

بر هم کنش گلیسین‌بتائین برون‌زا و تنش کم‌آبی روی برخی صفات فیزیولوژیک گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

مهدیه تقدیسی سیار^۱، شکوفه انتشاری^۲ و فاطمه دانشمند^{۳*}

گروه زیست‌شناسی (فیزیولوژی گیاهی)، دانشگاه پیام نور اصفهان، آستادیار گروه علمی زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، صندوق پستی ۳۶۹۷ -

۱۹۳۹۵ تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۴/۲۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۳/۰۳)

چکیده:

در بسیاری از گیاهان، گلیسین‌بتائین به عنوان یک اسمولیت و محافظ اسمزی عمل می‌کند. ولی همه گیاهان قادر به سنتز و تجمع این ماده در خود نمی‌باشند، گوجه فرنگی از جمله این گیاهان می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر کاربرد برون‌زای گلیسین‌بتائین در کاهش تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی انجام گرفت. تنش خشکی در سه سطح به صورت قطع آبیاری (۰، ۳ روز خشکی و ۵ روز خشکی) و گلیسین‌بتائین در سه سطح (۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی روی همه اندام‌های هوایی گیاه اعمال شد. تنش خشکی در هر دو سطح موجب کاهش سطح برگ سوم، وزن خشک اندام هوایی، درصد آب بافت برگ سوم، کاهش مقدار کلروفیل، کاروتنوئیدها، پروتئین، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها و موجب افزایش پراکسیداسیون لیپید مقدار پرولین، قندهای احیاکننده و آسکوربات کل گردید. ولی کاربرد گلیسین‌بتائین در هر دو غلظت موجب کاهش پراکسیداسیون لیپید، مقدار پرولین و افزایش مقدار کلروفیل، کاروتنوئیدها، قندهای احیاکننده، پروتئین، ترکیبات فنلی، آنتوسیانین‌ها و آسکوربات کل و در نتیجه افزایش سطح برگ سوم، افزایش وزن خشک اندام هوایی و درصد آب بافت برگ سوم گردید. در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد برون‌زای هر دو غلظت گلیسین‌بتائین در گیاه گوجه فرنگی که فاقد توانایی ساخت این ماده می‌باشد، در کاهش اثرات تنش خشکی و بهبود رشد در شرایط تنش و غیرتنش موثر بود.

کلمات کلیدی: پراکسیداسیون لیپید، تنظیم اسمزی، تنش کم‌آبی، گلیسین‌بتائین، گوجه‌فرنگی.

مقدمه:

جذب آب توسط ریشه‌ها پیشی گرفته و در صورت ادامه شرایط مذکور میزان تنش بیشتر می‌شود (Taiz and Zeiger, 2005). گیاهان مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با تنش‌هایی نظیر خشکی دارند. افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی اعم از آنزیمی و یا غیرآنزیمی و تنظیم اسمزی از جمله این مکانیسم‌ها می‌باشند. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، گیاهان را در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی محافظت می‌کند و تنظیم اسمزی به سلول‌های گیاهی در جذب آب کمک می‌کند

تنش خشکی یکی از تنش‌های محیطی است که می‌تواند منجر به پیری زودرس برگ‌ها، پژمردگی دائمی، کاهش رشد، کاهش تولید محصول و حتی مرگ گیاه شود. کمبود آب در گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که میزان تعرق بیش از مقدار جذب آب باشد. به عبارت دیگر علت اصلی تنش آب در گیاه می‌تواند، افزایش میزان تلفات آب یا کافی نبودن میزان جذب آب و یا ترکیبی از هر دو باشد که بر اثر آن میزان تلفات ناشی از تعرق بر میزان

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: f.daneshmand@yahoo.com

(Gill and Tuteja, 2010).

در تنظیم اسمزی، اسمولیت‌هایی نظیر قندهای محلول، پرولین و گلیسین‌بتائین ساخته می‌شوند که این ترکیبات علاوه بر دخالت در تنظیم اسمزی و کمک به جذب آب در سلول، نقش‌های حفاظتی روی غشاها و ماکرومولکول‌های سلولی داشته و حتی برخی از آن‌ها نقش جاروب کننده و یا خاموش کننده رادیکال‌های آزاد و کاهش دهنده تنش اکسیداتیو را نیز دارا می‌باشند (Ashraf and Foolad, 2007; Chen and Murata, 2002).

گلیسین‌بتائین یا بتائین (N, N, N تری متیل گلیسین) یک ترکیب آمونیوم چهارتایی می‌باشد و در گستره‌ی وسیعی از میکروارگانسیم‌ها، جانوران و گیاهان وجود دارد. گلیسین‌بتائین یک ملکول دوقطبی است اما در pH فیزیولوژیک خنثی می‌باشد. آزمایشات و بررسی‌های مختلف نشان می‌دهد که گلیسین‌بتائین به عنوان یک محافظ اسمزی، ساختمان چهارم پروتئین‌ها و همچنین ساختار غشاهای سلولی را از اثرات مضر تنش شوری، خشکی و گرما محافظت می‌کند. گزارش شده است در تنش شوری، گلیسین‌بتائین اجزای درگیر در فتوسنتز نظیر روبیسکو و کمپلکس رهاکننده اکسیژن در فتوسیسیم II و کمپلکس ATP سنتتاز را از غیرفعال شدن و جدا شدن زیرواحدها محافظت نموده است (Arafa et al., 2007; Sakamoto and Murata, 2000). تجمع گلیسین‌بتائین در پاسخ به تنش‌هایی نظیر شوری، خشکی، گرما و سرما در بسیاری از گیاهان رخ می‌دهد و همبستگی مثبتی بین تجمع گلیسین‌بتائین و افزایش مقاومت به تنش شوری در ذرت، و تنش سرما در جو گزارش شده است (Chen and Murata 2008, 2011; Ashraf and Folad, 2007, He et al., 2011). اما برخی از گیاهان مهم در کشاورزی نظیر برنج، سیب زمینی، توتون و گوجه فرنگی فاقد آنزیم‌های سنتز کننده گلیسین‌بتائین می‌باشند، بنابراین در شرایط تنش یا غیرتنش فاقد توانایی تجمع این اسمولیت در سلول‌های خود می‌باشند (Huang et al., 2000). گزارش شده است که کاربرد برونزای گلیسین‌بتائین روی گیاهان تجمع دهنده گلیسین‌بتائین و

تعدادی از گیاهان غیرتجمع دهنده این ترکیب، موجب افزایش مقاومت در برابر برخی تنش‌های محیطی شده است (Sakamoto and Murata, 2000).

از آن جا که گوجه فرنگی گیاهی است که فاقد توانایی سنتز گلیسین‌بتائین می‌باشد (Huang et al., 2000)، هدف از این مطالعه بررسی میزان تاثیر گلیسین‌بتائین برونزا بر کاهش تنش خشکی در گیاهان گوجه فرنگی می‌باشد. بدین منظور برخی از پارامترهای رشد و پارامترهای فیزیولوژیک نظیر پراکسیداسیون لیپید، اسمولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در گیاهان گوجه فرنگی در شرایط غیرتنش و تحت تنش کم آبی مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها:

گیاه مورد آزمایش در این پژوهش گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) رقم Falcato بود. آزمایش به صورت گلخانه‌ای در گلخانه مجتمع آموزش ملاصدرای یزد وابسته به وزارت جهاد کشاورزی، انجام گرفت. طی آزمایشات مقدماتی غلظت گلیسین‌بتائین و مدت زمان و نحوه تیماردهی بهینه گردید. بذرها در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۱ سانتیمتر، حاوی ۶۵۰ گرم رس: پیت ماس: ماسه با نسبت‌های (۲:۱:۱) کاشته شد و آبیاری تا زمان اعمال تیمارها به صورت یک روز در میان با توجه به ظرفیت مزرعه‌ای (حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر آب) برای همه گلدان‌ها به طور یکسان انجام شد. گیاهان در شروع مرحله چهار برگی، به مدت یک هفته به صورت یک در میان تحت تیمار محلول پاشی (روی همه اندام هوایی گیاه) با غلظت های ۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار گلیسین‌بتائین قرار گرفتند (روی گیاهان شاهد آب مقطر اسپری گردید). بعد از اعمال تیمار گلیسین‌بتائین، تنش خشکی به صورت قطع آبیاری در سه سطح ۰، ۳ روز و ۵ روز اعمال گردید و سپس گیاهان برداشت شده و پس از اندازه‌گیری پارامترهای رشد و مورفولوژیک، برگ سوم (شمارش از پایین به بالا) در نیتروژن مایع فریز شده و در دمای ۸۰- نگهداری شد.

اندازه‌گیری پارامترهای رشد و درصد آب بافت: سطح برگ

جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $1\text{ cm}^{-1}\text{ mM}^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری غلظت سایر آلدئیدها با روش Meirs و همکاران (۱۹۹۲) مشابه روش ذکر شده برای مالون‌دآلدئید انجام شد ولی جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۵۵ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل $1\text{ cm}^{-1}\text{ mM}^{-1}$ استفاده شد و نتایج بر حسب نانومول بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوستزی: اندازه‌گیری مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. مقدار $0/2$ گرم از برگ سوم فریز شده با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن جذب آن‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج های $646/8$ ، $663/20$ و 470 نانومتر خوانده شد و مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. مقدار $0/02$ گرم از بافت فریز شده گیاه (برگ سوم) در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید سائیده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در 10000 g سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط شد و یک ساعت در دمای 100 درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم قرار گرفت سپس بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید. بعد ۴ میلی‌لیتر تولونن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. میزان جذب لایه‌ی رنگی فوقانی که حاوی

سوم و درصد آب بافت برگ سوم و وزن خشک اندام هوایی گیاهان در گروه‌های تیماری مختلف اندازه‌گیری گردید. تعیین سطح برگ سوم با استفاده از کپی کاغذی که از برگ تهیه شد انجام پذیرفت. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای 70 درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گیاه گزارش گردید. برای اندازه‌گیری درصد آب بافت برگ سوم یا محاسبه محتوای نسبی آب بافت (RWC)، وزن تر برگ سوم گیاهان اندازه‌گیری گردید. سپس نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای 70 درجه سانتی‌گراد خشک شد. سپس وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و محتوای نسبی آب برگ با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Shah et al., 2002):

$$RWC (\%) = [(وزن تر) / (وزن خشک - وزن تر)] \times 100$$

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دآلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها (پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و پروپانال دی متیل استال) که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می باشد اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری مالون دآلدئید به روش Heath و Packer (۱۹۶۹) انجام شد. بر اساس این روش $0/2$ گرم از بافت فریز شده گیاه (برگ سوم) با ۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) $0/1$ درصد سائیده شد. عصاره‌ی حاصل با استفاده از سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در 10000 g سانتریفوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ، ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد که حاوی $0/5$ درصد تیوباربیتریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد در حمام آب‌گرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در 10000 g سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج 532 نانومتر خوانده شد. ماده‌ی مورد نظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است.

حاصل به شدت به هم زده شد. لوله‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در تاریکی در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شدند و با اسپکتروفتومتر شدت جذب در طول موج ۶۶۰ نانومتر تعیین شد. با استفاده از آلومین گای منحنی استاندارد ترسیم و غلظت پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی: اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش Gao (۲۰۰۰) انجام گرفت. مقدار ۰/۱ گرم از برگ سوم گیاه را در ۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد سائیده و به مدت ۷۲-۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شد. سپس به ۱ میلی لیتر محلول رویی ۱ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد اضافه گردید و با آب مقطر دوبار تقطیر حجم محلول به ۵ میلی لیتر رسانده شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین ۵۰ درصد و ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۵ درصد به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱ ساعت در تاریکی نگهداری شد و سپس جذب هر نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. با استفاده از اسید گالیک اسید منحنی استاندارد ترسیم و غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری آنتوسیانین: از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های برگ سوم گیاه استفاده شد. مقدار ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهان را در هاون چینی با ۱۰ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول خالص و کلریدریک اسید خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملاً سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سر پیچ دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتی‌فوز و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن خشک ارائه گردید.

اندازه‌گیری آسکوربات کل: برای سنجش مقدار آسکوربات کل از روش De Pinto (۱۹۹۹) و همکاران استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم بافت فریز شده برگ سوم گیاه، در ۱۰ میلی لیتر

تولوئن و پرولین بود در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه‌ی مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید.

اندازه‌گیری قندهای احیاکننده: برای اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده از روش Somogy (۱۹۵۲) استفاده شد. مقدار ۰/۲ گرم از برگ سوم گیاه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده شد. سپس محتوای هاون به بشر کوچکی منتقل گردید و حرارت داده شد و به محض اینکه به نقطه جوش رسید، حرارت قطع شد و محتوای بشر به کمک کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید. مقدار دو میلی لیتر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده به لوله آزمایش منتقل شد و پس از افزودن ۲ میلی لیتر محلول سولفات مس به آن‌ها، سر لوله‌ها با پنبه بسته شد و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آنکه لوله‌ها سرد شدند، دو میلی لیتر محلول فسفومولیدیک اسید به آن‌ها اضافه شد و پس از چند لحظه رنگ آبی پدیدار گردید. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد و با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده با استفاده از گلوکز، غلظت قندهای احیاکننده محاسبه گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

اندازه‌گیری پروتئین: مقدار پروتئین‌ها در برگ‌ها با استفاده از روش Lowry و همکاران (۱۹۵۱) اندازه‌گیری شد. مقدار ۰/۱ گرم از برگ سوم گیاه با پنج میلی لیتر بافر فسفات نمکی (pH=۷) در هاون چینی که درون یخ قرار داده شده بود، سائیده و توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. عصاره گیاهی تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰ g سانتی‌فوز شد و یک میلی لیتر از محلول شفاف رویی برداشته شد. سپس چهار میلی لیتر از معرف C (شامل سولفات مس، کربنات سدیم، هیدروکسید سدیم و تارتارات سدیم پتاسیم) به لوله آزمایش حاوی عصاره اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه در درجه حرارت آزمایشگاه نگهداری شد. پس از آن ۱/۵ میلی لیتر محلول رقیق شده فولین فنل اضافه شد و محلول

تنش این کاهش‌ها چشمگیرتر بود. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش باعث افزایش معنی دار سطح برگ سوم و وزن خشک اندام هوایی گردید که این افزایش در غلظت ۲۵ میلی مولار بیشتر بود. در شرایط تنش خشکی ۳ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی دار سطح برگ سوم و وزن خشک اندام هوایی گردید که این اثر در غلظت ۲۵ میلی مولار مشهودتر بود. در شرایط تنش خشکی ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی دار سطح برگ سوم و وزن خشک اندام هوایی گردید و تفاوتی بین دو غلظت استفاده شده مشاهده نشد.

هر دو سطح تنش خشکی موجب کاهش معنی دار درصد آب بافت گردید و با افزایش شدت تنش این کاهش چشمگیرتر بود. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش تفاوت معنی داری در این پارامتر ایجاد نکرد. در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین در هر دو غلظت، باعث بهبود اثرات تنش گردید که تفاوت معنی داری در دو غلظت استفاده شده، مشاهده نگردید.

میزان مالون دآلدئید (MDA) و سایر آلدئیدها در هر دو سطح تیمار تنش خشکی افزایش معنی داری داشت و با افزایش شدت تنش، این افزایش چشمگیرتر بود. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش تفاوت معنی داری در این پارامترها ایجاد نکرد. در شرایط تنش خشکی ۳ روز و ۵ روز، کاربرد گلیسین بتائین در هر دو غلظت، باعث کاهش مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها گردید.

تیمار تنش خشکی در هر دو سطح موجب کاهش معنی دار میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها گردید و با افزایش شدت تنش این پارامترها بیشتر کاهش یافت. گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش باعث افزایش معنی دار میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها گردید و غلظت ۲۵ میلی مولار روی این پارامترها موثرتر بود. در شرایط تنش خشکی ۳ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی داری در میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها گردید. در شرایط تنش خشکی ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین در هر دو غلظت باعث افزایش معنی دار غلظت کلروفیل گردید که این

متافسفریک اسید ۵ درصد سائیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتیفریژ گردید، سپس ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ی سانتیفریژ شده در لوله‌ی آزمایش ریخته شده و محلول‌های زیر به ترتیب به آن اضافه گردید. ابتدا ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار سپس ۱۵۰ میکرولیتر دی تیو تراپتول ۱۰ میلی مولار و مخلوط حاصل ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر N-اتیل ملامید ۰/۵ درصد اضافه و مخلوط حاصل ورتکس و مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. بعد ۶۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر ارتوفسفریک اسید ۴۴ درصد، ۶۰۰ میکرولیتر آلفا آلفادی پیریدیل ۴ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (۴۷۵ میلی گرم در ۰/۵ میلی لیتر آب) اضافه گردید. مخلوط حاصل با ورتکس به هم زده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آبگرم با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت سپس مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و شدت جذب در ۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه‌ی مقدار آسکوربات کل با استفاده از آسکوربات منحنی استاندارد رسم گردید و نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری طبق آزمایش فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار صورت گرفت و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶، تحت آنالیز واریانس قرار گرفته و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ مقایسه شدند.

نتایج:

نتایج حاصل از تاثیر تیمارهای گلیسین بتائین و تنش کم آبی بر پارامترهای رشد، مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان گوجه فرنگی در جدول ۱ نشان داده شده است.

تنش خشکی در هر دو سطح موجب کاهش معنی دار سطح برگ سوم و وزن خشک اندام هوایی گردید و با افزایش شدت

جدول ۱- تاثیر تیمارهای گلیسین بتائین و تنش کم آبی بر پارامترهای رشد، مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاهان گوجه فرنگی

گلیسین بتائین (۵۰mM)	گلیسین بتائین (۲۵mM)	خشکی (۵روز)	خشکی (۳روز)	کنترل (شاهد)	
۲۷/۰۰ ± ۰/۲۸ ^b	۲۹/۰۰ ± ۰/۵۷ ^a	۱۶/۳۳ ± ۰/۸۸ ^g	۲۱/۵۰ ± ۰/۲۸ ^e	۲۴/۷۰ ± ۰/۳۵ ^c	سطح برگ سوم (cm ²)
۰/۸۵ ± ۰/۰۱۱ ^b	۰/۹۲ ± ۰/۰۱۵ ^a	۰/۳۷ ± ۰/۰۲۰ ^g	۰/۵۵ ± ۰/۰۱۱ ^e	۰/۶۷ ± ۰/۰۲۹ ^c	وزن خشک اندام هوایی (g)
۸۴/۷۲ ± ۰/۳۹ ^a	۸۴/۸۶ ± ۰/۲۴ ^a	۷۸/۹۳ ± ۰/۲۳ ^d	۸۲/۴۵ ± ۰/۲۲ ^c	۸۴/۶۲ ± ۰/۱۹ ^a	آب بافت (درصد)
۰/۱۰۷ ± ۰/۰۰۸ ^g	۰/۰۹۵ ± ۰/۰۱۸ ^g	۱/۸۵ ± ۰/۰۶۸ ^a	۱/۴۸۰ ± ۰/۰۷۹ ^b	۰/۱۰۹ ± ۰/۰۰۹ ^g	مالون دآلدئید (nanomol/g dw)
۶/۹۸ ± ۱/۰۰ ^e	۸/۱۱ ± ۱/۰۵ ^e	۳۸/۶۳ ± ۱/۷۶ ^a	۱۷/۹۲ ± ۱/۴۰ ^c	۶/۵۸ ± ۰/۹۴ ^e	سایر آلدئیدها (nanomol/g dw)
۳۰/۰۸ ± ۰/۳۳ ^b	۳۳/۵۳ ± ۰/۸۱ ^a	۱۴/۲۶ ± ۰/۴۶ ^h	۱۹/۸۳ ± ۰/۱۷ ^{ef}	۲۳/۸۱ ± ۰/۹۳ ^c	کلروفیل (μgr/gr dw)
۵/۷۹ ± ۰/۰۸ ^b	۶/۵۱ ± ۰/۱۷ ^a	۳/۶۵ ± ۰/۰۵ ^f	۴/۰۸ ± ۰/۰۱ ^e	۴/۶۶ ± ۰/۲۶ ^c	کاروتنوئیدها (μgr/gr dw)
۳۰/۶ ± ۰/۰۱۲/۰ ^{ef}	۳۵/۶ ± ۰/۰۱۳/۰ ^{de}	۹۲/۰ ± ۰/۰۳/۰ ^a	۴۸/۶ ± ۰/۰۰۸/۰ ^b	۲۵/۵ ± ۰/۰۰۵/۰ ^f	پرولین (mg/g.dw)
۸۱/۱۴ ± ۳/۵۱ ^d	۸۳/۹۴ ± ۵/۶۳ ^d	۱۱۱/۰ ± ۲/۰۸ ^c	۱۴۶/۹۰ ± ۱۱/۸۶ ^b	۷۷/۴۹ ± ۳/۶۰ ^d	قندهای احیاکننده (mg/g.dw)
۳۱/۰۴ ± ۱/۸۵ ^a	۳۰/۸۲ ± ۰/۷۰ ^a	۱۷/۴۲ ± ۰/۴۹ ^f	۲۲/۵۴ ± ۰/۶۳ ^{cd}	۳۰/۵۹ ± ۱/۴۳ ^a	پروتئین (mg/g.dw)
۱/۷۲ ± ۰/۰۵ ^c	۲/۰۱ ± ۰/۱۴ ^{abc}	۱/۲۰ ± ۰/۱۰ ^d	۱/۲۹ ± ۰/۱۴ ^d	۱/۸۳ ± ۰/۰۶ ^{bc}	ترکیبات فنلی (mg/g.dw)
۵۴/۳۳ ± ۴/۴۰ ^a	۵۵/۰۰ ± ۱/۵۲ ^a	۳۷/۳۳ ± ۰/۸۸ ^b	۴۱/۳۳ ± ۰/۸۸ ^b	۵۵/۰۰ ± ۲/۸۹ ^a	آنتوسیانین (mg/g.dw)
۱/۱۷ ± ۰/۰۲۶ ^c	۱/۱۸ ± ۰/۰۲۱ ^c	۱/۲۹ ± ۰/۰۱۶ ^b	۱/۳۰ ± ۰/۰۱۵ ^b	۱/۱۷ ± ۰/۰۳۸ ^c	آسکوربات کل (mg/g.dw)

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0/05$ است.داده‌ها نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشند.

ادامه جدول ۱-

خشکی (۳روز) + گلیسین بتائین (۲۵mM)	خشکی (۳روز) + گلیسین بتائین (۵۰mM)	خشکی (۵روز) + گلیسین بتائین (۲۵mM)	خشکی (۵روز) + گلیسین بتائین (۵۰mM)	
۲۴/۵۰ ± ۰/۲۸ ^c	۲۳/۲۰ ± ۰/۱۵ ^d	۲۰/۵۰ ± ۰/۲۸ ^{ef}	۱۹/۴۳ ± ۰/۲۳ ^f	سطح برگ سوم (cm ²)
۰/۶۵ ± ۰/۰۰۸ ^{cd}	۰/۶۱ ± ۰/۰۰۸ ^d	۰/۵۳ ± ۰/۰۰۸ ^{ef}	۰/۴۹ ± ۰/۰۰۸ ^f	وزن خشک اندام هوایی (g)
۸۳/۷۶ ± ۰/۱۴ ^b	۸۳/۶۶ ± ۰/۳۳ ^b	۸۲/۳۳ ± ۰/۲۸ ^c	۸۲/۲۶ ± ۰/۲۷ ^c	آب بافت (درصد)
۰/۵۱۸ ± ۰/۰۳۰ ^f	۰/۸۰ ± ۰/۰۳۶ ^e	۰/۹۶ ± ۰/۰۸۹ ^d	۱/۱۵۶ ± ۰/۰۲۳ ^c	مالون دآلدئید (nanomol/g dw)
۱۲/۶۴ ± ۰/۳۶ ^d	۱۳/۷۵ ± ۰/۱۴ ^d	۱۸/۱۰ ± ۱/۵۱ ^c	۲۵/۱۲ ± ۰/۶۱ ^b	سایر آلدئیدها (nanomol/g dw)
۲۲/۴۰ ± ۰/۲۰ ^{cd}	۲۱/۲۰ ± ۰/۱۵ ^{ed}	۱۹/۰۰ ± ۰/۲۸ ^f	۱۷/۵۰ ± ۰/۲۸ ^g	کلروفیل (μgr/gr dw)
۴/۵۶ ± ۰/۰۹ ^c	۴/۲۵ ± ۰/۰۵ ^d	۴/۰۰ ± ۰/۰۲ ^e	۴/۰۴ ± ۰/۰۵ ^e	کاروتنوئیدها (μgr/gr dw)
۳۹۰ ± ۰/۰۰۳۰/۰ ^d	۴۱۰ ± ۰/۰۰۲۹/۰ ^{cd}	۴۵۷ ± ۰/۰۰۱۱/۰ ^{bc}	۳۹۳ ± ۰/۰۰۰۸/۰ ^d	پرولین (mg/g.dw)
۱۹۱/۹۶ ± ۵/۸۹ ^a	۱۹۱/۰۰ ± ۸/۳۸ ^a	۱۸۷/۳۳ ± ۴/۶۲ ^a	۱۸۷/۰۰ ± ۶/۴۲ ^a	قندهای احیاکننده (mg/g.dw)
۲۶/۴۵ ± ۰/۶۷ ^b	۲۴/۴۸ ± ۱/۷ ^{bc}	۲۰/۶۴ ± ۰/۰۷ ^{de}	۱۹/۶۳ ± ۰/۰۷ ^{ef}	پروتئین (mg/g.dw)
۲/۱۲ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۲/۳۰ ± ۰/۱۳ ^a	۲/۲۰ ± ۰/۰۷ ^a	۲/۳۰ ± ۰/۰۷ ^a	ترکیبات فنلی (mg/g.dw)
۴۸/۳۳ ± ۲/۴۰ ^a	۴۹/۶۶ ± ۱/۷۶ ^a	۴۹/۳۳ ± ۰/۸۸ ^a	۵۰/۳۳ ± ۲/۶۰ ^a	آنتوسیانین (mg/g.dw)
۱/۵۱ ± ۰/۰۱۵ ^a	۱/۵۰ ± ۰/۰۱۲ ^a	۱/۴۸ ± ۰/۰۰۹ ^a	۱/۵۱ ± ۰/۰۱۹ ^a	آسکوربات کل (mg/g.dw)

حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0/05$ است.داده‌ها نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار می‌باشند.

و تیمارهای گلیسین بتائین موجب افزایش مقدار آسکوربات کل در شرایط تنش شد.

بحث:

در این مطالعه تنش کم آبی موجب القای تنش اکسیداتیو، افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید و افزایش مقدار مالون دآلدئید و سایر آلدئیدها در گیاهان گوجه فرنگی گردید. اما کاربرد گلیسین بتائین موجب افزایش مقدار بعضی از ترکیبات آنتی اکسیدان نظیر ترکیبات فنلی، آنتوسیانین ها، کاروتنوئیدها و آسکوربیک اسید و در نتیجه کاهش تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید گردید. افزایش تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید یکی از اثرات مهم تنش های محیطی نظیر تنش خشکی می باشد (Gill and Tuteja, 2010). مشابه با نتایج این مطالعه در گیاهان توتون تحت تنش شوری نیز کاربرد گلیسین بتائین موجب افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید گردید (Nasrin Akhter Banu et al., 2009). در گیاهان ذرت تحت تنش خشکی نیز کاربرد گلیسین بتائین با افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، موجب کاهش تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدها گردید (Lixin et al., 2011; Ali and Ashraf, 2011). در گیاهان سورگوم تحت تنش شوری نیز کاربرد گلیسین بتائین آسیب وارد شده به غشاهای سلولی، کلروپلاست و میتوکندری را در سلول های مزوفیل برگ کاهش داد و از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری نمود (Arafa et al., 2007).

در این بررسی تنش آبی منجر به کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان گوجه فرنگی گردید که می تواند به دلیل تاثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم های بیوسنتز کننده کلروفیل و افزایش سرعت تجزیه این رنگیزه ها و یا آسیب به غشای تیلاکوئیدی در کلروپلاست باشد. علاوه بر این که افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش خشکی نیز یکی از دلایل کاهش کلروفیل ذکر شده است. زیرا هم پرولین و هم کلروفیل از پیش ساز مشترکی به نام گلوتامیک اسید به وجود می آیند. بنابراین،

اثر در غلظت ۲۵ میلی مولار گلیسین بتائین مشهودتر بود. در شرایط تنش خشکی ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین در هر دو غلظت نیز باعث افزایش معنی دار میزان کاروتنوئیدها گردید اما تفاوت معنی داری بین دو غلظت گلیسین بتائین مشاهده نشد.

غلظت پرولین در هر دو سطح تنش خشکی افزایش یافت و با افزایش شدت تنش این افزایش چشمگیرتر بود. در شرایط غیرتنش کاربرد گلیسین بتائین (۲۵ میلی مولار) موجب افزایش مقدار پرولین شد ولی در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث کاهش معنی دار میزان پرولین گردید.

مقدار فندهای احیاکننده در تنش خشکی در هر دو سطح افزایش نشان داد که این افزایش در تنش خشکی ۳ روز چشمگیرتر بود. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش معنی دار نبود. در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی دار غلظت فندهای احیا کننده گردید و تفاوت معنی داری میان دو غلظت گلیسین بتائین مشاهده نشد.

تنش خشکی در هر دو سطح موجب کاهش معنی دار غلظت پروتئین گردید و با افزایش شدت تنش این کاهش چشمگیرتر بود. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش معنی دار نبود. در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین ۲۵ میلی مولار باعث افزایش معنی دار میزان پروتئین گردید اما در غلظت ۵۰ میلی مولار تغییر معنی داری در مقدار پروتئین مشاهده نشد.

تنش خشکی در هر دو سطح موجب کاهش معنی دار غلظت ترکیبات فنلی گردید. کاربرد گلیسین بتائین در شرایط غیرتنش تاثیر معنی داری بر مقدار ترکیبات فنلی نداشت. در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی دار مقدار ترکیبات فنلی گردید و بین دو غلظت استفاده شده تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

غلظت آنتوسیانین در تنش خشکی کاهش معنی دار پیدا کرد. در شرایط تنش خشکی ۳ و ۵ روز کاربرد گلیسین بتائین باعث افزایش معنی دار مقدار آنتوسیانین گردید و بین هر دو غلظت استفاده شده تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

مقدار آسکوربات کل در تیمار تنش خشکی افزایش یافت

کلروپلاستی و سایر غشاهای سلولی در شرایط تنش و همچنین افزایش سطح برگ و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌تواند از دلایل افزایش مقدار قندها باشد. علاوه بر این که خود تجمع قندها نیز، به دلیل دخالت آن‌ها در تنظیم اسمزی و همچنین سایر نقش‌های حفاظتی آن‌ها روی اجزای سلولی می‌تواند به افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش و بهبود رشد کمک نماید (Hassanein et al., 2009).

در این مطالعه کاربرد گلیسین‌بتائین برون‌زا موجب جلوگیری از افزایش بیشتر پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی گردید ولی مقدار پرولین را در گیاهان در شرایط غیرتنش افزایش داد. مشابه با نتیجه این تحقیق گزارش شده است که، گلیسین‌بتائین برون‌زا مانع تجمع پرولین در گیاهان کلزای تحت تنش اسمزی شد (Larher et al., 1996). کاربرد گلیسین‌بتائین در گیاهان برنج تحت تنش شوری نیز موجب افزایش پرولین در یکی از ارقام برنج و کاهش پرولین در رقم دیگر برنج شد (Demiral and Turkan, 2006).

گزارش‌های مختلف حاکی این مطلب است که گلیسین‌بتائین محلول‌پاشی شده روی برگ یا اندام هوایی گیاه، قابلیت انتقال به قسمت‌های مختلف گیاه را دارا می‌باشد و این مطلب هم در مورد گیاهان تجمع‌دهنده و بیوستتر کننده گلیسین‌بتائین و هم در مورد گیاهان غیرتجمع‌دهنده و فاقد توانایی بیوستتر گلیسین‌بتائین صادق است (Lixin et al., 2009; Hassanien et al., 2009). از آن جایی‌که، گلیسین‌بتائین برون‌زا می‌تواند به راحتی به داخل برگ‌ها نفوذ نماید و به سایر اندام‌های گیاه منتقل شود و موجب افزایش همبستگی غشاها و افزایش مقاومت در برابر تنش‌های مختلف شود (Lixin et al., 2009). بنابراین هر چند که در این مطالعه مقدار گلیسین‌بتائین در بافت‌های گیاهی اندازه‌گیری نشد، با توجه به مطالب ذکر شده در بالا به نظر می‌رسد که یکی از دلایل احتمالی عدم افزایش بیشتر مقدار پرولین در تیمار توام تنش خشکی و گلیسین‌بتائین، نقش حفاظتی خود گلیسین‌بتائین و کمک این ماده به تنظیم اسمزی در بافت‌های گیاه گوجه فرنگی باشد بنابراین نیاز به افزایش

این احتمال وجود دارد که در شرایط تنش، مسیر بیوستتری گلوتامیک اسید-پرولین نسبت به مسیر بیوستتری گلوتامیک اسید-کلروفیل فعال‌تر گردد (Hassanein et al., 2009). در این تحقیق کاربرد گلیسین‌بتائین موجب افزایش مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها در شرایط تنش و غیرتنش گردید. در گیاهان ذرت تحت تنش شوری نیز کاربرد گلیسین‌بتائین موجب افزایش مقدار کلروفیل a, b و کلروفیل کل و کاروتنوئیدها گردید (Hassanein et al., 2009). گلیسین‌بتائین می‌تواند بیوستتر کلروفیل و کاروتنوئیدها را افزایش دهد و یا از تجزیه آن‌ها جلوگیری نموده و یا سرعت تجزیه آن‌ها را کندتر نماید. علاوه بر این که گلیسین‌بتائین می‌تواند کلروپلاست و غشاها را از اثرات منفی تنش خشکی و تنش اکسیداتیو ناشی از آن محافظت نماید و همبستگی غشاها را حفظ نماید (Hassanein et al., 2009).

تجمع اسمولیت‌های کلیدی مانند پرولین، گلیسین‌بتائین، قندهای محلول و یون‌هایی مانند پتاسیم در تنش خشکی می‌تواند منجر به تنظیم اسمزی شود. تجمع اسمولیت‌ها در تنش خشکی می‌تواند علاوه بر کاهش پتانسیل اسمزی سلول و کمک به جذب آب در سلول، می‌تواند ساختار غشاها یا ماکروملکول‌های زیستی را پایدار نماید. در این مطالعه نیز مقدار پرولین و قندهای احیاکننده در گیاهان تحت تنش خشکی افزایش یافت. همان‌گونه که ذکر گردید، افزایش مقدار اسمولیت‌ها در شرایط تنش خشکی یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت در برابر تنش خشکی می‌باشد (Szabados and Savoure, 2009).

در این مطالعه کاربرد گلیسین‌بتائین برون‌زا موجب افزایش مقدار قندها در گیاهان تحت تنش خشکی گردید. مشابه با نتایج این مطالعه، گلیسین‌بتائین در گیاهان نیشکر تحت تنش گرما (Rasheed et al., 2011)، گیاهان ذرت تحت تنش خشکی (Ali and Ashraf, 2011) و شوری (Hassanein et al., 2009) و گیاهان کلزای تحت تنش شوری (Khattab and Afifi, 2009) نیز موجب افزایش مقدار قندها گردید. تاثیر گلیسین‌بتائین در افزایش همبستگی غشاهای

بیشتر پرولین را کم می‌کند.

در این مطالعه در گیاهان گوجه فرنگی مقدار پروتئین‌ها در پاسخ به تنش خشکی کاهش یافت که نشان می‌دهد تنش خشکی یا تجزیه پروتئین‌ها را تسریع می‌کند که نتیجه آن می‌تواند تجمع اسید آمینه‌هایی نظیر پرولین باشد، و یا آن که تنش خشکی از بیوسنتز پروتئین‌ها جلوگیری می‌نماید. در این مطالعه کاربرد گلیسین بتائین برونزا موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش خشکی گردید. کاربرد گلیسین بتائین برونزا در گیاهان برنج تحت تنش شوری نیز موجب افزایش مقدار پروتئین گردید (Demiral and Turkan, 2006). در گیاهان ذرت تحت تنش شوری نیز کاربرد گلیسین بتائین موجب افزایش مقدار پروتئین گردید (Hassanein et al., 2009). کاربرد گلیسین بتائین در گیاهان ذرت نیز موجب افزایش مقدار پروتئین در شرایط تنش کم آبی و در شرایط غیرتنش گردید (Ali and Ashraf, 2011). گلیسین بتائین می‌تواند در پایدار سازی ساختمان پیچ خورده پروتئین‌ها نقش داشته باشد و می‌تواند با بر هم کنش مستقیم با فسفاتیدیل کولین خصوصیات ترمودینامیک غشاها را تغییر دهد و پروتئین‌ها را علیه نتایج نامطلوب دهیدراته شدن محافظت می‌نماید. علاوه بر این که گلیسین بتائین می‌تواند موجب تغییر در الگوی بیان ژن‌ها شود و الگوی پروتئینی را در گیاه تغییر دهد که نتیجه آن افزایش مقاومت در برابر تنش‌ها می‌باشد (Hassanein et al., 2009).

در این مطالعه پارامترهای رشد در گیاهان تحت تنش کم آبی کاهش یافت و با افزایش شدت تنش این کاهش شدیدتر گردید. اثرات مهاری و بازدارنده ی تنش آب بر پارامترهای رشد می‌تواند به دلایل مختلفی نظیر تاثیر تنش آب بر پتانسیل اسمزی سلول‌ها، تاثیر بر بیوسنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، تاثیر بر تعادل هورمونی، جذب یونی و تغذیه معدنی تاثیر بر فتوسنتز، و برهم خوردن ساختمان و نقش غشای پلاسمایی و سایر غشاهای سلولی باشد (Hassanein et al., 2009).

کاربرد گلیسین بتائین در این بررسی موجب افزایش سطح برگ و بهبود پارامترهای رشد و افزایش RWC در گیاهان گوجه فرنگی گردید. مشابه با نتایج این بررسی در گیاهان

ذرت تحت تنش خشکی کاربرد گلیسین بتائین موجب افزایش RWC و وزن خشک گردید (Lixin et al., 2011). کاربرد گلیسین بتائین برونزا در گیاهان برنج موجب بهبود پارامترهای رشد و به تعویق انداختن پیری در شرایط تنش شوری گردید (Demiral and Turkan, 2006). گزارش دیگری نیز از کاربرد گلیسین بتائین برونزا در گیاهان برنج تحت تنش شوری وجود دارد که نشان‌دهنده این مطلب است که گلیسین بتائین رشد اندام هوایی گیاهان را در شرایط تنش شوری بهبود بخشیده اما در بهبود رشد ریشه گیاهان تاثیری نداشته است (Rahman et al., 2002). در گیاهان توتون نیز کاربرد گلیسین بتائین برونزا موجب افزایش وزن تر و خشک برگ در شرایط تنش و غیرتنش شده است (Agboma et al., 1997). در گیاهان ذرت تحت تنش خشکی کاربرد گلیسین بتائین موجب بهبود وزن خشک و میزان محصول شد (Lixin et al., 2009). اما گزارشی عکس موارد ذکر شده در بالا نیز وجود دارد، که در گیاهان پنبه کاربرد گلیسین بتائین برونزا در شرایط تنش خشکی برهیچ کدام از فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه تاثیری نداشت و بر بهبود رشد و تولید محصول نیز اثری نگذاشت (Meek et al., 2003).

القای افزایش سطح برگ توسط گلیسین بتائین که می‌تواند فعالیت فتوسنتزی و در نتیجه تولید کربوهیدرات‌ها و تولید بیومس و افزایش رشد را به همراه داشته باشد، می‌تواند به دلیل توانایی فیزیولوژیکی گلیسین بتائین در ممانعت از دهیدراته شدن سلول در طی تنش خشکی و حفظ فشار تورگور و حفظ فعالیت فتوسنتزی گیاه در شرایط پتانسیل آبی پایین باشد (Hassanein et al., 2009). علاوه بر این که گلیسین بتائین می‌تواند فعالیت پروتئین‌ها و ناقل‌های غشایی و کانال‌ها را تنظیم نماید بنابراین با تاثیر بر جذب یون‌ها می‌تواند وضعیت تغذیه‌ای گیاه و تنظیم اسمزی را تحت تاثیر قرار دهد (Hassanein et al., 2009). گلیسین بتائین می‌تواند فعالیت ATPaseها را در سلول تغییر دهد و در جذب یون‌هایی مانند پتاسیم و کلسیم دخالت کند (Lixin et al., 2009, Zhao et al., 2007). علاوه بر آن گزارش‌های متعددی نشان‌دهنده نقش گلیسین بتائین بر بهبود پارامترهای فتوسنتزی در شرایط تنش و

برونزا به صورت محلول پاشی در گیاهان گوجه فرنگی با تاثیر بر میزان اسمولیت‌هایی نظیر پرولین و قندها، برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدان نظیر ترکیبات فنلی، آنتوسیانین و آسکوربیک اسید موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، حفاظت از رنگیزه‌های فتوسنتزی، بهبود محتوای نسبی آب در گیاه و در نتیجه بهبود پارامترهای رشد در شرایط تنش و غیرتنش گردید. این نتایج، نشان‌دهنده قابلیت استفاده از گلیسین‌بتائین برونزا در گیاهان گوجه فرنگی (که خود به طور طبیعی فاقد توانایی بیوسنتز این ماده می‌باشد) برای کاهش اثرات تنش خشکی می‌باشد.

غیرتنش می‌باشد که می‌تواند یکی از دلایل بهبود پارامترهای رشد باشد. نقش گلیسین‌بتائین بر تغییر تعادل هورمونی در گیاهان نیز می‌تواند یکی دیگر از دلایل افزایش پارامترهای رشد باشد که در گزارش‌های مختلف به آن اشاره شده است (Hassanein *et al.*, 2009, Makela *et al.*, 1999, Mahouachi *et al.*, 2012, Ashraf *et al.*, 2008, Ma *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی:

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که کاربرد گلیسین‌بتائین

منابع:

- Agboma, P. C., Peltonen-sainio, P., Hinkkanen, R. and Pehu, E. (1997) Effect of foliar application of glycinebetaine on yield components of drought-stressed tobacco plants. *Experimental Agriculture* 33: 345-352.
- Ali, Q. and Ashraf, M. (2011) Exogenously applied glycinebetaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* 71: 249-259.
- Arafa, A. A., Khafagy, M. A. and El-banna, M. F. (2007) The effect of glycinebetaine or ascorbic acid on the salt-stress induced damages in sorghum plant cells. *International Journal of Botany* 3:251-259.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007) Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany* 59: 206-216.
- Ashraf, M., Nawaz, K., Athar, H. R. and Raza, S. H. (2008) Growth enhancement in two potential cereal crops, maize and wheat, by exogenous application of glycinebetaine. *Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance: Section I*: 21-35.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 29: 205-207.
- Chen, T. H. H. and Murata, N. (2002) Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 250-257.
- Chen, T. H. H. and Murata, N. (2008) Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. *Trends in Plant Science* 13: 499-505.
- Chen, T. H. H. and Muraty, N. (2011) Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell and Environment* 34: 1-20.
- De Pinto, M. C., Francis, D. and Gara, L. (1999) The redox state of ascorbate-dehydroascorbate pairs a specific sensor of cell division in tobacco By-Z cells. *Protoplasma* 209: 90-97.
- Demiral, T. and Turkan, I. (2006) Exogenous glycinebetaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. *Environmental and Experimental Botany* 56: 72-79.
- Gao, W.J. (2000) *The experimental technology of plant physiology*. World Book Press, Xian, pp: 89-258.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Hassanein, R. A., Hassanein A. A., Haider, A. S. and Hashem, H. A. (2009) Improving salt tolerance of *Zea mays* L. plants by presoaking their grains in glycine betaine. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3: 928-942.
- He, C., Zhang, W., Gao, Q., Yang, A., Hu, X. and Zhang, J. (2011) Enhancement of drought resistance and biomass by increasing the amount of glycine betaine in wheat seedlings. *Euphytica* 177: 151-167.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1969) Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemisry and Biophysics* 125: 189-198.
- Huang, J., Hirji, R., Adam, L., Rozwadowski, K. L., Hammerlindl, J. K., Keller, W. A. and Selvaraj, G. (2000) Genetic engineering of glycinebetaine production toward enhancing stress tolerance in plants: metabolic limitations. *Plant Physiology* 122: 747-756.
- Khatab, E. A. and Afifi, M. H. (2009) effect of proline and glycinebetain on canola plants grown under salinity stress condition. *Modern Journal of Applied Biological Science Crop Science* 3: 42-51.
- Larher, F., Rotival-Garnier, N., Lemesle, P., Plasman, M. and Bouchereau, A. (1996) The glycine betaine inhibitory effect on the osmoinduced proline response of rape leaf discs. *Plant Science* 113:21-31.

- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Lixin, Z., Gao, M., Li, S., Li, S. and Liang, Z. (2011) Modulation of plant growth, water status and antioxidant system of two maize (*Zea mays* L.) cultivars induced by exogenous glycinebetaine under long term mild drought stress. *Pakistan Journal of Botany* 43: 1587-1594.
- Lixin, Z., Shenxiu, L. and Zongsuo, L. (2009) Differential plant growth and osmotic effects of two maize (*Zea mays* L.) cultivars to exogenous glycinebetaine application under drought stress. *Plant Growth Regulation* 58: 297-305.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with folin-phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry* 193: 265-275.
- Ma, Q. Q., Wang, W., Li, Y. H., Li, D. Q. and Zou, Q. (2006) Alleviation of photoinhibition in drought-stressed wheat (*Triticum aestivum*) by foliar-applied glycinebetaine. *Journal of Plant Physiology* 163: 165-175.
- Mahouachi, J., Argamasilla, R. and Gomez-Cadenas, A. (2012) Influence of exogenous glycine betaine and abscisic acid on papaya in response to water-deficit stress. *Journal Plant Growth Regulation* 31: 1-10.
- Makela, P., Kontturi, M., Pehu, E. and Somersalo, S. (1999) Photosynthetic response of drought and salt stressed tomato and turnip rape plants to foliar applied glycinebetaine. *Physiologia Plantarum* 105: 45-50.
- Meek, C., Oosterhuis, D. and Gorham, J. (2003) Does foliar-applied glycinebetaine affect endogenous betaine levels and yield in cotton. *Crop Management* DOI: 10.1094/CM-2003-0804-02-RS.
- Meirs, S., Philosopghadas, S., Aharoni, N. (1992) Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid peroxidation products detected during senescence of parsley by a newly developed method. *Journal of American Society for Horticultural Science* 117:128-132.
- Nasrin Akhter Banu, M. S. T., Hoque, M. D. A., Watanabe-sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata Y., (2009) Proline and glycinebetaine induce antioxidant defence gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology* 166: 146-156.
- Rahman, M. S., Miyake, H. and Takeoka, Y. (2002) Effects of exogenous glycinebetaine on growth and ultrastructure of salt-stressed rice seedlings (*Oryza sativa* L.). *Plant Production Science* 5: 33-44.
- Rasheed, R., Wahid, A., Farooq, M., Hussain, I. and Basra, S. M. A. (2011) Role of proline and glycinebetaine pretreatment in improving heat tolerance of sprouting sugarcane (*Saccharum* SP.) buds. *Plant Growth Regulation* 65: 35-45.
- Sakamoto, A. and Murata, N. (2000) Genetic engineering of glycinebetaine synthesis in plants: current status and implications for enhancement of stress tolerance. *Journal of Experimental Botany* 51: 81-88.
- Shah, F. S., Watson, C. E. and Cabera, E. R., (2002). Seed vigor testing of subtropical corn hybrids. *Research Report*. 23: 56-68.
- Somogy, M. (1952) Notes on sugar determination. *Journal of Biology Chemistry* 195: 19-29
- Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science* 15: 89-97.
- Taiz, L. and Zeiger, E. (2005). *Plant Physiology*, 4th Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts.
- Wanger, G. J. (1979) Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology* 64: 88-93
- Zhao, X. X., Ma, Q. Q., Fang, L. Y., Wang, Y. Q. and Wang, W. (2007) Effect of glycinebetaine on function of thylakoid membranes in wheat flag leaves under drought stress. *Biologia Plantarum* 51: 584-588.

The interaction of exogenous glycine betaine and water deficit on some physiologic characteristic of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants

Mahdieh Taghdisi Sayyar¹, Shekoofeh Enteshari², Fatemeh Daneshmand^{*2}

¹ Department of Biology (Plant Physiology), Payame Noor University of Isfahan

² Department of Biology, Payame Noor University, 19395-4697- Tehran, I. R. Iran.

(Received: 14 July 2014, Accepted: 24 May 2015)

Abstract:

In many plants, glycine betaine acts as an osmotic protectant and osmolyte. But some plants, such as tomato, are not able to synthesize and accumulate this osmolyte. This study was designed to investigate the effect of exogenous application of glycine betaine in reducing drought stress in tomato plants. Water stress in three levels (0, 3 days and 5 days without irrigation) and glycine betaine in three levels (0, 25 and 50 mM as foliar spraying) were applied. Water stress in the both levels reduced the third leaf area, shoot dry weight, percent water content of the third leaf, the amount of chlorophyll, carotenoids, proteins, phenolic compounds and anthocyanins but increased lipid peroxidation, proline, reducing sugars and total ascorbate. However, application of glycine betaine in two levels, decreased lipid peroxidation, proline content and increased the amount of chlorophyll, carotenoids, reducing sugars, proteins, phenolic compounds, anthocyanins and total ascorbate and thus, increased the third leaf area, shoot dry weight and percentage of third leaf water. The results of this study showed that, exogenous application of two levels of glycine betaine in tomato plants, unable to synthesize this substance, was effective in reducing the effects of drought stress and improved growth parameters under stress and non-stress conditions.

Key words: Lipid peroxidation, Osmotic adjustment, Drought stress, Glycine betaine, Tomato

*corresponding author, Email: f.daneshmand@yahoo.com