

نقش حفاظتی پلی آمین‌ها در برابر شوک گرمایی در رشد دانه‌رُست‌های سویا

سمانه مقیم، ریحانه عموآقایی^{۱*} و بهزاد شارق^۱
^۱ 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 پلی آمین‌های 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 پلی آمین‌ها بررسی شد تا مشخص گردد که تغییرات فاکتورهای رشد در برابر پلی آمین‌ها 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 حالی که پلی آمین‌های پوترسین و اسپرمیدین موجب بازیابی رشد دانه‌رُست‌ها پس از شوک گرمایی شده است.

واژه‌های کلیدی: پلی آمین‌ها، دانه‌رُست‌ها، سویا، شوک گرمایی، لیزین

مقدمه

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 شدن میوه و کاهش محصول است (Wollenweber et al., 2003).

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

تنش حرارتی، فاکتور محدود کننده 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 محدوده دمایی ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد، تغییرات چشمگیری را در فرآیندهای رشد و نمو گیاهی موجب می‌شود (Wahid et al., 2007).

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش، پلی آمین‌ها (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 پلی آمین‌ها (شاهد، پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) با ۳ تکرار در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه شهرکرد انجام شد.

پس از ضد عفونی بذرها، 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 اندازه یک سانتی‌متر رشد کرد، قبل از اعمال شوک گرمایی با پلی آمین‌ها تیمار شد، کلیه دانه‌رُست‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت پیش از شوک گرمایی، با محلول‌های یک میلی‌مولار پلی آمین‌ها (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 پلی آمین‌ها، 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.

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 تنش بذر جلوگیری می‌نماید و دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد رشد طولی محور زیر لپه این گیاه را کاهش می‌دهد (لطیفی، ۱۳۷۲).

پلی آمین‌ها ترکیبات آلی نیتروژن‌داری هستند که در کلیه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها حضور دارند (Edreva, 1996). پلی آمین‌ها به عنوان مواد تنظیم‌کننده 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 پلی آمین‌ها 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 پلی آمین‌ها 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 پلی آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) در برابر شوک گرمایی در دانه‌رُست‌های سویا با کاربرد پلی آمین‌ها بررسی شده است.

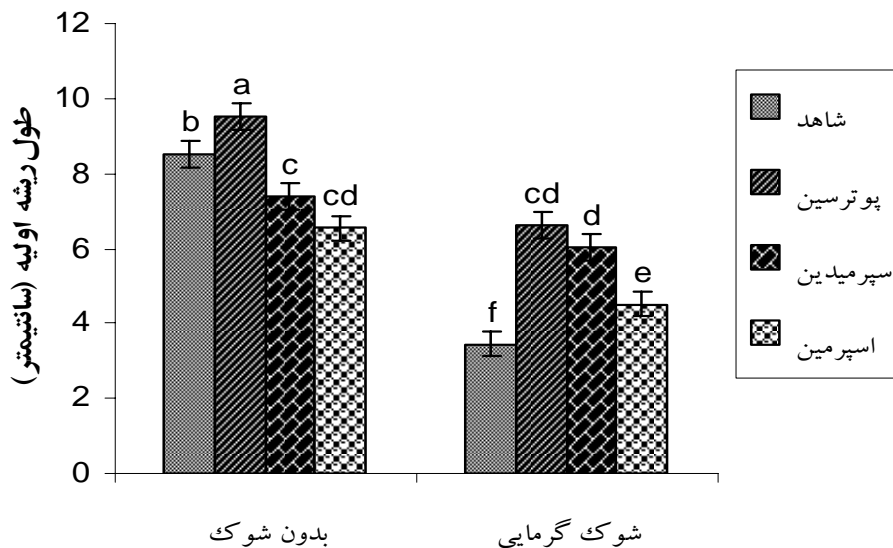
هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست (ریشه + هیپوکوتیل) بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد.

نتایج

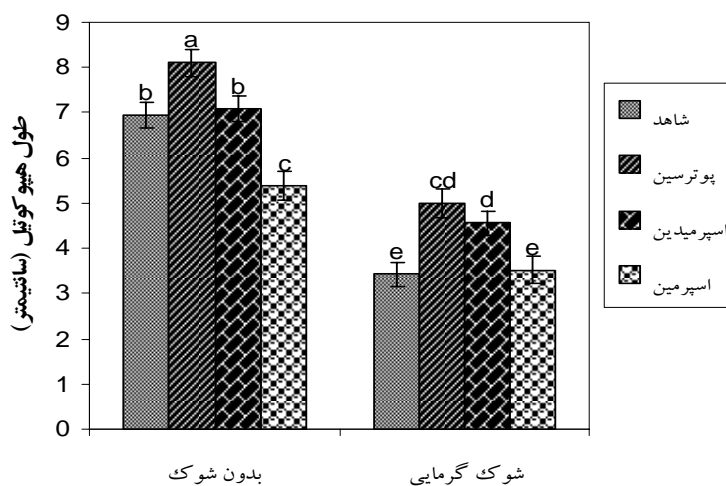
اثر متقابل شوک گرمایی و پلی آمین‌ها بر طول ریشه اولیه، هیپوکوتیل و طول کل دانه‌رُست ($P < 0.05$) معنی‌دار است. بالاترین میانگین طول ریشه اولیه (شکل ۱)، هیپوکوتیل (شکل ۲) و طول کل دانه‌رُست (شکل ۳) مربوط به پیش تیمار پوترسین در حالت بدون شوک گرمایی (۲۸ درجه سانتی‌گراد) است. کمترین میانگین رشد مربوط به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

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

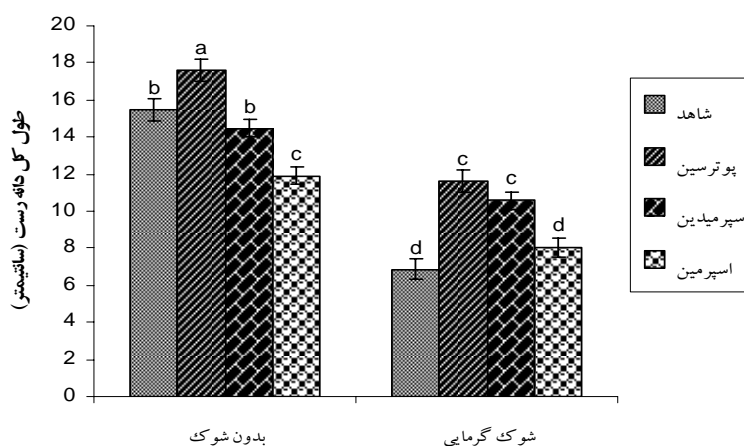
برای بررسی نقش پلی آمین‌ها، از بازدارنده اختصاصی پوترسین، دی فلورو متیل ارنیتین (DFMO)، استفاده گردید. آزمایش با دو سطح شوک گرمایی (بدون شوک و با شوک)، در سه سطح بازدارنده اختصاصی پوترسین (DFMO) شامل شاهد، بازدارنده به تنهایی در غلظت ۴ میلی‌مولار و بازدارنده + پوترسین در غلظت یک میلی‌مولار انجام گردید و واکنش‌های رشد شامل طول ریشه اولیه،



شکل ۱- اثر متقابل شوک گرمایی و پلی آمین‌ها 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.



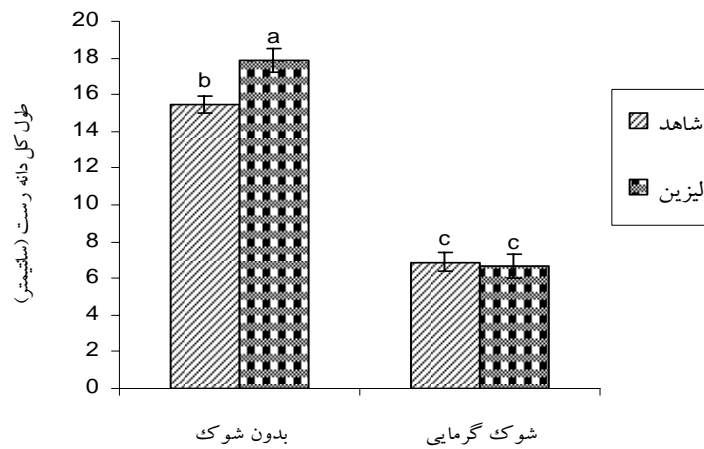
شکل ۲- اثر متقابل شوک گرمایی و پلی‌آمین‌ها بر میانگین طول هیپوکوتیل سویا
 نتایج حاصل از ۳ تکرار بوده، حروف مشابه مبین عدم تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.



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.

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.

پیش تیمار 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

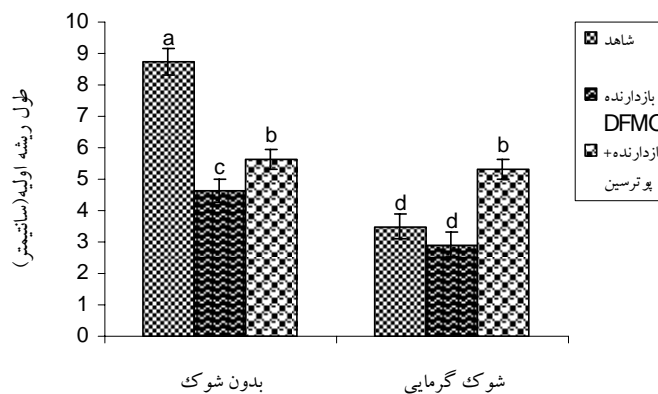


شکل ۴- اثر متقابل شوک گرمایی و لیزین بر میانگین طول کل دانه رُست سویا

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

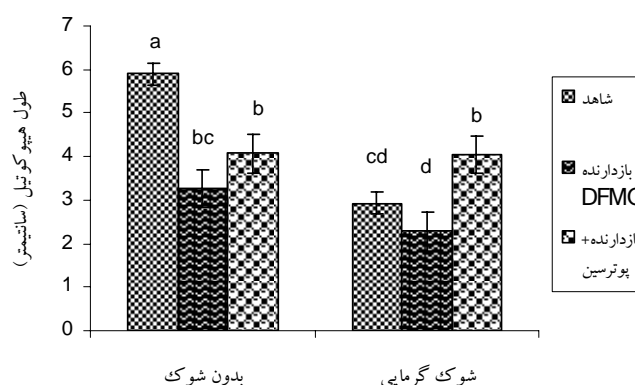
اثر متقابل شوک گرمایی و بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین بر شاخص های رشد اندازه گیری شده در سطح $P < 0.05$ معنی دار بود. کمترین میانگین طول ریشه اولیه (شکل ۵) و هیپوکوتیل (شکل ۶) مربوط به کاربرد بازدارنده دی فلورو متیل ارنیتین به تنهایی در حالت شوک گرمایی است. کاربرد بازدارنده به همراه پوترسین موجب بازیابی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

کمترین میانگین طول کل مربوط به پیش تیمار لیزین در حالت شوک گرمایی است که اختلاف معنی داری را با گروه شاهد در این حالت نشان نمی دهد. بنابراین، اسید آمینه لیزین به عنوان یک منبع نیتروژن نتوانسته نقش حفاظتی در برابر شوک گرمایی ایفا نموده، موجب بازیابی رشد گردد، در حالی که پلی آمین های پوترسین و اسپرمیدین موجب بازیابی رشد دانه رُست ها (شکل ۳) پس از شوک گرمایی شده 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 معنی دار در سطح ۵٪ بر طبق آزمون دانکن است.



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 و نمو 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)، لویا (Basra et al., 1997)، باقلا (Hamada, 2001)، گندم (Hamada et al., 1995) 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 جداگشت‌های 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).

تحقیقات دیگری نیز نشان می‌دهد تیمار دانه‌رُست‌های اتیوله لوبیا با بازدارنده‌ی 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).

پلی آمین‌ها 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 می‌تواند این گونه تفسیر گردد که مسیر سنتز پلی آمین‌ها توسط ارنیتین دکربوکسیلاز یکی از مسیرهای مؤثر و فعال در بیوسنتز پلی آمین‌ها 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 پلی آمین‌ها به بهبود تحمل گرمایی این رقم کمک مؤثری نمود.

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

علاوه بر کاربرد پلی آمین‌های خارجی که واکنش به تنش را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد، کاهش پلی آمین‌های داخلی نیز می‌تواند در تعیین نقش پلی آمین‌ها مؤثر باشد. یکی از روش‌های کاهش پلی آمین‌های داخلی، کاربرد بازدارنده‌های بیوسنتزی پلی آمین‌هاست. کاهش پلی آمین‌های 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 بازدارنده‌ی 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.

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.

- 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.

Protective role of polyamines against heat shock in soybean seedlings

Rayhaneh Amooaghaie ^{1*}, Samaneh Moghym and Behzad Shareghi ¹

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Shahrkord

Abstract

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) is a thermophilic plant. But the temperature up to 40°C inhibits its seed germination. In this research, the role of exogenous polyamines (putrescine, spermidine and spermine) in the heat-shock protection of soybean seedlings c.v Sahar was investigated. Also effects of pretreatment of polyamine inhibitor, on seedling growth were monitored. Results showed that exposure to heat-shock decreased growth whereas application of putrescine and spermidine increased thermo-tolerance and growth recovery. Similarly, lysine, an amino acid, was tested at equivalent concentration to demonstrate that heat- shock protection is really a polyamine phenomenon and not simply a growth effect from a source of nitrogen. The results showed that, polyamines did not act merely as a source of nitrogen when stimulating growth, suggesting stress adaptive role of polyamines. Pretreatment of polyamines plus biosynthetic inhibitors reduced the inhibitory effects and enhance growth recovery.

Key words: Polyamines, Seedlings, Soybean, Heat-shock, Lysine

*Corresponding Author: rayhanehamooaghaie@yahoo.com