Archive of SID

اثر پیش تیمار سرما بر میزان تنفس و مقادیر پرولین و رنگیزه های فتوسنتزی در دانه رستهای گیاه سویا (*Glicine max* L. cv. L17)

لیلا زینالی یادگاری، رضا حیدری و ژیرایر کاراپتیان

ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۸۸/٤/۳

چکیده

تنش سرما یکی از عوامل محیطی است که منجر به بروز تنش اکسیداتیو و تغییرات فیزیولوژیکی ، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در سلول و در مجموع در گیاه می شود. طی تنش سرمایی ، گونه های فعال اکسیژن در اندامکهای مختلف سلولی تولید و هر کدام با بر همکنش با مولکولها و ماکرومولکولها ، باعث ایجاد تغییراتی در متابولیسم سلول و نهایتاً در گیاه می شوند. تنش سرمایی در مورد گیاهان بومی مناطق گرمسیری از جمله سویا بسیار اثر گذار بوده و در بسیاری از موارد ، حیات گیاه را به مخاطره می اندازد. گیاه سویا در برخی از مناطق کشور (با آب و هوای معتدل) کشت می شود و گاهی در اواسط بهار و اوایل پاییز قبل از برداشت محصول سویا ، بروز سرمای ناگهانی باعث وارد آمدن خسارات فراوانی به این گیاه مهم اقتصادی می گردد، در مطالعه حاضر، اثر دماهای پایین و پیش تیمار سرما بر کارآیی تنفسی و محتوای کلروفیلی این گیاه در شرایط تنش سرما بررسی می گردد. در این تحقیق، گروهی از دانه رستهای ۱۰ تا ۱۲ روزه سویا به دمای ۱۵ درجه سانتی گراد (پیش تیمار سرما) منتقل شده و به مدت ۲٤ ساعت در این دما قرار گرفتند و گروه دیگر همین طول زمانی را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد سپری کردند. پس از این مدت هر دو گروه گیاهی به دمای ٤ درجه سانتی گراد (تنش سرما) منتقل شده و مدت زمان ۲٤ ساعت را در همین دما گذراندند. نهایتاً تمام گیاهان دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (مرحله بهبودی) را به مدت ۲٤ ساعت تجربه کردند. هر ۲٤ ساعت یکبار و به همراه گروه شاهد ، نمونه برداری انجام شد . میزان تنفس و مقادیر کلروفیلهای a و b وکاروتنوئیدها و پرولین اندازه گیری شد. با توجه به مشاهدات، گیاهانی که پیش تیمار سرما را تجربه کرده بودند، توانایی مقاومت در برابر دمای٤ درجه سانتی گراد را داشته ولی گیاهانی که این پیش تیمار را تجربه نکرده بودند با قرار گرفتن در دمای ٤ درجه سانتی گراد، توان زیستی آنها به میزان قابل توجهی کاهش یافت. در مرحله بهبودی نیز گیاهان پیش تیمار دیده سریعترو بهتر از گیاهان گروه دوم به شرایط طبیعی بازگشتند.

واژه های کلیدی: پیش تیمار سرما ، تنفس ، پرولین، سویا ،کاروتنوئید، کلروفیل های a و b .

* نویسنده مسئول: تلفن تماس ۰۹۱٤۱٤۹۸۵۹۳، پست الکترونیک: zeinali_l@yahoo.com

مقدمه

سویا متعلق به رده Faboidiea ، راسته Fabales، خانواده Fabaceae یا Leguminosae و زیر خانواده Papilionoideae و گونه *Glycine max* رقم L17 است. این گیاه دارای ساقه منشعب ، گلهای سفید تا بنفش بوده ودر غلاف آن یک تا پنج بذر تشکیل می شود. این گیاه بومی مناطق گرمسیری است ولی در مناطق معتدله نیز به

www.SID.ir

Archive of SID

میزان زیادی کشت می شود و طبیعتاً به دماهای پایین بسیار حساس و به سادگی در برابر سرما آسیب می بیند (۱).

یکی از عواملی که بر روی رشد گیاهان تأثیر می گذارد دمای محیط پیرامونی است زیرا فعالیتهای فیزیولوژیکی که شامل فرآیندهای آنزیمی و بیوشیمیایی می شود از دمای محیط تأثیر می پذیرد. گیاهان موجوداتی هستند که دمای ثابتی ندارند (Poikilotherm) یعنی همانند حیوانات خونسرد دمای پیکر گیاهان نیز از دمای محیط تبعیت می کند. محدودیت حاصل از دمای پایین در گیاهان بستگی به گونه گیاهی و میزان مقاومت گیاه نسبت به یخ زدگی دارد (۲۰).

گیاهان در نواحی نیمه گرمسیری (Subtropical)، گاهی در معرض انجماد یا دماهای نزدیک انجماد قرار می گیرند. در این مناطق گیاهان برای رشد باید توانایی سازش به دماهای پایین را داشته باشند (۲۲). گونه های گرمسیری حساس به سرما، مثل سویا، حتی با دما های پایین غیر انجمادی ، صدمات فراوانی می بینند. این صدمات از اختلالات فرآیندهای متابولیکی و سلولی تا تغییر خصوصیات غشا ها را شامل می شوند (۱۶).

در گیاه تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی فراوانی در پاسخ به دماهای پایین رخ می دهد.

پرولین اسید آمینه محلول در آب است که تحت تنشهای محیطی در گیاهان عالی انباشته می شود(۷). در تنشهای اکسیداتیو ، پرولین به عنوان نقش آنتی اکسیداتیو دارد زیرا رادیکالهای هیدروکسیل را جاروب (۲۱)، و نسبت NAD/NADH را تنظیم کرده (۳)، به عنوان سازگار کننده آبی پروتئین عمل می کند (۲٤). پرولین از غشاها و پروتئینها در برابر اثرات سمی غلظتهای بالای یونهای معدنی و دما های بالا و پایین محافظت می کند(۲۳). سنتز پرولین به عنوان یک مکانیسم کاهش دهنده اسیدیته سیتوزولی عمل کرده، نسبت $NADP^+$/NADPH را هماهنگ با متابولیسم تنظیم می کند. کاتابولیسم سریع پرولین بلافاصله پس از رفع عامل تنش زا ، باعث تأمین اکی والانهای احیا کننده می گردد که فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی را حمایت و باعث تولید ATP به منظور بهبودی از استرس شده، آسیبهای ناشی ازتنش را جبران می کند (۳).هدف از این پژوهش ، یافتن دمای مناسب برای سازگار نمودن دانه رستهای گیاه سویا به منظور تحمل دماهای پایین غیر انجمادی می باشد. این امر سبب افزایش میزان محصول و بهبود کیفیت آن خواهد شد.

مواد و روشها

بذرهای گیاه سویا (*Glycine max* cv.L17) از شرکت دانه های روغنی مرکز اردبیل تهیه شد. ابتدا بذرهای یک اندازه و سالم(با وزن هزار دانه ۲۰۳/۲٦۸ گرم) انتخاب شده و با محلول ضدعفونی کننده (آب ژاول) ۳ درصد به مدت چند دقیقه ضدعفونی گردید. سپس به مدت ٦ ساعت در آب مقطر خیسانده و در این مدت در آون با دمای ۲۳ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت ، بذرها به ظروف پتری حاوی کاغذ صافی دو لایه واتمن شماره یک منتقل و به هر ظرف پتری مقدار ۲۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده شد و در آون ۲۵ درجه به مدت ٤۸ ساعت قرار گرفتند تا جوانه زنی انجام شود. پس از سپری شدن مدت زمان یاد شده ، بذرهای جوانه زده و یک اندازه به گلدانهای حاوی ماسه شسته شده انتقال داده شدند . در هر گلدان تعداد ۳ دانه رست قرار گرفت. هر گلدان با محلول هوگلند نیم قدرت به طور منظم آبیاری شد.

پس از گذشت ۱۰ تا ۱۲ روز (مرحله ای که گیاه دارای دو برگ اولیه است) نمونه برداری زمان صفر انجام شد. تعدادی از گلدانها به دمای ۱۵ درجه سانتی گراد (پیش تیمار سرما) (Cold-acclimated) و تعدادی به دمای ۲۵ درجه سانتیگراد (بدون پیش تیمار سرما) (Non-acclimated) منتقل گردید. پس از ۲٤ ساعت نمونه برداری از تیمارها انجام و هر دو گروه به دمای ٤ درجه

www.SID.ir

Archive of SID

سانتیگراد (تیمار سرما) انتقال یافتند. بعد از ۲٤ ساعت و نمونه برداری از کلیه تیمارها ، هر دو دسته گیاهی به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد (مرحله بهبودی) منتقل و ۲٤ ساعت در این دما قرار گرفتند. پس از سپری شدن این مدت ، نمونه برداری انجام گرفت. گروه شاهد نیز تمام این زمانها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در هر نمونه برداری علاوه بر تیمار، از گروه شاهد برای مقایسه تغییرات در دو گروه دیگر نمونه برداری در سه تکرار انجام شد. دماهای لازم در اتاقک رشد EYELA مدل EYELATRON FLI – 301N (ساخت کشور ژاپن) و در شدت روشنایی ۲۵۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ اعمال شد.

تعیین مقادیر رنگیزه های فتوسنتزی: استخراج کلروفیل از برگ به کمک استن ۸۰ درصد (۸۰ میلی لیتر استن + ۲۰ میلی لیتر آب مقطر) انجام شد. ساییدن تدریجی تا حصول یک محلول بی رنگ ادامه یافت . سپس حجم محلول به ۲۵ میلی لیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت 4000 rpm سانتریفوژ شد و جذب نوری در طول موجهای ٤٧٠،٦٥٢،٦٤٥ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر UV/Vis (Model S2100 ; WPA Cambridge UK CB4 J of) اندازه گیری شد. مقدار کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر برگ طبق فرمولهای زیر محاسبه شد (۱۹) .

$C_a = 11.75\ A_{662} - 2.350\ A_{645}$

$C_b = 18.61\ A_{645} – 3.960\ A_{662}$

$C = 1000\ A_{470} – 2.270\ C_a – 81.4\ C_b / 227$

تعیین میزان پرولین اندام هوایی و ریشه: برای اندازه گیری پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده گردید(٤). بعد از توزین ۰/۵ گرم از نمونه های پودر شده گیاه خشک، مقدار ۱۰ میلی لیتر سولفو سالیسیلیک اسید ۳ درصد اضافه گردید و بعد از ۷۲ ساعت در یخچال ، محلولها با کاغذ صافی، صاف شده و ۲ میلی لیتر از آن به لوله منتقل شد. به هر لوله ۲ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲ میلی لیترمعرف نین هیدرین اضافه گردید. لوله ها به مدت یک ساعت در بن ماری جوشان قرار گرفتند تا رنگ آجری آنها ثابت شود. پس از سرد شدن لوله ها و ٤ میلی لیتر تولوئن به هر یک از آنها اضافه و بعد از به هم زدن محلول به دو قسمت تقسیم گردید. از قسمت روئی برداشته و میزان جذب آن در ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه میزان پرولین نمونه ها، منحنی استاندارد تعیین غلظت پرولین نیز رسم گردید. معادله خطی به دست آمده برای تعیین غلظتهای مجهول پرولین مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری میزان تنفس: میزان اکسیژن محلول به کمک الکترود اکسیژن و دستگاه اکسیژن متر (inolab oxi 730 ; WTW 82382 weiheim , Germany) اندازه گیری شد . الکترود به کمک الکترولیت ویژه کالیبره شد.

از هر گیاه (ازهر تیمار در سه تکرار به اضافه گروه شاهد) دو برگ تهیه و پس از قطعه قطعه شدن و در ظرف آزمایش قرار گرفت. سپس درون ظرف ۳ میلی لیتر از محلول واکنشی اضافه شد(محلول واکنشی شامل : M ۰/۲۵ ساکارز ، M ۰/۰۱ تریس ، 0.01M K_2HPO_4 ، 0.5 mg / ml ، 0.005 M EDTA ، 0.005M $MgCl_2$، BSA بود، pH محلول به کمک HCl در ۷/۲ تنظیم شد). سپس به کمک الکترود مقدار اکسیژن محلول بر حسب میلی گرم اکسیژن محلول بر لیتر محلول واکنش در فاصله زمانی یک دقیقه اندازه گیری شد (۱۵).

آنالیز آماری: مقادیر میانگین سه تکرار به دست آمد و انحراف معیار میانگینها محاسبه شد. اختلاف بین میانگینها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه محاسبه گردید. بررسی نتایج آزمایشها و رسم منحنیها بر مبنای مقایسه میانگینها و انحراف معیار (Mean ± SE) انجام گرفت. گروه بندی تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد ($P\leq0.05$) با آزمون Tukey انجام شد. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SAS 2000 با ورژن ۷ انجام گرفت (SAS, 2000. The SAS System version 7 for Windows. SAS Institute, Cary).

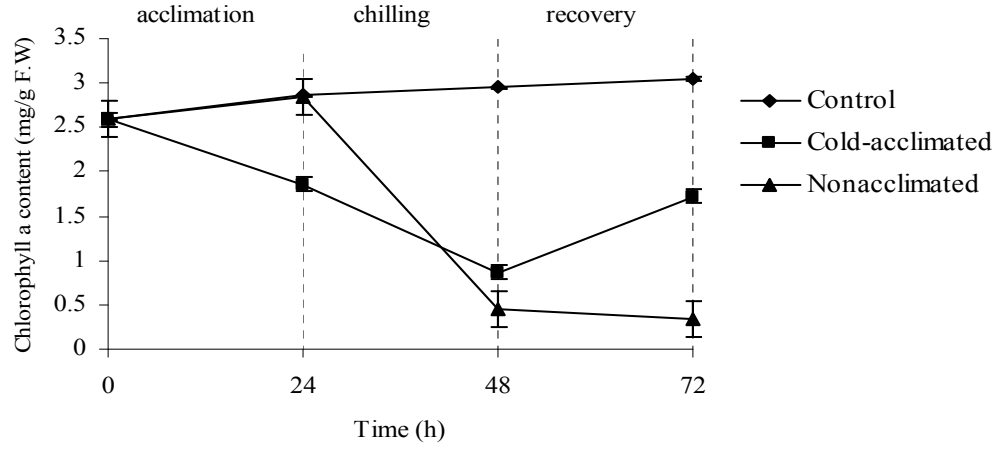
www.SID.ir

Archive of SID

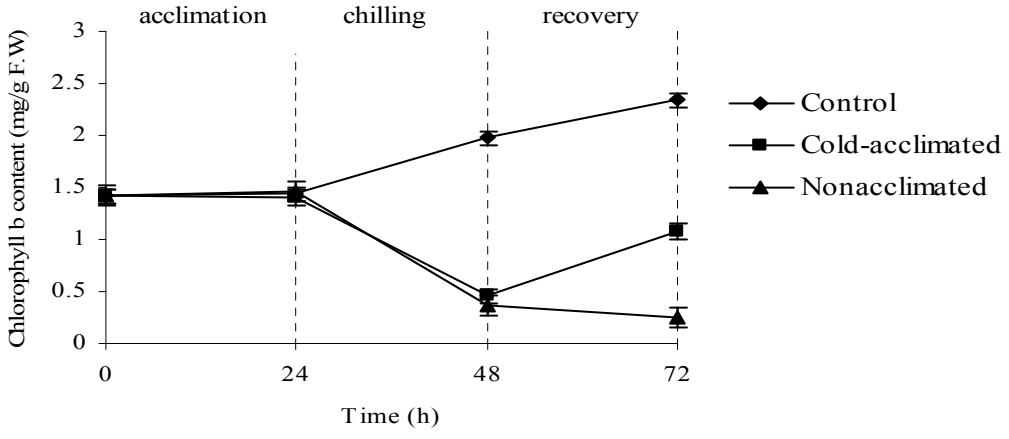
نتایج

تغییر میزان رنگیزه های فتوسنتزی: در طی دوره سازگاری (۱۵ درجه سانتی گراد) ، میزان کلروفیلهای a و b و کاروتنوئیدها به مقدار چشمگیری کاهش یافت. اختلاف بین گروه شاهد و گروههای تیمار، در میزان کلروفیل a و کاروتنوئیدها و بر اساس آزمون Tukey ($P\leq0.05$) معنی دار بود. در طی دوره سرما(٤درجه)، میزان کلروفیلهای a و b و کاروتنوئیدها در گیاهان ٤→۲۵ درجه سانتی گراد بیشتر از گروه ٤→۱۵ درجه سانتی گراد کاهش داشت که در مورد کلروفیل a ، بین گروه ٤ →۱۵ درجه سانتی گراد و گروه شاهد ، بر اساس آزمون Tukey ($P\leq0.05$) اختلاف معنی دار بود . در طی دوره بهبودی میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در گیاهان ٤→۱۵ درجه سانتی گراد رو به افزایش داشت که نشان دهنده بهبود وضعیت گیاه داشت. ولی در مورد گیاهان ٤→۲۵ درجه سانتی گراد این بهبودی کمتر از گروه اول بود، خصوصاً در مورد کلروفیلهای a و b (شکلهای ۱و۲و۳).

تغییرات میزان پرولین : میزان پرولین در ریشه های گیاه سویا در طی دوره سازگاری (۱۵ درجه سانتی گراد)(۲٤ ساعت اول)، در مقایسه با گیاه شاهد به طور معنی داری افزایش یافت. این افزایش در دوره سرما(٤ درجه سانتی گراد)(۲٤ ساعت دوم) نیز ادامه داشت و در مرحله بهبودی(۲۵ درجه سانتی گراد)(۲٤ ساعت سوم) کاهش یافت (شکل ٤).



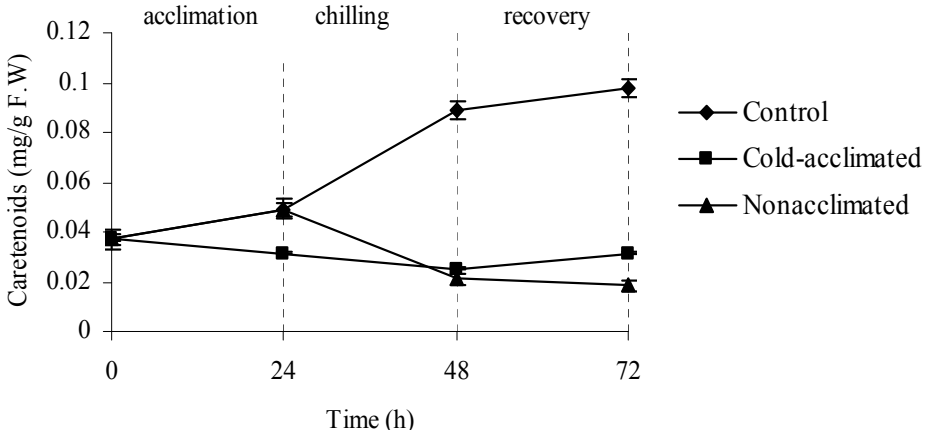
شکل ۱- تغییرات میزان کلروفیل a در برگهای گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .



شکل۲- تغییرات میزان کلروفیل b در برگهای گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .

www.SID.ir

Archive of SID

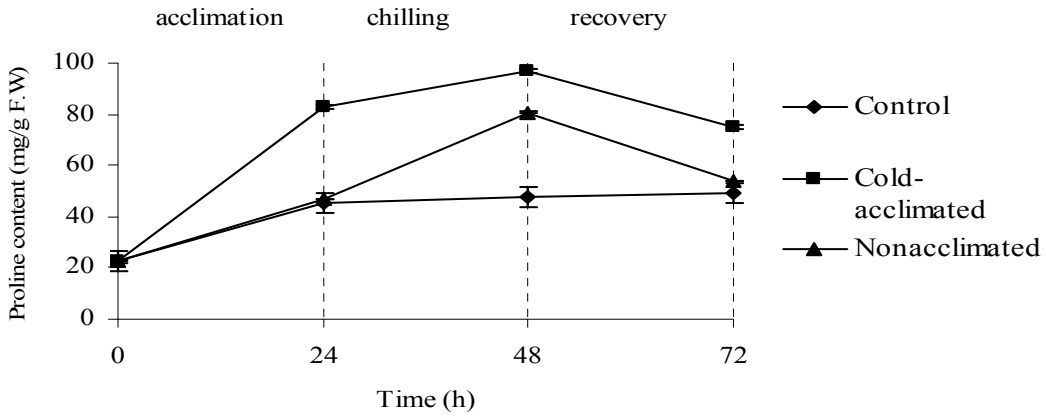


شکل ۳ – تغییرات میزان کاروتنوئیدها در برگهای گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .

میزان پرولین ریشه هایی که مستقیماً از دمای ۲۵ درجه به دمای ٤ درجه منتقل شده بودند ، نسبت به گیاه شاهد به طور معنی داری افزایش داشت و در مرحله بهبودی نیز کاهش در میزان پرولین نشان داد. همان طور که در شکل مشاهده می شود ، هر دو گروه گیاهی در طی دوره بهبودی توانسته اند خود را به شرایط طبیعی نزدیک کنند. ولی توانایی گیاهان پیش تیمار سرما دیده در مقایسه با گیاهان بدون پیش تیمار سرما، در مقابله با سرما بیشتر بود (شکل ٤).

در برگها نیز نتایج مشابهی مشاهده شد و در میزان افزایش پرولین گیاهان ٤⟶۲۵ درجه سانتی گراد نسبت به گیاهان شاهد و گروه ٤⟶۱۵ درجه سانتی گراد اختلاف معنی دار بود (شکل ۵).

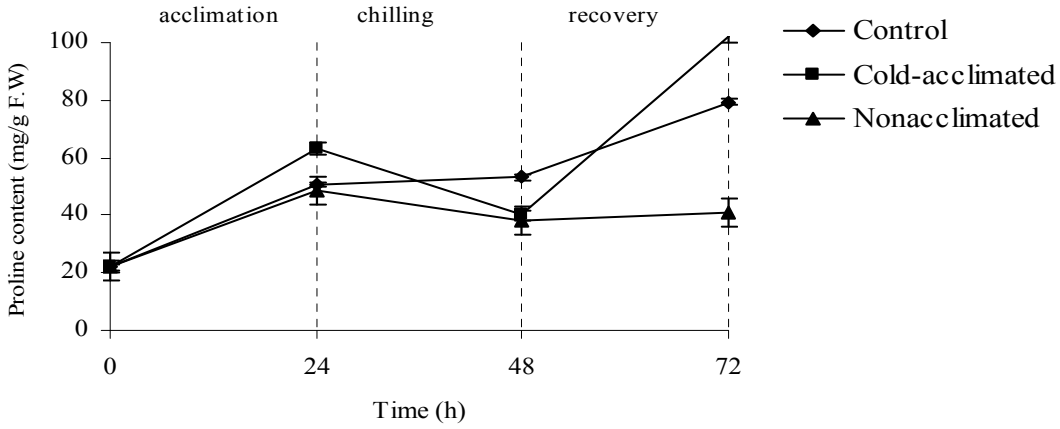
تغییر تنفس: میزان تنفس با مقدار مصرف اکسیژن توسط بافت برگی سنجیده شد. با کاهش دما، غلظت اکسیژن در محلول بافر کاهش یافت و در دمای ٤ درجه ، به پایین ترین حد خود رسید که نشان دهنده افزایش تنفس در این دماهاست. با انتقال گیاه به دمای ۲۵ درجه (مرحله بهبودی) ، غلظت اکسیژن در بافر رو به افزایش گذاشت که بیانگر کاهش تنفس و باز گشت به شرایط عادی بود. گیاهان پیش تیمار دیده توانستند سرعت تنفس خود را بهتر از گیاهان بدون پیش تیمار ، حفظ و کنترل کنند. به عبارت دیگر پیش تیمار سرما توانسته است توانایی گیاه را در مقابله با دمای ٤ درجه افزایش دهد. این موضوع در مرحله بهبودی نیز کاملاً مشهود است (شکل ٦).



شکل ٤ – تغییرات میزان پرولین در ریشه های گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .

www.SID.ir

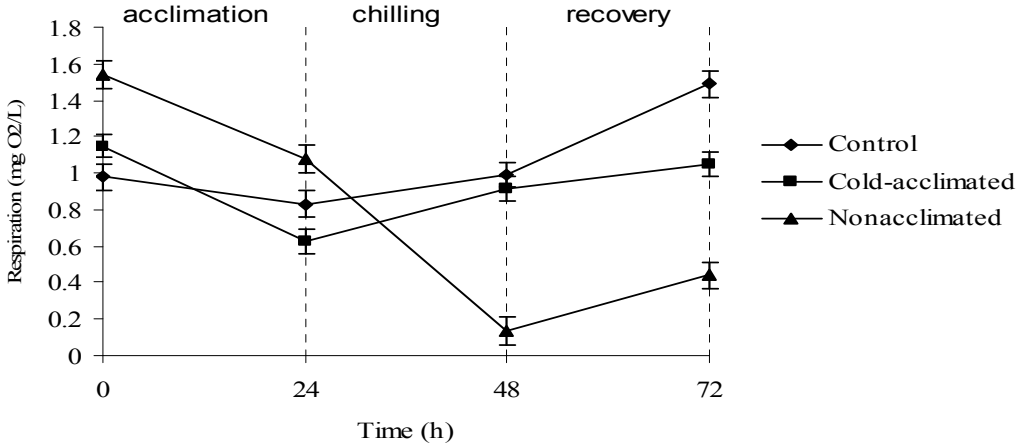
Archive of SID



شکل ۵- تغییرات میزان پرولین در برگهای گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .

بحث

افزایش غلظت پرولین، عمومی ترین عکس العملی است که به محض کمبود آب یا کاهش پتانسیل اسمزی ، نه تنها در گیاهان بلکه در جلبکها، باکتریها، بی مهرگان دریایی و پروتوزوآها مشاهده شده است (۸ و ١٤). علاوه بر نقش اسمزی، پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می کند. به این ترتیب که به طور مستقیم یا غیر مستقیم با ماکرو مولکولها اثر متقابل داشته و به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها تحت شرایط تنش کمک می کند (۱۸). پرولین در مقایسه با سایر اسمولیتهای سازگارکننده متداول به ویژه قندهای معمولی و قندهای الکلی، از کارآیی بالاتری جهت حفاظت در برابر تنش برخوردار است. پرولین با اثر مستقیم در ثبات بخشیدن به ماکرومولکولها و لایه های هیدراسیون آنها ، به علت خواص آنتی اکسیدانی خود، به طور غیر مستقیم نیز اثر حفاظتی نشان می دهد (۹). نقش آنتی اکسیدانی پرولین در توانایی آن برای غیر فعال کردن رادیکالهای هیدروکسیل و سایر ترکیبات دارای فعالیت بالا که تحت شرایط تنش تولید شده و ایجاد اختلال در انتقال الکترون در کلروپلاستها و میتوکندریها، تظاهر می کند و از این طریق پروتئینها و غشاها را در برابر آسیب محافظت می کنند (۲ و ٦).پرولین همچنین نسبت $NAD^+/NADH$ را تنظیم می کند (۳) و ضمن اعمال دماهای پایین در گیاه تجمع می یابد (۱۲).



شکل ٦- تغییرات تنفس در برگهای گیاه سویا. میانگین سه تکرار ± SE .

www.SID.ir

Archive of SID

Van و Swaaij در سال ۱۹۸۵ گزارش کردند که مقدار پرولین در برگهای گوجه فرنگی هیبرید در پاسخ به سرما افزایش می یابد. این افزایش طی دوره سازگاری به سرما مشاهده شد (۲۶).

Koster و Lynch در سال ۱۹۹۲ و Wanner و Junttila در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که میزان پرولین در طی دوره سازگاری به سرما افزایش می یابد (۱۷ و ۲۷).

Gilmour و همکاران درسال ۲۰۰۰ نشان دادند که مقادیر پرولین در آرابیدوپسیس ودر معرض سرما افزایش یافت و این افزایش به دلیل افزایش آنزیم کلیدی در بیوسنتز پرولین، یعنی، Δ^1 - پرولین – ۵ – کربوکسیلات سنتاز بود.

افزایش میزان پرولین در مطالعات حاضر نیز در سرما، به خصوص در دمای ٤ درجه سانتی گراد مشاهده شد.در گیاهان ٤ ⟵ ۱۵ درجه سانتی گراد میزان پرولین بالاتر از گیاهان ٤⟵۲۵ درجه سانتی گراد بود. به این معنی که پیش تیمار ۱۵ درجه سانتی گراد باعث افزایش توانایی گیاه در مقابله با دمای ٤ درجه سانتی گراد شده است. در فاز بهبودی نیز گیاهان گروه اول سریع تر از گروه دوم به حالت عادی بازگشتند. با توجه به نقش حفاظتی پرولین در شرایط استرس، می توان گفت که گیاهان سازگار شده، شرایط سرما را بهتر از گروه دوم تحمل می کنند.

جریان سیتوزولی، نیازمند انرژی ATP است و سرما متابولیسم انرژی در میتوکندریها را کاهش می دهد. بعد از قرار گرفتن گیاه در معرض سرما، میزان تنفس افزایش می یابد اما، میزان تولید ATP کاهش می یابد که به علت جدا شدن فسفریلاسیون از اکسیداسیون در شرایط تنش می باشد.

این تحقیق نیز چنین افزایش تنفسی را در طی دوره سرما نشان می دهد. اما نکته قابل توجه این است که میزان افزایش تنفس در گیاهان ٤ ⟵ ۱۵ درجه سانتی گراد کمتر از گیاهان ٤⟵۲۵ درجه سانتی گراد بود به این معنی که پیش تیمار سرما توانسته است گیاه را آماده مقابله با استرس سرما کند و به نظر می رسد زنجیر انتقال الکترون در این گروه کمتر از گروه دوم آسیب دیده است. همان طور که در مرحله بهبودی قابل مشاهده است گیاهان ٤⟵۱۵ درجه سانتی گراد توانسته اند بهتر و سریع تر از گروه دوم به حالت عادی باز گردند.

Strand و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که میزان رنگیزه های فتوسنتزی گیاهان آرابیدوپسیس با انتقال از ۲۳ درجه سانتی گراد به ۵ درجه سانتی گراد تغییر نیافت.

Fowler و Limin در سال ۲۰۰۱ بیان کردند که میزان کلروفیل در گیاهان سرما دیده در برابر نور کاهش یافته و تیلاکوئیدها تخریب شده و گیاهان بیرنگ می شوند. این پدیده در مورد نتایج حاصل از این تحقیق نیز صادق است. در گیاهان ٤ ⟵ ۲۵ درجه سانتی گراد و ٤ ⟵ ۱۵ درجه سانتی گراد میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها کاهش نشان می دهد ولی این کاهش در گیاهان گروه دوم (٤⟵۲۵ درجه سانتی گراد) شدیدتر است. در مقایسه با گروه شاهد، باز گشت به حالت عادی در مرحله بهبودی ، گروه ٤⟵۱۵ درجه سانتی گراد سریع تر و بهتر از گروه ٤⟵۲۵ درجه سانتی گراد عمل می کند. Bilger و Bjorkman در سال ۱۹۹۱ دریافتند که دمای پایین مانع از تشکیل زآگزانتین (از کاروتنوئیدها) می شود. زآگزانتین انرژی برانگیخته شده در آنتن فتوسیستم II را به صورت حرارت آزاد می کند(۱۰). بیوسنتز زآگزانتین از ویولا گزانتین در شرایط طبیعی در نور بالا و pH پایین لومن تیلاکوئیدها القا می شود ولی دماهای پایین از انجام این فرآیند ممانعت می کند. همین کاهش در محتوای کاروتنوئیدی در نتایج ما نیز مشهود است. به طوریکه میزان کاروتنوئیدها در استرس سرما (٤ درجه سانتی گراد) کاهش یافت که در گیاهان ٤⟵۲۵ درجه سانتی گراد بیشتر بود. ولی در دوره بهبودی ، گیاه توانست به طور

www.SID.ir

Archive of SID

نسبی به حالت عادی بازگردد. این فرایند در مورد گیاهان ٤ ⟵ ١٥ درجه سانتی گراد سریع تر بود.

نتیجه حاصل از تحقیق حاضر بیان می کند که پیش تیمار سرما باعث کاهش تخریب تیلاکوئیدها و کلروپلاستهایی می گردد که در معرض اکسیداسیون نوری قرار می گیرند لذا گروه اول نسبت به سرما سازگار شده اند.

منابع

۱. سیستماتیک گیاهی (دیدگاهی تبار شناختی) ، مولفان : جود – کمپبل – کلوگ – استیونس - ، ترجمه : حجت اله سعیدی . انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان

2. Ahdin, M.Z., Arsh, A., Iqbal M. (2005). Ameliorative effects of $CaCl_2$ on growth,ionic relations, and proline content of senna under salinity stress. Plant Nutrition, 28: 101-125.

3. Alia, P., Saradhi, P. (1993). Suppression in mitochondrial electron transport is the prime cause behind stress induced proline accumulation .Biochem. Biophys. Res. Commun., 193:54-58.

4. Bates, L.S., Waldron, R.P., Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil., 39:205-208.

5. Bilger W., Bjorkman O., 1991. Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. Planta ,184:226-234.

6. Bohnert, H.J., Nelson, D.E., Jensen, R.G. (2004).Adaptations to environmental stresses. Plant Cell, 7: 1098-1111.

7. Briens , M., Larher, F. (1982). Osmoregulation in halophytic higher plants: a comparative study of soluble carbohydrates, polyols, betains and free proline. Plant, Cell and Environ. 5: 287-292.

8. Chretien, D., Guillot, T. (2000). Lipid and protein changes in jojoba under salt stress. Physiol Plant., 85: 372-380.

9. Delauney, A.J., Verma, D.P.S. (1993). Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. Plant J., 4:215-223.

10. Demmig Adams, B. (1990). Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophylls,zeaxanthin. Biochem. Biophys. Acta., 1020-1024.

11. Fowler, D.B., Breton, G.,Limin, A.E., Mahfoozi, S., Sarhan, F., (2001). Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. Plant Physiol 127: 1676-1681.

12. Gilmour, S.J., Hajera, R.K., Thomashow, M.F. (1988). Cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 87:745-750.

13. Gilmour, S.J., Sebolt, A.M., Salazar, M.P., Everard, J.D., Thomashow, M.F. (2000). Overexpression of the Arabidopsis CBF3 transcriptional activator mimics multiple biochemical changes associated with cold acclimation. Plant Physiol., 124:1854-1865.

14. Hames, B.D., Rickwood, D. (1990). Gel electrophoresis of proteins: a practical approach. 2d ED, IR.L.Press Limited. Oxford, 383.

15. Jinn, T.L., Chen, Y.M., Lin, C.Y. (1995). Characterization and physiological function of class I low molecular weight heat shock protein complex in soybean. Plant Physiol., 108:693-701.

16. Kacperska, A. (1989). Metabolic concequences of low temperature stress in chilling – insensitive plants, in : P.H. Li (Ed) , Low temperature Stress Physiology in Crops , CRC Press , Boca Raton , FL , pp.27-40.

17. Koster, K.K., Lynch, D.V. (1992). Solute accumulation and compartmentation during the cold acclimation of puma rye. Plant Physiol 98: 108-113.

18. Kuroda, H., Sagisaka, S. (1993). Ulterastructural changes in cortical cells of apple(*Malus Pumila* Mill.) associated with cold hardiness. Plant Cell Physiol., 34: 357-365.

19. Lichtenthaler, H.K., Wellbum, A.R. (1983). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Trans., 11:591-592.

20. Lynch, D.V. (1990). Chilling injury in plants: the relevance of membrane lipids, In:

www.SID.ir

Archive of SID

F.Katterman (Ed.), Enviromental Injury to Plants, Academic press, New York, pp.17-34.

21. Mantyla, E., Lang, V., Palva, E.T. (1995). Role of abscisic acid in drought – induced freezing tolerance, cold acclimation, and accumulation of LTI78 and RAB18 proteins in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol., 107: 141-148
22. Paull, R.E. (1990). Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. Pp. 17 – 39 .In : Ed . C . Y. Wang . chilling injury of Horticultural crops . CRC Press . Boca Roton .
23. Robertson, A.J., Weninger, A., Wilen, R.W., Gusta L.V. (1994). Comparison of dehydrin gene expression and freezing tolerance in *Bromus inermis* and Secale cereals grown in controlled environments, hydroponics, and the field. Plant Physiol. 106: 1213-1216.
24. Smolenska, G., Kuiper, P.J.C. (1977). Effect of low temperature upon lipid and fatty acid composition of roots and leaves of winter rape plants. Physiol. Plant. 41: 29-35.
25. Strand, A., Hurry, V., Gustafsson, P., Gardestrom, P. (1997). Development of *Arabidopsis thaliana* leaves at low temperature releases the suppression of photosynthetic gene expression despite the acclimation of soluble carbohydrates. Plant J. 12: 605-614.
26. Van Swaaij, A.C., Jakobsen, E., and Feenstra, W.J. (1985). Effect of cold hardening, wilting and exogenously applied proline on leaf proline content and frost tolerance of several genotypes of Solanum.Physiol. Plant. 64: 230-136.
27. Wanner, L.A., Junttila, O. (1999). Cold-acclimation freezing tolerance in Arabidopsis. Plant Physiol., 120: 391-399.

The Effect of Cold Pretreatment on Respiration Rates and the Contents of Proline and Photosynthetic Pigments in Soybean Seedlings(Glicine max cv. L17)

Zeinali Yadegari L., Heidari R., and Karapetian J.

Biology Dept., Faculty of Sceince, Urmia University, Urmia, I.R. of IRAN

Abstract

Cold stress is one of the environmental stresses that causes certain physiological, morphological and biochemical changes in plant. During temperature stress, active oxygen species (AOS) is produced in organelle which puts plant life in danger. Low temperature is one of the abiotic stresses that are the principal cause of crop failure world wide, dipping average yields for most major crops. Soybean is native to warm habitat and is cultivated in temperate regions like Iran. It exhibits symptoms of injury, when exposed to low non-freezing temperatures. It is now known that exposure of chilling sensitive plants like soybean to temperatures slightly above chilling conditions, reduces chilling injury. This strategy is one way that makes plant to tolerate cold stress. Plants in their vegetative growth phase were exposed to 15˚C (cold-acclimated) or 25˚C (nonacclimated) for 24h, under 250 μmol $m^{-2}s^{-1}$ photosynthetically active radiations (PAR). Then all plants were exposed to 4˚C (chilling temperature) for 24h and allowed to recover at 25˚C for 24h. The contents of photosynthetic pigments, respiration rate and proline contents in leaves and roots were analyzed .The results showed that chilling sensitive soybean plants can be made tolerant to cold (4˚C) by cold acclimation via exposing the plants to nonfreezing low temperatures.

Keywords: chilling, cold stress, pigment, proline, respiration

www.SID.ir