

## تأثیر کاربرد خارجی گلايسين بتائين در افزايش تحمل به سرما در گياهچه‌های ذرت (*Zea mays* L.)

سمیرا علی<sup>۱</sup> - سید وحید اسلامی<sup>۲\*</sup> - محمد علی بهدانی<sup>۳</sup> - مجید جامی‌الاحمدی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۵

### چکیده

گلايسين بتائين به عنوان یکی از حفاظت کننده های اسمزی، نقش مهمی را در تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی ایفا می کند. به منظور ارزیابی تأثیر پاشش برگی گلايسين بتائين بر افزايش تحمل به سرما در گیاه ذرت، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با هفت سطح پاشش گلايسين بتائين (صفر، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) انجام شد. گیاهچه‌های ذرت در مرحله دو تا سه برگی با غلظت‌های موردنظر گلايسين بتائين پاشش شده و پس از پاشش جهت اعمال تنش سرمازدگی به مدت سه روز در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از اتمام اعمال تیمار سرمایی، گیاهان به دمای اتاق ( $25 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند. نتایج نشان داد سطوح پاشش ۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌مولار گلايسين بتائين به لحاظ ظاهری در رتبه بالاتری نسبت به سایر سطوح بودند و دمای پایین را بهتر تحمل نمودند. همچنین محتوای کلروفیل و وزن خشک ریشه و ساقه در گیاهان پاشش شده در این دامنه از غلظت گلايسين بتائين (۱۰ تا ۱۰۰ میلی‌مولار)، افزایش معنی‌داری را نسبت به تیمار عدم کاربرد آن نشان دادند. با این وجود، پاشش گلايسين بتائين در دامنه غلظتی ۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار به خوبی از نشت الکترولیت کاسته و افزایش بیشتر غلظت آن منجر به افزایش معنی‌دار نشت الکترولیت گردید. در کل، پاشش برگی گلايسين بتائين سبب بهبود نسبی تحمل به سرمازدگی در گیاهچه‌های ذرت شد.

واژه‌های کلیدی: تنش سرمازدگی، محتوای کلروفیل، نشت الکترولیت

### مقدمه

رؤیت است. یکی از واکنش‌های معمول در سلول‌های گیاهی که در نتیجه افزایش تجمع محلول‌های آلی در سیتوپلاسم روی می‌دهد تنظیم اسمزی<sup>۵</sup> است که به منظور موازنه تعدیل اسمزی و اکوتلی در سیتوپلاسم و تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و اجزای مختلف سلول انجام می‌گیرد و سلول را در فرآیند افزایش سرعت توسعه خود کمک می‌کند (۴). تنظیم اسمزی در گیاهان از طریق تولید انواع مختلفی از محلول‌های آلی سازگار (اسمولیت‌ها) صورت می‌گیرد (۲۴) این اسمولیت‌های سازگار نظیر پلیول‌ها، پرولین و گلايسين بتائين نیز در افزایش تحمل اثرات کمبود آب ناشی از تنش شوری، خشکی و سرما موثر هستند (۲۲). گلايسين بتائين  $[(CH_3)_3N+CH_2COO^-]$  معمولترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در میکروارگانیسم‌های مختلف، گیاهان عالی و حیوانات وجود داشته و از بین بسیاری از ترکیبات آمونیوم چهارگانه شناخته شده بیشترین و فراوانترین ترکیب در پاسخ به تنش پسابیگی ۷ در گیاهان می‌باشد (۱۶ و ۳۰). غلظت

خسارت ناشی از سرما در مراحل حساس رشد و نمو گیاهان یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد گیاهان زراعی در سطح جهان است (۲۷). بسیاری از گونه‌های گیاهی به‌ویژه گونه‌های مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند ذرت، گوجه فرنگی، خیار، سویا و پنبه، زمانی که در معرض سرمازدگی (درجه حرارت‌های کم، ولی بالای صفر درجه سانتی‌گراد) قرار می‌گیرند آسیب می‌بینند (۱). سرمازدگی موجب ضایعات در بافت‌ها، سلول‌ها و اندام‌های این گیاهان می‌شود. کاهش محصول ناشی از کاهش میانگین دما به میزان یک درجه سانتی‌گراد در حدود ۴۰ درصد بر آورد گردیده است (۲). ایلکر و همکاران (۱۳) کندی رشد ذرت در سرما را به دلیل کاهش ساخت کلروفیل اعلام کردند و این پدیده در آهستگی تبدیل رنگ سبز برگ به زرد قابل

۱، ۲، ۳ - به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه زراعت

دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

(\*) - نویسنده مسئول: (Email: seyed.eslami@alumni.adelaide.edu.au)

5 - Osmotic adjustment

6 - Compatible solutes

7 - Desiccation

۲ تا ۳ برگه پاشش شد. یک روز بعد از کاربرد خارجی، گیاهان در داخل اتاقک رشد، با دمای چهار درجه سانتی‌گراد (با فتوپریود ۱۲ ساعته و شدت نوری ۸۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) قرار داده شدند. گلدان‌های هر تکرار در یک طبقه جداگانه در داخل اتاقک رشد قرار گرفت و به عنوان یک بلوک در نظر گرفته شد. بعد از گذشت سه روز گیاهان به دمای اتاق انتقال داده شدند و پس از گذشت سه روز ارزیابی اثرات تنش در غلظت‌های مختلف گلايسين بتائين آغاز شد. اندازه‌گیری‌های لازم جهت تعیین صدمه سرمایی و اثر گلايسين بتائين در ایجاد مقاومت به سرما از طریق ظاهری با الگوبرداری از سیستم استاندارد انجمن علف هرز اروپا<sup>۱</sup> (جدول ۱) و از روی تغییر رنگ برگ‌ها در هر غلظتی انجام شد و رتبه بندی برای هر گیاه در هر غلظت خاص از گلايسين بتائين برای بیان مقاومت به سرما صورت گرفت.

برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزار SAS و برای رسم نمودارها و اشکال از نرم‌افزار Excel استفاده شد. مقایسات میانگین بر اساس آزمون کمترین اختلاف معنی‌دار حفاظت شده (FLSD) در سطح معنی‌دار پنج درصد انجام شد.

میزان کلروفیل، با استفاده از دستگاه کلروفیل متر<sup>۲</sup> (SPAD) در برگ‌های کاملاً توسعه یافته اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی میزان نشت الکتروولت<sup>۳</sup> دو برگ جوان بوته انتخاب و پس از تمیز کردن سطح برگ با دستمال، از هر برگ یک تا دو دیسک تهیه گردید و داخل ظروف درب‌دار گذاشته شد (۲۶). درب ظروف به منظور جلوگیری از تبخیر بسته شد. سپس به میزان ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن‌ها اضافه و بعد از گذشت ۱۲ ساعت، هدایت الکتریکی (EC) آن توسط EC متر اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس اندام هوایی گیاهان به دقت از سطح خاک گلدان بریده شده، ریشه‌ها نیز با شستشو از خاک گلدان جدا شدند. اندام هوایی و ریشه گیاهان در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس توزین شدند.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تأثیر پاشش برگه گلايسين بتائين بر محتوای کلروفیل، میزان نشت الکتروولت، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاهان ذرت قرار گرفته در معرض سرما معنی‌دار بود (جدول ۲).

**علائم ظاهری:** قرار گرفتن گیاهچه‌های ذرت به مدت سه روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به سرعت باعث تولید لکه‌های نکروز روی برگ، پژمردگی، کبودی و خشک شدن حاشیه برگ‌ها شد، اما پاشش

گلايسين بتائين در گونه‌هایی که این ماده به عنوان محلول اسمزی عمل می‌کند، متغیر است به طوری که، سطوح گلايسين بتائين در سورگوم بالاتر از ذرت گزارش شده است که به علت ناتوانی تبدیل کولین به بتائين آلدئید در ذرت، در مرحله اول سنتز گلايسين بتائين می‌باشد (۱۲). استعمال خارجی گلايسين بتائين به لحاظ اقتصادی، در موارد بسیاری توانسته به گیاهان فاقد توانایی تجمع گلايسين بتائين در کاهش اثرات سوء تنش‌های محیطی کمک کند (۵ و ۱۴). نتایج بررسی‌های مختلف نشان می‌دهد که کاربرد خارجی گلايسين بتائين در محدوده ۲۵۰-۱۰ میلی‌مولار سبب افزایش عملکرد تحت تنش کمبود آب می‌شود، حتی اگر گیاه مورد نظر به عنوان یک گیاه تجمع دهنده آن عمل نماید (۶). نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که بتائين سبب محافظت غشای سلول‌های ریشه در مقابل تخریب ناشی از گرما می‌شود (۱۱). هاریناسوت و همکاران (۹) نشان دادند که پاشش برگه گلايسين بتائين از صدمه به فتوسنتز دو در شرایط شوری جلوگیری می‌کند. همچنین، پاشش برگه گلايسين بتائين روی گیاهان آراییدوپسیس دمای انجماد را از ۳/۱- به ۴/۵- درجه سانتی‌گراد کاهش داد (۲۹). به طور مشابه، کاربرد خارجی گلايسين بتائين، تحمل به دماهای پایین را در دو رقم گوجه‌فرنگی افزایش داد (۲۵). راجاشکار و همکاران گزارش کردند اسپری گلايسين بتائين به میزان دو میلی‌مولار تحمل به سرما را در برگه‌های توت‌فرنگی بیش از دو برابر تا ۷۲ ساعت بعد از استعمال افزایش داد و به علاوه موجب بقا در یخ زدگی و رشد مجدد در تمام گیاهان شد (۲۰). یافته‌های اخیر نیز نشان می‌دهد که مهندسی گیاهان برای افزایش بیان این ترکیب در گیاهانی نظیر آراییدوپسیس، برنج و توتون سبب افزایش تحمل به تنش سرما و حفظ فعالیت فتوسنتزی در دماهای پایین شده است (۱۰). در کل، با وجود نقش گلايسين بتائين به عنوان تخفیف دهنده اثرات تنش، مکانیسم‌های حفاظتی آن بر علیه تنش سرما کمتر شناخته شده است، بدین منظور این آزمایش با هدف بررسی تأثیر کاربرد برگه گلايسين بتائين بر افزایش تحمل به سرمای گیاهان ذرت در مرحله ۲ تا ۳ برگه انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۷ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بیرجند در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با تیمار سطوح مختلف گلايسين بتائين و در سه تکرار بر روی گیاه ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ (Sc704) انجام شد. کشت بذور در گلدان‌های پلاستیکی به ارتفاع یازده و قطر هشت سانتی‌متر حاوی خاک لوم شنی انجام گرفت. گیاهچه‌ها به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه (۵ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) رشد یافتند. محلول‌های گلايسين بتائين در غلظت‌های صفر (آب مقطر)، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار به حجم ۵۰ میلی‌لیتر تهیه شده و بر روی برگ‌های گیاهان در مرحله

1 - EWRC

2 - Signaling Pathway Database

3- Electrolyte leakage

میلی مولار گلابسین بتائین کمترین میزان کلروفیل را داشتند و غلظت های ۱۰ تا ۱۰۰ میلی مولار سبب بهبود عدد SPAD در برگ ها شدند (شکل ۲). سنتز کلروفیل یکی از فرآیندهای حساس به دما می باشد. نخستین مکان دریافت تنش سرما احتمالاً فتوسیستم دو است که باعث کاهش فلورسانس فتوسیستم دو و توقف فعالیت فتوستنتز بر اثر سرما می شود (۴). تنش سرما همچنین سبب اختلال در تولید کلروفیل و بروز آسیب در واکنش های کلروپلاست ها می گردد (۱۵). کاهش فتوستنتز ممکن است به علت اختلال در تولید کلروفیل و از بین رفتن ساختار کلروپلاست ها باشد. با نزول بیشتر دما کل فرآیند کلروفیل سازی متوقف می شود و رنگ برگ ها به زردی می گراید که نشان دهنده کمبود کلروفیل است (۴). در برخی از مطالعات مشاهده شده است که بهبود فتوستنتز توسط گلابسین بتائین در گیاهان تحت تنش به افزایش در کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم دو مربوط می شود (۲۳). موراتا و همکاران (۱۷) بیان کردند که گلابسین بتائین همانند یک محافظ اسمزی در کلروپلاست های گیاه تحت تنش عمل می کند.

گلابسین بتائین موجب کاهش بروز این علائم شد که احتمالاً بیانگر بهبود مقاومت به سرمازدگی در گیاهان ذرت در نتیجه کاربرد این محلول می باشد.

بر اساس رتبه بندی چشمی علائم ظاهری خسارت سرما، مشاهده شد که افزایش غلظت گلابسین بتائین بر میزان مقاومت گیاهان ذرت به سرما تأثیر مثبتی داشت به طوری که بالاترین میزان مقاومت در غلظت ۲۵ و ۵۰ میلی مولار گلابسین بتائین دیده شد که البته تفاوت معنی داری با غلظت های ۱۰ و ۱۰۰ میلی مولار آن نشان ندادند (شکل ۱). لذا می توان دریافت که گیاهانی که در دامنه غلظت ۱۰-۱۰۰ میلی مولار با گلابسین بتائین پاشش شدند به لحاظ ظاهری صدمه کمتری را متحمل شدند. احتمالاً، پاشش برگی گلابسین بتائین موجب افزایش ظرفیت فتوستنتزی و حفظ پتانسیل تورژسانس در برگ شده است (۲۱).

محتوای کلروفیل: به طور کل عدد SPAD با افزایش غلظت گلابسین بتائین بهبود یافت (شکل ۲). بررسی تأثیر سطوح گلابسین-بتائین بر محتوای کلروفیل نشان داد که تیمارهای صفر و ۲/۵

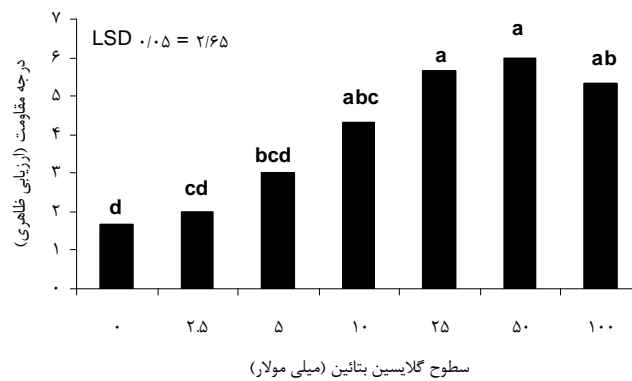
جدول ۱- سیستم نمره دهی برای ارزیابی خسارت سرما

نمره (درجه مقاومت)	صفر	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
درصد خسارت سرما	۱۰۰	۹۰ تا ۹۹	۸۰ تا ۸۹	۷۰ تا ۷۹	۶۰ تا ۶۹	۴۰ تا ۵۹	۱ تا ۳۹	صفر (بی تأثیر)

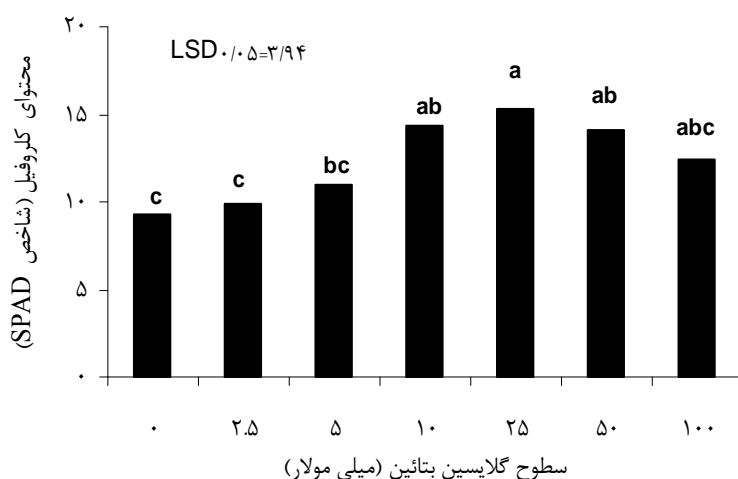
جدول ۲- میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی گیاهان ذرت تحت تأثیر سطوح مختلف پاشش گلابسین بتائین و سرمای ۴°C

نشست الکتروولت	محتوای کلروفیل (شاخص SPAD)	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)
۵۲۶/۰۱**	۱۶/۲۵**	۰/۰۰۰۴**	۰/۰۱**

\*\*، \* و ns به ترتیب بیانگر تفاوت معنی دار در سطح یک درصد، پنج درصد و عدم تفاوت معنی دار می باشد.



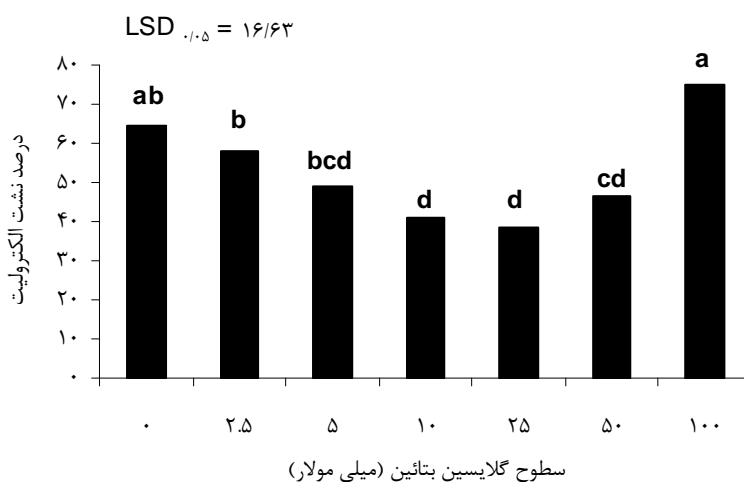
شکل ۱- رتبه بندی ظاهری خسارت سرمازدگی در گیاهان ذرت تحت تأثیر سطوح مختلف پاشش گلابسین بتائین (ستون های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی دار ( $p \leq 0.05$ ) هستند).



شکل ۲- اثر کاربرد برگی گلاسیسین بتائین بر محتوای کلروفیل گیاهان ذرت تحت تنش سرمازدگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار ( $p \leq 0.05$ ) هستند).

مضر اکسیژن افزایش می‌یابد. تجمع این ترکیبات سمی ممکن است منجر به پراکسیداسیون لیپیدی غشا سلولی و اندامک‌ها شود که در نهایت موجب اختلالات فیزیولوژیکی و بروز صدمات تنش سرما در گیاهان می‌شود (۱۸). پاشش برگی گلاسیسین بتائین احتمالاً موجب تجمع گلاسیسین بتائین داخلی و دیگر قندهای محلول از جمله پرولین در ذرت شده است (۲۴). به نظر می‌رسد گلاسیسین بتائین بکاربرده شده موجب حفظ و ثبات غشا در برابر تنش مواد داخل سلولی به خارج شده است.

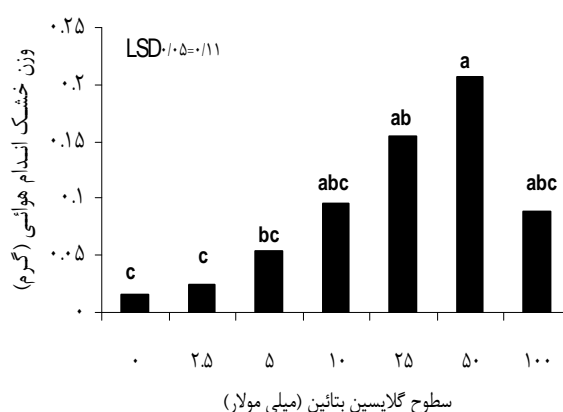
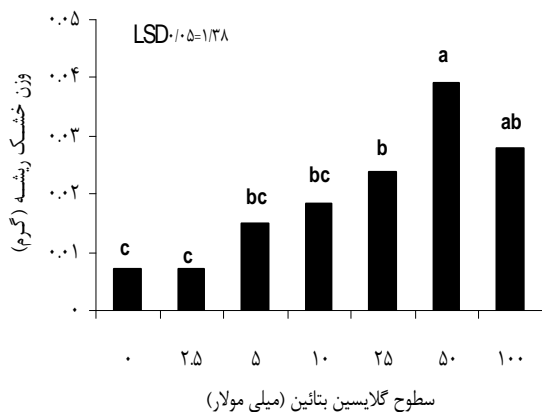
**نشت الکترولیت:** با افزایش غلظت گلاسیسین بتائین تا ۵۰ میلی-مولار میزان نشت الکترولیت در گیاهان ذرت کاهش یافت (شکل ۳). تنش سرمازدگی از طریق تغییرات در نفوذپذیری سبب افزایش نشت محلول‌های سلولی می‌شود. مقایسه میانگین میزان نشت الکترولیت‌ها در سطوح مختلف گلاسیسین بتائین نشان داد که بیشترین میزان نشت مواد در غلظت صفر و ۱۰۰ میلی-مولار گلاسیسین بتائین و کمترین میزان آن در غلظت ۲۵ میلی-مولار گلاسیسین بتائین وجود داشت. ویس و نیلور (۲۸) و همچنین راب و سالتویت (۱۹) بیان کردند که تنش سرما موجب افزایش نشت الکترولیت‌ها می‌شود و غلظت ترکیب‌های



شکل ۳- اثر پاشش برگی گلاسیسین بتائین بر میزان نشت الکترولیت گیاهان ذرت تحت تنش سرمازدگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار ( $p \leq 0.05$ ) هستند).

باعث کاهش رشد ریشه می‌شود. در اثر سرما و کاهش سنتز ATP، سنتز بسیاری از ترکیبات مانند سیتوکینین و بسیاری از اسیدهای آمینه و برخی از ویتامین‌ها که در ریشه صورت می‌گیرد کم‌تر انجام می‌گیرد و یا با سرعت کم‌تری به ساقه منتقل می‌شوند. این اختلاف موجب محدود شدن رشد ساقه در نتیجه کاهش سنتز هورمون‌ها می‌شود (۳). به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که پاشش گلایسین بتائین در دامنه غلظت ۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار در کاهش خسارت سرما بر گیاهان ذرت مؤثر بوده است. پاشش غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین نیز اگرچه در مورد بسیاری از پارامترهای مورد بررسی نقش مثبتی داشته است، اما با توجه به افزایش قابل توجه نشست الکترولیت در این غلظت، ممکن است تأثیر سوئی بر مراحل بعدی رشد داشته باشد و لذا توصیه نمی‌گردد. به هر حال انجام این تحقیق نشان می‌دهد که پاشش گلایسین بتائین در گیاهان ذرت که معمولاً در معرض خطر سرمای بهاره در اوایل رشد قرار دارند، می‌تواند به نحو مؤثری از خسارات تنش بر گیاهچه‌ها کاسته و حتی با فراهم نمودن امکان کاشت زودتر ذرت در فصل بهار، به طور قابل ملاحظه‌ای سبب بهبود عملکرد محصول شود. البته پر واضح است که جهت اطمینان کامل از اثربخشی کاربرد خارجی این ماده، انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای ضروری است.

**وزن خشک ریشه و اندام هوایی:** با افزایش غلظت گلایسین بتائین روند افزایشی معنی‌داری در وزن خشک گیاه ذرت تحت تنش سرما مشاهده شد (شکل ۴). این روند افزایشی در خصوص وزن خشک اندام هوایی و ریشه در غلظت ۵۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین به حداکثر میزان خود رسید و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش یافت اما این کاهش معنی‌دار نبود. کمترین مقادیر وزن خشک در غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین دیده شد. به طور مشابه با استعمال گلایسین بتائین، تحمل به دماهای پایین در دو رقم گوجه فرنگی بهبود یافت (۲۵)، همچنین پاشش برگ‌گی گلایسین بتائین روی گیاهان آرابیدوپسیس دمای انجماد را از ۳/۱- به ۴/۵- درجه سانتی‌گراد کاهش داد (۲۹). چن و همکاران بیان کردند تیمار بذور ذرت با گلایسین بتائین موجب بهبود سبز شدن و افزایش ارتفاع و ماده خشک گیاهچه تحت تأثیر دماهای پائین شد (۸). اخیراً اشرف و فولاد پیشنهاد کردند که کارایی پاشش برگ‌گی گلایسین بتائین به عوامل متعددی مانند نوع گونه، مرحله نمو گیاه، غلظت گلایسین بتائین و دفعات کاربرد آن بستگی دارد (۷). کاهش رشد ریشه در اثر کاهش دما باعث کم شدن ظرفیت جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه و به دنبال آن ظهور اثرات ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی و اختلال در رشد گیاه می‌شود. در دمای پائین، در انتقال مواد در گیاهان، شکل و مقدار مواد انتقال یافته، تغییراتی رخ داده و



شکل ۴- اثر پاشش برگ‌گی گلایسین بتائین بر وزن خشک اندام هوایی (الف) و ریشه (ب) گیاهان ذرت تحت تنش سرمازدگی (ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی‌دار ( $p \leq 0.05$ ) هستند).

## منابع

- ۱- احمدی، ع، پ، احسان زاده، و ف، جباری. ۱۳۸۳. مقدمه ای بر فیزیولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران. صفحه ۴۵۵ ص.
- ۲- حکمت شعار، ح. ۱۳۷۲. فیزیولوژی گیاهان زراعی در شرایط دشوار (ترجمه). انتشارات حکمت شعار، ۲۵۱ ص.

- ۳- میر محمدی میبدی، ع. و س.، ترکش اصفهانی، ۱۳۸۳. مدیریت تنش های سرما و یخزدگی گیاهان زراعی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد اصفهان. ۳۳۶ ص.
- ۴- میر محمدی میبدی، ع. م.، و ب.، قره یاضی، ۱۳۸۱. جنبه های فیزیولوژیک و بهنژادی تنش شوری گیاهان. انتشارات گلین. ۲۴۷ ص.
- 5- Agboma, P., T. Sinclair, K. Jokinen, P. Peltonen-Sainio and E. Pehu. 1997. An evaluation of the effect of exogenous glycine betaine on the growth and yield of soybean. *Field Crops Research*, 54: 51-64.
- 6- Allard, F., M. Houde, M. Krol, A. Ivanov, N. P. A. Huner, and F. Sarhan. 1998. Betaine improves freezing tolerance in wheat. *Plant Cell Physiology*, 39: 1194-1202.
- 7- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycinebetaine and proline. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 206-216.
- 8- Chen, W. P., P. H. Li and T. H. Chen. 2000. Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduce chilling induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. *Plant Cell Environment*, 23: 609- 618.
- 9- Harinasut, P., K. Tsutsui, T. Takabe, M. Nomura and S. Kishitani. 1996. Exogenous glycine betaine accumulation and increased salt tolerance in rice seedlings. *Bioscience, Biotechnology Biochemistry*, 60: 366-368.
- 10- Hayashi, H.A., A. Sakamoto, H. Nonaka, T.H.H. Chen, and N. Murata. 1998. Enhance germination under salt conditions of seeds of transgenic *Arabidopsis* with bacterial gen (CodA) for choline oxidase. *Journal of Plant Research*, 111: 357-362.
- 11- Jolivet, Y., F. Lahrer, J. Hamelin. 1982. Osmoregulation in higher plants: the protective effect of glycinebetaine against the heat destabilization of membranes. *Plant Science Letters*, 25: 193-201.
- 12- Lerma, C., P.J. Rich, G.C. Ju, W. Yang, A.D. Hanson and D. Rhodes, 1991. Betaine deficiency in maize. Complementation tests and metabolic basis. *Plant Physiology*, 95: 1113-1119.
- 13- Ilker, R., R.W. Breidenbach and J.M. Lyons. 1979. Sequence of ultrastructural changes in tomato cotyledons during short periods of chilling. In: *Low temperature stress in crop plants: The role of membrane*, edited by J. M. Lyons, D. Graham and J. K. Raison. pp. 97-114. New York, Academic Press.
- 14- Makela, P., K. Jokinen, M. Kontturi, P. Peltonen-Sainio, E. Pehu and S. Somersalo. 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.
- 15- Mellerd, A. and J.R. McWilliam, 1968. Studies on a maize mutant sensitive to low temperature. *Plant Physiology*. 43:1967.
- 16- Mohanty, A., H. Kathuria, A. Ferjani, A. Sakamoto, P. Mohanty, N. Murata and A.K. Tyagi. 2002. Transgenics of an elite indica rice variety Pusa Basmati1 harbouring the codA gene are highly tolerant to salt stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 51-57.
- 17- Murata, N., P.S. Mohanty, H. Hayashi and G.C. Papageorgiou. 1992. Glycinebetaine stabilizes the association of extrinsic proteins with the photosynthetic oxygen-evolving complex. *FEBS Letters*, 296:187-189.
- 18- Prasad, T.K., M.D. Anderson, B.A. Martin, C.R. Stewart. 1994. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell*, 6: 65-74.
- 19- Rab, A. and M.E. Saltveit. 1996. Differential chilling sensitivity in cucumber seedling. *Plant Physiology*, 96: 375-382.
- 20- Rajashekar, C.B., H. Zhou, K.B. Marcum and O. Prakash. 1999. Glycine betaine accumulation and induction of cold tolerance in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) plants. *Plant Science*, 148: 175-183.
- 21- Reza, S.H., H.U.R. Athar and M. Ashraf. 2006. Influence of exogenously applied glycinebetaine on the photosynthetic capacity of two differently adopted wheat cultivars under salt stress. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 241-251.
- 22- Rhodes, D. and A.D. Hanson. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium Compounds in higher-plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44: 357-384.
- 23- Sakamoto, A., N. Alia and N. Murata. 1998. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold. *Plant Molecular Biology*, 38: 1011-1019.
- 24- Serraj, R. and T.R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environment*, 25: 333-341.
- 25- Somersalo, S., S. Kyei-Boahen, and E. Pehu. 1996. Exogenous glycine betaine application as a possibility to increase low temperature tolerance of crop plants. *Nordisk Jordbruksforskning*, 78: 10.
- 26- Vanstone, D.E. and E.H. Stobbe. 1977. Electrolytic conductivity—a rapid measure of herbicide injury. *Weed Science*, 25:352-354.
- 27- Wang, C.Y. and D.O. Adams. 1980. Ethylene production by chilled cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Plant*

- Physiology, 66: 841- 843.
- 28- Waise, R.R. and A.W. Naylor. 1987. Chilling-enhanced photo oxidation: Evidence for the role of singlet oxygen and super oxide in the break down of pigments and endogenous antioxidants. *Plant Physiology*, 83: 278-282.
- 29- WeiBing, X. and C.B. Rajashekar. 2001. Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, 46:21–28.
- 30- Yang, W.J., P.J. Rich, J.D. Axtell, K.V. Wood, C.C. Bonham, G. Ejeta, M.V. Mickelbart and D. Rhodes. 2003. Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. *Crop Science*, 43:162–169.