بودن اثرات تیماری و اختلافات میانگین‌ها بررسی گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

جوانه‌زنی

- در کلیه موارد، شکل عمومی منحنی جوانه زنی سیگموئیدی است (شکل ۱).

- تیمار ژبیرلین نسبت به شاهد، تفاوت معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی طی ۴۸ ساعت ایجاد نمی‌کند. - شوری، موجب تاخیر معنی‌دار در جوانه‌زنی، به ویژه در ۸ ساعت سوم و چهارم می‌شود.

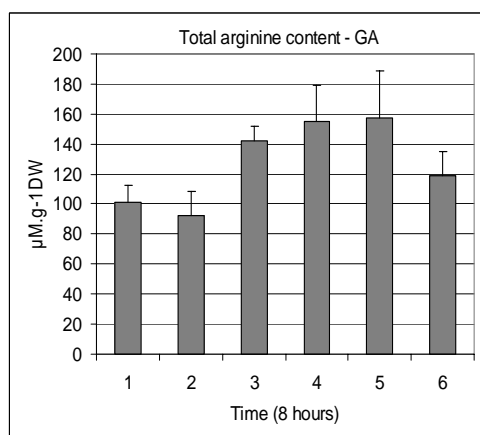
- تنش اسمزی (تیمار PEG)، موجب تاخیر و نیز کاهش معنی‌دار در پایان ۴۸ ساعت در درصد جوانه زنی می‌شود.

- اسید ژبیرلیک آثار منفی کلرور سدیم و یا پلی اتیلن گلیکول را به تدریج در طی ۴۸ ساعت کاهش می‌دهد، ولی اختلاف تیمارهای توام و شاهد در پایان این مدت، معنی‌دار نیست.

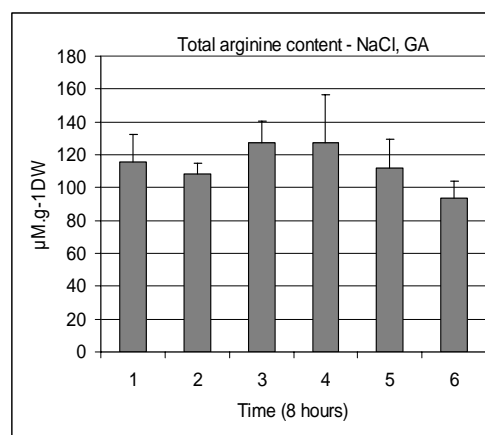
محتوای آرژنین آزاد

در نمونه‌های شاهد و نیز تیمارهای شوری (NaCl) و پلی اتیلن گلیکول (PEG)، روند افزایش تدریجی و ملایم در محتوای آرژنین ملاحظه می‌شود که در بین مقاطع ۸ ساعته مجاور، معنی‌دار نیست. این افزایش در تیمارهای شوری و پلی اتیلن گلیکول در مقاطع اول تا چهارم با تاخیر بیشتری نسبت به شاهد انجام می‌شود

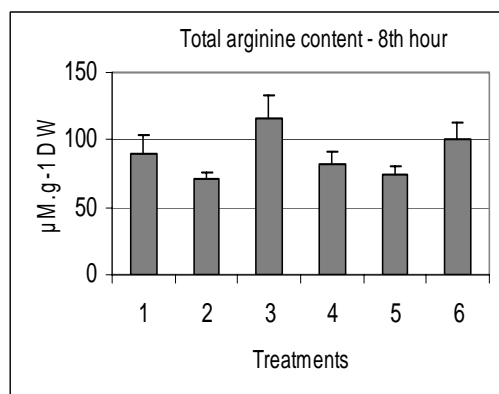
(شکل های ۲ تا ۱۳). تیمار ژبیرلین، این افزایش را شدت می‌بخشد و تاخیر حاصل از تیمار شوری را جبران می‌نماید، ولی در مورد تیمار پلی اتیلن گلیکول، اثر جبرانی نشان نمی‌دهد (شکل های ۴ و ۶ تا ۱۰). توضیح این که در کلیه شکل ها، ستون‌ها و شاخص‌ها به ترتیب نشاگر میانگین و انحراف معیار هستند.



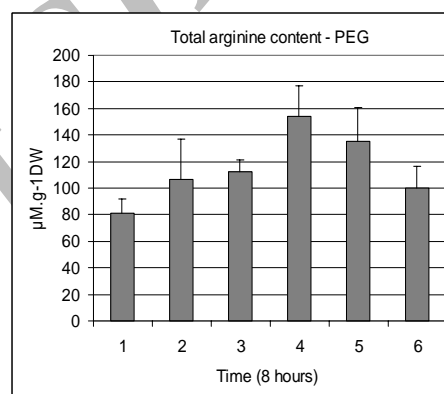
شکل ۷- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در *GA* و در پایان هر ۸ ساعت.



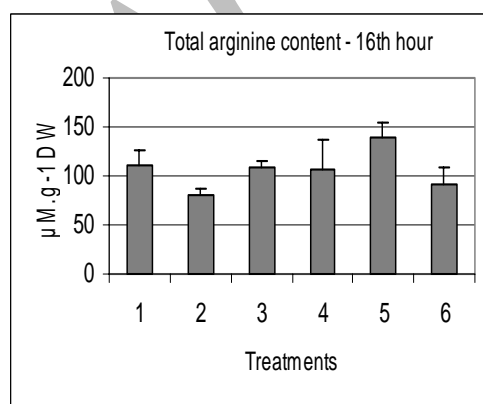
شکل ۴- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در *NaCl*, *GA* و در پایان هر ۸ ساعت. ستونها و شاخصها به ترتیب نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند.



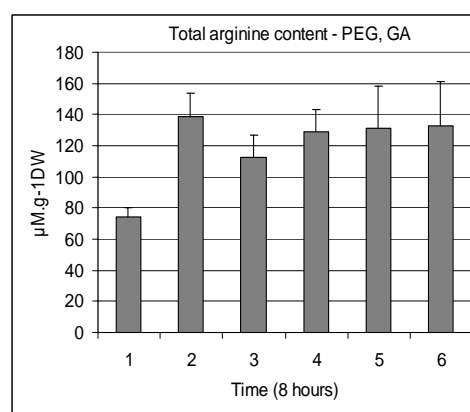
شکل ۸- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۸ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیرلین (۵) و تیمار ژیرلین (۶). توضیح تیمارها مشابه موارد مندرج در مورد شکل‌های ۲ تا ۶ است.



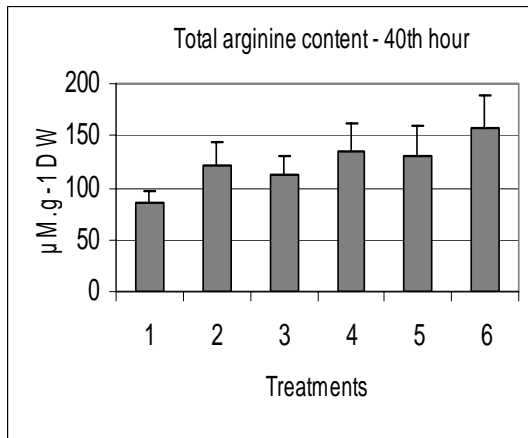
شکل ۵- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در *PEG* و در پایان هر ۸ ساعت.



شکل ۹- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۱۶ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیرلین (۳)،

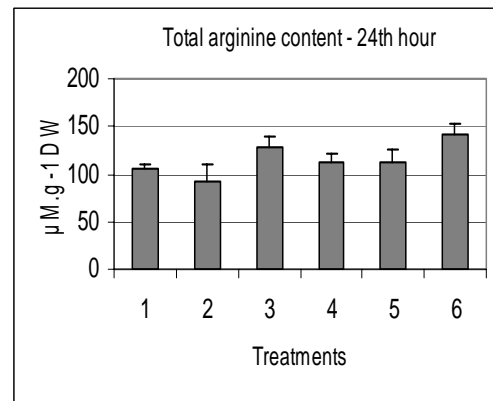


شکل ۶- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در *PEG.GA* و در پایان هر ۸ ساعت.

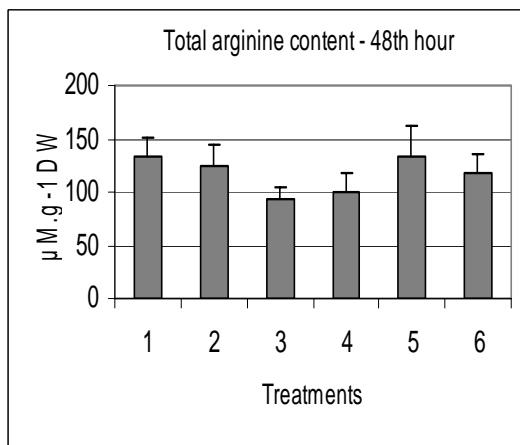


شکل ۱۲- مقایسه محتوای کلی آرژنین پس از گذشت ۴۰ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبیرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبیرلین (۵) و تیمار ژیبیرلین (۶).

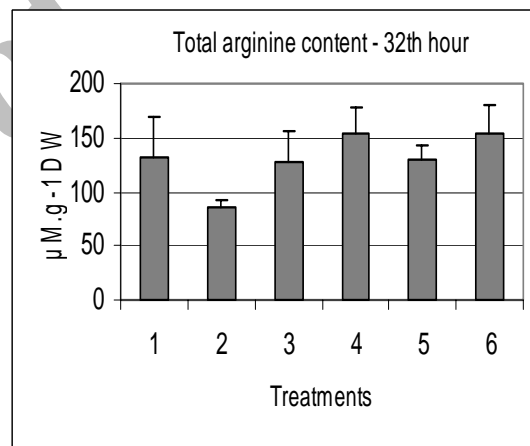
تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبیرلین (۵) و تیمار ژیبیرلین (۶).



شکل ۱۰- مقایسه محتوای کلی آرژنین پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبیرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبیرلین (۵) و تیمار ژیبیرلین (۶).



شکل ۱۳- مقایسه محتوای کلی آرژنین پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبیرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبیرلین (۵) و تیمار ژیبیرلین (۶).



شکل ۱۱- مقایسه محتوای کلی آرژنین پس از گذشت ۳۲ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبیرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبیرلین (۵) و تیمار ژیبیرلین (۶).

افزایش محتوای آن در ۸ ساعت اول تا چهارم ملاحظه می‌شود که مصادف با تاخیر در جوانه‌زنی است. در مورد تنش شوری، ژیبیرلین افزایش محتوای آرژنین را شدت می‌بخشد، ولی این تاثیر را در تیمار توام با پلی اتیلن گلیکول نشان نمی‌دهد، هر چند در هر دو تیمار، تاخیر در جوانه‌زنی را جبران می‌کند.

بحث

دلیل احتمالی تاخیر جوانه‌زنی در کلرور سدیم ۵۰ میلی مولار در مورد آرژنین تاخیر در افزایش محتوای آن در ۸ ساعت اول تا چهارم ملاحظه می‌شود که مصادف با تاخیر در جوانه زنی است. دلیل تاخیر جوانه‌زنی در پلی اتیلن گلیکول ۶۴ گرم بر لیتر مشابه تیمار نمکی، در مورد آرژنین تاخیر در

یا تفاوت در پاسخ‌های فیزیولوژیکی در مقاطع زمانی ۸ ساعته پنجم و ششم مربوط به تفاوت در مراحل نمو باشد. همچنین نحوه این پاسخ‌ها در مقاطع زمانی مختلف، لزوماً مشابه نیست.

به نظر می‌رسد کاهش کلی آرژنین، نقش مهمی در کاهش و ایجاد تاخیر در جوانه‌زنی در شرایط شور داشته باشد، در حالی که در مورد تنش اسمزی، تاخیر در افزایش آرژنین در مقاطع زمانی اولیه، بر تاخیر در جوانه زنی موثر بوده است. همچنین نباید اهمیت هیستیدین را از نظر دور داشت. ممکن است این اسید آمینه در کنار آرژنین و لیزین در مسیر بیوسنتز پلی‌آمین‌ها و واجد نقش‌های مثبت در کمک به جوانه زنی باشد. از سوی دیگر، تغییر محتوای آمینواسیدهای بازی ممکن است در متابولیسم هیستون‌ها طی جوانه زنی موثر باشد (۸).

پاسخ تیمار توام ژیبیرلین با هر یک از تیمارهای تنش‌زا الزاماً یکسان نیست. برای مثال می‌توان به تفاوت این پاسخ‌ها در مورد جوانه‌زنی، به محتوای آرژنین اشاره نمود. از نظر زود هنگام بودن پاسخ دانه‌ها به ژیبیرلین نتایج پژوهش حاضر مشابه پژوهش‌های دیگری مانند کاهو است که تعدیل سنتز پروتئین‌ها قبل از جوانه‌زنی را از آثار تیمار با ژیبیرلین می‌داند (۱۱). با این وجود، اثر مثبتی برای GA3 در کاهش آثار منفی شوری بر جوانه زنی دیده نشده، نتایج کار حاضر با آثار GA4 روی گیاه *Suaeda salsa* از این نظر قابل مقایسه است (۱). با در نظر گرفتن این نکته که به ویژه در مقاطع زمانی پایانی، اکثر دانه‌ها در نمونه‌های شاهد و تیمارهای مختلف از مرحله جوانه‌زنی مطلق وارد مرحله رشد شده‌اند، ممکن است برخی از تغییرات و

منابع مورد استفاده

فیزیولوژیکی جوانه زنی سویارقم پرشینگ و پیگیری

در برخی دانه رسته‌ها

- Almansouri, M., Kinet, J. M., Lutts, S., 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum Desf*). *Plant and Soil* 231: 234-254.
- Brown, S. C., Gregory, P. J., Cooper, P. M., Keating, J. D. H., 1989. Root and shoot growth and water use of chickpea (*Cicer arietinum*) grown in dry land conditions: *Journal of Agricultural Science* 113: 41-49.
- Cerda, A., Caro, M., Fernandez, F. G., 1982. Salt tolerance of two pea cultivars. *Agronomy Journal* 74: 796-798.
- Clyde, T., 1973. Automated colorimetric measurement of free arginine in plants as a means to evaluate maturity and flavor. *J Agric Food Chem* 21(4): 556-558.
- Delgado, M. G., Ligerio, F., Liuch, C., 1994. Effects of salt stress on growth and nitrogen fixation by pea. *Faba bean. Common bean and soybean plants. Soil Biology and Biochemistry* 26: 371-376
- Fountain, D. W., 1976. Bewley., Lettuce seed germination. *Plant Physiol* 58: 530-536.
- Goldraj, A., Coelle, P., Polacco, J. C., 1998. Nucleotide Sequence of a Cdna

۱. ساطعی، آ. پایان نامه دکتری، دانشگاه تربیت معلم

تهران (۱۳۸۳). اثر شوری بر برخی از جنبه‌های

- Encoding a Soybean Seedling Axes Arginase (Accession No. AFO35671) (PGR98-016). *Plant Physiol* 116: 867-872.
- Katembé, W. J., Unger, I. A., Mitchell, J. P., 1988. Effect of salinity on germination and seedling growth of two *Atriplex* species (Chenopodiaceae). *Annals of Botany* 82: 167-175.
- Kato, A., Fukuei, K., Tanifuji, S., 1982. Histone Synthesis during the Early Stages of Germination in *Vicia faba* Embryonic Axes. *Plant and Cell Physiology* 23: 967-976
- Hosseini, M., Powell, A. A., Bingham, I. J., 2003. The interaction between salinity stress and seed vigour during germination of soybean seeds. *Seed Sci & Technol* 31: 715-725.
- Li, W., Yamaguchi, S., 2005. The effect of plant growth regulators, nitric oxide, nitrate, nitrite and light on the germination of dimorphic seeds of *suaeda salsa* under saline conditions. *J Plant Res* 118: 207-214.