

## اثر اسپرمیدین، تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی، پارامترهای رشد، تنظیم کننده‌های اسمزی، میزان سدیم و کلر دانه رست گندم

مریم نیاکان، \* سحر صادقی، مه لقا قربانلی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۹/۰۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۰۳

### چکیده

ترکیبات پلی آمین به عنوان تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نقش‌های مهم و حیاتی را در فرایندهای متابولیسمی گیاهان ایفا می‌کنند. تحقیقات نشان داده است، در هنگام بروز تنش ترکیبات پلی آمینی آندوژن در جهت بهبود پاسخ دفاعی گیاه افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی چگونگی اثر یک ترکیب پلی آمینی (اسپرمیدین) در غلظت‌های مختلف (۵ و ۱۰ میلی مول) بر درصد جوانه‌زنی، پارامترهای رشد، مقدار پرولین، گلیسین بتائین، قندهای محلول، ترکیبات فنلی و میزان  $Na^+$  و  $Cl^-$  دانه رست گندم (لاین N-80-19) در حضور مقادیر متفاوت نمک کلرید سدیم (۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول) تحت شرایط پتری دیش بود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نمک درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و اندام هوایی، وزن تر و وزن خشک، میزان تنظیم کننده‌های اسمزی و محتوای  $Cl^-$  روند نزولی داشته و با افزودن اسپرمیدین به شکل آگروژن از اثرات بازدارنده تنش شوری بر پارامترهای یاد شده به طور چشمگیری کاسته شد که این اثر در افزایش طول ریشه و ساقه در غلظت‌های بالای نمک قابل ملاحظه بود. همچنین نمک کلرید سدیم موجب افزایش میزان سدیم در دانه رست گندم شد، اما با افزایش اسپرمیدین میزان آن کاهش یافت.

**کلمات کلیدی:** پلی آمین، شوری، گندم، فاکتورهای رشد، تنظیم کننده‌های اسمزی

### مقدمه

ریشه‌زایی و جنین‌سازی، واکنش به تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده مانند دماهای پایین، بالا و شوری و تنش‌های آبی نقش ایفا می‌کنند. پلی آمین‌های معمول عبارتند از پوتریسین (دی آمین)، اسپرمیدین (تری آمین) و اسپرمین (تترا آمین). همه سلول‌ها دارای دی آمین‌هایی چون پوتریسین و تری آمین‌هایی چون اسپرمیدین هستند.

پلی آمین‌ها هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم و دارای زنجیره راست ۳ تا ۱۵ کربنه و دو گروه آمینی انتهایی هستند. این ترکیبات تقریباً در همه موجودات زنده یافت می‌شوند و در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله رشد و نمو گیاهان و جانوران، تحریک تقسیم سلولی، سنتز DNA و پروتئین‌ها، کنترل

رادیکال‌های آزاد، تثبیت غشایی و ساختارهای سلولی، ایجاد تعادل کاتیون و آنیون، تنظیم کانال‌های یونی و افزایش میزان انرژی سلول بوسیله تحریک سنتز ATP محافظت کند (Amarasinghe & Carlson, 1994).

در سال‌های اخیر رابطه مستقیمی بین کاربرد پلی آمین‌های اگزوزنی و افزایش تحمل به شوری در گیاهان مشاهده شده است. در چندین گیاه تراریخت مانند برنج، سیب‌زمینی، تنباکو و آرابیدوپسیس تالیانا مشاهده شد که استفاده از ژن‌های بیوسنتزکننده پلی‌آمین‌ها سبب افزایش تحمل به شوری می‌شود (Wi et al., 2006). کاربرد پلی‌آمین‌ها به شکل اگزوزن سبب به حداقل رسانیدن کاهش رشد در شرایط تنش می‌شود. همچنین تحقیقات نشان داده است که اثرات حفاظتی پلی‌آمین‌ها متفاوت است. به عنوان مثال اسپرمین و اسپرمیدین بیشتر از پوتریسین سبب بهبود پاسخ گیاه گندم به تنش شوری می‌شود (Liu et al., 2007). این ترکیبات ممکن است دارای اثرات چندگانه باشند. به عنوان مثال این ترکیبات علاوه بر اینکه سبب حذف رادیکال‌های آزاد و ثبات غشا گردند، می‌توانند بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید و دیسموتاز) و نیز پرولین مؤثر واقع شوند. همچنین این تنظیم‌کنندگان رشد موجب کاهش تجمع  $Na^+$  و  $Cl^-$  در تنش شوری می‌گردند (Ndayiragije & Lutts, 2006).

لذا با توجه به مطالب فوق هدف از این پژوهش بررسی اثر دو غلظت از اسپرمیدین اگزوزن (۵ و ۱۰ mM) بر درصد جوانه‌زنی، پارامترهای رشد، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و نیز میزان سدیم و کلر دانه رست گندم در پاسخ به دو سطح تنش شوری ملایم و شدید می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

در ابتدا دانه‌های گندم لاین N-80-19 از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه و با

سلول‌های یوکاریوت دارای اسپرمین نیز می‌باشند (Liu et al., 2006b).

سه ترکیب پلی‌آمین نقش مهمی را در پاسخ به تنش در گیاهان بازی می‌کنند که به گونه گیاهی و نوع تنش بستگی دارد. از میان این سه پلی‌آمین پوتریسین و اسپرمیدین بیشترین تاثیر را در تحمل به شوری در گیاهان دارد. (Kasukabe et al., 2004). در بسیاری از موارد تنش باعث می‌شود که پلی‌آمین‌ها به صورت آزاد یا ترکیبی درآیند. بیوسنتز پلی‌آمین‌ها می‌تواند به عنوان ترکیب موثری در پاسخ گیاهان به تنش باشد. تحت شرایط تنش‌زا تجمع پلی‌آمین‌ها ناشی از افزایش بیوسنتز آنها به شکل *denovo* و یا کاهش تخریب آنها توسط اکسیدازها می‌باشد (Bouchereau et al., 1999).

مشخص شده است که تجمع پوتریسین اندوزن در اکثر گیاهان در واکنش به تنش‌های مختلف مانند فقدان آب، اسموزیته شدید، کمبود یا زیاده از حد بودن کاتیون‌ها (مانند غلظت‌های بالای آمونیوم یا یون هیدروژن)، آلودگی‌های اتمسفر مثل دی‌اکسید سولفور و یون کادمیوم و دماهای پایین اتفاق می‌افتد. در همه موارد تولید بیش از حد پوتریسین مربوط به فعالیت آنزیم دکربوکسیلاز بود. بدین لحاظ این آنزیم به عنوان آنزیم عمومی تنش و تجمع پوتریسین به عنوان اصلی‌ترین نشانه فعالیت آرژینین دکربوکسیلاز ناشی از تنش در گیاهان در نظر گرفته می‌شود (Liu et al., 2006b).

تنش شوری سبب کاهش میزان پوتریسین در ریشه سه رقم گندم با افزایش غلظت NaCl گشت. همچنین میزان اسپرمین در ریشه‌های گندم که در NaCl با غلظت ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول رشد کردند و میزان پوتریسین کاهش یافت (Ioannidis et al., 2006). افزایش بیوسنتز پلی‌آمین‌ها می‌تواند از گیاهان در برابر شوری بوسیله حذف

## نتایج

اثر اسپرمیدین و نمک بر درصد جوانه زنی و فاکتورهای

رشد دانه رست گندم

درصد جوانه‌زنی: بررسی نتایج آنالیز واریانس در مرحله جوانه‌زنی نشان داد که پس از ۲۴ ساعت کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای نمک کلرید سدیم در غلظت‌های ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول بود که با افزودن اسپرمیدین ۵ و ۱۰ میلی مول به محیط کشت اثر بازدارندگی نمک بر جوانه‌زنی به طور معنی‌داری کاهش یافت و جوانه‌زنی افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت (شکل ۱). همچنین در طی ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت نیز کمترین درصد جوانه‌زنی در نمک ۶۵۰ میلی مول مشاهده گشت که کاربرد اسپرمیدین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی مول در حضور نمک ۶۵۰ میلی مول نیز موجب بهبود درصد جوانه‌زنی دانه‌های گندم شد (شکل ۱).

**طول ریشه:** در شکل ۲ اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر رشد ریشه دانه رست گندم آورده شده است. مطابق با نتایج بدست آمده وجود نمک ۳۵۰ و به خصوص ۶۵۰ میلی مول نمک کلرید سدیم در محیط کشت دانه سبب کاهش معنی‌دار طول ریشه دانه رست گندم نسبت به شاهد شد. افزودن اسپرمیدین به خصوص در غلظت ۵ میلی مول به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول موجب افزایش طول ریشه شد که این افزایش در سطح  $p < 0/05$  معنی‌دار بود. همچنین کاربرد اسپرمیدین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی مول به تیمار نمک ۶۵۰ میلی مول اندازه طول ریشه دانه رست گندم را بطور معنی‌داری افزایش داد.

**طول اندام هوایی:** بررسی نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنش ایجاد شده توسط نمک ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول موجب کاهش قابل ملاحظه در طول اندام هوایی نسبت به شاهد شد و افزودن اسپرمیدین ۵ و ۱۰ میلی مول تیمارهای

آب ژاول ۳ درصد ضد عفونی و سپس در پلیت‌های استریل در ژرمیناتور در دمای ۲۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. در این آزمایش دو غلظت از اسپرمیدین (۵ و ۱۰ میلی مول) و دو غلظت از نمک کلرید سدیم (۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول) به همراه آب مقطر به عنوان شاهد جهت تیمار دانه‌های گندم با توجه به نتایج پیش آزمایش در نظر گرفته شد. دانه‌های گندم در روز اول با غلظت‌های مختلف اسپرمیدین (۵ و ۱۰ میلی مول) و نمک کلرید سدیم (۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول) به میزان ۴ میلی لیتر آبیاری شدند. در روزهای بعد تا روز چهارم فقط با آب مقطر آبیاری گشتند. برای تعیین درصد جوانه‌زنی تا ۴ روز وضعیت جوانه‌زنی دانه‌ها بررسی و درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. دانه‌هایی که طول ریشه چه آن‌ها کمتر از ۱ سانتی متر بود به عنوان بذره‌های جوانه زده در نظر گرفته شد. از دانه رست‌های ۴ روزه برای سنجش پرولین، ترکیبات فنلی، گلیسین بتائین، قندهای محلول و میزان سدیم و کلر استفاده گشت. میزان پرولین بر حسب واحد  $\mu\text{M}\cdot\text{g}^{-1}\text{Fw}$  به روش Bates (۱۹۷۳)، قندهای محلول بر حسب واحد  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{Dw}$  به روش Kochert (۱۹۷۸)، گلیسین بتائین بر حسب واحد  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{Dw}$  به روش Sairam و همکاران (۲۰۰۲)، ترکیبات فنلی بر حسب واحد  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{Fw}$  به روش Matta و همکاران (۱۹۶۹) و اندازه‌گیری سدیم و کلر بر حسب واحد  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{Dw}$  به روش Waling (۱۹۸۹) استفاده شد.

## محاسبات آماری

این آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار برای هر تیمار توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد. مقایسه بین تیمارها و شاهد بر اساس آزمون دانکن در سطح  $p < 0/05$  انجام گرفت و نمودارها نیز با نرم افزار Excel رسم گردید.

تنها کاربرد اسپرمیدین در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌مول در حضور نمک ۳۵۰ میلی‌مول موجب افزایش معنی‌دار آن گشت و افزودن آن به محیط حاوی نمک ۶۵۰ میلی‌مول تغییر معنی‌داری را نسبت به ابن نمک به تنهایی ایجاد نمود (شکل ۸).

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای ترکیبات فنلی

ترکیبات فنلی دانه رست گندم تحت تاثیر تیمارهای نمکی مورد آزمایش قرار گرفت بدین ترتیب که نمک ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی‌مول موجب کاهش این ترکیبات در مقایسه با شاهد گشت. قابل ذکر است که کاربرد اثر اسپرمیدین در محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی‌مول موجب افزایش قابل ملاحظه ترکیبات فوق در دانه رست گندم شد (شکل ۹).

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای سدیم و کلر

تغییرات میزان سدیم و کلر در تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین در شکل‌های ۱۰ و ۱۱ نشان داده شده است. چنانچه در نمودار ۱۰ مشاهده می‌شود، میزان سدیم در تیمارهای حاوی نمک و اسپرمیدین از سطح بالاتری نسبت به تیمارهای بدون نمک برخوردار است. بالاترین میزان سدیم در تیمار ۳۵۰ میلی‌مول نمک مشاهده گشت و افزودن اسپرمیدین به این محیط سبب کاهش معنی‌دار میزان این عنصر شد. افزودن اسپرمیدین ۵ و ۱۰ میلی‌مول به نمک ۶۵۰ میلی‌مول موجب تغییرات معنی‌داری در محتوای سدیم دانه رست گندم نگشت.

همچنین مطابق با نتایج بدست آمده تنها افزودن اسپرمیدین ۵ میلی‌مول به محیط حاوی نمک ۶۵۰ میلی‌مول موجب افزایش معنی‌دار کلر گشت و بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱۱).

حاوی نمک اثر بازدارندگی نمک را بر طول اندام هوایی دانه‌رست گندم را به طور معنی‌داری برطرف کرد (شکل ۳). وزن تر: در شکل ۴ اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر وزن تر دانه رست گندم نشان داده شده است. اگرچه نمک ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی‌مول سبب کاهش وزن تر دانه رست گندم نسبت به شاهد گشت، ولیکن افزودن اسپرمیدین ۵ و ۱۰ میلی‌مول به محیط حاوی نمک نتوانست سبب افزایش معنی‌دار این فاکتور رشد در مقایسه با شاهد شود...

وزن خشک: چنانچه در شکل ۵ مشاهده می‌شود مقادیر مختلف نمک و اسپرمیدین تغییرات معنی‌داری در وزن خشک دانه رست گندم ایجاد نمود ( $p < 0/05$ ).

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای قندهای محلول

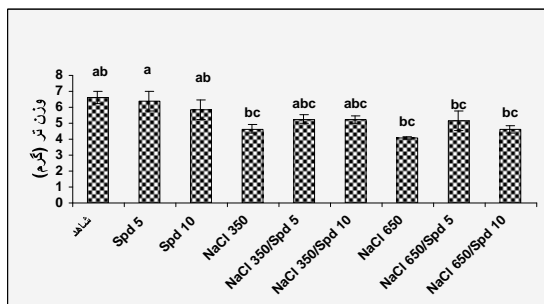
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنها غلظت ۶۵۰ میلی‌مول نمک موجب کاهش معنی‌داری در میزان قندهای محلول دانه رست گندم در مقایسه با سایر تیمارها گشت و افزودن اسپرمیدین در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مول به این تیمار موجب ازدیاد میزان قندهای محلول گشت. بین سایر تیمارها در سطح  $p < 0/05$  اختلاف معنی‌داری مشاهده نگشت (شکل ۶).

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای پرولین

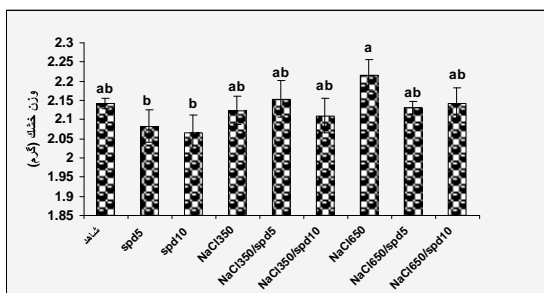
بررسی میزان پرولین دانه رست گندم در تیمارهای مورد آزمایش نشان داد که مقدار این اسید آمینه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف نمک و اسپرمیدین قرار نگرفت و بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح  $p < 0/05$  مشاهده نشد (شکل ۷).

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای گلیسین بتائین

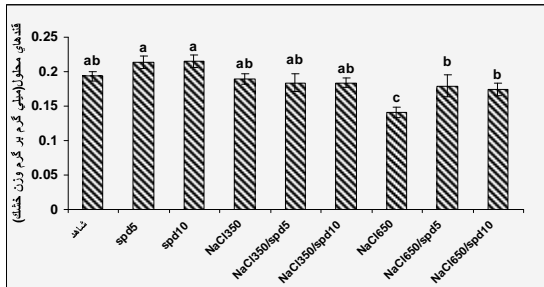
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تیمارهای نمک در مقادیر ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی‌مول نمک موجب کاهش معنی‌دار میزان گلیسین بتائین دانه‌رست گندم در مقایسه با تیمارهای بدون نمک شد. همچنین بررسی این اسید آمینه نشان داد که



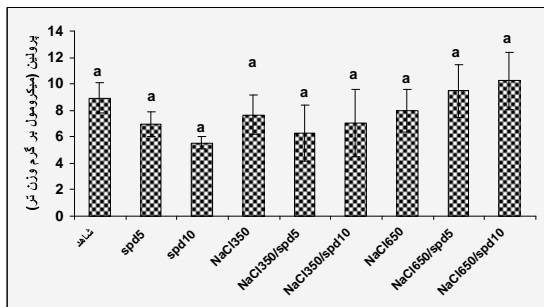
شکل ۴: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر وزن تر دانه رست گندم



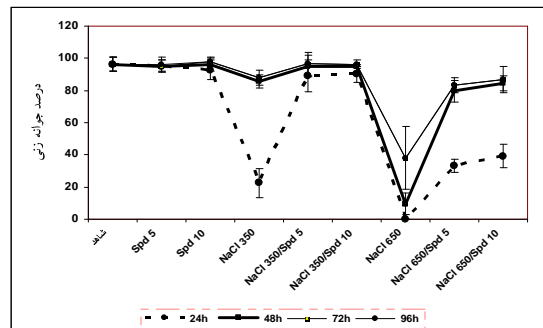
شکل ۵: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر وزن خشک دانه رست گندم



شکل ۶: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر محتوای قندهای محلول دانه رست گندم

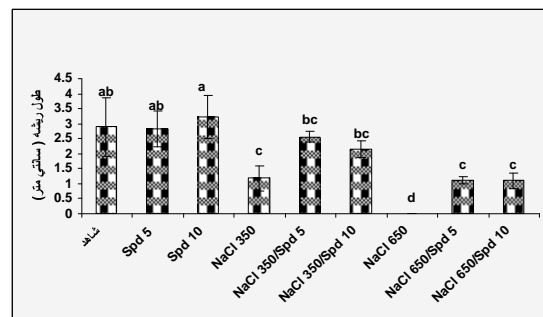


شکل ۷: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر میزان پروتئین دانه رست گندم



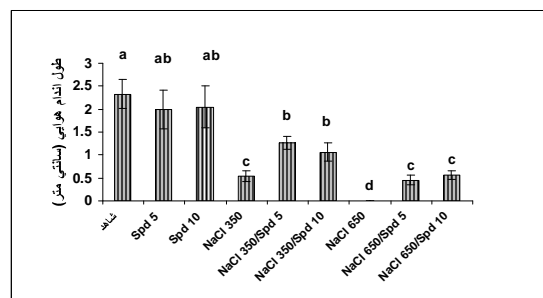
شکل ۱: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر درصد جوانه زنی دانه رست‌های گندم

Spd5 و Spd10 = غلظت ۵ و ۱۰ میلی مول اسپرمیدین. NaCl350 و NaCl650 = غلظت ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول نمک کلرید سدیم)



شکل ۲: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر طول ریشه دانه رست‌های گندم

Spd5 و Spd10 = غلظت ۵ و ۱۰ میلی مول اسپرمیدین. NaCl350 و NaCl650 = غلظت ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول نمک کلرید سدیم) حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح  $P < 0.05$  بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۳: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر طول اندام هوایی دانه رست گندم

بحث

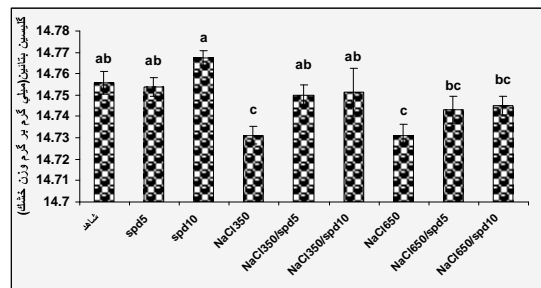
اثر اسپرمیدین و نمک بر درصد جوانه زنی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تیمار دانه‌های گندم با نمک کلرید سدیم در غلظت‌های ۳۵۰ و بخصوص ۶۵۰ میلی مول موجب کاهش معنی‌دار جوانه‌زنی در طی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت گشت. از سوی دیگر در بررسی اثر کاربرد اسپرمین در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی مول به همراه نمک کلرید سدیم مشاهده گشت که این ترکیب پلی آمینی موجب بهبود جوانه زنی به خصوص در زمانی که به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول نمک افزوده شد، گشت (شکل ۱).

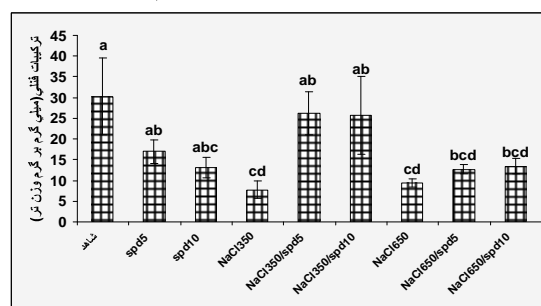
گزارش شده است شوری جوانه‌زنی دانه را از طریق کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک تحت تاثیر قرار می‌دهد و این به نوبه خود جذب آب به وسیله دانه را کاهش داده و ایجاد مسمومیت می‌کند. همچنین تنش شوری فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزی را تغییر داده و تعادل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی را بر هم می‌زند (Khalid et al., 2001).

کاربرد آگزوژن ترکیبات پلی آمینی موجب فعالیت مکانیسم‌های حفاظتی دانه برنج علیه تنش شوری شده و جوانه‌زنی دانه را در این شرایط تحریک می‌کند (Chattopadhyay et al., 2002).

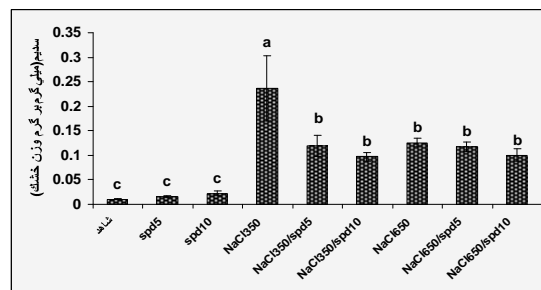
استفاده از اسپرمیدین و اسپرمین به شکل آگزوژن موجب حفاظت از DNA، تقسیم سلولی و سنتز ATP در دانه تحت تنش شوری و یا خشکی گشته و به جوانه زنی دانه‌ها کمک می‌کند (Kasukaba et al., 2004; Ali, 2000). در این تحقیق نیز با استناد به نتایج فوق می‌توان علت کاهش جوانه‌زنی دانه‌های گندم را در حضور نمک به کاهش جذب آب، مسمومیت ناشی از نمک، تغییر فعالیت آنزیم‌ها و غلظت هورمون‌ها و نیز بهبود جوانه‌زنی در



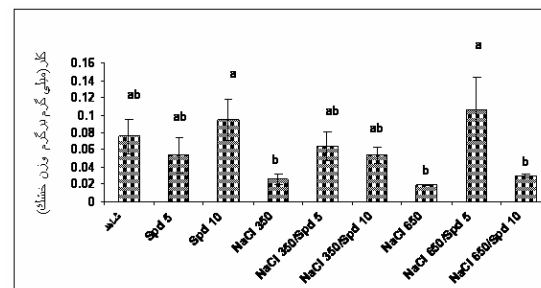
شکل ۸: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر میزان گل‌سین بتائین دانه رست گندم



شکل ۹: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر میزان ترکیبات فنلی دانه رست گندم



شکل ۱۰: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر میزان سدیم دانه رست گندم



شکل ۱۱: اثر تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین بر میزان کلر دانه رست گندم

al., 2001). افزایش وزن تر به افزایش و توسعه سلولی به وسیله جذب آب و واکوئل دار شدن سلول و گسترش دیواره ناشی از تورگور نسبت داده شده است. گزارش شد که شوری از طریق اختلال در جذب آب منجر به کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاهان می‌شود (Jamil et al., 2005).

Gallardo و همکاران در سال ۱۹۹۲ گزارش کردند که پلی آمین‌ها اثر تنش شوری بر رشد دانه رست‌ها را کاهش می‌دهند. به عنوان مثال در محیط شور ۰/۳ مولار، همه پلی آمین‌ها به طور چشمگیری وزن تر دانه رست جو را افزایش دادند.

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر میزان قندهای محلول

در این تحقیق مشاهده شد تنها تیمار تنش شوری شدید (۶۵۰ میلی مول) موجب کاهش معنی‌دار قندهای محلول نسبت به سایر تیمارها گشت و افزودن اسپرمیدین به این محیط شور سبب افزایش معنی‌داری این ترکیبات در دانه رست گندم شد (شکل ۶).

Nemat و همکاران در سال ۲۰۰۱ گزارش کردند که استرس می‌تواند منجر به تغییراتی در تولید کربوهیدرات‌ها شود. به عنوان مثال محتوای گلوکز، فروکتوز و پلی ساکاریدها در اندام هوایی و ریشه گیاه لوبیا در نتیجه تنش شوری ملایم کاهش می‌یابد. گفته شده است تحت شرایط تنش شدید مقدار ساکاروز و هگزوزها افزایش یافته و میزان نشاسته کاهش می‌یابد. افزایش در مقدار ساکاروز و هگزوز به دلیل افزایش هیدرولیز نشاسته و سنتز ساکاروز بوده و انباشته شدن این دو ماده نقش مهمی در تنظیم اسمزی گونه‌های انتقال دهنده ساکارز دارد (Pattangul & Modare, 1999).

با توجه به مطالب فوق در این تحقیق نیز می‌توان یکی از علل کاهش میزان قندهای محلول را به اثر کاهنده مقدار

حضور اسپرمیدین را به تقسیم سلولی و تامین ATP مورد نیاز برای جوانه زنی نسبت داد.

اثر اسپرمیدین و نمک بر پارامترهای ریشه و اندام هوایی مطابق با نتایج بدست آمده در این تحقیق تیمار نمک ۳۵۰ و به خصوص ۶۵۰ میلی مول موجب کاهش معنی‌داری طول ریشه و نیز اندام هوایی دانه رست گندم شد. استفاده از اسپرمیدین به بهبود رشد ریشه، ریشه‌زایی و افزایش رشد اندام هوایی در محیط حاوی نمک کمک فراوانی کرد (شکل‌های ۲ و ۳).

افزایش غلظت نمک از طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک و تر گندم می‌کاهد که دلیل آن را به اثرات اسمزی، کاهش پتانسیل آبی خاک و عدم تعادل یونی نسبت داده‌اند (Rahman et al., 2008; Jamil et al., 2005).

ترکیبات پلی آمینی سبب طویل شدن ریشه در طول جوانه‌زنی در محیط شور می‌گردند و اثرات بازدارنده شوری بر طویل شدن ریشه و تعداد ریشه‌ها را کاهش داده و محرک پیدایش کولتوپتیل می‌باشند (Wingaranarajah et al., 1975).

در این تحقیق نیز به نظر می‌رسد که کاربرد اسپرمیدین در محیط حاوی نمک ۳۵۰ و ۶۵۰ میلی مول نه تنها سبب بهبود اثر بازدارندگی ناشی از شوری می‌گردد، بلکه رشد ریشه و اندام هوایی را نیز تحریک می‌کند.

چنانچه در شکل ۴ مشخص گردید تنش شوری شدید باعث کاهش وزن تر دانه رست گندم در مقایسه با شاهد گشت و با افزودن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک افزایش معنی‌داری در وزن تر مشاهده نشد. در مورد وزن خشک نیز تیمارهای نمک و اسپرمیدین نیز تغییرات معنی‌داری را ایجاد نمود (شکل ۵).

گزارش شده است که افزایش غلظت نمک باعث کاهش وزن تر و خشک در گیاهان می‌گردد (Shirazi et

شواهد قابل توجهی نشان می‌دهد که گلیسین بتائین در سیتوپلاسم و کلروپلاست گیاهان خانواده اسفناج و گیاهان دیگر از جمله گندمیان در واکنش به تنش اسمزی تجمع می‌یابد و به عنوان یک ماده سازگار کننده و غیرسمی عمل می‌کند (Hoekstra et al., 2001). گلیسین بتائین در کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان نقش دارند. این ترکیب از محلول‌های سازشی که نقش اسمو پروتکتانی دارد و از پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها در زمان کمبود آب محافظت کرده و باعث پایداری غشاها می‌گردد. گفته می‌شود که گلیسین بتائین به پایداری ساختمان سوم پروتئین کمک کرده و از اختلال ساختار آنها که توسط محلول‌های غیرسازشی ایجاد می‌شود جلوگیری کرده و آن را به حالت اول بر می‌گرداند (Cushman & Bohnert, 2004).

در این تحقیق به نظر می‌رسد کاربرد اسپرمیدین با افزایش میزان گلیسین بتائین در تیمارهای شوری توانست سبب بهبود پاسخ دانه رست گندم به تنش شود.

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر ترکیبات فنلی

چنانچه در شکل ۹ مشاهده شد، اعمال تنش‌های شوری موجب کاهش معنی‌دار ترکیبات فنلی دانه رست گندم در مقایسه با شاهد شد و با افزودن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول، محتوای ترکیبات فنلی افزایش معنی‌داری یافت

Ali و Abbas در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که استرس شوری در دانه رست‌های جو سبب افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها و کاهش رشد می‌شود، در حالی که Roussos و Pontiki (۲۰۰۳) اعلام نمودند مقادیر زیاد نمک باعث شد که محتوای فنل‌ها، دی فنل‌ها، اسید فرولیک و اسید کوماریک در گیاه *Jojoba* کاهش یابد. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها نقش‌های فیزیولوژیکی و اکولوژیکی مهمی را ایفا می‌کنند. یکی از این نقش‌ها،

بالای نمک بر آنزیم‌های هیدرولیز کننده نشاسته و کاهش محتوای قندهای محلول در دانه رست گندم نسبت داد که افزودن اسپرمیدین سبب بهبود فعالیت آنزیم فوق و در نتیجه افزایش کربوهیدرات‌های محلول گشت.

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر محتوای پرولین

چنانچه در شکل ۷ مشخص شد میزان پرولین دانه رست گندم در تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین تغییرات معنی‌داری نیافت.

الکل‌های چند ظرفیتی اسیدهای آمینه نظیر پرولین، گلیسین بتائین اغلب در تنظیم اسمزی گیاهان عالی در پاسخ به تنش اسمزی شرکت می‌کنند. شرکت این مولکول‌ها به عنوان ترکیبات سازگار کننده به علت حلالیت آن‌ها در آب، خواص متابولیکی نسبتاً کم و حداقل اثرات آن‌ها بر روی موازنه بار الکتریکی می‌باشد (Roussos and Pontikis, 2003).

Tobita و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که کاربرد نمک سبب تجمع پرولین در بافت‌های ریشه و اندام هوایی برنج، ریشه‌های نخود، نهال‌های گز شد که با افزایش غلظت پرولین در ریشه تا اندازه‌ای انتقال یون سدیم را از ریشه به اندام هوایی مهار می‌کند.

در این تحقیق احتمال می‌رود پرولین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی موثر در تنش‌های شوری نمک مطرح نبوده و یا تیمارهای شوری ایجاد شده در حدی نبوده است که مسیرهای سنتزی و تجمع یافتن این اسید آمینه را فعال کند.

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر گلیسین بتائین

در این پژوهش میزان گلیسین بتائین در گیاهان تحت تیمار شوری در مقایسه با شاهد کاهش یافته و با افزودن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول مقدار آن افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۸).



نسبت  $Na^+/K^+$  می‌باشد. همچنین تاثیر نامطلوب شوری بر روی گیاهان در رشد آنها می‌تواند از طریق سمیت به ویژه  $Cl^-$  و  $Na^+$  استرس اسمزی باشد (Chinnusamy et al., 2005). یون‌هایی مانند  $Na^+$  و  $Cl^-$  بعد از نفوذ به گیاه سبب هیدراسیون غشاها شده و با ایجاد واکنش‌های نامناسب بین آمینواسیدها سبب عدم تعادل متابولیکی از طریق سمیت یونی ایجاد شده می‌گردند (Zhu, 2002). گزارش شده است گیاهان قادرند به سه روش غلظت یون  $Na^+$  را پایین نگه می‌دارند:

(۱) عدم ورود نمک (۲) کده بندی سدیم (۳) ترشح سدیم (Khan et al., 2000).

در تحقیق حاضر با وجود افزایش غلظت نمک در تیمار ۶۵۰ میلی مول، میزان یون سدیم در مقایسه با تیمار نمک ۳۵۰ میلی مول کاهش یافت که این امر را می‌توان به عدم ورود نمک و یا ترشح نمک در غلظت بالای نمک کلرید سدیم نسبت داد. همچنین به نظر می‌رسد افزودن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول سبب فعال شدن مکانیسم‌های مربوط به عدم ورود نمک و یا ترشح نمک گشته که منجر به کاهش میزان سدیم در دانه رست گندم شد.

#### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد آگزوژن اسپرمیدین سبب بهبود پاسخ‌های دانه رست گندم به تنش شوری شد، بدین معنی که تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد و نیز تنظیم کننده‌های اسمزی (به استثنای پرولین) گشت و افزودن اسپرمیدین به محیط کشت اثر بازدارندگی شوری را بر پارامترهای نام برده تعدیل کرد. همچنین اسپرمیدین میزان سدیم به دانه رست گندم را در تنش شوری ملایم (۳۵۰ میلی مول) کاهش داد.

مقاومت در مقابل استرس‌ها است و این ترکیبات می‌توانند نقش آنتی‌اسیدانی داشته و موجب کاهش رادیکال‌های آزاد و نیز گونه‌های فعال اکسیژنی تولید شده در طی تنش‌های محیطی گردند (Sairam et al., 2002).

در این تحقیق به نظر می‌رسد کاربرد آگزوژن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک ۳۵۰ میلی مول از طریق افزایش ترکیبات فنلی پاسخ دفاعی دانه رست گندم را به استرس اکسیداتیو ایجاد شده در تنش شوری را بهبود بخشید.

#### اثر اسپرمیدین و نمک بر میزان سدیم و کلر

در این پژوهش مشاهده شد میزان یون سدیم در تیمار نمک ۳۵۰ mM دارای بیشترین مقدار بود و با اضافه شدن اسپرمیدین به محیط حاوی این غلظت از نمک میزان یون سدیم تا حد زیادی کاهش یافت. میزان سدیم در تیمار ۶۵۰ میلی مول نمک نیز نسبت به شاهد افزایش یافت، ولیکن افزایش آن در حد تیمار ۳۵۰ میلی مول نمک نبود. افزودن اسپرمیدین به محیط حاوی نمک ۶۵۰ میلی مول تغییر معنی‌داری را نسبت به محیطی که تنها حاوی نمک ۶۵۰ میلی مول بود ایجاد نمود (شکل ۱۰). در مورد کلر نیز مشاهده شد اعمال تیمارهای مختلف نمک و اسپرمیدین تغییرات معنی‌داری را میزان آن حاصل نکرد (شکل ۱۱).

به طور کلی گیاهان تنش نمک را هم به صورت یونی و هم از طریق سیگنال‌های استرس اسمزی احساس می‌کنند. همچنین گیاهان می‌توانند افزایش  $Na^+$  را از طریق سطح غشاء پلاسمایی بوسیله پروتئین‌های تراغشایی و آنزیم‌های حساس به  $Na^+$  احساس نمایند (Chinnusamy et al., 2005).

اثرات نمک بر گیاهان که سبب عدم دسترسی گیاه به آب می‌شود به دلیل غلظت‌های نسبتاً بالای محلول‌های یونی در محیط بوده و تنش سدیم نتیجه‌ای از تغییرات

## منابع

- Gallardo, M., Matilla, A., Sanchez-Calle, I.M. (1992).** Effects of spermine, abscisic acid and temperature upon ethylene production in *Cicer arietinum* seeds. *Plant Physiol Biochem* 30:19-27
- Girija, C., Smith, B.N., Swamy, P.M.(2002).** Interactive effects of sodium chloride on the accumulation of proline and glycine betaine in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Environ & Exp. Bot*, 47:1-10.
- Hoekstra, F.A. Glovina, E.A., Buitink, J. (2001).** Mechanism of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* 6:431-438.
- Ioannidis, N.E., Sfichi, L., Kotzabasis, K. (2006).** Putrescine stimulates chemiosmotic ATP synthesis. *BBA-Bioenergetics*.1757:821-828
- Jamil, M., Chunlee, C., Rehman, S.U., Baelee, D., Ashraf, M., Rha, E.S. (2005).** Salinity (NaCl) tolerance of Brassica Species at germination and early seedling growth. *Plant Sci.* 4(4):970-976.
- Kasukabe, Y., He, L., Nada, K., Misawa, S., Ihara, I., Tachibana, S.(2004).** Over expression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress- regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol*. 4(5): 73-84
- Khalid, M.N., Iqbal, H.F., Tahir, A., Ahmad, A.N. (2001).** Germination potential of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under saline conditions. *Pak. J. Biol.*8: 45-53
- Khan, M.A., Ungar, I.A., Showalter, A.M. (2000).** Effects of salinity on growth, water relations and ion accumulation of the subtropical perennial halophyte, *Atriplex griffithii* var. *Stecksii*. *Ann. bot.* 85:225-235.
- Kochert, G. (1978).** Carbohydrate determination by phenol sulfuric acid method in: Helebust, J.A. CRAIG, J.S. (ed).
- Liu, J.H., Nada, k., Hond, C., Kitashiba, H., Wen, X.P., Pang, X.M., Moriguchi, T. (2006b).** Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of arginine decarboxylase pathway responses. *J. Exp Bot.*57:2589-2599
- Ali, R.M., Abbas, H.M. (2003).** Responses of salt stressed barley seedlings to phenyl urea. *Plant Soil Environ*, 49(4):158-1620.
- Ali, R.M. (2000).** Role of putrescine in salt tolerance of *Atropa belladonna* *Plant.Sci.* 152:173-179
- Amarasinghe, V., Carlson, J.E. (1994).** Sub cellular localization of polyamines in embryonic callus of white spruce (*Picea glauca*). *Can J Bot.*72:788-793.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Treare, I.D. (1973).** Rapid determination of free proline for water stress studies, *Plant and Soil.* 39:205-207.
- Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F., Martin-Tanguy, J. (1999).** Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.*140:103-125.
- Bozcuk, S., Tipirdamaz, R. and Cakirlar, H. (1994).** Interaction among salt (NaCl) and Polyamine in the germination of barley seeds, *ISTA/ISHS symposium*.
- Chattopadhyay, M.K., Tiwari, B.S., Chattopadhyay, G., Bose, A., Sengupta, D.N., Ghosh, B. (2002).** Protective role of exogenous polyamines on salinity-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Physiol Plant.* 116:192-199
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., Zhu, J.K. (2005).** Understanding and Improving Published in *Crop Sci* 45:437-448.
- Cushman, J.C., Bohnert, H.J. (2004).** Genomic approaches to plant stress tolerance. *Curr.Opin.Plant Biol*, 3:117-124.
- Del Duca, S., Tidu, V., Bassi, R., Esposito, C., Serafani Fracassini, D. (1994).** Identification of chlorophyll a/b proteins as substrates of transglutaminase activity in isolated chloroplasts of *Helianthus tuberosus* L. *Planta.*193:283-289

تاج بخش، م. (۱۳۷۹). بررسی مقاومت به شوری ارقام مختلف جو در شرایط تنش شوری حاصل از کلرور سدیم. چکیده مقالات ششمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. بابلسر.

proline and phenolic compound content of Jojoba explants. *Europ. j. Hort.Sci* 68(1):38-44.

**Sairam, R.k., Rao, K.V., Srivastara, G.C. (2002).** Differential response of wheat genotype to long term salinity stress in relation oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration *Plant Sci*, 163: 1037-1046.

**Shirazi, M.V., Khanzada, B., Khan, M.A., Ali, M. (2001).** Growth and ion accumulation in some wheat genotype under NaCl stress. *Biol Sci*, 4(4):388-391.

**Tobita, S., Hussain Shah, S., Ahmad Swait, Z. (2003).** Supplemental calcium enhances growth and elicits proline accumulation in NaCl stressed rice roots. *J. Biol Sci*, 3 (10):903-914.

**Waling, I.W., Van, V.J., Houba, G. (1989).** Soil and Plant Analysis, a series of Syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures. Wageningen agriculture university.

**Wi, S.J., Kim, W.T., Park. K.Y. (2006).** Over expression of carnation s-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to a biotic stresses in transgenic Tobacco plants. *Plant Cell Rep.* 25: 111-121.

**Wignarajah, K., Jennings, D.H., Handley, J.F. (1975).** The effect of salinity on growth of *Phaseolus vulgaris* L. 1. Anatomical changes in the first trifoliate leaf. *Ann Bot* 39:1029-1038

**Zhu, J.K. (2002).** Salt and drought stress signal transduction in plants. *Ann Rev Plant Biol.* 53:247-273.

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

**Matta, A.J., Giai, I. (1969).** Accumulation of phenol in tomato plant in effected by different forms of *Fusarium oxysporum*. *Planta.*50:512-513.

**Nasser, S.H. (2001).** Response of barley (*Hordeum vulgare* L.) at various growth stages to salt. *J. Biological Sci.* 1(5): 326-329.

**Ndayiragije, A., Lutts.M. (2006).** Exogenous putrescine reduces sodium and chloride accumulation in NaCl-treated calls of the salt-sensitive rice cultivar I Kong Pao. *Plant Growth Regul.* 48:51-63

**Nemat, M.M., Younis, M.E., EI-Shihaby, O.A., EI-Bastawisy, Z.M. (2001).** Effect of kinetin on photosynthetic activity and carbohydrate content in water logged or sea water treated *Vigna sinensis* and *Zea mays*. *Biol. Sci*, 1(1): 918-924.

**Pattannagul, W., Modare, M.A. (1999).** Water deficit effects on raffinose family oligosaccharide metabolism in *Coleus*. *Plant Physiol*, 121: 87-993.

**Prado, F.E., Boero, C., Gallarodo, M., Gonzalez, J.A. (2000).** Effect of NaCl on germination, growth and soluble sugar content in *Chenopodium quinoa* seeds. *Bot. Bull. Acad.Sin.* 42:27-34.

**Rahman, M.U., Soomro, U.A., Gul, S. (2008).** Effect of NaCl Salinity on Wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *W. J. Agri Sci.* 4(3):398-403.

**Roussos, P.A., Pontikis, C.A. (2003)** Long term effects of sodium chloride salinity on *growing in vitro*,

## **Effect of spermidine and salinity stress on germination, growth parameters, osmoregulator, Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> content in wheat seedling**

**Niakan, M., \*Sadeghi, S., Ghorbanli, M.**

Department of biology. Islamic Azad University. Gorgan branch.

### **Abstract**

Polyamine compounds as plant growth regulators plays an important role in plant metabolism processes. In addition researches have showed that endogenous polyamine compounds in plants for improve defense response increase under stress conditions. Thus, aim of this research was investigation one of the polyamine compounds (spermidine) in different concentrations (5, 10mM) on germination, growth, amounts of proline, glycine betaine, phenolic compounds and Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> in wheat seedlings (cultivar N-80-19) under different amounts of NaCl (350, 650mM) in petri dish condition. Results showed that to increasing salt concentration, decreased germination percentage and parameters growth, osmotic regulators and Cl<sup>-</sup> and inhibitor effects of salt stress on growth parameters decrease with addition of exogenous spermidine significantly that this effect to increasing root and shoot length of wheat seedlings under higher concentration of salt was consider. Also NaCl cause increase Na<sup>+</sup> content in wheat seedling but by increasing spermidine the content of it decreased.

**Key words:** Polyamine, Salinity, Wheat, Growth Factors-Osmo regulator