تأثیر تنش‌های اسمزی و شوری بر مکانیزم محافظت اسمزی در پینه‌های تنش‌یافته گل قرنفل

عابدین مشعشعی و محمدمهدی جوکار*

گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه

*نویسنده مسئول: mjowk@iauksh.ac.ir

چکیده

گل قرنفل با نام علمی *Dianthus barbatus* L. گیاهی علفی و یکساله با گل‌های معطر که جهت تزئین بسترهای کاشت، باغ‌های کانتینری و گل‌های شاخه بریده کشت می‌گردد. امروزه محدودیت منابع آبی، بارندگی کم و همچنین وجود خاک‌های شور یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کشت گل قرنفل و توسعه فضای سبز در کشور می‌باشد. در مواجه با تنش‌های غیرزیستی شوری و کم‌آبی، مکانیزم محافظت اسمزی نقش بسزایی جهت رشد و بقاء گیاهان دارد. در این مکانیزم تجمع اسمولیت‌هایی همچون گلایسین-بتائین در سلول‌های تنش‌یافته به محافظت گیاهان در مقابل تنش‌های غیرزیستی از طریق تنظیم اسمزی و یا محافظت اسمزی کمک می‌نماید. باتوجه به اهمیت گل قرنفل در توسعه فضای سبز و همچنین اهمیت کشت بافت در به‌نژادی و مطالعات فیزیولوژیکی پایه، در این پژوهش تأثیر تنش اسمزی و شوری بر پینه‌های گل قرنفل در محیط درون شیشه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت. جهت اعمال تنش اسمزی، پینه‌ها پرآوری شده درون محیط کشت اماس حاوی پلی‌اتیلن‌گلایکول به نحوی که فشار اسمزی ۰، ۱-، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- بار حاصل شود، کشت گردیدند. جهت اعمال تنش شوری نیز پینه‌ها درون محیط کشت اماس حاوی کلریدسدیم با شوری ۱/۸۱، ۵/۴۵، ۱۰/۹۰، ۱۶/۳۶ و ۱۲/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر کشت گردیدند. سپس میزان فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز و همچنین میزان تجمع اسملیت گلاسین-بتائین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد تنش اسمزی موجب تجمع بیشتر اسملیت گلاسین-بتائین می‌گردد. درحالی که بیشترین میزان فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز در سطوح مختلف تنش شوری مشاهده گردید. در بین سطوح مختلف تنش اسمزی، بیشترین میزان فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز در تیمار ۱۲- بار به مقدار ۱/۰۳ واحد در میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد. میزان گلایسین-بتائین در پینه‌های تنش‌یافته با پلی‌اتیلن‌گلایکول ابتدا با اعمال تنش کاهش جزئی و سپس افزایش معنی‌داری یافت. در پینه‌های تنش شوری بیشترین میزان فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز در تیمار ۱۲ گرم‌درلیتر کلریدسدیم به میزان ۱/۱۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده گردید. میزان اسمولیت گلایسین-بتائین نیز در ابتدا با افزایش غلظت کلریدسدیم مقدار کمی کاهش و سپس افزایش معنی‌داری یافت. همچنین در بین تنش‌های مورد مطالعه بیشترین همبستگی میزان فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز و اسمولیت گلایسین-بتائین در تنش شوری مشاهده گردید. نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر عملکرد مناسبتر مکانیزم محافظت اسمزی در پینه‌های گل قرنفل هنگام مواجه با تنش شوری در مقایسه با تنش اسمزی می‌باشد.

کلمات کلیدی: بتائین آلدئید دهیدروژناز، پلی اتیلن گلایکول، فعالیت آنزیم، کلرید سدیم، گلایسین بتائین.

IrHC2019

مقدمه

گل قرنفل با نام علمی (*Dianthus barbatus* L.) گیاهی علفی، یکساله، بومی نواحی معتدل اروپا و از خانواده Caryophyllaceae می‌باشد. در کشور ایران در نواحی شهرهای تهران، رشت، کرج، لاهیجان از پراکندگی مناسبی برخوردار است (قاسمی قهساره، ۱۳۹۴). به دلیل کاربردهای چندگانه گل قرنفل امروزه شناخت این گل روبه افزایش است. از کاربردهای گل قرنفل می توان به این موارد اشاره کرد: تزئین بسترهای کاشت، باغ های کانتینری، گل های شاخه بریده، همچنین دارای زیبایی و عطری دلپذیر برای جذب حشرات به ویژه پروانه ها و زنبور عسل می باشد. در طب سنتی برخی کشورها همچون ترکیه از اندام هوایی گل قرنفل جهت درمان شکم درد استفاده می‌گردد (Oz Aydin *et al.*, 2006). همچنین گزارش شده که عصاره بذر آن خاصیت ضد ویروسی داشته و از برگ‌های آن پروتئینی به نام دیانتین (Dianthin) استخراج می‌گردد که خاصیت بازدارندگی فعالیت در برخی باکتری‌ها همچون *Escherichia coli* دارد (Chandra and Rawat, 2015).

تنش‌های خشکی و شوری یکی از مهمترین عوامل بازدارنده رشد گیاهان در بیشتر نقاط جهان و شایع ترین تنش‌های محیطی هستند. تنش خشکی تقریباً تولید ۲۵ درصد از ارضی تحت کشت در دنیا را محدود ساخته است (کافی و همکاران، ۱۳۹۲). کمبود آب در روند رشد گیاهان، صدمات جدی بر رشد و نمو گیاهان وارد می‌نماید (امید بیگی، ۱۳۷۴). شوری خاک نیز یکی از مهمترین تنش‌های غیر زیستی در جهان است که می تواند تولید محصولات باغی و زراعی را کاهش دهد(Carter *et al*., 2005; Carter and Grieve, 2010). کشور ایران با دارا بودن ۶/۷ میلیون هکتار اراضی شور بعد از هند و پاکستان در صدر کشورهای در معرض تهدید از نظر تنش شوری قرار دارد (Moameni, 2010). مطالعات نشان می‌دهد که مقدار و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت زمانی که گیاه تحت تاثیر تنش‌های زنده و غیر زنده مثل شوری و خشکی قرار می گیرند افزایش می یابند(Mittova *et al*., 2002). تجمع اسمولیت‌ها (Osmolytes) همچون گلایسین-بتائین در سلول های تحت تنش به محافظت گیاهان در مقابل تنش‌های غیرزیستی از طریق Osmo-regulation یا Osomo-protection کمک می‌کند (Giri, 2011). گزارش شده که گیاهانی که به صورت طبیعی گلایسین-بتائین در خود تجمع می دهند تحت شرایط کم آبی و شوری به خوبی رشد می کنند (Chen and Murata, 2008). گلایسین-بتائین و بتائین آلدئید دهیدروژناز در سیتوسل سلول های گیاهی تداخلات درون سلولی ایجاد نمی کند و تعادل بیوشیمیایی سلول را بر هم نمی زند و به هنگام تنش‌های آبی سلول های گیاهی با انباشت گلایسین بتائین و پرولین سعی در حفظ آب درون سلولی و ایجاد مقاومت در برابر تنش وارده دارند به طوری که تجمع گلایسین بتائین و پرولین به عنوان شاخص های مهم تنش آبی در گیاهان شناخته می شوند (Ashraf and Foolad, 2007). با انتقال ژن بتائین آلدئید دهیدروژناز به کلروپلاست سلول های گیاهی هویج گزارش شد که گیاهان تولیدی به این روش قادر به تحمل غلظت هایی از نمک شدند که تنها در هالوفیت‌ها گزارش شده است (Daniel *et al*., 2001). در این پژوهش با توجه به مزایای افزونش درون شیشه‌ای نسبت به سایر روش‌های افزونش و همچنین با توجه به اهمیت گل قرنفل به عنوان یکی از گیاهان زینتی فضای سبز مناطق مرکزی و معتدل کشور، تأثیر سطوح مختلف تنش اسمزی و شوری توسط پلی اتیلن گلایکول و کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز و محتوای گلایسین بتائین در پینه‌های استقرار یافته گل قرنفل در محیط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

IrHC2019

مواد و روش ها

مواد گیاهی:

جهت مطالعه تأثیر تنش اسمزی و شوری بر پینه‌های گل قرنفل (*Dianthus barbatus* L.)، ابتدا پینه‌های استقرار یافته گل قرنفل بر روی محیط کشت بهینه پینه‌زایی MS غنی شده با ۲ میکرومول بنزیل آمینوپورین و ۶ میکرومول نفتالین استیک اسید کشت و زیرکشت گردیدند تا حجم مناسبی از پینه جهت اعمال تنش به دست آمد.

اعمال تنش:

آزمایش تنش شوری و تنش اسمزی به صورت همزمان و جدا از هم در قالب دو آزمایش مجزا صورت پذیرفت. جهت اعمال تنش اسمزی، پینه‌های پرآوری شده بر روی محیط کشت بهینه پینه‌زایی حاوی میزان مختلف پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (ساخت شرکت مرک، آلمان) کشت گردیدند. سطوح مختلف تنش اسمزی شامل ۶ سطح ۰، ۱-، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- بار فشار اسمزی بودند. جهت به دست آوردن میزان پلی اتیلن گلایکول مورد نیاز جهت تنظیم پتانسیل اسمزی مورد نظر، از فرمول پیشنهادی Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) استفاده گردید. اعمال تنش شوری توسط اضافه نمودن کلرید سدیم به میزان‌های ۰، ۱، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ گرم در لیتر و به دست آوردن سطوح شوری ۱/۸۱، ۵/۴۵، ۱۰/۹۰، ۱۶/۳۶ و ۱۲/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر انجام پذیرفت. سپس میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز و محتوای گلایسین بتائین در پینه‌های تنش یافته یک ماه بعد از اعمال تنش طبق روش‌های ذیل مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت.

شرایط آزمایش

شرایط محیطی پینه‌های تحت تنش اسمزی و شوری دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰ درصد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود.

سنجش میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز:

استخراج آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز توسط روش Arakawa و همکاران (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. مطابق روش مذکور ۱۰ گرم از بافت پینه تنش یافته قرنفل در ۲۰ میلی‌لیتر بافر استخراج هموژنیزه گردید. محلول استخراج هموژنیزه، ابتدا فیلتر و با دور ۴۰۰۰g برای ده دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس محلول فوقانی به دست آمده با $(NH_4)_2SO_4$ به ۵۵ درصد اشباع رسانده و برای ۲۰ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. محلول فوقانی حاصل مجدداً توسط $(NH_4)_2SO_4$ به ۷۰ درصد اشباع رسانده و مجدداً برای ۲۰ دقیقه دیگر با دور ۱۶۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. ته‌نشین حاصل، درون بافر حاوی ۱۰ میلی‌مول MOPS-NaOH (با پی‌اچ ۷/۵)، ده درصد وزن‌به حجم گلیسرول، یک میلی‌مول EDTA، دو میلی‌مول DTT تعلیق گردید و محلول حاصل به عنوان بتائین‌آلدئیددهیدروژناز خام در مرحله بعد جهت اندازه‌گیری فعالیت مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون سنجش فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز توسط روش فلئومتریک توصیف شده توسط Arakawa و همکاران (۱۹۹۰) انجام پذیرفت. اندازه‌گیری فلورسانس محلول واکنش توسط اسپکتروفتومتر فلورسانس مدل هیتاچی در طول موج تهییج ۳۴۰ و نشر ۴۶۰ نانومتر انجام پذیرفت. میزان فعالیت توسط نرخ ابتدایی جهت احیاء NAD^+ در میلی‌گرم پروتئین کل بیان گردید.

سنجش میزان اسمولیت گلاسین-بتائین:

میزان گلاسین-بتائین (Glycine-Betaine) توسط روش Grieve و Grattan (۱۹۸۳) با کمی تغییرات اندازه‌گیری گردید. بدین منظور پینه‌های تنش یافته را ابتدا خشک نموده، کاملاً پودر کرده و میزان ۰/۵ گرم از آن را درون ۲۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و برای ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی شیکر قرار داده تا به هم زده شوند. سپس عصاره به دست آمده در محلول ۲ نرمال اسید سولفوریک با نسبت مساوی ۱:۱ حل گردید. مقادیر ۰/۵ میلی

IrHC2019

لیتر از محلول ذکر شده درون لوله آزمایش ریخته و برای یک ساعت بر روی یخ قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر عامل واکنش $KI-I_2$ به آن اضافه نموده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت نگه‌داری گردید. بعد از سپری شدن مدت مذکور، محلول واکنش را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ کرده و محلول فوقانی دور ریخته گردید. کریستال های ته‌نشین شده در ۵ میلی لیتر 1,2-dichloroethane حل و پس از گذشت ۲ ساعت میزان جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر توسط دستگاه طیف سنج یو وی-مرئی اندازه-گیری گردید.

طرح آزمایش و واکاوی آماری

جهت اعمال تنش اسمزی و شوری از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی (شامل ۶ سطح تنش در ۵ تکرار) استفاده گردید. داده‌های هر دو بخش (تنش اسمزی و تنش شوری) به کمک نرم افزارSAS 16.0 مورد واکاوی آماری (تجزیه واریانس) قرار گرفت. میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan Multiple Range Test) در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

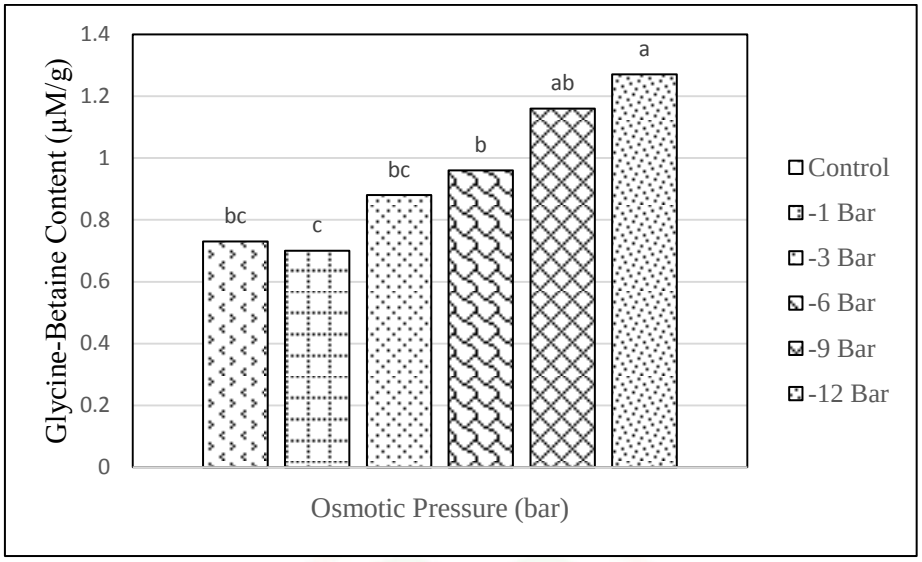
نتایج و بحث

بخش تنش اسمزی:

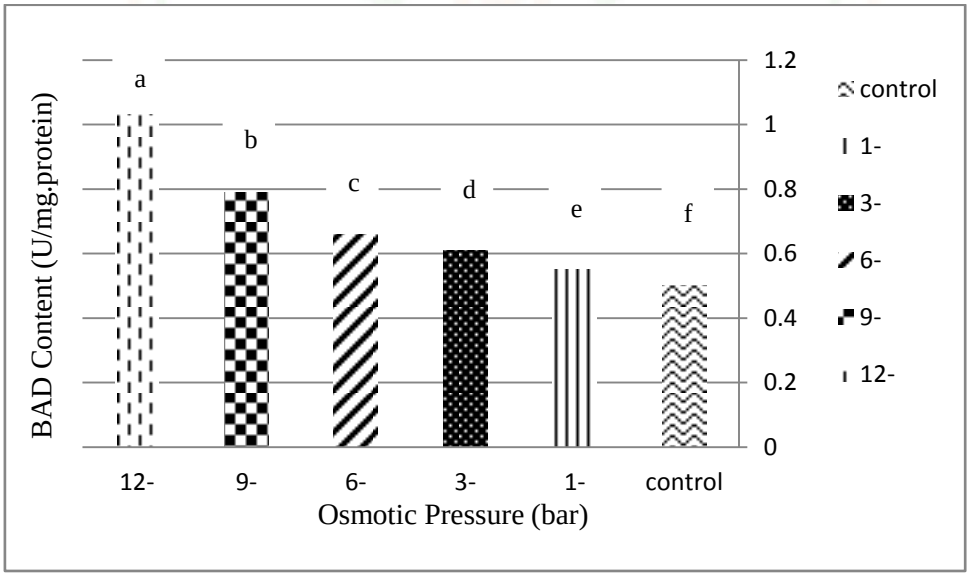
اسمولیت گلایسین-بتائین که از اتصال دو اسید آمینه گلایسین و بتائین حاصل می گردد. در ابتدا با اعمال تنش ۱- بار، میزان گلایسین-بتائین کاهش جزئی و غیر معنی‌دار و سپس با کاهش بیشتر میزان پتانسیل اسمزی، میزان این اسمولیت افزایش معنی‌داری یافت. میزان افزایش این اسمولیت در پینه های تنش یافته ۱۲- بار در مقایسه با پینه های تنش یافته ۱- بار به میزان تقریبی دو برابر افزایش یافت. همچنین بیشترین میزان گلایسن-بتائین در تیمار ۱۲- (بار) با مقدار ۱/۲۷ میکرومول بر گرم وزن تر و کمترین میزان آن در تیمار شاهد با مقدار ۰/۷۰ میکرومول بر گرم وزن تر مشاهده شد (نمودار-۱). در پژوهشی وزیری و همکاران (۱۳۸۷)، به بررسی اثر تنش شوری در شرایط درون شیشه ای مقادیر لیپیدهای سویا (Glycin) دریافتند که با افزایش سطوح مختلف تنش اسمزی بر مقدار گلایسین-بتائین در مقایسه با شاهد نیز افزوده می‌شود. افزایش میزان گلایسین-بتائین و یا به عبارت دیگری تجمع گلایسین-بتائین تحت شرایط تنش کم آبی و شوری یکی از مکانیزم‌های رایج مقابله با تنش است بدون آنکه در فعالیت‌های حیاتی سلول تأثیر منفی بگذارد (Park *et al.*, 2006). تحقیقات نشان داده که ارقام مقاوم و حساس بسته به میزان تجمع گلایسین-بتائین، سطوح مختلف مقاومت به تنش از خود نشان می‌دهند (Chen and Murata, 2008). همچنین Park و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که کابرد خارجی گلایسین-بتائین رشد و درصد زنده ماندن گیاهان تحت تنش‌های مختلف را بهبود می بخشد. در پژوهش پیش رو نیز میزان تجمع اسمولیت گلاسین-بتائین در پینه های تنش یافته گل قرنفل با افزایش سطح تنش اسمزی، افرایش یافت و این افزایش به نحوی در مقاومت پینه ها مؤثر بود.

نتایج همچنین نشان داد که با افزایش سطح تنش، میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدیئد دهیدروژناز افزایش می‌یابد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدیئد دهیدروژناز در تیمار ۱۲- بار با مقدار ۱/۰۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت آن در تیمار شاهد با مقدار ۰/۵۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد (نمودار-۲).

IrHC2019



نمودار «۱» تاثیر سطوح مختلف تنش اسمزی بر میزان اسمولیت گلایسین-بتائین در پینه‌های گل قرنفل تنش یافته در محیط درون شیشه‌ای (میانگین های حداقل دارای یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند).



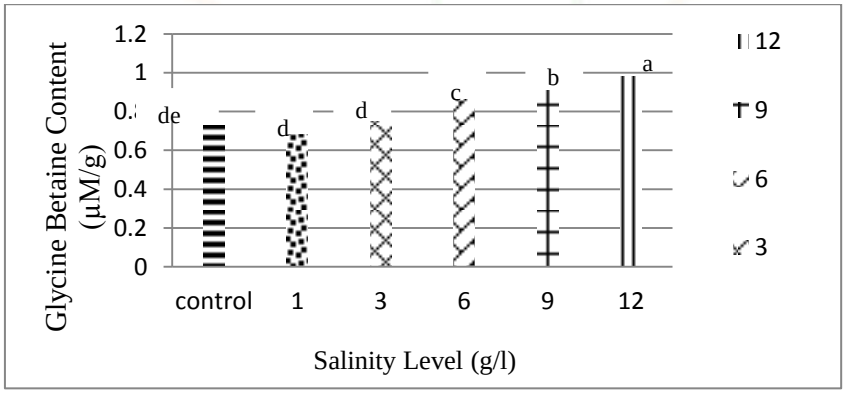
نمودار «۲» تاثیر سطوح مختلف فشار اسمزی بر میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز در پینه‌های گل قرنفل تنش یافته در محیط درون شیشه‌ای (میانگین های حداقل دارای یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند).

IrHC2019

بخش تنش شوری:

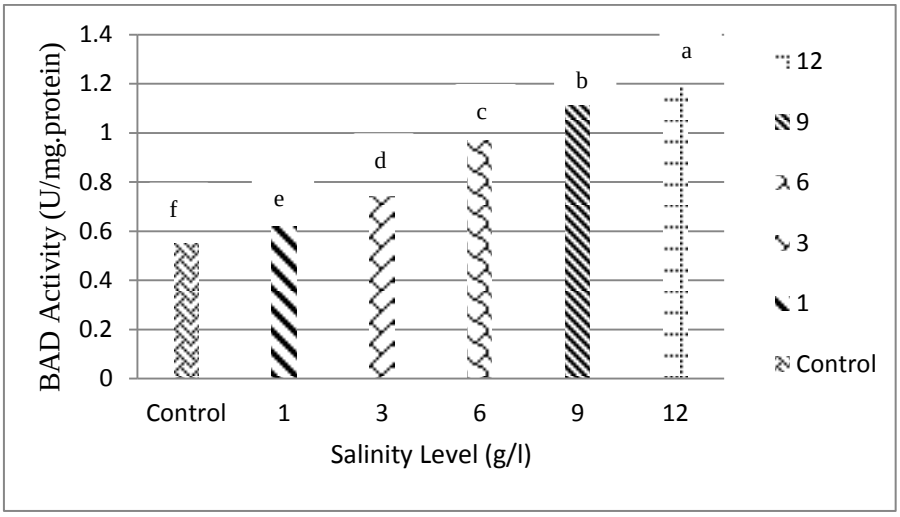
میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدیئد دهیدروژناز با افزایش تنش شوری در پینه‌های تنش یافته گل قرنفل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان افزایش در فعالیت آنزیم مذکور با افزایش سطح تنش افزایش یافت به نحوی که میزان فعالیت این آنزیم در پینه‌های تیمار ۱۲/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر (۱۲ گرم در لیتر کلرید سدیم) تقریباً دو برابر میزان آن در پینه‌های تنش یافته تیمار ۱/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر (۱ گرم در لیتر) بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز در تیمار ۱۲/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر (۱۲ گرم در لیتر کلرید سدیم) به میزان ۱/۱۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و کمترین میزان فعالیت آن در تیمار شاهد به میزان ۰/۵۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده گردید (نمودار ۴). از آنجایی که این آنزیم در سنتز اسمولیت گلایسین-بتائین نقش کلیدی دارد، افزایش فعالیت آن با میزان تجمع اسمولیت گلایسین-بتائین در پینه‌های تنش یافته همخوانی دارد.

میزان اسمولیت گلایسین-بتائین نیز متأثر ازتنش شوری گردید. در ابتدا با افزایش میزان کلرید سدیم به میزان ۱/۸۱ دسی‌زیمنس‌برمتر (۱ گرم در لیتر)، میزان گلایسین-بتائین به مقدار کم کاهش و سپس با افزایش بیشتر میزان کلرید سدیم و در نتیجه تنش شوری، میزان اسمولیت گلایسین-بتائین افزایش معنی‌داری یافت (نمودار ۳). افزایش میزان اسمولیت گلایسین-بتائین تحت تنش شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی گزارش شده است. به طور کلی، بیشتر گیاهان زمانی که در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند، گلایسین بتائین را به عنوان یک تعدیل کننده اسمزی در سلول های خود افزایش می‌دهند بدون آنکه به گیاه صدمه ای وارد گردد (Makela *et al*., 1996). مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان در تنش‌های مختلف مقاومت‌های متفاوتی درنتیجه تجمع اسمولیت گلایسین-بتائین از خود نشان می‌دهند گیری (Giri, 2011).



نمودار «۳» تاثیر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان اسمولیت گلایسین-بتائین در پینه‌های گل قرنفل تنش یافته در محیط درون شیشه‌ای (میانگین های حداقل دارای یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند).

IrHC2019



نمودار «۴» تاثیر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز در پینه‌های گل قرنفل تنش یافته در محیط درون شیشه‌ای (میانگین های حداقل دارای یک حرف مشابه از نظر آماری در سطح ۵ درصد توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند).

همبستگی بین فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز و اسمولیت گلایسین-بتائین

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد، همبستگی بین فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز و اسمولیت گلایسین-بتائین در سطح ۱ ٪ معنی دار بود. بیشترین ضریب همبستگی مربوط به اثر تنش شوری با ۰/۹۶۴ و کمترین آن در تنش اسمزی به میزان۰/۹۵۷بود. فعالیت مداوم آنزیم ها را شاید بتوان به این دلیل دانست که میزان فعالیت باید تا حدی ادامه داشته باشد که سلول ها به مقدار کافی مواد لازم برای مواجه با شرایط تنش بالا را سنتز کنند.

جدول «۱» : تجزیه همبستگی بین فعالیت آنزیم بتائین‌آلدئیددهیدروژناز و محتوی گلاسین-بتائین در پینه‌های تنش یافته گل قرنفل

تنش اسمزی		تنش شوری	
	محتوی گلاسین-بتائین		محتوی گلاسین-بتائین
فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز	**۰/۹۵۷	فعالیت آنزیم بتائین آلدئید دهیدروژناز	**۰/۹۶۴

منابع:

امیدبیگی، ر. ۱۳۷۴. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم. انتشارات آستان قدس رضوی. مشهد، ایران. ۴۸۰ ص.
قاسمی قهساره، م.، م. کافی . ۱۳۹۴. گلکاری علمی و عملی (جلد ۱). انتشارات علم آفرین، اصفهان،۳۱۳ صفحه.

IrHC2019

کافی، م.، زند، ا.، کامکار، ب.، عباسی، ف.، و مهدوی، م. ۱۳۹۲. فیزیولوژی گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. مشهد، ایران. ۶۹۱ ص.

Arakawa, K., M. Katayama and T. Takabe. 1990. Levels of Betaine and Betaine Aldehyde Dehydrogenase Activity in the Green Leaves, and Etiolated Leaves and Roots of Barley. Plant Cell Physiol. 31(6): 797-803.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206–216.

Carter, C.T., Grieve, C.M. 2010. Growth and nutrition of two cultivars of (*Zinnia elegans*) under saline conditions. Journal of Hortscience. 45(7): 1058–1063.

Carter, C.T., Grieve, C.M., Poss, J.A., Suarez,D.L. 2005. Production and ion uptake of (*Celosia argentea*) irrigated with saline waste- waters. Scientia Horticulturae. 106: 381–394.

Chandra, S. and Rawat, D.S. 2015. Medicinal plants of the family Caryophyllaceae: a review of ethno-medicinal uses and pharmacological properties. Integrative Medicine Research 4: 123-131.

Chen T.H. and Murata, N. 2008. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. Trends Plant Science 13:499–505.

Daniell, H., Muthukumar, B.M. and Lee, S. B. 2001. Marker free transgenic plants: engineering the chloroplast genome without the use of antibiotic selection. Current Genetics 2: 109-116.

Giri, J. 2011. Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants. Plant Signaling and Behavior 6 (11):1746-1751.

Grieve, C.M. and S.R. Grattan. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. Plant Soil 70: 303-307.

Makela, P., P. Peltonen-Sainio, K. Jokinen, E. Pehu, H. Setala, R. Hinkkanen, and S. Somersalo. 1996. Uptake and translocation of foliar applied glycine-betaine in crop plants. Plant Science. 121: 221-/230.

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of Polyethylene Glycol 6000. Plant Physiology 51: 914-916.

Mittova, V., Tal, M., Volokita, M., Guy M. 2002. Salt stress induces up regulation of an efficient chloroplast antioxidant system in the salt-tolerant wild tomato species (*Lycopersicon pennelli*) but not in the cultivated species. Journal of Physiology Plant. 115, 393-400.

Moameni, A. 2010. Geographical distribution and salinity levels of soil resources of Iran. Soil Res. J. 24: 203-215.

Oz Aydin, S., Dirmenci, T., Tumen, G. and Can Baser, K.H. 2006. Plants used as analgesic in the folk medicine of Turkey. Proceedings of the 4th International Congress of Ethnobotany (ICEB 2005). pp: 167-171.

Park EJ, Jeknic, Z. and Chen, T.H. 2006. Exogenous application of glycine-betaine increases chilling tolerance in *tomato* plants. Plant and Cell Physiology 47:706-714.

Effect of osmotic and salinity stress on osmo-protection mechanism in *Dianthus barbatus* stressed calli

Abedin Moshashaei and Mohammadmahdi Jowkar*

IrHC2019

Department of Horticulture, College of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

*Corresponding author: mjowk@iauksh.ac.ir

Abstract:

Dianthus barbatus is an herbaceous annual ornamental plant with fragrant flowers usually used as bedding plant or cut flower. Water resources limitation, low rainfall and soil salinity are the major limiting factors of *D. barbatus* culture and landscape development. When facing abiotic stress such as drought and salinity, osmo-protection involved mechanisms play an important role in plant growth and survival. In the mentioned mechanisms, osmolits such as glycine-betaine accumulate in stressed calli and help plant cells by acting as osmo-regulators or osmo-protectors. Considering the importance of tissue culture in breeding and basic physiological studies, the impact of in vitro osmotic and salinity stress on *D. barbatus* calli has been studied. Osmotic stress study was conducted by culturing proliferated calli on MS medium supplemented with desirable concentration of PEG resulting in 0, -1, -3, -6, -9 and -12 bar osmotic pressure. Salinity stress study was conducted by culturing proliferated calli on MS medium supplemented with 0, 1, 3, 6, 9 and 12 gl^{-1} NaCl. Then after, the activity of betaine aldehyde dehydrogenase (BAD) and glycine-betaine content in stressed calli were evaluated. Results indicate that osmotic stress resulted in more glycine-betaine accumulation compared to salinity stress. This was while the most BAD activity was observed in salinity stressed calli. The highest BAD activity in osmotic stressed in osmotic stressed calli was observed in -12 bar osmotic pressure with a value of 1.03 U/mg protein. Glycine-betaine content showed a little decrease and then a significant increase as osmotic pressure increased. Similarly, the highest amount of BAD activity in salinity stressed calli was observed in 12 mgl^{-1} NaCl with a value of 1.19 U/mg protein. Glycine-betaine content initially showed a little decrease and then significantly increased as NaCl concentration increased. In between the studied stress, the most significant correlation between BAD activity and glycine-betaine content was observed in salinity stressed calli.

Keywords: Betaine aldehyde dehydrogenase, enzyme activity, glycine-betaine, polyethylene glycol, sodium chloride.

IrHC2019