بررسی تغییرات خصوصیات رشدی و میزان L-DOPA در گیاه لوبیا مخملی تحت تأثیر اسیدهای آمینه و ریزوبیوم

ملیکا عنبری[۱]، مجید عزیزی*[۲]، حسن رخشنده[۳]

[۱] کارشناس ارشد علوم باغبانی (فیزیولوژی گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران)

[۲] استاد (گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران،

[۳] استادیار (دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران)

*نویسنده مسئول: azizi@um.ac.ir

چکیده

در بین حبوبات، لوبیا از مهم‌ترین آن‌ها در جهان به شمار آمده که جایگاه خاصی دارد و پروتئین آن جزء بهترین پروتئین‌های گیاهی محسوب می‌شود. گیاه لوبیا مخملی، یک گیاه دارویی مهم با دامنه وسیعی از خواص دارویی است که به روش سنتی در درمان بیماری‌های مختلف به کار رفته است. دانه‌های گیاه لوبیا مخملی حاوی غلظت بالایی از L-DOPA هستند که یک اسیدآمینه غیرپروتئینی غیرمعمول است و پیش‌ساز مستقیم فرستنده عصبی دوپامین (عامل شیمیایی مهم در تحرک و خلق و خو در مغز) می‌باشد. در این پژوهش برای اولین بار در ایران اثر سه نوع تیمار اسیدآمینه (فنیل‌آلانین و تایروزین در ۳ سطح (۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۲درصد)، کود تجاری پلی‌آمین در ۳ سطح (۰/۵ ، ۱ و ۳ درصد)) و تیمار ریزوبیوم با سه غلظت (۱، ۱/۵ و۲ پی‌پی‌ام) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بر روی لوبیا مخملی مورد بررسی قرار گرفت. درصد ماده خشک دانه، وزن صد دانه و نسبت وزن دانه به غلاف تحت تأثیر ریزوبیوم به ترتیب (۹۸/۴ ٪، ۱۵/۹۷ گرم و ۱/۸۳) بیشترین میزان را داشتند. هم‌چنین مهم‌ترین ماده مؤثره در لوبیا مخملی به نام L-DOPA در پلی‌آمین ۳٪ به بیشترین میزان خود ۲۵/۹۲ پی‌پی‌ام رسید که تیمار شاهد کمترین میزان ماده مؤثره (۱۴/۷۴پی‌پی‌ام) داشت. اسیدآمینه تجاری پلی‌آمین اثر بهتری بر روی گیاه داشت که کاربرد آن توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آمینواسید، پروتئین، پلی‌آمین، حبوبات

مقدمه

به طور کلی بهترین منبع طبیعی L-Dopa، گیاه لوبیا مخملی می‌باشد (پولی و همکاران،۱۹۸۳). لوبیا مخملی یکی از گیاهان دارویی می‌باشد که به صورت سنتی در طب هندی مورد استفاده قرار گرفته است. میزان L-Dopa موجود در دانه‌های گیاه لوبیا مخملی ۶/۷ تا ۳/۶ درصد (بر اساس وزن خشک) می‌باشد در حالی که برگ‌ها حاوی تنها ۰/۲ تا ۰/۶ درصد می‌باشند (Wichers *et al.*,1989). به طور کلی اسیدآمینه‌ها نوعی محرک زیستی شناخته شده‌اند که رشد گیاه و عملکرد را به طور معنی داری افزایش می دهدکه حدود ۲۰ نوع اسیدآمینه ضروری در گیاهان وجود دارد که به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر گیاه تأثیر گذارند (Kowalczyk *et al.*,2008). هم‌چنین ریزوبیوم‌ها ازجمله مهم‌ترین باکتری‌های همزیست تثبیت‌کننده نیتروژن می‌باشند که مشخص شده است تثبیت نیتروژن، با توجه به رابطه همزیستی بین حبوبات و ریزوبیوم بهره‌وری حبوبات را بهبود می‌بخشد، هم‌چنین رشد حبوبات در هنگام همزیستی با باکتری ریزوبیوم به دلیل توانایی آن‌ها در تثبیت نیتروژن اتمسفر، بهبود می‌یابد (Lindström *et al.*,2010).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر استفاده از اسیدهای‌آمینه و ریزوبیوم بر رشد، عملکرد و میزان ماده مؤثره لوبیا مخملی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (هرتکرار شامل سه بوته) انجام گردید. در این آزمایش از ۳ تیمار اسیدآمینه شامل فنیل‌آلانین،

تایروزین و کود تجاری پلی‌آمین (حاوی انواع اسیدآمینه‌ها) استفاده شد. فنیل‌آلانین و تایروزین در ۳ سطح (۰/۰۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد) و پلی‌آمین در ۳ سطح (۰/۵، ۱ و ۳ درصد) و یک تیمار ریزوبیوم (*Rhizobium leguminosarum*) با سه غلظت (۱، ۱/۵ و۲ پی‌پی‌ام) نیز در نظر گرفته شد. به وسیله دستگاه بذرشمار مدل AIDEX IC-VA بذرهای هر تیمار به ۵ دسته صدتایی تقسیم شدند و به صورت جداگانه وزن گردیدند. سپس توسط ترازو (ترازوی دیجیتال ۰/۰۱ گرم) هر دسته وزن شد و میانگین هر گروه برای محاسبه وزن صد دانه محاسبه گردید. پس از برداشت میوه‌ها، غلاف و دانه‌ها به صورت جداگانه وزن و در هوا آزاد قرار داده شدند. پس از گذشت ۶۰ روز، غلاف‌های خشک شده و دانه‌ها به صورت جداگانه وزن گشتند. از نسبت وزن تر به خشک، نسبت وزن دانه به غلاف محاسبه گردید. سپس جهت اندازه‌گیری وزن خشک، دانه‌ها به مدت ۶۰ روز در هوای آزاد قرار داده شدند تا به وزن ثابت رسیدند سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. در پایان با استفاده از رابطه زیر درصد ماده خشک اندازه‌گیری شد. هم‌چنین جهت اندازه‌گیری L-DOPA لوبیا مخملی از روش نورالدین و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری با استفاده از نرم افزار JMP8 صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ ٪ انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2016 استفاده شد.

رابطه ۳-۱

$$\text{درصد ماده خشک دانه} = 1 - \frac{(\text{وزن نمونه خشک} - \text{وزن نمونه تر}) \times 100}{\text{وزن نمونه تر}}$$

نتایج و بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس (۱) اثر تیمارهای محلول‌پاشی شده با آمینواسیدها و کاربرد ریزوبیوم بر گیاه لوبیا مخملی به کار رفته بر صفات وزن صد دانه، نسبت وزن دانه به غلاف، درصد ماده خشک دانه و میزان L-DOPA در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

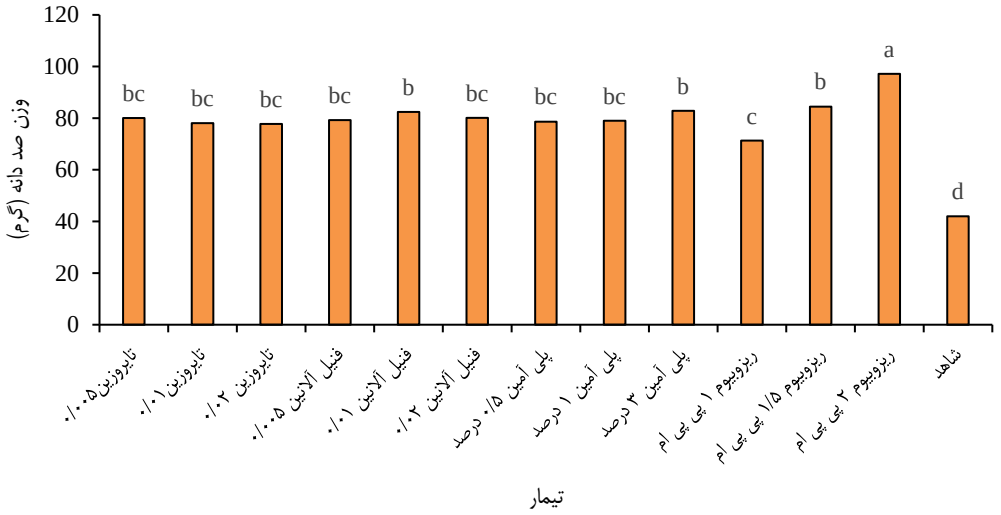
جدول۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر اسیدهای آمینه و ریزوبیوم بر برخی صفات لوبیا مخملی.

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن صد دانه	نسبت دانه به غلاف	درصد ماده خشک دانه	L-DOPA
تیمار	۱۵	۸۴۴/۱**	۰/۱**	۲۹/۲**	۲۲/۵**
خطا	۳۲	۳۶/۶	۱/۰۳	۴/۷	۱/۳
C.V		۲۱/۹۰۵	۱۶/۱۱۸	۳۱/۴۲۱	۱۷/۳۲۹

**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم معنی‌داری.

وزن صد دانه

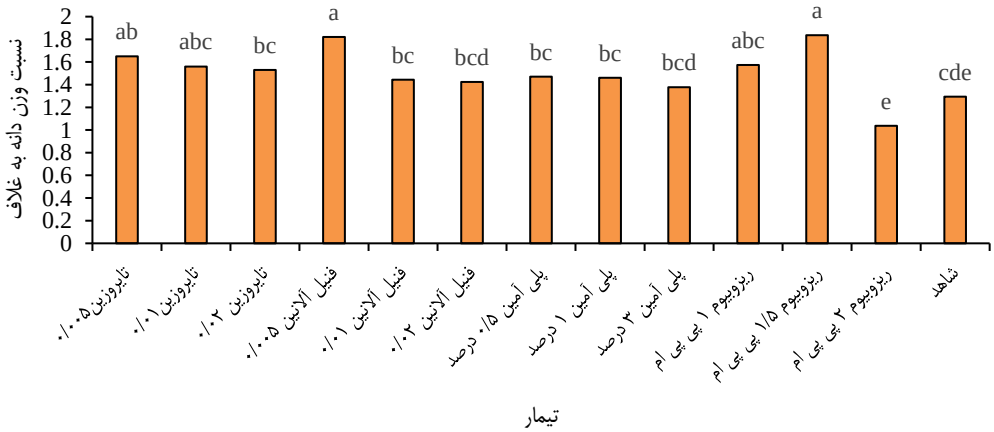
داده‌های آنالیز واریانس وزن صد دانه در بوته لوبیا مخملی بر اساس جدول (۱) حاکی از آن است که تیمارهای اسیدهای آمینه و ریزوبیوم در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq0.01$) بر وزن صد دانه اثر معنی‌داری داشت، به طوری که با توجه به مقایسه میانگین تیمار ریزوبیوم ۲ پی‌پی‌ام بیشترین وزن صد دانه ۹۷/۱۵ گرم را نسبت به تیمار شاهد ۵۹/۳۳ گرم داشت. هم‌چنین بین سایر تیمارهای به کاربرده شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱). محمدی و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر معنی‌دار اثر باکتری ریزوبیوم بر روی عملکرد دانه، تعداد غلاف در بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه در غلاف در لوبیا را مشاهده کردند. وجود نیتروژن کافی حاصل از تلقیح به عنوان آغازگر باعث تقویت رشد رویشی گیاه شده و در نتیجه گیاه با آمادگی بیشتر به مرحله زایشی وارد شده و عملکرد دانه افزایش می‌یابد.



شکل۱. مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی تیمارها بر وزن صد دانه ($p\leq0.05$). میانگین‌هایی که در یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نمی‌باشند.

نسبت وزن دانه به غلاف

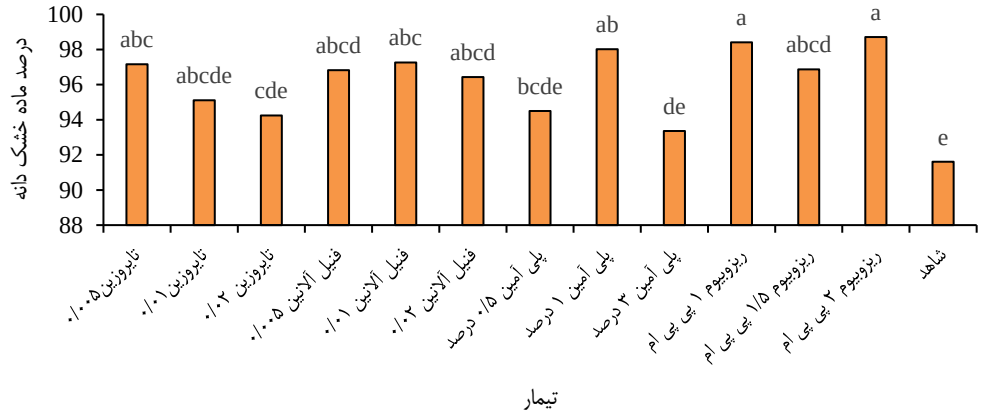
داده‌های آنالیز واریانس نسبت وزن دانه به غلاف در بوته لوبیا مخملی بر اساس جدول (۱) نشان‌دهنده معنی‌دار بودن نسبت دانه به غلاف در اثر استفاده از اسیدهای آمینه و ریزوبیوم در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq0.01$) بود، به طوری که تیمار فنیل‌آلانین ۰/۰۰۵ درصد و ریزوبیوم ۱/۵ پی‌پی‌ام بیشترین نسبت دانه به غلاف به ترتیب ۱/۸۲ و ۱/۸۳ را نسبت به تیمار ریزوبیوم ۲ پی‌پی‌ام ۱/۰۳ که کمترین میزان را شامل بود داشت. هم‌چنین بین سایر تیمارهای به‌کاربرده شده اختلاف معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد (شکل۲). محلول‌پاشی گیاهان با برخی محرک‌های زیستی به خصوص اسیدآمینه‌ها تأثیر معنی‌داری را روی رشد، عملکرد و کیفیت گیاهان دارد. محلول‌پاشی با ۳ گرم در لیتر اسیدآمینه باعث افزایش درصد عناصر غذایی (نیتروژن، پتاسیم و فسفر) و پروتئین در گیاهان زراعی به خصوص بقولات می‌شود که در نهایت باعث افزایش وزن تر در پیکره گیاه می‌گردد (Fawzy *et al*., 2012).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی تیمارها بر نسبت وزن دانه به غلاف ($p\leq0.05$) میانگین هایی که در یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نمی‌باشند.

درصد ماده خشک دانه

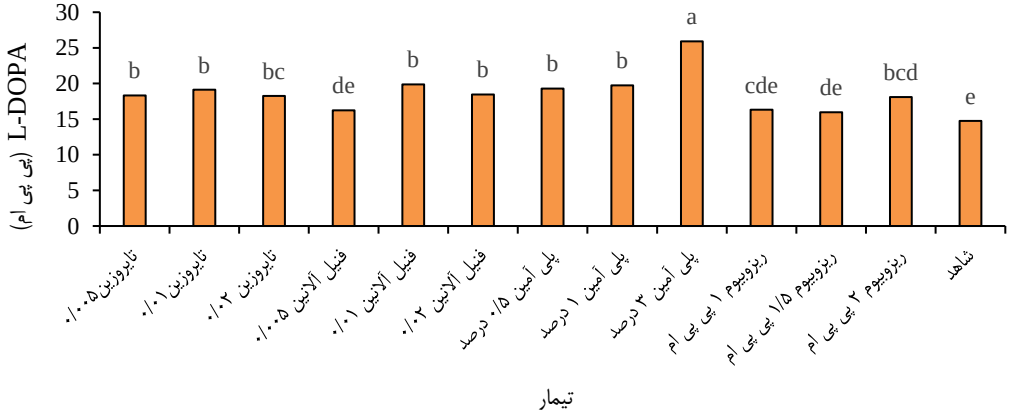
استفاده از اسیدهای آمینه و ریزوبیوم در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq0.01$) با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) بر روی درصد ماده خشک دانه اثر معنی‌داری داشت. با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها (شکل۳) بیشترین درصد ماده خشک دانه ۹۸/۷ درصد مربوط به تیمار ریزوبیوم ۲ پی‌پی‌ام بود و کمترین درصد ماده خشک دانه ۹۱/۶۱ درصد در تیمار شاهد مشاهده شد که در بین سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده شد. به طور کلی غلظت‌های مختلف نیتروژن در محلول‌های غذایی رشد، وزن تر و خشک پیکره گیاه را تحت تأثیر قرار خواهد داد (Hassanpouraghdam *et al*., 2010). به دنبال همین موضوع توم و همکاران (۱۹۸۱) گزارش کردند که اسیدآمینه‌ها منبع سریع و در دسترس نیتروژن را برای سلول‌های گیاهی فراهم می‌کنند که این منبع نیتروژن را در اختیار سلول‌های گیاهی قرار می‌دهد. تأثیر مثبت رشدی اسیدآمینه‌ها بر عملکرد گیاهان احتمالا به دلیل اثر تحریک‌کنندگی آن‌ها بر رشد سلول‌های گیاه است و این اثر مثبت به دلیل فراهم شدن منبع کربن و انرژی برای تولید کربوهیدارت در داخل گیاه است.



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی تیمارها بر درصد ماده خشک دانه ($p\leq0.05$) میانگین هایی که در یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نمی‌باشند.

میزان L-DOPA

داده‌های آنالیز واریانس میزان L-DOPA در بذور بوته لوبیا مخملی بر اساس جدول (۱) حاکی از آن است که تیمارهای اسیدهای آمینه و ریزوبیوم در سطح احتمال ۱ درصد ($p\leq0.01$) بر میزان L-DOPA دانه اثر معنی‌داری داشت، به طوری که تیمار پلی‌آمین ۳ درصد بیشترین L-DOPA به میزان ۲۵/۹۲ پی‌پی‌ام را نسبت به تیمار شاهد ۱۴/۷۴ پی‌پی‌ام داشت (شکل۴). اسیدآمینه-های فنیل‌آلانین و تایروزین پیش‌ساز مستقیم اسیدآمینه غیرپروتئینی L-DOPA می‌باشند در نتیجه استفاده از آن‌ها به صورت محلول‌پاشی سبب افزایش سنتز L-DOPA نسبت به شاهد گردید هر چند تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. تیمار پلی‌آمین ۳٪ به علت دارا بودن تمامی اسیدهای آمینه از جمله فنیل‌آلانین و تایروزین به صورت هم‌زمان موجب افزایش چشم گیر میزان L-DOPA در مقایسه با سایر تیمارها گردید.



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی تیمارها بر میزان L-DOPA ($p\leq0.05$) میانگین هایی که در یک حرف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نمی‌باشند.

منابع

Fawzy, Z., El-Shal, Z., Yunsheng, L., Zhu, O. and Sawan, O. M. 2012. Response of garlic (*Allium Sativum* L.) plants to foliar spraying of some bio-stimulants under sandy soil condition. Journal of applied sciences research, 8(2): 770-776.

Hassanpouraghdam, M., Tabatabaei, S., Aazami, M. and Shekari, F. 2010. Soilless culture production of Alecost [Chrysanthemum balsamita (L.) Baill.]: A preliminary study. Romanian Biotechnological Letters, 15(5): 5530-5536.

Kowalczyk, K., Zielony, T. and Gajewski, M. 2008. Effect of Aminoplant and Asahi on yield and quality of lettuce grown on rockwool. Biostimulators in Modern Agriculture. Vegetable Crops, 35-43.

Lindström, K., Murwira, M., Willems, A. and Altier, N. 2010. The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia. Research in Microbiology, 161: 453–463.

Moe, L.A. 2013. Amino acids in the rhizosphere: From plants to microbes. American Journal of Botany 100, 1692-1705.

Mohamadi, M., Majnoun, H. N., Esmaeili, A., Dashtaki, M. and Mohamadalipour, H. 2011. Study the Rhizobium Strains Function on Yield and Yield Components, Chlorophyll and Seed Protein of Common Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris L.).*

Nour El-Dien, F., Zayed, M., Mohamed, G. and El-Nahas, R. G. 2005. Two Spectrophotometric Assays for Dopamine Derivatives in Pharmaceutical Products and in Biological Samples of Schizophrenic Patients Using Copper Tetramine Complex and Tri-iodide Reagent. BioMed Research International, 2005(1): 1-9.

Thom, M., Maretzki, A., Komor, E. and Sakai, W. 1981. Nutrient uptake and accumulation by sugarcane cell cultures in relation to the growth cycle. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1(1): 3-14.

Wichers, Hj. Pras, N. and Huizing, Hj. 1989. *Mucuna Pruriens*: in vitro Production of L-Dopa. Medicinal and aromatic plants II. 349-366.

Evaluation of Growth Characteristics and L-DOPA in velvet bean (*Mucuna pruriens* L.) Under the Influence of Amino acids and Rhizobium

Melika Anbari[1], Majid Azizi[2*], Hasan Rakhshande[3]
[1]Master in Horticulture (Medicinal plant Physiology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran)
[2]Professor (Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran)
[3]Assistant Professor (School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran)
[*]*Corresponding Author: azizi@um.ac.ir*

Abstract

Among legumes, beans are one of the most important in the world, which has a special place and its protein is one of the best plant proteins. The velvet bean is an important medicinal plant with a wide range of medicinal properties that have been traditionally used in the treatment of various diseases. Velvet bean seeds contain high concentrations of L-DOPA, an unusual non-protein amino acid that is a direct precursor to the neurotransmitter dopamine (an important chemical factor in mobility and mood in the brain). In this study, for the first time in Iran, the effect of three types of amino acid treatments (phenylalanine and tyrosine at 3 levels (0.005, 0.01, and 0.02%), commercial polyamine fertilizer at 3 levels (0.5, 1), And 3%) and rhizobium treatment with three concentrations (1, 1.5 and 2 ppm) were studied in a completely randomized design with three replications on velvet beans. Seed dry matter percentage, 100-grain weight, and grain-to-pod weight ratio under the influence of rhizobium (98.4%, 15.97 g, and 1.83) had the highest rates, respectively. Also, the most important active ingredient in velvet beans called L-DOPA in 3% polyamine reached its highest level of 25.92 ppm, which the control treatment had the lowest amount of active ingredient (14.74 ppm). The commercial amino acid polyamine had a better effect on the plant and its use is recommended.

***Keywords*:** Amino acids, Legumes, Polyamines, Proteins