Journal of Cell and Tissue 17(2), Summer (2026) 133-160

Journal of Cell and Tissue
https://jct.araku.ac.ir
ISSN: 2345-3567

Studying the molecular and physiological mechanisms of glycine betaine accumulation in order to improve tolerance to abiotic stresses in plants

Babaei Lavin[a], Darvishzadeh Reza[b*]

[a] Physiology and Breeding of Fruit Trees, Department of Horticultural Sciences and Landscape Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[b] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Original Article

Use your device to scan and read the article online

Citation: Babaei Lavina, Darvishzadeh Reza. Studying the molecular and physiological mechanisms of glycine betaine accumulation in order to improve tolerance to abiotic stresses in plants .Journal of Cell and Tissue. 2026; 17(2):133-160.

https://doi.org/10.66224/JCT.133

KEYWORDS

Betaine, Breeding, Enzyme, Gene, Photosynthesis

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: Global climate change has damaged plant systems, their growth, development and overall performance by increasing the frequency and intensity of abiotic stresses. In response to environmental stresses, plants have evolved diverse adaptive mechanisms, including the accumulation of adaptive solutes, such as glycine betaine (GB), which plays a pivotal role in protecting cellular function under adverse conditions. Also known as betaine, this substance is a methylated derivative of glycine that reduces the harmful effects of stressful environments in plant species. GB is a low molecular weight and highly soluble osmoprotectant. GB is mainly produced in roots and vascular tissues and accumulates mainly in plastids and chloroplasts of young leaf cells, where it plays a vital role in protecting thylakoid membranes and thus maintaining the efficiency of photosynthesis. The level of GB accumulation is often directly related to the level of plant resistance to abiotic stresses. Furthermore, the capacity for GB accumulation varies among different plant genotypes. Among the protective roles of glycine betaine are reducing the accumulation and detoxification of free radicals, stabilizing membranes and macromolecules, and protecting components of the photosynthetic system such as the Rubisco enzyme, enzymes, and tetramers, and complex protein structures. Also, GB systematically modulates growth through interaction with hormones and regulators such as auxin, gibberellin, cytokinin, abscisic acid, salicylic acid, and jasmonic acid; as a result, this strategy increases the plant's ability to cope with stress conditions by optimally allocating energy. GB production, which is mainly synthesized from choline or glycine, follows distinct metabolic pathways including the choline oxidation pathway (prevalent in plants and mammals),

* Corresponding author. Tel.:, 09149734458
E-mail address: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir
DOI: https://doi.org/10.66224/JCT. 133
Received:;7 Jan. 2026: Received in revised form: 11 May. 2026; Accepted: 13 May. 2026
Review Article
© Author

the direct glycine methylation pathway (specific to certain bacteria and halophytes), the choline dehydrogenase pathway, and the serine metabolism pathway. Although the glycine betaine biosynthetic pathway is not active in all plants, the choline oxidation pathway is the main mechanism for the production of this metabolite in most higher plants. This pathway is carried out through two consecutive enzymatic steps. The first step involves the hydroxylation of choline by choline monooxygenase (CMO) to betaine aldehyde, and the second step involves the irreversible oxidation of betaine aldehyde to glycine betaine, catalyzed by the enzyme betaine aldehyde dehydrogenase (BADH). Identification, transfer, and alteration of the expression pattern of genes involved in the biosynthetic pathways of osmoprotectants, including glycine betaine, lead to improved stress tolerance in plants. Currently, research on the use of engineered plants or bacterial strains to enhance the synthesis of this osmolyte has mainly focused on the strategy of transferring exogenous single genes encoding key enzymes. An effective strategy to enhance abiotic stress tolerance in plants is through the stimulation of GB biosynthesis. Recently, biotechnological interventions, such as *Agrobacterium*-mediated transfection, have successfully enhanced stress tolerance in susceptible species by overexpression of key genes, particularly *codA*, *BADH*, *GSMT* and *SDMT*.

Aims: This review evaluates the various biosynthetic pathways, physiological functions and molecular regulatory mechanisms of GB under environmental stress conditions. Furthermore, it highlights advanced genetic engineering strategies aimed at enhancing GB biosynthesis, thereby providing sustainable approaches to enhance crop resistance to diverse environmental stresses.

Conclusion: Enhancing GB biosynthesis in plants has been recognized as an effective strategy to improve plant tolerance to environmental stresses. In this regard, two main approaches are commonly used: exogenous application and genetic engineering of GB biosynthetic pathways. Both methods increase resistance to a range of abiotic stresses by increasing GB accumulation and activating stress response pathways. External application of GB is a simple and effective method to improve plant performance under stress. However, its effectiveness depends on its absorption and translocation efficiency, which varies depending on the plant species, tissue type, and application method. Given the diversity of GB synthesis pathways and the identification of choline and glycine as GB precursors in the choline oxidation and glycine methylation pathways and the high ATP consumption in the glycine methylation pathway, by identifying and studying the role of each of the related genes in these pathways, especially the genes involved in enzyme synthesis, they can be used in breeding programs to increase GB biosynthesis under abiotic stress conditions. Genetically engineered products can automatically increase metabolite production and thus increase overall stress resistance. Genetic engineering strategies focused on increasing glycine betaine production and its accumulation in plant tissues under stress have shown significant improvements in plant growth and development. Stimulating glycine betaine production through the production of transgenic plants is an emerging technology due to its ability to overcome the problems associated with conventional modification of glycine betaine synthesis. These methods are mainly focused on identifying target genes in the glycine betaine synthesis pathway in stress-tolerant plants and microorganisms and cloning and transferring them to susceptible species using various biotechnological methods such as Agrobacterium-mediated transfection. The genes that have been most widely used in this regard include *codA*, *BADH*, *GSMT*, *SDMT*. Furthermore, a deeper investigation of these biosynthetic pathways will facilitate the identification and cloning of new target genes, ultimately maximizing GB accumulation and increasing environmental resistance. However, the use of this method as a sustainable approach compatible with green agriculture requires more detailed and extensive research on the impact of genetic manipulation on human health and nutrition.

سلول و بافت، دوره ، شماره ، سال ، صفحات ۱۳۳ تا ۱۶۰

سلول و بافت

شاپا الکترونیکی: ۳۵۶۷-۲۳۴۵

بررسی سازوکارهای مولکولی و فیزیولوژیک تجمع گلایسین‌بتائین در راستای بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان

لاوین بابایی[۱]، رضا درویش‌زاده[۲*]

[۱] گروه مهندسی علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۲] گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

واژگان کلیدی

آنزیم، بهنژادی، ژن، فتوسنتز، گلایسین‌بتائین

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۳

چکیده

هدف: مقاله پیش‌رو با بررسی یافته‌های نوین پژوهشی، دیدگاهی جامع از مکانیسم‌های بیوسنتزی، عملکردهای چندگانه‌ی فیزیولوژیک و راهبردهای پیشرفته‌ی مولکولی جهت تقویت تولید درون‌زای گلایسین‌بتائین و افزایش تحمل محصولات، در مواجهه با تنش‌های غیرزیستی ارائه می‌دهد. با توجه به این که تنش‌های غیرزیستی، رشد و بهره‌وری گیاهان را مختل می‌کنند، تجمع گلایسین‌بتائین، به عنوان یک راهکار کلیدی در تحمل به تنش، شناخته شده است. بیوسنتز گلایسین‌بتائین از طریق مسیرهای متابولیک جداگانه صورت می‌گیرد: مسیر اکسیداسیون کولین (رایج در گیاهان و پستانداران)، مسیر متیلاسیون مستقیم گلایسین (مختص برخی باکتری‌ها و هالوفیت‌ها)، مسیر کولین‌دهیدروژناز و مسیر متابولیسم سرین. این تنوع، نشان‌دهنده اهمیت حیاتی این اسمولیت در پاسخ به تنش‌های محیطی است. به تازگی رویکردهای مبتنی بر به‌نژادی مولکولی با هدف افزایش بیان ژن‌های کلیدی مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی، توسعه یافته است. پس از جداسازی و همسانه‌سازی، این ژن‌ها در قالب سازه‌های بیانی مناسب، از طریق روش‌های پیشرفته‌ی زیست‌فناوری به‌ویژه تراریزش به‌واسطه‌ی آگروباکتریوم، به ژنوم گونه‌های حساس انتقال یافته و منجر به ایجاد ارقام متحمل می‌گردند.

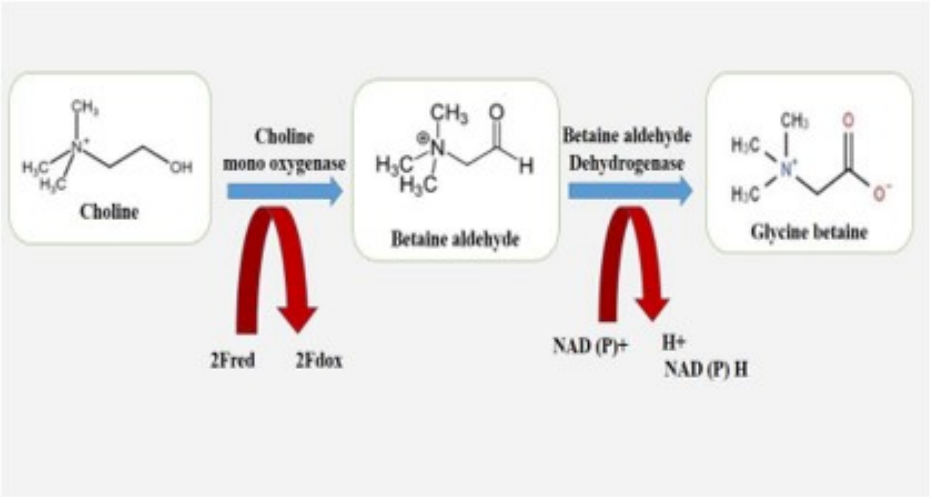
نتیجه‌گیری: در مواجهه با چالش‌های اقلیمی، افزایش بیوسنتز گلایسین‌بتائین چه به صورت کاربرد خارجی و چه به صورت بیوسنتز درون‌زای گلایسین‌بتائین، باعث افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی می‌گردد. دست‌ورزی ژنتیکی مسیرهای سنتز گلایسین‌بتائین در سطوح فیلوژنتیک مختلف (گیاهان و میکروارگانیسم‌ها) موجب افزایش بیوسنتز گلایسین‌بتائین می‌شود. از این راهکار می‌توان در افزایش تحمل گیاهان و کاهش اثرات نامطلوب تنش‌های غیرزیستی در گیاهان استفاده نمود. با این حال، کاربرد این روش به عنوان یک روش پایدار، نیازمند انجام تحقیقات دقیق‌تر و گسترده‌تر در زمینه بررسی تاثیرات آن بر سلامتی انسان و محیط‌زیست است تا در کنار سایر روش‌ها، به عنوان یکی از گزینه‌ها و با رعایت ملزومات ایمنی و زیستی به کار گرفته شود.

* نویسنده مسئول؛ تلفن: ؛ ۰۹۱۴۹۷۳۴۴۵۸

آدرس پست الکترونیک: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

۱- مقدمه

تغییرات اقلیمی جهانی به‌طور قابل توجهی، فراوانی و شدت تنش‌های غیرزیستی را افزایش داده است؛ همین امر با آسیب به سیستم‌های گیاهی، رشد، توسعه و عملکرد کلی آن‌ها را محدود می‌سازد (۱-۴). گیاهان در پاسخ به تنش‌های محیطی، انواع مکانیسم‌های سازگاری از جمله تجمع املاح سازگارساز، نظیر گلایسین‌بتائین را تکامل داده‌اند، که نقش محوری در محافظت از عملکرد سلولی در شرایط نامطلوب ایفا می‌کند (۵، ۶). این ماده که با نام بتائین نیز شناخته می‌شود، مشتقی از گلایسین متیله شده است که در گونه‌های گیاهی به عنوان ماده‌ای که اثرات مضر محیط‌های تنش‌زا را کاهش می‌دهد، شناخته می‌شود. ساختار زویتریونی (Zwitterionic) آن، شامل یک گروه تری‌متیل‌آمونیوم با بار مثبت و یک گروه کربوکسیل با بار منفی است. این ساختار، حلالیت و پایداری شیمیایی بالایی به آن می‌بخشد (شکل ۱). گلایسین‌بتائین با زیست‌سازگاری عالی، نسبت کربن به نیتروژن مطلوب و غلظت بالا می‌تواند تحمل گیاهان را در برابر طیف وسیعی از تنش‌های غیرزیستی افزایش دهد (۷). گلایسین‌بتائین با کاهش تجمع و سم‌زدایی گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (Reactive oxygen species; ROS)، تثبیت غشاها و ماکرومولکول‌ها، محافظت از اجزای سیستم فتوسنتزی نظیر آنزیم روبیسکو، فتوسیستم II (PSII)، آنزیم‌های چهاربخشی و ساختارهای پیچیده پروتئینی، در بازیابی فتوسنتز و کاهش اثرات تنش اکسیداتیو نقش دارد (۸). گلایسین‌بتائین می‌تواند در غلظت‌های بالا در سلول‌های گیاهی بدون تداخل با فرآیندهای متابولیکی طبیعی تجمع یابد و تحمل در برابر انواع تنش‌های اسمزی، دماهای بالا و پایین و آسیب‌های اکسیداتیو را به طور قابل توجهی افزایش دهد (۹). این مقاله با مروری جامع از پیشرفت‌های اخیر در درک مسیرهای بیوسنتز گلایسین‌بتائین، مکانیسم‌های تنظیمی و نقش‌های چندوجهی آن در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، روش‌های مولکولی در به‌نژادی مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان را بررسی می‌کند.

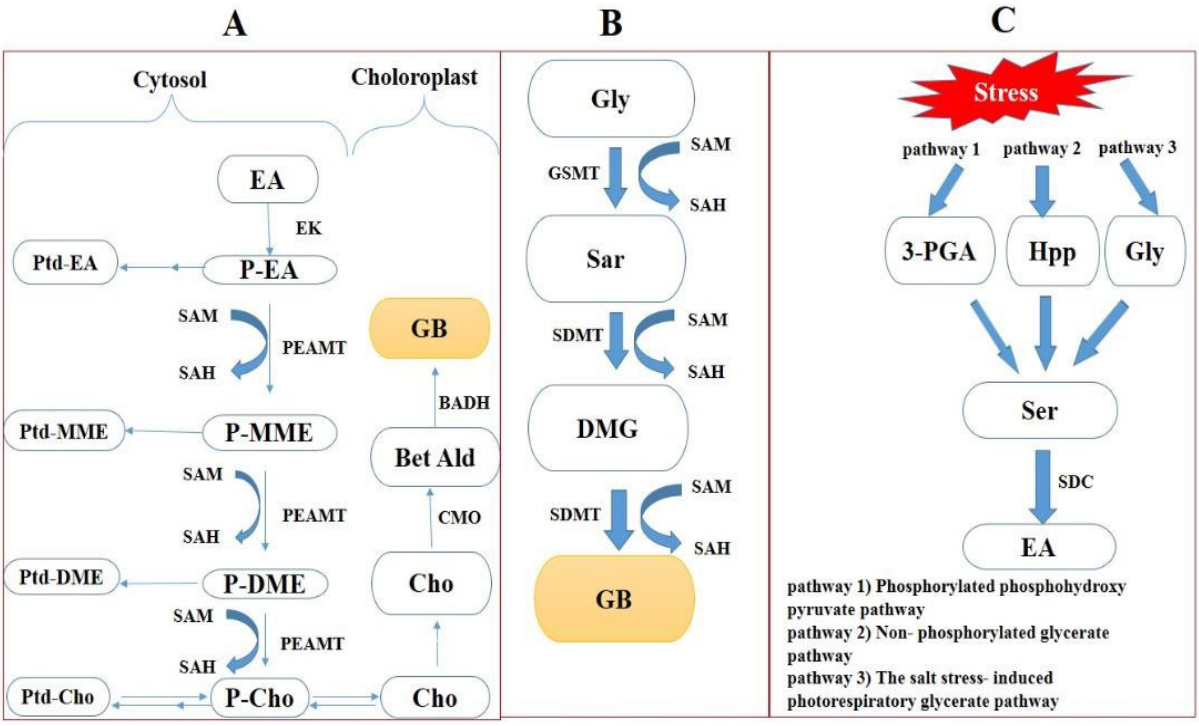


شکل ۱: ساختار مولکولی و مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان (۱۰).

مسیرهای بیوسنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها

مسیر اکسیداسیون کولین در گیاهان عالی: مسیر اکسیداسیون کولین در گیاهان عالی وابسته به بیوسنتز کولین است. بیوسنتز کولین در گیاهان با سایر یوکاریوت‌ها متفاوت است، زیرا تنها مسیر بیوسنتز آن، متیلاسیون فسفولیپید فسفاتیدیل اتانول آمین است. در این‌جا اولین و مهم‌ترین مرحله، تشکیل اتانول‌آمین (ET) و متیلاسیون فسفواتانول‌آمین (P-ET) است. تشکیل اتانول آمین از اسیدآمینه گلایسین از طریق تشکیل سرین و دکربوکسیلاسیون آن انجام می‌شود. متیلاسیون P-ET نیز توسط آنزیم سیتوزولی فسفواتانول آمین N-متیل ترانسفراز (PEAMT; EC 2.1.1.103) کاتالیز می‌شود. PEAMT واسطه دو متیلاسیون بعدی است که منجر به سنتز فسفوکولین (P-Cho) می‌شود که یا مستقیماً به کولین آزاد (Cho) دفسفریله می‌شود و یا در فسفاتیدیل کولین (Ptd-Cho) گنجانده شده و سپس به کولین تبدیل می‌شود (شکل A۲). صرف نظر از مراحل بیوسنتزی بعدی، تمام مسیرهای منتهی به کولین از طریق آنزیم PEAMT انجام می‌شود و شواهد مختلف نشان داده است که این آنزیم نقش مهمی در سنتز کولین دارد (۱۱، ۱۲). تجمع گلیسین‌بتائین، اعم از مسیر بیوسنتز درونی یا کاربرد خارجی (تغذیه برگی)، به عوامل متعددی وابسته است؛ از جمله این عوامل می‌توان به غلظت کولین در دسترس و کارایی انتقال درون‌سلولی آن به کلروپلاست اشاره کرد. زیرا کولین در کلروپلاست به گلایسین‌بتائین تبدیل می‌شود. کولین سیتوزولی باید به‌طور مؤثر به محل‌های بیوسنتز گلایسین‌بتائین منتقل شود. گیاهان دارای سیستم‌های انتقال متعددی برای انتقال کولین هستند. این سیستم‌ها شامل یک ناقل کولین با میل ترکیبی بالا (CHT1)، پروتئین‌های شبه ناقل کولین (CTL) با میل ترکیبی متوسط و ناقل‌های کاتیون آلی با میل ترکیبی اندک (OCTs) هستند (۱۳). اولین ناقل کولین گیاهی که شناسایی شد، *AtCTL1* از گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) بود. هم‌چنین، *AtCTL1* با افزایش انتقال ناقل‌های اکسین، بر توزیع اکسین تأثیر می‌گذارد و به این ترتیب، انتقال کولین را به فرآیندهای رشدی مرتبط می‌سازد. ارتولوگ CTL1 در ریشه‌های آرابیدوپسیس، که به‌عنوان (CHER1) شناخته می‌شود، ممکن است به‌طور مشابه، انتقال کولین را برای حفظ رشد ریشه تسهیل کند (۱۴). بنابراین، تولید گلایسین‌بتائین نه تنها به مقدار کولین سیتوزولی، بلکه به میزان ورود آن به کلروپلاست‌ها بستگی دارد (۱۵). اگرچه مسیر بیوسنتزی گلایسین‌بتائین در تمامی گیاهان فعال نیست، با این وجود، مسیر اکسیداسیون کولین، اصلی‌ترین سازوکار تولید این متابولیت در اکثر گیاهان عالی به‌شمار می‌رود (۱۲). این مسیر از طریق دو مرحله آنزیمی متوالی انجام می‌شود. در مرحله اول، کولین توسط کولین‌مونواکسیژناز (CMO)، به بتائین‌آلدهید، هیدروکسیله می‌شود. CMO، یک مونواکسیژناز وابسته به فردوکسین القا شونده توسط تنش است که در استرومای کلروپلاست قرار دارد (۱۶). بیان ژن *CMO* توسط عوامل مختلفی از جمله سیگنال‌های مربوط به شرایط تنش مانند خشکسالی و شوری بالا و هم‌چنین، فیتوهورمون‌ها تنظیم می‌شود (۱۷). به‌عنوان مثال، در گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی مانند چغندرقند و اسفناج، سطح رونویسی *CMO* در طول تنش خشکی، ۳ تا ۵ برابر و در تنش شوری شدید (۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) تا ۷ برابر افزایش یافت (۱۸). پس از تشکیل بتائین‌آلدهید، مرحله دوم بیوسنتز گلایسین‌بتائین شامل اکسیداسیون برگشت‌ناپذیر آن به گلایسین‌بتائین است که توسط آنزیم بتائین‌آلدهیددهیدروژناز (BADH) کاتالیز می‌شود. این آنزیم وابسته به NAD^+/NADP است و عمدتا در استرومای کلروپلاست قرار دارد (۱۲). ژن *BADH* که آنزیم BADH را کد می‌کند، در چندین گونه گیاهی از جمله اسفناج (۱۹)، جو (۲۰)، سیاه شور (*Suaeda glauca*) (۲۱) و تنباکو (۲۲) شناسایی شده است. میزان انباشت گلایسین‌بتائین در لاین‌های گندم تراریخته با بیش بیان *HvBADH1*، تحت تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار NaCl) تا ۲۱/۸۲ برابر افزایش یافت. آنزیم‌های BADH گیاهی عموما فعالیت کاتالیزوری بالاتری را با NAD^+ به‌عنوان کوفاکتور نشان می‌دهند. بیش بیان *BADH* به‌شدت، تجمع گلایسین‌بتائین را افزایش می‌دهد و تحمل تنش را بهبود می‌بخشد (۲۳). به‌طور مشابه، لاین‌های برنج تحت

تنش شوری با بیش بیان *OsBADH1*، محتوای گلایسین‌بتائین بیشتری را نشان دادند. برعکس، در جهش‌یافته‌هایی با کمبود BADH، بیوسنتز گلایسین‌بتائین به‌شدت مختل شد و حساسیت به تنش افزایش یافت. این یافته‌ها بیانگر نقش BADH به‌عنوان یک عامل تعیین‌کننده مهم در تحمل تنش با واسطه گلایسین‌بتائین است (۱۲). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که BADH نه تنها در سنتز گلایسین‌بتائین نقش دارد، بلکه به‌دلیل شباهت عملکردی‌اش با ω-آمینوآلدهیددهیدروژناز، آنزیمی که به‌طور گسترده در مسیر بیوسنتز پلی‌آمین‌ها یافت می‌شود، در متابولیسم پلی‌آمین‌ها نیز نقش دارد. این همپوشانی عملکردی، توضیح می‌دهد که چرا برخی از گیاهان مانند گندم و تنباکو که گلایسین‌بتائین را تجمع نمی‌دهند، همچنان، فعالیت آنزیم BADH قابل تشخیصی از خود نشان می‌دهند (۲۲).



شکل ۲: مسیرهای اکسیداسیون کولین و متیلاسیون گلایسین که در بیوسنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها نقش دارند. (A) مسیر اکسیداسیون کولین در گیاهان عالی، (B) مسیر متیلاسیون گلایسین در میکروارگانیسم‌ها و (C) مسیر متابولیسم سرین در شرایط تنش. EA: اتانول‌آمین؛ Ptd-EA: فسفاتیدیل‌اتانول‌آمین؛ P-EA: فسفواتانول‌آمین؛ Ptd-MME: فسفاتیدیل-مونومتیل‌اتانول‌آمین؛ P-MME: فسفو مونومتیل‌اتانول‌آمین؛ Ptd-DME: فسفاتیدیل-دی‌متیل‌اتانول‌آمین؛ P-DME: فسفودی‌متیل‌اتانول‌آمین؛ PEAMT: فسفواتانول‌آمین N-متیل‌ترانسفراز؛ P-Cho: فسفوکولین؛ Ptd-Cho : فسفاتیدیل‌کولین؛ Bet Ald : بتائین‌آلدهید؛ Cho: کولین؛ 3-PGA: ۳-فسفوگلیسرات؛ DMG: دی‌متیل‌گلیسین؛ EK: اتانول‌آمین‌کیناز؛ GB: گلایسین‌بتائین؛ GSMT: گلیسین/سارکوزین N-متیل ترانسفراز؛ HPP: هیدروکسی‌پیرووات؛ SAH: S-آدنوزیل‌هوموسیستئین؛ SAM: S-آدنوزیل‌متیونین؛ SDC: سرین‌دکربوکسیلاز؛ SDMT: سارکوزین/دی‌متیل‌گلیسین N-متیل‌ترانسفراز؛ SHMT: سرین‌هیدرومتیل‌ترانسفراز؛ Gly: گلیسین؛ Sar: سارکوزین؛ Ser: سرین (۱۲).

علاوه بر این، در پستانداران و برخی از میکروارگانیسم‌ها، مانند *Acinetobacter baumannii* و *Escherichia coli*، سیستم کولین‌اکسیداز دیگری بنام کولین‌دهیدروژناز (CDH) شناسایی شده است که به موازات مسیر سنتز گیاهی عمل می‌کند. در این سیستم، CDH ابتدا تبدیل کولین به یک محصول واسطه به‌نام بتائین‌آلدهید را کاتالیز می‌کند که آن هم متعاقباً توسط BADH به گلایسین‌بتائین تبدیل می‌شود (۲۴). در باکتری *E. coli*، CDH توسط ژن *betA* و BADH توسط ژن *betB* کدگذاری می‌شود. به تازگی مشخص شده است که یک کولین‌دهیدروژناز دیگر با نام DtCHDH، سنتز بتائین‌آلدهید را در جلبک *Dunaliella tertiolecta* کاتالیز می‌کند. این اولین باری است که یک کولین‌دهیدروژناز جدید در شاخه Chlorophyceae شناسایی شده است (۲۲). افزون بر این، در برخی از میکروارگانیسم‌های تخصصی مانند*Arthrobacter globiformis* (۲۵) و*Arthrobacter pascens* (۲۶) گلایسین‌بتائین می‌تواند طی یک مرحله سنتز شود. آنزیم کولین‌اکسیداز (COD) مستقیما سنتز اکسیداتیو گلایسین‌بتائین را از کولین به گلایسین‌بتائین کاتالیز می‌کند و پراکسیدهیدروژن را به‌عنوان یک محصول جانبی تولید می‌کند. افزون بر این، مسیر سنتز گلایسین‌بتائین در برخی از قارچ‌ها نظیر *Aspergillus fumigatus* نیز یافت شده است، که در آن کولین توسط کولین‌اکسیدازهای موجود در قارچ‌ها اکسید می‌شود تا گلایسین‌بتائین را در دو مرحله سنتز کند (۲۷).

مسیر متیلاسیون گلایسین در میکروارگانیسم‌ها: یک مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین جایگزین در برخی میکروارگانیسم‌های هالوفیل مانند *Ectothiorhodospira halochloris* و *Actinopolyspora halophila* وجود دارد که در آن گلایسین‌بتائین از طریق مسیر متیلاسیون گلایسین، سنتز می‌شود (۲۸). در این مسیر سه مرحله‌ای، ابتدا گلایسین توسط آنزیم گلایسین/ سارکوزین N-متیل‌ترانسفراز (GSMT) به سارکوزین (Sar) تبدیل می‌شود. سپس سارکوزین توسط آنزیم سارکوزین/ دی‌متیل‌گلیسین N-متیل‌ترانسفراز (SDMT) به دی‌متیل‌گلایسین (DMG) و در نهایت به گلایسین‌بتائین تبدیل می‌شود (شکل 2B). آزمایشات نشان داده است که S-آدنوزیل‌متیونین (SAM)، به‌عنوان دهنده متیل در این واکنش عمل می‌کند (۲۹). سنتز گلایسین‌بتائین از طریق مسیر متیلاسیون در میکروارگانیسم‌ها به‌ندرت صورت می‌گیرد؛ زیرا متیلاسیون از جمله فرآیندهای بیوشیمیایی بسیار هزینه‌بر (انرژی‌خواه) در طبیعت محسوب می‌شود. در واقع، سلول‌ها برای بازسازی هر گروه متیل فعال در قالب S-آدنوزیل متیونین (SAM)، مستلزم صرف انرژی معادل با ۱۲ مولکول ATP هستند که این هزینه گزاف، محدودیت تکاملی شدیدی را برای بهره‌گیری از این مسیر ایجاد می‌کند. عوامل متعددی ممکن است تداوم این مسیر طبیعی را توضیح دهند: الف) عدم توانایی اکسیداسیون کولین در برخی از میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی مانند *M. portucalensis* (۳۰). ب) عدم وجود ژن‌های لازم برای سنتز کولین‌اکسیداز در برخی از میکروارگانیسم‌های وابسته به بتائین، مانند باکتری گوگردی هالوفیل *E. halochloris* (۳۱). ج) وجود هر دو مسیر اکسیداسیون کولین و گلایسین در برخی از میکروارگانیسم‌های هالوفیل مانند باکتری *A. halophile*. مسیر متیلاسیون انرژی‌زا می‌تواند به‌عنوان یک مسیر احتمالی، زمانی که پیش‌ساز مسیر اکسیداسیون کولین، محدود است، عمل کند (۳۲). متیل ترانسفرازهای GSMT و SDMT که برای این مسیر ضروری هستند، در چندین باکتری اکستریموفیل، از جمله آرکی‌باکتری‌های هالوفیل متانوژن مانند *Methanohalophilus portucalensis*؛ باکتری‌های فتوسنتزکننده گوگردی مانند *Ectothiorhodopspira halochloris*؛ باکتری‌های شورپسند اکتینوفیل مانند *Actinopolyspora actinomycetes*؛ و باکتری‌های فتوسنتزکننده هالوفیل مانند *Halochloris* شناسایی شده‌اند. علاوه بر این، سیانوباکتری‌هایی نظیر *Aphanothece halophytica* و *Synechococcus* sp. WH8102 نیز دارای این آنزیم‌ها می‌باشند (۳۳). با توجه به اهمیت مسیر متیلاسیون گلایسین‌بتائین به‌عنوان یک مکانیسم مهم در تحمل میکروارگانیسم‌ها به تنش شوری، ژن‌های آنزیم‌های کلیدی این مسیر نظیر *GSMT* و *SDMT*، معمولا از طریق همسانه‌سازی به گیاهان یا

میکروارگانیسم‌های حساس به شوری انتقال می‌یابند تا میزان سنتز گلایسین‌بتائین و به تبع آن، تحمل آن‌ها در برابر تنش شوری افزایش یابد (۸).

مسیر متابولیسم سرین در شرایط تنش: گلایسین‌بتائین ممکن است از سرین (Ser) مشتق شده از مسیرهای (۱) گلیسرات غیر فسفریله شده، (۲) فسفوهیدروکسی پیروات فسفریله شده (۳۴، ۳۵) یا (۳) گلیسرات تنفس نوری ناشی از تنش شوری نیز سنتز گردد (۷، ۱۲، ۳۶، ۳۷). در این مسیرها، سرین از طریق آنزیم سرین‌دکربوکسیلاز (SDC) به اتانول‌آمین تبدیل می‌شود (شکل ۲C).

با توجه به تنوع مسیرهای سنتز گلایسین‌بتائین و شناسایی کولین و گلایسین به‌عنوان پیش‌سازهای گلایسین‌بتائین در مسیرهای اکسیداسیون کولین و متیلاسیون گلایسین و مصرف بالای ATP در مسیر متیلاسیون گلایسین، می‌توان با شناسایی و مطالعه نقش هر یک از ژن‌های مرتبط در این مسیرها، به ویژه ژن‌های درگیر در سنتز آنزیم‌ها، از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی افزایش بیوسنتز گلایسین‌بتائین تحت شرایط تنش‌های غیرزیستی استفاده نمود. به‌عنوان مثال، یکی از این آنزیم‌ها، ATP سنتاز است که می‌تواند به‌طور گسترده در این زمینه استفاده شود.

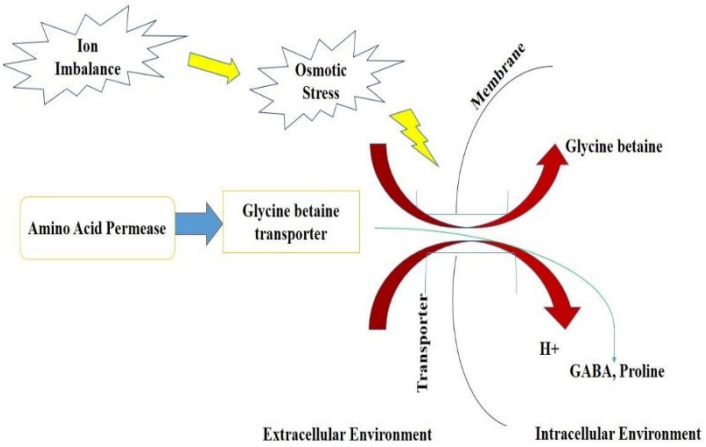
مکانیسم انتقال گلایسین‌بتائین در گیاهان

گلایسین‌بتائین عمدتا در ریشه‌ها و بافت‌های آوندی تولید شده و در برگ‌های جوان‌تر گیاه تجمع می‌یابد (۳۸). پس از وقوع تنش اسمزی، برگ‌های جوان، تجمع قابل توجهی از گلایسین‌بتائین نشان می‌دهند. گلایسین‌بتائین عمدتا در پلاستید و کلروپلاست سلول‌های برگ‌های جوان انباشته می‌شود، جایی که نقش حیاتی در محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی دارد و در نتیجه کارایی فتوسنتز را حفظ می‌کند (۳۹). سطح تجمع گلایسین‌بتائین اغلب به‌طور مستقیم با سطح مقاومت گیاه در برابر تنش‌های غیرزیستی مرتبط است (۴۰، ۴۱). ظرفیت تجمع گلایسین‌بتائین در بین ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان متفاوت است. به‌عنوان مثال، برخی از ژنوتیپ‌های ذرت و سورگوم در تجمع گلایسین‌بتائین فعال هستند، در حالی‌که گیاه برنج فاقد این توانایی است (۳۹). در بیشتر موارد، ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش، در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس، تمایل به تجمع سطوح بالاتری از گلایسین‌بتائین دارند. با این‌حال، این رابطه در مورد تمام گیاهان صدق نمی‌کند، زیرا برخی از گونه‌های گیاهی از جمله آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*)، بادمجان (*Solanum melongena*)، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*)، تنباکو (*Nicotiana tabacum*)، گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، برنج (*Oryza sativa*)، هنگامی‌که در معرض شرایط تنش قرار می‌گیرند، تجمع قابل توجهی از گلایسین‌بتائین نشان نمی‌دهند (۳۸، ۴۲، ۴۳).

انتقال گلایسین‌بتائین در گیاهان از طریق بافت‌های آوندی (به‌ویژه آوند آبکش) صورت می‌پذیرد؛ زیرا الگوی جابه‌جایی آن با جریان مواد فتوسنتزی (پرورده‌ها) به‌سمت مخازن مصرف (بافت‌های در حال نمو) هم‌سو است (۴۳). هم‌چنین، گلایسین‌بتائین می‌تواند از محل سنتز خود منتقل شود و در بافت‌های مختلف گیاه تجمع یابد (۴۴).

سنتز گلایسین‌بتائین وابسته به احیای (کاهش) فردوکسین است که عمدتا در برگ‌های بالغ رخ می‌دهد؛ این امر توجیه‌کننده سنتز اولیه این ماده در بافت‌های پیرتر، پیش از انتقال به بافت‌های جوان و در حال رشد است (۴۵). بررسی تأثیر تنش شوری بر گیاه گوجه‌فرنگی نشان داد که کلروپلاست‌های تحت تنش، حاوی مقادیر بالایی از گلایسین‌بتائین هستند. تجمع بالای این ماده

در کلروپلاست، بیانگر وجود مکانیسم‌های انتقال اختصاصی در غشای کلروپلاست است. ژن *LeProT1* گوجه‌فرنگی که همولوگ یک ناقل پرولین در گیاه آرابیدوپسیس است، اولین مدرک مستقیمی بود که فعالیت انتقال گلایسین‌بتائین را نشان داد. *LeProT1* وقتی در مخمر بیان شد، انتقال با غلظت بالا را برای گلایسین‌بتائین و انتقال با غلظت پایین را برای γ-آمینوبوتیریک‌اسید (GABA) و پرولین نشان داد (۴۶). مشخص شده است که این پروتئین غشایی، عضوی از پرمئازهای اسیدآمینه (Amino Acid Permeases; AAPs) است که در هم‌انتقالیِ (Symport) پروتون با اسیدهای آمینه و املاح سازگار، نقش دارد (۴۷). نتایج مشابهی با *ProT2*، ناقل GABA و پرولین، که از آرابیدوپسیس گرفته شده بود، به دست آمد (۴۸). علاوه بر این، نتایج آزمایش‌های کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین نشان داد که محلول‌پاشی گلایسین‌بتائین روی برگ‌های بالغ گوجه‌فرنگی منجر به انتقال سریع گلایسین‌بتائین از طریق آوندهای آبکش به بافت‌های مریستمی، مانند جوانه‌های گل و نوک شاخه‌ها شد (۴۹). به‌طور مشابه، در گیاهان تراریخته آرابیدوپسیس (۵۰) و گوجه‌فرنگی (۵۱)، گلایسین‌بتائین محلول‌پاشی‌شده به‌طور فعال از طریق آوندهای آبکش به اندام‌های در حال نمو منتقل شد. این انتقال نشان می‌دهد که گلایسین‌بتائین خارجی می‌تواند در سراسر گیاه توزیع شود و به بافت‌های هدف برسد تا در جایی‌که بیشتر مورد نیاز است، در برابر تنش محافظت نماید (۱۲). انتقال و توزیع بهینه گلایسین‌بتائین به‌عنوان یک اسمولیت حیاتی در سراسر سلول برای حفظ فشار اسمزی و القای مکانیسم‌های مرتبط با تحمل تنش، ضروری است (۵۲). با این‌حال، مکانیسم انتقال گلایسین‌بتائین در گیاهان هنوز به‌طور کامل درک نشده است. تا به امروز، هیچ پروتئین گیاهی که به‌طور خاص گلایسین‌بتائین را از طریق غشاها منتقل کند، شناسایی نشده است (۵۳). مکانیسم کلی انتقال گلایسین‌بتائین در سلول‌های گیاهی در شکل ۳ نشان داده شده است. انتقال گلایسین‌بتائین به‌داخل سلول، در اثر عدم تعادل یونی ناشی از تنش اسمزی، القا می‌شود. ناقل‌های گلایسین‌بتائین، یون‌های H^+ و گلایسین‌بتائین را به‌طور همزمان منتقل می‌کنند و هم‌چنین، به میزان کمتری به پرو و گاما آمینوبوتیریک‌اسید نفوذپذیر هستند (۹). یکی از راه‌کارهای عملی در درک بهتر مکانیسم انتقال گلایسین‌بتائین تحت شرایط تنش، استفاده از ایزوتوپ‌های نشان‌دار در کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین است. کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین، از طریق محلول‌پاشی برگی، تیمار بذری یا آبیاری خاک، یک راه‌کار عملی برای افزایش تحمل گیاه به تنش است. در میان این موارد، کاربرد برگی ارجحیت دارد زیرا گلایسین‌بتائین به‌طور مؤثر از طریق برگ‌ها جذب می‌شود و منجر به افزایش سریع غلظت داخلی آن در گیاه می‌شود.



شکل ۳: مکانیسم کلی انتقال گلایسین‌بتائین در سلول‌های گیاهی (۹).

مکانیسم‌های عملکردی گلایسین‌بتائین در تنظیم پاسخ‌های گیاه به تنش‌های غیرزیستی

تنظیم اسمزی: چالش اصلی که گیاهان در محیط‌های شور و خشک با آن مواجه هستند، افزایش فشار اسمزی خارج سلولی است که می‌تواند منجر به کاهش پتانسیل آب در محیط خارجی، کم‌آبی سلولی و از دست دادن تورژسانس شود (۵۴، ۵۵). تنظیم اسمزی یکی از اولین و حیاتی‌ترین پاسخ‌های سلولی به تنش‌های محیطی است. نقش حیاتی تجمع محافظ‌های اسمزی، مانند گلایسین‌بتائین و پرولین، در تنظیمات اسمزی و بهبود فیزیولوژی گیاهان تحت تنش، اکنون به‌طور کامل مستند شده است (۷). گلایسین‌بتائین به تنظیم فشار اسمزی در داخل و خارج سلول کمک می‌کند تا هومئوستازی بین محیط‌های داخلی و خارجی برقرار شود و در نتیجه از دهیدراته شدن سلول جلوگیری شود (۵۶). گلایسین‌بتائین، به‌دلیل حلالیت بالا و غیرفعال از نظر متابولیکی، بدون تداخل با فرآیندهای بیوشیمیایی طبیعی در سیتوزول تجمع می‌یابد (۵۷). علاوه بر این، گلایسین‌بتائین می‌تواند تجمع سایر املاح سازگارساز نظیر پرولین و قندهای محلول را تحریک کند. نشان داده شده است که در تنش‌های خشکی و شوری، گلایسین‌بتائین، بیان پیرولین-۵-کربوکسیلات‌سنتتاز (P5CS)، ژن کلیدی در بیوسنتز پرولین و فعالیت ساکارزفسفات‌سنتتاز (SPS) را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش سطح پرولین و قندها می‌شود (۵۸). اثر ترکیبی گلایسین‌بتائین، پرولین و قندها به‌صورت هم‌افزایی، پتانسیل اسمزی سلولی را کاهش داده و به حفظ تورژسانس و در نتیجه فعالیت متابولیکی و عملکرد فیزیولوژیکی در شرایط تنش خشکی و شوری کمک می‌کند (۱۲، ۵۹).

تنظیم هومئوستازی یونی: حفظ هموستازی یونی برای عملکرد سلولی، به ویژه در شرایط تنش شوری، که در آن تجمع بیش از حد Na^+ و Cl^- می‌تواند فعالیت آنزیمی را مختل کرده و پتانسیل‌های غشایی را مختل کند، ضروری است. گیاهان حساس به شوری تحت شرایط تنش شوری، بهم خوردن تعادل یونی، تنش اسمزی و تغییر فشار سلولی را تجربه می‌کنند، در حالی‌که گیاهان مقاوم به شوری، تنش شوری را با ذخیره نمک اضافی در واکوئل‌ها، تنظیم غلظت نمک سلولی و حفظ نسبت متعادل پتاسیم به سدیم، مدیریت می‌کنند. در واقع، تحمل شوری اغلب به حفظ نسبت ایده‌آل یون‌های پتاسیم و سدیم در شاخه‌ها بستگی دارد که با کاهش جذب سدیم و افزایش جذب پتاسیم مشخص می‌شود. نقش گلایسین‌بتائین در حفظ هموستازی یونی، به‌ویژه از طریق افزایش تجمع پتاسیم، گیاهان را قادر می‌سازد تا با بهبود نسبت‌های K^+/Na^+ یا Ca^{2+}/Na^+ در برابر تنش شوری مقاومت کنند (۵۶). گلایسین‌بتائین با افزایش جذب انتخابی یون‌های مفید مانند K^+ و افزایش دفع یا جداسازی واکوئلی یون‌های سمی به حفظ تعادل یونی سلولی کمک می‌کند و از پایداری متابولیکی در شرایط تنش شوری پشتیبانی می‌کند (۶۰). در سطح مولکولی، گلایسین‌بتائین، بیان ژن‌های ناقل پتاسیم را افزایش می‌دهد. به عنوان مثال، ناقل پتاسیم Potassium transporter 21-like، یکی از اعضای خانواده پرمئاز؛ (KUP)، توسط گلایسین‌بتائین القا می‌شود و جذب K^+ را تحت تنش شوری افزایش می‌دهد (۶۱). این امر به حفظ غلظت بهینه K^+ سیتوزولی و نسبت مطلوب K^+/Na^+ که برای عملکرد آنزیم و تورژسانس سلولی ضروری است، کمک می‌کند. در شرایط تنش شوری، گیاهان تیمار شده با گلایسین‌بتائین تمایل به تجمع بیشتر K^+ در ریشه‌ها و محدود کردن انتقال Na^+ به شاخه‌ها دارند. علاوه بر این، گلایسین‌بتائین می‌تواند سیستم‌های انتقال همزمان H^+/K^+ را فعال کرده و پمپ‌های خروج Na^+ را تحریک کند و سمیت Na^+ را کاهش دهد (۱۲، ۶۲). در شرایط تنشِ سمیتِ انباشتِ فلزات سنگین، محلول‌پاشی گلایسین‌بتائین، فعالیت و بیان ناقل‌ها و کانال‌های خاص، مانند H^+-ATPase و خانواده ناقل‌های فلزی (ZIP، NRAMP) را تعدیل می‌کند و جذب انتخابی و جداسازی یون‌های ضروری را افزایش می‌دهد، در حالی که تجمع فلزات سمی را محدود می‌سازد. این اثرات ترکیبی، گیاهان را قادر می‌سازد تا جذب مواد مغذی را حفظ کرده و سمیت فلزات سنگین را در شرایط تنش کاهش دهند (۶۳).

پایداری سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی: در سلول‌های گیاهی، چرخه‌ی آسکوربات-گلوتاتیون (AsA-GSH) اصلی‌ترین مسیر دفاعی آنتی‌اکسیدانتی برای پالایش پراکسیدهیدروژن است، که از آنتی‌اکسیدانت‌های غیر آنزیمی AsA (Vitamin C or ascorbic acid) و GSH (Glutathione) و هم‌چنین، چهار آنزیم مهم آسکوربات‌پراکسیداز (APX)، مونودی‌هیدروآسکوربات‌ردوکتاز (MDHAR)، هیدروآسکوربات‌ردوکتاز (DHAR) و گلوتاتیون‌ردوکتاز (GR) تشکیل شده است که در پایداری اکسایشی و به حداقل رساندن پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نقش اساسی ایفا می‌کند (۶۴). طی تنش‌های غیرزیستی، پایداری سیستم چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و اکسیداسیون و احیا سلولی، مستلزم تعادل پویا بین تولید ROS و مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانتی است (۶۵). گیاهان با فعال کردن مکانیسم‌های دفاعی، از جمله بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه (SMs) مانند آلکالوئیدها، فلاوونوئیدها، ترپنوئیدها و گلوکوزینولات‌ها (GSLs) و تحریک سنتز املاح سازگارساز مانند پرولین، گلایسین‌بتائین و قندهای محلول، که از دهیدراته شدن سلولی جلوگیری می‌کنند، به تنظیم تعادل اسمزی سلولی کمک می‌کنند. پیام‌رسانی کلسیم (Ca^{2+}) در این پاسخ‌ها نقش اساسی دارد و به‌عنوان سیگنال اولیه تنش عمل می‌کند. ورود Ca^{2+} باعث تحریک پروتئین‌کینازهای وابسته به کلسیم (CDPKs) و سایر مولکول‌های پیام‌رسان می‌شود که ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش را فعال می‌کنند. علاوه بر این، پیام‌رسانی Ca^{2+} بیوسنتز SMها را از طریق فاکتورهای رونویسی مانند MYB و WRKY تنظیم می‌کند. این SMها، با تنظیم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و کاتالاز (CAT)، با کمک آبشارهای پیام‌رسانی MAPK، به سم‌زدایی ROS کمک می‌کنند و گیاهان را قادر می‌سازند تا عملکردهای متابولیک طبیعی خود را در این شرایط چالش‌برانگیز، حفظ نمایند (۶۵). نتایج بررسی تغییرات بیان ژن *WRKY* در گلابی تحت شرایط تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی با افزایش بیان *WRKY* موجب افزایش محتوی گلایسین‌بتائین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی شد (۶۷). در کاهو، تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم، کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین با غلظت ۲۵ میلی‌مولار، موجب افزایش محتوای فنل کل، تعدیل فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تغییر محتوای اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه، در مقایسه با گیاهان شاهد شد (۶۸). در گلابی چینی (Nanguo" *Pyrus ussuriensis*") تحت تنش دماهای پایین، کاربرد گلایسین‌بتائین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی APX، CAT و SOD، کاهش پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و در نتیجه بهبود کیفیت میوه شد (۶۹). محلول‌پاشی موضعی پیاز با گلایسین‌بتائین، از طریق انباشت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی کلیدی نظیر گلوتاتیون، اسیدآسکوربیک و ترکیبات فنلی منجر به کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و افزایش تحمل گیاه در برابر تنش شوری می‌شود (۱۰). کاربرد گلایسین‌بتائین از طریق کاهش نسبت K^+/Na^+، ممانعت از جذب یون‌های سدیم و تقویت سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانتی، منجر به تعدیل سمیت ناشی از شوری و افزایش تحمل گیاه لوبیا چیتی می‌شود (۷۰). هم‌چنین، کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین در فلفل، باعث افزایش بیان ژن‌های کدکننده سوپراکسید دیسموتاز (*CaSOD*)، پراکسیداز (*CaPOD*)، کاتالاز (*CaCAT*)، گلوتاتیون ردوکتاز (*CaGR1*) و دهیدروآسکوربات‌ردوکتاز (*CaDHAR*) شد (۷۱).

تثبیت ساختارهای غشایی: اصلی‌ترین چالش گیاهان در مواجهه با تنش گرمایی، حفظ یکپارچگی غشاهای بیولوژیک و پایداری عملکردی پروتئین‌ها است. گلایسین‌بتائین با جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، اتصال به پروتئین‌ها و عمل به عنوان یک محافظ مولکولی، تاخوردگی نادرست پروتئین‌ها را در دماهای بالا کاهش می‌دهد و از ساختار و عملکرد پروتئین‌ها محافظت می‌کند (۷۲). تداوم یکپارچگی غشا، پیش‌شرط اصلی برای حفظ بخش‌بندی‌های سلولی، فرایندهای جابه‌جایی و سازوکارهای انتقال پیام محسوب می‌شود (۷۳). تحت شرایط تنش، تجمع مالون‌دی‌آلدهید می‌تواند غشا را تخریب کرده و عملکرد آن را مختل سازد. گلایسین‌بتائین از طریق تعامل با مولکول‌های فسفولیپیدی، موجب تعدیل سیالیت و پایداری غشاهای سلولی

می‌شود. این سازوکار با کاهش دمای گذار فاز (Phase Transition Temperature) لیپیدهای غشایی، منجر به تقویت استحکام ساختاری و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش در غشا می‌شود (۷۴). در کلروپلاست‌ها، گلایسین‌بتائین سیالیت غشاهای تیلاکوئید را حفظ می‌کند و از بروز تغییرات مضر در شرایط تنش گرما یا شوری جلوگیری می‌کند. به‌طور مشابه، گلایسین‌بتائین غشاهای میتوکندری را تثبیت، ساختار کریستا را حفظ و از فروپاشی پتانسیل غشا و جداسازی کمپلکس‌های تنفسی جلوگیری می‌کند (۷۵). این اقدامات، سنتز کارآمد ATP را در شرایط تنش تضمین می‌کند. در سطح مولکولی، فرض بر این است که گلایسین‌بتائین با پایدارسازیِ (Stabilization) پروتئین‌های غشایی، موجب تداوم شیب‌های یونی، حفظ فعالیت‌های آنزیمی و پایداریِ مسیرهای پیام‌رسانی می‌شود؛ فرایندهایی که برای بقای گیاه در شرایط تنش، حیاتی هستند (۱۲). یافته‌های یک پژوهش مزرعه‌ای در گیاه گندم نشان داد که در شرایط تنش گرمایی، تکرارِ محلول‌پاشی نیترات پتاسیم و گلایسین‌بتائین در دفعات متعدد، اثربخشی بیشتری نسبت به یک‌بار مصرفِ این ترکیبات با دوز بالاتر دارد. محلول‌پاشی برگی اسمولیت‌ها، فارغ از نوع رقم، به‌طور مؤثری از محتوای کلروفیلِ برگ‌های انتهایی محافظت کرده و پایداریِ غشای سلولی را در مراحل پس از گل‌دهی حفظ می‌کند (۷۶، ۷۷).

محافظت از سیستم فتوسنتزی: تنش‌های محیطی با اختلال در متابولیسم فتوسنتزی و کاهش غلظت کلروفیل، موجب تضعیف ظرفیت فتوسنتزی و محدودیت هدایت روزنه‌ای در گیاه می‌شوند؛ فرآیندهایی که در نهایت عملکرد بیولوژیک گیاه را به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌دهند (۷۸، ۷۹). در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، فردوکسین (Fd) الکترون‌ها را از فتوسیستم I (PSI) دریافت کرده و به آنزیم فردوکسین $NADP^+$-ردوکتاز (FNR) منتقل می‌کند. این فرآیند منجر به احیای $NADP^+$ به NADPH می‌شود که به‌عنوان دهنده الکترونِ ضروری برای فعالیت آنزیمCMO عمل می‌کند. در نتیجه، عملکرد CMO ارتباط تنگاتنگی با کارایی فتوسنتز دارد. این ارتباط نشان می‌دهد که بیوسنتز مؤثر گلایسین‌بتائین نیاز به وجود یک سیستم فتوسنتزی سالم دارد. آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی به دستگاه فتوسنتزی می‌تواند روند کاهش فردوکسین و تولید NADPH را مختل و در نتیجه سنتز گلایسین‌بتائین را متوقف سازد. تنش‌های غیرزیستی با مهار تثبیت CO_2 و کاهش سطح اسید ۳-فسفوگلیسریک، منجر به افزایش تولید ROS می‌گردند. به این ترتیب، با سرکوب تثبیت فتوسنتزی CO_2 و عدم بازیافت $NADP^+$، کمبود گیرنده نهایی الکترون در PSI منجر به انتقال مستقیم الکترون‌ها به اکسیژن مولکولی می‌گردد. این فرایند با تولید گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و پراکسیدهیدروژن (H_2O_2)، در نهایت موجب مهار نوری PSII می‌شود. آسیب نوری به PSII بر اساس تخریب فتوشیمیایی پروتئین D1 به‌عنوان یکی از اجزای کلیدی مرکز واکنش (Reaction center) تعریف می‌شود (۸۰). اگرچه بیوسنتز گلایسین‌بتائین (به‌ویژه در مسیر CMO) مستلزم عملکرد بهینه PSI است، اما خودِ این ترکیب نقشی کلیدی در محافظت از کارایی فتوسنتزی و به‌ویژه پایداری PSII تحت شرایط تنش ایفا می‌کند. طی تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی و سرما، PSII آسیب‌پذیرتر از PSI است، که باعث می‌شود جریان الکترون محدود از طریق PSI ادامه یابد و فعالیت CMO حفظ شود. علاوه بر این، گلایسین‌بتائین به‌طور اختصاصی موجب تثبیت کمپلکس اکسیژن‌ساز (OEC) می‌شود. این ماده با حفظ پروتئین‌های کلیدی نظیر D1 و D2 در برابر تخریب اکسیداتیو، از بروز مهار نوری در PSII جلوگیری می‌کند. افزون بر این، گلایسین‌بتائین با حفظ پایداری ساختاریِ کوفاکتورهای مرتبط با PSII، به‌ویژه خوشه‌های منگنز (Mn_4CaO_5)، به تداوم انتقال الکترون کمک می‌کند. این امر از طریق تسهیل فرآیند ترمیم و بازیابی PSII، در نهایت منجر به بهبود راندمان فتوسنتزی گیاه می‌شود (۸۱). این فرآیند منجر به شکل‌گیری یک حلقه بازخورد مثبت (Positive Feedback Loop) می‌شود؛ به طوری که در مراحل اولیه، بیوسنتز گلایسین‌بتائین به الکترون‌های

حاصل از PSI متکی است، اما تجمع متعاقب این اسمولیت، با تسهیل بازیابی و حفظ فعالیت PSII، به‌طور غیرمستقیم موجب پایداری فتوسنتز و تداوم تولید گلایسین‌بتائین می‌شود (۱۲). علاوه بر این، مرحله دوم سنتز گلایسین‌بتائین که توسط BADH کاتالیز می‌شود، می‌تواند از NAD^+، کوفاکتوری که به‌طور غیرمستقیم با جریان الکترون فتوسنتزی مرتبط است، استفاده کند که نشان دهنده جدا شدن مقطعی آن، از PSI در شرایط تنش است. شواهد علمی بسیاری، این موضوع را تایید کرده است. در چغندرقند و سورگوم، بیان *CMO* و *BADH* تحت شوری و خشکی به شدت افزایش می‌یابد و منجر به تجمع مداوم گلایسین‌بتائین علیرغم کاهش تثبیت کربن و دسترسی به آب می‌شود (۱۸). هم‌چنین، در *Suaeda liaotungensis*، عناصر القا شده توسط تنش شوری در ناحیه پروموتر *BADH*، میزان رونویسی این ژن را در پاسخ به تنش به مقدار قابل‌توجهی افزایش داد که نشان می‌دهد تنظیم رونویسی، سرکوب گذرای فعالیت CMO را در طول تنش‌های شدید، جبران می‌کند (۸۲). نقش گلایسین‌بتائین در محافظت از کمپلکس‌های PSII و انتقال پایدار الکترون، در بسیاری از محصولات، از جمله ذرت (۳۸)، پنبه (۸۳)، برنج (۸۴)، گندم (۸۵، ۸۶) و تنباکو (۴۳) گزارش شده است. گلایسین‌بتائین، تثبیت CO_2 را با محافظت از آنزیم‌های تثبیت‌کننده CO_2، روبیسکو و روبیسکواکتیواز، در برابر تنش غیرزیستی حفظ می‌کند (۸۷). افزون بر این، محلول‌پاشی برگی گلایسین‌بتائین در دانهال‌های نیشکر تحت تنش خشکی، از طریق بهبود هدایت روزنه‌ای، نرخ تعرق، فتوسنتز و پتانسیل آب برگ، اثرات تنش را تعدیل کرد. این تیمار با افزایش حداکثر راندمان کوانتومی (Fv/Fm) و کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر PSII (ΦPSII)، موجب کاهش مهار نوری و افزایش پایداری PSII گردید (۸۸). بنابراین، گلایسین‌بتائین به‌عنوان یک محافظ اسمزی و مولکولی، از طریق مجموعه‌ای پیچیده از مکانیسم‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی هماهنگ، نقش بسیار مهمی در سازگاری گیاهان با تنش‌های غیرزیستی ایفا می‌کند.

ارتباط گلایسین‌بتائین با فیتوهورمون‌های گیاهی

گلایسین‌بتائین با برانگیختن سازوکارهای دفاعیِ چندگانه، از گیاه در برابر پیامدهای مخرب تنش محافظت می‌کند. تحقق این نقش حفاظتی، مستلزم تعاملات پیچیده میان اجزای مولکولی در شبکه‌های پیام‌رسانی (Signaling networks) است. فیتوهورمون‌هایی نظیر اسیدآبسیزیک (ABA)، اتیلن (ET)، اسیدسالیسیلیک (SA) و سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (PGRs) مولکول‌های سیگنال‌دهنده اصلی در گیاهان هستند و نقش مهمی در تنظیم پاسخ‌های مرتبط با تنش‌های غیرزیستی در همه گونه‌های گیاهی ایفا می‌کنند (۱۰).

اتیلن (ET): هورمون گازی اتیلن برای رشد و نمو گیاه ضروری است. علاوه بر این، اتیلن با تحریک طویل شدن ساقه، گسترش سطح برگ، رشد شعاعی ساقه و ضخامت برگ، مقاومت در برابر تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد. در شرایط تنش، تولید اتیلن و گلایسین‌بتائین ارتباط نزدیکی باهم دارند زیرا یک گروه متیل از S- آدنوزیل متیونین (SAM) به کولین منتقل می‌شود که تولید گلایسین‌بتائین را تسهیل می‌کند. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که گونه‌های با قابلیت تجمع بالای اتیلن مانند تنباکو و گوجه‌فرنگی، مقادیر زیادی از گلایسین‌بتائین را تحت تنش‌های محیطی انباشته می‌سازند (۸۹، ۹۰).

اسید آبسیزیک (ABA): اسیدآبسیزیک یکی از اصلی‌ترین و مهم‌ترین فیتوهورمون‌های مرتبط با تنش است که طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی را تحت عوامل تنش‌زای غیرزیستی تنظیم می‌کند. در پاسخ به تنش‌های محیطی، میزان اسیدآبسیزیک در بافت‌های گیاهی به سرعت تجمع می‌یابد که باعث بسته شدن روزنه‌ها می‌شود تا گیاه را از خشک شدن سریع ناشی از تنش اسمزی محافظت کند (۹۱). تحت شرایط تنش، افزایش بیان ژن‌های *NCED*، منجر به افزایش آنزیم ۹-

سیس‌اپوکسی‌کاروتنوئیددی‌اکسیژناز (NCED)، آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز اسیدآبسیزیک می‌گردد (۶۴). افزایش سطوح اسیدآبسیزیک درون‌زا، بیوسنتز گلایسین‌بتائین را از بتائین‌آلدهید، فرآیندی که توسط BADH تنظیم می‌شود، تقویت می‌کند (۹۰). هم‌چنین، افزایش سطح رونویسی *BADH* در برگ‌ها و ریشه‌های گیاه به‌عنوان محرک‌های اصلی افزایش ثانویه تجمع گلایسین‌بتائین، پس از افزایش محتوای اسیدآبسیزیک درون‌زا، گزارش گردید (۹۲). کاربرد ترکیبی اسیدآبسیزیک با گلایسین‌بتائین، توانایی گیاه آرابیدوپسیس را در تحمل دمای انجماد بهبود بخشید. با این وجود، میزان گلایسین‌بتائین درون‌زا با تیمار اسیدآبسیزیک به تنهایی نیز افزایش یافت که نشان می‌دهد اسیدآبسیزیک ممکن است در بالادست مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین عمل کند. یک بررسی در مورد تنظیم زمانی بین اسیدآبسیزیک و گلایسین‌بتائین مشخص نمود که تنش خشکی در ابتدا محتوای اسیدآبسیزیک درون‌زا را در سلول‌های گیاهچه‌های ذرت افزایش داد و به‌دنبال آن، رونویسی BADH و محتوای گلایسین‌بتائین افزایش یافت (۹۳).

اسید سالیسیلیک (SA): تحمل تنش غیرزیستی در گیاهان با تجمع اسیدسالیسیلیک درون‌زا مرتبط است. اسیدسالیسیلیک سنتز آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را افزایش می‌دهد تا به‌طور مؤثر گونه‌های فعال اکسیژن را از بین برده و سپری دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد نمایند (۹۴). در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، افزایش سطح اسیدآبسیزیک اغلب با افزایش غلظت اسیدسالیسیلیک همزمان می‌شود. متعاقباً، اسیدسالیسیلیک می‌تواند به‌صورت مستقیم بر مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین اثر گذاشته و یا به‌طور غیرمستقیم، از طریق برهم‌کنش متقابل با اسیدآبسیزیک، میزان تولید این اسمولیت را تحت تأثیر قرار دهد (۹۰). شواهد موجود در گیاه گندم نشان‌دهنده وجود یک برهم‌کنش مثبت میان اسیدسالیسیلیک و گلایسین‌بتائین در شرایط تنش خشکی است. به‌طوری‌که کاربرد توأم این دو ترکیب، در مقایسه با تیمارهای انفرادی، منجر به بهبود معنی‌دار عملکرد دانه و افزایش کارایی گیاه در مقابله با آثار تنش می‌گردد. اگرچه کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک یا گلایسین‌بتائین به تنهایی تولید دانه را افزایش می‌دهد، اما کاربرد ترکیبی آن‌ها منجر به افزایش قابل توجه عملکرد دانه نسبت به هر یک از تیمارها به‌تنهایی می‌شود (۹۵). علاوه بر این، در انگور، کاربرد خارجی اسیدسالیسیلیک موجب افزایش سنتز گلایسین‌بتائین درون‌زا و ایجاد تحمل در برابر تنش‌های محیطی شد (۹۶).

سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی: اکسین‌ها، جیبرلین‌ها (GAs) و سیتوکینین‌ها (CKs) از تنظیم‌کننده‌های بنیادین رشد هستند که در فرآیندهای نموی، طویل‌شدن ساقه، تقسیم سلولی و پاسخ‌های گرایشی (نظیر فتوتروپیسم و ژئوتروپیسم) نقش دارند (۹۷). این هورمون‌ها از طریق تعامل با گلایسین‌بتائین، به شکلی نظام‌مند موجب تعدیل رشد می‌شوند؛ راهبردی که با تخصیص بهینه انرژی، توانایی گیاه را برای مقابله با شرایط تنش افزایش می‌دهد. تجمع اسیدآبسیزیک احتمالا از طریق تعدیل عملکرد یا بیوسنتزِ هورمون‌های محرک رشد نظیر جیبرلین‌های فعال، سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها، نقش تنظیمی غیرمستقیمی را در گیاه ایفا می‌کند. به‌طور مشابه، کاهش سطح جیبرلین، سیتوکینین و اکسین‌ها با افزایش تجمع گلایسین‌بتائین مرتبط است. یکی از پیامدهای فنوتیپی این کاهش در هورمون‌های فعال رشد، کوچک شدن ویژگی‌های رویشی گیاه است (۷۷). نتایج بررسی تجمع گلایسین‌بتائین در کشت سوسپانسیون سلولی برگ‌های جوان هندوانه تحت تنش اسمزی القا شده توسط دی‌مانیتول با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نشان داد که با افزایش سطح تنش، میزان بیان ژن‌های *BADH* و *CMO* به طور معنی‌داری افزایش یافت. با توالی‌یابی ژنوم هندوانه، مشخص شد که هر دو ژن دارای یک موتیف CGTCA در ناحیه پروموتر خود هستند که در پاسخ به متیل جاسمونات (MeJA) نقش دارد. مقایسه کاربرد خارجی متیل جاسمونات، اتفون،

اسیدآبسیزیک و اسیدسالیسیلیک، نشان داد که MeJA در القای بیان ژن‌های *ClCMO* و *ClBADH* مؤثرتر بود و تجمع گلایسین‌بتائین نیز می‌توانست به مقداری قابل مقایسه با مقدار آن پس از تنش اسمزی القا شده توسط مانیتول برسد. علاوه بر این، هنگامی که ایبوپروفن (IBU)، به عنوان مهارکننده بیوسنتز جاسمونات، پیش از اعمال تنش اسمزی به سلول‌ها تزریق گردید، تجمع گلایسین‌بتائین به‌طور قابل‌توجهی سرکوب شد. در همین راستا، بررسی سلول‌های دختری (Daughter cells) حاصل از تقسیم سلول‌های تحت تنش ملایم در شرایط کشت تعلیقی (Suspension culture) در هندوانه نشان داد که این سلول‌ها پس از واکشت و مواجهه مجدد با تنش دی-مانیتول (۱۰۰ میلی‌مولار)، محتوی گلیسین‌بتائین بالایی داشتند؛ امری که حاکی از نوعی حافظه تنش (Stress memory) در نسل‌های سلولی است. این فرآیند که نشان‌دهنده نوعی سازگاری فیزیولوژیک است، از طریق انتقال سیگنال توسط جاسمونات‌ها هدایت شده و پتانسیل بقای گیاه در برابر شرایط اسمزی نامساعد را افزایش می‌دهد (۵۷). بنابراین در شرایط تنش، گلایسین‌بتائین از طریق فعال‌سازی مسیرهای پیام‌رسانی فیتوهورمونی، بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش را تنظیم می‌کند.

رویکردهای مولکولی در افزایش سنتز گلایسین‌بتائین

تنش‌های غیرزیستی تأثیر منفی بر عملکرد محصولات کشاورزی دارند. از این‌رو، برای تأمین امنیت غذایی پایدار، تولید گونه‌های متحمل به تنش‌های محیطی ضروری است. برخی گیاهان به طور طبیعی محافظ‌های اسمزی مانند گلایسین‌بتائین را به‌عنوان یک مکانیسم تطبیقی در تحمل به تنش تولید می‌کنند. با درک عمیق‌تر از مسیر سنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها، امکان همسانه‌سازی تعداد بیشتری از ژن‌های مرتبط، برای ایجاد مسیر سنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان فراهم می‌شود. پیشرفت‌های نوین در حوزه بیوتکنولوژی، به‌ویژه در زمینه دست‌ورزی اهداف مولکولی و توسعه گیاهان تراریخته (Transgenic)، بینش عمیق‌تری را نسبت به مکانیسم‌های تحمل تنش‌های غیرزیستیِ میانجی‌گری‌شده توسط گلایسین‌بتائین فراهم آورده است. شناسایی، انتقال و تغییر الگوی بیان ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتزی محافظ‌های اسمزی از جمله گلایسین‌بتائین، منجر به بهبود تحمل به تنش در گیاهان می‌شود. گزارش‌ها حاکی از آن است که هم کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین و هم دست‌ورزی ژنتیکی آنزیم‌های مسیر بیوسنتزی آن، پتانسیل بالایی در افزایش تحمل به تنش در گونه‌های مختلف گیاهی دارند. در حال حاضر، پژوهش‌ها در زمینه استفاده از گیاهان یا سویه‌های باکتریاییِ مهندسی‌شده برای افزایش سنتز این اسمولیت، عمدتا بر راهبرد انتقال تک‌ژن‌های خارجیِ کدکننده آنزیم‌های کلیدی، متمرکز است (۸).

به نژادی مسیر سنتز کولین: مسیر سنتز کولین به طور گسترده مطالعه شده است و ژن‌های کدکننده آنزیم‌های دخیل در این مسیر، در تحقیقات مهندسی ژنتیک گیاهان مورد استفاده قرار گرفته است (جدول ۱). اولین پژوهش به سال ۱۹۹۰ برمی‌گردد، زمانی که قطعه‌ای از ژن *BADH* از اسفناج کلون شد (۹۸). مطالعات بعدی عمدتاً بر روی ژن‌های *COD*، *CDH*، *CMO* و *BADH* متمرکز بوده است. این تغییرات ژنتیکی توانست میزان تحمل به تنش در گیاهان دولپه‌ای مانند گوجه‌فرنگی (۹۹)، تنباکو (۱۰۰)، سیب‌زمینی شیرین (۱۰۱)، آرابیدوپسیس (۱۶) و گیاهان تک‌لپه‌ای مانند برنج (۲۱)، ذرت (۱۰۲) و نیشکر (۱۰۳) را با افزایش محتوای گلایسین‌بتائین (به طور نسبی، ۴۰ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) افزایش دهد. تحقیقات پروتئومیکس در دانهال‌های گندم (*T. monococcum*)، آنزیم BADH را به‌عنوان یک نشانگر پروتئینی (Protein marker) کلیدی برای ارزیابی تحمل به تنش شوری شناسایی کرده است (۱۰۴). پروتئوم گیاهچه‌ها تحت تنش شوری با استفاده از الکتروفورز دوبعدی (2-DE) و متعاقب آن، شناسایی پروتئین‌ها به‌وسیله طیف‌سنجی جرمی زمان پرواز (MALDI-TOF/TOF MS) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این تجزیه و تحلیل منجر به شناسایی پروتئین‌های مرتبط با عملکردهای تنظیمی، محافظت در برابر

تنش و مسیرهای متابولیکی گردید. تحقیقات بعدی تایید کردند که BADH، لوسین‌آمینوپپتیداز ۲، سوپراکسیددیسموتاز Cu/Zn و 2- Cys peroxiredoxin BAS1 به‌عنوان نشانگرهای مولکولی در پاسخ به تنش شوری عمل می‌کنند (۱۰). نقش کلیدی BADH در ایجاد تحمل به تنش‌های غیرزیستی، از طریق به‌کارگیری تکنیکRNA مداخله‌گر (RNAi) جهت خاموش‌سازی این ژن در گیاه برنج به اثبات رسیده است. در این آزمایش، لاین‌های سرکوب شده *BADH1-RNAi*، افزایش سطح تجمع مالون‌دی‌آلدهید (MDA) و پراکسیدهیدروژن در بافت‌های گیاهی، کاهش عملکرد و افزایش حساسیت به شرایط شوری، خشکی و سرما نشان دادند (۱۰۵). نکته قابل توجه این است که این لاین‌ها، تغییری در محتوای درون‌زای گلایسین‌بتائین نشان ندادند. بنابراین، کاهش مشاهده شده در تحمل به تنش ممکن است با کاهش دهیدروژناسیون آلدهیدهایی که در مسیرهای متابولیکی مختلف تجمع می‌یابند، مرتبط باشد. غلات استراتژیک نظیر جو، گندم و ذرت، در شرایط غیرتنش (نرمال)، پتانسیل اندکی برای تجمع گلایسین‌بتائین از خود نشان می‌دهند. بر همین اساس، راهبردهای مهندسی ژنتیک با هدف بیش‌بیانی (Over expression) ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتزی گلایسین‌بتائین، به‌منظور افزایش سطح مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی توسعه یافته است.

گونه‌هایی نظیر چغندرقند (*Beta vulgaris*)، جو (*Hordeum vulgare*)، اسفناج (*Spinacia oleracea*)، کینوا (*Chenopodium quinoa*) و برنج، از منابع اصلی برای جداسازی و کلون‌سازی ژن *BADH* به‌شمار می‌روند؛ چرا که این گیاهان به‌طور طبیعی ظرفیت بالایی در سنتز گلایسین‌بتائین دارند (۱۰۶). برنج، به‌عنوان یک محصول استراتژیک، دارای یک هومولوگ *CMO* و دو هومولوگ *BADH* است (۱۰۷). با این‌حال، حذف کدون آغازین ترجمه، فقدان دامنه‌های عملکردی حیاتی و ظهور زودهنگام کدون‌های پایان در اثر جهش‌های تغییر چارچوب (Frameshift mutations)، در مجموع منجر به تولید هومولوگ‌های غیرعملکردیBADH2 می‌گردد. این ژن نقش مهمی در سنتز ترکیب آروماتیک۲-استیل-۱پیرولین موجود در گونه‌های برنج معطر دارد. در مقابل، هومولوگ عملکردی *BADH1* در تولید گلایسین‌بتائین تحت تنش اسمزی نقش دارد (۵۸، ۱۰۸). علاوه بر این، در گیاهان تنباکوی تراریخته، بیان موفقیت‌آمیز ژن *OsCMO* برنج، منجر به افزایش تحمل به شوری گردید که نشان‌دهنده پتانسیل بهبود تحمل به شوری در محصولات کشاورزی از طریق مهندسی ژنتیک است (۱۰۹). در مطالعه‌ای دیگر، انتقال ژن *BADH* به یونجه (*Medicago sativa*)، منجر به تولید گیاهان مقاوم به شوری با افزایش سنتز گلایسین‌بتائین و فعالیت پراکسیداز (POD) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD) شد (۵۶). به‌طور مشابه، کلون‌سازی ژن *BADH* از اسفناج به تنباکو باعث مقاومت به شوری و تجمع قابل توجه گلایسین‌بتائین در کلروپلاست‌ها و محافظت از آنزیم‌های مختلف فتوسنتزی گردید (۱۱۰). مشخص شده است که اصلاح مولکولی مسیر سنتز گلایسین‌بتائین ممکن است تحمل دستگاه فتوسنتزی تنباکو را در برابر تنش خشکی افزایش دهد. در این پژوهش، پتانسیل تحمل تنش خشکی در گیاهان تنباکوی تراریخته (از طریق ارزیابی میزان انباشت گلایسین‌بتائین) در مقایسه با گیاهان تیپ وحشی (WT) مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری پارامترهای تبادلات گازی فتوسنتزی، عملکرد پروتئین‌های غشای تیلاکوئید، ساختار کلروپلاست، پایداری غشای تیلاکوئید و فلورسانس کلروفیل نشان داد که سیستم فتوسنتزی تنباکوی تراریخته از کارایی بالاتری در برابر تنش خشکی برخوردار بود (۳). علاوه بر این، راهبرد مذکور (تجمع گلایسین‌بتائین) می‌تواند از طریق تقویت فعالیت چرخه بتا-اکسیداسیون، شاخص اسیدهای چرب غیراشباع را بهبود بخشیده و با افزایش سطح دی‌گالاکتوزیل‌دی‌آسیل‌گلیسرول (DGDG) و فسفاتیدیل‌گلیسرول (PG)، از مهار نوری PSII در گیاه تنباکوی تحت تنش خشکی جلوگیری کند. در پژوهشی دیگر، گیاهان گوجه‌فرنگی تراریخته حاوی ژن *codA* با قابلیت انباشت گلایسین‌بتائین توسعه یافتند. ارزیابی‌ها نشان داد که متعاقب تنش

گرمایی، لاین‌های مهندسی‌شده در مقایسه با گیاهان شاهد، مقاومت بالاتری در برابر مهار نوری (Photoinhibition) از خود نشان دادند. مهار نوری همیشه زمانی رخ می‌دهد که سرعت آسیب نوری از سرعت ترمیم پروتئین D1 بیشتر شود. گلایسین‌بتائین، افزایش بیان *LeFtsHs* و *LeDegs* را حفظ و پروتئین D1 آسیب دیده را به‌موقع تخریب کرد. در همین حال، افزایش رونویسی ژن‌های مرتبط، سنتز نو (*de novo*) پروتئین D1 را تسریع کرد. تجمع اندک ROS، مهار ترجمه پروتئین D1 را در گیاهان تراریخته کاهش داد و در نتیجه مانع آسیب پروتئینی بیشتر شد (۱۱۱).

نتایج شناسایی انواع بتائین‌آلدهیددهیدروژنازها (BADHs)، بیانگر القای یک ژن جدید در مسیر سنتز BADH به‌نام *SgBADH* در دانهال‌های یک ماهه گیاه سیاه‌شور (*Suaeda glauca*) تحت تنش خشکی بود. برای بررسی عملکرد بیولوژیکی SgBADH، ژن *SgBADH* به گیاه آرابیدوپسیس منتقل گردید. نتایج نشان داد که گیاهچه‌های آرابیدوپسیس با بیش بیان *SgBADH* از تحمل بیشتری نسبت به تنش خشکی برخوردار بودند. هم‌چنین، گیاه‌چه‌های آرابیدوپسیس تراریخته حاوی ژن *SgBADH* تحت شرایط تنش خشکی، در مقایسه با گیاهان شاهد، ریشه‌های طویل‌تری داشتند و تجمع گلایسین‌بتائین بیشتر و محتوای مالون‌دی‌آلدهید کم‌تری را نشان دادند که مبین این موضوع است که *SgBADH* ممکن است به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت در گیاهان در طول پاسخ به خشکی عمل نماید (۲۱). با توجه به اینکه تحمل به تنش‌های غیرزیستی در طبیعت ماهیتی چندژنی (Polygenic) دارد، راهبردهای نوین بیوتکنولوژی به سمت ترکیب رویکردهای مختلف و انتقال هم‌زمان چند ژن مرتبط با تنش، موسوم به انباشت ژنی (Gene stacking) سوق یافتند. ترکیب آنتی‌پورترهای غشایی با ژن‌های مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین، پتانسیل افزایش تحمل به شوری را تا چندین برابر افزایش می‌دهد. در همین راستا، گزارش‌هایی مبنی بر انتقال هم‌زمان (Co-expression) ژن آنتی‌پورتر سدیم/پروتون (SeNHX1) Na^+/H^+antiporter و ژن *BADH* در تنباکو وجود دارد که منجر به بهبود وضعیت یونی و اسمزی گیاه شده است. گیاهان تراریخته حاصل، میزان گلایسین‌بتائین و زیست‌توده بالاتری نسبت به گیاهان تراریخته تک ژنی یا گیاهان شاهد نشان دادند (۱۱۲).

دست‌ورزی ژنتیکی ژنوم کلروپلاست مزایای متعددی مانند افزایش سطح بیان ترانسژن، مهندسی چند ژنی در یک رویداد تراریختگی، مهار بیان ترانسژن از طریق وراثت مادری و عدم خاموشی ژن و اثرات پلیوتروپیک دارد (۸). در ذرت تراریخته با ژن *CDH* کلروپلاست، تحمل به تنش خشکی در مراحل مختلف رشدی و تولید دانه، به طور قابل توجهی بالاتر از نمونه‌های غیرتراریخته شاهد گزارش شد. هم‌چنین، میزان گلایسین‌بتائین در گیاهان پنبه تراریخته با ژن *CDH* کلروپلاست، تحت شرایط تنش خشکی، در مقایسه با نمونه‌های شاهد غیرتراریخته، ۲/۳ تا ۲/۹ برابر بیشتر تجمع یافته و از تحمل بیشتری طی مراحل جوانه‌زنی تا مراحل برداشت برخوردار بودند (۳۸). هم‌چنین، مهندسی ژنوم میتوکندری که مرکز تولید ROS و منبع اصلی تنش اکسیداتیو در گیاهان است، با ژن‌های مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین، رویکردی امیدوارکننده برای آزادسازی عملکردهای محافظتی گلایسین‌بتائین در برابر تنش اکسیداتیو است (۱۱۲).

جدول ۱: مهندسی متابولیک مسیر اکسیداسیون کولین؛ راهبردی نوین در ارتقای تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی (غیرزیستی)

گونه گیاهی	منبع ژن	ژن انتقال یافته	اثرات فیزیولوژیکی	منبع
ذرت (*Zea mays*)	*Escherichia coli*	*BetA* (choline dehydrogenas)	تجمع گلایسین‌بتائین در مراحل جوانه‌زنی و اوایل رشد گیاهچه (تقریباً ۲/۱۲ میکرومول بر گرم وزن خشک بذر) تحت تنش خشکی	(۱۰۲)
تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.)	*Arthrobacter globiformisde*	*codA* (choline oxidase)	تجمع گلایسین‌بتائین، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و تحمل تنش شوری	(۱۱۳)
آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*)	*Suaeda Glauca*	*sgBADH*	افزایش محتوای گلایسین‌بتائین (۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)، طویل شدن ریشه‌ها و کاهش مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش خشکی	(۲۱)
گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)	*Arthrobacter globiformisde*	*codA* و *BADH*	تجمع گلایسین‌بتائین، بهبود جذب CO_2 و فعالیت فتوشیمیایی فتوسیستمII، افزایش سنتز پروتئین‌های شوک‌گرمایی در شرایط تنش حرارتی	(۱۱۴)
ذرت (*Zea mays*)	*Arthrobacter globiformisde*	*codA (COD)*	بهبود تحمل شوری از طریق افزایش تجمع گلایسین‌بتائین و هموستازی سدیم	(۶)
ذرت (Zea mays)	*Escherichia coli*	*betA (CDH)*	افزایش تجمع گلایسین‌بتائین، بهبود تنش خشکی	(۱۱۵)

به‌نژادی مسیر متیلاسیون گلایسین: این مسیر چند مرحله‌ای با موفقیت به باکتری اشریشیاکلی (*E. coli*) منتقل شده است. بیان هترولوگ ژن‌های کدکننده *GSMT* و *SDMT*، سنتز گلایسین‌بتائین را در *E. coli* حتی بدون کولین امکان‌پذیر ساخت و تحمل به شوری را تا حد زیادی بهبود بخشید (۳). این یافته‌ها بر پتانسیل بیوتکنولوژیکی مسیر متیلاسیون گلایسین به‌عنوان یک مسیر جایگزین برای بیوسنتز گلایسین‌بتائین تأکید می‌کنند. عدم وابستگی این مسیر به پیش‌ماده‌ی کولین و سازگاری بالای آن با سیستم‌های میکروبی، این راهبرد را به کاندیدی نویدبخش در قلمرو زیست‌شناسی مصنوعی بدل کرده است که هدف آن ارتقای پایدار تحمل به تنش‌های غیرزیستی در هر دو سیستم گیاهی و میکروبی است. تاکنون همولوگ بومی مشخصی از این متیل‌ترانسفرازها در گیاهان عالی گزارش نشده است. با این‌حال، بیان *GSMT* و *SDMT* میکروبی در گیاهانی که نمی‌توانند گلایسین‌بتائین را سنتز کنند، یک استراتژی جدید برای قادر ساختن آن‌ها به تولید گلایسین‌بتائین است. یافته‌ها نشان می‌دهند که انتقال ژن‌های *ApGSMT* و *ApSDMT* از سیانوباکتر هالوفیل *Aphanothece halophytica* به گیاه مدل آرابیدوپسیس، منجر به انباشت مقادیر قابل‌توجهی از گلایسین‌بتائین در بافت‌های ریشه، ساقه، برگ و گل گردید. میزان انباشت گلایسین‌بتائین حاصل از مسیر متیلاسیون، به‌طور معنی‌داری بالاتر از سطوحی است که در لاین‌های بیان‌کننده‌ی آنزیم‌های اکسیدکننده‌ی کولین مشاهده می‌شود (۱۱۶). به همین ترتیب، ژن‌های *Mpgsmt* و *Mpsdmt* از *Methanohalophilus portucalensis* به آرابیدوپسیس انتقال یافتند و با موفقیت تولید گلایسین‌بتائین در گیاهان را ممکن ساخت. این مثال‌ها نشان می‌دهند که مسیر متیلاسیون گلایسین را می‌توان برای ایجاد بیوسنتز گلایسین‌بتائین در محصولاتی که فاقد مسیر اکسیداسیون کولین طبیعی هستند، ایجاد کرد (۲۵). از آن‌جایی‌که سنتز گلایسین‌بتائین از طریق

مسیر متیلاسیون گلایسین، مکانیسم مهمی برای تحمل شوری در میکروارگانیسم‌های شورپسند است؛ ژن‌های کدکننده متیل‌ترانسفرازهای کلیدی این مسیر، *GSMT* و *SDMT*، معمولاً کلون شده و به گیاهان یا سایر میکروارگانیسم‌های حساس به تنش شوری منتقل می‌شوند تا ظرفیت سنتز گلایسین‌بتائین و مقاومت آن‌ها در برابر شرایط نامطلوب افزایش یابد (۸، ۱۱۷). جدول ۲، نتایج برخی از مطالعات به‌نژادی مسیر متیلاسیون گلایسین را نشان می‌دهد.

جدول ۲: به‌نژادی مسیر متیلاسیون گلایسین در تحمل تنش‌های غیرزیستی در گیاهان

گونه گیاهی	منبع ژن	ژن انتقال یافته	اثرات فیزیولوژیکی	منبع
آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*)	*Methanohalophilus portucalensis*	*GSMT, SDMT*	افزایش تحمل تنش خشکی و شوری	(۴۳)
برنج (*Oryza sativa*)	*Aphanothece halophytica*	*GSMT, SDMT*	افزایش گلایسین‌بتائین به میزان ۲ تا ۴/۵ برابر شاهد (۲۳ میکرومول در گرم وزن خشک)، افزایش محتوی کلروفیل تا ۲/۶ برابر گونه‌های غیرتراریخته	(۱۱۸)
پنبه (*Gossypium*)	*Aphanothece halophytica*	*ApGSMT2, ApDMT2*	افزایش محتوای گلایسین‌بتائین تا ۲ برابر گونه‌های غیرتراریخته	(۱۱۹)
Anabaena	*Aphanothece halophytica*	*GSMT, SDMT*	تجمع گلایسین‌بتائین تا ۴۰ نانومول بر میلی‌گرم وزن تر، تحت تنش شوری ۱۴۰ میلی‌مولار کلریدسدیم	(۱۲۰)
جاتروفا (*Jatropha curcas*)	*Synechococcus*	*GSMT, SDMT*	افزایش تجمع گلایسین‌بتائین تا ۰/۹ نانومول بر گرم وزن تر ، بهبود تحمل تنش خشکی	(۱۲۱)

با توجه به تنوع عملکردی ژن‌های دخیل در مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین، تلاش‌های گسترده‌ای جهت توسعه گیاهان تراریخته با توانایی تجمع موثر این متابولیت صورت گرفته است؛ با این حال، چالش‌هایی جدی نظیر عدم پایداری و بیان ضعیف ترانس‌ژن، همچنان به‌عنوان موانع کلیدی در این مسیر باقی مانده‌اند. عواملی مانند نوع پروموتر، محل ادغام ژنومی و عوامل اپی‌ژنتیکی می‌توانند بر عملکرد نهایی تأثیر بگذارند. هم‌چنین، بیش بیان آنزیم‌های مسیر بیوسنتز گلایسین‌بتائین، ممکن است با ایجاد اختلال در پایداری متابولیکی، به طور بالقوه رشد را مختل سازند. بنابراین، تحقیقات آینده باید بر رمزگشایی شبکه‌های مولکولی تنظیم‌کننده بیوسنتز، پیام‌رسانی و انتقال گلایسین‌بتائین، به‌ویژه تداخل آن با هورمون‌های گیاهی، فاکتورهای رونویسی و یافتن پروموترهای القاشونده توسط تنش، متمرکز شود. هم‌چنین، بهینه‌سازی پروتکل‌های ترانسفورماسیون و هماهنگی بیان ژن گلایسین‌بتائین با متابولیسم کلی گیاه نیز ضروری است.

۲- نتیجه‌گیری

چالش اصلی در کشاورزی، توسعه محصولاتی است که قادر به ادامه حیات و رشد در مواجهه با تنش‌های غیرزیستی باشند. در سال‌های اخیر، گلایسین‌بتائین به‌عنوان یک عامل محافظ چند منظوره در فیزیولوژی تحمل تنش‌های غیرزیستی، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است. این ترکیب در تنظیم اسمزی سیتوزولی، پایداری غشا، پالایش ROS، تنظیم پتانسیل اکسیداسیون و احیا و فعال‌سازی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش در گیاهان، نقش دارد. تغییر (افزایش) بیوسنتز گلایسین‌بتائین

در گیاهان به‌عنوان یک استراتژی مؤثر برای بهبود تحمل گیاهان به تنش شناخته شده است. در این رابطه، دو رویکرد اصلی معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرد: کاربرد خارجی و مهندسی ژنتیک مسیرهای بیوسنتزی گلایسین‌بتائین. هر دو روش، با افزایش تجمع گلایسین‌بتائین و فعال نمودن مسیرهای پاسخ به تنش، مقاومت در برابر طیفی از تنش‌های غیرزیستی را افزایش می‌دهند. کاربرد خارجی گلایسین‌بتائین، روشی ساده و مؤثر برای بهبود عملکرد گیاه تحت تنش است. با این حال، اثربخشی آن به راندمان جذب و انتقال آن بستگی دارد که بسته به نوع گونه گیاهی، نوع بافت و روش کاربرد، متفاوت است. استراتژی‌های مهندسی ژنتیک که بر افزایش تولید گلایسین‌بتائین و تجمع آن در بافت‌های گیاهی تحت تنش متمرکز شده‌اند، پیشرفت‌های قابل توجهی در رشد و نمو گیاه نشان داده‌اند. تحریک تولید گلایسین‌بتائین از طریق تولید گیاهان تراریخته، به‌دلیل توانایی آن در غلبه بر مشکلات مرتبط با اصلاح متداول سنتز گلایسین‌بتائین، یک فناوری نوظهور است. این روش‌ها، بیشتر بر اساس شناسایی ژن‌های هدف در مسیر سنتز گلایسین‌بتائین در گیاهان و میکروارگانیسم‌های متحمل به تنش و همسانه‌سازی و انتقال آن‌ها به گونه‌های حساس، با استفاده از روش‌های مختلف زیست‌فناوری نظیر انتقال به‌واسطه آگروباکتریوم، متمرکز است. ژن‌هایی که در این راستا بیشتر مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل *codA*، *BADH*، *GSMT*، *SDMT* می‌باشند. گیاهان مهندسی شده ژنتیکی که مسیر سنتز گلایسین‌بتائین را در خود جای داده‌اند، می‌توانند مستقیماً تولید گلایسین‌بتائین را افزایش دهند، مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی بهبود بخشند و نیاز به فرآیندهای پرهزینه کاربرد خارجی را از بین ببرند. فناوری‌هایی مانند همسانه‌سازی ژنی و ابزارهای ویرایش ژنوم، راه‌حل‌های امیدوارکننده‌ای را برای مهندسی مجدد مسیر سنتز گلایسین‌بتائین و بهبود تاب‌آوری محصولات در برابر تنش‌های غیرزیستی ارائه کرده است. در این راستا، انجام پژوهش‌هایی مبتنی بر ویرایش مجدد مسیر سنتز گلایسین‌بتائین با هدف افزایش بیان ژن‌های کلیدی نظیر *codA*، *CMO* و *BADH* از طریق روش‌هایی نظیر ویرایش ژنوم، RNA مداخله‌گر (RNAi)، مهندسی پروموتر از طریق غربالگری توالی‌های جایگاه اتصال پروموتر و ریبوزوم از منابع مختلف و هم‌چنین، جهش‌زایی پروموترها پیشنهاد می‌شود.

۸- منابع

1. Khalifani S, Darvishzadeh R, Montaseri M, Zaman Zad Ghavidel S, et al. Advanced computational approaches for predicting sunflower yield: Insights from ANN, ANFIS, and GEP in normal and salinity stress environments. PloS One 2025; 20(2), p.e0319331.

2. Khalifani S, Darvishzadeh R, Azad N, Shayesteh MG, et al. Comparison of influential input variables in the deep learning modeling of sunflower grain yields under normal and drought stress conditions. Field Crops Research 2023; 303, p.109145.

3. Khalifani S, Darvishzadeh R, Azad N, Rahmani RS. Prediction of sunflower grain yield under normal and salinity stress by RBF, MLP and, CNN models. Industrial Crops and Products 2022; 189, p.115762.

4. Wang P, Liu WC, Han C, Wang S, et al. Reactive oxygen species: Multidimensional regulators of plant adaptation to abiotic stress and development. Journal of Integrative Plant Biology 2024; 66: 330- 367.

5. Ghahramani Ghahramanloo S, Seyed Rahmani R, Karimbeigi H, Darvishzadeh R. Meta-Analysis of Maize Adaptation to Salt Stress: Key Gene Expressions and Regulatory Pathways. Journal of Plant Growth Regulation 2025; 1-13.

6. Zhu M, Li Q, Zhang Y, Zhang M, Li Z. Glycine betaine increases salt tolerance in maize (Zea mays L.) by regulating Na homeostasis. Frontiers in Plant Science 2022; 13, 978304. doi: 10.3389/fpls.2022.978304.

7. Annunziata MG, Ciarmiello LF, Woodrow P, Dell'Aversana E, et al. Spatial and Temporal Profile of Glycine Betaine Accumulation in Plants under Abiotic Stresses. Frontiers in Plant Science 2019; 10, 230.

8. Zhao F, Luo J, Ibrahim E, Chen L, et al. Engineering stress resistance: Advances in glycine betaine production for sustainable agriculture. Crop Health 2025; 3, 5.

9. Hasanuzzaman M, Aditya Banerjee A, Borhannuddin Bhuyan B, Roychoudhury A, et al. Targeting Glycinebetaine for Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants: Physiological Mechanism, Molecular Interaction and Signaling. Phyton, International Journal of Experimental Botany 2025; 88 (3). DOI:10.32604/phyton.2019.07559.

10. Basit F, Alyafei M, Hayat F, Al-Zayadneh W, et al. Deciphering the role of glycine betaine in enhancing plant performance and defense mechanisms against environmental stresses. Frontiers in Plant Science 2025; 16: 1582332. doi: 10.3389/fpls.2025.1582332.

11. Nuccio ML, Rhodes D, McNeil SD, Hanson AD. Metabolic engineering of plants for osmotic stress resistance. Current Opinion in Plant Biology 1999; 2 (2): 128-134.

12. Chen J, Zhang J, Liu Y, Zhang K, et al. Advances in the Biosynthetic Regulation and Functional Mechanisms of Glycine Betaine for Enhancing Plant Stress Resilience. International Journal of Molecular Sciences 2025; 26, 7971.https://doi.org/10.3390/ ijms26167971.

13. Michel V, Yuan Z, Ramsubir S, Bakovic M. Choline transport for phospholipid synthesis. Experimental Biology and Medicine 2006; 231: 490- 504.

14. Dettmer J, Ursache R, Campilho A, Miyashima S, et al. CHOLINE TRANSPORTER-LIKE1 is required for sieve plate development to mediate long-distance cell-to-cell communication. Nature Communications 2014; 5, 4276.

15. Khan MS, Yu X, Kikuchi A, Asahina M, et al. Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress tolerance in plants. Plant Biotechnology 2009; 26, 125- 134.

16. Yamada N, Takahashi H, Kitou K, Sahashi K, et al. Suppressed expression of choline monooxygenase in sugar beet on the accumulation of glycine betaine. Plant Physiology and Biochemistry 2015; 96: 217- 221.

17. Saidi MN, Mahjoubi H, YacoubI I. Transcriptome meta-analysis of abiotic stresses-responsive genes and identiication of candidate transcription factors for broad stress tolerance in wheat. Protoplasma 2022; 260: 707. https://doi.org/10.1007/s00709-022-01807-5.

18. Russell BL, Rathinasabapathi B, Hanson AD. Osmotic Stress Induces Expression of Choline Monooxygenase in Sugar Beet and Amaranth. Plant Physiol 1998; 116: 859- 865.

19. Tian F, Wang W, Liang C, Wang W. Overaccumulation of glycine betaine makes the function of the thylakoid membrane better in wheat under salt stress. The Crop Journal 2017; 5 (1):73- 82. https:// doi. org/ 10. 1016/j. cj. 2016. 05. 008.

20. Guo P, Baum M, Grando S, Ceccarelli S, et al. Diferentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. Journal of Experimental Botany 2009; 60 (12): 3531- 44. https://doi.org/10.1093/jxb/ erp194.

21. Jin H, Tang M, Zhu L, Yu X, et al. Characterization of a drought-induced betaine aldehyde dehydrogenase gene sgBADH from Suaeda Glauca. Plants 2024; 13 (19): 2716. https://doi.org/10.3390/plant s13192716.

22. Chen ML, Shen SY, Li ZY, Wang H, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of betaine aldehyde dehydrogenase 2 (BADH2) in tobacco afects 2-acetyl1-pyrroline. Agronomy 2024; 14 (2): 321. https://doi.org/10.3390/agron omy14020321.

23. Li P, Cai J, Luo X, Chang T. Transformation of wheat Triticum aestivum with the HvBADH1 transgene from hulless barley improves salinity-stress tolerance. Acta Physiologiae Plantarum 2019; 41, 155.

24. Breisch J, Bendel M. Averhoff, B. The choline dehydrogenase BetA of Acinetobacter baumannii: A flavoprotein responsible for osmotic stress protection. Environmental Microbiology 2022; 24: 1052- 1061.

25. Kaushik S, Rameshwari R, Chapadgaonkar S. The in-silico study of the structural changes in the Arthrobacter globiformis choline oxidase induced by high temperature. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology 2024; 22 (1): 100348- 100348. https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2023.100348.

26. Jin S, Rozina H, Ling Z, Chengkun H, et al. Evaluation of the stress-inducible production of choline oxidase in transgenic rice as a strategy for producing the stress-protectant glycine betaine. Journal of Experimental Botany 2006; 57(5): 1129- 35. https://doi.org/10.1093/jxb/erj133.

27. Lambou K, Pennati A, Valsecchi I, Tada R, et al. Pathway of glycine betaine biosynthesis in Aspergillus fumigatus. Eukaryotic Cell 2013; 12 (6): 853- 63. https://doi.org/10.1128/ec. 00348-12.

28. Nyyssola A, Kerovuo J, Kaukinen P, von Weymarn N, et al. Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation. Journal of Biological Chemistry 2000 Jul; 275(29): 22196- 22201.

29. Lai MC, Yang DR, Chuang MJ. Regulatory factors associated with synthesis of the osmolyte glycine betaine in the halophilic methanoarchaeon Methanohalophilus portucalensis. Applied and Environmental Microbiology Journal 1999; 65(2): 828- 33. https://doi.org/10.1128/AEM.65.2.828-833.1999.

30. Lai SJ, Lai MC, Lee RJ, Chen YH. Transgenic Arabidopsis expressing osmolyte glycine betaine synthesizing enzymes from halophilic methanogenpromote tolerance to drought and salt stress. Plant Molecular Biology 2014; 85 (4/5): 429- 41. https://doi.org/10.1007/s11103-014-0195-8.

31. Galinski EA, Truper HG. Microbial behavior in salt-stressed ecosystems. FEMS Microbiology Reviews 1994; 15 (2- 3): 95- 108. https://doi.org/10.1016/01686445(94)90106-6.

32. Nyyssölä A, Leisola M. Actinopolyspora halophila has two separate pathways for betaine synthesis. Archives of Microbiology 2001; 176(4): 294- 300. https:// doi.org/10.1007/s002030100325.

33. Zou H, Chen N, Shi M, Xian M, et al. The metabolism and biotechnological application of betaine in microorganism. Applied Microbiology and Biotechnology 2016; 100(9): 3865- 76. https://doi.org/10.1007/ s00253-016-7462-3.

34. Kleczkowski LA, Givan CV. Serine formation in leaves by mechanisms other than the glycolate pathway. Journal of Plant Physiology 1988; 132: 641- 652.

35. Igamberdiev AU, Kleczkowski LA. Corrigendum: the glycerate and phosphorylated pathways of serine synthesis in plants: the branches of plant glycolysis linking carbon and nitrogen metabolism. Front. Plant Science 2018; 9, 318.

36. Wingler A, Lea PJ, Quick WP, Leegood RC. Photorespiration: Metabolic pathways and their role in stress protection. Philosophical Transactions of the Royal Society B. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. 2000 October; 355 (1402): 1517–1529.

37. Carillo P, Mastrolonardo G, Nacca F, Verlotta A, et al. Nitrogen metabolism in durum wheat under salinity: Accumulation of proline and glycine betaine. Functional Plant Biology 2008; 35: 412- 426.

38. Dai T, Ban S, Han L, Li L, et al. Efects of exogenous glycine betaine on growth and development of tomato seedlings under cold stress. Frontiers in Plant Science 2024; 15, 1332583. https:// doi. org/ 10. 3389/ fpls. 2024. 13325 83.

39. Niu T, Zhang J, Li J, Gao X, et al. Efects of exogenous glycine betaine and cycloleucine on photosynthetic capacity, amino acid composition, and hormone metabolism in Solanum melongena L. Scientific Reports 2023; 13: 7626. https:// doi. org/ 10. 1038/ s41598- 023- 34509-w.

40. Zhang Z, Jia C, Zhuang Y, Zhang M, et al. Glycine betaine induces tolerance to oxidative stress in cherry radishes under hightemperature conditions. Agronomy 2024; 14(6): 1294. https:// doi. org/ 10. 3390/ agron omy14 061294.

41. Zuliqar F, Ashraf M, Siddique KHM. Role of glycine betaine in the thermotolerance of plants. Agronomy 2022; 12: 276. https:// doi. org/ 10. 3390/ agron omy12 020276.

42. Kurepin LV, Ivanov AG, Zaman M, Pharis RP, et al. Stress-related hormones and glycine betaine interplay in protection of photosynthesis under abiotic stress conditions. Photosynthesis Research 2015; 126 (2–3): 221- 35. https:// doi. org/ 10. 1007/ s11120- 015- 0125.

43. Liu M, Liu H, Mei F, Yang N, et al. Identification of the biosynthetic pathway of glycine betaine that is responsible for salinity tolerance in halophilic Thioalkalivibrio versutus D301. Frontiers in Microbiology 2022; 13: 875843. https:// doi. org/ 10. 3389/ fmicb. 2022. 875843.

44. Haque MS, Hossain KS, Baroi A, Alamery S. Foliar application of abscisic acid and glycine betaine triggers drought tolerance modulating physiology, yield and antioxidative defense system in wheat. Research Square 2024. https:// doi. org/ 10. 21203/ rs.3. rs- 40230 89/ v1.

45. Tsutsumi K, Yamada N, Cha-um S, Tanaka Y, et al. Diferential accumulation of glycine betaine and choline monooxygenase in bladder hairs and lamina leaves of Atriplex gmelini under high salinity. Journal of Plant Physiology 2015; 176: 101- 7. https:// doi. org/ 10. 1016/j. jplph. 2014. 12. 009.

46. Kumar V, Shriram V, Hoque TS, Hasan M, et al. Glycine betaine-mediated abiotic oxidative-stress tolerance in plants: physiological and biochemical mechanisms. Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective 2016; 2: 111- 33. https:// doi. org/ 10. 1007/ 978-3- 319- 42183-4_5.

47. Schwacke R, Grallath S, Breitkruez KE, Stransky E, et al. LeProT1, a transporter for proline, glycine betaine and γ-amino butyric acid in tomato pollen. The Plant Cell 1999 Mar; 11(3):377-92. doi: 10.1105/tpc.11.3.377. PMID: 10072398; PMCID: PMC144187.

48. Breitkreuz KE, Shelp BJ, Fischer WN, Schwacke R, et al. Identiication and characterization of GABA, proline and quaternary ammonium Compound transporters from Arabidopsis thaliana. Federation of European Biochemical Societies 1999; 450 (3): 280- 4. https:// doi. org/ 10. 1016/ s0014- 5793(99) 00516-5.

49. Park EJ, Jeknic Z, Chen TH. Exogenous application of glycinebetaine increases chilling tolerance in tomato plants. Plant & Cell Physiology 2006; 47: 706- 714.

50. Sulpice R, Tsukaya H, Nonaka H, Mustardy L, et al. Enhanced formation of flowers in salt-stressed Arabidopsis after genetic engineering of the synthesis of glycine betaine. The Plant Journal 2003; 36(2):165-76. doi: 10.1046/j.1365-313x.2003.01873.x. PMID: 14535882.

51. Park EJ, Jeknic Z, PINO MT, Murata N, et al. Glycinebetaine accumulation is more effective in chloroplasts than in the cytosol for protecting transgenic tomato plants against abiotic stress. Plant, Cell & Environment 2007 August; 30(8):994-1005. doi: 10.1111/j.1365-3040.2007.01694.x. PMID: 17617827.

52. Banerjee A, Roychoudhury A. Plant responses to light stress: Oxidative damages, photoprotection and role of phytohormones. In: G. J. Ahammed, J. Q. Yu (eds.), Plant hormones under challenging environmental factors 2016; pp. 181-213. Netherlands, Springer.

53. Kumar V, Shriram V, Hoque TS, Hasan MM, et al. Glycinebetaine-mediated abiotic oxidative-stress tolerance in plants: Physiological and biochemical mechanisms. Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective 2017; 2: 111- 133.

54. Bari LR, Ghanbari A, Darvishzadeh R, Giglou MT, et al. Discernment of grape rootstocks base on their response to salt stress using selected characteristics in combination with chemometric tools. Food Chemistry 2021; 365, p.130408.

55. Shahabzadeh Z, Darvishzadeh R, Mohammadi R, Jafari M. Isolation, characterization, and expression profiling of nucleoside diphosphate kinase gene from tall fescue (Festuca arundinaceous Schreb.)(FaNDPK) under salt stress. Plant Molecular Biology Reporter 2020; 38(2): 175-186.

56. Dong X, Ma X, Zhao Z, Ma M. Exogenous betaine enhances salt tolerance of Glycyrrhiza uralensis through multiple pathways. BMC Plant Biology 2024; 24:165. https:// doi. org/ 10. 1186/ s12870- 024- 04851-w.

57. Xu Z, Sun M, Jiang X, Sun H, et al. Glycinebetaine Biosynthesis in Response to Osmotic Stress Depends on Jasmonate Signaling in Watermelon Suspension Cells. Frontiers in Plant Science 2018; 9, 1469.

58. Ghosh P, Roychoudhury A. Differential levels of metabolites and enzymes related to aroma formation in aromatic indica rice varieties: comparison with non-aromatic varieties. 3 Biotech 2018; 8: 1- 13. doi: 10.1007/s13205-017-1045-6.

59. Tisarum R, Theerawitaya C, Samphumphuang T, Singh H, et al. Foliar application of glycinebetaine regulates soluble sugars and modulates physiological adaptations in sweet potato (Ipomoea batatas) under water deficit. Protoplasma 2020; 257: 197- 211.

60. Munns R, Passioura JB, Colmer TD, Byrt CS. Osmotic adjustment and energy limitations to plant growth in saline soil. New Phytologist 2020; 225: 1091- 1096.

61. Quan R, Shang M, Zhang H, Zhao Y, et al. Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize. Plant Biotechnology Journal 2004 November; 2(6):477-86. doi: 10.1111/j.1467-7652.2004.00093.x. PMID: 17147620.

62. Hasanuzzaman M, Bhuyan MB, Zulfi qar F, Raza A, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants 2020; 9, 681. doi: 10.3390/antiox9080681.

63. Laxa M, Liebthal M, Telman W, Chibani K, et al. The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. Antioxidants 2019; 8 (94): 1- 31.

64. Liu Y, Yang T, Lin Z, Gu B, et al. A WRKY transcription factor PbrWRKY53 from Pyrus betulaefoliais L. involved in drought tolerance and Ascorbic Acid accumulation. Plant Biotechnology Journal 2019; 17(9):1770-1787. doi: 10.1111/pbi.13099. Epub 2019 Mar 19. PMID: 30801865; PMCID: PMC6686137.

65. Sies H, Mailloux RJ, Jakob U. Fundamentals of redox regulation in biology. Nature Reviews Molecular Cell Biology 2024; 25: 701- 719.

66. Ikram M, Batool M, Ullah M, Khalid B, et al. Molecular Alchemy: Converting Stress into Resilience via Secondary Metabolites and Calcium Signaling in Rice. Rice 2025: 18, 32. https://doi.org/10.1186/s12284-025-00783-7.

67. Babaei L, Sharifani M, Darvishzadeh R, Abbaspour N, et al. Biochemical and gene expression profiling of five pear species under drought stress conditions. BMC Plant Biology 2025; 25: 397. https://doi.org/10.1186/s12870-025-06408-x.

68. Shams MK, Yildirim E, Ekinci M, Turan M, et al. Exogenously applied glycine betaine regulates some chemical characteristics and antioxidative defence systems in lettuce under salt stress. Horticulture, Environment, and Biotechnology 2016; 57(3): 225- 31. https://doi.org/10.1007/ s13580-016-0021-0.

69. Sun H, Luo M, Zhou X, Zhou Q, et al. Exogenous glycine betaine treatment alleviates low temperature-induced pericarp browning of ‘Nanguo’ pears by regulating antioxidant enzymes and proline metabolism. Food Chemistry 2020; 306, 125626.

70. Sofy MR, Elhawat N, Alshaal T. Glycine betaine counters salinity stress by maintaining high K+ /Na+ ratio and antioxidant defense via limiting Na+ uptake in common bean (Phaseolus vulgaris L.). Ecotoxicology and Environmental Safety 2020; 200, 110732. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110732.

71. Li N, Gao Y, Pu K, Zhang M, et al. Glycine betaine enhances tolerance of low temperature combined with low light in pepper (Capsicum annuum L.) by improving the antioxidant capacity and regulating GB metabolism. Plant Physiology and Biochemistry 2025; 222, 109705.

72. Li NYD, Moore DJ, Thompson MA, Welfar E, et al. Inluence of humectants on the thermotropic behaviour and nanostructure of fully hydrated lecithin bilayers. Chemistry and Physics of Lipids. 2022; 243, 105165. https:// doi.org/10.1016/j.chemphyslip 2021.105165.

73. Renne MF, Ernst R. Membrane homeostasis beyond fluidity: Control of membrane compressibility. Trends in Biochemical Sciences 2023; 48: 963- 977.

74. Murmu K, Bera C. Exogenous proline and glycine betaine in plants under stress tolerance. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017; 6(9): 901- 913. https:// doi.org/10.20546/ijcmas 2017.609.109.

75. Rudolphi E, Dyba B, Janeczko A, Latowski D, et al. Brassinosteroid-lipid membrane interaction under low and high temperature stress in model systems. BMC Plant Biology 2022; 22(1): 246. https://doi.org/10.1186/ s12870-022-03619-4.

76. Roy Chowdhury A, Ghosh M, Lal M, Pal AK, et al. Foliar spray of synthetic osmolytes alleviates terminal heat stress in late-sown wheat. International Journal of Plant Production 2020; 14: 321- 33. https://doi.org/10.1007/s42106-020-00087-4.

77. Jarin A, Ghosh UK, Hossain MS, Mahmud A, et al MDA. Glycine betaine in plant responses and tolerance to abiotic stresses. Discover Agriculture 2024 December; 2, 127 https://doi.org/10.1007/s44279-024-00152-w.

78. Akter M, Mahmud A, Akter M, Siddiqui MN, et al. Dissecting the salt tolerance potential of cowpea genotypes based on morphophysiology and yield-related attributes. Annals of Applied Biology 2021; https:// doi. org/ 10. 1111/ aab. 12744.

79. Babaei L, Sharifani M, Darvishzadeh R, Abbaspour N, et al. Impact of drought stress on photosynthetic response of some Pear species. International Journal of Horticultural Science and Technology 2021; 8(4): 353- 69.

80. Chauhan J, Prathibha MD, Singh P, Choyal P, et al. Plant photosynthesis under abiotic stresses: Damages, adaptive, and signaling mechanisms. Plant Stress 2023; 10, 100296. doi: 10.1016/j.stress.2023.100296.

81. Huang S, Zuo T, Ni W. Important roles of glycinebetaine in stabilizing the structure and function of the photosystem II complex under abiotic stresses. Planta 2020; 251, 36. doi: 10.1007/s00425-019-03330-z.

82. Zhang Y, Yin H, Li D, Zhu W, et al. Functional analysis of BADH gene promoter from Suaeda liaotungensis K. Plant Cell Reports. 2008 Mars; 27(3): 585-92. doi: 10.1007/s00299-007-0459-8. Epub 2007 Oct 9. PMID: 17924116.

83. Ahmad S, Raza I, Ali H, Shahzad A, et al. Response of cotton crop to exogenous application of glycine betaine under suicient and scarce water conditions. Brazilian Journal of Botany 2014; 37(4): 407- 415. https:// doi. org/ 10. 1007/ s40415- 014- 0092-z.

84. Hasthanasombut S, Supaibulwatana K, Mii M, Nakamura I. Genetic manipulation of Japonica rice using the OsBADH1 gene from Indica rice to improve salinity tolerance. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 2011; 104: 79–89.

85. Deng X, Liu Y, Xu X, Liu D, et al. Comparative proteome analysis of wheat flag leaves and developing grains under water deficit. Frontiers in Plant Science 2018; 9, 425.

86. Baroi A, Ritu SA, Khan MSU, Uddin MN, et al. Abscisic acid and glycine betaine-mediated seed and root priming enhance seedling growth and antioxidative defense in wheat under drought. Heliyon 2024; 10(9): e30598. https:// doi. org/ 10. 1016/j. heliy on. 2024. e30598.

87. Didaran F, Kordrostami M, Ghasemi-Soloklui AA, Pashkovskiy P, et al. The mechanisms of photoinhibition and repair in plants under high light conditions and interplay with abiotic stressors. Journal of Photochemistry and Photobiology 2024; 259, 113004. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2024.113004.

88. de Oliveira Maia Júnior S, de Andrade Jailma R, dos Santos Claudiana M, Santos Jônatas V. applied glycine betaine minimizes drought stress-related impact to gas exchange and the photochemical eiciency of PSII in sugarcane. Theoretical and Experimental Plant Physiology 2020; 32: 315- 329. https://doi.org/10.1007/s40626-020-00188-5.

89. Khan S, Alvi AF, Khan NA. Role of ethylene in the regulation of plant developmental processes. Stresses 2024; 4: 28- 53. doi: 10.3390/stresses4010003.

90. Kurepin LV, Ivanov AG, Zaman M, Pharis RP, et al. Interaction of glycine betaine and plant hormones: Protection of the photosynthetic apparatus during abiotic stress. In H. J. M. Hou, M. M. Najafpour, G. F. Moore and S. I. Allakhverdiev (Eds.), Photosynthesis: Structures, Mechanisms, and Applications (Springer) 2017; pp. 185- 202. doi: 10.1007/978-3-319-48873-8_9.

91. Roychoudhury A, Banerjee A. Abscisic acid signaling and involvement Parental of mitogen activated protein kinases and calcium-dependent protein kinases during plant abiotic stress. Mechanism of Plant Hormone Signaling under Stress 2018; 1: 197- 241. doi: 10.1002/9781118889022.ch9.

92. Ishitani M, Nakamura T, Han SY, Takabe T. Expression of the betaine aldehyde dehydrogenase gene in barley in response to osmoticstress and abscisic acid. Plant Molecular Biology 1995; 27: 307- 15.

93. Zhang L, Gao M, Hu J, Zhang X, Wang K, Ashraf M. Modulation role of abscisic acid (ABA) on growth, water relations and glycinebetaine metabolism in two maize (Zea mays L.) cultivars under drought stress. International Journal of Molecular Sciences 2012; 13: 3189- 3202. doi: 10.3390/ijms13033189.

94. Salinas P, Velozo S, Herrera-Vásquez A. Salicylic acid accumulation: emerging molecular players and novel perspectives on plant development and nutrition. Journal of Experimental Botany 2025; 76: 1950- 1969. doi: 10.1093/jxb/erae309.

95. Aldesuquy HS, Abbas MA, Abo-Hamed SA, Elhakem AH, et al. Glycine betaine and salicylic acid induced modiication in productivity of two diferent cultivars of wheat grown under water stress. Journal of Stress Physiology & Biochemistry 2012; 8(2):72- 89.

96. Babaei L, Abbaspour N. Effect of Salicylic Acid Application on Oxidative Damage and Antioxidant Activity of Grape (Vitis vinifera L.) Under Drought Stress Condition. International Journal of Horticultural Science and Technology 2017; 4(1): 29-50. DOI: 10.22059/ijhst.2017.227384.176.

97. Singh S, Thejesh C, Mathpal B. Improving wheat grain quality through Zn, cytokinin and gibberellic acid applications. Journal of and Soil Science and Plant Nutrition 2024; 24: 7117- 7128. doi: 10.1007/s42729-024-02028-w.

98. Weretilnyk EA, Hanson AD. Molecular cloning of a plant betaine-aldehyde dehydrogenase, an enzyme implicated in adaptation to salinity and drought. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1990; 87 (7): 2745- 9. https://doi.org/10. 1073/pnas.87.7.2745.

99. Goel D, Singh AK, Yadav V, Babbar SB, et al. Transformation of tomato with a bacterial codA gene enhances tolerance to salt and water stresses. Journal of Plant Physiology 2011; 168(11):1286-94. doi: 10.1016/j.jplph.2011.01.010. Epub 2011 Feb 20. PMID: 21342716.

100. Shirokikh IG, Ogorodnikova SY, Nazarova YI. Efect of salt stress on plants of wild-type Nicotiana tabacum L. and transformants with a choline oxidase (codA) gene. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding 2022; 183(1): 86- 94. https://doi.org/10.30901/2227-8834-2022-1-86-94.

101. Fan W, Zhang M, Zhang H, Zhang P. Improved tolerance to various abiotic stresses in transgenic sweet potato (Ipomoea Batatas) expressing spinach betaine aldehyde dehydrogenase. PLoS ONE 2012; 7(5): e37344. https:// doi. org/ 10. 1371/ journ al. pone. 00373 44.

102. Li ZX, Zhang JR, Song XY. Breeding maize hybrids with improved drought tolerance using genetic transformation. International Journal of Molecular 2024; 25(19):10630. https:// doi. org/ 10. 3390/ ijms2 51910 630.

103. Sugiharto B. Biotechnology of drought-tolerant sugarcane. Sugarcane– Technology AND Research 2017; 138:72436. https:// doi. org/ 10. 5772/ INTEC HOPEN. 72436.

104. Lv DW, Zhu GR, Zhu D, Bian YW, et al. Proteomic and phosphoproteomic analysis reveals the response and defense mechanism in leaves of diploid wheat T. monococcum under salt stress and recovery. Journal of Proteome Research 2016; 143: 93- 105. doi: 10.1016/j.jprot.2016.04.013.

105. Tang W, Sun J, Liu J, Liu F, et al. (2014). RNAi-directed downregulation of betaine aldehyde dehydrogenase 1 (OsBADH1) results in decreased stress tolerance and increased oxidative markers without affecting glycine betaine biosynthesis in rice (Oryza sativa). Plant Molecular Biology 2014; 86: 443- 454. doi: 10.1007/s11103-014-0239-0.

106. Niazian M, Sadat-Noori SA, Tohidfar M, Mortazavian SMM, et al. Betaine Aldehyde Dehydrogenase (BADH) vs.Flavodoxin (Fld): Two Important Genes for Enhancing Plants Stress Tolerance and Productivity. Frontiers in Plant Science 2021; 12: 650215. doi: 10.3389/fpls.2021.650215.

107. Hernandez-Leon SG, Valenzuela-Soto EM. Glycine betaine is a phytohormone-like plant growth and development regulator under stress conditions. Journal of Plant Growth Regulation 2023; 42: 5029- 5040. doi: 10.1007/s00344-022-10855-3.

108. Baicharoen A, Vijayan R, Pongprayoon P. Structural insights into betaine aldehyde dehydrogenase (BADH2) from Oryza sativa explored by modeling and simulations. Scientific Reports 2018; 8, 12892. doi: 10.1038/s41598-018-31204-z.

109. Luo D, Niu X, Yu J, Yan J, et al. Rice choline monooxygenase (OsCMO) protein functions in enhancing glycine betain biosynthesis in transgenic tobacco but does not accumulate in rice (Oryza sativa L. ssp. japonica). Plant Cell Reports 2012; 31(9):1625- 35. https:// doi. org/ 10. 1007/ s00299- 012- 1276-2.

110. Yang X, Liang Z, Wen X, Lu C. Genetic engineering of the biosynthesis of glycine betaine leads to increased tolerance of photosynthesis to salt stress in transgenic tobacco plants. Plant Molecular Biology 2007; 66 (1-2): 73-86. https:// doi. org/ 10. 1007/ s11103- 007-9253-9.

111. Li D, Wang M, Zhang T, Chen X, et al. Glycine betaine mitigated the photoinhibition of photosystem II at high temperature in transgenic tomato plants. Photosynthesis Research 2021; 147: 301- 315. https://doi.org/10.1007/s11120-020-00810-2.

112. Zhou S, Chen X, Zhang X, Li Y. Improved salt tolerance in tobacco plants by co-transformation of a betaine synthesis gene BADH and a vacuolar Na antiporter gene SeNHX1. Biotechnology Letters 2008; 30: 369- 376.

113. Shirokikh IG, Ogorodnikova SY, Nazarova YI. Efect of salt stress on plants of wild-type Nicotiana tabacum L. and transformants with a choline oxidase (codA) gene. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding 2022; 183 (1):86- 94. https://doi.org/10.30901/.2227-8834-2022-1-86-94.

114. Zhang T, Li Z, Li D, Li C, et al. Comparative effects of glycine betaine on the thermos tolerance in codA-and BADH-transgenic tomato plants under high temperature stress. Plant Cell Reports 2020; 39: 1525- 1538. doi: 10.1007/s00299-020-02581-5.

115. Li ZX, Zhang JR, Song XY. Breeding maize hybrids with improved drought tolerance using genetic transformation. International Journal of Molecular Sciences 2024; 25 (19):10630. https://doi.org/10.3390/ijms251910630.

116. Waditee R, Bhuiyan MN, Rai V, Aoki K, et al. Genes for direct methylation of glycine provide high levels of glycine betaine and abiotic-stress tolerance in Synechococcus and Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2005; 102: 1318- 1323.

117. Xia Y, Jiang X, Guo Sh, Wang Y, et al. Glycine betaine modulates extracellular polymeric substances to enhance microbial salinity tolerance. Environmental Science & Ecotechnology 2024; 20: 100406. https://doi.org/10. 1016/j.ese.2024.100406.

118. Waditee-Sirisattha R, Singh M, Kageyama H, Sittipol D, et al. PCC7120 transformed with glycine methylation genes from Aphanothece halophyticasynthesized glycine betaine showing increased tolerance to salt. Archives of Microbiology 2012; 194 (11): 909- 914. https://doi.org/ 10.1007/s00203-012-0824-z.

119. Song JL, Zhang R, Yue D, Chen X, et al. Co-expression of ApGSMT2g and ApDMT2g in cotton enhances salt tolerance and increases seed cotton yield in saline ields. Plant Science 2018; 274: 369- 82. https://doi.org/10. 1016/j.plantsci.2018.06.007.

120. Suguru T, Joyce C, Naruemon K, Suthitar S, et al. Development of transgenic plants in Jatropha with drought tolerance. Plant Biotechnology Journal 2012; 29(2):137- 43. https:// doi. org/ 10. 5511/ plant biote chnol ogy. 12. 0406d.

121. Balabanova L, Pentekhina I, Nedashkovskaya O, Degtyarenko A, et al. Shift of choline/betaine pathway in recombinant Pseudomonas for cobalamin biosynthesis and abiotic stress protection. International Journal of Molecular Sciences 2022; 23 (22): 13934- 13934. https:// doi. org/ 10. 3390/ ijms2 32213 934.