

ĐỘNG THÁI TÍCH LŨY GLYCIN BETAIN CỦA MỘT SỐ GIỐNG ĐẬU TƯƠNG (*Glycine max* (L.) Merrill) Ở GIAI ĐOẠN CÂY CON KHI CHỊU STRESS HẠN VÀ MẶN

Nguyễn Thị Thao*, Vũ Thị Thu Hà và Trần Khánh Vân

Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội

Tóm tắt. Thí nghiệm trồng cây đậu tương trong hệ thống thủy canh được tiến hành nhằm xác định động thái tích lũy hàm lượng glycin betain (GB) ở giai đoạn cây con của ba giống đậu tương DT2008, DT2003, DT99. Khi cây con được 3 lá thật, tiến hành gây mặn bằng NaCl với nồng độ 0,4% và gây hạn bằng sobitol với nồng độ 6% trong vòng 72 giờ. Các lần xác định hàm lượng GB trong lá cách nhau 8 giờ. Kết quả cho thấy mối tương quan thuận giữa sự tích lũy GB và khả năng chịu mặn, hạn của các giống đậu tương. Trong đó, sự tích lũy GB của giống DT2008 đạt cực đại sớm nhất (0,693 mg/g) (sau 40 giờ gây hạn, mặn) so với DT2003, DT99 khi chịu tác động của hạn và mặn. Đồng thời, kết quả thu được cho thấy khi chịu stress mặn sự tích lũy GB của các giống đậu tương nghiên cứu cao hơn khi chịu stress hạn sau 24 - 40 giờ tác động.

Từ khóa: glycin betain, đậu tương, cây con, hạn, mặn.

1. Mở đầu

Đậu tương (*Glycine Max* (L.) Merrill) là cây trồng phổ biến ở Việt Nam. Cây đậu tương không chỉ mang lại lợi ích về kinh tế mà còn giúp cải tạo đất. Tuy nhiên, diện tích đất nông nghiệp bị nhiễm mặn và hạn ở nước ta ngày càng tăng [1] đã ảnh hưởng đến năng suất của cây trồng nói chung và cây đậu tương nói riêng. Vì vậy, việc chọn, tạo các giống cây trồng có khả năng chịu mặn, hạn là vấn đề cấp bách hiện nay. Để giải quyết vấn đề này, các nghiên cứu về cơ chế chống chịu của thực vật đã được tiến hành. Kết quả nghiên cứu cho thấy glycin betain (GB) là một trong những phân tử chất tan tương thích đóng vai trò quan trọng trong phản ứng của tế bào thực vật khi chịu tác động của các kiểu stress môi trường khác nhau [2] [3] [4]. Bằng phương pháp chuyển gen đã chứng tỏ vai trò bảo vệ của GB khi thực vật chịu tác động stress môi trường [5] [6] và mối tương quan thuận giữa nồng độ GB tích lũy trong cây với khả năng chống chịu stress của thực vật [7] [8] [9]. Ở cây đậu tương, nghiên cứu về sự phân bố và biểu hiện của gen tổng hợp GB trong điều kiện stress môi trường cho thấy sự tích lũy GB có liên quan đến khả năng chống chịu stress của cây đậu tương [10]. Ở giai đoạn cây con, đậu tương rất mẫn cảm với stress môi trường. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu động thái tích lũy GB ở giai đoạn cây con của một số giống đậu tương trong điều kiện gây hạn, mặn nhân tạo với mục đích xác định sự tích lũy GB ở các thời điểm khác nhau trong mỗi công thức nghiên cứu.

Ngày nhận bài: 19/8/2019. Ngày sửa bài: 29/9/2019. Ngày nhận đăng: 1/10/2019.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thao. Địa chỉ e-mail: nguyenthao210188@gmail.com

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Phương pháp nghiên cứu

- *Vật liệu:*

Ba giống đậu tương nghiên cứu: DT2008, DT2003, DT99 do Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam cung cấp.

- *Bố trí thí nghiệm:*

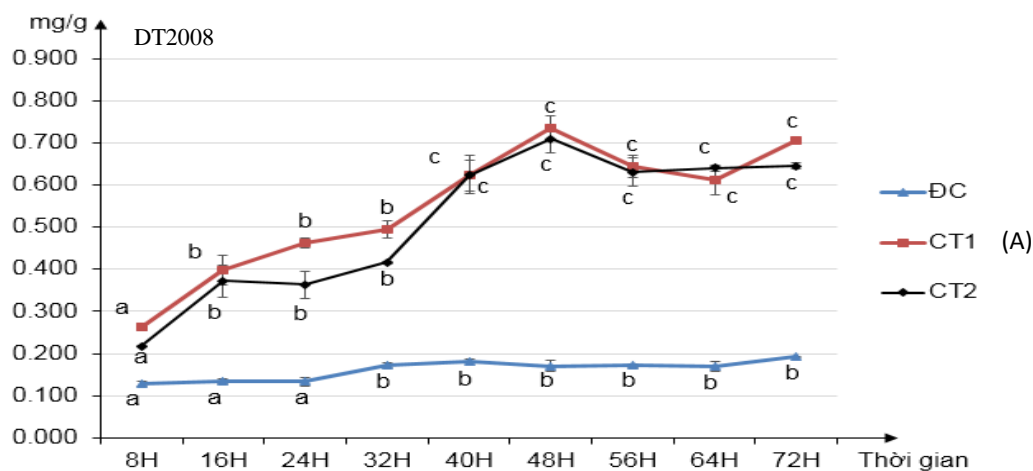
Chọn các hạt đậu tương đã nảy mầm (có chiều dài mầm khoảng 2cm) đưa lên giàn trồng cây thủy canh động. Mỗi giàn ứng với 1 công thức (CT): giàn I - đối chứng (ĐC), giàn II - gây mặn - CT1, giàn III - gây hạn - CT2. Trong một giàn có 3 hàng, mỗi hàng có 15 rọ trồng cây, mỗi giống ứng với 1 hàng. Mỗi rọ đặt 3 hạt đậu tương nảy mầm sao cho mầm tiếp xúc với dung dịch Knop nuôi cây. Dung dịch Knop được thay 2 ngày/ 1 lần bằng cách đổi khay dung dịch nuôi cây của các giàn trồng cây trong hệ thống thủy canh. Đến khi cây được 3 lá thật: Dung dịch nuôi cây ở CT1 được thay bằng dung dịch nuôi cây có bổ sung NaCl 0,4% gây mặn nhân tạo [11]; Dung dịch nuôi cây ở CT2 được thay bằng dung dịch nuôi cây có bổ sung sobitol 6% gây hạn nhân tạo [12]. Thời gian gây mặn và gây hạn là 72 giờ đồng hồ. Thu mẫu lá xác định hàm lượng GB trong vòng 72 giờ tác động. Tính từ thời điểm gây hạn, mặn mỗi lần thu mẫu cách nhau 8 giờ.

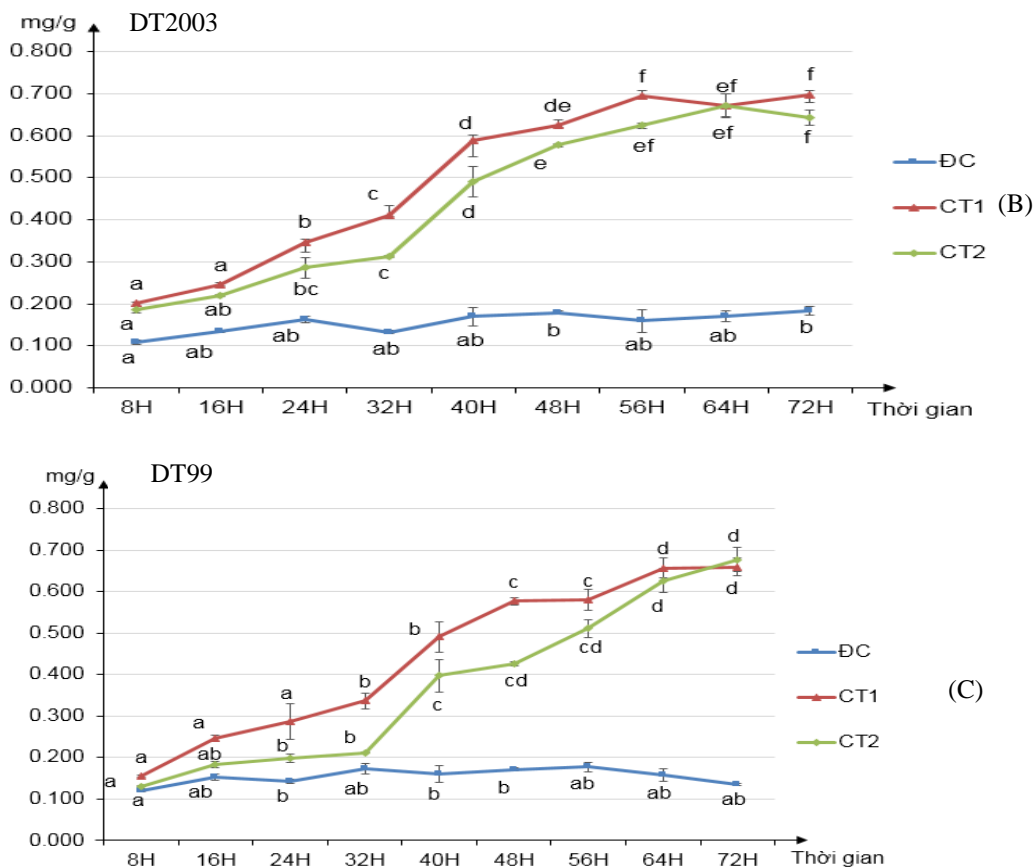
- *Phương pháp thí nghiệm:* Xác định hàm lượng GB theo phương pháp của Nguyễn Văn Mã và cộng sự [12].

- *Phương pháp xử lý số liệu:* Số liệu nghiên cứu được xử lý bằng ứng dụng của phần mềm Microsoft Excel và One – way ANOVA với kiểm định Tukey's- b ở mức ý nghĩa bằng 0,05 của phần mềm SPSS phiên bản 16.0.

2.2. Kết quả và thảo luận

Hạn và mặn đều dẫn đến stress nước đối với thực vật. Để tồn tại, sinh trưởng và phát triển, thực vật phải có những cơ chế phòng vệ cho phép chúng thích nghi với stress môi trường. Trong vòng 72 giờ gây mặn, hạn nhân tạo, kết quả nghiên cứu được thể hiện trên các biểu đồ Hình 1:



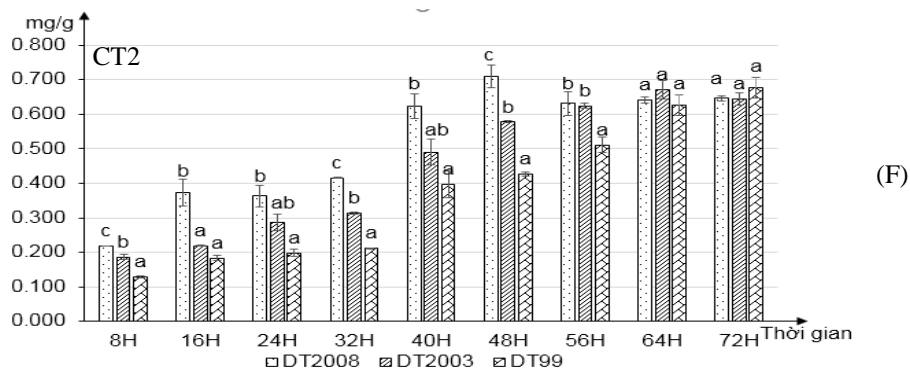
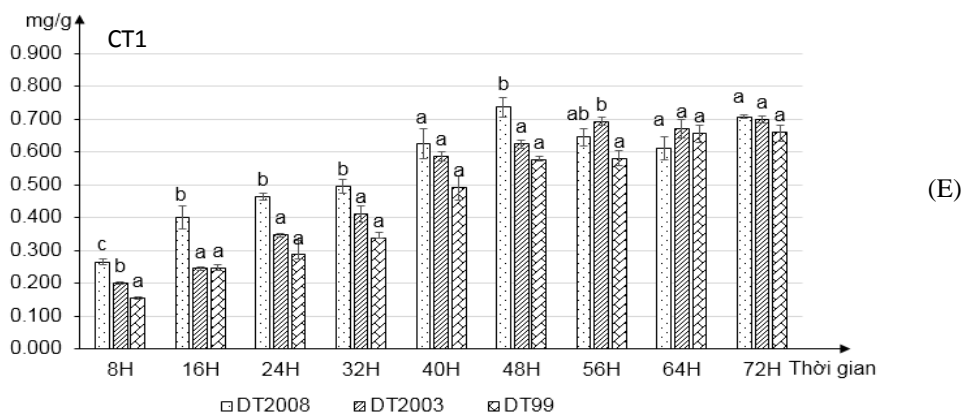
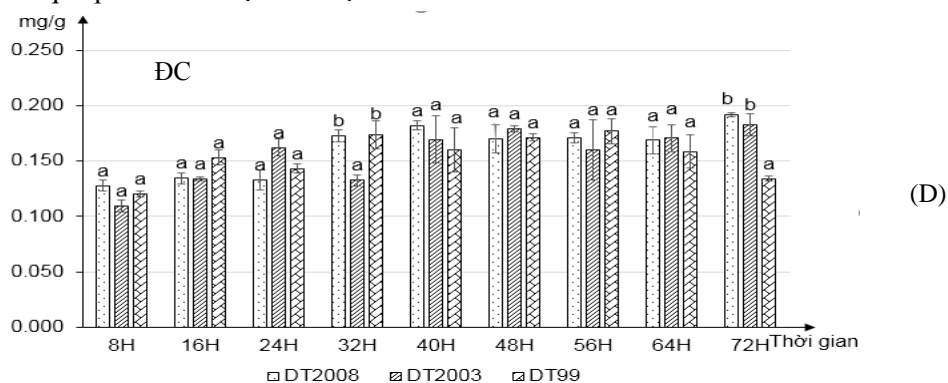


Hình 1. Động thái tích lũy GB của các giống đậu tương ở các thời điểm khác nhau

Biểu đồ Hình 1 (A), (B), (C) tương ứng với 3 giống đậu tương DT2008, DT2003, DT99. Trên biểu đồ, mỗi đường thể hiện một công thức, các chữ cái a, b, c, d, e, f trên cùng một đường thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các thời điểm xác định hàm lượng GB.

Trước hết, chúng tôi phân tích số liệu hàm lượng GB tích lũy ở mỗi thời điểm trong vòng 72 giờ nghiên cứu theo hướng so sánh hàm lượng GB tích lũy ở các thời điểm khác nhau trong mỗi công thức của mỗi giống đậu tương để theo dõi động thái tích lũy GB. Từ biểu đồ hình 1, chúng tôi nhận thấy: trong điều kiện ĐC cung cấp đủ nước và chất dinh dưỡng cho cây đậu tương con sinh trưởng, hàm lượng GB tích lũy trong lá của cả 3 giống đậu tương nghiên cứu đều thấp, dao động trong khoảng 0,1 – 0,2 mg/g. Nhưng khi chịu tác động của mặn (CT1): Sự tích lũy GB của giống DT2008 có sự tăng lên rõ rệt giữa các khoảng thời gian gây mặn là 8 giờ, 16 giờ, 40 giờ và đạt giá trị cực đại ở 48 giờ gây mặn; Sự tích lũy GB của giống DT2003 cũng có sự biến động ở các thời điểm xác định: trong vòng 16 giờ đầu không có sự dao động rõ rệt và chỉ đạt cực đại ở 56 giờ (0,625 mg/g); Giống DT99, trong khoảng thời gian từ 8 giờ - 24 giờ chịu tác động, sự tích lũy GB không có sự dao động rõ rệt và giá trị cực đại ở 64 giờ đạt 0,657 mg/g. Chúng tôi cũng nhận thấy ở CT2: động thái tích lũy GB của các giống đậu tương nghiên cứu đều có xu hướng tăng lên theo thời gian tác động. Thời điểm tích lũy GB đạt giá trị cực đại của các giống DT2008, DT2003, DT99 khác nhau, tương ứng với 40 giờ, 56 giờ, 64 giờ tác động; giống DT2008 có thời điểm tích lũy GB đạt giá trị cực đại sớm nhất. Điều này có thể liên

quan đến khả năng chịu mặn, hạn của các giống đậu tương. Kết hợp với kết quả nghiên cứu đánh giá khả năng chịu hạn của các giống đậu tương tăng theo thứ tự: DT99, DT2003, DT2008 đã chứng tỏ giống đậu tương nào tích lũy GB nhanh và đạt giá trị cực đại sớm thì có khả năng chống chịu tốt hơn [5] [6]. Mặt khác, chúng tôi nhận thấy rằng thời điểm tích lũy GB của các giống đậu tương nghiên cứu đạt giá trị cực đại đều sau 40 giờ tác động mặn, hạn. Vì vậy khi xét hai loại phản ứng chống chịu đặc trưng và không đặc trưng của thực vật [14], chúng tôi cho rằng sự tích lũy GB có thể liên quan đến vai trò bảo vệ tế bào thuộc về cơ chế chống chịu của cây tức là phản ứng đặc trưng chứ không thuộc về loại phản ứng không đặc trưng của thực vật khi chịu stress môi trường. Để làm sáng tỏ hơn mối tương quan giữa khả năng tích lũy GB của các giống đậu tương với khả năng chống chịu stress môi trường chúng tôi phân tích số liệu theo hướng so sánh hàm lượng GB tích lũy của các giống đậu tương trong cùng một công thức và tại cùng một thời điểm. Kết quả phân tích được thể hiện ở Hình 2.

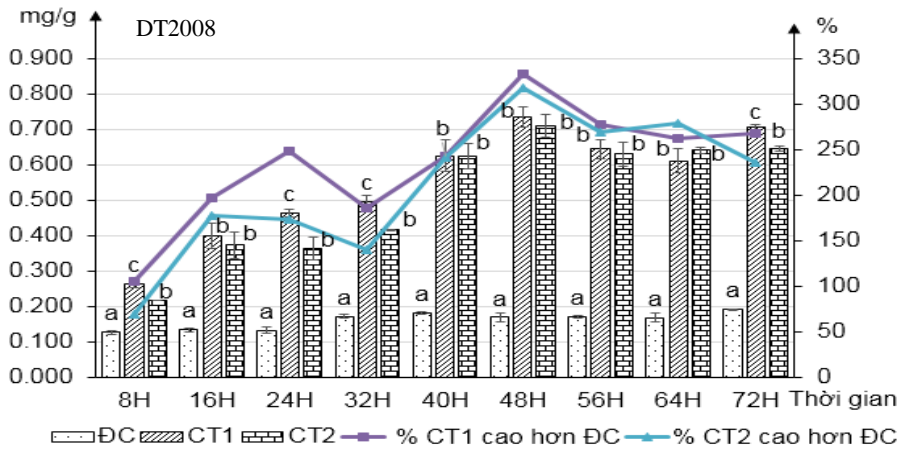


Hình 2. Động thái tích lũy GB của các giống đậu tương ở cùng một thời điểm

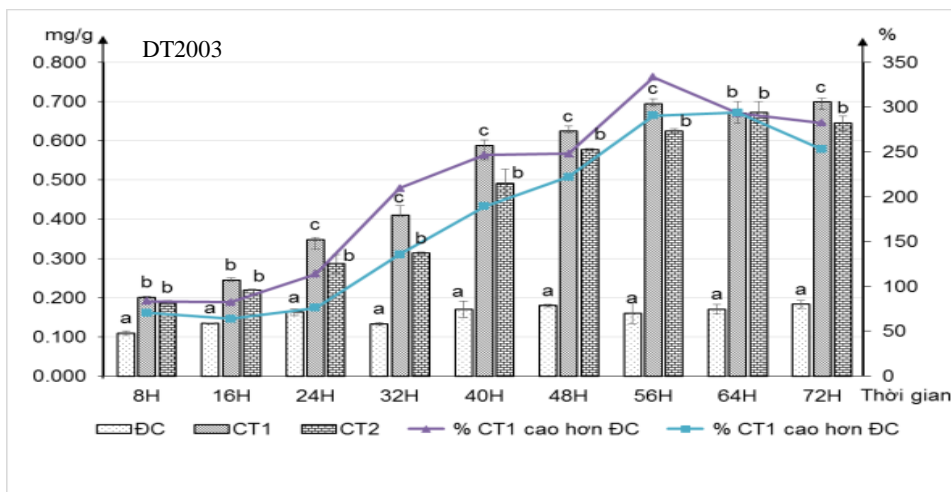
Biểu đồ Hình 2 (D), (E), (F) tương ứng với 3 CT: ĐC, CT1, CT2. Trên biểu đồ, các chữ cái a, b, c trên các cột tại một thời điểm thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các giống đậu tương nghiên cứu.

Từ biểu đồ Hình 2, chúng tôi nhận thấy: Ở công thức ĐC, hàm lượng GB tích lũy của giống DT2003 thấp hơn giống DT2008 và DT99 ở thời điểm 32 giờ và hàm lượng GB tích lũy của giống DT99 thấp hơn giống DT2003, DT2008 ở thời điểm 72 giờ còn các thời điểm nghiên cứu khác không có sự khác biệt. Trong khi đó, khi chịu tác động của mặn (CT1), sự tích lũy GB của giống DT2008 cao hơn hẳn so với các giống DT2003 và DT99. Đồng thời, chúng tôi cũng nhận thấy ở CT2, trong 48 giờ chịu tác động, hàm lượng GB tích lũy của giống đậu tương DT2008 cao hơn DT2003 và cùng cao hơn DT99. Điều này chứng tỏ mối tương quan thuận giữa sự tích lũy GB và tính chống chịu của các giống đậu tương. Mặt khác, sự duy trì hàm lượng GB cao và sự không khác biệt về hàm lượng GB tích lũy của các giống đậu tương khi thời gian gây mặn, hạn kéo dài có thể chứng tỏ sự tích lũy GB là phản ứng đặc trưng giúp cây chống chịu stress môi trường của đậu tương.

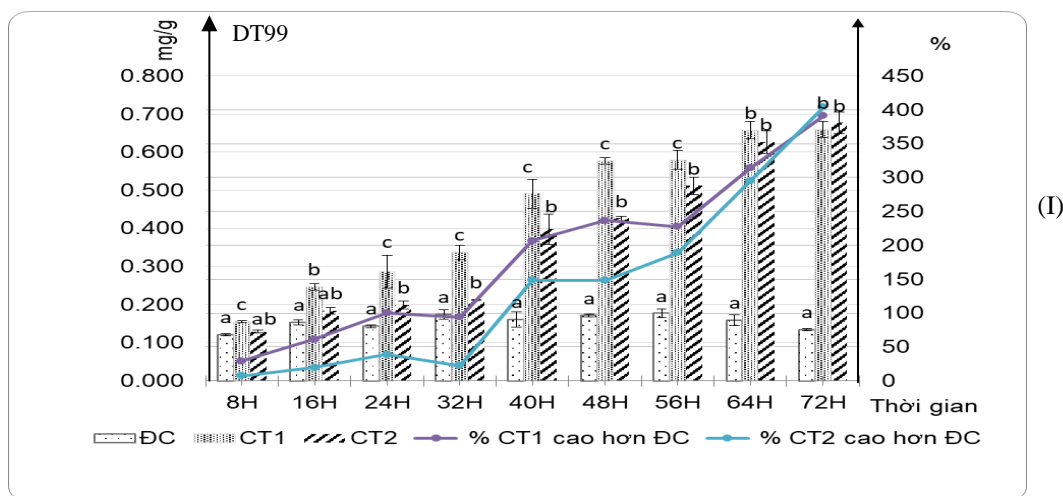
Chúng tôi tiếp tục phân tích hàm lượng GB tích lũy của các giống đậu tương theo hướng so sánh hàm lượng GB tích lũy ở các công thức khác nhau tại cùng 1 thời điểm của cùng 1 giống đậu tương để làm rõ ảnh hưởng của hai loại stress môi trường là mặn và hạn đối với sự tích lũy GB trong cây. Kết quả phân tích được thể hiện trên biểu đồ hình 3.



(G)



(H)



Hình 3. Động thái tích lũy GB của các giống đậu tương ở các công thức khác nhau và phần trăm so với đối chứng của CT1 và CT2

Biểu đồ Hình 3 (G) (H), (I) tương ứng với 3 giống đậu tương DT2008, DT2003, DT99. Các chữ cái a, b, c trên các cột tại một thời điểm của 1 giống thể hiện sự sai khác có ý nghĩa về mặt thống kê giữa các công thức.

Stress hạn và mặn đều làm cho cây bị thiếu nước. Trong nghiên cứu này, chúng tôi gây mặn bằng NaCl 0,4% ($P = 3,346 \text{ atm}$) và gây hạn bằng sobitol 6% ($P = 8,1 \text{ atm}$). Mặc dù áp suất thẩm thấu do mặn gây ra thấp hơn do hạn gây ra nhưng stress mặn không chỉ tạo áp lực cho cây về mặt áp suất thẩm thấu mà còn gây độc cho tế bào [13]. Hàm lượng GB tích lũy của các giống đậu tương ở CT1, CT2 đều cao hơn so với ĐC ngay từ những giờ đầu cây chịu stress. Có thể nhận thấy ngay sau 8 giờ tác động, sự tích lũy GB của giống DT2008 có phần trăm cao hơn so với đối chứng trong CT1, CT2 cao hơn giống DT2003, DT99. Điều này làm rõ hơn mối tương quan thuận giữa việc tích lũy GB và tính chống chịu của cây. Việc tổng hợp GB có vai trò góp phần duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào ở những giờ đầu cây chịu stress hạn, mặn [15] [16].

Như vậy trong khoảng thời gian từ 24- 40 giờ, hàm lượng GB tích lũy của giống DT2008 trong CT1 cao hơn trong CT2. Điều này cũng thấy rõ ở giống DT2003, DT99 trong khoảng thời gian từ 24 – 56 giờ tác động. Trong khi đó áp suất thẩm thấu ở CT2 cao hơn CT1. Điều này chứng tỏ sự tích lũy GB không chỉ có vai trò duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào mà còn có vai trò bảo vệ các thành phần trong tế bào khi chịu stress.

3. Kết luận

- Khi chịu tác động của mặn, hạn, động thái tích lũy GB của các giống đậu tương đều có xu hướng tăng lên. Nhưng thời điểm hàm lượng GB tích lũy đạt giá trị cực đại của 3 giống đậu tương là khác nhau và giống DT2008 có thời điểm tích lũy GB đạt giá trị cực đại sớm nhất.

- Ở CT1, sự tích lũy GB của giống DT2008 cao hơn giống DT2003, DT99. Ở CT2, trong 48 giờ chịu tác động, hàm lượng GB tích lũy của giống đậu tương giảm dần theo thứ tự DT2008, DT2003, DT99. Điều này chứng tỏ mối tương quan thuận giữa sự tích lũy GB và tính chống chịu của các giống đậu tương.

- Hàm lượng GB tích lũy của các giống đậu tương ở CT1, CT2 đều cao hơn so với ĐC ngay từ những giờ đầu cây chịu stress. Có thể nhận thấy ngay sau 8 giờ tác động, sự tích lũy GB của giống DT2008 có phần trăm cao hơn so với đối chứng trong CT1, CT2 cao hơn giống DT2003, DT99.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2012, *Thông tư số 14/2012/TT-BTNMT*, ngày 26/11/2012, về việc ban hành kỹ thuật điều tra thoái hóa đất.
- [2]. Fan, W., Zhang, M., Zhang, H., & Zhang, P, 2012, *Improved tolerance to various abiotic stresses in transgenic sweet potato (*Ipomoea batatas*) expressing spinach betaine aldehyde dehydrogenase*, PloS one, 7(5), e37344.
- [3]. 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, pp.163–171.
- [4]. Yang XH, Liang Z, Lu CM, 2005, *Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic tobacco plants*, Plant Physiol, 138, pp.2299–2309.
- [5]. Khan MS, Yu X, Kikuchi A, Asahina M, Watanabe KN, 2009, *Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress tolerance in plants*, Plant Biotechnol, 26:125–134.
- [6]. Park EJ, Jeknic Z, Pino MT, Murata N, Chen THH, 2007, *Glycinebetaine accumulation is more effective in chloroplasts than in the cytosol for protecting transgenic tomato plants against abiotic stress*. Plant Cell Environ, 30, pp.994–1005.
- [7]. Shiro Mitsuya , Asumi Tsuchiya , Keiko Kono-Ozaki , et al, 2015, *Functional and expression analyses of two kinds of betaine aldehyde dehydrogenases in a glycinebetaine hyperaccumulating graminaceous halophyte, *Leymus chinensis**, Springerplus, 4, pp. 202.
- [8]. Annunziata MG, Ciarmiello LF, Woodrow P, Dell'Aversana E, Carillo P, 2019, *Spatial and Temporal Profile of Glycine Betaine Accumulation in Plants Under Abiotic Stresses*, Front Plant Sci, 10, pp.230.
- [9]. A. Sakamoto, N. Murata, 2002, *The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants*, Plant, Cell & Environment, 25, pp.163- 171.
- [10]. Kido EA, Ferreira Neto JR, Silva RL, Belarmino LC, Bezerra Neto JP, et al, (2013), *Expression dynamics and genome distribution of osmoprotectants in soybean: identifying important components to face abiotic stress*, BMC Bioinformatics, 14 Suppl 1(Suppl 1):S7. doi: 10.1186/1471-2105-14-S1-S7.
- [11]. Nguyễn Thị Thao, Nguyễn Văn Mã, Trần Khánh Vân, 2017, *Nghiên cứu nồng độ NaCl gây mặn, phân nhóm theo khả năng chịu mặn và động thái enzym amylaza, proteaza ở hạt nảy mầm của các giống đậu tương chịu mặn khác nhau*, Kỷ yếu Hội các ngành Sinh học Việt Nam- Hội Sinh lí học Thực vật, NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 152.
- [12]. Nguyễn Thị Thao, Trần Khánh Vân, 2017, *Nghiên cứu nồng độ đường gây hạn và động thái enzym amylaza, proteaza trong quá trình nảy mầm của một số giống đậu tương khi gặp stress hạn*, Tạp chí Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, tập 33, số 2S, tr.168-179.
- [13]. Nguyễn Văn Mã, La Việt Hồng, Ong Xuân Phong, *Phương pháp nghiên cứu Sinh lý học Thực vật*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội (2013).
- [14]. Nguyễn Văn Mã (2015), *Sinh lý chống chịu điều kiện môi trường bất lợi của thực vật*, Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [15]. André T. Jagendorf, Tetsuko Takabe, 2001, *Inducers of Glycinebetaine Synthesis in Barley*, Plant Physiol, 127(4), pp.1827-1835.
- [16]. Hitesh Kathuria, Jitender Giri, Karaba N. Nataraja, Norio Murata, et al, 2009, *Glycinebetaine-induced water-stress tolerance in codA-expressing transgenic indica rice is associated with up-regulation of several stress responsive genes*, Plant Biotechnology Journal, 7, pp. 512–526.

ABSTRACT

**Dynamics of glycine betanine at the seedling stage of soybean varieties
in artificial drought and salinity condition**

Nguyen Thi Thao*, Vu Thi Thu Ha and Tran Khanh Van
Faculty of Biology, Hanoi National University of Education

The experiment of planting soybean in the dynamic hydroponic system was conducted to determine the dynamics of glycine betaine (GB) concentration at the seedling stage of three soybean varieties DT2008, DT2003, DT99. When the seedlings got 3 real leaves, we conducted salinity with NaCl at 0.4% concentration and induced drought with sorbitol at a concentration of 6% within 72 hours. The times of determining GB content are 8 hours apart. The results showed a positive correlation between GB accumulation and salinity tolerance, drought tolerance of soybean varieties. In particular, the accumulation of GB of DT2008 reached the maximum peak (0.693 mg /g) (after 40 hours causing drought, salinity) compared to DT2003 and DT99 when affected by drought and salinity. At the same time, the results showed that when saline stress, the accumulation of GB of researched soybean varieties was higher when drought stress after 24 to 40 hours of impact.

Keywords: Glycine betanine, soybean, seedling, drought, salinity.