

تأثیر غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول بر کاهش اثرات تنش یخ‌زدگی در دو توده کوشیا (*Kochia scoparia*)

علی کمندی^۱، احمد نظامی^۲، محمد کافی^۲، جعفر نباتی^{۳*}

۱. دکتری زراعت از دانشگاه فردوسی مشهد؛ ۲. اعضاء هیئت‌علمی دانشکده کشاورزی و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.
۳. عضو هیات علمی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد.

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۶/۱۷

چکیده

کاربرد برخی از مواد شیمیایی مانند تریازول‌ها می‌تواند در تخفیف تنش‌های محیطی از جمله سرما مؤثر باشد. به همین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول (۰، ۱۰، ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) قبل از اعمال سرما در محیط ریشه روی گیاهچه‌های کوشیا تیمار شد و سپس گیاهان در شرایط کنترل‌شده در معرض دماهای یخ‌زدگی (۰، -۳، -۶، -۹، -۱۲، -۱۶ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. قبل از اعمال دماهای یخ‌زدگی قند محلول برگ، پرولین، فنل کل، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و مهار فعالیت رادیکال DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) اندازه‌گیری شد. پس از اعمال دماهای یخ‌زدگی پایداری غشاء سلولی از طریق اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها و درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el}) تعیین شد. درصد بقاء و رشد مجدد گیاهان نیز سه هفته پس از بازیابی گیاهان در شرایط طبیعی تعیین شد. نتایج نشان داد که با کاهش دما تا ۹- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت‌ها ثابت ماند و کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد موجب افزایش شدید نشت الکترولیت‌ها گردید. همچنین درصد بقاء نیز تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد تحت تأثیر قرار نگرفت ولی کاهش دما به ۱۲- درجه سانتی‌گراد موجب کاهش معنی‌دار آن گردید. کاربرد پاکلوبوترازول باعث افزایش میزان کلروفیل a و b، مهار فعالیت رادیکال DPPH و درصد بقاء شد ولی میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنل کل و میزان نشت الکترولیت‌ها را کاهش داد. برهمکنش دما و توده بر مجموع رنگ‌دانه‌ها حاکی از افزایش آن‌ها در توده بروجرد در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بود و میزان پرولین و کربوهیدرات‌ها در توده سبزواری و عدم کاربرد پاکلوبوترازول به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. در مجموع کاربرد غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول در شرایط یخ‌زدگی از کاهش شدید درصد بقاء ممانعت کرد.

واژه‌های کلیدی: تریازول‌ها، درصد بقاء، کوشیا، نشت الکترولیت‌ها.

مقدمه

با آن می‌باشند به کمتر از صفر درجه سلسیوس می‌رسد و کریستال‌های نازک یخ روی آن‌ها تشکیل می‌شود (Levitt, 1980). در کشاورزی، یخبندان به وقوع دماهای پایین در حدی که منجر به خسارت به بافت‌های گیاهی شود، اطلاق می‌گردد و این نوع یخبندان با توجه به دماهای بحرانی مختلف برای محصولات زراعی گوناگون، متفاوت است (Levitt, 1980).

یکی از مهم‌ترین عوامل مدیریت در تولید محصولات زراعی، تاریخ کاشت مناسب می‌باشد. در گیاهانی که نسبت

یکی از پارامترهای اقلیمی که در کشاورزی و محیط‌زیست از اهمیت زیادی برخوردار است دمای هوا است. قابلیت رشد و نمو محصولات زراعی در دماهای مختلف هوا متفاوت است و دماهای پایین‌تر از حد آستانه، منجر به یخ‌زدگی و توقف رشد گیاه می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که مهم‌ترین عامل محدودکننده بقاء گیاه در زمستان، در اغلب نواحی، درجه حرارت‌های پایین و پدیده یخبندان است (McKersia and Leshem, 1994). یخبندان به شرایطی اطلاق می‌شود که دمای سطح زمین و اشیائی که در ارتباط

میان آن‌ها تریازول‌ها کاربرد وسیعی دارند (Fletcher et al., 2000). این ترکیبات موجب جلوگیری از فعالیت کائورن اکسیداز می‌شوند، که در مسیر سنتز جیبرلین موجب تبدیل انت کائورن به کائورونیک اسید می‌شود. ترکیبات تریازول با کاهش بیوسنتز جیبرلین فاصله میان گره و سطح برگ را کاهش می‌دهند (Kishorekumar et al., 2007). گزارش مشابهی نیز در مورد کاهش ارتفاع بوته در جو (Vettakkorumakav et al., 1999) و برنج (Xim et al., 1996) در کاربرد پاکلوبوترازول وجود دارد.

گیاه کوشیا (*Kochia scoparia* L. Schrad) گیاهی یک‌ساله و از خانواده سلمه است، که تحمل خوبی به خشکی و شوری دارد. این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک گیاه علوفه‌ای با ارزش باشد که در ضمن با آب‌شور نیز رشد کند (Danesh Mesgaran and Stern, 2005; Riasi et al., 2008). ریاسی و همکاران (Riasi et al., 2008) کیفیت علوفه و قابلیت هضم گیاه کوشیا را در مقایسه با سایر گیاهان هالوفیت مناسب گزارش کردند. استفان و وال (Steppuhn and Wall, 1993) عملکرد علوفه کوشیا را قابل‌مقایسه با یونجه گزارش کردند، درحالی‌که این گیاه قابلیت رشد در خاک شور را دارد.

باوجود مزایای کاشت پاییزه تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تحمل به سرما و یخ‌زدگی کوشیا جهت کشت این گیاه در سرمای پاییز و زمستان انجام نگرفته است. این مطالعه باهدف بررسی میزان تحمل به یخ‌زدگی کوشیا و افزایش میزان مقاومت آن با استفاده از پاکلوبوترازول انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۸ به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با سه تکرار اجرا شد. در این آزمایش از دو توده بیرجند و بروجرد استفاده گردید. کشت بذرها در این دو توده در ابتدای مهرماه در گلدان‌های حاوی خاک زراعی، خاک‌برگ و ماسه (به نسبت مساوی) انجام شد و به‌منظور ایجاد خوسرمایی گیاهان در محیط طبیعی رشد یافتند. یک ماه پس از کاشت تنک کردن بوته‌ها انجام گردید و تعداد شش بوته در هر گلدان نگهداری شد. چهار ماه پس از کاشت غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول (۰، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر) در محیط ریشه در خاک به‌صورت ۵۰

به دما و نور حساس بوده و طول فصل رشد آن‌ها توسط عوامل محیطی نظیر گرما یا سرما محدود می‌شود، انتخاب تاریخ کاشت مناسب به‌منظور دست یافتن به حداکثر عملکرد امری ضروری می‌باشد (Singh and Dixit, 1992). کاشت بهاره گیاهانی که فصل رشد طولانی دارند موجب افزایش مصرف آب شده و خسارت ناشی از گرمای فصل تابستان و احتمال خسارت ناشی از سرمای زودرس پاییزه را نیز افزایش خواهد داد. کشت پاییزه گیاهانی که مقاومت مناسبی نسبت به تنش سرما و یخ‌زدگی دارند، علاوه بر بهینه کردن راندمان مصرف آب و افزایش طول فصل رشد گیاه، خطر کاهش عملکرد ناشی از گرمای تابستان را نیز کاهش خواهد داد (Singh and Dixit, 1992).

حساسیت و تحمل گیاهان به سرما بستگی به نوع گیاه، رقم، مورفولوژی بافت و سایر خصوصیات سلولی و همچنین شرایط وقوع سرما از نظر مدت، زمان، شدت و وضعیت توپوگرافی دارد. علاوه بر این به نظر می‌رسد که اندام‌های مختلف گیاه نیز از نظر تحمل به سرما درجات متفاوتی داشته باشند (Waner and Junttila, 1999). افزایش نشت الکترولیت‌ها و کاهش آماس سلولی از بافت‌های گیاهی به دلیل بروز تنش یخ‌زدگی، نشان‌دهنده‌ی نقش غشاء سلولی در حفاظت گیاه از خسارت تنش سرما می‌باشد (Mckersie and Leshem, 1994). در اثر سرما تغییر حالت غشاء از فاز مایع به ژل صورت می‌گیرد که با این تغییر فیزیکی، فعالیت غشاء مختل می‌گردد (Baek and Skinner, 2003). غشای پلاسمایی اولین مکانی است که در معرض تنش یخ‌زدگی دچار خسارت می‌شود و در طی تطابق گیاه به سرما، تغییرات ساختاری، کارکردی و ترکیبی در آن روی می‌دهد (Uemura et al., 2006). تداوم پایداری غشاء پلاسمای، دلیل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخ‌زدگی است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت و حتی مرگ آن خواهد شد (Steponkus et al., 1993). تغییر در ترکیب اسیدهای چرب، ساختار غشا، فعالیت متابولیکی، ترکیب کربوهیدرات‌ها، مقادیر پروتئین، فعالیت آنزیمی، نشت الکترولیت‌های بین سلولی و آمینواسیدها از جمله تغییرات متابولیکی تحت تأثیر تنش یخ‌زدگی می‌باشد (Gusta et al., 1982).

به‌منظور تخفیف تنش‌های محیطی از جمله سرما، استفاده از برخی مواد شیمیایی توصیه شده است که در

بقاء درصد گیاهان از طریق شمارش تعداد بوته‌های زنده در هر گلدان و از طریق معادله دو محاسبه شد.

معادله [۲]

$$100 \times \frac{\text{تعداد گیاهان زنده سه هفته پس از تیمار یخ‌زدگی}}{\text{تعداد گیاهان قبل از تیمار یخ‌زدگی}} = \text{درصد بقاء}$$

قند محلول برگ با استفاده از روش فنل سولفوریک اسید (Dubois et al., 1956) و استاندارد گلوکز در میزان جذب ۴۸۰ نانومتر تعیین شد.

میزان پرولین در بافت برگ بر اساس روش بتس و همکاران (Bates et al., 1973) در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فنل کل با استفاده از روش معرف فولین شیکالتو در جذب ۷۶۵ نانومتر و با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین شد (Singleton and Rossi, 1965). اندازه‌گیری کلروفیل a, b و کاروتنوئیدها از روش دیر و همکاران (Dere et al., 1998) و با استفاده از متانول ۹۹ درصد انجام شد.

برای اندازه‌گیری ظرفیت تخریب رادیکال‌های فعال از روش آبه (Abe et al., 1998) با استفاده از DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) در طول موج ۵۱۷ نانومتر و استاندارد آسکوربیک اسید استفاده شد.

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام گردید، جهت رسم نمودارها و تعیین LT50 از نرم‌افزار Slide Write استفاده شد و مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

بین دو توده مورد مطالعه از نظر غلظت کلروفیل a اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). توده بروجرد در مقایسه با توده سبزواری ۱۳/۴ درصد کلروفیل a بیشتری داشت (جدول ۲). با افزایش غلظت پاکلوبوترازول غلظت کلروفیل a افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۳). بطوریکه میزان افزایش غلظت کلروفیل a در غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول نسبت به تیمار شاهد (بدون پاکلوبوترازول) به ترتیب ۱/۲ و ۱۷ درصد بود (جدول ۳). برهمکنش توده و غلظت پاکلوبوترازول بر کلروفیل a نشان داد که در توده سبزواری با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول غلظت کلروفیل a افزایش یافت، اما در توده بروجرد با وجود بالاتر بودن غلظت کلروفیل a در بیشترین

میلی‌لیتر محلول اعمال گردید. پس از گذشت ۴۸ ساعت از اعمال تیمارهای پاکلوبوترازول از گیاهچه‌ها نمونه‌برداری جهت مطالعات بیوشیمیایی انجام شد. سپس گیاهچه‌ها به فریزر ترموگرادیان بدون نور منتقل و در معرض دماهای یخ‌زدگی صفر، ۳-، ۶-، ۹-، ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. دمای فریزر در شروع آزمایش پنج درجه سانتی‌گراد بوده و پس از قرار دادن نمونه‌ها با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. این وضعیت شرایط را برای توزیع مجدد آب به بافت‌های گیاهی و جلوگیری از تشکیل یخ در داخل سلول‌ها که در طبیعت به ندرت اتفاق می‌افتد، فراهم می‌کند (Murray et al., 1988). به منظور ایجاد هستک یخ در گیاهچه‌ها، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد محلول INAB^۱ روی گیاهان پاشیده شد و پس از آن دما با سرعت دو درجه سانتی‌گراد در ساعت کاهش یافت. به منظور ایجاد تعادل در دمای محیط، گیاهان در دمای مورد نظر به مدت یک ساعت نگه داشته شده و سپس گلدان‌ها به اتاقک سرد با دمای ۵±۲ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. در مرحله‌ی بعد جوان‌ترین برگ توسعه‌یافته از هر بوته جدا شده و در ویال‌های حاوی ۴۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی هر نمونه با استفاده از دستگاه EC متر (مدل - Jenway) اندازه‌گیری شد (E1). به منظور اندازه‌گیری میزان کل نشت الکترولیت‌ها در اثر مرگ سلول، لوله‌های آزمایش در دستگاه بن ماری با دمای ۷۵ درجه به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شدند و مجدداً پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی نمونه‌ها ثبت گردید (E2). سپس درصد نشت الکترولیت‌ها با استفاده از معادله یک محاسبه شد.

$$[1] \quad 100 \times (E1/E2) = \text{درصد نشت الکترولیت}$$

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها (LT_{50el})^۲ با استفاده از رسم نمودار درصد نشت الکترولیت‌های هر تیمار در مقابل دمای یخ‌زدگی تعیین گردید (Chen et al., 1983). سایر گیاهان موجود در گلدان‌ها به محیط آزاد منتقل شده و پس از سه هفته درصد بقاء و بازیافت گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت.

1. Ice Nucleation Active Bacteria
2. Lethal Temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage (LT_{50el})

مقدار کاربرد پاکلوبوترازول این پارامتر در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کمترین مقدار را داشت (شکل ۱). بررسی میزان کلروفیل b نشان داد، علی‌رغم برتری توده بروجرد در مقایسه با توده سبزواری این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان کلروفیل b با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول بیشتر شد (جدول ۳)، بطوریکه میزان افزایش کلروفیل b در ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کاربرد پاکلوبوترازول نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ۲/۸ و ۱۶ درصد بیشتر بود (جدول ۳). برهمکنش توده و غلظت پاکلوبوترازول در کلروفیل b مشابه کلروفیل a بود و با افزایش غلظت پاکلوبوترازول میزان کلروفیل b در توده سبزواری افزایش پیدا کرد، اما در توده بروجرد علی‌رغم بالاتر بودن میزان کلروفیل b در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کاربرد پاکلوبوترازول کمترین میزان کلروفیل b در تیمار کاربرد ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۱. میانگین مربعات اثر توده و غلظت پاکلوبوترازول بر مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل b/a، کاروتنوئیدها، مجموع رنگ‌دانه‌ها، پرولین، DPPH، کربوهیدرات‌های محلول و فنل کل قبل از تنش یخ‌زدگی در کوشیا.

Table 1. Mean square of the effect of ecotypes and concentration of paclbutrazol on content of chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b, carotenoids, total pigments, proline, DPPH, total soluble carbohydrates and phenol before freezing stress in Kochia.

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کلروفیل a Ch a	کلروفیل b Ch b	کلروفیل a/b Ch a/b	کاروتنوئیدها carotenoids	مجموع رنگ‌دانه‌ها pigments	پرولین proline	DPPH	کربوهیدرات carbohydrate	فنل phenol
Ecotype	توده	1	0.014**	0.310	0.036°	0.245	0.038	0.029	0.032°	0.129	0.206
Concentration	غلظت	2	0.017°	0.052°	0.154	0.165	0.044	0.008**	0.067	0.001**	0.001**
ecotype×concentration	توده×غلظت	2	0.030°	0.270	0.079	0.013**	0.021°	0.006**	0.072	0.030°	0.091
Error	خطا	12									
ضریب تغییرات (%)			10.7	11.5	7.67	10.1	8.63	16.8	10.2	6.51	3.44
Coefficient of variation											

به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ درصد. **، *، °

** and * Significant difference at the 0.01 and Significant difference at the 0.05

جدول ۲. مقدار کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل b/a، کاروتنوئیدها، مجموع رنگ‌دانه‌ها، پرولین، DPPH، کربوهیدرات‌های محلول و فنل قبل از تنش یخ‌زدگی در توده‌های سبزواری و بروجرد کوشیا.

Table 2. Amount of chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b, carotenoids, total pigments, proline, DPPH, total soluble carbohydrates and phenol before freezing stress in Sabzevar and Boroujerd ecotypes of kochia.

ecotype	کلروفیل a Ch a	کلروفیل b Ch b	کلروفیل a/b Ch a/b	کاروتنوئیدها carotenoids	مجموع رنگ‌دانه‌ها Total pigments	پرولین proline	DPPH	کربوهیدرات carbohydrate	فنل phenol
سبزواری Sabzevar	0.239b	0.143a	1.70b	0.092a	0.474b	0.157a	0.853a	9.23a	1.22a
بروجرد Boroujerd	0.276a	0.151a	1.86a	0.094a	0.521a	0.129b	0.759b	9.29a	1.22a

Similar letters in the 0.05 are not significant

حروف مشابه در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نمی‌باشند

اینکه بیشترین غلظت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کاربرد پاکلوبوترازول به دست آمد، اما کمترین میزان رنگ‌دانه‌ها در این توده در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کاربرد پاکلوبوترازول مشاهده شد (شکل ۱).

رنگ‌پریدگی و سوختگی برگ‌ها اولین مشخصه ظاهری تنش است که منجر به پیری گیاه می‌شود و این موضوع با کاهش غلظت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی مرتبط می‌باشد (Fletcher and Hofstra, 1988). برووا و همکاران (Berova et al., 2002) با بررسی اثر سرما بر گیاهچه‌های گندم گزارش کردند که تنش موجب کاهش غلظت رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی می‌شود. کاربرد پاکلوبوترازول چون باعث افزایش سیتوکینین در گیاه می‌شود سنتز کلروفیل را افزایش می‌دهد (Fletcher et al., 2000).

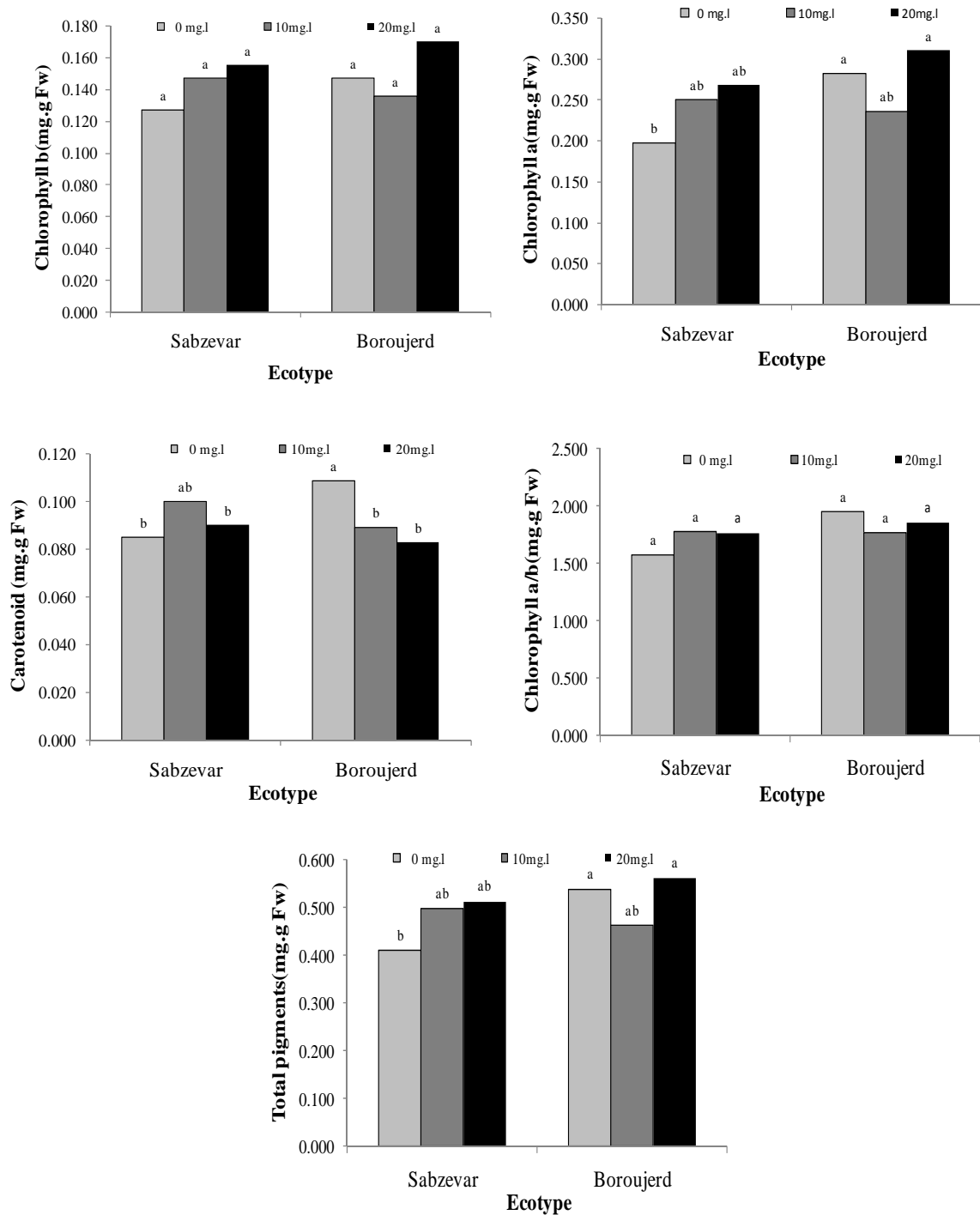
در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول میزان کلروفیل a و b و در نهایت مجموع رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی افزایش پیدا کرد (جدول ۳). نتایج مشابهی در گندم (Berova et al., 2002) و ذرت (Pinhero and Fletcher, 1994) با کاربرد پاکلوبوترازول در شرایط تنش سرما گزارش شده است. در این آزمایش نسبت کلروفیل a به b با افزایش غلظت پاکلوبوترازول افزایش پیدا کرد که نشان‌دهنده تأثیر بیشتر پاکلوبوترازول بر افزایش کلروفیل a نسبت به کلروفیل b می‌باشد (جدول ۳).

میزان کاروتنوئیدها در این مطالعه با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول کاهش نشان داد (جدول ۳). کاهش میزان کاروتنوئیدها احتمالاً به دلیل تأثیر پاکلوبوترازول در به تأخیر انداختن پیری و نقش این ماده در حفظ غشاء از تخریب در اثر سرما می‌باشد (Jin et al., 2003). کاهش میزان کاروتنوئیدها با کاربرد پاکلوبوترازول در گیاهچه‌های گندم تحت تنش سرما (Berova et al., 2002) و همچنین گیاهچه‌های گندم تحت تأثیر تنش غرقابی (Webb and Fletcher, 1996). گزارش شده است که با نتایج این مطالعه مشابه می‌باشد.

مطالعه نسبت کلروفیل a به b در کوشیا نشان داد که به‌طور متوسط میزان کلروفیل a حدود ۱/۸ برابر از کلروفیل b بیشتر است ضمن اینکه نسبت کلروفیل a به b در توده بروجد حدود ۸/۲ درصد بیشتر از توده سبزوار بود (جدول ۲). علی‌رغم کاهش نسبت کلروفیل a به b با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول، این اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۳). برهمکنش توده و غلظت پاکلوبوترازول حاکی از این بود که در توده سبزوار با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول نسبت کلروفیل a به b افزایش پیدا کرد، اما این خصوصیت در توده بروجد روند مشخصی نداشت و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد با این‌وجود، اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود (شکل ۱).

از نظر غلظت کاروتنوئیدها بین توده سبزوار و بروجد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). همچنین بین غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول نیز اختلاف معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد، با این وجود با افزایش غلظت پاکلوبوترازول میزان کاروتنوئیدها کاهش یافت (جدول ۳). برهمکنش توده‌ها و غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود (شکل ۲). در توده سبزوار بیشترین میزان کاروتنوئیدها در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول مشاهده شد، اما در توده بروجد بیشترین مقدار در تیمار بدون کاربرد پاکلوبوترازول به دست آمد که با تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۲).

مجموع رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی توده بروجد ۹ درصد بیشتر از توده سبزوار بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار شد (جدول ۲). با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول مجموع رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی افزایش یافت بطوریکه میزان افزایش مجموع رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کاربرد پاکلوبوترازول نسبت به تیمار شاهد به ترتیب یک و ۱۱/۹ درصد بیشتر بود (جدول ۳). برهمکنش توده و کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول از نظر مجموع رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی نشان داد که در توده سبزوار با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول این ویژگی افزایش می‌یابد، اما در توده بروجد با وجود



شکل ۱. برهمکنش توده‌ها و کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی قبل از تنش یخ‌زدگی کوشیا.

Fig 1. Interaction between ecotypes and concentrations of paclobutrazol on photosynthetic pigments in kochia before freezing stress.

کاهش محتوای آب گیاه، تنش خشکی و در هنگام تولید یخ در بافت‌های گیاه در دماهای زیر صفر که تنش خشکی تشدید می‌شود، افزایش می‌یابد (Seppanen, 2000). در این مطالعه مشاهده شد که با افزایش میزان کاربرد پاکلوبوترازول، غلظت پرولین کاهش یافت (جدول ۳). از سوی دیگر و از آنجایی که پاکلوبوترازول سبب تخفیف اثرات تنش سرما می‌شود (Fletcher et al., 2000) و با توجه به اینکه پرولین در شرایطی که گیاه با تنش مواجه شود سنتز می‌شود، احتمالاً افزایش غلظت پاکلوبوترازول موجب تخفیف اثرات تنش یخ‌زدگی شده و گیاهچه‌های تیمار شده با این ترکیب نیاز کمتری به تولید پرولین داشته‌اند. همچنین همبستگی منفی بین پرولین و کاروتنوئیدها، DPPH و فنل کل نشان داد که با افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی میزان پرولین کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده‌ی نیاز کمتر گیاه به پرولین با افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در نتیجه کاربرد پاکلوبوترازول می‌باشد (جدول ۴). نتایج مشابهی در ارتباط با کاهش سنتز پرولین در گوجه‌فرنگی با کاربرد پاکلوبوترازول در شرایط تنش سرما گزارش شده است (Jafari et al. 2006).

میزان پرولین برگ در توده سبزواری ۱۷/۸ درصد بیشتر از توده بروجرد بود (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان پرولین برگ به ترتیب در تیمار شاهد و غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول به دست آمد (جدول ۳). برهمکنش توده‌ها و غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول نشان داد که در توده سبزواری با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول میزان پرولین برگ کاهش یافت، ولی در توده بروجرد با وجود اینکه کمترین میزان پرولین برگ در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول به دست آمد، بیشترین مقدار پرولین در تیمار ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول مشاهده شد (شکل ۲).

تجمع برخی از اسیدهای آمینه مانند پرولین در گیاهانی که تحت تأثیر دمای پایین در پاییز قرار می‌گیرند یک رخداد طبیعی فیزیولوژیکی در متابولیسم ذخیره نیتروژن می‌باشد (Mansouri Dehshoabi et al., 2011). پرولین از جمله ترکیبات آلی با وزن مولکولی کم است که به‌عنوان محافظ اسمزی از پروتئین‌های سلولی در شرایط تنش تولید می‌شود (Serraj and Sinclair 2002). مقدار سنتز این ترکیب در شرایط تنش سرما همراه با

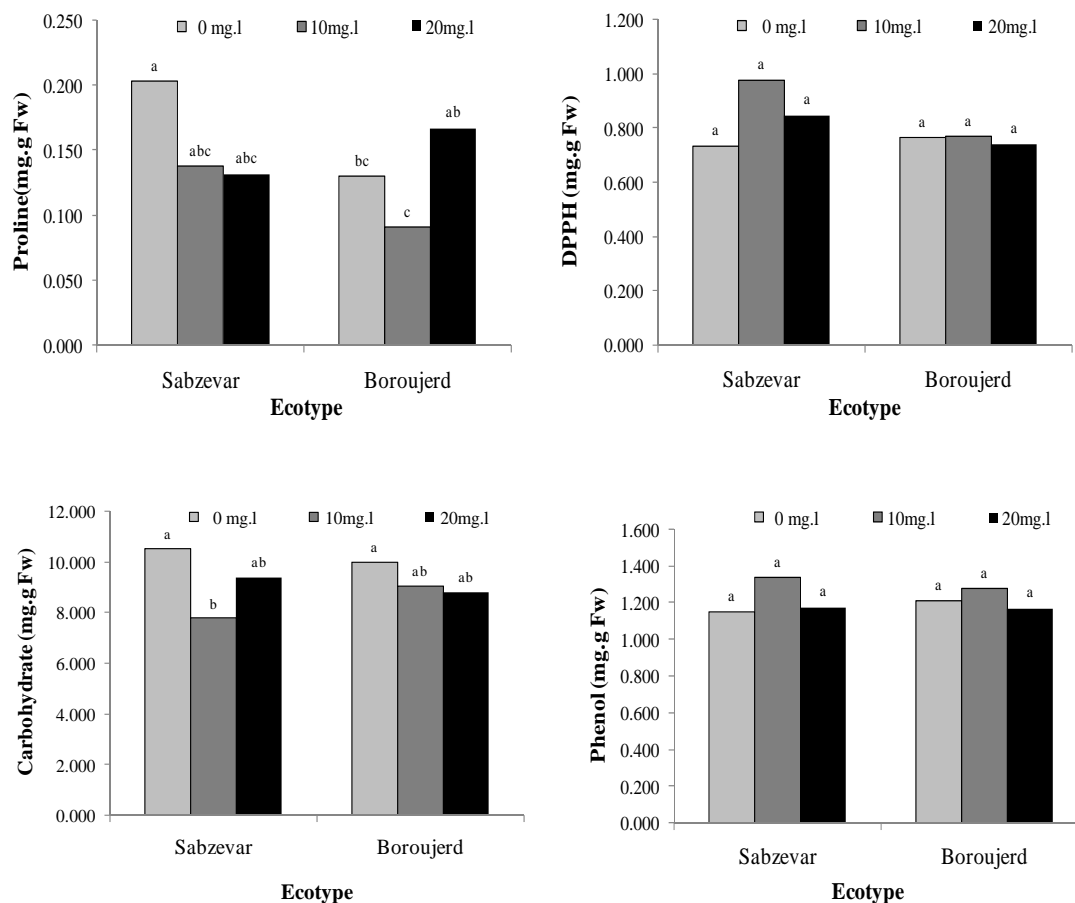
جدول ۳. اثر کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول بر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل a/b، کاروتنوئیدها، مجموع رنگ‌دانه‌ها، پرولین، DPPH، کربوهیدرات‌های محلول و فنل کل در گیاه کوشیا قبل از تنش یخ‌زدگی.

Table 3. Effect of different concentrations of paclobutrazol on chlorophyll a, chlorophyll b, chlorophyll a/b, carotenoids, total pigments, proline, DPPH, total soluble carbohydrates and phenol, before freezing stress in kochia.

غلظت (میلی‌گرم در لیتر) Concentrations (mg.l)	کلروفیل a Ch a	کلروفیل b Ch b	کلروفیل a/b Ch a/b	کارتنوئیدها carbohydrate	مجموع رنگ‌دانه‌ها Tota pigments	پرولین proline	DPPH	کربوهیدرات carotenoid	فنل phenol
0	0.240b	0.137c	1.76a	0.097a	0.474b	0.166a	0.749a	10.25a	1.18b
10	0.243b	0.141b	1.77a	0.095a	0.479b	0.114b	0.872a	8.42b	1.31a
20	0.289a	0.163a	1.81a	0.086a	0.538a	0.150b	0.796a	9.11b	1.18b

حروف مشابه در هر ستون بر اساس آزمون LSD در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نمی‌باشند.

Similar letters in each column are not significant, based on LSD test at 0.05.



شکل ۲. اثر متقابل غلظت‌های پاکلوبوترازول و توده کوشیا بر مقدار پرولین، مهار فعالیت رادیکال DPPH، فنل کل و کربوهیدرات‌های محلول.

Fig 2. Interaction between kochia ecotypes and concentrations of paclobutrazol on proline, radical scavenging activity DPPH, total phenol and soluble carbohydrates.

(Upadhyaya et al., 1989; Senaratna et al., 1988). با این وجود در مطالعه حاضر افزایش مهار فعالیت رادیکال DPPH تحت تأثیر معنی‌دار افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول قرار نگرفت.

بررسی غلظت کربوهیدرات‌های محلول در توده‌ها حاکی از عدم اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها بود (جدول ۲). بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در تیمار بدون کاربرد پاکلوبوترازول مشاهده شد و مصرف پاکلوبوترازول موجب کاهش این صفت نسبت به شاهد شد (جدول ۳). برهمکنش توده و کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول نشان داد که بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در هر دو توده

مهار فعالیت رادیکال DPPH در توده سبزوار ۱۱ درصد بیشتر از توده بروجرد بود (جدول ۲). بین غلظت‌های پاکلوبوترازول و هم‌چنین برهمکنش توده‌ها و غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول از نظر مهار فعالیت رادیکال DPPH اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱).

بخشی از اثرات بیوشیمیایی تریازول‌ها شامل سمیت زدایی اکسیژن فعال (Kraus and Fletcher, 1994) و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها (Senaratna et al., 1988) می‌باشد. گزارشات دیگر هم نشان می‌دهند که افزایش تحمل به یخ‌زدگی در خیار و گوجه‌فرنگی تیمار شده با تریازول در ارتباط با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانتی است

کوشیا در تیمار بدون کاربرد پاکلوبوترازول به دست آمد (شکل ۲). غلظت فنل کل در دو توده سبزوار و بروجرد کوشیا اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۲). بین غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول، غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین میزان فنل را داشت و بین دو سطح دیگر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). برهمکنش توده و کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول معنی‌دار نبود، با این وجود در هر دو توده غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول بیشترین میزان فنل را تولید کرد (شکل ۲).

جدول ۴. ضرایب همبستگی صفات اندازه‌گیری شده کوشیا تحت تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول در دماهای مختلف یخ‌زدگی

Table 4. Correlation coefficients of kochia traits under application of different concentrations of paclobutrazol in freezing temperatures.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	کلروفیل a Ch a	1	0.90**	0.07	0.54*	0.98**	-0.25	0.08	-0.22	-0.26	-0.40	0.28
2	کلروفیل b Ch b		1	-0.15	0.13	0.90**	-0.08	0.19	-0.19	-0.27	-0.50*	-0.24
3	کلروفیل b/a Ch a/b			1	0.48*	0.19	-0.40	0.24	0.01	0.30	0.12	-0.15
4	کارتونوئیدها carbohydrates				1	0.50*	-0.46	-0.04	-0.28	0.01	0.11	-0.31
5	مجموع رنگ‌دانه‌ها pigments					1	-0.28	0.16	-0.21	-0.20	-0.41	-0.30
6	پروлін proline						1	-0.25	0.32	-0.38	-0.32	0.45*
7	DPPH							1	-0.42	0.42	-0.02	-0.34
8	کربوهیدرات‌ها carotenoids								1	0.62*	-0.20	0.36
9	فنل کل phenol									1	0.47*	-0.23
10	LT _{50Le}										1	-0.28
11	LT _{50Su}											1

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد

***and * Significant difference at the 0.01 and Significant difference at the 0.05

دارد. ساکارز می‌تواند جایگزین آب در غشاء میانی فسفولیپیدها در فاز مایع کریستال شود و از تغییرات ساختمانی در پروتئین‌های محلول جلوگیری کند. کاهش سنتز ساکارز (به‌عنوان شاخص کاهش قند) می‌تواند یک محرک برای غیرفعال شدن باشد (Vagu et al., 1999). گلوکز در تلاقی با پروتئین توسط یک واکنش گلیکوزیدی پیچیده بین آمین و گروه‌های کربونیل می‌تواند عمل کند.

تنش‌های محیطی واکنش‌های پیچیده‌ای در سلول‌های گیاهان ایجاد می‌کنند. تغییرات جزئی در مقدار برخی ترکیبات محلولی مانند آمینواسیدها، پلی‌آمین‌ها، کربوهیدرات‌ها و غیره در مکانیسم‌های تحمل به تنش مؤثر می‌باشند (Vagu et al., 1999). تغییر در محتوای کربوهیدرات‌ها بسیار مهم می‌باشد زیرا رابطه مستقیمی با فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، انتقال و تنفس

پاکلوبوترازول نتوانسته از این فرآیند جلوگیری کند و کاهش دما موجب تأثیر بیشتری در کاهش پایداری غشاء داشته است.

برهمکنش توده و غلظت پاکلوبوترازول نشان داد که میزان نشت الکترولیت‌ها در توده بروجرد بیشتر تحت تأثیر کاربرد غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول قرار گرفت. در توده سبزوار بیشترین غلظت کاربرد پاکلوبوترازول نسبت به تیمار عدم کاربرد آن میزان نشت الکترولیت‌ها را چهار درصد افزایش داد، اما این میزان در توده بروجرد ۱۳ درصد بود (جدول ۵).

برهمکنش توده و دماهای یخ‌زدگی بر نشت الکترولیت‌ها نشان داد که در هر دو توده با کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها روند افزایشی دارد، اما شیب افزایش نشت در توده سبزوار تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد آهسته‌تر از توده بروجرد بود. با وجود این در دماهای ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیت‌ها در هر دو توده مشابه بود (شکل ۴). بررسی اثر کاربرد پاکلوبوترازول و دماهای یخ‌زدگی بر نشت الکترولیت‌ها نشان داد که هرچند با افزایش غلظت پاکلوبوترازول و کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها روند افزایشی داشته است (شکل ۴)، ولی درجه حرارت کشنده ۵۰ درصد گیاهان تحت تأثیر توده‌های کوشیا و غلظت‌های مختلف کاربرد پاکلوبوترازول قرار نگرفت (جدول ۶).

وظیفه دیگر ذخیره کربوهیدرات‌ها، فروکتان‌ها، هدایت‌کننده‌های ساکارز و الیگوساکاریدها، فرآیند متابولیسمی القای تنش می‌باشد (Vagu et al., 1999). در این مطالعه افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول نتوانست افزایشی در غلظت کربوهیدرات‌های محلول در برگ کوشیا ایجاد کند.

درصد نشت الکترولیت‌ها در توده بروجرد هفت درصد بیشتر از توده سبزوار بود (جدول ۵). با افزایش کاربرد غلظت پاکلوبوترازول میزان نشت الکترولیت‌ها افزایش معنی‌داری پیدا کرد، بطوریکه افزایش غلظت پاکلوبوترازول از صفر به ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب سبب افزایش چهار و نه درصدی میزان نشت الکترولیت‌ها شد (جدول ۵). همچنین با کاهش دما میزان نشت الکترولیت‌ها روندی صعودی داشت، به طوری که میزان نشت در دمای ۱۶- درجه نسبت به صفر درجه سانتی‌گراد ۲۹ درصد افزایش یافت (شکل ۳). با وجود گزارش‌هایی در ارتباط با کاهش نشت الکترولیت‌ها در اثر کاربرد پاکلوبوترازول (Kraus et al., 1995)، علی و لطیف (Aly and Latif, 2011) گزارش کردند نشت الکترولیت‌ها در گندم تحت تنش خشکی با افزایش غلظت پاکلوبوترازول افزایش پیدا کرد. با توجه به اینکه یکی از اثرات تنش‌های محیطی افزایش فعالیت رادیکال‌های آزاد است که موجب تخریب و پروکسیداسیون لیپیدها می‌گردد که در نهایت افزایش نشت الکترولیت‌ها را به دنبال دارد در این آزمایش احتمالاً کاربرد

جدول ۵. اثر کاربرد غلظت‌های پاکلوبوترازول در دو توده سبزوار و بروجرد کوشیا بر درصد نشت الکترولیت‌ها.

Table 5. Effect of paclobutrazol concentrations on percentage of electrolyte leakage in Sabzevar and Boroujerd ecotypes of kochia.

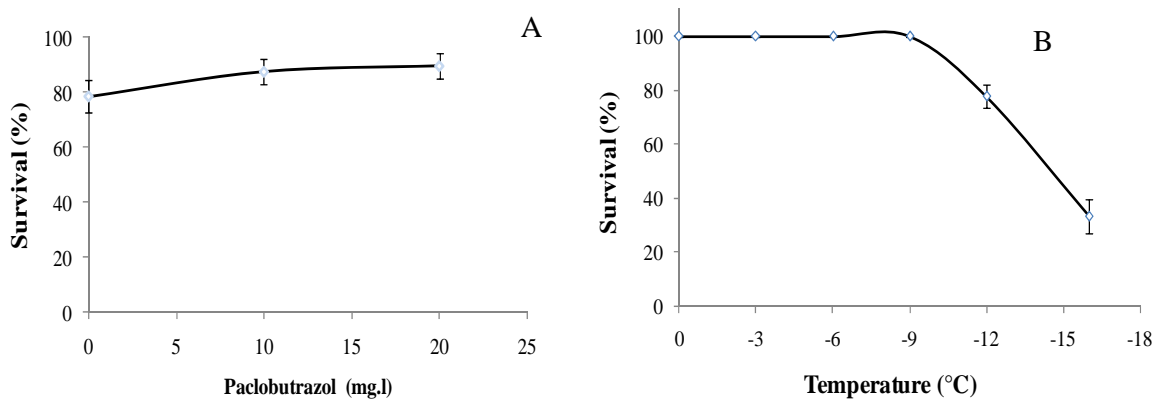
توده (ecotype)	غلظت (Concentrations (mg.l ⁻¹))			میانگین (Mean)
	0	10	20	
سبزوار (Sabzevar)	30.0d	30.4d	34.1c	32B
بروجرد (Boroujerd)	32.9cd	39.8b	45.8a	39A
میانگین (Mean)	31.4C	35.1B	40.0A	

مقایسه میانگین اثرات مستقیم (حروف بزرگ) و مقایسه میانگین اثرات متقابل (حروف کوچک) در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

Mean comparison of direct effects (capital letters) and Mean comparison of interaction (lowercase) significant at 0.05.

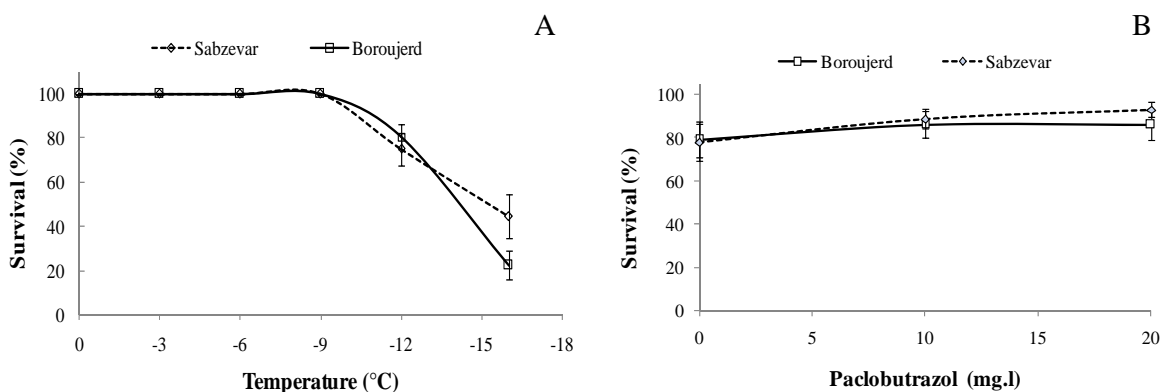
با وجود تأثیر مثبت پاکلوبوترازول بر درصد بقاء گیاهان و هرچند تفاوت بین درصد بقاء دو توده کوشیا معنی‌دار نبود (شکل ۶ ب)، ولی برهمکنش دمای یخ‌زدگی و غلظت پاکلوبوترازول نشان داد که افزایش غلظت پاکلوبوترازول سبب کاهش تلفات گیاهان در دماهای ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد شده است (شکل ۷).

اعمال تنش یخ‌زدگی تا دمای ۹- درجه سانتی‌گراد در هر دو توده مورد مطالعه تأثیری بر درصد بقاء نداشت و با کاهش دما درصد بقاء در هر دو توده کاهش یافت (شکل ۶ الف). با وجود این در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد توده سبزوار نسبت به توده بروجرد شش درصد بقاء کمتری داشت، در حالی که در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد درصد بقاء توده بروجرد ۲۲ درصد کمتر از توده سبزوار بود (شکل ۶ الف).



شکل ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف پاکلوبوترازول (الف) و دماهای یخ‌زدگی (ب) بر درصد بقاء در کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد است

Fig. 5. Effect of different concentrations of paclobutrazol (A) and freezing temperatures (B) on survival percentage in kochia. Vertical lines indicate the mean \pm standard error.

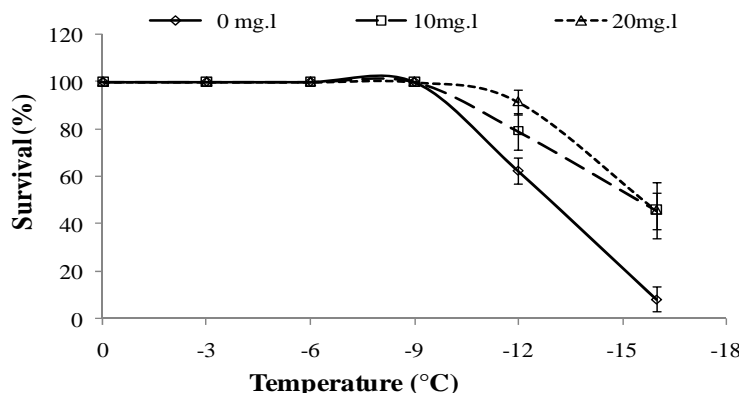


شکل ۶. تأثیر دماهای یخ‌زدگی (الف) و غلظت‌های پاکلوبوترازول (ب) بر درصد بقاء توده‌های کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد است.

Fig. 6. Effect of freezing temperatures (A) and concentrations of paclobutrazol (B) on survival percentage in kochia ecotypes. Vertical lines indicate the mean \pm standard error.

نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌کش تنها درجه حرارت کشته‌ی ۵۰ درصد گیاهان بر اساس درصد بقاء را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرارداد و دمای کشته ۵۰ درصد گیاهان بر اساس نشت الکترولیت‌ها تحت تأثیر کاربرد تیمارهای قارچ‌کش قرار نگرفت (جدول ۸ و شکل ۸).

همان‌طور که در شکل (۶ ب) مشاهده می‌شود در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، کاربرد ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر پاکلوبوترازول نسبت به عدم کاربرد پاکلوبوترازول به ترتیب موجب کاهش ۹ و ۲۹ درصدی تلفات گیاهان شد، ضمن اینکه در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد، کاربرد این دو غلظت پاکلوبوترازول سبب کاهش ۳۸ درصدی مرگ گیاهان نسبت به تیمار شاهد شده است.



شکل ۷. اثر دمای یخ‌زدگی و غلظت‌های پاکلوبوترازول بر درصد بقاء کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد است.

Fig 7. Effect of freezing temperatures and concentrations of paclobutrazol on survival percentage in kochia. Vertical lines indicate the mean \pm standard error.

جدول ۸. منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات اثر توده و غلظت پاکلوبوترازول بر LT50el و LT50su کوشیا.

Table 8. Analysis of variation, effect of ecotypes, concentration of paclobutrazol on LT50el and LT50su in kochia

(S.O.V)	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	LT _{50el}	LT _{50su}
ecotype	توده	1	0.01 ^{ns}	0.01 ^{ns}
concentration	غلظت	2	9.6 ^{ns}	16.5*
ecotype × concentration	توده × غلظت	2	2.5 ^{ns}	0.5 ^{ns}
error	خطا	12		

ns و * به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۰/۰۵.

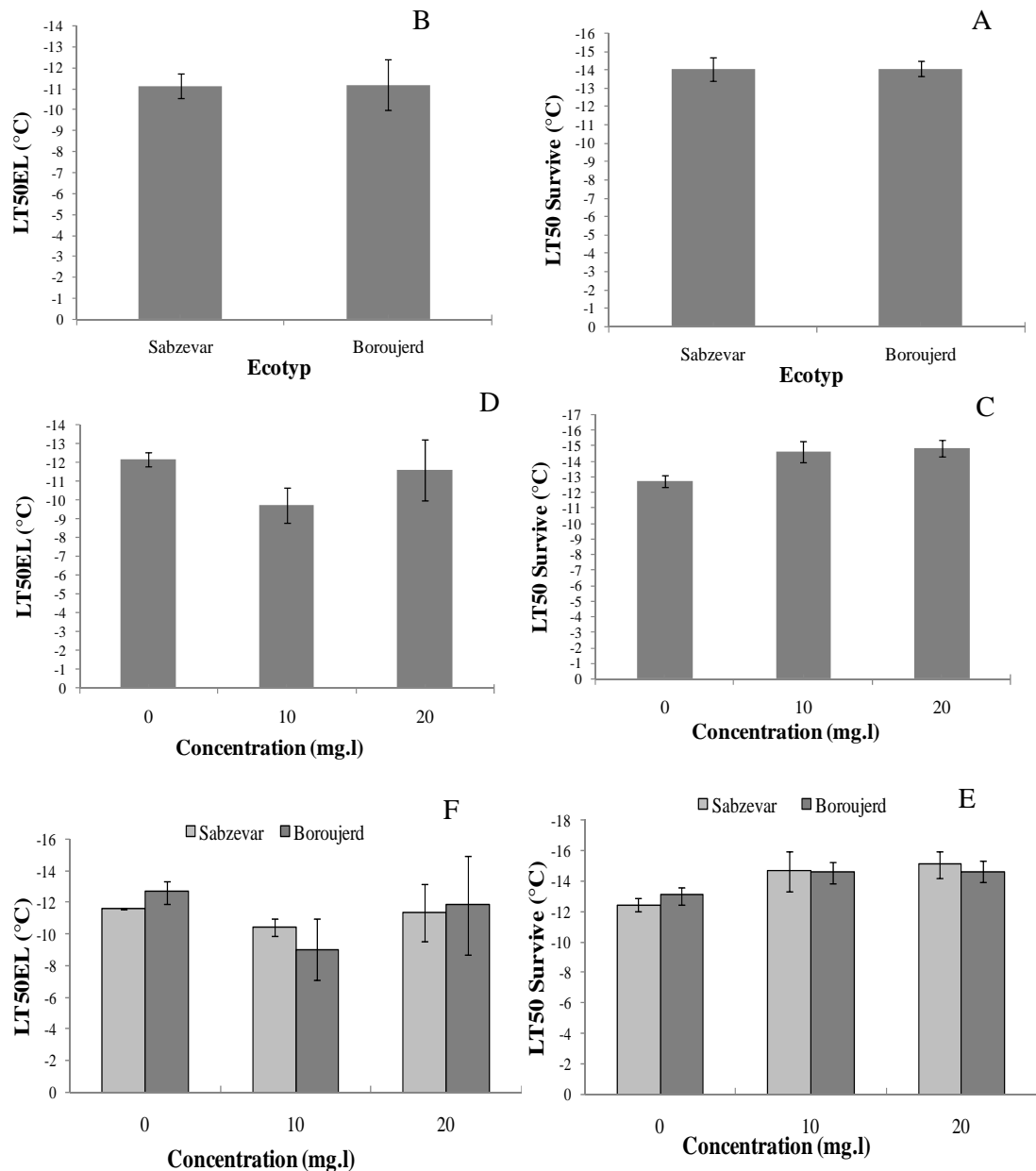
ns and * Not significant and significant difference at the 0.05 .

رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی و مهار فعالیت رادیکال DPPH با افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول افزایش پیدا کرد، با این وجود افزایش غلظت کاربرد پاکلوبوترازول میزان نشت الکترولیت‌ها را کاهش نداد، اما موجب افزایش درصد بقاء در دماهای پایین‌تر از ۹- درجه سانتی‌گراد گردید که این میزان

به‌طور کلی اثرات بیوشیمیایی تریازول شامل سمیت زدایی اکسیژن فعال (Kraus and Fletcher, 1994)، افزایش میزان پرولین، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها (Abdul Fletcher and Jaleel et al., 2007) و محتوای کلروفیل (Fletcher and Hofstra, 1988) می‌باشد. در این مطالعه نیز میزان

کربن ($r=0/36^{ns}$) همبستگی مثبتی با $LT50Su$ دارند و سایر صفات با همبستگی منفی با این صفت نشان دادند (جدول ۴).

افزایش درصد بقاء در دماهای ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد به مقدار قابل توجهی بود. بررسی همبستگی بین صفات مورد مطالعه نشان داد که تنها پرولین ($r=0/45^*$) و هیدرات‌های



شکل ۸. درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ گیاهان بر اساس درصد بقاء ($LT50 su$) (الف، ج، ه) و درجه حرارت کشنده برای ۵۰٪ نمونه‌ها بر اساس نشت الکترولیت‌ها ($LT50el$) (ب، د و) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف و توده‌های کوشیا. خطوط عمودی نشان‌دهنده میانگین \pm خطای استاندارد است.

Fig 8. Lethal temperature for 50% survival of the plants ($LT50 su$) (A, C, E) and lethal temperature 50 according to the electrolyte leakage percentage ($LT50el$) (B, D, F) under different concentrations and ecotypes of kochia. Vertical lines indicate the mean \pm standard error.

منابع

- Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, C.A., Gopi, R., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2007. Induction of drought stress tolerance by ketoconazole in *Catharanthus roseus* is mediated by enhanced antioxidant potentials and secondary metabolite accumulation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 60, 201-206.
- Abe, N., Murata, T., Hirota, A., 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 62, 61-662.
- Aly, A.A., Latif, H.H., 2011. Differential effects of paclobutrazol on water stress alleviation through electrolyte leakage, phytohormones, reduced glutathione and lipid peroxidation in some wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) grown in-vitro. *Romanian Biotechnological Letters*. 16, 6710-6721.
- Baek, K.H., Skinner, D.Z., 2003. Alteration of antioxidant enzyme gene expression during cold acclimation of near-isogenic wheat lines. *Plant Science*. 165, 1221-1227.
- Bates, L.S., Waldran, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water studies. *Plant and Soil*. 39, 205-208.
- Berova, M., Zlatev, Z., 2000. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Growth Regulation*. 30, 117-123.
- Chen, T.H.H., Gusta, L.V. Fowler, D.B., 1983. Tolerance to cold stress - the importance of roots and crowns. pp.57-76. In: D.B. Fowler, L.V. Gusta, A.E. Slinkard, and B.A. Hobin (Eds.). *New Frontiers in Winter Wheat Production*. University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- Danesh Mesgaran, M., Stern, M.D., 2005. Ruminal and post-ruminal protein disappearance of various feeds originating from Iranian plant varieties determined by the in situ mobile bag technique and alternative methods. *Animal Feed Science and Technology*. 118, 31-46.
- Dere, S., Gines, T., Sivaci, R., 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish Journal of Botany*. 22, 13-17.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytica Chimica Acta*. 28, 350-356.
- Fletcher, R., Hofstra, G., 1988. Triazoles as potential plant protectants. In: D. Berg, M. Plempel (Eds.), *Sterol Synthesis Inhibitors in Plant Protection*. Cambridge, Ellis Horwood Ltd. pp, 321-331.
- Fletcher, R.A., Gilley, A., Davis, T.D., Sankhla, N., 2000. Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews*. 24, 55-138.
- Gusta, L.V., Fowler, D.B., Tyler, N.J., 1982. Factors influencing hardening and survival in winter wheat. In: Li, P.H., Sakai, A. (Eds.), *Plant cold hardiness and freezing stress - mechanisms and crop implications*, Vol. 2, Academic Press, New York. 23-40.
- Jafari, S.R., Manuchehri Kalantari, Kh. Turkzadeh, M., 2006. The evaluation of paclobutrazol effects on increase cold hardiness in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* L.). *Iranian Journal of Biology*. 3, 290-298. [In Persian with English Summary].
- Jin, E.S., Yokthongwattana, K., Polle, J.E.W., Melis, A., 2003. Role of the reversible xanthophyll cycle in the photosystem II damage and in *dunaliella salina*. *Plant Physiology*. 132, 325-364.
- Kishorekumar, C.A., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Sridharan, R., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2007. Differential effects of hexaconazole and paclobutrazole on the foliage characteristics of Chinese potato (*Solenostemon rotundifolius*). *Acta Biologica Szegediensis*. 50, 127-129.
- Kraus, T.E., Fletcher, R.A., 1994. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury. Is detoxification of active oxygen involved? *Plant Cell Physiology*. 35, 45-52.
- Kraus, T.E., Mckersie, B.D., Fletcher, R.A., 1995. Paclobutrazol induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve

- increased antioxidant enzyme activity. *Journal of Plant Physiology*. 145, 570-576.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. I Chilling, Freezing, and High Temperature Stress. London, New York, Toronto: Academic Press.
- Mansouri Dehshoabi, R., Davarynejad, Gh., Hokmabadi, H. Tehranifar, A., 2011. Evaluation of proline, proteins and sugar during phenological processes of flower buds of commercial pistachio cultivars. *Journal of Horticultural Science*. 25, 116-121.
- McKersia, B.D., Leshem, Y.Y., 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. Kluwer Academic publishers, the Netherlands.
- Murray, G.A., Eser, D., Gusta, L.V., Eteve, G., 1988. Winter hardiness in pea, lentil, faba bean and chickpea. In: World Crops: Cool Season Food Legumes, (Eds.) Summerfield, R.J., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 831-843.
- Pinhero, R., Fletcher, R., 1994. Paclobutrazol and ancymidol protect corn seedlings from high and low temperature stresses. *Plant Growth Regulation*. 15, 47-53.
- Riasi, A., Danesh Mesgaran, M., Stern, M.D., Ruiz Moreno, M.J., 2008. Chemical composition, in situ ruminal degradability and post-ruminal disappearance of dry matter and crude protein from the halophytic plants *Kochia scoparia*, *Atriplex dimorphostegia*, *Suaeda arcuata* and *Gamanthus gamacarpus*. *Animal Feed Science and Technology*. 141, 209-219.
- Senaratna, T., Mackay, C., McKersie, B., Fletcher, R., 1988. Uniconazole-induced chilling tolerance in tomato and its relationship to antioxidant content. *Journal of Plant Physiology*. 133, 56-61.
- Seppanen, M.M., 2000. Characteriza of freezing tolerance in *solanum commersonii* (dun.) with special reference of the relationship between and oxidative stress. *Publication*. 56, 4-44.
- Serraj, R., Sinclair, T.R., 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environment*. 25, 333-341.
- Singh, V.K., Dixit. R.S., 1992. Effect of moisture regime and sowing date on chickpea (*Cicer arietinum*). *Indian Journal of Agronomy*. 37, 739-43.
- Singleton, U.L., Rossi, J., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16, 144.
- Steponkus, P.L., Uemura, M., Webb, M.S., 1993. Redesigning crop for increased tolerance to freezing stress. In: Jackson M.B., Black C.R., (Eds.), *Interacting Stresses on Plants in a Changing Climate*, Springer-Verley, Berlin .
- Steppuhn, H., Wall, K., 1993. *Kochia scoparia* emergence from saline soil under various water regimes. *Journal of Range Management*. 46, 533- 538.
- Uemura, M., Tominaga, Y., Nakagawara, C., Shigematsu, S., Minami, A., Kawamura, Y., 2006. Responses of plasma membrane to low temperature. *Physiologia Plantarum*. 126, 81-89 .
- Upadhyaya, A., Davis, T., Walser, R., Galbraith, A., Sankhla, N., 1989. Uniconazole-induced alleviation of low temperature damage in relation to antioxidant activity. *Horticulture Science*. 24, 955-957.
- Vagu, J.A., Kerepesi, I., Galiba, G., Tischner, T., Sutka, J., 1999. Frost hardiness depending on carbohydrate changes during cold acclimation in wheat. *Plant Science*. 144, 85-92.
- Vettakkorumakav, N. N., Falk, D., Saxena, P., Fletcher, R.A., 1999. A crucial role for gibberellins in stress protection of plants. *Plant Cell Physiology*. 40, 542-548.
- Waner, L.A., Junttila, O., 1999. Cold-induced freezing tolerance in *Arobidopsis*. *Plant Physiology*. 120, 391-399.
- Webb, J., Fletcher, R., 1996. Paclobutrazol protects wheat seedlings from injury due to waterlogging. *Plant Growth Regulation*. 18, 201-206.
- Xim, O., Kwon, Y.W., Bayer, D.E., 1996. Growth responses and allocation of assimilates of rice seedling by paclobutrazol and gibberellins treatment. *Plant Growth Regulation*. 16, 35-41.