اثر کاربرد خارجی گلایسین بتائین بر عملکرد و متغیرهای فیزیولوژیکی گیاه کلزا تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

The effects of foliar application Glycine Betaine on yield and physiological variables of rapeseed (*Brassica Nupus* L.) under different irrigation regimes

محسن بوربور[۱]، میثم اویسی[۱*] و محمد نصری[۲]

۱- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین، تهران – ایران.
۲- مرکز تحقیقات فنآوری‌های نوین تولید غذای سالم، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، تهران، ایران.

نویسنده مسوول مکاتبات: meysamoveysi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۹

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر محلول‌پاشی گلایسین بتائین بر صفات زراعی و فیزیولوژیک کلزا در شرایط کم‌آبی در منطقه ورامین، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد ورامین به‌صورت کرت خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل تنش کم‌آبی در سه سطح (I_1- آبیاری معمول، ۶۰ mm تبخیر از تشتک تبخیر، I_2 - تنش ملایم، ۹۰ mm تبخیر از تشتک تبخیر و I_3 - تنش شدید، ۱۲۰mm تبخیر از تشتک تبخیر) و محلول‌پاشی گلایسین بتائین در چهار سطح (B_1 - آب خالص، B_2 - ۱/۵در هزار، B_3 - دو در هزار و B_4 -۲/۵ در هزار) بودند. اثرات متقابل سطوح آبیاری و محلول‌پاشی گلایسن بتائین بر عملکرد دانه، محتوای گلایسین بتائین، محتوای مالون دی آلدئید، محتوای کلروفیل a و b معنی‌دار بود. به‌طور کلی با افزایش غلظت گلایسین بتائین به‌ویژه تحت شرایط محدودیت شدید آبیاری، میزان عملکرد دانه و صفات ذکر شده (به‌جز محتوای مالون دی آلدئید) افزایش یافت. اثر متقابل دور آبیاری و غلظت گلیسین بتائین در محتوای پرولین و RWC معنی‌دار نشد. اما اثرات ساده عوامل مذکور در این صفات معنی‌دار بود. بالاترین محتوای رطوبت نسبی (۸۰/۸۷ درصد) و محتوای پرولین (۱۵/۷ میکرومول بر گرم وزن تر) به‌ترتیب در غلظت ۲/۵ در هزار و ۱/۵ در هزار گلایسین بتائین مشاهده شد. در حالی که محتوای پرولین در تیمار ۲/۵ در هزار گلایسین بتائین به کم‌ترین مقدار خود رسید.

واژگان کلیدی:کلزا، عملکرد دانه، گلایسین بتائین، مالون دی آلدهید، محتوای کلروفیل.

مقدمه

کلزا سومین منبع مهم روغن گیاهی (بعد از سویا و نخل روغنی) در دنیا است که دارای صفات مثبت زراعی از قبیل تحمل به سرما، کم آبی و شوری و عدم حساسیت نسبی به نوع بافت خاک و قابلیت رقابت با علف‌های هرز هست (Ashraf and Foolad, 2007). کلزا با نام علمی *Brassica Napus* L. یکی از گونه‌های زراعی جنس براسیکا است که حدود ۱۲ درصد از میزان کل تولید جهانی دانه‌های روغنی را به‌خود اختصاص داد (FAO, 2005).

حداکثر عملکرد اقتصادی یک محصول زمانی حاصل می‌شود که تعادل بین گیاه و عوامل محیطی در طول چرخه زندگی گیاه برقرار باشد (Aniol, 2002). امروزه حدود ۲۶ درصد کل تنش‌های محیطی ناشی از محدودیت رطوبت است، با توجه به این‌که گیاهان وقتی در شرایط تنش قرار می‌گیرند قادر به فرار از تنش نمی‌باشند، بنابراین به‌راهکارهایی برای مقابله با تنش خشکی نیازمند هستند. از این رو گیاهان برخی خصوصیات مورفولوژیک یا فیزیولوژیکی متفاوتی را در جهت مقابله با شرایط تنش محیطی از خود بروز می‌دهند (Sakamoto and Murata, 2002). مثلا برخی گیاهان با تولید برخی از ترکیبات آلی و متابولیت‌های سازگار سازوکارهای دفاعی خاصی را در خود فعال می‌کنند (Chaves and Oliveira, 2004؛ Ramachandra *et al*., 2004؛ Aniol, 2002).

گلایسین بتائین [$(CH_3)_3N+CH_2COO-$] یکی از معمول‌ترین محلول آلی سازگار است که در ریزسازواره‌های مختلف، گیاهان عالی و حیوانات وجود داشت و از بین بسیاری از ترکیبات شناخته شده، بیش‌ترین و فراوان‌ترین اثر را در واکنش به تنش کم‌آبی گیاهان دارد (علی و همکاران، ۱۳۸۷). نتایج بررسی‌های مختلف نشان می‌دهد که کاربرد خارجی گلایسین بتائین در محدوده ۱۰ تا ۲۵۰ میلی‌مولار سبب افزایش عملکرد ذرت تحت تنش کمبود آب می‌شود (میری و ضمانی‌مقدم، ۱۳۹۳). با توجه به این‌که همه گیاهان گلایسین بتائین را به‌میزان کافی برای دفع اثرات سو تنش‌های غیرزنده تجمع نمی‌دهند، برای افزایش غلظت این ترکیبات در گیاهان استعمال خارجی این تنظیم کننده‌ها به‌صورت تیمار بذر و یا پاشش برگی صورت می‌گیرد (Ashraf and Foolad, 2007).

اثر گلایسین بتائین بر عملکرد وش و کیفیت بدر ارقام پنبه در شرایط تنش رطوبتی در شهرستان گرگان نشان داد که محلول‌پاشی با دو سطح گلایسین بتائین (سه تا شش کیلوگرم در هکتار) نسبت به پاشش آب خالص باعث افزایش عملکرد وش، تعداد قوزه، تعداد شاخه‌زایی، ارتفاع بوته و کاهش درصد ریزش قوزه و درصد زودرسی شد، اما بر وزن بیست قوزه اثر معنی‌داری نداشت (ساوری و همکاران، ۱۳۸۷). رضایی (۱۳۸۸) گزارش کرد تیمار دانه‌های پنبه با گلایسین بتائین موجب ایجاد ساقه و ریشه‌های قوی‌تر، بهبود شاخه‌ها، گل‌دهی زودتر و افزایش تعداد قوزه‌ها می‌شود. محمدزمانی و همکاران (۱۳۸۸) بیان داشتند که گیاه کتان رشد یافته در شرایط تنش خشکی، عملکرد تیمار برگی گلایسین بتائین بر عملکرد و فرآیندهای فیزیولوژیکی، اثری نداشت. بوته‌های لوبیای تیمار شده با گلایسین بتائین به‌دنبال برطرف شدن تنش، توانایی بیش‌تری در ترمیم پژمردگی از خود نشان دادند، که این امر برای گیاهانی که تحت تنش خشکی رشد می‌کنند صفتی بسیار مهم به شمار می‌آید (محمدزمانی و همکاران، ۱۳۸۸). تیمار بذور پنبه با گلایسین بتائین موجب ایجاد ساقه و ریشه‌های قوی‌تر، بهبود شاخه‌ها، گل‌دهی زودتر و افزایش تعداد قوزه‌ها شد (جوادی‌پور و همکاران،۱۳۹۰). گلایسین بتائین به‌عنوان یک اسمولیت سیتوپلاسمی عمل می‌کند و آنزیم‌ها و غشاها را از اثرات پسابیدگی حفظ می‌کند (Chaum *et al*., 2013).

اهداف این آزمایش ارزیابی استفاده بالقوه از گلیسین بتائین به‌منظور افزایش عملکرد و تحمل به خشکی در گیاه کلزا تحت شرایط کم‌آبی در مزرعه و تعیین غلظت مناسب گلیسین بتائین برای استفاده از این ماده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی بتائین گلایسین و تنش کم‌آبی بر خصوصیات زراعی و مورفوفیزیولوژیک کلزا (*Brassica Nupus* L.) در منطقه ورامین آزمایش مزرعه‌ای طی سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی ورامین - پیشوا انجام شد. این تحقیق به‌صورت کرت خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عامل‌های مورد بررسی در این آزمایش عبارتند از عامل اصلی شامل تنش کم آبی در سه سطح: I_1- آبیاری معمول، 60mm تبخیراز تشتک تبخیر، I_2- تنش ملایم، 90mm تبخیر از تشتک تبخیر، I_3- تنش شدید، 120mm تبخیر ازتشتک تبخیر و محلول‌پاشی بتائین گلایسین در چهار سطح: B_1 آب خالص، B_2 - ۱/۵ در هزار، B_3: دو در هزار، B_4 - ۲/۵ در هزار به‌عنوان عامل فرعی بود.

هر تکرار شامل ۱۲ کرت آزمایشی و در هر کرت شش خط کاشت (هر خط به‌طول پنج متر) وجود داشت. فاصله بین ردیف‌ها ۲۵ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف‌ها پنج سانتی‌متر در نظر گرفته شد. روش آبیاری به‌صورت قطره‌ای بود. جهت اعمال تنش خشکی از تشتک تبخیر کلاس A روی تیمارهای تنش خشکی اعمال شد. اعمال تیمارهای گلایسین بتائین از ابتدای مرحله ساقه‌دهی صورت گرفت. روش نمونه‌برداری در هر کرت به‌صورت کاملاً تصادفی و با در نظر گرفتن اثرات حاشیه به‌طول نیم‌متر حاشیه انجام شد. نمونه‌برداری‌ها در مراحل فنولوژیکی مختلف و بر حسب نیاز انجام شد و تا مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی کامل ادامه یافت.

صفات ذیل در این تحقیق اندازه‌گیری شد؛ عملکرد دانه: جهت اندازه‌گیری عملکرد دانه، دو مترمربع از کرت برداشت و وزن دانه‌ها اندازه‌گیری شد، سپس با استفاده از تناسب میزان کل را محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان RWC: جهت محاسبه محتوای آب نسبی برگ (RWC)، سه برگ انتهایی از هر ردیف انتخاب و داخل کیسه پلاستیکی قرارگرفت. ابتدا وزن اولیه برگ‌ها اندازه‌گیری و بعد در داخل ظرف حاوی آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرارگرفت. سپس برگ‌ها را بیرون آورده و با کاغذ صافی خشک کرده و وزن آماس یافته تعیین و سپس به‌مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه خشک شد و سپس وزن خشک اندازه‌گیری شد (Gupta, 2003).

$$(RWC) = \frac{wf - wd}{wt - wd} \times 100$$

۱۰۰× وزن خشک برگ - وزن اشباع برگ/ وزن خشک برگ- وزن تازه برگ = محتوای رطوبت نسبی (RWC)

کلروفیل a و b: اندازه‌گیری محتوای رنگدانه از طریق روش (خشویی، ۱۳۸۹) انجام شد. مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر به‌طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۷ نانومتر برای کلروفیل b مقدار جذب قرائت گردید. در نهایت میزان کلروفیل a و b با استفاده از فرمول (خشویی، ۱۳۸۹) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه در قالب ذیل محاسبه شد.

$$\text{Chl.a } (\text{mg. l}^{-1}) = (12.25 \times A663 - 2.79 \times A647) \times D$$

$$\text{ch. b } ((\text{mg. l}^{-1}) = (21.5 \times A647 - 5.1 \times A663) \times D$$

پرولین: نیم گرم برگ تر در هاون خرد شده و درون فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس پنج میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد آماده شده را به آن اضافه نمود و نمونه‌ها درون یخ قرار داده شدند. فالکون‌ها با سرعت ۳۵۰۰ دور به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند تا مواد اضافی از محلول جدا گردد. سپس مقدار یک میلی‌لیتر از عصاره صاف شده را درون فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری جدید ریخته و ۵۰ میلی‌لیتر اسید نین‌هیدرین (۱۲۵ میلی‌گرم نین‌هیدرین + دو میلی‌گرم اسید فسفریک شش مولار + سه میلی‌لیتر اسید استیک گلایسال) و پنج میلی‌لیتر اسید استیک

گلاسیال به آن افزود و سپس به‌خوبی مخلوط شد. مخلوط حاصل را پس از برهم زدن به‌مدت ۴۵ دقیقه روی حمام جوش (۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) گرم کرده و پس از خنک شدن، روی آن پنج میلی‌لیتر بنزن اضافه کرده و به‌شدت تکان داده شد. بعد از ۲۵ تا ۳۰ دقیقه نمونه‌ها به حالت ساکن نگهداری شد. شدت جذب با اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۱۵ نانومتر قرائت شد. منحنی استاندارد با غلظت‌های ۰/۴- صفر میکروگرم پرولین بر گرم تهیه گردید (Habibi *et al*., 2004).

µmole prolin g^{-1} F.W= [(µg prolin ml^{-1} * ml Toluene) / 115.5 µg $\mu mole^{-1}$] / [(g sample/5)]

محتوی گلایسین بتائین موجود در برگ: یک گرم پودر خشک شده برگ گیاه در ۴۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شد و پس از عبور از کاغذ صافی به نسبت یک به یک با اسید سولفوریک N_2 رقیق گردید. سپس به یک میلی‌لیتر از آن ۰/۴ میلی‌لیتر از معرف یدید پتاسیم سرد اضافه شد و بلافاصله ورتکس گردید. بعد نمونه‌ها در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. یک میلی‌لیتر از فاز بالایی با میکروپیپت جدا، با نه میلی‌لیتر ۱/۲ دی کلرو اتان مخلوط و سپس ورتکس شد و بعد جذب آن در طول موج ۳۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکترومتر UV-Visible قرائت شد (Sairam *et al.*, 2002).

مالون دی آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدئید از دستگاه کروماتوگرافی HPLC و از روش (خشویی، ۱۳۸۹) استفاده گردید. پیک MDA در اسپکتروفتومتر با دتکتور مرئی در طول موج ۵۳۲ نانومتر شناسایی و براساس سطح زیر منحنی پیک اندازه‌گیری گردید.

جهت استاندارد شدن مالون دی آلدئید خالص با نسبت‌های مختلف در بافر شستشو و منحنی استاندارد رسم گردید. بعد از محاسبه داده‌های مربوط به هر صفت، اندازه‌گیری انفرادی هر متغیر را با استفاده از نرم‌افزار Spss24 تجزیه واریانس و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج نشان داد عملکرد دانه تحت تاثیر اثر ساده کم آبی و اثرات متقابل آبیاری و گلایسین بتائین قرارگرفت و اختلاف به وجود آمده از نظر آماری به‌ترتیب در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک).

۱- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی گلایسین بتائین و تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی و عملکرد دانه کلزا

Table 1. Analysis of variance for grain yield and physiological traits of rapeseed under drought stress and glycine betaien spray

S. O. V	منابع تغییرات	میانگین مربعات MS						
		عملکرد دانه G.Y	محتوای رطوبت نسبی RWC	مالوم دی آلدهید MDA	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	پرولین Prolin	بتائین گلایسین G.B
Replication	تکرار	0.105	25.804	8.211	0.760	0.126	5.955	0.218
Irrigation (I)	آبیاری	1.153*	323.204*	497.170**	2.270*	0.752*	805.332**	176.122**
Error a	خطای اصلی	0.105	20.161	18.674	0.730	0.076	11.145	1.246
Glycine Betaien GB	بتائین گلایسین	0.057 ns	146.023*	2.131 ns	1.146**	0.324**	19.449**	3.381**
*I	آبیاری× بتائین	0.383**	39.181 ns	22.484*	1.456**	0.546**	10.924 ns	1.367*
Error b	خطای فرعی	0.057	47.890	8.061	0.863	0.089	8.538	0.627
CV (%)	ضریب تغییرات	7.41	9.20	6.95	6.76	7.23	2.08	11.76

*، ** و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و غیر معنی‌دار

*,** significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively. ns; non-significant

نتایج اثرات متقابل آبیاری و گلایسین بتائین نشان داد بیش‌ترین عملکرد دانه در تیمار آبیاری معمول (۶۰ mm تبخیر از تشتک) و غلظت دو در هزار گلایسین بتائین (۳/۶۸ تن در هکتار) و کم‌ترین میزان آن در شرایط تنش شدید (۱۲۰ mmتبخیر از تشتک) و عدم محلول‌پاشی گلایسین بتائین (۲/۵۳ تن در هکتار) به‌دست آمد (جدول چهار). می‌توان گفت که محلول‌پاشی گلایسین بتائین توانسته اثرات سؤ تنش خشکی بر عملکرد دانه را تا حدود زیادی جبران کند و مانع از کاهش عملکرد در این شرایط شود. با شدت یافتن تنش کم‌آبی از تعداد خورجین در بوته و تعداد بذر در خورجین کاسته شد، به‌نظر می‌رسد تداوم یافتن تنش در مراحل گل و نمو خورجین‌ها باعث عدم تلقیح و تشکیل خورجین‌ها و تا حدودی افزایش درصد خورجین‌های سقط شده و ریزش آن‌ها گردید. همچنین تنش خشکی در مرحله گل‌دهی موجب کاهش چشمگیر تعداد خورجین‌ها در بوته گردید که دلیل آن نقصان در تولید و عرضه مواد فتوسنتزی در زمان وقوع تنش و عدم تأمین مواد فتوسنتزی کافی جهت تخصیص مناسب به خورجین‌های تولید شده و در حال رشد و در نتیجه ریزش آنها در کلزا می‌باشد. همین‌طور تداوم تنش خشکی طی دوره پر شدن دانه می‌تواند از طریق تسریع پیری نیز عملکرد دانه را کاهش می‌دهد. گزارش گردید که مراحل گل‌دهی و نمو خورجین‌ها در کلزا از نظر نیاز گیاه به آب، مراحل بحرانی است، اعمال تنش در این مراحل به‌دلیل اثر نامناسب بر میزان جذب آسیمیلات‌ها، موجب کاهش شدید عملکرد دانه شد (Sinaki *et al*., 2007). مصرف خارجی گلایسین بتائین در گندم، از طریق افزایش تعداد دانه در سنبله سبب افزایش عملکرد گردید و بهترین زمان مصرف گلایسین بتائین، در مرحله رویشی بود (Diaz-Zoritaa *et al*., 2001).

محتوای پرولین

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول یک)، میزان پرولین تحت تاثیر اثرات ساده سطوح کم‌آبی و محلول‌پاشی گلایسین بتائین در سطح احتمال یک درصد قرارگرفت؛ اما محتوی پرولین برگ تحت تاثیر عوامل آزمایش قرار نگرفت و اثر متقابل عوامل مذکور بر این صفت معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین اثرات ساده آبیاری مشخص کرد که بیش‌ترین محتوای پرولین مربوط به تیمار تنش شدید با ۲۳/۴۱۶میکرومول بر گرم وزن تر و کم‌ترین آن مربوط به تیمار آبیاری معمول با ۷/۲۶۶ میکرومول بر گرم وزن تر بود (جدول دو).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح کم آبی بر صفات عملکرد دانه، کلروفیل a، کلروفیل b، بتایین گلایسین، مالون دی آلدهید، پرولین و محتوای رطوبت نسبی

Table 2-Mean of proline content, malondialdehyde, yield, RWC, Chla, Chl b and Glycine Betaien under different irrigation regimes

تیمار Treatment	محتوای رطوبت نسبی RWC(٪)	پرولین Proline (µmol.g FW)	مالون دی آلدهید MDA (nm.mg.protien)	بتایین گلایسین G.Betaien (µg.mg. FW)	کلروفیل b Chl b (mg.Lit)	کلروفیل a Chl a (mg.Lit)	عملکرد دانه G. Yield (t/ha)
آبیاری معمول (I_1)	81.200[a]	7.266[c]	33.850[c]	3. 182[c]	3.235[a]	4.75[a]	3.554[a]
تنش ملایم (I_2)	72.558[b]	12.950[b]	42.930[b]	6. 366[b]	2. 86[b]	3.925[b]	3.17[b]
تنش شدید (I_3)	71.900[b]	23.416[a]	46.622[a]	10. 81[a]	2.427[c]	3.12[c]	2.94[c]

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by different lower-case letters are significantly different at (P< 0.05) by the Duncan's Multiple Range Test

مقایسه میانگین اثرات ساده محلول‌پاشی بتائین گلایسین نشان داد که بیش‌ترین میزان پرولین مربوط بـه تیمـار ۱/۵با ۱۵/۷میکـرومول بر گـرم وزن تـر و کم‌ترین میزان پرولین مربوط به تیمار ۲/۵ در هزار با ۱۲/۳۸۸ میکرومول بر گرم وزن تر بود (جدول سه). نتـایـج مشـابـه نشـان داد کـه تنش خشکـی باعث افزایش معنی‌دار محتـوی پرولیـن و فعـالیت آنـزیـم پرولین-۵- کربوکسیلات ردوکتاز در برگ ارقام پنبه شد (Parida *et al.*, 2008).

نتایج نشان داد حتی تنش خشکی در سطح ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه در گیاه بابونه، موجب افزایش تجمع تنظیم کننده اسمزی (کربوهیدرات‌ها و پرولین) گردید (آرزمجو و همکاران، ۱۳۸۹). تجمع پرولین در سطح سلولی در پدیده تنظیم اسمزی بسیاری از گیاهان شرکت می‌کند، که احتمالا یکی از سازوکارهای مهم برای غلبه بر تنش اسمزی بود. محلول‌پاشی با گلایسین بتائین منجر به القا تولید سطوح پایین گونه‌های فعال اکسیژن شد، که منجر به سـازگاری گیـاهان قبـل از وقـوع تنش شدیـد گـردید. متابولیت‌های سازگار مانند پرولین نقش نوعی حفاظت کننده اسمزی، پایدار کننده دیواره‌های سلولی و تنظیم فشار تورژسانس را بر عهده دارند، در نتیجه منجر به حفظ انسجام غشایی سلول‌ها می‌شوند. بنابراین احتمالا بخشی از تاثیرات مثبت گلایسین بتائین در افزایش عملکرد دانه گیاه کلزا از طریق تجمع متابولیت‌های سازگار است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات ساده سطوح بتائین گلایسین بر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، بتایین گلایسین، پرولین و محتوای رطوبت نسبی

Table 3. Mean of proline content, RWC, Chla, Chl b and Glycine Betaien under Glycine Betaien spray

Treatment		تیمار بتائین گلایسین	محتوای رطوبت نسبی RWC (%)	پرولین Proline (µm.g fw)	گلایسین بتایین G. Betaien (µg.mg.fw)	کلروفیل b Chl b (mg.Lit)	کلروفیل a Chl a (mg.Lit)
B_1	Water	آب مقطر	71.344^{b}	15.055^{ab}	5.87^{b}	1.936^{a}	3.078^{a}
B_2	1.5/1000B.G	۱/۵ در هزار	74.488^{ab}	15.700^{a}	7.152^{a}	2.121^{b}	3.932^{b}
B_3	2/1000 B.G	۲ در هزار	74.166^{ab}	15.034^{ab}	7.158^{a}	2.488^{a}	4.652^{a}
B_4	2.5/1000B.G	۲/۵ در هزار	80.87^{a}	12.388^{b}	6.956^{a}	2.583^{a}	4.845^{a}

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

Means followed by different lower-case letters are significantly different at ($P< 0.05$) by the Duncan's Multiple Range Test.

گلایسین بتائین

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس (جدول یک) مشـاهـده شـد اثـرات سـاده سطـوح کم‌آبـی و محلـول‌پاشـی گلایسیـن بتائیـن تاثیر معنی‌داری بر محتوای گلیسین بتائین برگ کلزا داشت ($P<0.01$) اثر متقـابل تیمارهـا در سطـح پنـج درصـد معنی‌دار بود. مقایسـه میانگیـن سطـوح کم‌آبـی و محلول‌پاشـی گلایسین بتائین روی گلایسین بتائین موجود در برگ نشـان داد که بالاترین محتـوای گلیسین بتائیـن در شـرایط تنش شدیـد و غلظت ۱/۵ در هـزار گلایسیـن بتائین بـرابـر با۱۱/۶۰ میکـروگـرم بر میلـی‌گـرم وزن خشک برگ و کم‌ترین آن در شرایط آبیاری معمول و غلظت ۱/۵ در هزار گلایسین بتائین برابر با ۲/۷۱ میکروگرم بر میلی گرم وزن خشک برگ به‌دست آمد (جدول چهار). گلایسین بتائین در شرایط تنش تجمع یافته و به‌عنوان یک محلول تنظیم کننده مؤثر در گیاهان محسوب می‌شود (Hasnson *et al.*, 2007). گلایسیـن بتـائیـن در پـاسـخ بـه تنش خشکـی در اکثـر گیاهان زراعی از جمله چغندرقند، اسفناج، جو، گندم، و سورگوم تجمع می‌یابد. در اکثر گیاهان زراعی تجمع طبیعی گلایسین بتائین پایین‌تر از مقداری است

که بتواند اثرات مضر کمبود آب را اصلاح کند، اما طبق نتایج این تحقیق محلول‌پاشی آن در غلظت‌های پایین برای شروع فرآیندهای دفاعی و تداوم رشد گیاه کلزا در شرایط تنش می‌تواند مفید باشد. در همین راستا، گزارشات زیادی در اثبات اثرات مثبت استفاده خارجی گلایسین بتائین بر رشد و عملکرد محصولات مختلف تحت شرایط تنش خشکی وجود دارد. مثلاً در گیاهانی مثل تنباکو، گندم، جو، سورگوم، سویا و لوبیای معمولی این حالت مشاهده شد (بی نام،۱۳۹۲). در این تحقیق نیز مصرف ۱/۵ در هزار گلایسین بتائین در هنگام تنش شدید باعث افزایش تحمل دیواره سلولی شد و از مرگ سلول جلوگیری نمود همچنین با ارائه سازوکارهای دفاعی تا حدودی مانع تشکیل رادیکال‌های آزاد گردید و بدین ترتیب تحمل گیاه را در برابر تنش کم آبی افزایش یافت.

محتوی کلروفیل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده سطوح کم‌آبی بر محتوای کلروفیل a در سطح پنج درصد و اثر ساده سطوح محلول‌پاشی گلیسین بتائین و اثر متقابل عوامل تحقیق در سطح احتمال یک درصد برمیزان کلروفیل برگ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری و گلایسین بتائین بر کلروفیل a نشان داد که بیشینه مقدار کلروفیل a در تیمار I_1B_4 (۴/۸۴۵ میلی‌گرم بر لیتر) و کمینه آن در تیمار I_3B_1 (۳/۰۷۸ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده گردید (جداول یک و چهار).

جدول۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل رژیم های مختلف آبیاری و گلایسین بتائین بر روی محتوی مالون دی آلدهید، گلایسین بتائین، کلروفیل و عملکرد دانه در گیاه کلزا

Table 4. Mean of malondialdehyde, glycine betaien, chlorophyll content and grain yield in rapeseed under different irrigation regimes and glycine betaien applications

تیمار Treatments	مالون دی آلدئید MDA (nm.mg.protien)	گلایسین بتائین Glycine Betaien (µg.mg.fw)	کلروفیل a Chl a (mg.Lit)	کلروفیلb Chl b (mg.Lit)	عملکرد دانه Grain Yield (t/ha)
I_1*B_1	33.49^{d}	3.09^{e}	4.16^{b}	2.43^{bc}	3.64^{a}
I_1*B_2	36.83^{cd}	2.71^{f}	4.83^{ab}	2.61^{b}	3.25^{ab}
I_1*B_3	33.04^{e}	3.26^{e}	5.12^{a}	3.10^{a}	3.68^{a}
I_1*B_4	31.81^{Cd}	3.65^{e}	5.62^{a}	3.23^{a}	3.62^{a}
I_2*B_1	41.97^{bc}	4.72^{d}	2.43^{de}	1.4^{de}	3.54^{ab}
I_2*B_2	41.86^{c}	7.14^{c}	3.85^{bc}	1.8^{d}	3.25^{ab}
I_2*B_3	42.24^{b}	6.83^{bd}	4.11^{b}	2.42^{c}	3.03^{b}
I_2*B_4	42.12^{b}	6.10^{bd}	4.26^{b}	2.47^{bc}	2.84^{cd}
I_3*B_1	48.83^{a}	9.14^{b}	2.25^{e}	1.13^{e}	2.53^{d}
I_3*B_2	42.15^{b}	11.60^{a}	2.75^{d}	2.02^{cd}	2.83^{cd}
I_3*B_3	47.16^{a}	11.30^{a}	3.13^{C}	2.25^{c}	2.94^{c}
I_3*B_4	47.85^{a}	11.11^{a}	3.93^{bc}	2.66^{b}	3.44^{ab}

میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، اختلاف آماری معنی‌داری در آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند

Means followed by different lower-case letters are significantly different at ($P< 0.05$) by the Duncan's Multiple Range Test

I_1- آبیاری نرمال، 60mm تبخیراز تشتک تبخیر، I_2- تنش ملایم، 90mm تبخیر از تشتک تبخیر، I_3- تنش شدید،120mm تبخیر ازتشتک تبخیر، B_1- آب خالص، B_2- ۱/۵ در هزار، B_3- ۱/۵ در هزار، B_4- ۲ در هزار، ۲/۵ در هزار.

I_2- mild stress, 99mm tub evaporation, I_2- mild stress, 99mm tub evaporation, I_3– sever stress, 120mm tub evaporation, B_1– pure water, B_2– 1.5 /1000, B_3 – 2/1000, B_4– 2.5/1000.

همچنین تجزیه واریانس مربوط به کلروفیل b نشان داد که سطوح آبیاری در سطح پنج درصد و محلول‌پاشی گلایسین بتائین و اثرات متقابل دو عامل مذکور در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول یک).

مقایسه میانگین اثرات متقابل آبیاری و گلایسین بتائین روی کلروفیل b نشان داد که بیشینه مقدار به‌ترتیب در تیمار I_1B_4 و I_1B_3 برابر با ۳/۲۳ و ۳/۱ میلی‌گرم بر لیتر و کمینه آن در تیمار I_3B_1 برابر با ۱/۳ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول دو). از دلایل کاهش محتوی کلروفیل‌ها در شرایط تنش خشکی می‌توان به تغییر سوخت و ساز نیتروژن در رابطه با ساخت ترکیباتی مانند پرولین اشاره نمود. شرایط تنش موجب می‌شود تا گلوتامات که پیش ماده ساخت کلروفیل و پرولین، کم‌تر در مسیر بیوسنتز کلروفیل قرارگیرد. علاوه بر موارد ذکر شده کاهش کلروفیل می‌تواند به‌دلیل پیری زودرس برگ‌ها در اثر اختلال هورمونی ناشی از تنش کم‌آبی باشد (کافی و همکاران، ۱۳۸۹). کاربرد گلایسین بتائین در غلظت‌های مختلف موجب تجمع گلایسین بتائین داخلی شد بنابراین موجب بهبود وضعیت کلروفیل b گردید. گلایسین بتائین از طریق حفظ و تنظیم اسمزی، حفظ تمامیت غشای پلاسمایی و حفظ ساختمان چهارم پروتئین‌ها منجر به افزایش تجمع کلروفیل‌ها، جذب دی‌اکسیدکربن، تسهیل انتقال الکترون، محافظت از فعالیت پروتئین‌ها و چربی غشای تیلاکوئیدی در فتوسیستم II شد. در نتیجه می‌توان این ترکیب را به‌عنوان یک عامل مهم فیزیولوژیکی در مقابله با تنش خشکی در گیاه کلزا دانست. در همین راستا گزارش گردید که گلایسین بتائین موجب حفظ غشاهای سلولی از خطرات پسابیدگی و ممانعت از کاهش مقدار کلروفیل می‌شود (Sato *et al*., 2004). همچنین مصرف گلایسین بتائین میزان فتوسنتز و غلظت کلروفیل فلفل را تحت شرایط تنش شوری افزایش داد (Korkmaz *et al*., 2012). که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت می‌کند.

مالون دی آلدئید

محتوای مالون دی آلدئید تحت تاثیر سطوح کم‌آبی و اثرات متقابل آبیاری و گلایسین بتائین قرارگرفت (جدول یک). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیشینه مقدار مالون دی آلدئید در تیمار تنش شدید و شرایط بدون محلول‌پاشی گلایسین بتائین (۴۸/۸۳ نانومول در میلی‌گرم پروتئین) و کمینه آن در تیمار آبیاری معمول و غلظت ۲/۵ در هزار گلایسین بتائین (۳۱/۸۱ نانومول در میلی‌گرم پروتئین) مشاهده گردید. با توجه به نتایج هرچه میزان تنش شدیدتر شد، میزان مالون دی آلدئید هم افزایش داشت (جدول دو).

پایداری پایین غشا (MDA بالا)، منعکس کننده پراکسیداسیون لیپیدها که پیامد تنش اکسیداسیونی بالای ناشی از تنش خشکی است. تنش خشکی منجر به تغییر در تعادل سلول‌های گیاهی شد. این تغییر ممکن است به‌علت افزایش تولید ROS باشد، این افزایش باعث القای پراکسیداسیون لیپید (Lipid peroxidation) (LPO) غشای اندامک‌های سلولی شد (Beckers and Spoel, 2006). همچنین افزایش در فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز (LOX) تحت شرایط خشکی نیز این مساله را تایید نمود. این آنزیم واکنش‌های پراکسیداسیون لیپیدها را کاتالیز می‌کند. طبق نتایج، بخشی از تاثیرات مثبت گلایسین بتایین از طریق حذف ROS و کاهش تولید آن‌ها و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز تحت شرایط تنش بود، بنابراین مانع از پراکسیداسیون لیپیدها شد.

محتوای رطوبت نسبی (RWC)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، محتوای نسبی آب برگ تحت تاثیر سطوح کم آبی و سطوح محلول‌پاشی گلایسین بتائین (در سطح احتمال پنج درصد) قرار گرفت (جدول یک). بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ در تیمار آبیاری شاهد برابر با ۸۱/۲۰ درصد و کم‌ترین میزان آن مربوط به تیمار تنش ملایم برابر با ۷۲/۵ درصد بود (جدول دو). همچنین بیش‌ترین محتوای نسبی آب برگ در غلظت ۲/۵ در هزار گلایسین بتائین (۸۰/۸۷۷ درصد) و کم‌ترین آن در تیمار آب خالص (بدون محلول‌پاشی) با ۷۱/۳۴ درصد مشاهده شد (جدول سه). آتیا (Atteya, 2003) در آزمایشی که بر روی ژنوتیپ‌های ذرت انجام داد، مشاهده کرد که حتی

اعمال تنش ملایم خشکی میزان RWC را به مقدار قابل توجه‌ای کاهش داد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در واقع در زمان بروز تنش به‌دلیل کاهش آب درون سلول و کاهش فشار آماس میزانRWC کاهش یافت (Yadav and Bhushan, 2006). در گیاهان لوبیای تیمار شده با گلایسین بتائین به دنبال بر طرف شدن تنش، گیاهان توانایی بیش‌تری در ترمیم پژمردگی از خود نشان دادند، که این امر برای گیاهانی که تحت تنش خشکی رشد می‌کنند صفتی بسیار مهم به شمار می‌آید (محمدزمانی و همکاران، ۱۳۸۸). در لوبیای معمولی، گیاهان تیمار شده با گلایسین بتائین، کاهش کم‌تری را در پتانسیل آب برگ طی تنش خشکی نشان دادند و علائم پژمردگی حتی دیرتر از گیاهان شاهد پدیدار شد (Nawaz and Ashraf, 2010).

نتیجه‌گیری کلی

از آن‌جایی که گلایسین بتائین از جمله مولکول‌های موثر در مسیر علامت رسانی تنش‌ها به شمار می‌روند، محلول‌پاشی این ترکیب منجر به القا پاسخ‌های دفاعی گیاه کلزا و کاهش تخریب غشاها و تجمع مالون دی آلدئید شد، احتمالا این پاسخ‌ها منجر به افزایش تحمل گیاه کلزا به تنش خشکی گردید و میزان رشد و عملکرد را در این شرایط افزایش داد. همچنین محلول‌پاشی گلایسین بتائین با غلظت ۲/۵ در هزار بهترین غلظت به‌کار رفته بود. از این‌رو گلایسین بتائین را می‌توان ماده‌ای امیدبخش برای رفع اثرات تنش خشکی در گیاه کلزا به‌حساب آورد و از جنبه‌های مثبت آن در کشت این گیاه در مناطق خشک بهره جست.

منابع References

آرزمجو، ا.، حیدری، م.، قنبری، ا.، سیاهسر، ب. ع. و احمدیان، ا. ۱۳۸۹. تاثیر سه نوع کود بر درصد اسانس، رنگدانه‌های فتوسنتزی و تنظیم‌کننده‌های اسمزی در بابونه تحت تنش خشکی. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی. ۳ (۱) : ۲۳ـ۳۳.

بی‌نام، ح. ۱۳۹۲. نقش بتائین گلایسین و پرولین در بهبود مقاومت به تنش‌های غیر زنده در گیاهان، مجله دنیای کشاورزی، خرداد ماه، شماره ۳۴، ص ۳۶.

جوادی‌پور، ز.، موحدی‌دهنوی، م.، بلوچی، ح،ر.۱۳۹۰. تغییرات میزان پرولین، قندهای محلول، گلایسین بتائین و پروتین محلول برگ شش رقم گلرنگ بهاره تحت تنش شوری / فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱، شماره ۲، سال ۱۳۹۰/ صفحه ۲۲-۱۳.

خشویی، س. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر کم آبی و ترکم بوته بر برخی از صفات زراعی و مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو رقم سویا در منطقه ورامین. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی ورامین - پیشوا. صفحه ۱۷۸.

ساوری، ع.، فتوکیان، م.ح.، برزعلی، م.۱۳۸۷. ارزیابی اثرات بتائین گلایسین بر برخی خصوصیات زراعی ارقام پنبه تحت شرایط تنش خشکی. مجله دانشور علوم زراعی.(۱):۶۷-۷۶

علی، س.، اسلامی، و.، بهدانی، م.ع. و جامی، م.۱۳۸۷. تأثیر کاربرد خارجی بتائین گلایسین در افزایش تحمل به سرما در گیاهچه‌های ذرت. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، ۸ (۶): ۹۴۵-۹۳۹.

رضایی، م.ع. ۱۳۸۹. اثر خارجی گلیسین بتائین بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و عملکرد سویا. مجله تحقیقات علوم گیاهی ۴۴ (۱) : ۵ ـ۱۷.

کافی، م.، لاهوتی، م.، زند، آ.، ظریفی، ح. و گلدانی، م. ۱۳۸۹. فیزیولوژی گیاهی (ترجمه). جلد دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ص ۵۳-۵۲

محمدزمانی، م.، ربیعی، و.، نجاتیان، م.ع. ۱۳۸۸. تأثیر کاربرد بتائین گلایسین بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی انگور تحت شرایط تنش خشکی. مجله علوم با غبانی ایران، دوره ۴۳ (۴): ۴۰۱-۳۹۳.

میری، ح.ر.، ضمانی مقدم، ع. ۱۳۹۳. کاربرد خارجی گلایسین بتائین به‌منظور کاهش اثرات تنش خشکی در ذرت (*Zea mays* L)، نشریه پژوهش‌های زراعی ایران جلد ۱۲، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ص ۷۱۷-۷۰۴.

Aniol, A. 2002. Environmental in cereals: an overview. Proceeding of the 5thInternational Triticale Symposium, Jun30-July5,2002, Radzikow, Poland. pp: 112 - 121.

Ashraf, M., Foolad, M.R. 2007. Improving plant a biotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline. Environment Experiment Botany 59: 206-216.

Atteya, A.M. 2003. Alteration of water relations and yield of corn genotypes in response to drought stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology. 29, 63-76.

Beckers, G.J., and Spoel, S.H. 2006. Fine-tuning plant defence signalling: salicylate versus jasmonate. Plant Biology (Stuttg), 8:1-10.

FAO. food out look. Globalomarket analysis. (2005).http://www.fao food outlook.com

Chaves, M.M., and Oliveira, M.M. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. Journal of Experimental Botany, 55: 2365–2384.

Cha-um, S., Samphumphuang, T., Kirdmanee, C. 2013.Glycine Betaine alleviates water deficit stress in indicia rice using proline accumulation, photosynthetic efficiencies, growth performances and yield attributes. Aus J Crop Sci 7(2):213–218

Diaz-Zorita, M., Fernandez-Canigia, M.V., and Grosso, G.A. 2001. Application of foliar fertilizers containing glycine betaine improve wheat yields. J. Agron. Crop Sci. 186:209-215.

Goupta, C., and Koomar, G. 2003. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. New phytolgy 146: 359-388.

Hanson, A.D., May, A., Grumet, M.R., Bode, J., Jamieson, G.C., and Rhods, D. 2007. Betaine synthesis in chenopods: Localization in chloroplasts. Proceedings of the National Academic of Science USA 82: 3678-3682.

Habibi, D.M., Boojar, M.A., Mahmodi, A., Ardakani, M.R., Taleghani, D. 2004. Antioxidative enzayme in sunflower subjected to drought stress.4 international Crop science Congress, Brisbane, Australia, 26 September 1- October pp.1-4.

Korkmaz, A., Sirikci, R., Kocacınar, F., Deger, O., and Demirkırıan, A.R. 2012. Alleviation of salt-induced adverse effects in pepper seedlings by seed application of glycinebetaine. Scientia Horticulturae 148: 197- 205.

Nawaz, K., and Ashraf, M. 2010. Exogenous application of Glycine Betaine modulates activities of antioxidants in maize plants subjected to salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science 196:28–37.

Parida, A.K., Dagaonkar, V.S., Phalak, M.S., and Aurangabadkar L.P. 2008. Differential response of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. Acta Physiologiae Plantarum 30: 619 – 627.

Ramachandra, Reddy, A., Chaitanya, K.V., and Vivekanandan, M. 2004. Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.

Sairam, R.K., and Saxena, D.C. 2002. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. J. Agronomy and Crop Sci., 184: 55-61.

Sakamoto, A., and Murata, N. 2002. The role of glycinebetaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. Plant cell Environment, 25: 163-171.

Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., and Tokuda, S. 2004. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. Science Horticulture 101: 349-357.

Sinaki, J.M., Madjidi Heravan, E.A., Shirani Rad, H., Noormohammadi, G., and Zarei, G. 2007. The effects of water deficit during growth stages of canola (*Brassica napus* L.). American-Eurasian Journal of Agriculture & Environment Science, 2 (4): 417-422.

Yadav, R.S., and Bhushan, C. 2006. Effect of moisture stress on growth and yield in rice genotypes. Indian Journal of Agriculture Research 2, 104-107.