اثرات گلیسین بتائین برونزاد بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و عملکرد گیاه سویا (*Glycine max* L.)

محمدعلی رضایی

عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

چکیده

از آنجایی که گیاهان در طول چرخه زندگی با انواع استرس‌های محیطی مواجه هستند، کاربرد گلیسین بتائین (GB) برونزاد روی گیاهانی که توان تولید آن را ندارند، موجبات تفوق گیاه بر محدودیت‌های محیطی را فراهم ساخته و منجر به افزایش محصول می‌گردد. بنابراین به منظور بررسی اثر تیمارهای مختلف گلیسین بتائین بر خصوصیات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی دو رقم PER و DPX از سویا، آزمایشاتی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار در شرایط مزرعه انجام شد. تیمارها شامل کاربرد غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ و ۱۰ کیلوگرم درهکتار گلیسین بتائین برون‌زاد در دو مرحله شش برگی و نزدیک به گلدهی بود. در طول دوره رشد میزان رنگیزه‌های کلروفیل، میزان پرولین، گلیسین بتائین و قندهای محلول در برگ و میزان پرولین، گلیسین بتائین و پروتئین کل در بذر و فاکتورهای مورفولوژیکی شامل، تعداد شاخه‌های فرعی، تعداد غلاف در بوته، تعدا دانه در غلاف، وزن هزار دانه اندازه گیری شدند. به طور کلی کاربرد گلیسین بتائین برون‌زاد تفاوت معنی‌داری از نظر میزان کلروفیل ایجاد نکرد. در مرحله ده برگی از نظر میزان گلیسین بتائین درون‌زاد، پرولین و قندهای محلول تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. تمامی غلظت‌های گلیسین بتائین موجب افزایش معنی‌دار تعداد شاخه‌های فرعی و تعداد غلاف در بوته شدند ولی از نظر تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش غلظت گلیسین بتائین از طریق افزایش در تعداد شاخه‌های فرعی و تعداد غلاف در بوته موجب افزایش میزان عملکرد گردید. افزایش تیمار گلیسین بتائین موجب افزایش معنی‌دار عملکرد در بوته، بویژه در رقم DPX و در غلظت‌های بهینه ۷/۵، ۱۰ و ۵ از گلیسین بتائین برونزاد شد. میزان پروتئین کل، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بذرهای برداشت شده در تیمارهای مختلف گلیسین بتائین تفاوت معنی‌داری نکردند.

کلمات کلیدی: سویا، گلایسین بتائین برونزاد، پرولین، پروتئین کل، قندهای محلول، عملکرد.

مقدمه

گیاهان در طول چرخه زندگی با انواع استرس‌های محیطی مواجه هستند. در شرایط طبیعی مواجه بودن با برخی عوامل استرس زا مانند کمبود آب، دما و تشعشع خورشیدی اجتناب ناپذیر است. دمای زیاد، سرما، کمبود آب، کاهش پتانسیل آب خارجی و درونی گیاه و تابش شدید خورشید بر فرایندهای فیزیولوژی و بیوشیمیایی سلول‌ها و ساختار ترکیبات آلی مانند پروتئین ها، چربی‌ها و ساختار غشائ‌های ارگانل‌های درون سلولی و غشائ پلاسمایی موثر هستند،

*email:mohalirezaei@yahoo.com

همگی از جمله مواردی هستند که نمی توان در شرایط طبیعی، گیاه را از آنها دور داشت، ولی میتوان برای کاهش صدمات آنها اقدامات پیشگیرانه انجام داد و به نوعی گیاه را تجهیز کرد (مولف). از جمله روش‌های شناخته شده که میتوان برای کاهش اثرات تنش‌ها در روند چرخه عادی زندگی گیاه به آن مبادرت ورزید، استفاده از اسمولیت‌ها علی الخصوص برای گیا هانی است که توان تولید غلظت‌های مناسبی از آنها را ندارند (Makela, et al. 1996). استفاده از اسمولیت‌ها توان سازش پذیری گیاهان را افزایش می‌دهد، ضمن آنکه ضرری هم برای گیاه ندارد. از مهم ترین اسمولیت‌های آلی میتوان قندهای محلول (از جمله ساکاروز، گلوکز، فروکتوز، ترهالوز و رافینوز) (Probhjot, 2001; Bohnert and Jensen, 1996)، قندهای غیرمحلول (از جمله نشاسته، آمیلوز، آمیلوپکتین) اسیدهای آمینه چهارگانه[1] مانند پرولین و آمین‌های سه‌گانه[2] و ترکیبات سولفونیومی[3] را نام برد (Nuccio et al. 1999). خواص مشترک آنها این است که در pH خنثی فاقد بار بوده و در آب محلول هستند (Ballantyne and Chamberlin, 1994) و اثرات مخرب بر واکنش‌های ماکرو مولکول‌ها ندارند (Somero, 1986).

از مهمترین محلول‌های سازشی در سلسله گیاهی، گلیسین بتائین (GB) (Hanson et al. 1991) است. گزارش‌های بسیاری حاکی از آن است که GB از ترکیبات تنظیم کننده اسمزی (Larher et al. 1996) است و کاربرد GB برونزاد روی گیاهانی که توان تولید آن را ندارند (Makela et al., 1996; Scott et al. 1999; Bruria, 2003) موجبات تفوق گیاه بر محدودیت‌های محیطی را فراهم ساخته و منجر به افزایش محصول می‌گردد (Makela et al. 1996). از این‌رو تحقیق با هدف بررسی جنبه‌های تاثیر غلظت‌های مختلف GB بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و عملکرد دو رقم سویا در شرایط طبیعی مزرعه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام سنجش‌ها، بذور ارقام سویا شامل PER و DPX از مرکز تحقیقات استان گلستان در بهار سال ۸۸ تهیه و در شرایط طبیعی مزرعه ای واقع در شهر نوکنده و به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار کشت شدند. تیمارها شامل کاربرد غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ و ۱۰ کیلوگرم درهکتار گلیسین بتائین برونزاد در دو مرحله شش برگی و نزدیک به گلدهی بود که روی برگ‌ها پاشیده شدند و اندازه گیری صفات در مراحل چهار برگی، ده برگی و بذر انجام شدند.

اندازه‌گیری کلروفیل

یک گرم از برگ‌ها پس از توزین، در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ ٪ بخوبی ساییده شده و بعد از عبور از صافی (Wintermans and Motes, 1965) جهت محاسبه تراکم کلروفیل‌های a , b و کل، جذب محلول در طول موج‌های ٦٤٥ و٦٦٣ نانومتر با دستگاه اسپکترو فتومترخوانده شد.

اندازه‌گیری گلیسین بتائین

۱ گرم از پودر خشک شده برگ گیاه در ٤٠ میلی لیتر آب دوبار تقطیر حل گردید و پس عبور از کاغذ صافی به نسبت ۱:۱ با اسید سولفوریک ۲N رقیق شد. سپس به ۱ میلی لیتر از آن ۰/٤ میلی لیتر از معرف یدید - یدین پتاسیم سرد اضافه شده، ورتکس گردید. بعد نمونه‌ها در دمای صفر درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه در دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. یک میلی لیتر از فاز بالایی با میکروپیپت جدا، با ۹ میلی لیتر ۱،۲ دی کلرو اتان مخلوط و سپس ورتکس شده و بعد جذب آن در طول موج ٣٦٥ نانومتر با دستگاه اسپکترو متر UV – Visible خوانده شد (Sairam er al. 2002).

اندازه‌گیری پرولین

۰/۲ گرم وزن تر برگ در ۵ میلی لیتر اسید سولفو سالیسیلیک ۳ ٪ ساییده شد و به یک میلی لیتر ازآن ۱ میلی لیتر اسید نین هیدرین و ۱ میلی لیتر اسید استیک خالص اضافه شد. سپس به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شده و بلافاصله به آب یخ منتقل گردید و بعد ۲ میلی‌لیتر

[1]. Acids Amino Quaternary
[2]. Acid amino Tertiary
[3]. Sulphuninm compounds

تولوئن به آن اضافه شد و پس از ۲۰ ثانیه تکان شدید جذب بخش رنگی بالایی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (Bates, 1973).

اندازه‌گیری مقدار قندها

یک گرم ماده خشک برگ گیاه تهیه و به ۱۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه شد و به مدت یک هفته در یخچال نگهداری گردید. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۲ صاف شده و قندهای نامحلول جدا گردید. قندهای نامحلول به مدت ۱۵ دقیقه در آون در دمای ۱۰۰°C قرار داده شد تا خشک شده، سپس در ارلن مایر حاوی آب مقطرجوشانده شد (۱۵ دقیقه) و حجم آن با آب مقطر به ۱۰۰ میلی لیتر رسید. برای ارزیابی قندهای محلول و غیر محلول به ۲ میلی لیتراز آنها ۱ میلی لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شده و ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار گرفته و سپس در طول موج ٤٨٥ نانومتر جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومترخوانده شد (Helluburst and Craigie, 1978).

اندازه‌گیری مقدار پروتیین کل

۰/۲ گرم ماده خشک از برگ گیاه در یک میلی‌لیتر با فرتریس خوب ساییده شد و بعد به مدت ٤٠ دقیقه با دور ۵۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس بخش رویی به یک لوله آزمایش منتقل گردید. ۵۰ میکرولیتر از عصاره حاصل جدا و روی آن ۹۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید. به محلول فوق ۱ میلی‌لیتر از معرف D اضافه شد بعد از ۱۵ دقیقه ۳ میلی‌لیتر معرف E به آن اضافه و بشدت تکان داده شد. در این مرحله محلول ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. پس از این مرحله جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر خوانده شد (Lawry et al. 1951).

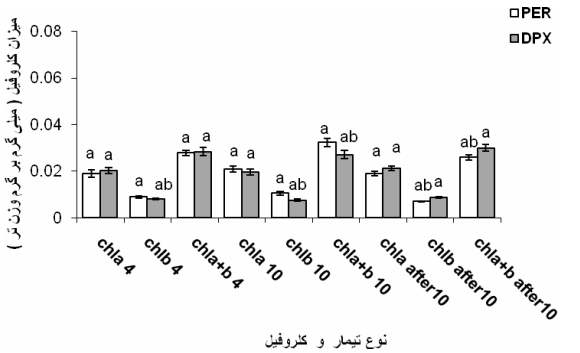
محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال $P<0.05$ انجام شد و بارهای روی نمودار SE می‌باشد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

تغییرات میزان کلروفیل

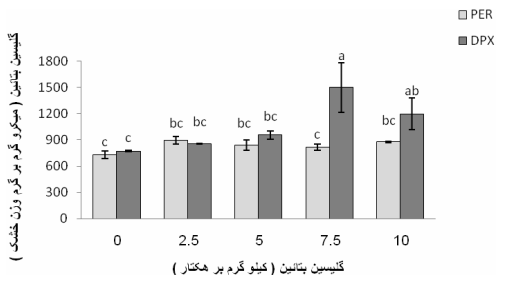
شکل ۱، چگونگی تغییرات مقدار a ، کلروفیل b و مجموع کلروفیل a + b را در دو رقم سویا در مرحله چهار برگی، ده برگی و ده روز بعد از تیمار دوم گلیسین بتائین ($P<0.05$) نشان می‌دهد.نتایج حاکی از آن است که در کلیه مراحل میزان کلروفیل‌ها در دو رقم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نسبت به هم ندارند ولی در هر مرحله میزان کلروفیل a از کلروفیل b بیشتر است.



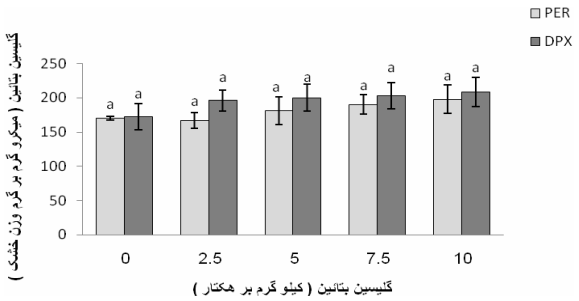
شکل ۱: تغییرات میزان کلروفیل کل در مرحله ٤ و ۱۰ برگی بعد از تیمار اول و ده روز بعد از تیمار دوم دو رقم Per و DPX

تغییرات مقدار گلیسین بتائین

دو رقم در مرحله چهار برگی (داده‌ها ارائه نشده است) از نظر میزان گلسین بتائین درونزاد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. در مرحله ده برگی (شکل ۲) فقط افزایش معنی‌دار آن در رقم DPX و در تیمارهای ۷/۵ و ۱۰ مشاهده شد و در مرحله بذر (شکل ۳) نیز میزان گلسین بتائین درون نزاد در تیمارهای مختلف آن با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.



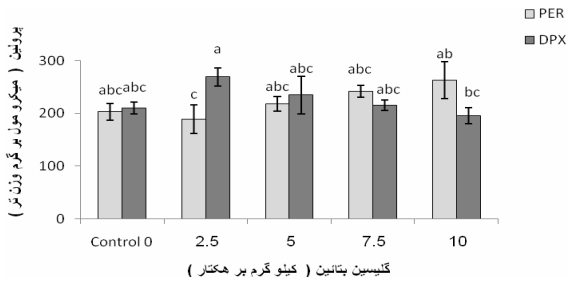
شکل ۲: میزان گلیسین بتائین در مرحله ده برگی در دو رقم PER و DPX.



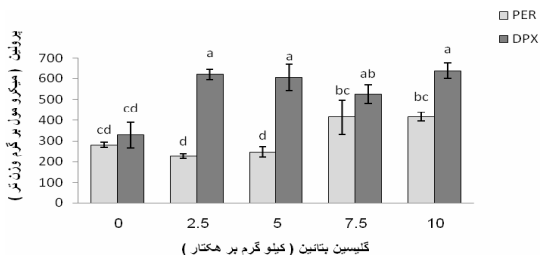
شکل ۳: میزان گلیسین بتائین در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX

تغییرات مقدار پرولین

دو رقم و تیمارهای مختلف غلظت در مرحله چهار برگی قبل از تیمار (داده‌ها ارائه نشده است) و در مرحله ده برگی (شکل ٤)، از نظر میزان پرولین با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و در مرحله بذر (شکل ٥) میزان تولید پرولین در رقم DPX بیشتر از رقم PER بوده است و در هر دو رقم با افزایش تیمار گلیسین بتائین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد از نظر تولید پرولین ایجاد شده است.



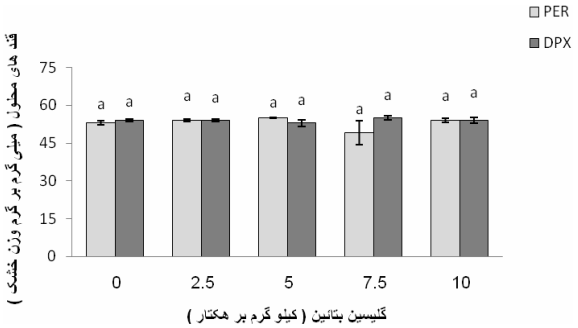
شکل ٤: میزان پرولین در مرحله ده برگی در دو رقم Per و DPX



شکل ٥: میزان پرولین در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX

میزان قندهای محلول

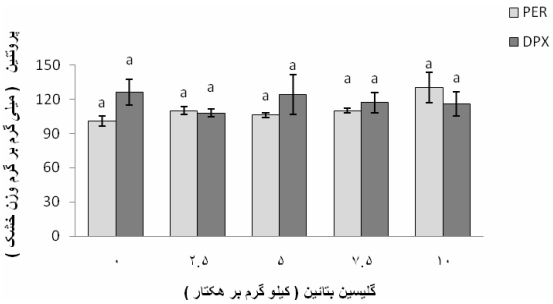
از نظر میزان قندهای محلول (شکل ٦) در دو رقم با افزایش تیمار گلیسین بتائین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد از نظر تولید قندهای محلول مشاهده نشد.



شکل ٦: میزان قندهای محلول در مرحله ده برگی در دو رقم Per و DPX

میزان پروتئین کل

از نظر میزان پروتئین کل (شکل ۷) در دو رقم با افزایش تیمار گلیسین بتائین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد از نظر تولید میزان پروتئین کل مشاهده نشد.

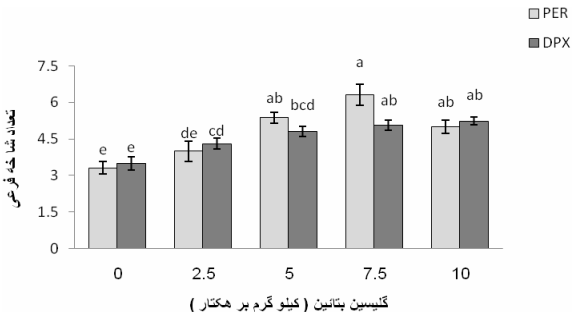


شکل ۷: میزان پروتئین کل در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX

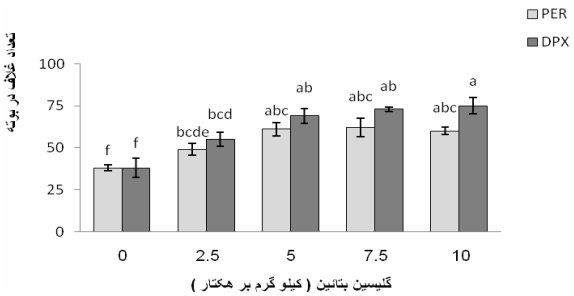
تغییرات شاخص‌های مورفولوژیکی

به ترتیب شکل‌های ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ ، تغییرات شاخص‌های مورفولوژیکی را در دو رقم سویا و تیمارهای مختلف صفر و ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ کیلوگرم بر هکتار گلیسین بتائین نشان میدهند. نتایج حاکی از آن است که تمامی غلظت‌های گلیسین بتائین موجب افزایش تعداد شاخه‌های فرعی (شکل ۸) و تعداد غلاف در بوته (شکل ۹) شدند. بیشترین افزایش تعداد شاخه‌های فرعی در غلظت ۷/۵ و رقم PER بدست آمد (شکل ۸) در حالی که بیشترین تعداد غلاف در بوته در غلظت ۱۰ و رقم DPX بدست آمد (شکل ۹). از نظر تعداد دانه در غلاف، در هر دو رقم PER و رقم DPX و در غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱۰) و در هر دو رقم با افزایش در تیمار

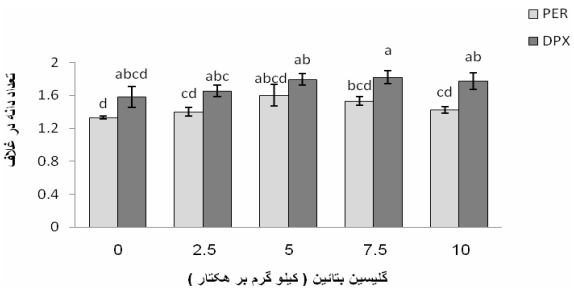
گلیسین بتائین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد از نظر وزن هزار دانه مشاهده نگردید. وزن هزار دانه در رقم DPX از رقم PER با اختلاف معنی‌داری بالاتر بود، ولی تحت تاثیر غلظت‌های مختلف گلیسین بتائین برونزاد قرار نگرفت (شکل ۱۱).



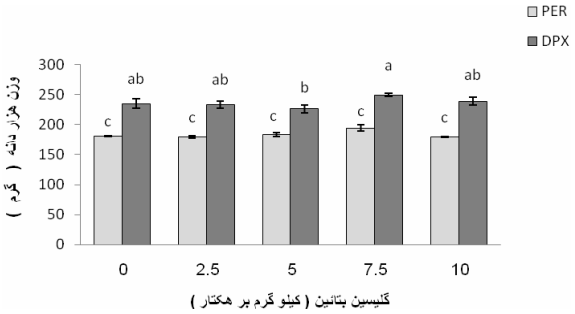
شکل ۸: تغییرات تعداد شاخه‌های فرعی در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX



شکل ۹: تغییرات تعداد غلاف در بوته در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX



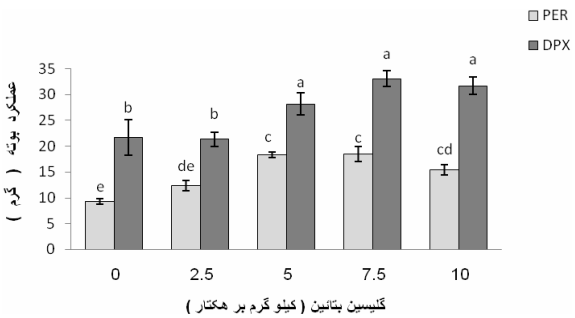
شکل ۱۰: تغییرات تعداد دانه در غلاف در مرحله بذر در دو رقم Per و DPX



شکل ۱۱: تغییرات میزان وزن هزار دانه در دو رقم Per و DPX

تغییرات میزان عملکرد، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای محصول

رقم DPX با افزایش در تیمار گلیسین بتائین افزایش بیشتری در میزان عملکرد در بوته از خود نشان داد (شکل ۱۲) که نسبت به رقم PER با تفاوت بسیار بالایی معنی‌دار بود. بیشترین میزان عملکرد در بوته در رقم DPX بدون تفاوت معنی‌دار در تیمارهای ۷/۵، ۱۰ و ۵ از گلیسین بتائین برونزاد بدست آمد و در رقم PER در تیمارهای ۵ و ۷/۵ بود (شکل ۱۲) که تفاوت معنی‌دار نداشتند.



شکل ۱۲: تغییرات میزان عملکرد در بوته در دو رقم Per و DPX.

میزان درصد جوانه‌زنی بذرهای محصول برداشت شده در دو رقم در تیمارهای مختلف گلیسین بتائین تفاوت معنی‌داری نداشتند و همگی ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی از خود نشان دادند. همچنین قابل ذکر است که سرعت جوانه زنی این بذور نیز با یکدیگر در مقیاس زمانی روزانه تفاوت معنی‌داری نداشتند (داده‌ها و نمودار ارائه نشده است).

بحث

در کلیه مراحل میزان کلروفیل‌ها در دو رقم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نداشتند ولی در هر مرحله

میـزان کلروفیـل a از کلروفیـل b بیـشتر اسـت (شـکل ۱). مطالعـات متعـددی حـاکی از آن هـستند کـه یکـی از اثـرات گلیسین بتائین تاثیر آن بر افـزایش میـزان تولیـد کلروفیـل‌هـا است. با مطالعه روی گیاه ذرت نشان داد کـه تیمـار گلیـسین بتائین برونزاد (۱۰ میلی مول) موجب افزایش تولیـد کلروفیـل کل و محتوای کاروتنوئیدها شد. گلیسین بتائین باعث افـزایش توان آسمیلاسیون CO_2 فتوسنتزی مـی‌شـود (Makela, et al. 1999) و کارایی فتوشیمیای فتوسیستم II و هدایت روزنه ای را افزایش (Xinghong and Congming, 2005) می‌دهـد کـه که از این نظر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد.

در مرحله چهار برگی، ده برگی (شکل ۲) و بـذر (شـکل ۳) میزان گلسین بتائین درون نزاد در تیمارهای مختلف آن بـا یکـدیگر تفـاوت معنـی‌داری نداشـت. بـسیاری از گزارشـات حاکی از آن است که گلیسین بتائین از ترکیبات حافظ اسمزی یا تنظیم کننده اسمزی اسـت کـه در یوکـاریوت‌هـای گیـاهی (Hanson et al. 1991) تحـت شـرایط تـنش محیطـی تجمـع می‌یابد. بیو سنتز GB درون سلول‌ها در کلروپلاست (McNeil et al. 1999)، میتـو کنـدری (Atsushi and Norio, 2001) و سیتوزول (Huang et al. 2000) تحت تنش، تحریـک شـده و به تحمل گیاه می‌افزایـد. تجمـع در درون کلروپلاسـت‌هـا در گیاهان با استراتژی‌های تجمـع GB در شـرایط تـنش شـوری (Larher et al. 1996) مشاهده شده است. در برخی گونـه‌هـا مشخص شده که تجمع GB گاهی تا حد ٤۰۰ میکرومـول بـر گـرم وزن خـشک گیـاه مـی‌رسـد (Rhodes and Honson, 1993). این گیاهان در مقابل گیاهان تولید کننده پرولین، تحت عنوان تجمع کنندگان گلیـسین بتـائین[1] (Larher et al. 1996) موسومند. غلظت GB در گیاه ترانس ژن برنج تا حـد ۵ برابـر قابـل افـزایش (Atoshi and Murata, 2001) اسـت. تمـامی گیاهان توان تجمع گلیسین بتائین را ندارند (Xinghong and Congming, 2005). البته توان القای تولید گلیسین بتـائین بـه گیاهانی که آن را تولید نمی کننـد (Sakamoto and Murata, 2000-2002)، وجـود دارد. سـنتز یـک مـول گلیـسین بتـائین حدودا همان اندازه انرژی ورودی نیاز دارد که برای تولید یک مول ساکارز (Hanson and Wyse 1982) لازم است. جذب و انتقال گلیسین بتائین برونزاد در گونه‌های مختلـف گیـاهی بـه اثبـات رسـیده اسـت (Chen et al. 2000). پـس از کـاربرد گلیسین بتائین خارجی انتقال آسان آن به ارگان‌هـای در حـال رشد و نمو صورت مـی‌گیـرد (Xinghong and Congming, 2005). گلیسین بتائین پس از کاربرد پایـداری و بقـای کـافی دارد و میتواند تـا ۱۷ روز پـس از کـاربرد بـدون اسـتفاده در متابولیـسم بـاقی بمانـد (Makela et al. 1996). برخـی از ژنوتیپ‌های یک گونه توان تولید گلیـسین بتـائین را دارنـد و برخی توان تولید آن را ندارند (Rhodes et al. 1989). کـاربرد گلیسین بتائین برونزاد به گیاهان در برابر استرس‌هـا مقاومـت مـی‌دهـد (Harinasut et al. 1996., Hayashi et al. 1998). الیوریا و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که در شرایط کمبود آب سطوح گلیسین بتائین درونزاد در گیاه سورگوم در مراحل رویشی و زایشی به ترتیب بـه ۳۱ و ٦۸ درصـد میرسـد و در گیاه استرس ندیده نیز در شرایط زایشی بالا تر است و کاهش مقدار آن در مرحله رویشی به علت پیـری بـرگ‌هـا و تجزیـه کلرو پلاست‌ها می‌باشد. و افزایش مجدد آن در مرحله زایشی به علت تولید اسیدهای آمینه طی متابولیسم نیتروژن مـی‌باشـد (Oliveira et al., 2009). گزارش شده است گلیسین بتائین بر گیاهان کلم، سویا، نخود، گوجه فرنگی و گنـدم بهـاره اعمـال شد و مشخص شد که گلیسین بتائین نشاندار دو ساعت پـس از تیمار به ریشه منتقل می‌شود و قادر اسـت پـس از گذشـت یک روز پس از تیمار روی برگ‌ها از طریق تحرک در فلـوئم به تمام اندام‌های گیاه انتقال یابد و سرعت انتقال آن به عوامل محیطی بستگی دارد (Makela, et al. 1996). از اینرو بـه نظـر می‌رسد در تحقیق حاضر انتقال سریع آن به سـایر انـدام‌هـای گیاه صورت پذیرفته باشد.

از طرفی در هر دو رقم با افـزایش تیمـار گلیـسین بتـائین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد از نظر تولید پرولین ایجاد شد. نشان داده شده است که سنتز پرولین تحـت تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری بـالا، دمـای بـالا، یـخ

[1]. GB accumulator

زدگی، تابش UV، اثرات آلودگی هوا، و فلزات سنگین (Kazuko, 2001) افزایش می‌یابد و تجمع پرولین در شرایط تنش شوری و بی آبی (Pergs et al. 1996) صورت می‌گیرد، طوری که پرولین در بسیاری از گیاهان به عنوان نشانگر بیوشیمیایی برای تشخیص تحمل به تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Carlos et al. 1996). هرگاه استراتژی گیاه در پاسخ به تنش کاهش فعالیت آب خارجی، تولید بالا و ذخیره پرولین باشد به آن گیاه (Larher et al. 1996) با استراتژی تجمع پرولین[1] گوییم. به نظر می‌رسد پرولین در شرایط آزمایش حاضر در مرحله ده برگی تجمع قابل ملاحظه ای نداشته است ولی به دلیل افزایش استرس تابشی نورخورشید و گرمای روزانه در مراحل پایانی چرخه زندگی گیاه در فصل تابستان و برای تامین نیاز نیتروژنی گیاه در مرحله نزدیک به گلدهی از طریق کاربرد گلیسین بتائین برونزاد افزایش داشته است (شکل ۵) و از آنجایی که سویا از جمله گیاهانی است که تولید قابل ملاحظه ای از گلیسین بتائین را ندارد (Makela, et al. 1996; Scott, et al. 1999; Bruria, 2003)، لذا از پرولین بعنوان اسمولیت استفاده کرده است.

از نظر میزان قندهای محلول (شکل ٦) و میزان پروتئین کل (شکل ۷) در هر دو رقم با افزایش تیمار گلیسین بتائین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد مشاهده نشد. افزایش در میزان 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 ساکاروز (Yancey, 2005) دارد. پلی الکل‌ها به عنوان تنظیم کننده وحفاظت کننده اسمزی عمل نموده که در فرایند تنظیم اسمزی نقش اسمو لیت را بازی می‌کنند و باعث تسهیل نگهداری آب در درون سیتوپلاسم می‌شوند و محافظت از ساختارهای سلولی نیز از طریق برهم کنش چنین اسمولیت‌هایی با غشاها، کمپلکس‌های پروتیینی یا آنزیم‌ها صورت می‌گیرد (Bohnert et al. 1995). در واکنش به انواع تنش‌های محیطی، مقدار قندها در بخش‌های مختلف گیاهان افزایش می‌یابد و دیده شده است که افزایش هگزوزها در برگ‌های سویا در واکنش به تنش، در نتیجه افزایش تجزیه نشاسته و ساکارز می‌باشد (Ehness et al. 2001)، اما در تحقیق حاضر به دلیل آنکه نمونه‌های گیاهی تحت تنش خاصی نبوده اند و گلیسین بتائین برونزاد نیز برای تامین نیاز اسمزی گیاه بکار گرفته شده است، بنابراین به نظر می‌رسد عدم افزایش قندهای محلول در مرحله ده برگی منطقی بوده باشد.

نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر میزان پروتئین کل در بذر محصول، تحت اثر تیمارهای گلیسین بتائین برونزاد مشاهده نشد، که میتوان نتیجه گرفت بکار گیری گلیسین بتائین برونزاد در این مراحله از رشد گیاه سویا موجب افزایش ذخایر پروتئینی بذر محصول نمی شود. در این زمینه کاهش پروتئین کل در اندام‌های هوایی کولتیوارهای مختلف از گیاه پیاز تحت تنش مشاهده گردید ولی در برخی کولتیوار دیگر آن افزایش داشت. در همین گیاه پروتئین کل در ریشه‌های تمام کولتیوارها در تنش شوری افزایش یافت ولی تنش خشکی بر آن اثری نداشت (Arvin and Kazemi-Pour, 2003). بر این اساس روند تغییرات پروتئین‌ها براساس رقم تغییر کرده و در تحقیق حاضر تحت اثر گلیسین بتائین واقع نشده است.

تمامی غلظت‌های گلیسین بتائین موجب افزایش معنی‌دار تعداد شاخه‌های فرعی (شکل ۸) و تعداد غلاف در بوته (شکل ۹) شدند و از نظر تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه با افزایش در تیمار گلیسین بتائین هیچ تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با شاهد مشاهده نگردید (شکل ۱۰ و ۱۱). در این راستا مشخص شده است تاثیر GB در پنبه از طریق افزایش آب مورد استفاده توسط گیاه و افزایش بازده فتوسنتزی بوده است و گیاه تیمار شده، ریشه و ساقه‌های قوی تر داشته، انشعابات آنها افزایش یافته و گلدهی زودتر صورت گرفته و تعداد غنچه و قوزه بیشتری ایجاد شده است، طوری که پیشنهاد شده است که احتمالا GB در آن نقش هورمونی ایفا کرده است (Naidu et al. 2002).

[1]. Proline accumulator

پس از کاربرد گلیسین بتائین خارجی انتقال آسان آن به ارگان‌های در حال رشد و نمو صورت می‌گیرد (Xinghong and Congming, 2005) گلیسین بتائین پس از کاربرد پایداری و بقای کافی دارد و میتواند تا ۱۷ روز پس از کاربرد بدون استفاده در متابولیسم باقی بماند (Makela et al. 1996) و باعث افزایش در محتوای نسبی آب شده و کارایی استفاده از آب را افزایش می‌دهد و از طریق افزایش هدایت روزنه ای و تعدیل سنتز برخی از هورمون‌ها مانند ABA عمل می‌کند (Davies and Zhang, 1991) و از طریق تنظیم تعادل هورمونی بر مورفولوژی گیاه اثر بگذارد. همچنین در هر دو رقم با افزایش در تیمار گلیسین بتائین افزایش بیشتری در میزان عملکرد مشاهده شد که در رقم DPX در تیمار ۷/۵، ۱۰ و ۵ از گلیسین بتائین برونزاد بدست آمد. گزارشات حاکی از آن است که گلیسین بتائین برونزاد روی گیاهانی که توان تولید آن را ندارند، میتواند موجبات تفوق گیاه بر محدودیت‌های محیطی را فراهم ساخته و منجر به افزایش محصول گردد (Makela et al. 1996). بکارگیری GB اگزوژن نشان داد که محصول پنبه ۱۸ تا ۲۲٪ افزایش داشته است (Naidu et al. 2002).

میزان درصد جوانه‌زنی بذرهای محصول برداشت شده در دو رقم در تیمارهای مختلف گلیسین بتائین تفاوت معنی‌داری نداشتند و همگی ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی از خود نشان دادند. همچنین قابل ذکر است که سرعت جواته زنی این بذور نیز با یکدیگر در مقیاس زمانی روزانه تفاوت معنی‌داری نداشتند (داده‌ها و نمودار ارائه نشده است). در حالیکه بکارگیری گلیسین بتائین در گیاه پنبه وگندم باعث افزایش جوانه زنی و افزایش قدرت گیاهچه‌های آنها شد (Naidu et al., 2002) ولی در گیاه سویا بر آن بی اثر بوده است.

نتیجه‌گیری نهایی

بطور کلی کاربرد گلیسین بتائین برونزاد تفاوت معنی‌داری از نظر میزان کلروفیل ایجاد نکرد. دو رقم در مرحله ده برگی از نظر میزان گلسین بتائین درونزاد، پرولین و قندهای محلول با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و در مراحل بعدی فقط بر میزان تولید پرولین موثر بود. افزایش تیمار گلیسین بتائین از طریق افزایش در تعداد شاخه‌های فرعی و تعداد غلاف در بوته موجب افزایش میزان عملکرد شد، ولی از نظر تعداد دانه در غلاف و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. عملکرد رقم DPX تحت اثر گلیسین بتائین برونزاد با غلظت ۷/۵ کیلوگرم در هکتار بالاتر بود. تیمار گلیسین بتائین برونزاد بر پروتئین کل، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرهای محصول برداشت شده تاثیری نداشت.

منابع

Arvin, M.J., Kazemi-Pour, N. (2003). Effects of Salinity and Drought Stresses on Growth and Chemical and Biochemical Compositions of 4 Onion (*Allium cepa*) Cultivars.College of Agric., Univ. of Shahid Bahonar, Kerman, Iran.

Atoshi, S, and Murata, N. (2001). The use of bacterial choline oxidase, a Glycine betaine synthesizing Enzyme , to create stress-resistant transgenic plants.Plant Physiol.125:180-188.

Atsushi, S., and Norio, M., (2001). The use of Bacterial choline Oxidase, a Glycine betaine synthesizinig Enzyme, to Create stress-Resistant Transgenic plants. Planta, 125: 180-185.

Ballantyne,J.S.,Chamberlin, M.E. (1994). Regulation of cellular amino acid levels. In cellular and molecular physiology of cell volum regulation. (K Strang ed) , CRC press, Boca Raton, PP.111-122

Bates L.S, Waldern R. P., and Teare I.D (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies, Plant Soil, 39: 205- 207.

Bohnert, H.J., Nelson, D.E., and Jensen, R.C. (1995). Adaptation to environmental stresses.The plant cell, Vol, 7, 1099-1111.

Bruria, H. (2003). Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants.Plant Science.165 : 693-699.

Carlos, A.M., Moacyr M., Elisomete G.L., (1996). Invitro salt tolerance and proline accumulation in Andean potato (*Solanum spp.*) differring in forest resistance . Plant Sci, 116 : 177-184.

Kazuko,Y.S., (2001). Biological function of proline in osmotelerance revealed in Antisense transgenic plants. JIRCAS, new letter, NO 27.

Larher, F., Rotival – Garnier, N., Lemesle P., Plasman, M., Bouchereau, A. (1996). The Glycinebetaine inhibitory effecte on the osmoinduced proline respense of rape leaf discs. Plant Science.113: 21 - 31.

Lawry, O.D, Reserbrough N., Foil A. L. and Romdall R.J. (1951). Protein measurment with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

Makela, P.Peltonen-Sainio, K. Jokinen, E. Pehu, H. Setala, R. Hinkkanen, S. Somersalo,. (1996). Uptake and translocation of foliarapplied glycinebetaine in crop plants, Plant Sci. 121 : 221_230.

Makela, P, Peltonensainio P, Jokinen K, Pehu E, Seta¨la¨ H, Hinkkanen R, Somersalo S (1996). Uptake and translocation of foliar- applied glycinebetaine in crop plants. Plant Sci 121: 221–234

Makela, P, Konttur M, Pehu E, Somersalo S (1999). Photosynthetic response of drought- and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine. Physiol Plant 105: 45–50

McNeil, S.D., Nuccio, M.L., Hanson, A.D. (1999). Betaines and related osmoprotectants : Targets for metabolic engineering of stress resistance.Plant Physiol. 120 : 945 - 949.

Naidu, B.P., Cameron, D.F. and Konduri S.V. (2002). Improving drought toloerance of cotton by Glycine betaine applicatien and selection.CSIRO, Tropicul Agriculture, Cunnigham Laboratory , St Lucia , Qid. 4067. Australian, Agronomy Conferance. Papers.

Nuccio, M.L., Rhodes, D., McNeil, S.D., and Hanson, A. (1999). Metabolic engineering of plant for Osmotic stress resistance. Curr. Opin . plant Biol. 2: 128-134.

Oliveira,C.F. Neto, A.K.S. Lobato, R.C.L. Costa, W.J.M.S. Maia, B.G. Santos Filho, G.A.R. Alves, B. Brinez, H.K.B. Neves, M.J. Santos Lopes, F.J.R. Cruz. (2009).Nitrogen compounds and enzyme activities in sorghum induced to water deficit during three stages. Plant Soil Environ., 55, (6) : 238–244.

Chen, W.P., Li, P.H., Chen, THHH (2000). Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant Cell Environ 23: 609–618

Davies, W.J., Zhang, J. (1991). Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 42: 55–76

Ehness, R., Ecker, M., Godt, D., Roitsch, T (2001). Glucose and stress independently regulate source/sink relations and defense mechanisms via signal transduction pathways involving protein phosphorylation. Plant Cell. 9: 1825-1841.

Hanson AD, Wyse R (1982). Biosynthesis, translocation, and accumulation of betaine in sugar beet and its progenitors in relation to salinity. Plant Physiol 70: 1191–1198

Hanson, A.D., Rathina S.R., Chamberlin, R., Gage, D.A. (1991). Comparative Physiological evidence that beta-alanincholine-O-sulfate act as Compatible osmolytes in Limon species. Plant Physiol. 97: 1199-1205.

Harinasut P, Tsutsui K, Takabe T, Nomura M, Takabe T, Kishitani S (1996).Exogenous glycinebetaine accumulation and increased salt-tolerance in rice seedlings. Biosci Biotech Biochem 60: 366–368

Harinasut P, Tsutsui K, Takabe T, Nomura M, Takabe T, Kishitani S (1996).Exogenous glycinebetaine accumulation and increased salt-tolerance in rice seedlings. Biosci. Biotech. Biochem 60: 366–368

Hayashi H, Alia Sakamoto A, NonakaH, Chen THH,MurataN (1998). Enhanced germination under high-salt conditions of seeds of transgenic *Arabidopsis* with a bacterial gene (codA) for choline oxidase. J Plant Res 111: 357–362

Helluburst J.A. and Craigie J.S (1978). Handbook of Physilogical and Biochemical Method. Cambridge Univ. Press.

Huang, J., Hivji, R., Adam, L., Rozowadowski, K.L., Hammelind, J.K., Keller,W.A., Selvaraj, G. (2000). Genetic engineering of glycine betaine production toward enhancing stress tolerance in plant : Metabolic limitations. Plant Physiol. 122 : 747-756.

Perg, Z., Lu, Q., Verma, D.P., (1996). Reciprocal regulation of delta- pyrroline – S – carboxylate synthetase and proline dehydrogenase genes control proline level during and after osmotic stress in plants. Mol. Gen. Genet. 253 : 334- 341.

Prabhjot, K.G., Arun, D.S., Prabhjeet,. S., Singh, B (2001). Effects of various abiotic stress on the growth, soluble sugars and water relations of *sorghum* seedling grown in light and darkness. Bulg. J. Plant Physiol. 27: 72-84.

Rhodes, D., Hanson, A.D. (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 44: 357-384.

Rhodes D., Rich P.J., Brunk D.G., Ju G.C., Rhodes J.C., Pauly M.H., Hansen L.A. (1989). Development of two isogenic sweet corn hybrids differing for glycinebetaine content. Plant Physiol, 91: 1112–1121

Sairam, R.K., Rao K.V. Srivastava G.C. (2002). Diferential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyt concentration. Plant Sci.163 : 1037 – 1046

Sakamoto, A, Murata, N. (2000). Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. J Exp Bot 51: 81–88

Sakamoto, A., Murata, N. (2002). The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. Plant Cell Environ 25: 163–171

Scott, D. M., **Michael L. N.**, **and Andrew, D. H. (1999).** Betaines and Related Osmoprotectants. Targets for Metabolic Engineering of Stress Resistance..Plant Physiol. 120: 945-949.

Somero, G.N,, (1986). Protons , osmolytes , and Fitness of internal milieu for protein function . Am. J. physiol. 251 : R197- R213.

Wintermans J. F. G. M. and Motes A. De. (1965). Spectrophotometric characterestics of cholorophyll a and b and their pheophitin in ethanol, Biochem. Biophys. Acta. 109:440- 452.

Xinghong, Y. and Congming L. (2005). Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. Physiologia Plantarum 124: 343–352.

Yancey, P.H (2005). Organic osmolytes as compatible metabolites and counteracting cytoprotectant in high osmolarity and other stresses. journal of experimental biology. 208. P. 2819–2830.

Journal on Plant Science Researches, Serial 17, 5th year, Number 1, Spring 2010

Effects of exogenous glycine betaine on morphophysiological characteristics and yield of soybean (*Glycine max* L.)

Mohammad Ali Rezaei
Departement of Biology, Azad university of Gorgan branch.Golestan, Iran

Abstract

Since plants confront to kinds of environment stresses in life cycle, exogenous glycine betaine (EGB) applications on crop plants that unable to synthesis glycine betaine is a possible approach to overcome the environmental limitations. In order to study of different treatments of EGB on physiological and morphological characteristics of soybean (Glycine max var PER and DPX), experiments were performed in field condition as factorial with completely randomized design in four replication. Treatments consist of 0 (as control), 2.5, 5, 7.5 and 10kg per hectar EGB in six-leaf and near the flowering stages. During the growth period the amount of chlorophyll and soluble sugar levels in leaves and proline, GB and total protein in leaves and seeds and morphological factors, including number of branches, pods, seed number in pods, thousands seed weight were measured. The results showed that chlorophyll content had no change by application of EGB. Regard to EGB, proline and soluble sugar content not observed significant different in ten foliare stage. All EGB concentrations increased number of lateral branch and number of seeds per pod significantly, but not abserved significant different in number of seed per pod and thousands seed weight. EGB application enhanced yield of soybean by increase in number of lateral branch and number of pod per plant. Increased EGB concentrations enhanced yield of soybean significantly, especially in DPX cultivar by optimum concentration of 7.5, 10 and 5 Kg/hec and 5. Total protein content, germination percent and rate in harvested seeds in different treatments of EGB have no significant different.

Key Words: Soybean, Exogenous Gglycine Betaine, Proline, Total protein, Soluble sugar, Yield.

*email:mohalirezaei@yahoo.com