تغییرات محتوای آرژینین در مرحله جوانه‌زنی دانه‌های سویا رقم پرشینگ تحت تاثیر شوری و ژیبرلین

شهناز مبرا [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
مسؤول مکاتبات: دکتر آرین ساطعی، گرگان، بلوار شهید کلانتری، خیابان دانشجو، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، دانشکده علوم پایه، پست الکترونیکی: msaateyi@gmail.co

تاریخ دریافت:۱۳۸۸/۵/۲۹ تاریخ پذیرش:۱۳۸۸/۱۲/۲۲

چکیده

در پژوهش حاضر، تاثیرات تنش شوری ناشی از کلرورسدیم 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 ژیبرلیک (GA3، ۱۰میکروگرم 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 ژیبرلین و یا آب مقطر به عنوان شاهد آبیاری شدند و در پایان هر ۸ ساعت، درصد جوانه زنی یا محتوای آرژینین، مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، تیمارهای نمکی و پلی اتیلن گلیکول، قادر به ایجاد تاخیر در جوانه‌زنی دانه‌ها هستند و ژیبرلین این تاخیر را جبران می‌نماید. به نظر می‌رسد تیمار نمکی به ویژه با ایجاد تاخیر در افزایش محتوای آرژینین، موجب تاخیر در جوانه‌زنی است. افزایش محتوای آرژینین در تنش نمکی به طور احتمالی مکانیسم‌های مهم مقابله با تنش‌های مزبور در حین رویش دانه هستند. ژیبرلین به تنهایی و یا توام 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: آرژینین، پلی اتیلن گلیکول، جوانه زنی، ژیبرلین، سویا، شوری

مقدمه

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 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 طوری‌که 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). معمولا جوانه‌زنی دانه مهم‌ترین مرحله ایجاد دانه رست و تعیین کننده محصول زراعی موفق است

(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 جوانه-زنی 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، ۱۸درصد 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 پلی‌آمین 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 ژیبرلین در شرایط شور در بهبود جوانه‌زنی و محتوای آمینواسیدی.
- تفکیک اثرات اسمزی ویونی 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 رطوبت نسبی ۹۰ درصد در تاریکی (با به کارگیری ژرمیناتورFaniran-747) قرار گرفتند. آبیاری با آب مقطر یا محلول نمکی کلرور سدیم ۵۰ میلی مولار وهورمون ژیبرلین ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر یا محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ هم فشار با آن (۶۴ گرم بر لیتر) یا محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۴ گرم بر لیتر و هورمون ژیبرلین (GA3) ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و یا هورمون ژیبرلین ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر 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 می-شود.

تهیه معرف آلفانفتول

تهیه معرف آلفانفتول شامل مراحل زیر است:

- افزودن ۱ گرم ماده آلفانفتول به ۱۰۰میلی لیتر الکل ۹۵درصد.
- افزودن ۲ تا ۳ قطره محلول هیپوبرمید 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 وانحراف معیار (SD) 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

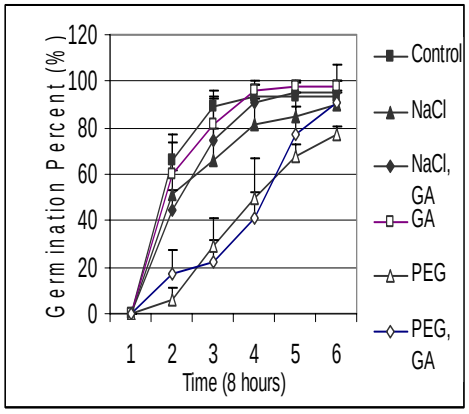
جوانه‌زنی

- در کلیه موارد، شکل عمومی منحنی جوانه زنی سیگموئیدی است (شکل۱).
- تیمار ژیبرلین 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(تیمارPEG)، موجب تاخیر و نیز کاهش معنی‌دار در پایان ۴۸ ساعت در درصد جوانه-زنی می‌شود.
- اسید ژیبرلیک 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.

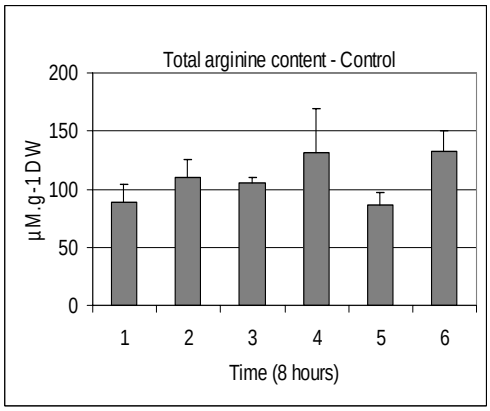
محتوای آرژینین آزاد

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

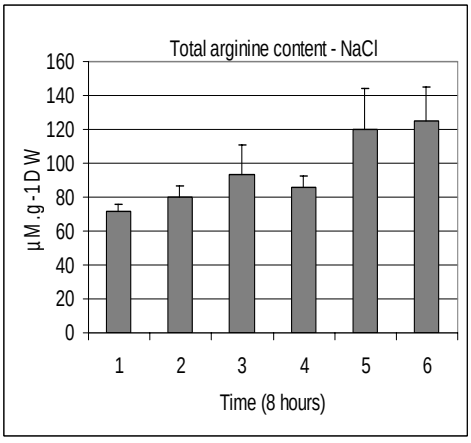
(شکل های ۲ تا ۱۳).تیمار ژیبرلین، این افزایش را شدت می‌بخشد و تاخیر حاصل از تیمار شوری را جبران می‌نماید، ولی در مورد تیمار پلی اتیلن گلیکول، اثر جبرانی نشان نمی‌دهد (شکل‌های ۴ و ۶ تا ۱۰). توضیح این که در کلیه شکل ها، ستون‌ها و شاخص‌ها به ترتیب نشاگر میانگین و انحراف معیار هستند.



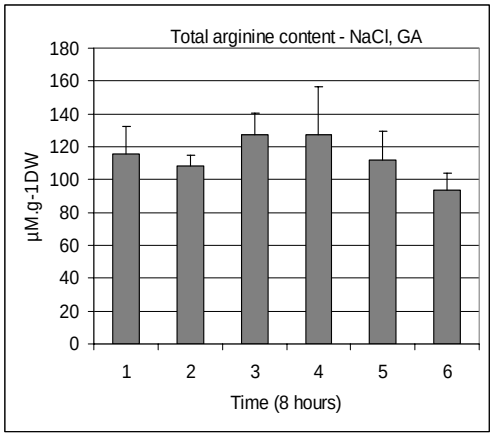
شکل ۱- مقایسه تغییرات درصد جوانه‌زنی دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در آب مقطر (نمونه‌های شاهد) و تیمارهای مختلف .



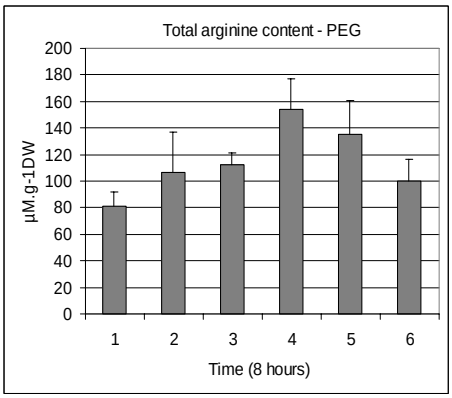
شکل ۲- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در آب مقطر(نمونه-های شاهد) و در پایان هر ۸ ساعت.



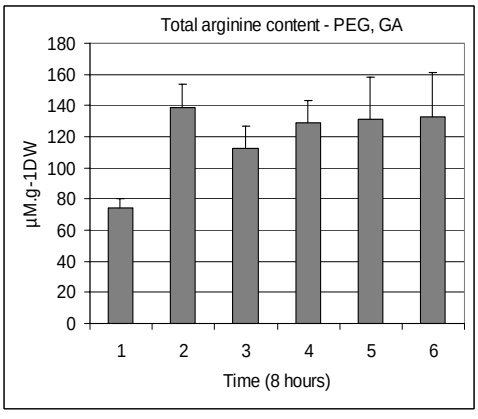
شکل ۳- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در *NaCl* و در پایان هر ۸ ساعت.



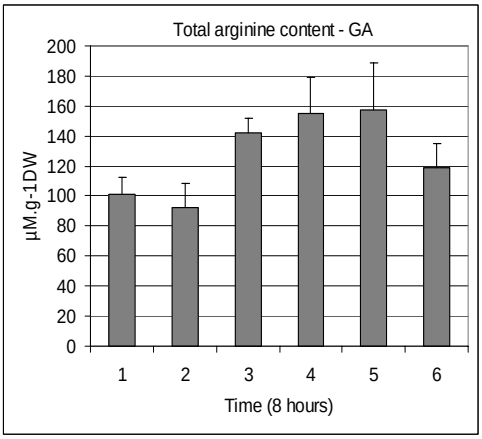
شکل ۴- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در GA , $NaCl$ و در پایان هر ۸ ساعت. ستونها و شاخصها به ترتیب نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند.



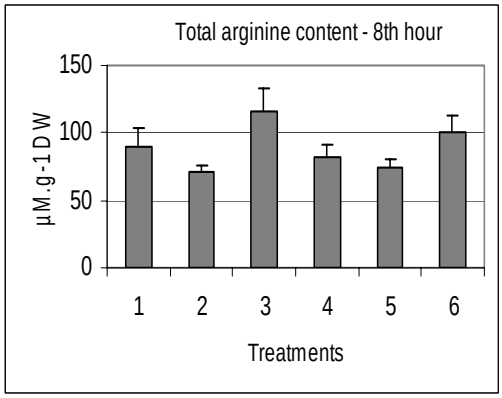
شکل ۵- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در PEG و در پایان هر ۸ ساعت.



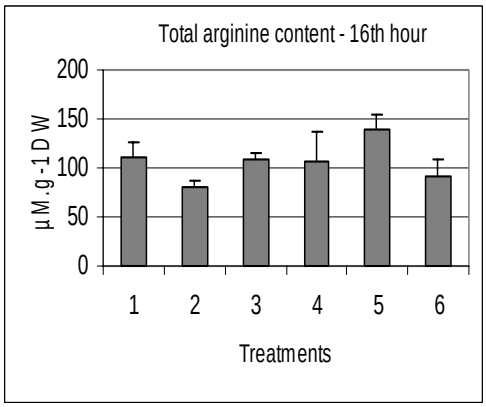
شکل۶- مقایسه محتوای کلی آرژینین در دانه‌های سویا رقم پرشینگ در طی یک دوره زمانی ۴۸ ساعته در $PEG.GA$ و در پایان هر ۸ ساعت.



شکل 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.

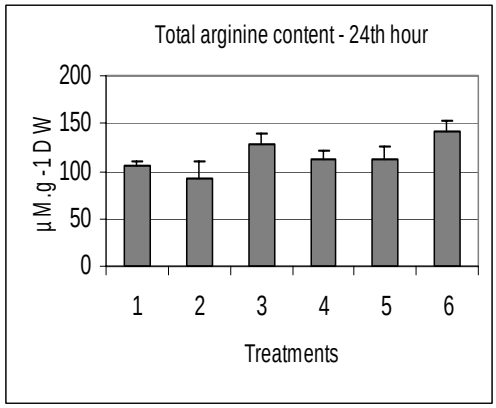


شکل ۸- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۸ ساعت از زمان آبیاری دانه های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبرلین (۵) و تیمار ژیبرلین (۶). توضیح تیمارها مشابه موارد مندرج در مورد شکلهای ۲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

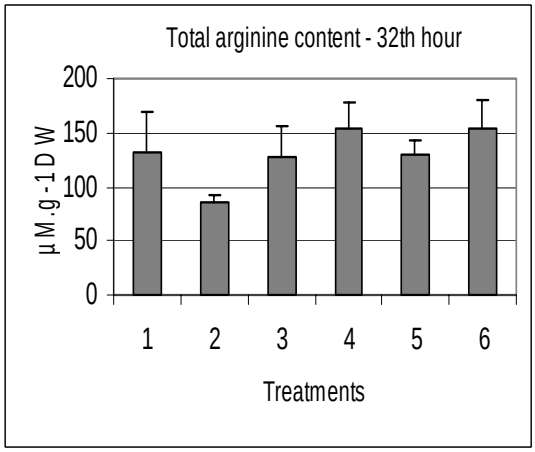


شکل ۹- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۱۶ ساعت از زمان آبیاری دانه های سویا رقم پرشینگ در نمونه‌های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبرلین (۳)،

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



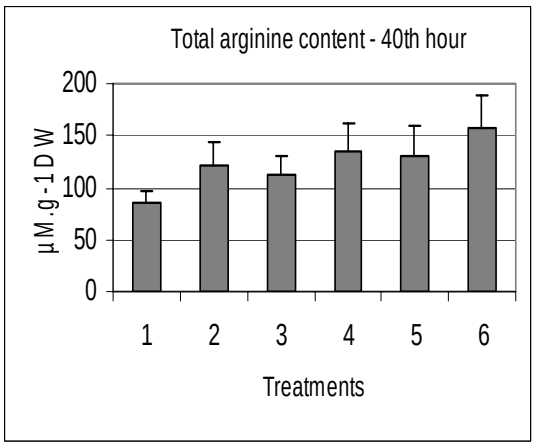
شکل ۱۰- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه-های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبرلین (۵) و تیمار ژیبرلین (۶).



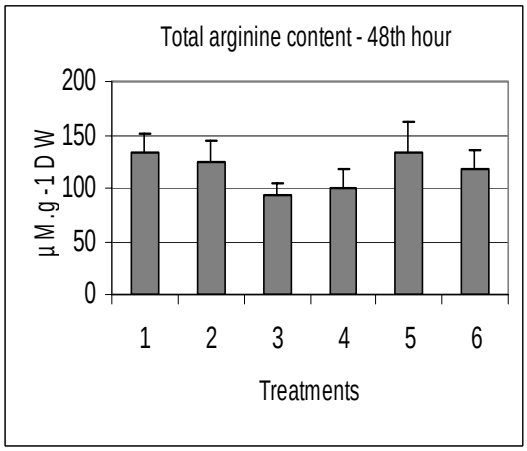
شکل ۱۱- مقایسه محتوای کلی آرژینین پس از گذشت ۳۲ ساعت از زمان آبیاری دانه‌های سویا رقم پرشینگ در نمونه-های شاهد (۱)، تیمار شوری (۲)، تیمار توام شوری و ژیبرلین (۳)، تیمار پلی اتیلن گلیکول (۴)، تیمار توام پلی اتیلن گلیکول و ژیبرلین (۵) و تیمار ژیبرلین (۶).

بحث

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



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



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

افزایش محتوای آن در ۸ ساعت اول تا چهارم ملاحظه می‌شود که مصادف با تاخیر در جوانه‌زنی است. در مورد تنش شوری، ژیبرلین 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.

پاسخ تیمار توام ژیبرلین با هر یک از تیمارهای تنش زا الزاما یکسان نیست. برای مثال می‌توان به تفاوت این پاسخ‌ها در مورد جوانه‌زنی، به محتوای آرژینین اشاره نمود. از نظر زود هنگام بودن پاسخ دانه‌ها به ژیبرلین نتایج پژوهش حاضر مشابه پژوهش‌های دیگری مانند کاهو است که تعدیل سنتز پروتئین ها قبل از جوانه‌زنی را از آثار تیمار با ژیبرلین می‌دانند (۱۱). با این وجود، اثر مثبتی برای GA3 در کاهش آثار منفی شوری بر جوانه زنی دیده نشده، نتایج کار حاضر با آثارGA4 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 یا تفاوت در پاسخ‌های فیزیولوژیکی در مقاطع زمانی ۸ ساعته پنجم و ششم مربوط به تفاوت در مراحل نموی باشد. همچنین نحوه این پاسخ‌ها در مقاطع زمانی مختلف، لزوما مشابه نیست.

به نظر می‌رسد کاهش کلی آرژینین، نقش مهمی در کاهش و ایجاد تاخیر در جوانه‌زنی در شرایط شور داشته باشد، در حالی که در مورد تنش اسمزی، تاخیر در افزایش آرژینین 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 آرژینین ولیزین در مسیر بیوسنتز پلی‌آمین ها واجد نقش های 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).

منابع مورد استفاده

۱. ساطعی، آ. پایان نامه دکتری، دانشگاه تربیت معلم تهران (۱۳۸۳).اثرشوری بر برخی از جنبه‌های فیزیولوژیکی جوانه زنی سویارقم پرشینگ وپیگیری دربرخی دانه رستها

2. 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.
3. -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.
4. Cerda, A., Caro, M., Fernandez, F. G., 1982. Salt tolerance of two pea cultivars. Agronomy Journal 74: 796- 798.
5. 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.
6. Delgado, M. G., Ligero, 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
7. Fountain, D. W., 1976. Bewley., Lettuce seed germination. Plant Physiol 58: 530-536.
8. Goldraij, A., Coelle, P., Polacco, J. C., 1998. Nucleotide Sequence of a Cdna Encoding a Soybean Seedling Axes Arginas(Accesion No. AFO35671) (PGR98- 016). Plant Physiol 116: 867-872.
9. Katembe, W. J., Unger, I. A., Mitchell, J. P., 1988. Effect of salinity on germination and seedling growh of two Atriplex species(Chenopodiaceae). Annals of Botany 82: 167- 175.
10. 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
11. 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.
12. 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.