زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال دوم، شماره دوم، (پیاپی ۴) تابستان ۱۳۸۹، صفحه ۳۱ -۴۰
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۲/۲۵
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۰۷/۰۷
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۸۹/۰۹/۰۶
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۸۹/۰۹/۰۷

نقش حفاظتی پلی‌آمین‌ها در برابر شوک گرمایی در رشد دانه‌رُست‌های سویا

سمانه مقیم، ریحانه عموآقایی[1*] و بهزاد شارقی[1]
[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد

چکیده

سویا گیاهی گرما دوست است، اما دماهای بالاتر از ۴۰ درجه از تندش بذر آن جلوگیری می‌نماید. در این پژوهش، اثر حفاظتی پلی‌آمین‌های خارجی (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) در برابر شوک گرمایی در دانه‌رُست‌های سویا رقم سحر بررسی شد. در کنار آزمایش اصلی، تأثیر اسید آمینه لیزین در برابر شوک گرمایی در شرایط کاملاً مشابه با پلی‌آمین‌ها بررسی شد تا مشخص گردد که تغییرات فاکتورهای رشد در برابر پلی‌آمین‌ها یک اثر اختصاصی است یا تنها، اثر یک منبع نیتروژن آلی است که توسط اسید آمینه لیزین نیز قابل تقلید است. نتایج نشان داد که شوک گرمایی موجب کاهش رشد گردیده، پیش تیمار پوترسین و اسپرمیدین موجب افزایش تحمل گرمایی و بازیابی رشد می‌شود. پیش تیمار همزمان بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین و پوترسین موجب کاهش اثر مهاری بازدارنده و بازیابی رشد گردید. پیش تیمار لیزین در حالت شوک گرمایی اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد در این حالت نشان نداد. بنابراین، اسید آمینه لیزین به عنوان یک منبع نیتروژن نتوانسته نقش حفاظتی در برابر شوک گرمایی ایفا نموده، موجب بازیابی رشد گردد، در حالی‌که پلی‌آمین‌های پوترسین و اسپرمیدین موجب بازیابی رشد دانه‌رُست‌ها پس از شوک گرمایی شده است.

واژه‌های کلیدی: پلی‌آمین‌ها، دانه‌رُست‌ها، سویا، شوک گرمایی، لیزین

مقدمه

تنش حرارتی، فاکتور محدود کنندهٔ مهمی در تولید محصول و سازگاری است، به ویژه هنگامی که با مراحل حیاتی رشد و نمو گیاهی مقارن می‌شود؛ حتی شوک گرمایی کوتاه مدت در محدودهٔ دمایی ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد، تغییرات چشمگیری را در فرآیندهای رشد و نمو گیاهی موجب می‌شود (Wahid *et al.*, 2007). آسیب‌های درجه حرارت‌های بالا، شامل: پژمردگی برگ‌ها و شاخه‌های کوچک، سوختگی برگ‌ها، شاخه‌ها، ساقه، پیری برگ‌ها و ریزش آنها، توقف رشد ریشه و ساقه، بی‌رنگ شدگی میوه و کاهش محصول است (Wollenweber *et al.*, 2003).

سویا با نام علمی *Glycine max* (L.) Merr. از تیرهٔ بقولات و گیاهی گرمادوست است که در مناطق معتدل نیز

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: rayhanehamooaghaie@yahoo.com، شماره تماس: ۰۹۱۳۳۰۲۹۲۹۰

Archive of SID
www.SID.ir

عملکرد خوبی دارد، اما افزایش حرارت بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد خاک اطراف ریشه آن، منجر به کاهش فعالیت باکتری‌های همزیست ریشه آن شده، حرارت بالای ۴۰ درجه در خاک موجب از بین رفتن آن می‌شود. سویا در دمای ۲۰ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد رشد بهینه دارد. حرارت‌های بیش از ۴۰ درجه از تندش بذر جلوگیری می‌نماید و دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد رشد طولی محور زیر لپه این گیاه را کاهش می‌دهد (لطیفی، ۱۳۷۲).

پلی‌آمین‌ها ترکیبات آلی نیتروژن‌داری هستند که در کلیه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها حضور دارند (Edreva, 1996). پلی‌آمین‌ها به عنوان مواد تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرآیندهای رشد و نمو، شامل: تقسیم سلولی، رویان‌زایی، ریخت‌زایی، گلدهی، رسیدن میوه‌ها، تکوین ریشه، تأخیر پیری، پایداری غشاها، جمع‌آوری رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند (Kaur-Sawhney *et al*., 2003).

نقش پلی‌آمین‌ها در واکنش به برخی تنش‌های گیاهی مشخص گردیده، اما نقش آن‌ها در حفاظت گیاهان عالی در برابر شوک گرمایی به خوبی مشخص نشده است (Basra *et al*.,1997). به نظر می‌رسد اهمیت پلی‌آمین‌ها در رویارویی با تنش‌ها می‌تواند به دلیل نقش آنها در تنظیم اسمزی، پایداری غشا و جاروکنندگی رادیکال‌های اکسیژنی فعال از محیط سلول‌ها باشد (Singh *et al*., 2002; Liu *et al*., 2007).

در این پژوهش، نقش حفاظتی پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) در برابر شوک گرمایی در دانه‌رُست‌های سویا با کاربرد پلی‌آمین‌ها بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش، پلی‌آمین‌ها (شاهد، پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) از شرکت Sigma خریداری و دانه‌های سویا رقم سحر از شرکت توسعه و کشت دانه‌های روغنی تهران تهیه گردید.

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو سطح شوک گرمایی (بدون شوک و با شوک گرمایی)، چهار سطح پلی‌آمین‌ها (شاهد، پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) با ۳ تکرار در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه شهرکرد انجام شد.

پس از ضدعفونی بذرهای سویا توسط هیپوکلریت سدیم ۱٪، در پتری‌دیش‌های شامل دو کاغذ صافی خیس قرار گرفته، به دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوباتور منتقل شدند. پس از جوانه‌زنی، زمانی که طول ریشه‌چه به اندازهٔ یک سانتی‌متر رشد کرد، قبل از اعمال شوک گرمایی با پلی‌آمین‌ها تیمار شد، کلیه دانه‌رُست‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت پیش از شوک گرمایی، با محلول‌های یک میلی‌مولار پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) که به تازگی تهیه شده بود، پیش تیمار گردیدند. سپس دانه‌رُست‌ها به مدت ۲ ساعت تحت شوک گرمایی ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پیش تیمار گروه دیگری از دانه‌رُست‌ها با پلی‌آمین‌ها، بدون قرارگیری در معرض شوک گرمایی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس کلیه دانه‌رُست‌ها به دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوباتور منتقل شدند. پس از ۵ روز پارامترهای رشد شامل طول ریشه اولیه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست (ریشه + هیپوکوتیل) بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد.

Archive of SID

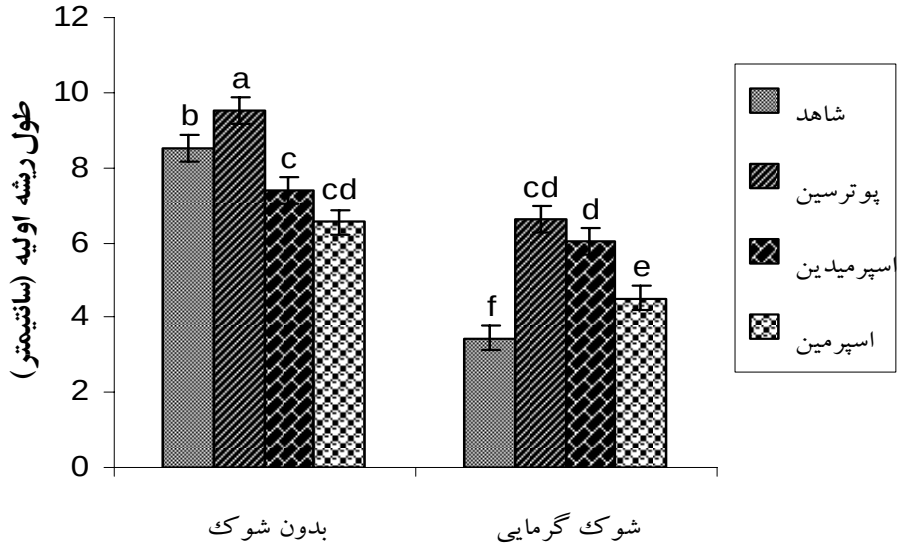
www.SID.ir

در کنار آزمایش اصلی، آزمایش اسید آمینه لیزین در برابر شوک گرمایی در شرایط کاملاً مشابه با پلی‌آمین‌ها صورت گرفت تا مشخص گردد که تغییرات فاکتورهای رشد در برابر پلی‌آمین‌ها یک اثر اختصاصی است یا تنها، اثر یک منبع نیتروژن آلی است که توسط اسید آمینه لیزین نیز قابل مشاهده است.

برای بررسی نقش پلی‌آمین‌ها، از بازدارنده اختصاصی پوترسین، دی فلورو متیل ارنیتین (DFMO)، استفاده گردید. آزمایش با دو سطح شوک گرمایی (بدون شوک و با شوک)، در سه سطح بازدارنده اختصاصی پوترسین (DFMO) شامل شاهد، بازدارنده به تنهایی در غلظت ۴ میلی‌مولار و بازدارنده + پوترسین در غلظت یک میلی‌مولار انجام گردید و واکنش‌های رشد شامل طول ریشه اولیه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست (ریشه + هیپوکوتیل) بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد.

نتایج

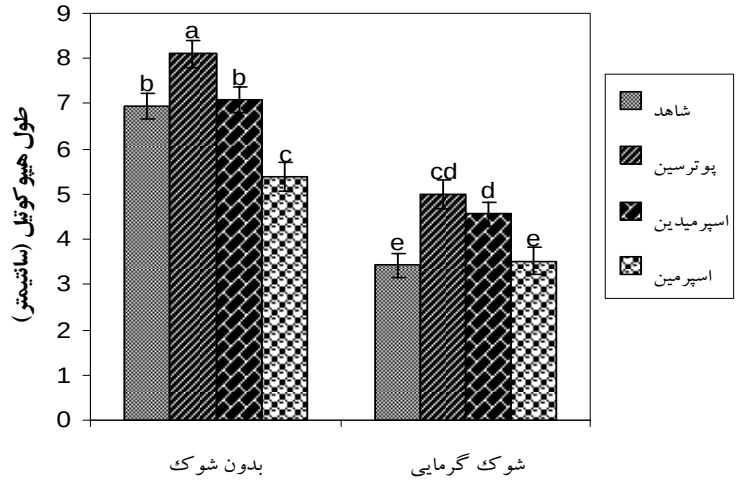
اثر متقابل شوک گرمایی و پلی‌آمین‌ها بر طول ریشه اولیه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست ($P<0.05$) معنی‌دار است. بالاترین میانگین طول ریشه اولیه (شکل ۱)، هیپوکوتیل(شکل ۲) و طول کل دانه‌رُست (شکل ۳) مربوط به پیش تیمار پوترسین در حالت بدون شوک گرمایی (۲۸ درجه سانتی‌گراد) است. کمترین میانگین رشد مربوط به حالت شوک گرمایی - ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت- است.



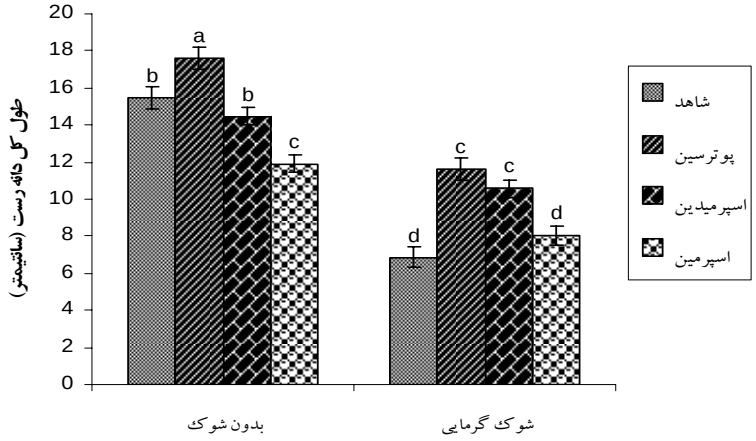
شکل ۱- اثر متقابل شوک گرمایی و پلی‌آمین‌ها بر میانگین طول ریشه اولیه سویا

نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.

www.SID.ir



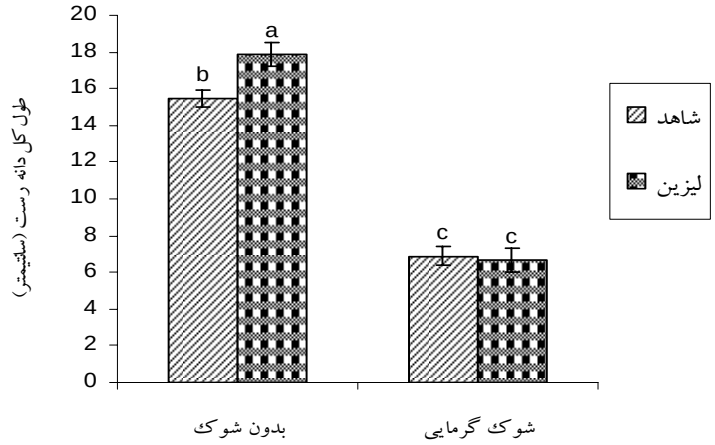
شکل ۲- اثر متقابل شوک گرمایی و پلی‌آمین‌ها بر میانگین طول هیپوکوتیل سویا
نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.



شکل ۳- اثر متقابل شوک گرمایی و پلی‌آمین‌ها بر میانگین طول کل دانه‌رُست سویا
نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.

پیش‌تیمار پوترسین و اسپرمیدین از کاهش بیش از حد طول ریشه اولیه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست نسبت به گروه شاهد در حالت شوک گرمایی ممانعت نموده است. اثر متقابل لیزین و شوک گرمایی بر طول کل دانه‌رُست در سطح $P<0.05$ معنی‌دار است. در بررسی اثر متقابل شوک گرمایی و لیزین بر میانگین طول کل دانه‌رُست (شکل ۴) مشخص شد که بالاترین طول کل دانه‌رُست مربوط به پیش تیمار لیزین در حالت بدون شوک است که دارای اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد است.

www.SID.ir

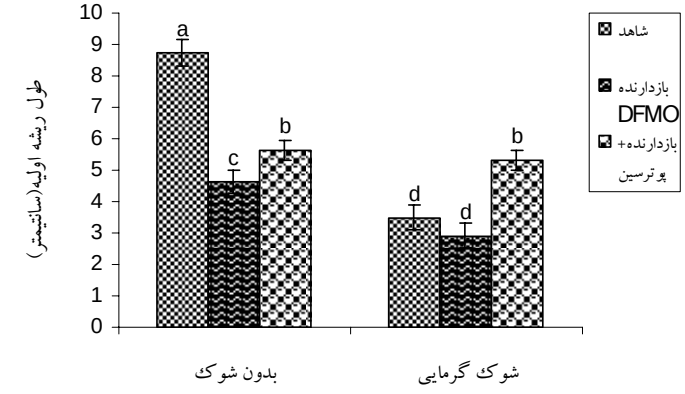


شکل۴- اثرمتقابل شوک گرمایی و لیزین بر میانگین طول کل دانه‌رُست سویا

نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.

کمترین میانگین طول کل مربوط به پیش‌تیمار لیزین در حالت شوک گرمایی است که اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد در این حالت نشان نمی‌دهد. بنابراین، اسید آمینه لیزین به عنوان یک منبع نیتروژن نتوانسته نقش حفاظتی در برابر شوک گرمایی ایفا نموده، موجب بازیابی رشد گردد، در حالی‌که پلی‌آمین‌های پوترسین و اسپرمیدین موجب بازیابی رشد دانه‌رُست‌ها (شکل ۳) پس از شوک گرمایی شده است.

اثر متقابل شوک گرمایی و بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین بر شاخص‌های رشد اندازه گیری شده در سطح $P<0.05$ معنی‌دار بود. کمترین میانگین طول ریشه اولیه (شکل ۵) و هیپوکوتیل (شکل ۶) مربوط به کاربرد بازدارنده دی‌فلورو متیل ارنیتین به تنهایی در حالت شوک گرمایی است. کاربرد بازدارنده به همراه پوترسین موجب بازیابی رشد ریشه و هیپوکوتیل دانه‌رُست‌ها گردیده است.

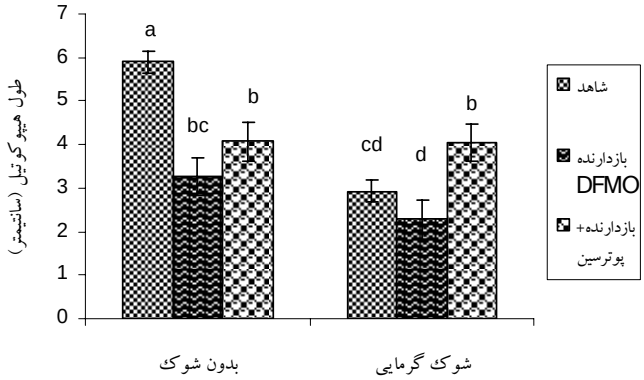


شکل ۵- اثر متقابل بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین و شوک گرمایی بر طول ریشه اولیه سویا

نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۶- اثر متقابل بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین و شوک گرمایی بر طول هیپوکوتیل سویا
نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.

بحث و نتیجه‌گیری

شوک گرمایی جزو تنش‌هایی است که موجب آسیب رسانی به رشد ونمو گیاهی و در نتیجه کاهش محصول و بازدهی می‌گردد.

نتایج این پژوهش نشان داد که شوک گرمایی موجب کاهش معنی‌دار ۴۰/۴۹٪، ۴۹/۲۲٪ و ۴۴/۴۱٪ به ترتیب در طول ریشه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست (طول ریشه + هیپوکوتیل) می‌گردد.

تأثیر بازدارندگی درجه حرارت‌های بالا در سایر گیاهان مانند گوجه‌فرنگی (Wahid *et al*., 2007)، لوبیا (Basra *et al*., 1997)، باقلا (Hamada, 2001)، گندم (Hamada and Khulaef, 1995) و نیشکر (Ebrahim *et al*., 1998)، نیز آثار کاهشی معنی‌داری را بر شاخص‌های رشد نشان می‌دهد.

نتایج ما نشان داد که بالاترین طول ریشه اولیه (شکل ۱)، هیپوکوتیل (شکل ۲) و طول کل دانه‌رُست (شکل ۳) با کاربرد پوترسین در حالت بدون شوک به دست آمده است.

تحقیقات نشان می‌دهد که پوترسین توانایی تأمین منبع نیتروژنی در رشد جداکشت‌های آفتابگردان را داراست (Bagni *et al*., 1978). همچنین نقش پلی‌آمین‌ها در کنترل تقسیم سلولی و تمایز در مریستم انتهایی ریشه، تشکیل ریشه اولیه، ریشه‌های جانبی و نابجا گزارش شده است (Couee *et al*., 2004).

نتایج این پژوهش نشان داد که پیش تیمار پوترسین و اسپرمیدین قبل از شوک گرمایی، موجب افزایش تحمل گرمایی و بازیابی رشد دانه‌رُست‌های سویا گردیده است. مطالعات مختلف نشان می‌دهد قرارگیری گیاهان در معرض تنش‌های مختلف، منجر به تجمع پوترسین می‌شود (Basra *et al*., 1997; Shevyakova *et al*., 1994). اکثر تحقیقات نشان می‌دهد کاربرد پلی‌آمین‌های خارجی می‌تواند در درجات مختلفی موجب بازگشت رشد یا کاهش مهار رشد طی تنش گردد که نشان دهنده تأثیر پلی‌آمین‌ها در کاهش آسیب سلولی ناشی از تنش است (Foster and Walters, 1991; Velikova *et al*., 2000; Wang *et al*., 2006).

Archive of SID

www.SID.ir

با به کارگیری اسید آمینه لیزین در شرایط مشابه پلی‌آمین‌ها (شکل ۴)، هیچ پاسخ حفاظتی در برابر شوک گرمایی مشاهده نگردید. بنابراین، پلی‌آمین‌ها در این آزمایش علاوه بر تحریک رشد به عنوان منبع نیتروژن، دارای نقش حفاظتی در برابر شوک گرمایی هستند.

علاوه بر کاربرد پلی‌آمین‌های خارجی که واکنش به تنش را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش پلی‌آمین‌های داخلی نیز می‌تواند در تعیین نقش پلی‌آمین‌ها مؤثر باشد. یکی از روش‌های کاهش پلی‌آمین‌های داخلی، کاربرد بازدارنده‌های بیوسنتزی پلی‌آمین‌هاست. کاهش پلی‌آمین‌های داخلی به افزایش حساسیت به تنش و آسیب شدیدتری به رشد گیاه منجر می‌گردد (Liu *et al*., 2007; Basra *et al*., 1997).

نتایج ما نشان داد که کمترین میانگین رشد ریشه اولیه و هیپوکوتیل مربوط به کاربرد بازدارندهٔ دی‌فلورو متیل ارنیتین به تنهایی است. کاربرد بازدارنده موجب افزایش حساسیت دانه‌رُست‌ها به تنش می‌شود و کاربرد همزمان بازدارنده و پوترسین موجب بازیابی رشد دانه‌رُست‌ها می‌گردد.

تحقیقات دیگری نیز نشان می‌دهد تیمار دانه‌رُست‌های اتیوله لوبیا با بازدارندهٔ دی‌فلورو متیل ارنیتین، موجب حساس شدن دانه‌رُست‌ها به شوک گرمایی - ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت - و افزودن پوترسین موجب بازیابی رشد دانه‌رُست‌ها می‌گردد (Basra *et al*., 1997).

پلی‌آمین‌ها در گیاهان توسط مسیرهای واسطه‌ای که با آنزیم‌های ارنیتین دکربوکسیلاز و آرژنین دکربوکسیلاز کاتالیز می‌گردد، ساخته می‌شوند .دی‌فلورو متیل ارنیتین از بازدارنده‌های اختصاصی ارنیتین دکربوکسیلاز است. کاهش تحمل گرمایی توسط این بازدارنده می تواند این گونه تفسیر گردد که مسیر سنتز پلی‌آمین‌ها توسط ارنیتین دکربوکسیلاز یکی از مسیرهای مؤثر و فعال در بیوسنتز پلی‌آمین‌ها بوده، در حفاظت گرمایی و بازیابی رشد در دانه‌رُست‌ها مورد نیاز است (Basra *et al*., 1997; Bouchereau *et al*., 1999).

با توجه به کشت سویا در مناطق گرمسیری کشور و کاربرد رقم سحر در این مناطق، می‌توان با استفاده از پلی‌آمین‌ها به بهبود تحمل گرمایی این رقم کمک مؤثری نمود.

منابع

لطیفی، ن. (۱۳۷۲) زراعت سویا (زراعت، فیزیولوژی و مصارف). انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد.

Bagni, N., Calzoni G. L. and Speranza, A. (1978) Polyamines as sole nitrogen sources for *Helianthus tuberosus* explants *in vitro*. New Phytologist 80:317-323.

Basra, R. K., Basra, A. S., Malik, C. P. and Grover, I. S. (1997) Are polyamines involved in the heat- shock protection of mung bean seedlings? Botanical Bullentin Academia Sinica 38:165-169.

Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. and Martin- Tanguy, J. (1999) Polyamines and environmental challenges: recent development. Plant Science. 140: 103-125.

Couee, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. and EL- Amrani, A. (2004) Involvement of polyamines in root development. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 76:1-10.

Archive of SID

www.SID.ir

Ebrahim, M. K., Zingsheim, O., EL-Shourbagy, M. N., Moore, P. H. and Komor, E. (1998) Growth and sugar storage in sugarcane grown at temperature below and above optimum. Journal of Plant Physiology 153: 543-602.

Edreva, A. (1996) Polyamines in plants. Bulgarian Journal of Plant Physiology 22:73-101.

Foster, S. A. and Walters D. R. (1991) Polyamine concentrations and arginine decarboxylase activity in wheat exposed to osmotic stress. Plant Physiology 82: 185-190.

Hamada, A. M. and Khulaef, E. M. (1995) Effects of salinity and heat- shock on wheat seedling growth and content of carbohydrates, proteins and amino acids. Biologia Plantarum 37:399-404.

Hamada, A. M. (2001) Alteration in growth and some relevant metabolic processes of broad bean plants during extreme temperatures exposure. Acta Physiologiae Plantarum 23:193:200.

Kaur-Sawhney R., Tiburcio, A. F. and Galston, A.W. (2003) Polyamines in plants: An overview. Journal of Cell and Molecular Biology 2: 1-12.

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

Shevyakova. N. I., Roschupkin, B. V., Paramonova, N. V. and Kuznetsov, V. V. (1994) Stress responses in *Nicotiana sylvestris* cells to salinity and high temperature: accumulation of proline, polyamines, betaine and sugars. Russian Journal of Plant Physiology 41: 490-496.

Singh, D. B., Verma, S. and Mishra, S. N. (2002) Putrescine effect on nitrate reductase activity, organic nitrogen/protein and growth in heavy metal and salinity stressed mustard seedlings. Plant Biology 45: 605-608.

Velikova, V., Yourdanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain- treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Plant Science 51:59-66.

Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Heat tolerance in plants: An overview. Environmental and Experimental Botany 61: 199-223.

Wang X., shi, G., Xu, Q. and Hu, J. (2006) Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatam*. Journal of Plant Physiology 10:1016-1023.

Wollenweber, B., Porter, J. R. and Schellberg, J. (2003) Lack of interaction between extreme high temperature events at vegetative and reproductive growth stages in wheat. Journal of Agronomy Crop Science 189: 142-150.

Archive of SID

www.SID.ir