

تأثیر کاربرد پرولین و گلاسیسین بتائین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی انگور تحت شرایط تنش خشکی

مهدی محمدزمانی^{۱*}، ولی ربیعی^۲ و محمدعلی نجاتیان^۳
۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، ۳، استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی قزوین
(تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۱۸ - تاریخ تصویب: ۹۱/۳/۲۱)

چکیده

خشکی به عنوان یک تنش غیر زنده در اکثر مراحل رشد گیاه آثار مخرب و زیان آوری دارد. گیاهان برای مقابله با خشکی واکنش‌های مختلفی از خود نشان می‌دهند. از جمله این واکنش‌ها تولید اسمولیت‌هایی مثل پرولین و گلاسیسین بتائین است که به نظر می‌رسد بتوان با اضافه کردن مصنوعی این ترکیبات در گیاهان تحمل آن‌ها را به شرایط خشکی افزایش داد. بدین منظور آزمایشی بصورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار بر روی چهار رقم انگور خوشناو، پیکانی، پرلت و فلیم سیدلس اجرا گردید. بوته‌های انگور تحت تنش خشکی با ۷۰ درصد از آب مورد نیاز آبیاری شدند. تیمارهای شاهد (صفر)، پرولین (۱۰mM) و گلاسیسین بتائین (۱۵mM) در چهار مرحله (پیش از گلدهی، گلدهی، غوره-شدن و رنگ گرفتن خوشه‌های انگور) بر روی بوته‌ها محلول‌پاشی شدند. نتایج نشان داد که تأثیر پرولین و گلاسیسین بتائین بر روی محتوی نسبی آب برگ (RWC)، دمای کانوپی، محتوی کلروفیل برگ، سطح برگ و میزان قندهای محلول (در سطح یک درصد) در هر چهار رقم معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات محلول و سطح برگ مربوط به تیمار گلاسیسین بتائین و کمترین مقدار دمای کانوپی مربوط به شاهد بود. همچنین آنالیز همبستگی صفات نشان داد که بین محتوی نسبی آب برگ با دمای کانوپی همبستگی منفی و با کربوهیدرات‌های محلول و کلروفیل برگ همبستگی مثبت وجود دارد. در نهایت مشخص شد که گلاسیسین بتائین در افزایش تحمل به خشکی بوته‌های انگور از پرولین موثرتر بود.

واژه‌های کلیدی: کربوهیدرات محلول، دمای کانوپی، کلروفیل

مقدمه

باید برای مقابله با آن راهکارهایی ارائه گردد. توانایی گیاهان برای سازش به تنش‌های محیطی به نوع، شدت تنش، مدت تنش، گونه گیاهی و مرحله رشد گیاه بستگی دارد (Yordanov & Tsoev, 2000). در مقیاس سلولی گیاه آثار مضر تنش را به کمک مواد تنظیم کننده فشار اسمزی که بیشتر شامل اسیدهای آمینه،

خشکی یکی از تنش‌های محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه آثار مخرب و زیان آوری وارد می‌سازد (Nilsen & orcutt, 1996). با توجه به خشکسالی‌های چند سال اخیر به احتمال زیاد در آینده‌ای نزدیک با مشکلات جدی در این زمینه روبرو خواهیم بود. بنابراین

می‌دهد (Gadallah, 1999; Cha et al., 2006). کاربرد گلاسیسین بتائین در سورگوم منجر به کاهش اثرات مضر تنش اسمزی در سلول‌های مزوفیلی می‌شود. نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که صدمات تنش اسمزی ناشی از شوری NaCl را می‌توان با کاربرد گلاسیسین بتائین کم کرد که این موضوع بسته به غلظت و زمان مصرف این ماده دارد (Arafa et al., 2009). بنظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین و نیز تجمع آمینواسیدهای آزاد از جمله پرولین مرتبط می‌باشد (Hanson & Hits, 1982). در مطالعه در برگ انگور در شرایط تنش مشاهده شد کاهش فتوسنتز هم ناشی از کاهش جذب دی اکسید کربن و هم بخاطر کاهش فعالیت آنزیم‌ها بوده است (Chaves et al., 2002) تنش خشکی ضمن کاهش سطح برگ، پیری آن‌ها را هم تسریع نموده و بدین وسیله می‌تواند میزان تولید را، خیلی بیشتر از آنچه به علت اثرات ناشی از کاهش شدت فتوسنتز خالص تقلیل می‌یابد، کاهش دهد. برای مثال، تنش خشکی به میزانی که شدت جذب خالص را فقط ۵۰٪ کاهش دهد، کافی است که رشد برگ‌ها را کاملا متوقف کند. این موضوع نمایانگر آن است که سطح برگ‌ها بیشتر از شدت جذب خالص تحت تاثیر تنش کمبود آب قرار می‌گیرد (Taiz & Zeiger, 2006). همچنین ثابت شده است که فتوسنتز در مقایسه با توسعه سطح برگ حساسیت کمتری به پتانسیل فشاری آب دارد، به همین دلیل واکنش میزان فتوسنتز برگ در پاسخ به تنش متوسط آب به ندرت مشابه واکنش توسعه برگ به تنش است (Taiz & Zeiger, 2006). بنابراین هدف از این پژوهش ارزیابی میزان عکس‌العمل بوته‌های انگور به محلول پاشی پرولین و گلاسیسین بتائین در شرایط تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در کلکسیون درجه یک انگور تاکستان واقع در استان قزوین اجرا گردید. برای این کار از چهار رقم انگور شامل دو رقم ایرانی خوشناو کردستان و پیکانی کاشمر و دو رقم خارجی پرلت (Perlette) و فلیم‌سیدلس (Flame Seedless) استفاده

قندها و برخی یون‌های معدنی، هورمون‌ها و پروتئین‌ها می‌باشد، در سلول‌های خود کاهش می‌دهد (Ingram & Bartles, 1996). از جمله ترکیبات آلی که در گیاه برای مقابله با تنش افزایش می‌یابد پرولین و گلاسیسین بتائین می‌باشد (Zhang et al., 1999). تنش‌های محیطی شامل کمبود آب، شوری و دمای پایین باعث تجمع گلاسیسین بتائین در گروه‌هایی از گیاهان می‌شود (Jones et al., 1981). در شرایط تنش، گلاسیسین بتائین می‌تواند از فعالیت‌های فتوسنتزی شامل آنزیم‌های فتوسنتزی (Incharoensakadi et al., 1986)، پروتئین‌ها و لیپیدها در غشاءهای تیلاکوئیدی (Williams & Brain, 1992) و جریان الکترونی در ترکیب فتوسیستم دو محافظت کند (Papageorgiou et al., 1991). علاوه بر این نشان داده شده است که گلاسیسین بتائین وظیفه حفاظت از پروتئین‌ها و غشاءهای سلولی در مقابل دماهای بالا و تنش‌های اسمزی درون گیاه را بر عهده دارد (Robinson & Jones, 1986; Jolivet et al., 1981; Laurie & Stewart, 1990). پرولین نیز یکی از اسیدآمین‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی می‌باشد که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارد (Barker et al., 1993). معمولا میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و در حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشد، اما مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۴۰-۵۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد (Heuer, 1994). در برخی از گیاهان در مراحل اولیه تنش کم آبی چندین اسید آمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم آبی فقط اسیدآمین پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود (Heuer, 1994). اگرچه پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد (Heuer, 1994). کاربرد گلاسیسین بتائین در گونه‌هایی که این ترکیب را کم و یا اصلا تولید نمی‌کنند در کاهش اثرات مضر تنش‌های محیطی کمک می‌کند (Makela et al., 1998; Yang & Lu, 2005). طبق تحقیقات انجام شده محلول‌پاشی گلاسیسین بتائین در برنج با تثبیت رنگدانه‌ها که منجر به بهتر شدن میزان فتوسنتز و پارامترهای رشدی می‌شود، تحمل گیاه را در برابر تنش شوری افزایش

دستگاه SPAD 502 (Konica-Minolta, Japan) و برای دمای کانوبی از دماسنج تفنگی لیزری Minitemp-Laser Radiation (Raytek, China) جهت برآورد میزان قندهای محلول از روش فنل-اسیدسولفوریک استفاده شد (Khochert, 1978). ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ را به ۱۰ میلی‌گرم از نمونه برگ‌های خشک‌شده اضافه کرده و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانترفیوژ کرده و عصاره رویی هر لوله به بالن ژوژه منتقل شد. این عمل عصاره گیری با الکل ۸۰ درصد سه بار تکرار شده و عصاره رویی هر سه مرحله یکجا جمع گردید. عصاره حاصله را درون آون با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد قرار داده و ۴ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ به ترکیب اضافه گردید.

۳۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ میلی‌لیتر سولفات روی و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسیدباریم ۲٪ اضافه شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و ۱ میلی‌لیتر فنول ۵٪ و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک اضافه کرده و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت گردیدند. محتوی نسبی آب برگ‌ها (RWC: Relative Water Content) با استفاده از روش (Kirnak et al., 2001) اندازه‌گیری شد. ابتدا برگ‌های تازه با دستمال تمیز و توزین گردید. سپس برگ‌ها را به مدت ۴۸ ساعت درون آب مقطر غوطه‌ور کرده مجدداً وزن کرده و در نهایت برگ‌ها را به مدت ۲۴ ساعت درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده و دوباره وزن گردید. جهت محاسبه محتوی نسبی آب برگ از رابطه زیر استفاده شد:

$$RWC = \frac{(WF - WD)}{(WT - WD)} \times 100$$

WF: وزن تر برگ

WT: وزن آماس برگ

WD: وزن خشک برگ

برای بررسی اثرات تیمارها به دلیل استفاده از چهار رقم ابتدا درصد تغییرات داده‌ها در تیمارهای پرولین و گلاسیسین بتائین نسبت به شاهد محاسبه و سپس تجزیه واریانس داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. لازم به ذکر این نکته است که محاسبات آماری با درصد تغییرات انجام گرفت اما

شد، این ارقام چهار ساله و بصورت کوردون دوطرفه دوطبقه تربیت شده بودند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجراء گردید. جهت اعمال تنش خشکی مقدار نیاز آبی انگور از کتاب "برآورد آب مورد نیاز گیاهان عمده زراعی و باغی کشور- جلد دوم" با توجه به منطقه مورد آزمایش استخراج و به میزان ۷۰ درصد از آن به کمک کنتور به گیاه داده شد (Kafi et al., 2010). برآورد نیاز آبی در این کتاب بر اساس معادله تغییر یافته پنمن مانیتیت محاسبه شده است. با توجه به اینکه ارقام مورد استفاده چهار ساله بودند، براساس توصیه همین کتاب میزان آب آبیاری محاسبه شده ضریب ۰/۷ یافت. مقدار آب آبیاری خالص مورد نیاز برای انگور در محل تاکستان در روش آبیاری قطره‌ای برای مدت ۲۴۰ روز بر اساس کتاب فوق ۴۸۵۰ متر مکعب در هکتار محاسبه شده است. با توجه به ضریب ۰/۷ ذکر شده برای سن بوته‌ها $(۳۳۹۵ = ۴۸۵۰ \times ۰/۷)$ و با عنایت به میزان تنش ۷۰ درصد مورد نظر ما، باید حدود $(۲۳۷۶/۵ = ۳۳۹۵ \times ۰/۷)$ متر مکعب در طی ۲۴۰ روز برای یک هکتار استفاده می‌گردید. به ازاء هر بوته دو قطره‌چکان وجود داشت که دبی خروجی هر قطره‌چکان در یک ساعت ۸ لیتر برآورد شد (دو قطره چکان=۱۶ لیتر در هر ساعت برای هر بوته).

با توجه به تراکم کاشت (۲×۳)، اگر آبیاری بوته‌ها با فواصل ۷ روز یکبار و هر مرتبه ۲/۵ ساعت در نظر گرفته شود مقدار تنش مورد نیاز ذکر شده در بالا اعمال می‌گردد. تیمارهای پرولین (۱۰mM) و گلاسیسین بتائین (۱۵mM) در چهار مرحله (پیش از گلدهی، گلدهی، مرحله غوره و شروع رنگ گرفتن حبه‌ها) به صورت محلول پاشی بر روی بوته‌ها اعمال شدند. دلیل انتخاب این مراحل حساسیت بسیار زیاد انگور به کم آبی در این مراحل است. برای اندازه‌گیری سطح برگ، میزان کلروفیل و دمای کانوبی در دو مرحله غوره و شروع رنگ گرفتن خوشه‌ها از هر بوته بطور تصادف سه برگ مورد آزمایش و میانگین این اعداد به عنوان معیار در تجزیه‌های آماری مورد استفاده قرار گرفت. به منظور اندازه‌گیری سطح برگ از دستگاه Leaf Area Meter, VM-900 (E/K, USA) برای اندازه‌گیری کلروفیل از

مقادیر عددی ذکر شده در جداول تجزیه واریانس اعداد اصلی می‌باشند.

۱۹/۰۷ میلی گرم در گرم وزن تر می‌باشد. از نظر محتوی نسبی آب برگ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد وجود داشت به طوری که محتوی نسبی آب برگ در تیمار پرولین و گلاسیسین بتائین به ترتیب ۸۸/۹۷ و ۸۹/۱۲ درصد، در حالی که در تیمار شاهد ۷۷/۰۴ درصد بدست آمد. در این بررسی مشخص شد که حداکثر سطح برگ در تیمار گلاسیسین بتائین (۸۷/۵۷ سانتی‌متر مربع) بدست آمد. همچنین حداقل میزان کلروفیل هم مربوط به تیمار شاهد بوده و بین تیمار پرولین و گلاسیسین بتائین از نظر میزان کلروفیل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

نتایج

نتایج بدست آمده نشان داد که تاثیر تیمارها بر قندهای محلول، دمای کانوپی، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، سطح برگ و میزان کلروفیل ($P < 0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین نتایج نشان داد که بین تیمارها و چهار رقم هیچگونه اثر متقابلی وجود ندارد (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان قندهای محلول مربوط به تیمار گلاسیسین بتائین با

جدول ۱- تجزیه واریانس تغییرات صفات اندازه‌گیری شده در چهار رقم انگور پیکانی، خوشناو، پرلت و فلیم سیدلس تحت تیمار پرولین و گلاسیسین بتائین در شرایط تنش خشکی

میانگین مربعات					درجه آزادی (df)	منابع تغییرات (s.o.v)
محتوی نسبی آب برگ	سطح برگ	دمای برگ	قندهای محلول	کلروفیل		
۲۳/۹۸۵ ^{NS}	۱۷۵/۴۳۴ ^{NS}	۵/۶۱۳ ^{NS}	۴۳/۰۳۹ ^{NS}	۲/۵۱۳ ^{NS}	۳	بلوک
۳۶/۶۲۸ ^{NS}	۱۸۰۸/۹۳۲*	۶/۸۹۸ ^{NS}	۳۲/۴۷۲ ^{NS}	۱۴۱/۶۳ ^{NS}	۳	رقم
۷۶۹/۳۶۱**	۳۰۶۰/۴۳۱**	۷/۰۲۵**	۹۳/۰۷۸**	۸۲/۸۱**	۲	تیمار
۲۳/۸۵۸ ^{NS}	۴۳۱/۱۹۷ ^{NS}	۰/۳۵۱ ^{NS}	۱۴/۴۹۱ ^{NS}	۳/۱۰۸ ^{NS}	۶	رقم × تیمار
۲۵/۶۸۴	۲۴۳/۳۷۲	۰/۸۰۹	۱۲/۴۵۴	۷/۲۹۲	۲۳	خطا
۱۰/۷۷	۲۴/۶۹	۶/۴	۲۱/۸	۱۰/۵۲		ضریب تغییرات (CV) (%)

NS، *، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰.۱، ۰.۵٪ و غیر معنی‌دار

منجر به کاهش درصد محتوی نسبی آب برگ (RWC)، کاهش پتانسیل آب کل (Ψ_w) و به طور کل منجر به کاهش رشد گیاهان می‌شود (Bajji et al., 2001).

دمای کانوپی بر خلاف سایر صفات بدست آمد، بطوری که تیمار شاهد با ۳۲/۵۶ درجه سانتیگراد بیشترین دما را به خود اختصاص داد (جدول ۲). بر اساس یافته‌های محققان تنش خشکی

جدول ۲- مقایسه میانگین‌ها در سه تیمار شاهد، پرولین و گلاسیسین بتائین در چهار رقم انگور پیکانی، خوشناو، پرلت و فلیم سیدلس تحت تنش خشکی

میانگین مربعات					تیمار
دمای برگ (°C)	شاخص کلروفیل (spad)	سطح برگ (Cm ²)	محتوی نسبی آب برگ (%)	قندهای محلول (mg/g FW)	
۳۲/۵۸۸ a	۳۶/۰۹۴ b	۶۰/۱۹ b	۷۷/۰۴ b	۱۴/۶۲ b	شاهد
۳۱/۷۴۱ b	۴۰/۳۲۸ a	۷۰/۴۵ b	۸۸/۹۷ a	۱۵/۲۳ b	پرولین
۳۱/۲۸۱ b	۳۹/۶۵۳ a	۸۷/۵۷ a	۸۹/۱۲ a	۱۹/۰۷ a	گلاسیسین بتائین

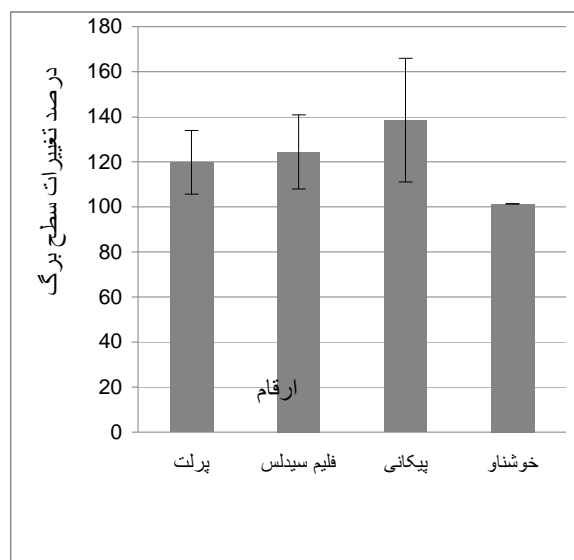
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۰.۵٪ ندارند

سلول‌های گیاه حاصل شده و با حفظ فشار آماس سلول‌ها به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش کمک می‌کند (Rascio et al., 1994). در دوره تنش،

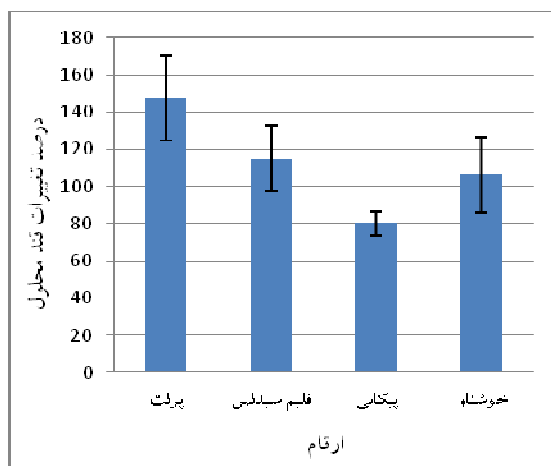
از طرفی تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های تحمل به خشکی در گیاهان است که به واسطه کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تجمع املاح در

بادرنجیویه را به خشکی افزایش می‌دهد (Abbaszadeh et al., 2008) نقش و اهمیت تجمع این قندها به این دلیل می‌باشد که تجمع این مواد سبب تنظیم فشار اسمزی و کاهش از دست دادن آب سلول و نگهداری آماس می‌شود (Hekmat Shoar, 1993). نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان داد که با کاربرد گلابسین بتائین قندهای محلول نسبت به شاهد افزایش پیدا می‌کنند (جدول ۲).

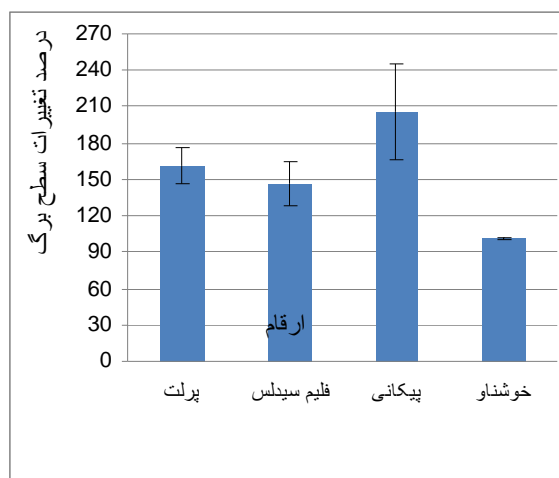
گیاه به منظور گریز از پلاسمولیز و ادامه تورژسانس در سلول‌های خود، مولکول‌های درشت نظیر نشاسته را به ساکارز و سپس مولکول‌های کوچکتری مانند گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌کند که این موضوع موجب منفی‌تر شدن پتانسیل آب در سلول‌ها و تنظیم اسمزی می‌شود علاوه بر آن، کاهش مصرف قند نیز عامل دیگری برای افزایش غلظت قندهای محلول در سلول می‌تواند باشد (Irigoyen et al., 1992). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که افزایش میزان پرولین و قندهای محلول تحمل گیاه



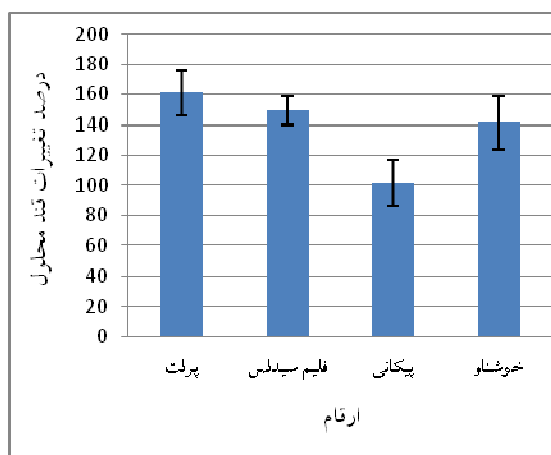
شکل ۱- مقایسه میانگین درصد تغییرات سطح برگ در چهار رقم انگور تیمار شده با پرولین تحت تنش خشکی - خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد توزیع میانگین‌ها (SE) می‌باشد.



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد تغییرات قندهای محلول در چهار رقم انگور تیمار شده با پرولین تحت تنش خشکی - خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد توزیع میانگین‌ها (SE) می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد تغییرات سطح برگ در چهار رقم انگور تیمار شده با گلاسیسین بتائین تحت تنش خشکی - خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد توزیع میانگین‌ها (SE) می‌باشد.



شکل ۴- مقایسه میانگین درصد تغییرات قندهای محلول در چهار رقم انگور تیمار شده با گلاسیسین بتائین تحت تنش خشکی - خطوط عمودی نشانگر خطای استاندارد توزیع میانگین‌ها (SE) می‌باشد.

هوایی باشد (Irrigoyen et al., 1992). شاید بتوان اینگونه بیان کرد که بدلیل مصرف خارجی این ترکیبات، گیاه نیازی به مصرف قند برای سنتز این ترکیبات نداشته و میزان قند در این تیمار نسبت به شاهد افزایش یابد. از طرفی محققان همبستگی بالایی را بین تجمع قندهای محلول و میزان تحمل به خشکی در گیاهان گزارش کرده‌اند (Hoekstra & Buitink, 2001). گروه‌های هیدروکسیل قندها جایگزین آب غشاها و پروتئین‌ها می‌شوند تا واکنش‌های آبدوستی، در طی پسابیدگی حفظ شود. در این راهکار قندها با پروتئین‌ها و غشاء پیوند هیدروژنی تشکیل

از طرفی تجزیه همبستگی بین صفات نشان می‌دهد که بین قندهای محلول و محتوی نسبی آب برگ (RWC) همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). این موضوع بیانگر آن است که کاربرد گلاسیسین بتائین باعث منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی درون سلول شده و باعث افزایش جریان آب به درون سلول می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که در تنش‌های شدید اسمزی، قندهای محلول کاهش پیدا می‌کند (Abbaszadeh et al., 2008) کاهش میزان قندهای محلول در تنش‌های شدید می‌تواند به دلیل مصرف قندها در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام

می‌دهند و از تغییر شکل آن‌ها جلوگیری می‌کنند (Leopold et al., 1994).

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده صفات اندازه‌گیری شده در چهار رقم انگور پیکانی، خوشناو، پرلت و فلیم سیدلس تیمار شده با پرولین و گلايسين بتائين تحت تنش خشکی

صفات	RWC	سطح برگ	دمای کانوپی	قندهای محلول	کلروفیل
سطح برگ	۰/۴۲۲**	۱			
دمای کانوپی	-۰/۳۷۱**	۰/۰۰۸	۱		
قندهای محلول	۰/۳۳۳*	۰/۴۲۱**	-۰/۱۵۶	۱	
کلروفیل	۰/۳۳۶*	-۰/۱۱۷	-۰/۴۲۴**	۰/۰۰۹	۱

**، *، ns به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱، ۰/۵ و غیر معنی‌دار

کاهش غلظت کلروفیل در شرایط تنش افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز است که تحت شرایط تنش بیان ژن این آنزیم القاء می‌شود. گزارش شده که پرولین و گلايسين بتائين می‌توانند از فعالیت مخرب این آنزیم جلوگیری کرده و از این طریق از کاهش کلروفیل در شرایط تنش خشکی جلوگیری کنند (Ranjan et al., 2001). در نتایج حاصله (جدول ۲) دیده می‌شود که تیمار پرولین و گلايسين بتائين باعث افزایش میزان جذب و یا حفظ آب در برگ‌ها شده و شاید قرار گرفتن در وضعیت مناسب آبی مهمترین فاکتور در موثر بودن این آمینواسیدها در بهبود وضعیت گیاه در شرایط تنش خشکی باشد. همبستگی منفی و معنی‌داری که بین RWC و دمای کانوپی وجود دارد (جدول ۳)، نشان می‌دهد که وقتی گیاه در وضعیت آبی خوبی قرار داشته باشد روزنه‌های خود را باز می‌کند و تبخیر و تعرق باعث کاهش دمای گیاه می‌شود. همانطور که می‌دانیم افزایش دما باعث غیر فعال شدن آنزیم‌ها شده و فعالیت‌های گیاه را دچار اختلال می‌کند. در نتیجه تیمار پرولین و گلايسين بتائين که باعث کاهش دمای گیاه شده می‌تواند از اثرات مضر دمای بالا در گیاه جلوگیری کند. چون میزان باز شدن روزنه تابع وضعیت آبی سلول‌های محافظ روزنه است، می‌توان انتظار داشت هر تغییری در میزان آب گیاه موجب تاثیر بر باز و بسته شدن روزنه‌ها گردد (Taiz & Zeiger, 2006). محققان در تحقیقات خود دریافتند گیاهانی که دچار تنش خشکی بودند، نسبت به شاهد جذب CO_2 به مراتب کمتری داشتند اما با کاربرد گلايسين بتائين میزان جذب CO_2 افزایش پیدا می‌کند

یکی از راهکارهای دیگر گیاه در زمان وقوع تنش خشکی، کاهش سطح برگ می‌باشد. گیاه از این طریق میزان تعرق را کاهش می‌دهد اما کاهش سطح برگ باعث کاهش فتوسنتز شده و کاهش عملکرد را به دنبال دارد (Michelbart et al., 2006). بررسی‌های ما نشان می‌دهد که گلايسين بتائين از کاهش سطح برگ در شرایط خشکی جلوگیری می‌کند و از طرفی بین سطح برگ و RWC همبستگی مثبت و بسیار بالایی وجود دارد (جدول ۳) که نشان می‌دهد گلايسين بتائين با افزایش میزان آب برگ مانع از کاهش سطح برگ می‌شود. غلظت 10mM گلايسين بتائين می‌تواند باعث افزایش سطح برگ در گیاهان تحت تنش شوری شود اما غلظت 30mM باعث ایجاد سمیت در گیاه می‌شود (Lopez et al., 2002). نتایج آزمایشات نشان می‌دهد که کاربرد غلظت‌های ۵، ۱۰ و 25mM گلايسين بتائين از کاهش سطح برگ در شرایط تنش جلوگیری می‌کند اما غلظت 50mM بدلیل ایجاد سمیت، نمی‌تواند از کاهش سطح برگ‌های انگور جلوگیری کند (Michelbart et al., 2006). تحقیقات نشان می‌دهد گیاه در واکنش به کم آبی، روزنه‌های خود را می‌بندد، بسته شدن روزنه‌ها به مدت طولانی باعث تخریب کلروپلاست و به دنبال آن کاهش کلروفیل می‌گردد. بر اساس یافته‌های محققان، گلايسين بتائين می‌تواند میزان کلروفیل را افزایش دهد (Blunden et al., 1997) یا باعث محافظت کلروفیل‌ها شود (Gadallah, 2000). این نتایج با یافته‌های ما مطابقت می‌کند. کاهش غلظت کلروفیل در شرایط کم آبی می‌تواند به عنوان یک عامل محدود کننده غیرروزنه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل

گلایسین بتائین هر دو سبب افزایش تحمل بوته‌های انگور به تنش خشکی می‌شوند. گلایسین بتائین سبب افزایش سطح برگ و قندهای محلول شد و پرولین تأثیری بر این دو صفت نداشت. بنابراین می‌توان نتیجه گیری کرد که اثرات گلایسین بتائین به مراتب بیشتر از پرولین است.

همچنین با توجه به اینکه درصد تغییرات محتوی نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل و دمای برگ در چهار رقم با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند و در دو صفت سطح برگ و قندهای محلول که تفاوت دیده شد (شکل ۱، ۲، ۳ و ۴) به گونه‌ای نبود که بتوان به طور قاطع در مورد واکنش بهتر یکی از ارقام نسبت به تیمارها صحبت کرد بنابراین می‌توان استنباط کرد که پرولین و گلایسین بتائین می‌توانند بدون توجه به نوع رقم در جهت افزایش تحمل به خشکی در انگور مفید واقع شوند.

(Xing & Rajashekar, 1999) این موضوع نمایانگر آن است که کاربرد گلایسین بتائین در شرایط تنش خشکی از بسته شدن روزنه‌ها جلوگیری کرده و سبب افزایش ورود دی اکسید کربن به گیاه شده و می‌تواند باعث افزایش فتوسنتز شود زیرا یکی از عوامل محدودکننده فتوسنتز، کمبود دی اکسیدکربن است. از طرفی وقتی گیاه در واکنش به کم آبی روزنه‌های خود را می‌بندد، بسته شدن روزنه‌ها به مدت طولانی باعث تخریب کلروپلاست و به دنبال آن کاهش کلروفیل می‌گردد (Robinson & Jones, 1986).

نتیجه گیری کلی

با توجه به اینکه دمای گیاه در اثر کاربرد پرولین و گلایسین بتائین کاهش پیدا کرد و محتوی نسبی آب برگ و کلروفیل در هر دو تیمار پرولین و گلایسین بتائین به طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بدست آمد، بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که پرولین و

REFERENCES

1. Abbaszadeh, B., Sharifi Ashourabadi, E., Lebaschi, M. H., Naderi Hajibagher Kandy, M. & Moghadami, F. (2008). The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4), 504-513. (In Farsi).
2. Arafa, A. A., Khafagy, M. A. & El-Banna, M. F. (2009). The effect of glycinebetaine or ascorbic acid on grain germination and leaf structure of sorghum plants grown under salinity stress. *Australian Journal of Crop Science*, 3(5), 294-304.
3. Bajji, M., Lutts, S. & Kinet, J. M. (2001). Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160, 669-681.
4. Barker, D. J., Sullivan, C. Y. & Moser, L. E. (1993). Water deficit effects on osmotic potential, cell wall elasticity and proline in five forage grasses. *Agronomy Journal*, 85, 270-275.
5. Blunden, G., Jenkins, T. & Liu, Y. W. (1997). Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. *Journal of Applied Phycology*, 8, 535-543.
6. Cha-um, S., Supaibulwatana, K. & Kirdmanee, C. (2006). Water relation, photosynthetic ability and growth of Thai Jasmine rice (*Oryza sativa* L. sp. indica cv. KDML 105) to salt stress by application of exogenous glycinebetaine and choline. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 192, 25-36.
7. Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J. P., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osorio, M. L., Carvalho, T., Faria, T. & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field. *Annals of Botany*, 89, 907-916.
8. Gadallah, M. A. A. (2000). Effects of acid mist and ascorbic acid treatment on the growth, stability of leaf membranes, chlorophyll content and some mineral elements of *Carthamus tinctorius*, the safflower. *Water, Air, & Soil Pollution*, 118, 311-327.
9. Gadallah, M. A. A. (1999). Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biologia Plant*, 42, 249-257.
10. Hanson, A. D. & Hitz, W. D. (1982). Metabolic responses of mesophytes to plant water deficit. *Annual Review of Plant Physiology*, 33, 163-203.
11. Hekmat Shoar, H. (1993). Physiology of Plant in Difficult Conditions. *Niknam Publication*. (In Farsi).
12. Heuer, B. (1994). Osmoregulatory role of proline in water-and salt -stressed plants. *Handbook of Plant and Crop Stress*, 363- 481.
13. Hoekstra, F. A. & Buitink, j. (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in plant science*, 8(9), 431-438.

14. Incharoensakadi, A., Takabe, T. & Akazawa, T. (1986). Effect of betaine on enzyme activity and subunit interaction of ribulose-1,5-biphosphate carboxylase oxygenase from *Aphanothece halophytica*. *Plant Physiology*, 81, 1044–1049.
15. Ingram, j. & Bartles, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 47, 377-403.
16. Iririgoyen, J. J., Emerich, D. W. & Sanches, D. M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in modulated alfalfa (*Medicago sativa*). *Plants Physiologia Plantarum*, 84, 55-60.
17. Jolivet, Y., Larher, F. & Hamelin, J. (1981). Osmoregulation in halophytic higher plants: The protective effect of glycine betaine against the heat destabilization of membranes. *Plant Science*, 25, 193–201.
18. Kafi, M., Borzoe, A., Salehi, M., Kamandi, A., Masoumi, A., & Nabati, J. (2010). *Physiology of Environmental Stress in Plants*. Jahade Daneshgahi Mashhad Publication. (In Farsi).
19. Jones, R. G., Storey, R., Betaines, L. G. & Paleg, D. (1981). *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*, Academic Press, Sydney, 171–204.
20. Khochert, G. (1978). Carbohydrate determination by phenol- sulphoric acid method. *In the handbook of physiology methods*. J. A. Hellebust & J. S. Garigie (Eds). Cambridge University Press. 96-97.
21. Kirnak, H., Kaya, C., Tas, I. & Higgs, D. (2001). The influences of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. *Plant Physiology*, 27 (3-4), 34-46.
22. Laurie, S. & Stewart, G. R. (1990). The effects of compatible solutes on the heat stability of glutamine synthetase from chickpeas grown under different nitrogen and temperature regimes. *Journal of Experimental Botany*, 41, 1415–1422.
23. Leopold, A. C., Sun, W., Sun, Q. & Bernal-Lugo, L. (1994). The glassy state in seeds: analysis and function. *Seed Science Research*, 4, 267-274.
24. Lopez, C. M. L., Takahashi, H. & Yamazaki, S. (2002). Plant-water relations of kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. J. kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188, 73–80.
25. Makela, P., Munns, R., Colmer, T. D., Condon, A. G. & Peltonen-Sainio, P. (1998). Effect of foliar applications of glycinebetaine on stomatal conductance, abscisic acid and solute concentrations in leaves of salt or drought stressed tomato. *Australian Journal of Plant Physiology*, 25, 655-663.
26. Mickelbart, M., Chapman, P., & Collier-Christian, L. (2006). Endogenous levels and exogenous application of glycinebetaine to grapes. *Scientia Horticulturae*, 111, 7-16.
27. Nilsen, E. T. & Orcutt, D. M. (1996). *Physiology of plants under stress (Abiotic factors)*. Jon Wiley & Sons, New York.
28. Papageorgiou, G. C., Fujimara, Y. & Murata, Y. N. (1991). Protection of the oxygen-evolving photosystem II complex by glycine betaine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1057, 361–366.
29. Ranjan, R., Bohra, S. P. & Jeet, A. M. (2001). *Book of plant senescence*. Jodhpur, New York.
30. Rascio, A., Platani, C., Scalfati, G., Tonti, A. & Di Fonzo, N. (1994). The accumulation of solutes and water binding strength in durum wheat. *Physiologia Plantarum*, 90, 712-721.
31. Results of statistical design of garden products. (2010). Agriculture Ministry, Iran, 95. (In Farsi).
32. Robinson, S. P. & Jones, J. P. (1986). Accumulation of glycine betaine in chloroplasts provides osmotic adjustment during salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 13, 659–668.
33. Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology* (4th ed.). Publishers sunderland, Massachusetts, 738.
34. Wiliams, W. P. & Brain, A. P. R. (1992). Dominy, Induction of non-bilayer lipid phase separation in chloroplast thylakoid membranes by compatible cosolutes and its relation to the thermal stability of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1099, 137–144.
35. Yang X. & Lu, C. (2005). Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt stressed maize plants. *Plant physiology*, 124, 343-352.
36. Yordanov, V. & Tsoev, T. (2000). Plant response to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthica*, 38(1),171-186.
37. Xing, W. & Rajashekar, C. B. (1999). Alleviation of water stress in beans by exogenous glycine betaine. *Plant Science*, 148, 185-195.
38. Zhang, J., Nguyen, H. T. & Blum, A. (1999). Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany*, 50, 291-302.