



به زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۴
صفحه‌های ۶۷-۵۳

اثر گلايسين بتائين بر مقاومت به سرمازدگی گیاهچه‌های خیار

فروغ صیدپور^۱، محمد سیاری^{۲*}، و فردین قنبری^۱

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام
۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۰۴

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۱/۰۷

چکیده

گلايسين بتائين يکي از محافظت‌کننده‌های اسمزی است که در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاه تجمع می‌یابد. آزمایشی برای بررسی اثر گلايسين بتائين در غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار با دو روش کاربرد خيساندن بذری و محلول‌پاشی برگ‌ی بر مقاومت به سرمازدگی گیاهچه‌های خیار رقم 'سوپر دامبنوس' انجام گرفت. پس از تیمار گلايسين بتائين، در مرحله دو برگ حقیقی، گیاهچه‌ها تحت تنش سرمایی با دمای ۳ درجه سانتی‌گراد، به مدت شش روز و هر روز به مدت شش ساعت قرار گرفتند. تیمار گلايسين بتائين به طور مؤثری سبب افزایش پارامترهای رشدی و افزایش مقاومت به تنش سرمایی گیاهچه‌های خیار شد. کاربرد گلايسين بتائين با افزایش محتوای کلروفیل، پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و کاهش نشت یونی، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن سبب کاهش صدمه سرمازدگی گیاهچه‌ها شد. بیشترین مقاومت سرمایی در غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين با روش کاربرد بذری نسبت به کاربرد برگ‌ی به دست آمد.

کلیدواژه‌ها: پراکسید هیدروژن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مالون دی‌آلدئید، محتوای پرولین، نشت یونی.

۱. مقدمه

تنش‌های محیطی در گیاهان سبب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی می‌شوند که این تغییرات، بر رشد و مقدار محصول تأثیر منفی می‌گذارند [۱۲]. تنش سرما از بین تنش‌های غیرزنده، به دلیل کاهش محصول و محدودیت در پراکنش جغرافیایی گیاهان، اهمیت زیادی دارد [۲۰]. خسارت ناشی از سرما در مراحل حساس رشد و نمو گیاهان، یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد گیاهان در سراسر جهان است. بسیاری از گونه‌های گیاهی، به ویژه گونه‌های مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری نظیر گوجه‌فرنگی، خیار، ذرت، پنبه و سویا، زمانی که در معرض سرمازدگی با درجه حرارت‌های کم، ولی بالای صفر درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند، دچار آسیب می‌شوند [۳۳]. خیار از گیاهان بومی مناطق گرمسیر است و کشت آن باید در مناطقی با آب و هوای به نسبت گرم صورت گیرد. این گیاه همانند سایر گیاهان بومی مناطق گرمسیر در دماهای زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد دچار سرمازدگی می‌شود و چنانچه کشت آن در اوایل فصل رشد در هوای آزاد صورت گیرد، به دلیل نوسان‌های دمایی و کاهش دما به زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد، گیاهچه‌ها دچار خسارت سرمازدگی می‌شوند. تأثیر اصلی تنش سرما مربوط به اثر منفی است که بر غشای سلولی می‌گذارد و به ازدست دادن آب سلول^۱ و ایجاد خسارت منجر می‌شود [۱۷، ۲۷].

یکی از مهم‌ترین پاسخ‌های گیاهان به تنش، تولید انواع متفاوتی از ترکیبات آلی سازگار است که وزن مولکولی کمی دارند و در غلظت‌های زیاد برای سلول غیرسمی‌اند. گلايسين بتائين معمولی‌ترین محلول آلی سازگار و از مهم‌ترین ترکیبات چهارگانه آمونیوم است. گلايسين بتائين به‌طور طبیعی در پاسخ به تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله اسفناج، چغندر قند، جو و گندم تجمع

می‌یابد و در نتیجه، تحمل به تنش این گونه‌ها نسبت به گونه‌های حساس بیشتر می‌شود [۳۰، ۳]. در گیاهانی که توانایی تجمع گلايسين بتائين را ندارند، کاربرد این ماده به‌خوبی می‌تواند اثرهای تنش را در آنها تخفیف دهد [۱۹، ۲]. گلايسين بتائين از طریق تأثیر بر تنظیم پتانسیل اسمزی سلول‌ها به پایداری و تثبیت پروتئین‌ها و غشای سلولی کمک می‌کند [۱۰] و نیز با تأثیر بر ظرفیت فتوسنتزی گیاه، سبب بهبود رشد گیاهچه‌های تحت تنش می‌شود [۱۵]. کاربرد خارجی گلايسين بتائين در بهبود اثر منفی دمای کم در رشد گونه‌های مختلف گیاهی گزارش شد [۳۲]. با کاربرد گلايسين بتائين در گیاهچه‌های ذرت تحت تأثیر دماهای کم، افزایش ارتفاع و ماده خشک مشاهده شد [۸]. همچنین کاربرد گلايسين بتائين بر روی دو رقم گوجه‌فرنگی سبب افزایش تحمل آنها به دمای کم شد [۲۸]. با کاربرد گلايسين بتائين بر روی گیاهان توت‌فرنگی تحت دماهای کم، تحمل به سرمای این گیاه به بیش از دو برابر افزایش یافت. همچنین کاربرد خارجی این ماده در گیاهان غیرمقاوم به سرما در توت‌فرنگی، تحمل به سرما را به اندازه گیاهان مقاوم به سرما افزایش داد [۲۶]. در دو گونه سیب‌زمینی، کاربرد خارجی گلايسين بتائين سبب افزایش مقاومت به سرما شد [۷].

هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر گلايسين بتائين بر افزایش مقاومت به سرمازدگی گیاهچه‌های خیار در مراحل اولیه رشد بود.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر روی گیاه خیار رقم 'سوپر دامینوس'^۲ در سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. تیمارها شامل چهار

2. *Cucumis sativus L., cv. Super dominos*

1. Dehydration

ضعيف: نواحی کوچک نکروزه روی برگ‌ها (کمتر از ۱۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود)؛
ملايم: نواحی نکروزه مشخص روی شاخه‌ها (تا ۳۰ درصد از سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود)؛
شدید: نواحی نکروزه شدید همراه با کاهش رشد شدید (بیش از ۵۰ درصد برگ‌ها نکروزه می‌شوند، اما هنوز گیاه زنده است). هر کدام از گروه‌های ذکر شده به ترتیب با شماره‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ارزش‌گذاری شده و در نهایت میانگین خسارت برای هر تیمار محاسبه شد [۳۲].

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل از روش استرین و اسویک [۲۹] استفاده شد. ابتدا ۰/۱ گرم بافت برگ‌گی تازه با استفاده از ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی کاملاً ساییده شد تا توده یکنواختی به دست آید. پس از سانتریفیوژ محلول، روش‌ناور حاصل برداشته شد و میزان جذب آن در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. مقدار کلروفیل a، b و مجموع (a+b) با استفاده از فرمول‌های ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد:

(۱)

$$\text{Chlorophyll a (mg/g F.W)} = 12.7(A663) - 2.69(A645)$$

(۲)

$$\text{Chlorophyll b (mg/g F.W)} = 22.9(A645) - 4.68(A663)$$

(۳)

$$\text{Chlorophyll a+b (mg/gF.W)} = 20.2(A645) + 8.02(A663)$$

برای اندازه‌گیری نشت یونی از روش لوتس و همکاران استفاده شد [۱۸]. از قسمت میانی برگ‌های جوان و کاملاً توسعه‌یافته شش تکه مساوی با چوب‌پنبه سوراخ‌کن برداشته شد. نمونه‌های برگ‌گی در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت. پس از ۲۴ ساعت قرار دادن روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور در

غلظت صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين بودند که با دو روش کاربرد بذری و برگ‌گی استفاده شدند. ابتدا بذرها به دو دسته تقسیم شدند. یک دسته از آنها به منظور اعمال تیمار بذری با غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند و دسته دیگر به منظور اجرای تیمار برگ‌گی، ۲۴ ساعت در داخل آب مقطر قرار گرفتند و سپس در داخل گلدانهای پلاستیکی با ترکیب خاکی متشکل از خاک برگ پوسیده، ماسه بادی و خاک باغچه به نسبت ۱:۱:۱ کاشته شدند. سپس در گلخانه با نور طبیعی و دمای روزانه ۲۵ و شبانه ۱۸ درجه سانتی‌گراد رشد یافتند. زمانی که گیاهچه‌ها دارای دو برگ حقیقی کاملاً رشد کرده شدند، با غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين محلول‌پاشی شدند، به نحوی که هر دو طرف برگ‌ها کاملاً خیس شوند. چهار روز پس از اعمال تیمار برگ‌گی گیاهچه‌ها به منظور دریافت تنش سرمایی به اتاقک رشد با دمای ۳ درجه سانتی‌گراد و نور مداوم به مدت ۶ روز و در هر روز به مدت ۶ ساعت منتقل شدند [۵]. بعد از پایان تیمار سرمایی همه گلدان‌ها به گلخانه با شرایط نور و دمای ذکر شده منتقل شدند و پس از ۷۲ ساعت در این شرایط، اندازه‌گیری صفات انجام گرفت.

برای اندازه‌گیری وزن تر و خشک، اندام هوایی گیاهان از سطح خاک بریده شد و ریشه‌ها نیز با شست و شو از خاک گلدان خارج و وزن تر آنها محاسبه شد. سپس اندام هوایی و ریشه گیاهان در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس توزین شد.

شاخص سرمازدگی براساس پژمرده شدن، آب از دست‌دهی و نکروزه شدن برگ‌ها و شاخه‌ها براساس حالت‌های زیر ارزیابی شد:

طبیعی: هیچ علامتی دیده نمی‌شود؛

خیلی ضعیف: نواحی کوچک نکروزه روی شاخه‌ها اما بدون محدودیت رشد (کمتر از ۵ درصد سطح برگ‌ها نکروزه می‌شود)؛

ظرفیت آنتی اکسیدانی کل براساس روش کولکاربینی و همکاران [۱۷] و از روی غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد شده توسط ماده ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)^۱ و بی‌رنگ کردن آن صورت پذیرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از فرمول ۵ محاسبه شد:

$$\%AA = 1 - \frac{A517(\text{Sample})}{A517(\text{Control})} \times 100$$

اندازه‌گیری پرولین با استفاده از روش بتیس و همکاران [۶] با اندکی تغییر انجام گرفت. ابتدا ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد در داخل هاون به‌خوبی له شد تا مخلوط یکنواختی به‌دست آید. پس از سانتریفیوژ، ۲ میلی‌لیتر از محلول روشن‌آور به‌همراه ۲ میلی‌لیتر ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط و به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم گذاشته شد و پس از خارج کردن از حمام آب گرم، بلافاصله به منظور توقف واکنش، نمونه‌ها در یخ قرار داده شد. سپس با اضافه کردن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن به‌دست آمد.

برای تعیین محتوای آب نسبی (RWC)^۲ ابتدا با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ کن شش دیسک برگگی از هر نمونه انتخاب و جدا شد و بلافاصله نمونه‌ها در محیط آزمایشگاهی با ترازو (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند (FW)؛ سپس به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (به‌منظور آب‌گیری کامل) قرار گرفتند و در این مدت در محیط آزمایشگاهی با دمای تقریبی ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و پس از خشک شدن آب سطحی دوباره توزین شدند (TW). پس از آن دیسک‌ها به مدت ۴۸ ساعت و در

دقیقه، هدایت الکتریکی اولیه (EC₁) محلول توسط دستگاه سنجش هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شد. سپس محلول حاوی نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل حمام آب جوش قرار داده شد و پس از قرارگیری در دمای محیط به مدت ۲۴ ساعت، هدایت الکتریکی ثانویه (EC₂) محلول اندازه‌گیری شد. درصد نشت یونی با استفاده از فرمول ۴ محاسبه شد:

$$\%EL = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \quad (4)$$

به منظور اندازه‌گیری محتوای مالون دی‌آلدئید که بیانگر میزان پراکسیده شدن لیپیدهای غشای سلولی است، از روش زانگ و همکاران [۳۳] با اندکی تغییر استفاده شد. ابتدا ۰/۲۵ گرم از بافت تازه برگگی در ۵ سی‌سی تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد هموژنایز شد. پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر از روشن‌آور به‌همراه ۴ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربتوریک اسید است مخلوط شد؛ سپس ۳۰ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از آن در یخ قرار داده شد و در نهایت جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد.

محتوای پراکسید هیدروژن براساس روش سرگیو و همکاران [۹] اندازه‌گیری شد. بر این اساس، ۰/۵ گرم بافت تازه برگ با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد مخلوط و کاملاً هم زده شد. در این زمان باید هاون در داخل یخ قرار داشته باشد. مخلوط حاصل هموژن شد. در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از روشن‌آور به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات (pH=7) و ۱ میلی‌لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد. سپس جذب محلول حاصل در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد و محتوای پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد ترسیم شده (نانوگرم بر گرم وزن تر) محاسبه شد.

1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
2. Relative Water Content (RWC)

تحت تأثير قرار مي‌دهد. صدمه به ريشه در اثر دماي كم سبب کاهش جذب آب و مواد معدني و در نتيجه اختلال در رشد گياه مي‌شود. کاهش رشد ريشه و به‌دنبال آن اختلال در انتقال مواد، سبب ظهور اثرهاي ثانويه ناشي از كمبود مواد غذايي مي‌شود [۳]. سنتز برخي از هورمون‌هاي گياهي از جمله سيتوكينين و بسياري از اسيدهاي آمينه در ريشه گياه، در اثر سرما دچار اختلال مي‌شود كه به کاهش رشد شاخساره گياه مي‌انجامد. همچنين سرما از طريق تأثير بر رشد گرانشي ريشه، سبب محدوديت رشد آن مي‌شود؛ اين پاسخ گرانشي به‌طور ويژه‌اي به مقدار اكسين ريشه وابسته است. اين اختلاف موجب محدود شدن رشد ساقه در نتيجه کاهش سنتز هورمون‌ها مي‌شود و ضعيف شدن گياه را در پي دارد [۳۲]. علت بهبود رشد ريشه و ساقه گياهان تحت تنش با کاربرد گلايسين بتائين ممكن است به توانايي تحريك رشد آن وابسته باشد كه موجب رشد هيپوكوتيل، رشد و توسعه سلولي و نيز آزاد كردن پيوند آبي متصل به پروتئين مي‌شود. اين فرايندها در مجموع سبب دسترسي ريشه‌چه و ساقه‌چه به آب، طويل شدن آنها و افزايش ماده خشك مي‌شود [۱۴، ۲۳].

دماي ۷۵ درجه سانتی گراد در داخل آون الكتريكي قرار داده شدند. پس از اين مدت، نمونه‌ها توزين شدند تا وزن خشك (DW) به‌دست آيد؛ سپس از رابطه ۶ محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد:

$$RWC = (FW - DW) / (TW - DW) \times 100 \quad (6)$$

تجزیه و تحليل آماری با استفاده از نرم‌افزارهاي آماری SAS (نسخه ۹/۱) و MSTAT-C انجام گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اكسل و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانكن استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

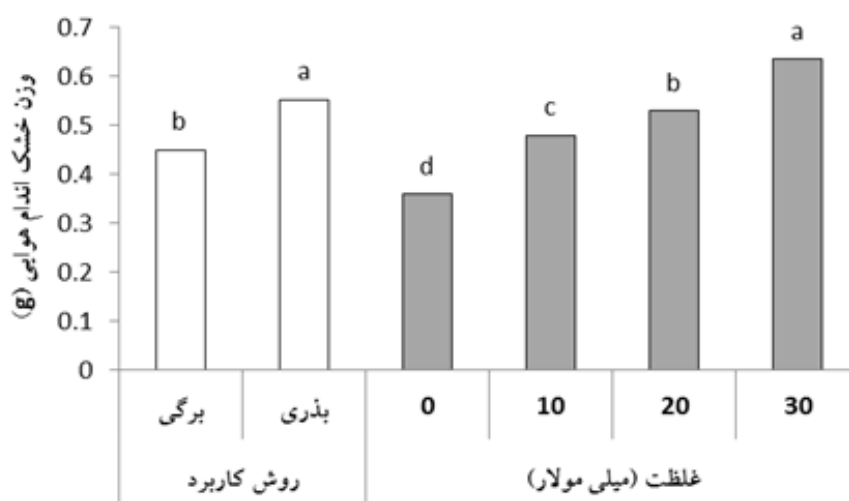
۱.۳. وزن خشك ريشه و اندام هوایی

اثر روش کاربرد و غلظت بر وزن خشك اندام هوایی و اثر غلظت بر وزن خشك ريشه در سطح ۱ درصد معنادار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرهاي ساده روش کاربرد نشان داد كه کاربرد بذري نسبت به کاربرد برگي سبب افزايش معنادار اين صفت شده است (شكل ۱). همچنين با افزايش غلظت گلايسين بتائين وزن خشك اندام هوایی و ريشه افزايش يافت، به‌طوري‌كه بيشتريين مقدار آن در کاربرد ۳۰ ميلي‌مولار گلايسين بتائين به‌دست آمد (شكل‌هاي ۱ و ۲). سرما تمام جنبه‌هاي عملکرد سلول را

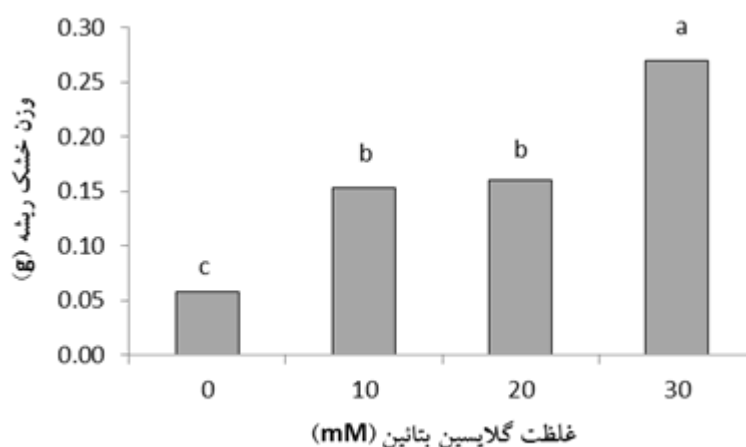
جدول ۱. جدول تجزیة واریانس اثر گلايسين بتائين و روش کاربرد آن بر برخی صفات گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمایی

میانگین مربعات				وزن خشك ريشه	وزن خشك اندام هوایی	درجه آزادی	منابع تغييرات
كلروفیل كل	كلروفیل b	كلروفیل a	شاخص سرمازدگي				
۹/۶۲**	۱۰/۲۲*	۲/۲۶**	۰/۳۷۵ ^{ns}	۰/۰۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۵۵**	۱	روش کاربرد
۵۳/۹۶**	۳۵/۱۸**	۱۱/۵**	۷/۴۸**	۰/۰۴۶**	۰/۰۷۸۹**	۳	غلظت
۲/۲۲*	۰/۰۰۸ ^{ns}	۰/۴۹ ^{ns}	۰/۱۵۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۰۴۵ ^{ns}	۳	روش کاربرد × غلظت
۰/۶۴	۱/۵۸	۰/۲۳۵	۰/۳۹	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۱۸	۱۴	خطای آزمایشی
۱۲/۲۴	۲۳/۹۴	۱۳/۷۳	۲۰/۲۰	۲۴/۱۶	۸/۹۴	-	ضریب تغییرات (%)

** و ***: به ترتیب معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد، ns: نبود اختلاف معنادار



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف و روش کاربرد گلیکوسین بتائین بر وزن خشک شاخساره گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی (میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).



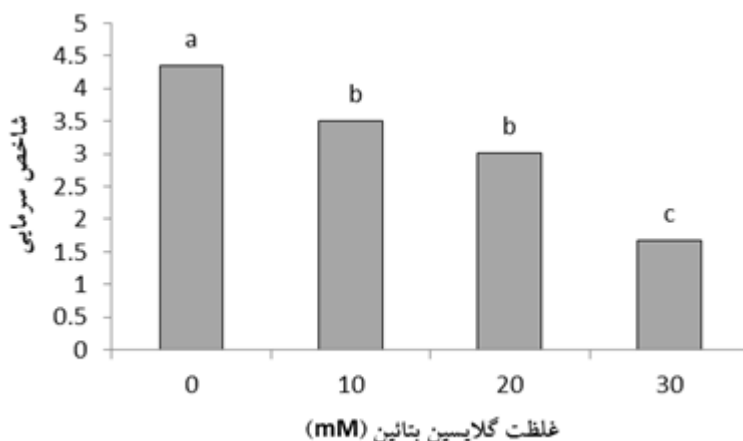
شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف گلیکوسین بتائین بر وزن خشک ریشه گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی (میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

۲.۳. شاخص سرمزدگی

میانگین اثرهای ساده غلظت بر این صفت نشان داد که هر سه غلظت به کاررفته گلیکوسین بتائین به طور معناداری سبب کاهش شاخص سرمزدگی نسبت به تیمار شاهد شدند (شکل ۳).

نتایج به دست آمده نشان داد تنها اثر غلظت بر شاخص سرمزدگی در سطح ۱ درصد احتمال معنادار شد (جدول ۱). اثر ساده روش کاربرد و اثر متقابل روش کاربرد و غلظت از لحاظ آماری بر این صفت معنادار نشد. مقایسه

اثر گلايسين بتائين بر مقاومت به سرمازدگي گياهچه‌هاي خيار



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين بر شاخص سرمازدگي گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمایی

(میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

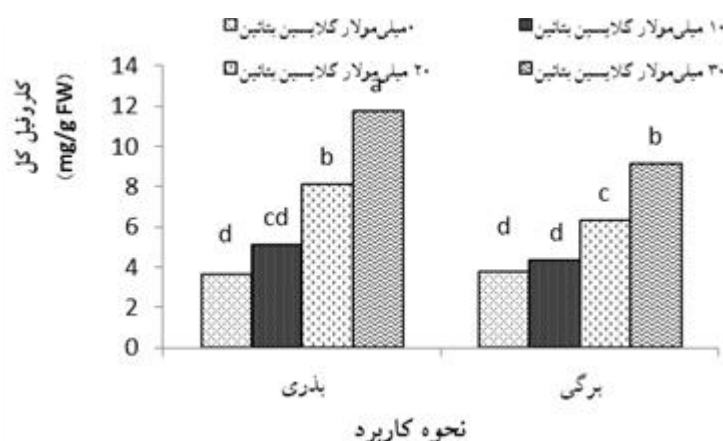
۱). استفاده از گلايسين بتائين با هر دو روش کاربرد بذري و برگي سبب افزايش معنادار کلروفيل کل نسبت به شاهد شد که روش کاربرد بذري مؤثرتر از کاربرد برگي بود (شکل ۴). تنش سرمایی به‌طور مستقيم بر سيستم فتوسنتزي گياه تأثير می‌گذارد و بخش‌های اصلي نظير غشای تیلاکوئيد و رنگيزه‌های فتوسنتزي را تخریب می‌کند و سبب بروز آسیب در واکنش‌های کلروپلاست می‌شود [۱۱]. کاهش مقدار کلروفيل در شرایط تنش سرمایی به کاهش در سنتز کلروفيل يا تخریب آن توسط آنزيم کلروفيلاز و کاهش فتوسنتز در اثر سرما به اختلال در توليد کلروفيل و از بين رفتن ساختار کلروپلاست‌ها ربط داده می‌شود [۲۲]. با کاهش بیشتر دما، فرايند کلروفيل‌سازي متوقف می‌شود و رنگ برگ‌ها به زردی می‌گرايد که بيان‌کننده کمبود کلروفيل است [۲]. با توجه به اينکه احتمالاً اولين مکان دريافت تنش سرما فتوسيستم دو است و سبب کاهش فلورسانس اين فتوسيستم و توقف فعاليت‌های فتوسنتزي می‌شود، در برخی مطالعات بهبود فتوسنتز در اثر کاربرد گلايسين بتائين بر گیاهان تحت تنش به تأثیر مثبت آن بر کارایی فتوشیمیایی فتوسيستم دو ربط داده می‌شود [۲۷].

قرار دادن گياهچه‌هاي خيار در دمای ۳ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۶ روز سبب ايجاد علائم سرمازدگي برگ‌ها از جمله پژمردگی، نکروز شدن و خشک شدن برگ‌ها شد. کاربرد گلايسين بتائين موجب کاهش بروز اين علائم شد که احتمالاً بيان‌کننده بهبود مقاومت به سرمازدگي در اثر کاربرد گلايسين بتائين است. بررسی علائم ظاهري خسارت سرما نشان داد افزايش غلظت گلايسين بتائين بر مقاومت به سرمای گياهچه‌هاي خيار تأثير مثبتی داشت، به‌طوري که کمترین علائم سرمازدگي در غلظت ۳۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين مشاهده شد (شکل ۳). احتمالاً گلايسين بتائين با تأثیر بر افزايش ظرفيت فتوسنتزي و حفظ پتانسیل تورژسانس سلول‌ها، سبب بهبود مقاومت به تنش سرما شده است [۴].

۳.۳. محتوای کلروفيل

مقدار کلروفيل b.a و کل به‌طور معناداری تحت تأثیر روش کاربرد و غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين قرار گرفت و تنها اثر متقابل روش کاربرد و غلظت بر مقدار کلروفيل کل در سطح ۵ درصد احتمال معنادار شد (جدول

فروغ صیدپور و همکاران



شکل ۴. اثر متقابل روش کاربرد و غلظت گلایسین بتائین بر مقدار کلروفیل کل در گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی (میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

سلول در غلظت‌های زیاد سلولی سمی‌اند و سبب پراکسیده شدن لپیدهای غشای سلولی و اندامک‌ها می‌شوند و نتیجه آن ظهور صدمات ناشی از تنش سرما در گیاهان است. ضمن اینکه این رادیکال‌ها بسیار واکنشگرند و می‌توانند با خارج کردن H^+ از فسفولیپیدها موجب تشکیل رادیکال فعال اسید چرب شوند و رادیکال اسید چرب در حضور اکسیژن با تولید پراکسید اسید چرب، ضمن تخریب چربی‌ها و پروتئین‌ها رادیکال‌های بیشتری تولید کند. آلدئیدها که از محصولات اصلی پراکسیداسیون لپیدها هستند، به‌عنوان شاخص این واکنش‌ها اندازه‌گیری می‌شوند. از مهم‌ترین آنها، مالون‌دی‌آلدئید است [۱]. یکی از مهم‌ترین وظایف گلایسین بتائین به‌عنوان محافظ اسمزی، تنظیم پتانسیل اسمزی و محافظت از نفوذپذیری غشای سلول است که سبب حفظ و ثبات غشای سلولی در برابر پراکسیداسیون و در نتیجه نشأت مواد داخل به خارج سلول می‌شود [۲۴]. این ترکیب در هر دو روش کاربرد بذری و برگی سبب حفاظت از غشای سلولی و کاهش نشأت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید شد و در نهایت با کاربرد آن تحمل به تنش سرما در نشای خیار افزایش یافت.

در مطالعه حاضر، پیش‌تیمار گلایسین بتائین سبب حفظ رنگیزه‌های فتوسنتزی شد که نشان‌دهنده تأثیر مثبت این ماده در شرایط تنش سرماست و ممکن است یکی از دلایل حفظ رشد و کاهش آسیب سرمازدگی به گیاهچه‌های خیار در این شرایط باشد.

۴.۳. نشأت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید

روش کاربرد، غلظت و اثر متقابل آنان اثر معناداری بر میزان نشأت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدئید داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها اثرهای متقابل نشان داد که استفاده از گلایسین بتائین با هر دو روش بذری و برگی سبب کاهش معنادار این دو صفت شد، به‌طوری‌که کمترین میزان نشأت یونی و همچنین مقدار مالون‌دی‌آلدئید در غلظت ۳۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین حاصل شد (شکل‌های ۵ و ۶). تنش سرما از طریق تأثیر بر نفوذپذیری سبب افزایش نشأت محلول‌های سلولی می‌شود. نشأت یونی بیان‌کننده شدت آسیب‌دیدگی غشای سلولی است که در اثر تنش سرما میزان گونه‌های واکنشگر اکسیژن^۱ افزایش می‌یابد و نشأت یونی زیادتر می‌شود [۲۵]. این رادیکال‌های آزاد درون

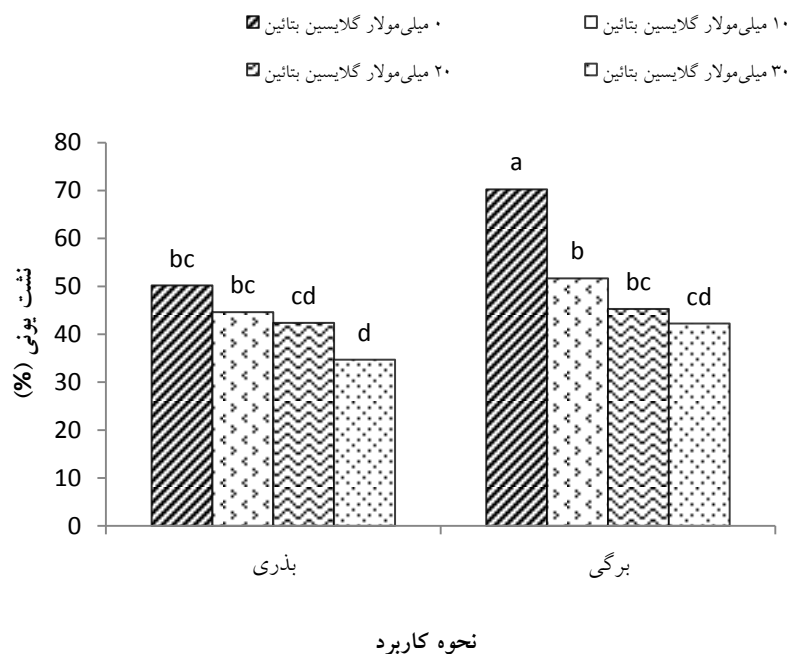
1. Reactive Oxygen Species (ROS)

اثر گلايسين بتاين بر مقاومت به سرمازدگي گياهچه‌هاي خيار

ادامه جدول ۱. تجزيه واريانس اثر گلايسين بتاين و روش کاربرد آن بر برخي صفات گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمايي

منابع تغييرات	درجه آزادي	ميانگين مربعات				
		نشست يوني	مالون	فعاليت	پراکسيد	محتوای
		دي آلدئيد	آنتي اکسيداني	هيدروژن	پرولين	نسبي آب
روش کاربرد	۱	۵۲۹/۰۶**	۰/۶۲۸**	۸/۲۸ ^{ns}	۰/۰۰۲*	۳۲/۲۴*
غلظت	۳	۵۱۳/۹۶**	۱/۹۸**	۱۰۸۰/۰۷**	۰/۰۰۴**	۹۴/۶۴**
روش کاربرد × غلظت	۳	۸۲/۴۵*	۰/۵۰۳**	۲۷/۷۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۰/۱۳۲ ^{ns}
خطای آزمائشي	۱۴	۱۸/۳	۰/۰۵۱	۶۲/۴۵	۰/۰۰۰۱	۵/۳۶
ضريب تغييرات (%)	-	۸/۹۷	۱۶/۸۱	۱۳/۴۲	۷/۶۷	۱۵/۰۶
۲/۴۱ ^{ns}						
۳۹/۰۸ ^{ns}						
۱۴/۱۷						
۶/۸۶						

** و * : به ترتيب معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد، ns: نبود اختلاف معنادار.



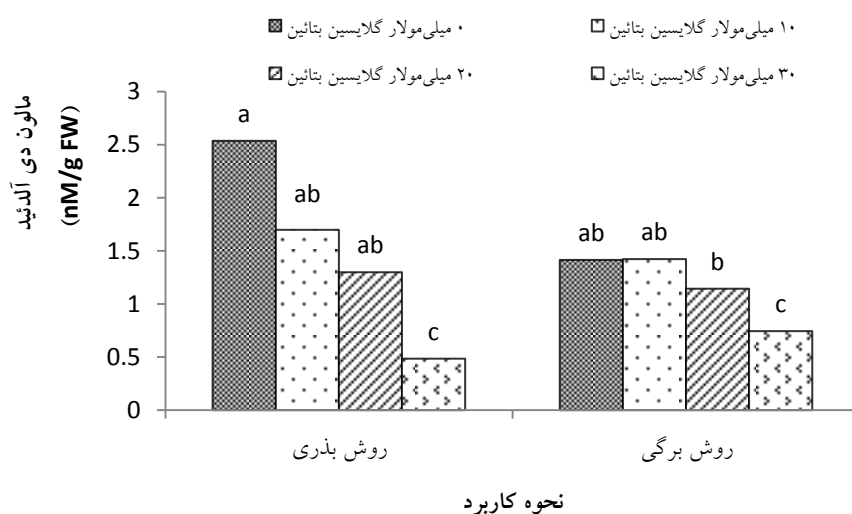
شکل ۵. اثر متقابل روش کاربرد و غلظت گلايسين بتاين بر نشست يوني گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمايي

(ميانگين‌هايي که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

به زراعی کشاورزی

دوره ۱۷ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۴

فروغ صیدپور و همکاران



شکل ۶. اثر متقابل روش کاربرد و غلظت گلايسين بتائين بر محتوای مالون دی آلدئید گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی (میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

تنش سرمایی رادیکال‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد، سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه مختل می‌شود و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد [۱۷]. با تولید رادیکال‌های آزاد خصوصیات غشا تغییر می‌کند و آسیب‌های ثانوی در گیاهان ایجاد می‌شود. گونه‌های واکنشگر اکسیژن دو وظیفه اصلی بر عهده دارند. در شرایط تنش و در غلظت‌های کم در انتقال سیگنال نقش دارند و نیز تحمل گیاه به تنش را موجب می‌شوند؛ اما در غلظت‌های زیاد سبب مرگ سلول می‌شوند [۱۳]. پراکسید هیدروژن در غلظت‌های کم به عنوان مولکول سیگنال‌دهنده در سیستم‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش شناخته شده و حتی سبب بهبود فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود، اما این تا زمانی است که غلظت پراکسید هیدروژن کم باشد. با افزایش مقدار آن سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه سبب زدودن رادیکال‌های اضافی می‌شود [۱۵]. با افزایش غلظت

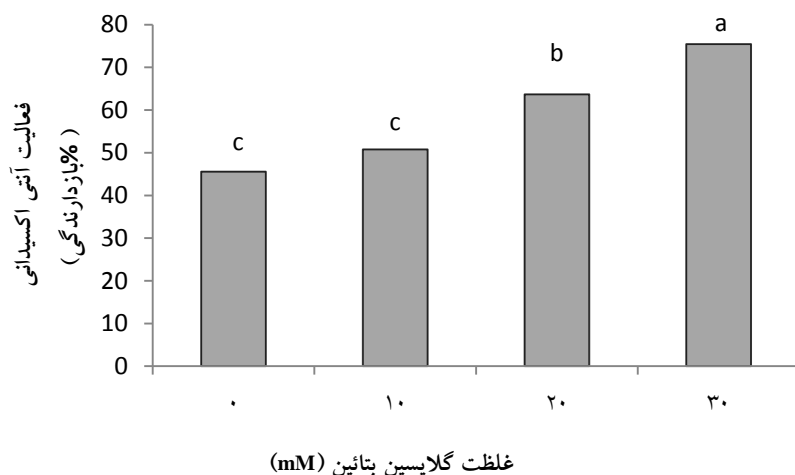
۵.۳. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار پراکسید هیدروژن

نتایج به دست آمده نشان داد که تنها اثر غلظت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در سطح ۱ درصد احتمال معنادار شد و اثر ساده روش کاربرد و اثر متقابل روش کاربرد و غلظت تأثیر معناداری بر این صفت نداشت (جدول ۱). همچنین اثرهای ساده روش کاربرد و غلظت بر مقدار پراکسید هیدروژن معنادار شد. مقایسه میانگین اثرهای ساده غلظت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل نشان داد که استفاده از گلايسين بتائين در غلظت‌های ۲۰ و ۳۰ میلی مولار سبب افزایش معنادار این صفت نسبت به شاهد شد (شکل ۷). مقایسه میانگین اثرهای ساده روش کاربرد نشان داد که کاربرد برگ‌گی سبب کاهش معنادار پراکسید هیدروژن نسبت به کاربرد بذری شد. همچنین هر سه غلظت به کاررفته گلايسين بتائين به طور معناداری سبب کاهش پراکسید هیدروژن شدند (شکل ۸). با قرار گرفتن گیاه در معرض

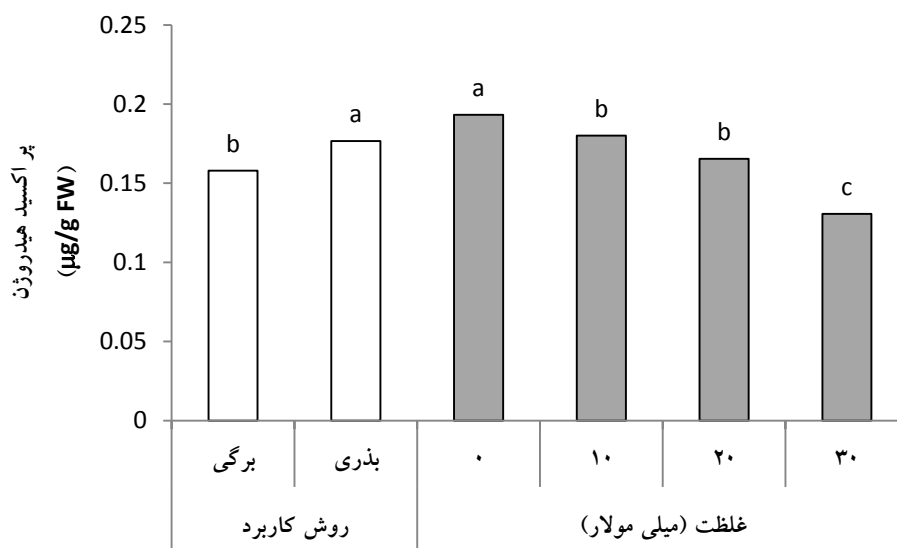
اثر گلايسين بتائين بر مقاومت به سرمازدگي گياهچه‌هاي خيار

آنتي‌اکسيداني گياه در مقايسه با گياهان شاهد، به نحو مؤثرتري راديکال‌هاي آزاد و از جمله پراکسيد هيدروژن را خشي کند و پايداري غشاي پلاسماي را سبب شود که با نتايج تحقيق درباره گياه فلفل، مطابقت دارد [۱۵].

گلايسين بتائين مقدار پراکسيد هيدروژن به طور معناداري کاهش پيدا کرد و نيز روش کاربرد برگي مؤثرتر از روش کاربرد بذري بود (شکل ۸). به نظر مي‌رسد تيمار گلايسين بتائين در اين آزمايش توانست با افزايش ظرفيت



شکل ۷. اثر غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين بر ميزان فعاليت آنتي‌اکسيداني در گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمايي (ميانگين‌هايي که در هر ستون داراي حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

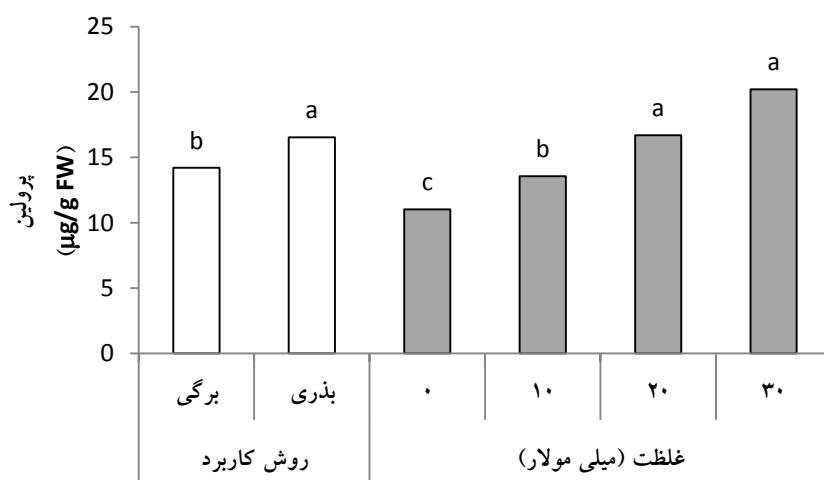


شکل ۸. اثر غلظت‌هاي مختلف و روش کاربرد گلايسين بتائين بر مقدار پراکسيد هيدروژن گياهچه‌هاي خيار تحت تنش سرمايي (ميانگين‌هايي که در هر ستون داراي حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

۶.۳. مقدار پرولین و محتوای نسبی آب بافت

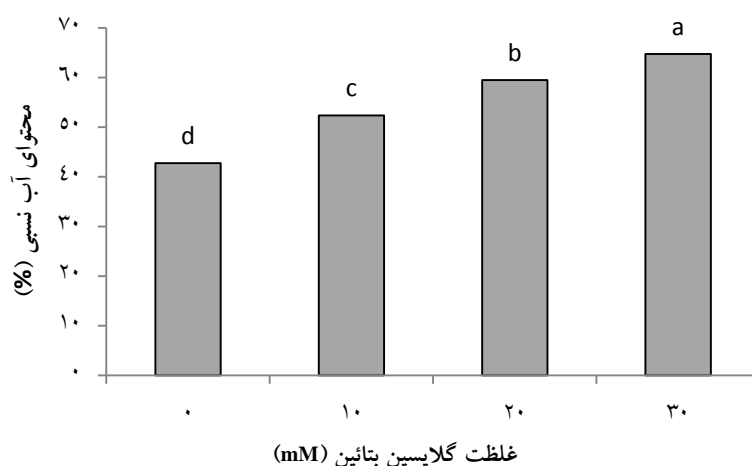
به کاررفته گلاسیسین بتائین سبب افزایش معنادار پرولین نسبت به شاهد شدند (شکل ۹). مقایسه میانگین اثرهای ساده غلظت بر محتوای آب نسبی نشان داد که هر سه غلظت به کاررفته گلاسیسین بتائین سبب افزایش معنادار این صفت نسبت به تیمار شاهد شدند (شکل ۱۰).

اثرهای ساده روش کاربرد و غلظت بر مقدار پرولین و اثر ساده غلظت بر محتوای آب نسبی معنادار شد و اثرهای متقابل روش کاربرد و غلظت بر این صفات معنادار نشد (جدول ۱). مقایسه میانگین اثرهای ساده روش کاربرد نشان داد که کاربرد بذری سبب افزایش معنادار محتوای پرولین نسبت به کاربرد بذری شد. همچنین هر سه غلظت



شکل ۹. اثر غلظت‌های مختلف و روش کاربرد گلاسیسین بتائین بر مقدار پرولین گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

(میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).



شکل ۱۰. اثر غلظت‌های مختلف گلاسیسین بتائین بر محتوای آب نسبی گیاهچه‌های خیار تحت تنش سرمایی

(میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک‌اند، براساس آزمون دانکن اختلاف معنادار در سطح ۵ درصد ندارند).

منابع

1. میرمحمدی میبدی ع م و قره‌یاضی ب (۱۳۸۱) جنبه‌های فیزیولوژیک و به‌نژادی تنش شوری گیاهان. انتشارات گلبن، ۲۴۷ ص.
2. Agboma P, Sinclair T, Jokinen K, Peltonen-Sainio P and Pehu E (1997) An evaluation of the effect of exogenous glycine betaine on the growth and yield of soybean. *Field Crops Research*. 54: 51-64.
3. Ashraf M and Foolad MA (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59(2): 206-216.
4. Bandurska H and Stroinski A (2005) The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum*. 27(3): 379-386.
5. Baninasab B (2009) Amelioration of chilling stress by paclobutrazol in watermelon seedlings. *Scientia Horticulturae*. 121: 144-148.
6. Bates LS, Waldren RP and Teare ID (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*. 29: 205-207.
7. Bohnert HJ and Jensen RG (1996) Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*. 14(3): 89-97.
8. Chen WP, Li PH and Chen T (2009) Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduce chilling induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant, Cell and Environment*. 23(6): 609-618.
9. Erdal S (2012) Androsterone-induced molecular and physiological changes in maize seedlings in response to chilling stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 57: 1-7.
10. Hanson AD (1990) Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology*. 8: 358-362.

اسپری برگی گلیسین بتائین سبب تجمع گلیسین بتائین داخلی و نیز پرولین در گیاهان مختلف و افزایش مقاومت به سرما می‌شود [۲۸]. محققان با کاربرد گلیسین بتائین بر روی گیاهچه‌های فلفل تحت تنش شوری به نتایج مشابهی دست یافتند [۱۵]. پرولین یکی از محافظت‌کننده‌های اسمزی است و با تأثیر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و از بین بردن رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل، ممکن است یکی از دلایل افزایش تحمل تنش سرمایی در گیاهچه‌های خیار در اثر کاربرد گلیسین بتائین باشد [۳]. در این آزمایش، با افزایش غلظت گلیسین بتائین محتوای نسبی آب بافت افزایش یافت. از دلایل این افزایش می‌توان به این موارد اشاره کرد: کاربرد گلیسین بتائین احتمالاً موجب افزایش ظرفیت فتوسنتزی، افزایش اسمولیت‌ها از جمله پرولین و حفظ محتوای آب سلولی و پتانسیل تورژسانس در برگ می‌شود و در نتیجه می‌توان آن را راه‌حلی مناسب برای مقابله با تنش سرما محسوب کرد.

۴. نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست‌آمده، کاربرد گلیسین بتائین در محدوده غلظت ۱۰ تا ۳۰ میلی‌مولار سبب کاهش خسارت سرما در گیاهچه‌های خیار شد. ضمن اینکه روش کاربرد بذری در مقایسه با روش کاربرد برگی در کاهش خسارت سرما مؤثرتر بود. به‌طور کلی، کاربرد گلیسین بتائین می‌تواند با تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه شامل افزایش کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پرولین و کاهش تجمع پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید از خسارت سرمازدگی گیاهچه‌های خیار که در معرض نوسان‌های دمایی ابتدای فصل رشد قرار دارند، بکاهد. بنابراین، گلیسین بتائین را می‌توان ماده‌ای اثربخش برای رفع اثر مخرب تنش سرما به‌حساب آورد. البته برای اطمینان کامل از اثربخشی آن، تحقیقات بیشتر و آزمایش‌های مزرعه‌ای ضروری است.

11. Hola D, Kocova M, Rothova O, Wilhelmova N and Benesova M (2007) Recovery of maize (*Zea mays* L) inbreds and hybrids66 from chilling stress of various duration: photosynthesis and antioxidant enzymes. *Journal of Plant Physiology*. 164: 868-877.
12. Javadian N, Karimzadeh G, Mahfoozi F and Ghanati F (2010) Cold-induced changes of enzymes, proline, carbohydrates, and chlorophyll in wheat. *Russian Journal of Plant Physiology*. 57(4): 540-547.
13. Jie-Zhou J, Wang J, Shi K, Xia Z, Zhou Y and Yu J (2012) Hydrogen peroxide is involved in the cold acclimation-induced chilling tolerance of tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 60: 141-146.
14. Kocsya G, Galiba G and Brunold C (2001) Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*. 113(2): 158-164.
15. Korkmaz A, Rauf S, Irikc I, Kocac F, Degera O and Demirkırı AR (2012) Alleviation of salt-induced adverse effects in pepper seedlings by seed application of glycinebetaine. *Scientia Horticulturae*. 148(4): 197-205.
16. Kumar V and Sharma DR (1989) Effect of exogenous proline on growth and ion content in NaCl stressed and nonstressed cells of mung bean, *Vigna radiata* var. radiate. *Indian Journal of Experimental Biology*. 27: 813-815.
17. Lee D and Lee CB (2000) Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. *Plant Science*. 159(1): 75-85.
18. Lutts S, Kinet JM and Bouharmont J (1995) Changes in plant response to NaCl, during development of rice (*Oryza sativa*) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany*. 46: 1843-1852.
19. Makela P, Jokinen K, Kontturi M, Peltonen-Sainio P, Pehu E and Somersalo S (1998) Foliar application of glycine betaine - a novel product from sugarbeet - as an approach to increase tomato yield. *Industrial Crops and Products*. 7: 139-148.
20. Matuk A, Rey P and Rorat T (2008) The organ-dependent abundance of a Solanum lipid transfer protein is up-regulated upon osmotic constraints and associated with cold acclimation ability. *Journal of Experimental Botany*. 59(8): 2191-2203.
21. Millerd A and Mcwilliam JR (1968) Studies on a maize mutant sensitive to low temperature. *Plant Physiology*. 44(4): 567-569.
22. Mohanty S, Grimm B and Tripathy BC (2006) Light and dark modulation of chlorophyll biosynthetic genes in response to temperature. *Planta*. 224(3): 692-699.
23. Naidu BP, Morris PR and Cameron DF (1996) Treatment with glycinebetaine to increase seed germination, seedling vigour and yield of cotton. *Proceeding 8th Australian Cotton Conference*, Gold Coast.
24. Park RJ, Jeknic Z and Chen THH (2006) Exogenous application of glycinebetaine increases chilling tolerance in tomato plants. *Plant Cell Physiology*. 47(6): 706-714.
25. Rab A and Saltveit ME (1996) Differential chilling sensitivity in cucumber seedling. *Physiologia Plantarum*. 96: 375-382.
26. Rajashekar CB, Zhou HKB and Marcum O (1999) Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) plants. *Plant Science*. 148(2): 175-183.
27. Serraj R and Sinclair TR (2002) Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant, Cell and Environment*. 25: 333-341.

28. Somersalo S, Kyei-Boahen S, and Pehu E (1996) Exogenous glycine betaine application as a possibility to increase low temperature tolerance of crop plants. Nordisk Jordbruksforskning. 78(2): 102.
29. Stevens J, Senaratna T and Sivasithamparam K (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. Journal of Plant Growth Regulators. 49: 77-83.
30. Subbarao GV, Wheeler RM, Levine LH and Stutte GW (2001) Glycine betaine accumulation, ionic and water relation of reed-beet at contrasting levels of sodium supply. Journal of Plant Physiology. 158: 767-776.
31. Wang CY (1985) Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bioregulator paclobutrazol (PP333). Scientia Horticulturae. 26: 293-298.
32. Wyatt SE, Rashotte AM, Shipp MJ, Robertson D and Muday GK (2002) Mutations in the gravity persistence signal loci in Arabidopsis disrupt the perception and/or signal transduction of gravitropic stimuli. Plant Physiology. 130(3): 1426-1435.
33. Yang H, Wu F and Cheng G (2011) Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. Journal of Food Chemistry. 127(3): 1237-1242.
34. Zhang JZ, Creelman RA and Zhu JK (2004) From laboratory to field Using information from Arabidopsis to engineer salt, cold and drought tolerance in crops. Plant Physiology. 135(2): 615-621.

