

بررسی تغییرپذیری پلی آمین‌ها تحت تنش خشکی در لویای قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.)

محسن ممبئی^۱ و علی‌رضا عباسی^{۲*}

۱ و ۲. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات،

پدیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۲۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۸/۲۲)

چکیده

در این تحقیق تغییرپذیری پلی آمین‌های پوترسین (put)، اسپرمیدین (spd)، اسپرمین (spm) و نشت الکتروولت (EL) در سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ لویا تحت تنش خشکی بررسی شد. تنش خشکی در مرحله گلدهی بر پایه ظرفیت زراعی و در گلخانه انجام شد. در هر سه ژنوتیپ با افزایش شدت تنش، محتوای پوترسین و اسپرمین افزایش یافت. بیشترین افزایش پوترسین در ژنوتیپ حساس به خشکی NAZ و بیشترین افزایش اسپرمین در ژنوتیپ مقاوم به خشکی K-S-31167 مشاهده شد. دو ژنوتیپ K-S-31167 و NAZ افزایش پیوسته در محتوای اسپرمیدین را نشان دادند اما در ژنوتیپ GE-288 کاهش و پس از آن افزایش در محتوای اسپرمیدین مشاهده شد. ژنوتیپ حساس (NAZ) گرایش به تجمع پوترسین و ژنوتیپ مقاوم (K-S-31167) گرایش به تجمع اسپرمین نسبت به دیگر پلی آمین‌ها دارند. تنش باعث افزایش در نشت الکتروولت در هر سه ژنوتیپ شد. نتایج نشان داد که ژنوتیپ مقاوم به خشکی K-S-31167 نشت الکتروولت کمتری نسبت به ژنوتیپ حساس NAZ داشت.

واژه‌های کلیدی: پلی آمین، تنش خشکی، لویا، نشت الکتروولت.

مقدمه

یاخته‌ای می‌شود (Yardanov *et al.*, 2003). به همین دلیل شاخص پایداری غشا که از راه تراوش نسبی یون برآورد می‌شود، شاخصی از آسیب به غشاء در نتیجه پراکسیداسیون چربی‌های غشاء توسط گونه‌های فعال اکسیژن است (Dhindsa, 1991). پایداری غشای یاخته‌ای در اثر شرایط خشکی به‌عنوان شاخصی از تحمل در نظر گرفته می‌شود (Abbasi *et al.*, 2014). گزارش شده است که پایداری غشای یاخته‌ای یک شاخص مقاومت به خشکی است و مشاهده شده است که پایداری غشای یاخته‌ای با تحمل به تنش خشکی همبستگی مثبت دارد (Premachandra *et al.*, 1998). در لویا مشاهده شده است که در شرایط تنش خشکی رقم مقاوم نسبت به رقم حساس شاخص پایداری

گیاهان که موجودات بی‌حرکتی هستند، مسیرهای سوخت‌وسازی (متابولیک) و هورمونی را برای رویارویی با چالش‌های زیست‌محیطی تکامل داده‌اند (Chai *et al.*, 2005). بررسی بیوشیمی این تکامل طبیعی در پاسخ به تنش‌ها، منجر به راه‌های جدید برای حفاظت گیاه زراعی به روش مهندسی ژنتیک می‌شود (Rathina, 2000). تغییرپذیری در نشت الکتروولت یکی از نخستین نشانه‌های آسیب تنش خشکی است و یک غشای پایدار که در شرایط تنش وظایف خود را به‌خوبی انجام دهد، محور اصلی سازش به این تنش خشکی است (Valentic *et al.*, 2006). گسستگی غشاء رویدادی است که در نهایت منجر به مرگ

مواد و روش‌ها

کشت گلخانه‌ای و نمونه‌برداری

بنا بر بررسی‌های مزرعه‌ای صورت گرفته در طی دو سال، از میان نود ژنوتیپ لوبیای تهیه‌شده از کلکسیون حبوبات بانک ژن گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران، درنهایت دو ژنوتیپ GE-288 و NAZ به ترتیب به‌عنوان ژنوتیپ‌های امیدبخش و حساس معرفی شدند (Keshavarznia *et al.*, 2013). همچنین ژنوتیپ مقاوم به خشکی K-S-31167 نیز از ایستگاه تحقیقات حبوبات خمین تهیه شد. شمار سه بدر از هر ژنوتیپ در گلدان‌های پلاستیکی (۲۰ سانتی‌متر ارتفاع و ۱۲ سانتی‌متر عرض) با ظرفیت ۳ کیلوگرم خاک کشت شدند (جدول ۱). گلدان‌ها در شرایط دمایی ۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت زراعی، شرایط نوری ۸۰۰۰ لوکس، شانزده ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی به مدت پنجاه روز به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی تا پیش از مرحله گلدھی پرورش داده شدند. در مرحله پیش از گلدھی (پنجاه روز پس از کشت) ژنوتیپ‌ها تحت سه تیمار آبیاری عادی (نرمال)، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی قرار گرفتند (به مدت ده روز) (Abbasi *et al.*, 2014). پس از اعمال تیمارهای خشکی، برگ‌ها برداشت شده و پس از فریز کردن در نیتروژن مایع برای بررسی‌های بیوشیمیایی به یخچال ۸۰- انتقال داده شدند (Abbasi *et al.*, 2014).

غشای یاخته‌ای بالاتری دارد (Zlatev *et al.*, 2006). گیاهان سازوکارهای مختلفی برای حفظ یکپارچگی غشایی خود طی تنش تکامل داده‌اند. تنظیم‌کننده‌های اسمزی مولکول‌هایی هستند که به راه‌های مختلف مانند خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال باعث حفظ پایداری غشایی می‌شوند (Premachandra *et al.*, 1998).

پلی‌آمین‌ها شامل اسپرمیدین، اسپرمین و پوترسین، ترکیب‌های پلی‌کاتیونی با وزن مولکولی پایین هستند که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی نقش ایفا می‌کنند. این مولکول‌ها در تنظیم برخی از فرآیندهای اساسی یاخته مانند همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه، تقسیم یاخته‌ای، تنظیم فعالیت آنزیم‌ها و حفظ پایداری غشاها دخالت دارند (Gill & Tuteja, 2010). تحقیقات، نقش احتمالی این مولکول‌ها را در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده نشان داده است (Yamaguchi *et al.*, 2006). رابطه مثبت بین تجمع پلی‌آمین‌ها با رشد بیشتر در شرایط تنش خشکی به دست آمده است (Gill & Tuteja, 2010). همچنین بیان شده است که کاهش میزان پوترسین و افزایش میزان اسپرمیدین و اسپرمین در برگ ژنوتیپ مقاوم، ممکن است زنده‌مانی کلروپلاست را در شرایط نامساعد محیطی بهبود بخشد (Malabica & Wu, 2001). هدف از این پژوهش، بررسی تغییرات پلی‌آمین‌های پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین در پاسخ به تنش خشکی در چند ژنوتیپ لوبیا است.

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی خاک

Table 1. Soil physical characteristics

Soil texture	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Ec	PH	FC(cc/Kg)	PWP(cc/Kg)
Loam-Clay	36.24	34	29.76	1.25	7.22	160	11.69

اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت سی دقیقه در حمام بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس‌از آن نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس خنک شدند و ضریب هدایت الکترولیتی دوم (L2) اندازه‌گیری شد. نشأت الکترولیت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$El = \frac{L_1}{L_2} \times 100$$

سنجش نشأت الکترولیت^۱

اندازه‌گیری نشأت الکترولیت بر پایه روش Lutts *et al.* (1996) انجام شد. به‌منظور اندازه‌گیری نشأت الکترولیت (EL)، ۰/۳ گرم بافت برگی با آب دیونیزه شستشو شد و درون فالكون‌های ۱۵ میلی‌لیتری از آب دیونیزه برای دو ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سپس ضریب هدایت الکتریکی اول (L1)

1. Electrolyte Leakage

کمترین تغییرپذیری در نشت الکترولیت را داشتند. ژنوتیپ امیدبخش GE-288 نیز بینابین بود (شکل ۱). بیشترین تغییرپذیری در میزان نشت الکترولیت در سطح تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در کل ژنوتیپ حساس NAZ نشت الکترولیت بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر در سطوح مختلف خشکی داشت (شکل ۱).

تغییرپذیری پلی آمین‌ها تحت تنش

نتایج افزایش پیوسته محتوای پوترسین را تحت تنش نشان داد. تنش باعث افزایش پیوسته محتوای پوترسین (put) در هر سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ شد (شکل ۲). نتایج نشان داد که روند تغییرپذیری پوترسین در ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 به صورت افزایش تدریجی با افزایش سطح تنش خشکی بود اما دو ژنوتیپ دیگر با افزایش سطح تنش افزایش شدیدتری در محتوای پوترسین خود داشتند (شکل ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محتوای پوترسین، به ژنوتیپ و شدت تنش وابسته است. در شرایط آبیاری متداول اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت و ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 محتوای بیشتری داشت (شکل ۲). در تنش متوسط ۵۰ درصد ظرفیت زراعی همچنان ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 محتوای بالاتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر داشت. اما در سطح تنش ۲۵ درصد ظرفیت زراعی دو ژنوتیپ حساس‌تر به تنش خشکی، GE-288 و NAZ، افزایش شدیدی در محتوای پوترسین داشتند. الگوی تغییرپذیری محتوای اسپرمیدین (spd) بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در ژنوتیپ K-S-31167 به ترتیب با افزایش سطح تنش خشکی افزایش معنی‌داری در محتوای اسپرمیدین رخ داد و بیشترین محتوای اسپرمیدین در سطح ۲۵ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل ۳). در ژنوتیپ GE-288 در آغاز در سطح ۵۰ درصد ظرفیت زراعی کاهش معنی‌داری رخ داد اما در ادامه با افزایش شدت تنش خشکی افزایش معنی‌داری در محتوای اسپرمیدین رخ داد (شکل ۳). در ژنوتیپ NAZ با افزایش سطح تنش افزایش پیوسته و معنی‌داری در محتوای اسپرمیدین رخ داد

سنجش پلی آمین‌ها

سنجش کمی پلی آمین‌ها به روش Hugo & Jan (1987) انجام شد. برای این منظور ۲۵۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی در ۲ میلی‌لیتر محلول پرکلریک اسید^۱ ۴ درصد حاوی ۱ و ۷ دی آمینوهپتان (۵ میلی‌گرم در لیتر از اسیدکلریدریک ۲ نرمال) هموژنیزه شد. پس از یک ساعت ماندن در ۴ درجه سلسیوس، از پالایشگر (فیلتر) ۴۵ درصد میکرونی عبور داده شد. روی ۰/۲ میلی‌لیتر از این محلول، میزان ۱ میلی‌لیتر بافر کربنات با pH=۹ و ۱ میلی‌لیتر محلول دنسیل کلرید (۱۰ میلی‌گرم در ۱ میلی‌لیتر استن) اضافه و به خوبی هم زده شد. به منظور ارزیابی کمی پلی آمین‌ها ۱۰ میکرولیتر از محلول پایانی به ستون chromatopack- Nederland از نوع فاز معکوس cc.p. microsphere به طول ۱۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۳ میلی‌متر متصل به دستگاه HPLC مدل unickam-crystal 200 ساخت انگلستان تزریق شد. فاز شستشو (متحرک) شامل مخلوط استونیتریل با خلوص بسیار بالا و آب دیونیزه به ترتیب به نسبت ۷۲ به ۲۸ حجم به حجم بود که با سرعت ۲ میلی‌لیتر بر دقیقه حرکت آن با سامانه ایزوکراتیک انجام شد. دتکتور این دستگاه از نوع uv و در طول موج ۳۳۷ نانومتر تنظیم شد.

بررسی‌های آماری

آزمون مقایسه میانگین با سه تکرار به روش دانکن و با نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر تنش خشکی بر نشت الکترولیت

نتایج نشان می‌دهد که تغییرپذیری محتوای پوترسین، اسپرمیدین، اسپرمین و نشت الکترولیت تحت تأثیر تنش خشکی به ژنوتیپ، تنش و اثر متقابل ژنوتیپ و تنش وابسته است (جدول ۲). نتایج نشان داد که با افزایش حساسیت به تنش خشکی میزان نشت الکترولیت نیز بین ژنوتیپ‌ها افزایش می‌یابد، به طوری که ژنوتیپ حساس NAZ بیشترین و ژنوتیپ مقاوم K-S-31167

(شکل ۳). مقایسه بین ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف نشان داد که در شرایط آبیاری متداول بین محتوای اسپرمیدین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج نشان داد که در شرایط آبیاری متداول ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 کمترین و ژنوتیپ حساس NAZ بیشترین محتوای اسپرمیدین را داشتند و ژنوتیپ به نسبت مقاوم GE-288 نیز بینابین بود. در هر دو سطح ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی ژنوتیپ حساس NAZ محتوای بیشتری داشت و پس از آن ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 در هر دو سطح (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) ژنوتیپ به نسبت مقاوم GE-288 کمترین محتوای اسپرمیدین را داشت (شکل ۳). نتایج نشان داد که تغییرپذیری محتوای اسپرمین (spm) بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در ژنوتیپ

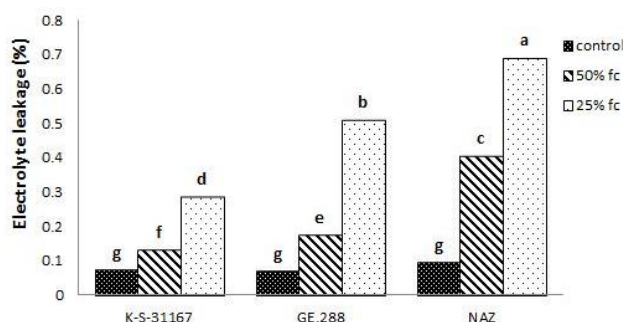
مقایسه بین ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف نشان داد که در شرایط آبیاری متداول بین محتوای اسپرمیدین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. نتایج نشان داد که در شرایط آبیاری متداول ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 کمترین و ژنوتیپ حساس NAZ بیشترین محتوای اسپرمیدین را داشتند و ژنوتیپ به نسبت مقاوم GE-288 نیز بینابین بود. در هر دو سطح ۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی ژنوتیپ حساس NAZ محتوای بیشتری داشت و پس از آن ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 در هر دو سطح (۵۰ و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی) ژنوتیپ به نسبت مقاوم GE-288 کمترین محتوای اسپرمیدین را داشت (شکل ۳). نتایج نشان داد که تغییرپذیری محتوای اسپرمین (spm) بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در ژنوتیپ

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات پلی‌آمین‌ها و نشت الکترولیت در سه ژنوتیپ لوبیا تحت تأثیر سطوح تنش خشکی

Table 2. Variance analysis of polyamine and Electrolyte Leakage traits in the three genotypes under drought stress

Source of Variation	d.f	Putrscine	Spermidine	Spermine	Electrolyte Leakage
Genotype	2	94.44**	3964.20**	42549.28**	0.1260**
Drought Stress	2	8371.24**	2144.39**	11676.00**	0.3986**
Genotype × Drought Stress	4	1381.91**	363.51**	1835.91**	0.0317**
Error	18	2.70	1.89	3.58	0.00026
C.V (%)	-	2.07	2.97	1.14	6.02

** معنی دار در سطح ۱ درصد.



شکل ۱. تغییرپذیری محتوای نشت‌یونی (EL) در سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ. نشان‌های control، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC به ترتیب نشان‌دهنده تیمارهای آبیاری متداول، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد است.

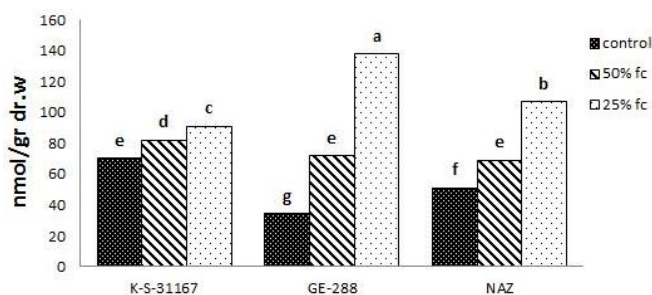
Figure 1. Electrolyte Leakage (EL) change in K-S-31167, GE-288 and NAZ genotypes. Letters control, 50% FC and 25% FC denote normal irrigation, 50% of field capacity and 25% of field capacity. Different letters on the columns denote difference in the 1% significance level.

اسپرمین در ژنوتیپ K-S-31167 در شرایط آبیاری متداول و سطوح خشکی از پوترسین و اسپرمیدین بیشتر است و پس از آن پوترسین محتوای بالاتری نسبت به اسپرمیدین داشت. این موضوع نشان‌دهنده

بررسی پلی‌آمین‌ها در ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 تحت تنش خشکی نشان داد که تنش باعث افزایش پیوسته در محتوای پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین شد (شکل ۵- الف). نتایج نشان داد که محتوای

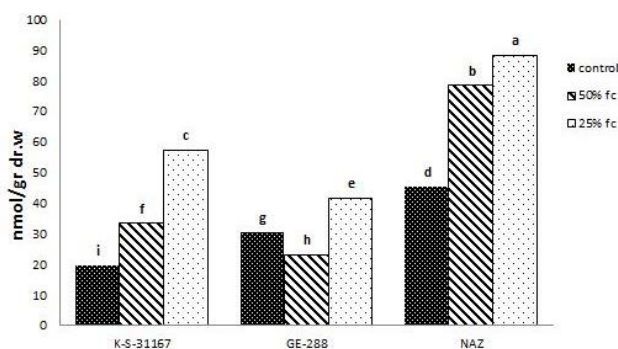
تجمع بسیار بالاتر پوترسین نسبت به شاهد رخ داد و این نشان‌دهنده گرایش بیشتر این ژنوتیپ به تجمع پوترسین است (شکل ۵-ب). ژنوتیپ NAZ افزایش پیوسته در محتوای پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در طی تنش نشان داد. در شرایط آبیاری متداول میزان اسپرمین نسبت به دیگر پلی‌آمین‌ها بیشتر بود. در تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) تغییرپذیری محتوای اسپرمیدین و اسپرمین از پوترسین بیشتر بود. اما در تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) به‌رغم اینکه محتوای اسپرمین از پوترسین بیشتر است، تغییرپذیری محتوای پوترسین از اسپرمیدین و اسپرمین نسبت به شاهد بیشتر شد. این موضوع نشان‌دهنده گرایش ژنوتیپ حساس NAZ به تجمع بیشتر پوترسین در تنش شدید است (شکل ۵-ج).

گرایش ژنوتیپ K-S-31167 به تجمع بیشتر اسپرمین نسبت به دیگر پلی‌آمین‌ها در طی تنش است (شکل ۵-الف). ژنوتیپ GE-288 افزایش شدید در محتوای پوترسین را با افزایش سطح تنش نسبت به دیگر پلی‌آمین‌ها نشان داد و پس‌از آن اسپرمین نسبت به اسپرمیدین افزایش بیشتری داشت (شکل ۵-ب). این ژنوتیپ در شرایط آبیاری متداول و تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) محتوای اسپرمین بیشتری داشت و ژنوتیپ گرایش به تجمع اسپرمین داشت. هرچند محتوای اسپرمین در تنش متوسط بیشتر بود اما میزان تغییرپذیری پوترسین نسبت به اسپرمین در تنش متوسط در مقایسه با شاهد بیشتر بود و طی تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) تجمع پوترسین نسبت به اسپرمین بیشتر شد. در این سطح تنش



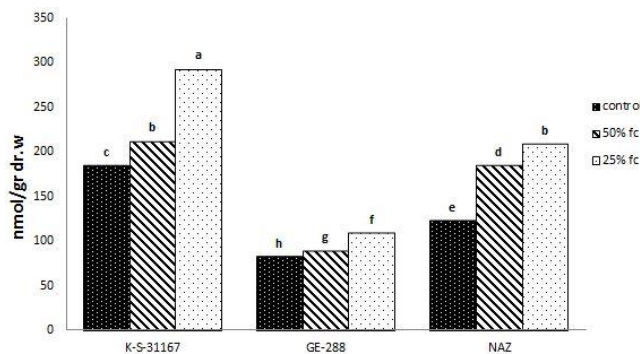
شکل ۲. تغییرپذیری محتوای پوترسین در سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ. نشانه‌های control، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC به ترتیب نشان‌دهنده تیمارهای آبیاری عادی، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد است.

Figure 2. Putrescine content change in K-S-31167, GE-288 and NAZ genotypes. Letters control, 50% FC and 25% FC denote normal irrigation, 50% of field capacity and 25% of field capacity. Different letters on the columns denote difference in the 1% significance level.



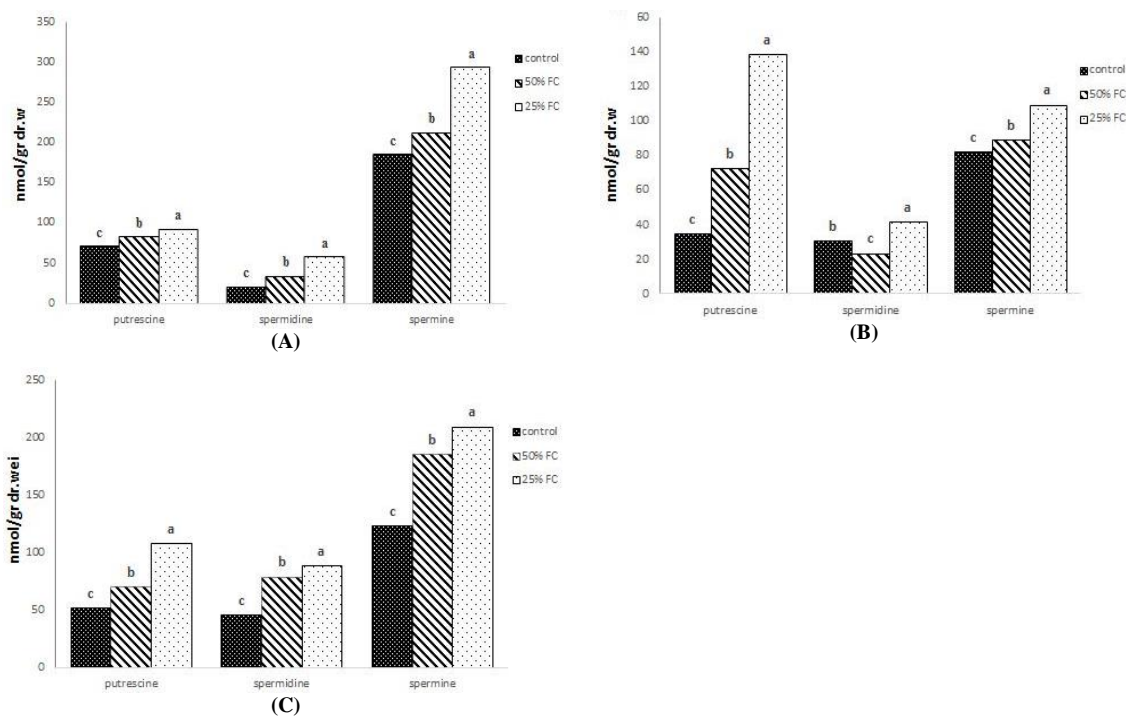
شکل ۳. تغییرپذیری محتوای اسپرمیدین در سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ. نشانه‌های control، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC به ترتیب نشان‌دهنده تیمارهای آبیاری عادی، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد است.

Figure 3. Spermidine content change in K-S-31167, GE-288 and NAZ genotypes. Letters control, 50% FC and 25% FC denote normal irrigation, 50% of field capacity and 25% of field capacity. Different letters on the columns denote difference in the 1% significance level.



شکل ۴. تغییرپذیری محتوای اسپرمین در سه ژنوتیپ K-S-31167، GE-288 و NAZ. نشانه‌های control، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC به ترتیب نشان‌دهنده تیمارهای آبیاری عادی، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد است.

Figure 4. Spermine content change in K-S-31167, GE-288 and NAZ genotypes. Letters control, 50% FC and 25% FC denote normal irrigation, 50% of field capacity and 25% of field capacity. Different letters on the columns denote difference in the 1% significance level.



شکل ۵. تغییرپذیری محتوای پلی‌آمین‌ها در سه ژنوتیپ: K-S-31167 (A)، GE-288 (B) و NAZ (C). نشانه‌های control، ۵۰ درصد FC و ۲۵ درصد FC به ترتیب نشان‌دهنده تیمارهای آبیاری عادی، ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی است. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشانه معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ درصد است.

Figure 5. Polyamines change in: (A) K-S-31167; (B) GE-288; (C) and NAZ genotypes. Letters control, 50% FC and 25% FC denote normal irrigation, 50% of field capacity and 25% of field capacity. Different letters on the columns denote difference in the 1% significance level.

آمینوبوتیرات است که به‌عنوان یک نشانه (سیگنال) Nambesan *et al.*,) پس از آغاز تنش عمل می‌کند (2012). ژنوتیپ مقاوم K-S-31167 اسپرمین بیشتری داشت و میزان تغییرپذیری اسپرمیدین آن نسبت به ژنوتیپ‌های با مقاومت کمتر، بیشتر بود. از سویی

تغییرپذیری در محتوای پلی‌آمین‌ها در واکنش به تنش‌های محیطی مختلفی رخ می‌دهد (Bouchereau *et al.*, 1999; Groppa & Benavides, 2008). نتایج افزایش در محتوای پوترسین را طی تنش در ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد. پوترسین پیش‌ساز گاما-

شدن روزنه است و حفظ محتوای آب بالاتر طی تنش است. در جو، پلی آمین‌های سیتوپلاسمی مسیر کاتیونی FV (مسیر کاتیونی سریع پاسخ‌دهنده واکوئل) واکوئلی را بلوک می‌کنند. میزان حساسیت به ترتیب شامل اسپرمین، اسپرمیدین و پوترسین است (Yamaguchi et al., 2007).

نتیجه‌گیری کلی

این آزمایش تغییرپذیری در محتوای پلی آمین‌ها را طی تنش خشکی در لوبیا را نشان می‌دهد. گیاهان مقاوم و حساس از نظر محتوای پلی آمین طی تنش تفاوت معناداری نشان داده‌اند. نتایج این پژوهش نشان داد گیاهان مقاوم بیشتر گرایش به ذخیره اسپرمین دارند و محتوای اسپرمین بیشتری نسبت به گیاهان به نسبت مقاوم و حساس دارند در صورتی که گیاهان حساس‌تر، محتوای پوترسین بیشتری داشتند. تفاوت معنادار محتوای پلی آمین‌ها در گیاه مقاوم و حساس نشان‌دهنده اهمیت آن‌ها در تحمل به تنش خشکی است و می‌تواند از هدف‌های مهندسی ژنتیک برای بهبود تحمل خشکی در گیاهان زراعی باشد.

ژنوتیپ‌هایی با مقاومت کمتر و حساس، افزایش شدیدی در محتوای پوترسین را داشتند. در بررسی تأثیر تنش خشکی بر محتوای پلی آمین‌ها، Yang et al. (2007) نشش رقم برنج با تحمل متفاوت به خشکی را بررسی کردند. نتایج آنان تغییرپذیری در محتوای آنزیم‌های مسیر زیست‌ساختی (بیوسنتزی) و محتوای پلی آمین‌ها را نشان داد. نتایج آنان افزایش در محتوای پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین را در رقم‌های متحمل، بینابین و حساس نشان داد. رقم‌های مقاوم بیشترین و رقم‌های حساس کمترین محتوای پوترسین را داشتند و بیشترین تغییرپذیری پوترسین در رقم‌های حساس مشاهده شد.

محققان یکی از دلایل پایین‌تر بودن میزان پوترسین در گیاه مقاوم را به دلیل سرعت بالاتر تبدیل آن به دیگر پلی آمین‌ها می‌دانند (Yamaguchi et al., 2006). در واقع بالا بودن میزان پوترسین در آغاز تنش برای تبدیل سریع آن به دیگر پلی آمین‌ها لازم است. از سوی دیگر مشخص شده است که میزان بسیار بالای پوترسین برای یاخته سمی است (Yamaguchi et al., 2006). یکی از نقش‌های پلی آمین‌ها کنترل بسته

REFERENCES

1. Abbasi, A. R., Sarvestani, R., Mohammadi, B. & Bagheri, A. (2014). Drought stress-induced changes at physiological and biochemical levels in some common vetch (*Vicia sativa* L.) genotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16, 505-516.
2. Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. & Tiburcio, A.F. (2010). Polyamines: Molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231, 1237-1249.
3. Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V. & Sharma, K.K. (2008). Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep*, 27, 411-424.
4. Bouchereau, A., Aziz, A., Larher, F. & Martin-Tanguy, J. (1999). Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Science*, 140, 103-125.
5. Chai, T., Fadzillah, M., Kusnan, M. & Mahmood, M. (2005). Water stress induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. *Biological Plantarum*, 49(1), 153-156.
6. Dhindsa, R.S. (1991). Drought stress-enzyme of glutathion metabolism and protein synthesis in *Tortula varalis*. *Plant physiology*, 95, 648-651.
7. Flores, T., Todd, C.D., Tovar-Mendez, A., Dhanoa, P.K., Correa-Aragunde, N., Hoyos, M.E., Brownfield, D.M., Mullen, R.T., Lamattina, L. & Polacco, J.C. (2008). Arginase-negative mutants of Arabidopsis exhibit increased nitric oxide signaling in root development. *Plant Physiology*, 147, 1936-1946.
8. Gill, S.S. & Tteja, N. (2010). Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. *Plant Signaling Behavior*, 5(1), 26-33.
9. Groppa, M. D. & Benavides, M.P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advances. *Amino Acids*, 34, 35-45.
10. Hugo, J.P. & Jan, M.C. (1987). High speed HPLC analysis of polyamines in plant tissues. *Plant Physiology*, 83, 232-234.
11. Keshavarzina, R., Mohammadi Narjesi, B. & Abbasi, A. R. (2013). Evaluation of genetic diversity in common bean based on morphological traits under normal and drought conditions. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 44 (2), 305-315. (in Farsi)

12. Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced Senescence in leaves of Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars differing in salinity resistance. *Annual Botany*, 78, 389-398.
13. Malabica, R. & Wu, R. (2001). Arginine decarboxylate transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice. *Plant Science*, 160, 869-875.
14. Moller, I.M., Jensen, P.E. & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 58, 459-481.
15. Nambeesan, S., AbuQamar, S., Laluk, K., Mattoo, A.K., Mickelbart, M.V., Ferruzzi, M.G., Mengiste, T. & Handa, A.K. (2012). Polyamines attenuate ethylene-mediated defense responses to abrogate resistance to *Botrytis cinerea* in tomato. *Plant Physiology*, 1033-1045.
16. Porter, J.R. (2005). Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature*, 436, 173-174.
17. Premachandra, G.S. & Shimada, T. (1998). Evaluation of polyethylene glycol test of measuring cell membrane stability as a drought tolerance test in wheat. *Agricultural Science*, 110, 429-43.
18. Raison, J.K., Berry, G.A., Armod, R.A. & Pike, C.S. (1980). Membrane properties in relation to the adaptation of plants to temperature stress. *Crop Science*, 34, 261-273.
19. Rathinasabapath, B. (2000). Metabolic engineering of stress tolerance: Installing osmoprotectant synthesis pathway. *Annals of Botany*, 86, 709-716.
20. Sairam, P.K., Deshmukh, P.S. & Shukla, D.S. (1997). Tolerance to drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Agronomy and Crop Science*, 178, 171-178.
21. Shpiler, L. & Blum, A. (1986). Differential reaction of wheat cultivars to hot environment. *Euphytica*, 35, 483-492.
22. Thuiller, W., Lavorel, S., Araujo, M.B., Sykes, M.T. & Prentice, I.C. (2005). Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 8245-8250.
23. Valentovic, P., Luxava, M., Kalorovic, L. & Gasparikova, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two cultivars. *Plant and Soil Environment*, 52(4), 186-191.
24. Yamaguchi, K., Takahashi, I.Y., Berberich, T., Imai, A., Miyazaki, A., Takahashi, Michael, A. & Kusano, T. (2006). The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS. Lett*, 580, 6783-6788.
25. Yamaguchi, K., Takahashi, I.Y., Berberich, T., Imai, A., Takahashi, T., Michael, A.J. & Kusano, T. (2007). A protective role for the polyamine spermine against drought stress in *Arabidopsis*. *Biochemical and Biophysical Research*, 352, 486-490.
26. Yang, J., Zhang, J., Liu, K., Wang, Z. & Liu, L. (2007). Involvement of polyamines in drought resistance of rice. *Journal of Experimental Botany*, 58 (6), 1545-1555.
27. Yordanov, I., Velikonova, V. & Tsonev, T. (2003). Plant responses to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 187-206.
28. Zlatev, Z.S., Lidon, F.C., Ramulho, J.C. & Yordanov, I.T. (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.

Polyamine changes analysis under drought stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

Mohsen Mombeny¹ and Alireza Abbasi^{2*}

1, 2. Ph. D. Student in Agricultural Biotechnology and Associated Professor of Agronomy and Plant Breeding,
University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: Oct. 15, 2014 - Accepted: Nov. 13, 2015)

ABSTRACT

In this research, we studied polyamines including putrescine (put), spermidine (spd) and spermine (spm) changes in three common bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes, K-S-31167, GE-288 and NAZ under drought stress. Our result showed steadily increase in putrescine (put) and spermine (spm) in all three genotypes. GE-288 genotype showed decrease and then increasing in spermidine (spd) content but K-S-31167 and NAZ genotypes showed steadily increasing in spermidine (spd). NAZ genotype accumulated putrescine more than other polyamines and showed the highest amount of putrescine in compare with other genotypes. K-S-31167 genotype accumulated the highest spermine content in compared with other genotypes. Our result showed significant increase in electrolyte leakage (EL) in all three genotypes. K-S-31167 as drought tolerant genotype and ZAZ as drought sensitive genotypes showed the lowest and the highest increase in EL, respectively.

Keywords: Common bean, drought stress, electrolyte leakage, polyamine.

* Corresponding author E-mail: rezabbasi@ut.ac.ir

Tel: +98 912 4128709