Plant Prod., 2024, 47(2), 259-273.
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2024.44617.2120
Received: 13 December 2023
Accepted: 31 May 2024

Plant Productions
Research Article

Evaluation the morphological and phytochemical response of broccoli seedling to the application of sucrose, Bordeaux mixture and potassium silicate under sudden cold stress

Alireza Nickkhoo[1], Kamran Ghasemi[2*], Vahid Akbarpour[3]

1. Former Master's Student in Vegetables, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
2. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Citation: Nickkhoo, A., Ghasemi, K., Akbarpour, V. (2024) Evaluation the morphological and phytochemical response of broccoli seedling to the application of sucrose, Bordeaux mixture and potassium silicate under sudden cold stress. *Plant Productions*, 47(2), 259-273

Abstract

Introduction

Broccoli is a one of the vegetables that has a very high nutritional value and it is cultivated in many countries all around the world. Due to the intensification of climate change, sudden drops in temperature during the winter in northern countries pose a serious threat to some vegetable species, including broccoli. In this study, an experiment was conducted to investigate the effect of sucrose, potassium silicate, and Bordeaux mixture on increasing the tolerance of broccoli seedlings to sudden cold stress.

Materials and Methods

The experiment was conducted in a completely randomized design with eight treatments, three replications, and three samples per each replication. The treatments included: control, sucrose1%, potassium silicate 0.2%, Bordeaux mixture 0.2%, sucrose + potassium silicate, sucrose + Bordeaux mixture, potassium silicate + Bordeaux mixture, and sucrose + potassium silicate + Bordeaux mixture.

Results and Discussion

The effect of the treatments on the growth of broccoli seedlings one week after exposure to low temperature stress, including stem height, leaf number, shoot dry weight, root fresh weight, and root dry weight, was not statistically significant. The highest concentration of chlorophyll b (1.647 mg/g fresh weight) was obtained in the Bordeaux mixture treatment which along with the combined treatment of sucrose + potassium silicate + Bordeaux mixture were the only treatments that showed a significant superiority compared to the control. The highest transpiration rate

* **Corresponding Author:** Kamran Ghasemi
E-mail: k.ghasemi@sanru.ac.ir

© 2024 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

among the tested treatments was observed in the sucrose + Bordeaux mixture treatment, which did not show a significant difference compared to the three-component treatment of sucrose + potassium silicate+ Bordeaux mixture, but showed a significant superiority compared to the other treatments. The foliar application of Bordeaux mixture caused a higher stomatal conductance compared to the control after a temperature stress of -2 °C, but the other treatments did not show a significant difference compared to the control. In terms of the non-photochemical quenching (Y(NPQ)), the highest Y(NPQ), was observed in the control and potassium silicate treatments, which was significantly higher than all other treatments. Meanwhile, the lowest level of this index was observed in the potassium silicate+ Bordeaux mixture treatment, which did not show a significant difference compared to the sucrose + potassium silicate, sucrose + potassium, and silicate+ Bordeaux mixture treatments. The highest level of antioxidant activity was observed only in the sucrose treatment and the sucrose + potassium silicate and Bordeaux mixture treatments, which were superior to all other treatments without any significant difference among them. In terms of total phenolic content, only the sucrose+ Bordeaux mixture treatment showed a significant superiority compared to the control, and the other treatments did not show a significant difference from the control. In the trait of soluble sugar content, the sole potassium silicate and the three-component treatments were better than the control, and the other treatments did not show a significant difference compared to the control. The highest ion leakage was observed in the sucrose + Bordeaux mixture treatment, which was higher than the control and all other treatments. The lowest ion leakage was also observed in the sucrose + potassium silicate and potassium silicate+ Bordeaux mixture treatments, although the difference between them and the control and potassium silicate-only treatments was not significant. The highest level of proline was observed in the sucrose+potassium silicate treatment, which was significantly superior to all other treatments.

Conclusion

Sucrose+potassium silicate treatment improved the defense system of the plant against sudden cold stress by increasing the amount of carotenoid and proline, and as a result of these activities, the antioxidant of the whole plant and higher chlorophyll also increased. Also, this treatment showed low ion leakage and low non-photochemical quenching, which can show higher sudden cold tolerance. Another favorable treatment was potassium silicate + bordeaux mixture which produced a higher assimilation rate, although this photosynthetic production did not affect the biomass, but since the ion leakage was low and caused the lowest Y(NPQ), it can be said that the plant in this treatment receive lower stress. Overall, considering all the evaluated traits, the top-performing treatment in this experiment was the potassium silicate+ Bordeaux mixture treatment, followed by the sucrose + potassium silicate treatment.

Keywords: Cole crops, Carbohydrate, Ice maker bacteria, Silica.

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۳، ۴۷(۲)۲۵۹-۲۷۳
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2024.44617.2120
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۱۱

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

بررسی پاسخ مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی نشای کلم بروکلی به کاربرد ساکارز، بردوفیکس و سیلیکات پتاسیم در شرایط تنش سرمای ناگهانی

علیرضا نیک‌خو[۱]، کامران قاسمی[۲*]، وحید اکبرپور[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد سبزی‌ها، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

چکیده

کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*)، از خانواده براسیکاسه و جنس براسیکا، یکی از واریته‌های کلم محسوب می‌گردد که گل نارس سبزرنگ آن خوراکی بوده و ارزش غذایی بالایی دارد. کشت گیاه بروکلی، بهاره یا پاییزه است و در مراحل اولیه به شرایط خیلی سرد و خشکی حساس می‌باشد. کاهش ناگهانی دما در زمستان‌های شمال کشور، خطری جدی برای برخی گونه‌های سبزی از جمله کلم بروکلی محسوب می‌گردد. در این پژوهش برای بررسی تأثیر تیمارهای ضدتنش بر افزایش تحمل نشای کلم بروکلی به تنش سرمای ناگهانی (منفی ۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۲ ساعت)، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار شامل شاهد، ساکارز ۱ درصد، سیلیکات پتاسیم ۰/۲ درصد، بردوفیکس ۰/۲ درصد، ساکارز+سیلیکات پتاسیم، ساکارز+بردوفیکس، سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس و ساکارز+سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس انجام شد. نتایج به‌دست آمده یک هفته بعد از اعمال تنش سرمای ناگهانی نشان داد که تأثیر تیمارهای به‌کاررفته بر شاخص‌های مختلف رشد رویشی کلم بروکلی شامل ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن خشک هوایی، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه، از نیز آماری معنی‌دار نبود. از نظر عملکرد کوآنتومی خاموشی غیرفتوشیمیایی، بیشترین مقدار این شاخص در تیمار شاهد و سیلیکات‌پتاسیم تنها دیده شد که به‌طور معنی‌داری نسبت به تمامی تیمارهای دیگر بیشتر بود. کمترین میزان عملکرد کوآنتومی خاموشی غیرفتوشیمیایی در تیمار سیلیکات‌پتاسیم+بردوفیکس دیده شد که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار ساکارز+سیلیکات‌پتاسیم و تیمار سه‌گانه (ساکارز+ سیلیکات‌پتاسیم+ بردوفیکس) نداشت. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ساکارز تنها (۵۰/۲۶ درصد مهار) دیده شد که اختلاف معنی داری با دو تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم و بردوفیکس تنها نداشت، ولی هر سه این تیمارها نسبت به سایر تیمارهای بکارفته در این آزمایش از نظر آماری برتر بودند. در میزان قند محلول نیز دو تیمار سیلیکات پتاسیم تنها و تیمار سه‌گانه، بهتر از شاهد بودند و سایر تیمارها در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین نشت‌یونی در تیمار

* **نویسنده مسئول:** کامران قاسمی
رایانامه: k.ghasemi@sanru.ac.ir

ساکارز+بردوفیکس دیده شد که نسبت به شاهد و تمامی تیمارهای دیگر بیشتر بود. بیشترین میزان پرولین در تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم دیده شد، که به‌طور معنی‌داری نسبت به همه تیمارهای دیگر برتر بود. از آنجایی‌که در تیمار سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس وضعیت شاخص‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بالا نبوده است، لذا مکانیسم تأثیر این تیمار در تعدیل تنش سرمای ناگهانی مرتبط با سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه نبوده و احتمالا به اثر مستقیم عناصر مس، سیلیسیم و پتاسیم برمی‌گردد. نتیجه‌گیری کلی این آزمایش نشان می‌دهد که تیمارهای برتر این آزمایش سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس و ساکارز+سیلیکات پتاسیم بودند که توانستند تحمل نشای کلم بروکلی به تنش سرمای ناگهانی را افزایش دهند.

کلید واژه‌ها: باکتری یخ‌ساز، سیلیس، کربوهیدرات، کلم‌ها

مقدمه

کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*)، از خانواده براسیکاسه و جنس براسیکا، یکی از واریته‌های کلم محسوب می‌گردد که گل نارس سبزرنگ آن خوراکی بوده و از لحاظ تغذیه‌ای و دارویی ارزش فراوانی دارد (Dixon *et al.*, 2017). ارزش غذایی این سبزی مفید به علت وجود ویتامین‌ها، ترکیبات فنلی و گلوکوزینولات بالای آن می‌باشد. کشت گیاه بروکلی، بهاره یا پاییزه است و در مراحل اولیه به شرایط خیلی سرد و خشکی حساس می‌باشد (Lemoine *et al.*, 2010). آزمایشات نشان می‌دهد که تشکیل یخ خارج سلولی در کلم بروکلی در دمای منفی ۲ درجه سلسیوس رخ می‌دهد (Tan *et al.*, 1999).

استفاده از قندهای محلول و سایر موادی که خاصیت اسمزی سلول‌ها را افزایش می‌دهند، در افزایش تحمل گیاهان به سرمای ناگهانی موثر هستند. قندهای محلولی مانند ساکارز، اثرات مثبت خود را برای محافظت از سلول‌های گیاهی در برابر آسیب ناشی از تنش سرما از طرق مختلف از جمله نقش محافظت‌کننده اسمزی، تامین مواد مغذی و همچنین برهمکنش با دولایه لیپیدی غشا اعمال می‌کنند (Yuanyuan *et al.*, 2009). گزارشات علمی در خصوص تأثیر محلول‌پاشی ساکارز در بهبود تحمل به انجماد در پروتوپلاست‌های گیاه *Arabidopsis thaliana* منتشر شده است (li *et al.*, 2006).

بردوفیکس قارچ‌کش و باکتری‌کش حفاظتی تماسی است، که برای پیشگیری و درمان انواع بیماری‌های درختان میوه، سبزی‌ها، و گیاهان زینتی توصیه می‌شود. قارچ‌کش بردوفیکس با داشتن pH حدود ۷، در تمام فصل‌های سال قابل‌استفاده است. استفاده از بردوفیکس قبل از بروز سرما و یخبندان جمعیت باکتری‌های یخ‌ساز (Bacterial Ice Nucleation) را از بین برده و در نهایت آسیب یخبندان و سرمازدگی احتمالی را کم می‌کند. بردوفیکس دارای سولفات مس و هیدروکسید کلسیم بوده که با توجه به محل کشف، به ترکیب بردو هم معروف است (Pears, Pauline, *et al.*, 2005).

سیلیکات پتاسیم، به‌عنوان یک منبع پتاسیم و سیلیسیم در کشاورزی، می‌تواند مقاومت گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی مانند خشکی، سرما و تنش‌های شیمیایی را افزایش دهد. سیلیکات پتاسیم قدرت اکسیداسیون ریشه‌ها را افزایش داده و در تعدادی از گیاهان مقاومت به استرس یخزدگی را افزایش داده است (Jian Ma *et al.*, 2004). مشاهده شده است که افزودن سیلیسیم در شرایط تنش یخبندان، نه تنها میزان کلروفیل را افزایش داد، بلکه نسبت کلروفیل a به b را نیز بهبود بخشید (Gao *et al.*, 2006).

ارزیابی میزان تنش یخزدگی از طریق شاخص‌هایی متعددی مانند کم بودن نشت الکترولیت‌ها، تجمع قندهای محلول و افزایش پرولین ارزیابی می‌گردد که می‌توانند میزان تحمل به تنش یخزدگی را نشان دهند

Rajabi & Pourdad, 2011; Araghi *et al.*, 2014).

با توجه به اینکه کلم بروکلی، محصول فصل خنک می باشد، لذا در استان‌های شمالی کشور به‌صورت کشت پاییزه پرورش می‌یابد. بروکلی مقاومت خوبی نسبتا به سرما دارد ولی یخبندان غیرمنتظره در زمستان می‌تواند آسیب جدی به این گیاه وارد نماید، به‌ویژه اگر به‌تازگی نشا به زمین منتقل شده باشد، به همین دلیل هدف این پژوهش افزایش مقاومت نشای کلم بروکلی به تنش سرمای ناگهانی با استفاده از تکنیک‌های مختلف بوده است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر ساکارز، سیلیکات پتاسیم و بردوفیکس بر افزایش تحمل نشای کلم بروکلی به تنش سرمای ناگهانی، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه پژوهشی گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، در اردیبهشت ۱۴۰۱ انجام گرفت. تیمارهای مورد آزمایش در هشت سطح شامل شاهد، ساکارز ۱ درصد، سیلیکات پتاسیم ۰/۲ درصد، بردوفیکس ۰/۲ درصد، ساکارز + سیلیکات پتاسیم، ساکارز + بردوفیکس، سیلیکات پتاسیم + بردوفیکس، ساکارز+سیلیکات پتاسیم + بردوفیکس بود. سیلیکات پتاسیم مورد استفاده از شرکت خوشه‌پروران زیست فناور تهیه شد و حاوی ۱۷ درصد سیلیس و ۱۱ درصد پتاس بود. بردوفیکس مورداستفاده نیز ترکیبی از آهک و سولفات مس بود، که دارای خاصیت قارچ‌کشی و باکتری‌کشی می‌باشد. بذر کلم بروکلی رقم آراکسوس از یک مرکز معتبر فروش بذر تهیه شد و سپس در سینی پلاستیکی با بستر کوکوپیت و پرلیت کاشته شدند. پس از جوانه‌زنی، گیاهان تا خروج برگ‌های حقیقی، روزانه به‌صورت دستی آبیاری شدند و بعد از این مرحله، با محلول غذایی هوگلند به‌صورت یک روز در میان تا انتهای آزمایش تغذیه شدند. بعد از رشد چهار هفته‌ای، گلدان‌ها شماره‌گذاری شده و تیمارها دو بار، به فاصله چهار روز، اِعمال شدند. حدود ۲۴ ساعت بعد از آخرین تیمار، تمامی گیاهان وارد سردخانه با شرایط سرمای ناگهانی (دمای منفی ۲ درجه سلسیوس) شده و ۱۲ ساعت در این دما نگه داشته شدند (Tan *et al.*, 1999). در واقع این آزمایش به‌نوعی شبیه‌سازی کاهش دمای شدید، غیرمنتظره‌ای و موقتی است که در بعضی از سال‌ها، در شمال کشور رخ داده و کلم بروکلی را، به‌ویژه در مراحل اولیه رشد، دچار تنش می‌کند. بعد از اعمال تنش، گیاهان از سردخانه خارج شدند و بلافاصله پارامترهای فتوسنتزی آنها اندازه‌گیری شد. سایر ارزیابی‌ها به ۷ روز بعد موکول گردید تا تأثیر تنش و تیمارهای مورد استفاده بعد از گذشت زمان روشن گردد.

اندازه‌گیری صفات رشدی

به‌منظور بررسی توان بازیابی گیاه، اندازه‌گیری صفات رشدی همچون ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن تر بخش هوایی، وزن تر ریشه، یک هفته بعد از پایان تنش سرمای ناگهانی، به‌وسیله ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد و در مرحله بعد برای اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و وزن خشک ریشه از دستگاه آون، با دمای ۷۰ درجه سلسیوس، استفاده گردید.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

هفت روز بعد از خروج گیاهان از سردخانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها با استفاده از حلال متانول اندازه‌گیری شدند (Carter & knapp, 2001). سپس جذب عصاره در طول موج‌های ۶۶۵,۲، ۶۵۲,۴ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شده و در نهایت محاسبات میزان رنگیزه‌ها برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ گزارش شد (Lichtenthaler & Buschmann, 2001).

ارزیابی صفات فتوسنتزی

در این آزمایش، بلافاصله بعد از اتمام تنش سرمای ناگهانی، تمامی گیاهان از سردخانه خارج شدند و پارامترهای فتوسنتزی آنها با استفاده از دستگاه فتوسنتزمتر Li-Cor Li-3000 اندازه‌گیری شدند. پس از اندازه‌گیری،

نمونه‌ها به تدریج به دمای عادی بازگردانده شدند. در این آزمایش، پارامترهای مهمی از جمله درصد رطوبت نسبی برگ، سرعت تعرق، کمبود فشار بخار، هدایت روزنه‌ای، فلورسانس حداقل و حداکثر، عملکرد کوآنتومی خاموش غیرفتوشیمیایی، میزان فتوسنتز، کارایی آب، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستم II و ضریب خاموشی فتوشیمیایی ارزیابی شدند.

اندازه‌گیری پرولین

هفت روز بعد از خروج نمونه‌ها از شرایط سرمای ناگهانی، اندازه‌گیری آنزیم پرولین صورت گرفت. روش کار بدین صورت بود که ۱۰۰-۵۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در یک میلی‌لیتر بافر پرولین ریخته شد، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در بن‌ماری ۹۵ درجه سلسیوس قرار داده شد. در مرحله بعد، نمونه حدود پنج دقیقه روی یخ خشک شد و در نهایت جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد (Bates *et al.*, 1973).

میزان قند محلول

هفت روز بعد از تنش سرمای ناگهانی، ۴۰ گرم از بافت گیاه در پنج میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ریخته و در هاون کوبیده شد. سپس به فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل و ۱۰ دقیقه در حمام ۷۰ درجه سلسیوس گذاشته شد و در مرحله بعد در سانترفیوژ دور ۱۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس محلول در فالکون ۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و در پنج مرحله، هر مرحله پنج میلی‌لیتر اتانول اضافه شد و دوباره در حمام ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. برای گرفتن تهیه قندی، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول را برداشته و سه میلی‌لیتر آنترون اضافه شد و ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و سپس با طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت شد (McCready *et al.*, 1973).

نشت یونی

ابتدا برگ‌های نمونه وزن شد و از آن‌ها دو تیکه به قطر یک سانتی‌متر جدا گردید و بعد از تمیز کردن آنها در فالکون ریخته شد و ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت. سپس EC اول آن خوانده شد و در مرحله بعد در حمام آب گرم ۹۰ درجه به مدت ۱/۵ ساعت گذاشته شد و سپس EC دوم قرائت شد (Karlidag *et al.*, 2009).

$$EL= (EC_1/EC_2) \times 100$$

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

بعد از عصاره‌گیری از نمونه‌های گیاهی و قرارگیری نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک، در نهایت با استفاده از اسپکتروفتومتر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان آنتی‌اکسیدان کل براساس درصد مهار رادیکال آزاد دی‌فنیل هیدرازید (DPPH) بیان گردید (Ebrahimzadeh *et al.*, 2008).

$$\%IP = (A_{control}- A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

%IP: درصد مهار رادیکالهای آزاد

$A_{control}$: جذب شاهد

A_{sample}: جذب نمونه

نتایج و بحث

رشد رویشی و مورفولوژی

تأثیر تیمارهای به‌کاررفته بر رشد رویشی نشای کلم بروکلی شامل ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن خشک هوایی، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه یک هفته بعد از تنش دمای پایین، از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱).

از آنجایی‌که تیمارهای به‌کاررفته تأثیر معنی‌داری بر رشد رویشی نشای کلم بروکلی نداشتند، لذا روشن می‌گردد که دمای اِعمال‌شده، دستکم در کوتاه مدت، اثر منفی بر خصوصیات مورفولوژیکی، رشد رویشی و زیست توده دانهال‌های کلم بروکلی برجای نمی‌گذارد و تیمارهای مذکور نیز به این دلیل اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نداشتند. هم‌راستا با نتایج ما، یافته‌های یک پژوهش روی نشای کلم بروکلی نشان داد که تاثیر دمای پایین بر رشد رویشی گیاه در درازمدت رخ می‌دهد، به‌طوری‌که تاثیر سرما بر سطح برگ بروکلی، تنها ۳۱ روز بعد از اعمال تیمار دیده شد (Kalisz *et al.*, 2015).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

بیشترین غلظت کلروفیل b در تیمار بردوفیکس به‌میزان ۱/۶۴۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به‌دست آمد که به همراه تیمار ترکیبی ساکارز+سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس به میزان ۱/۴۹۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، تنها تیمارهایی بودند که نسبت به شاهد برتری معنی‌داری نشان دادند و بقیه تیمارهای به‌کار رفته تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند (شکل ۱). در خصوص غلظت کارتنوئیدها، تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم بیشترین مقدار را نشان داد و بعد از آن سیلیکات‌پتاسیم تنها در رتبه دوم قرار گرفت (شکل ۲).

Table 1. Analysis of variance of the effect of treatments on morphological traits and biomass

S.O.V	df	Stem height	Leaf number	Aerial fresh weight	Aerial dry weight	Root fresh weight	Root dry weight
Treatment	7	0.61404762^{ns}	0.32738095^{ns}	0.3629500^{ns}	0.01919048^{ns}	2.07834048^{ns}	0.02986429^{ns}
Error	16	0.56125000	0.16666667	0.39567083	0.07159167	1.72042500	0.02844583
CV%	-	4.42	7.71	9.98	18.91	16.97	12.08

^{ns}, ** and *: non-significant and significant at the 0.01 and 0.05 probability levels, respectively

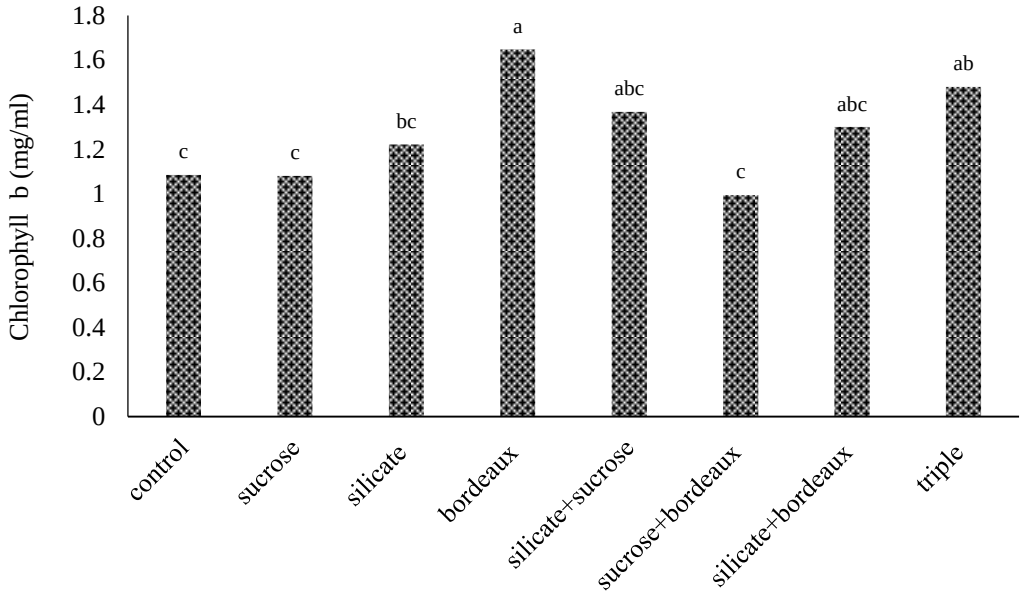

Figure 1. The effect of treatments on the amount of chlorophyll b in broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

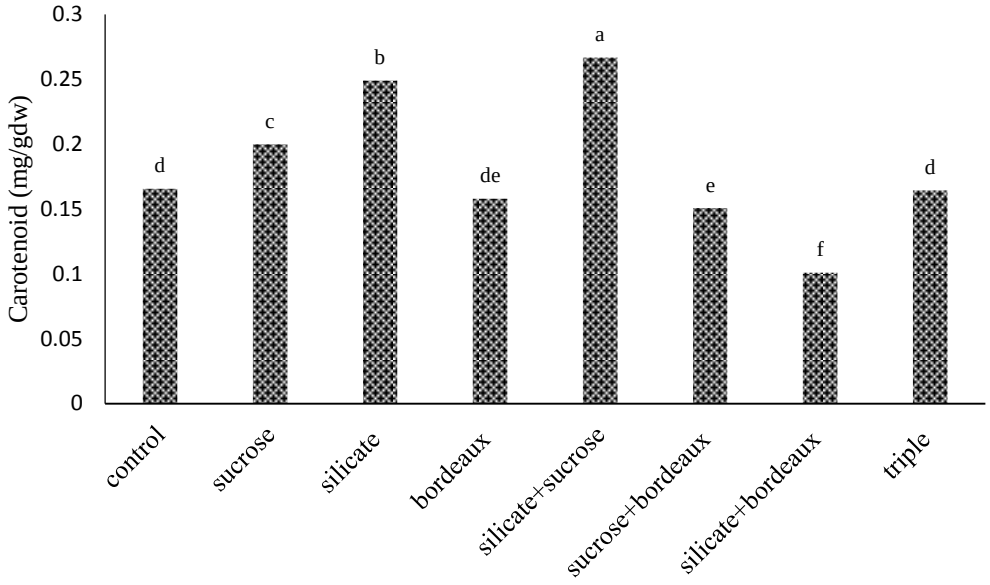

Figure 2. The effect of treatments on the amount of carotenoid in broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

ازآنجایی‌که تیمار بردوفیکس به تنهایی موجب افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل b در دانهال‌های بروکلی بعد از تنش دمای زیر صفر گردید، این احتمال وجود دارد که این ترکیب به‌دلیل داشتن عنصر مس موجب این اثرگذاری شده باشد. در یک آزمایش جالب نشان داده شد که گیاه کلم چینی می‌تواند مقادیر بالای مس را بدون ظهور علائم سمیت تحمل نموده و در این شرایط میزان کلروفیل گیاه نه تنها کاهش نمی‌یابد، بلکه افزایش میزان کلروفیل نیز رخ می‌دهد (Xiong *et al.*, 2005). همچنین تأثیر سیلیسیم و پتاسیم بر افزایش بیوسنتز کارتنوئیدها توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Liang *et al.*, 2015). از دیگرسو کارتنوئیدها را میتوان به عنوان یک جزء مهم از سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه دانست، که در تعدیل تنش‌های مختلف زنده و غیرزنده در گیاهان فعالانه عمل می‌کند، لذا ترکیب ساکارز+سیلیکات پتاسیم با مکانیسم افزایش غلظت کارتنوئیدها می‌تواند موجب افزایش مقاومت به تنش‌هایی نظیر دمای پایین و سرمای ناگهانی گردد. در یک آزمایشی که روی کلم پیچ قرمز صورت گرفت نشان داده شد که تیمار سیلیکات پتاسیم در شرایط تنش غیرزنده توانست میزان کارتنوئیدها را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش دهد (Hegazi *et al.*, 2017).

پارامترهای فتوسنتزی فلورسانس کلروفیل

بیشترین میزان تعرق ثبت شده در بین تیمارهای مورد آزمایش، تیمار ساکارز+بردوفیکس بوده است که اختلاف معنی‌داری با تیمار سه‌گانه، ساکارز+سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس نداشت، ولی نسبت به سایر تیمارها برتری معنی‌داری نشان داد (شکل ۳).

محلول‌پاشی بردوفیکس موجب شد تا بعد از تنش دمای منفی ۲ درجه سلسیوس، هدایت روزنه‌ای بیشتری نسبت به شاهد وجود داشته باشد، ولی سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد ایجاد نکردند (شکل ۴). تمامی تیمارهایی که در آنها بردوفیکس به‌کاررفته بود بجز محلول‌پاشی سه‌گانه دارای میزان فتوسنتز بالایی بودند (تیمارهای: بردوفیکس تنها، بروفیکس + ساکارز و بروفیکس +سیلیکات پتاسیم)، هرچند اختلاف آنها با شاهد معنی‌دار نبود. کمترین میزان فتوسنتز نیز در تیمار سه گانه و بعد از آن ساکارز+سیلیکات پتاسیم بود (شکل ۵).

از نظر شاخص بسیار مهم Y(NPQ)، بیشترین خاموش غیرفتوشیمیایی در تیمار شاهد و سیلیکات‌پتاسیم دیده شد که به‌طور معنی‌داری نسبت به تمامی تیمارهای دیگر بیشتر بود، این درحالیست که کمترین میزان این شاخص در تیمار سلیکات‌پتاسیم+بردوفیکس دیده شد که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار ساکارز+سیلیکات‌پتاسیم و تمام سه‌گانه (ساکارز+ سیلیکات‌پتاسیم+ بردوفیکس) نداشت (شکل ۶). بالا بودن میزان فتوسنتز (نرخ آسیمیلاسیون CO_2) در تیمار سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس احتمالا به مکانیسم‌های غیرروزنه‌ای برمی‌گردد، زیرا میزان تعرق و هدایت روزنه‌ای در این تیمار بالا نبوده است. این در حالی است که فتوسنتز زیاد در تیمار ساکارز+بردوفیکس می‌تواند به تعرق بسیار زیاد در این تیمار نسبت داده شود، که تعرق زیاد به نوبه خود موجب جذب بیشتر عناصر غذایی و هدایت شیره‌خام از ریشه به بخش‌های هوایی می‌گردد (Ding *et al.*, 2022).

بالا بودن عملکرد کوانتومی خاموشی غیرفتوشیمیایی Y(NPQ) شاخص مهم از هدررفت انرژی نورانی به‌صورت فلورسانس می‌باشد و گویای پایین بودن کارایی فتوسیستم Π است، لذا تیمارهایی که در این شاخص عدد بالایی دارند، احتمال تنش بیشتری را درک کرده و کارایی فتوسنتزی کمتری دارند. با این توضیحات مشخص می‌گردد که گیاهان شاهد و گیاهانی که تیمار سیلیکات پتاسیم تنها دریافت کرده بودند، بیشترین خاموشی غیرفتوشیمیایی و کمترین کارایی فتوسنتزی را داشتند، لذا سیلیکات پتاسیم تنها نتوانست تنش دمای پایین را در دانهال کلم بروکلی مهار نماید، هرچند بسیاری از پژوهش‌ها اثر مثبت سیلیکات پتاسیم بر واکنش‌های فتوسنتزی را گزارش نموده‌اند (Habibi, 2015).

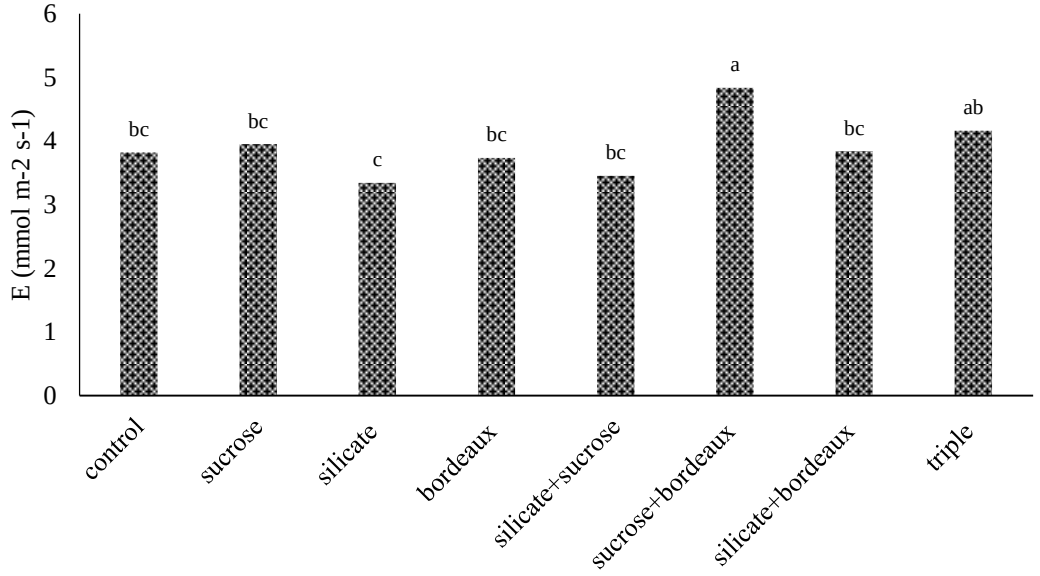

Figure 3. The effect of treatments on the transpiration rate of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

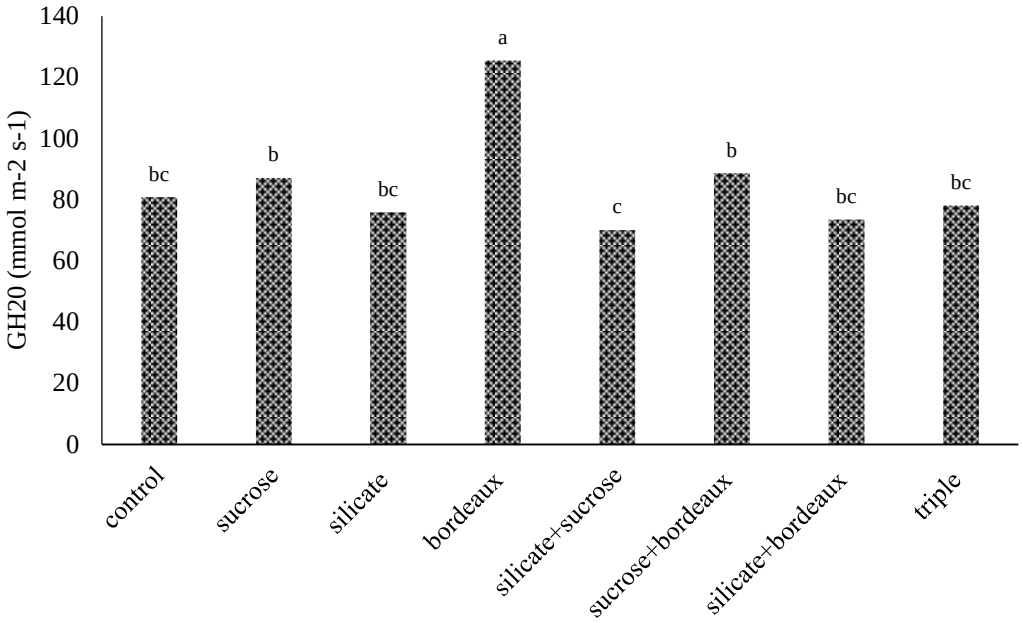

Figure 4. The effect of treatments on the stomata conductance of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

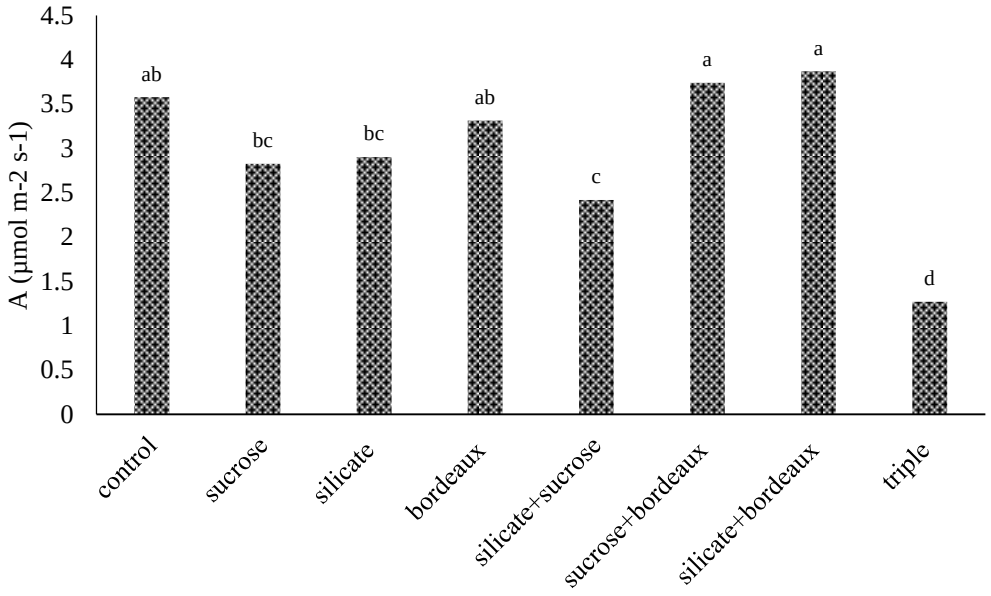

Figure 5. The effect of treatments on the rate of photosynthesis of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

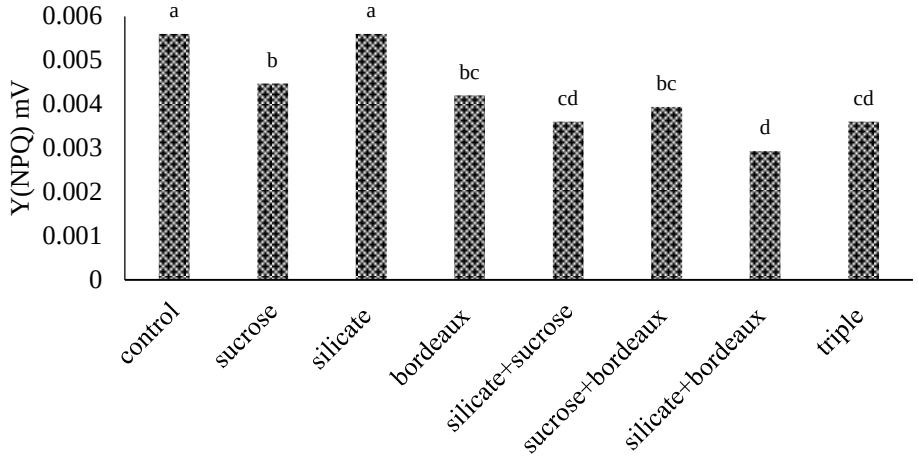

Figure 6. The effect of treatments on non-photochemical quantum yield of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

ترکیبات بیوشیمیایی و نشت یونی

بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار ساکارز تنها و تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم و تیمار بردوفیکس دیده شد، که بدون اختلاف معنی‌دار باهم نسبت به تمامی تیمارهای دیگر برتر بودند (شکل ۷). در میزان قند محلول دوتیمار سیلیکات پتاسیم تنها و تیمار سه‌گانه بهتر از شاهد بودند و سایر تیمارها در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند (شکل ۸).

تیمار سیلیکات پتاسیم از طریق بالا بردن قند محلول موجب واکنش گیاه شده است ولی تیمار ساکارز نتوانست میزان قند محلول را افزایش دهد، احتمالا ساکارز خارجی موجب سیگنال‌دهی جهت ایجاد بازخورد منفی فتوسنتزی شده و از این طریق تولیدات فتوسنتزی را کاهش داده است (Yoon *et al.*, 2021). به هر حال از نظر وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل دو تیمار ساکارز و ساکارز+سیلیکات پتاسیم برتر بودند که می‌تواند شاخص مهمی باشد. بیشترین نشت‌یونی در تیمار ساکارز+بردوفیکس دیده شد، که نسبت به شاهد و تمامی تیمارهای دیگر بیشتر بود. کمترین نشت یونی نیز مربوط به ساکارز+سیلیکات پتاسیم و سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس بود، هرچند اختلاف آن با شاهد و سیلیکات پتاسیم تنها، معنی‌دار نبود (شکل ۹).

نشت‌یونی بیانگر تأثیر منفی تنش دمای زیر صفر درجه روی غشای سلولی می‌باشد، لذا تیمار ساکارز+بردوفیکس که نشت یونی زیادی داشته است دچار تخریب غشای بیشتری شده است. هرچند به نظر می‌رسد که اثر منفی تیمار ساکارز+بردوفیکس بر تخریب غشا به دلیل نقش مس و اثر متقابل آن با ساکارز خارجی باشد، ولی این نتایج با یافته‌های یک پژوهش روی گیاه خیار که گزارش نموده گلوکز، سمیت مس را تعدیل می‌کند (Yusuf et al., 2021)، همخوانی ندارد.

بیشترین میزان پرولین در تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم دیده شد که به‌طور معنی‌داری نسبت به همه تیمارهای دیگر برتر بود (شکل ۱۰). تجمع پرولین نیز به توانمندی گیاه برای مقابله با تنش‌ها از جمله تنش سرمای ناگهانی کمک می‌کند که تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم موجب افزایش معنی‌دار بیوسنتز این ترکیب مهم گردیده است. نتایج یک آزمایش روی دانهال ذرت نشان داد که تیمار ساکارز خارجی موجب افزایش پرولین و حفظ وضعیت آب در این گیاه گردید (Altuntas *et al.*, 2019). همچنین تأثیر سیلیسیم در افزایش پرولین در آزمایش‌های متعددی گزارش شده است، برای نمونه، به‌تازگی این تأثیر در دانهال خردل چینی (*Brassica juncea*) که با کلم بروکلی در یک جنس قرار دارند، به اثبات رسیده است (Siddiqui *et al.*, 2023).

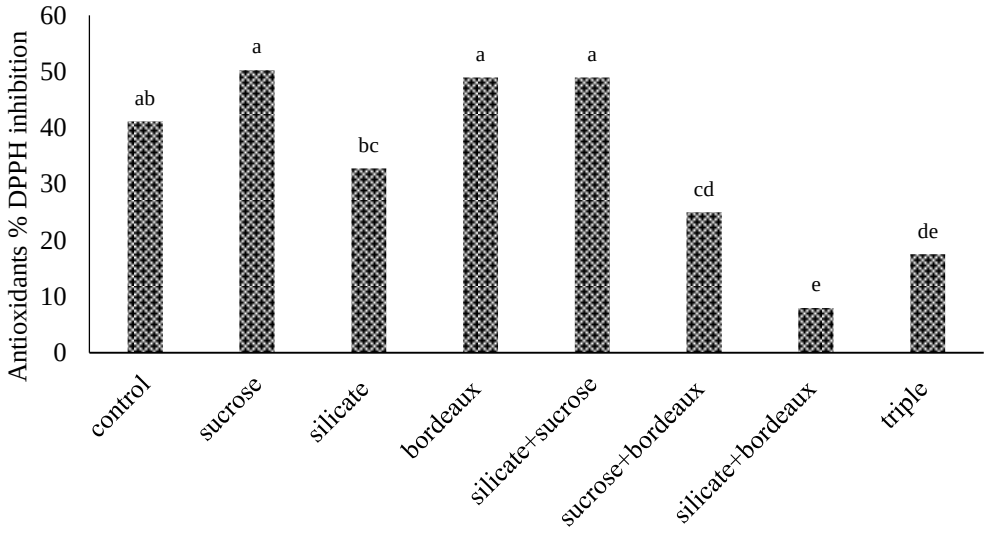

Figure 7. The effect of treatments on the antioxidants in broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

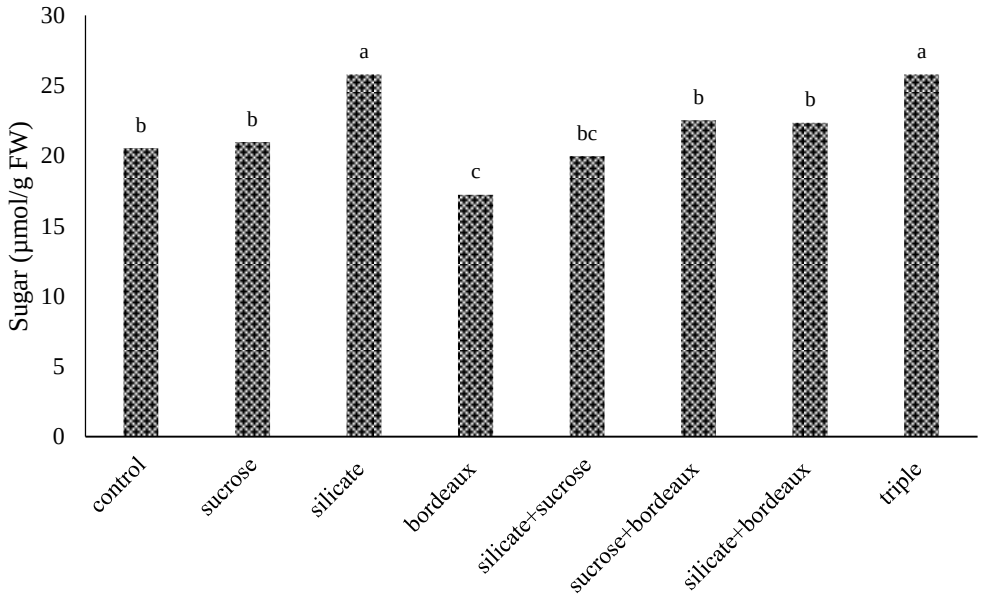

Figure 8. The effect of treatments on the sugar content of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

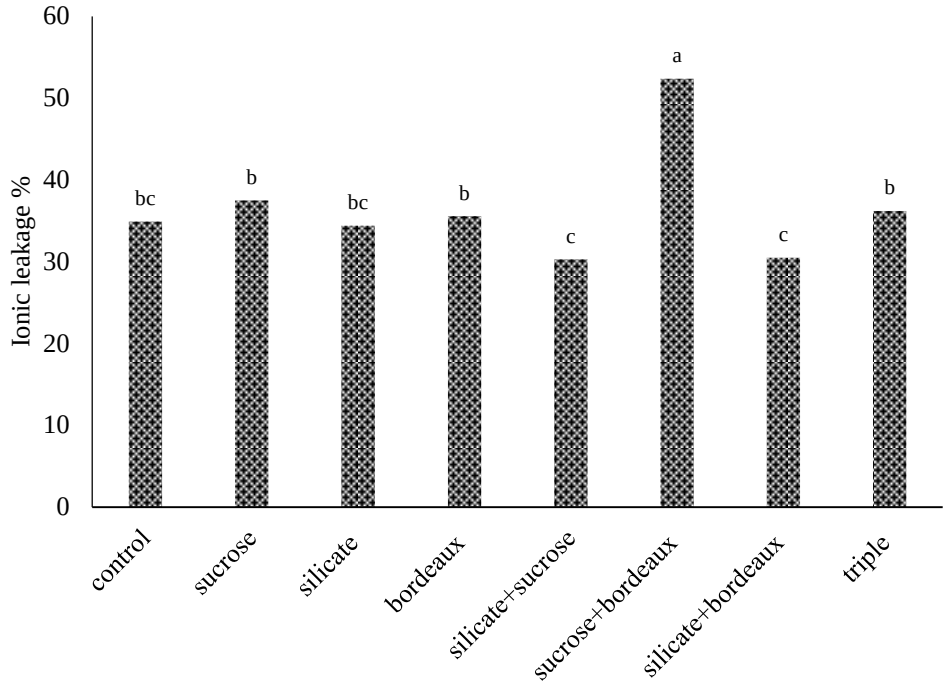

Figure 9. The effect of treatments on the amount of ionic leakage of broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

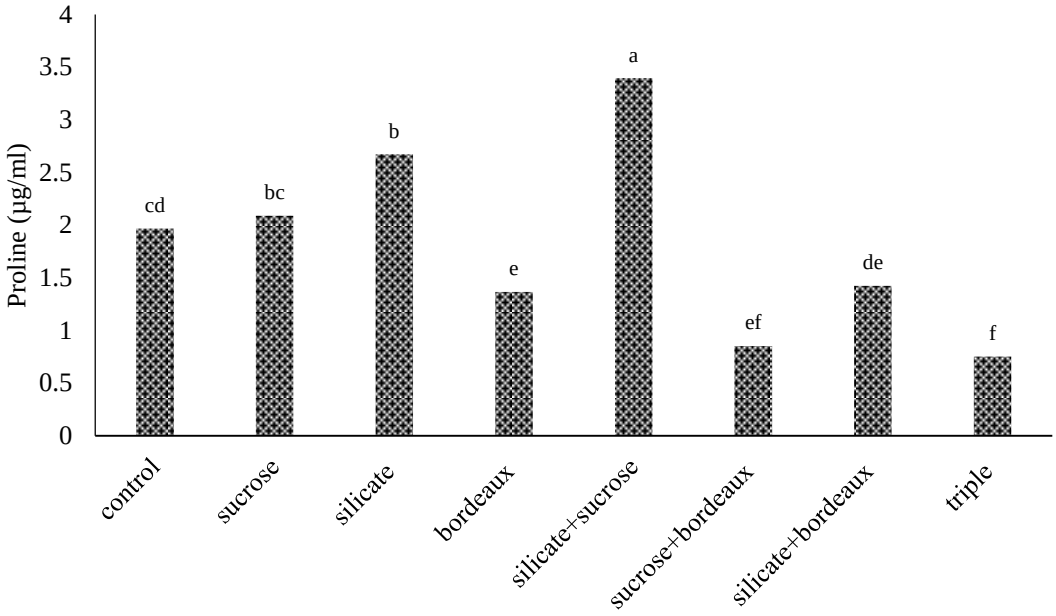

Figure 10. The effect of treatments on the amount of proline in broccoli after sudden cold stress (columns with the same letters are not significantly different)

نتیجه‌گیری

هرچند تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم دارای نرخ آسمیلاسیون CO_2 پایینی بود، ولی توانست از تولیدات کم فتوسنتزی خود به بهترین وجه استفاده نموده و با تجمع بیشترین میزان کارتنوئید و پرولین، سیستم دفاعی گیاه را بهبود بخشد. همچنین این تیمار با داشتن نشت یونی پایین و خاموشی غیرفتوشیمیایی کم نشان داد که توانسته است موجب تعدیل تنش سرمای ناگهانی در گیاه

کلم بروکلی گردد. تیمار مطلوب دیگر سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس بود که نرخ آسیمیلاسیون بالایی ایجاد نمود، همچنین نشت یونی و Y(NPQ) کمی داشت، لذا می‌توان گفت که گیاه در این تیمار تنش کمتری را دریافت نموده است. از آنجایی‌که در تیمار سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس وضعیت شاخص‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی و رنگیزه‌های فتوسنتزی بالا نبوده است، لذا مکانیسم تأثیر این تیمار در تعدیل تنش سرمای ناگهانی مرتبط با سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی گیاه نبوده و احتمالا به اثر مستقیم عناصر مس، سیلیسیم و پتاسیم برمی‌گردد. در نهایت می‌توان دو تیمار ساکارز+سیلیکات پتاسیم و سیلیکات پتاسیم+بردوفیکس را تیمارهای برتر این آزمایش معرفی نمود.

سپاس گزاری

نویسندگان مایلند تا بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کمال قدردانی و سپاس را داشته باشند.

References

Altuntas, C., Sezgin, A., Demiralay, M., Terzi, R., Saglam, A., & Kadioglu, A. (2019). Application of sucrose modulates the expressions of genes involved in proline and polyamine metabolism in maize seedlings exposed to drought. *Biology Plantarum*, 63: 247-252.

Araghi, H., Tehranifar, A., Abedi, B., & Shoor, M. (2014). Seasonal changes of electrolyte leakage, carbohydrate contents and Re-growth in four cultivars of grape vine (*Vitis vinifera* l.) cuttings, under freezing stress. *Plant Productions*, 37: 49-61.

Badawy, A.A.I. Roby, M.H.H. Mahdy, H.A.A., Abdou, N.M., El-Tahan, A.M., El-Saadony, M.T., El-Tarabily, K.A. & El-Saadony, F.M.A. (2022). Improvement of selected morphological, physiological, and biochemical parameters of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) grown under different salinity levels using potassium silicate and *Aloe saponaria* wxtract. *Plants*, 11(4): 497.

Bates, L.S., Waldern, R.P., & Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

Carter G.A. & Knapp A.K. (2001). Leaf optical properties in highest plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany*, 88(4): 677-684.

Ding, J., Jiao, X., Bai, P., Hu, Y., Zhang, J. & Li, J. (2022). Effect of vapor pressure deficit on the photosynthesis, growth, and nutrient absorption of tomato seedlings. *Scientia Horticulturae*, 293: 110736.

Dixon G.R. (2017). The origins of edible brassicas. *Plantsman*,16(3):180-185.

Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. & Eslami, B. (2010). Antihemolytic and antioxidant activities of *Allium paradoxum*. *Central European Journal of Biology*, 5: 338-345.

Gao X., Zou C., Wang L., & Zhang F. (2006). Silicon decreases transpiration rate and conductance from stomata of maize plants. *Journal Plant Nutrition*, 29: 1637-47.

Habibi, G. (2015). Effects of soil and foliar-applied silicon on the resistance of grapevine plants to freezing stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 59(2): 109-117.

Hegazi, A.M., & El-Shraiy, A.M. (2017). Stimulation of photosynthetic pigments, anthocyanin, antioxidant enzymes in salt stressed Red Cabbage plants by ascorbic acid and potassium silicate. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6(2)*:* 553-568.

Kalisz, A., Sekara, A., Grabowska, A., Cebula, S. & Kunicki, E. (2015). The Effect of Chilling Stress at Transplant Stage on Broccoli Development and Yield with Elements of Modeling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34, 532-544.

Karlidag H., Yildirim E. & Turan M. (2009). Salicylic acid ameliorates the adverse effect of salt stress on strawberry. *Journal Agriculture Science*, 66(2): 271-278.

Lagriffoul, A., Boudenne, J.L., Absi, R., Ballet, J.J., Berjeaud, J.M., Chevalier, S., Creppy, E.E., Gilli, E., Gadonna, J.P., Gadonna-Widehem, P. & Morris, C.E. (2010). Bacterial-based additives for the production of artificial snow: What are the risks to human health? *Science of the Total Environment*, 408(7): 1659-1666.

Lemoine, M.L., Chaves A.R. & Martínez, G.A. (2010). Influence of combined hot air and UV-C treatment on the antioxidant system of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*). *LWT-Food Science and Technology*, 43(9): 1313-1319.

Li, Y.H., Lee, K.K., Walsh, S., Smith, C., Hadingham, S., Sorefan, K., Cawley, G., & Michael W. (2006). Establishing glucose- and ABA-regulated transcription networks in Arabidopsis by microarray analysis and promoter classification using a Relevance Vector Machine. *Genome Research*, 16: 414-427.

Liang, Y., Nikolic, M., Belanger, R., Gong, H. & Song, A. (2015). Silicon in Agriculture, from Theory to Practice. Springer, pp. 1-325.

Lichtenthaler, H.K. & Buschmann, C. (2001). Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Unit F4.3.1-F4.3.8.

Ma. J.F. (2004). Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50:1, 11-18.

Siddiqui, M.H., Mukherjee, S., Al-Munqedhi, B.M.A. Kumar, R. & Kalaji, H.M. (2023). Salicylic acid and silicon impart resilience to lanthanum toxicity in *Brassica juncea* L. seedlings. *Plant Growth Regul*, 100: 453-466.

Tan, D.K.Y., Wearing, A.H., Joyce, D.C., Rickert, K.G. & Birch, C.J. (1999) Freeze-induced reduction of broccoli yield and quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39: 771-780.

McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V. & Owens, H.S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical chemistry*, 22.9: 1156-1158.

Rajabi, R., & Pourdad, S. (2011). A study on cold resistance in safflower varieties and lines by physiological and biochemical indices. *Plant Productions*, *33*(2), 1-14.

Sturm, Arnd. 1999. Invertases. Primary structures, functions, and roles in plant development and sucrose partitioning. *Plant physiology*, 121: 1-8.

Tan, D.K.Y., Joyce, D.C., Wearing, A.H., Rickert K.G. & Birch C.J. (1999). Freeze-induced reduction of broccoli yield and quality. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39: 771-780.

Uemura, M. & Steponkus, P.L. (2003). Modification of the intracellular sugar content alters the incident of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from Arabidopsis thaliana leaves. *Plant, Cell & Environnent*, 26: 1083-1096.

Wang, L., Yu, X., wang, H., Lu, Y.Z., de Ruiter, M., Prins, M. & He, Y.K. (2011). A novel class of heat-responsive small RNAs derived from the chloroplast genome of Chinese cabbage (*Brassica rapa*). *BMC genomics* 12: 1-15.

Xiong, Z.T. & Wang, H. (2005). Copper toxicity and bioaccumulation in Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr.). *Environ. Toxicol*, 20: 188-194.

Yoon, J., Cho, L.H., Tun, W., Jeon, J.S. & An, G. (2021). Sucrose signaling in higher plants. *Plant Science*, 302: 110703.

Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., & Hongbo, S. (2009). Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. *African Journal of Biotechnology*, 8 (10).

Yusuf, M., Almehrzi, A.S.S., Alnajjar, A.J.N., Alam, P., Elsayed, N., Khalil, R. & Hayat, S. (2021). Glucose modulates copper induced changes in photosynthesis, ion uptake, antioxidants and proline in Cucumis sativus plants. *Carbohydrate Research*, 501: 108271.