



بررسی اثر تنش سرما در مرحله گیاهچه‌ای بر میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و رنگیزه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ‌های کنگد (*Sesamum indicum* L.)

فرشته آکی^۱، سید کمال کاظمی تبار^۲، سید حمیدرضا هاشمی^۳ و حمید نجفی زرینی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسؤول: akifereshteh1992@gmail.com)

۲ و ۴- دانشیار و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشجوی دکتری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱

چکیده

کنجد (*Sesamum indicum* L.) یکی از گیاهان گرمسیری حساس به سرما می‌باشد. به منظور بررسی میزان تحمل ژنوتیپ‌های مختلف کنگد در برابر تنش سرما و نیز تأثیر سرما بر خصوصیات فیزیولوژیکی آن‌ها، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی بر روی ده ژنوتیپ شامل ورامین، قائم، اولتان، یکتا، دشتستان ۲، داراب ۱، ناز تک شاخه، ناز چندشاخه، جهاد و نیشابور در سه تکرار انجام شد. ژنوتیپ‌ها به مدت سه شبانه روز تحت دمای ۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و نمونه‌های برگی در زمان‌های صفر (قبل از اعمال تنش)، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت تهیه شد. بیشترین مقدار کلروفیل a با گذشت ۴۸ ساعت از تنش سرما، به رقم ناز چندشاخه و کمترین آن به رقم ورامین و پس از آن رقم نیشابور اختصاص یافت. در مورد کلروفیل b، پس از ۷۲ ساعت، رقم ناز چندشاخه و پس از آن رقم جهاد بیشترین و رقم نیشابور کمترین مقدار را داشتند. از نظر میزان کاروتنوئید تنها در زمان صفر و ابتدای تنش (زمان ۶)، به طور معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌ها اختلاف وجود داشت و با پیشروی تنش، تغییرات کاروتنوئید در ده ژنوتیپ به گونه‌ای بود که تفاوت معنی‌داری یافت نشد. روند تغییرات پرولین به صورت افزایشی بوده و با پیشروی تنش سرما، همه ژنوتیپ‌ها با تجمع پرولین همراه بودند. تفاوت بین ژنوتیپ‌ها هم در شرایط تنش و هم بدون تنش (زمان صفر) معنی‌دار بوده و در همه زمان‌ها، بیشترین مقدار پرولین در رقم ناز چندشاخه و کمترین آن در رقم نیشابور تجمع یافت. تغییرات مالون‌دی‌آلدئید در ژنوتیپ‌ها، در زمان‌های مختلف متفاوت بوده و در پایان تنش سرما رقم نیشابور و پس از آن رقم داراب ۱ بیشترین و رقم ناز چندشاخه کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید را به خود اختصاص دادند که به ترتیب نشان دهنده حداکثر و حداقل آسیب وارد شده به غشا می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده، در نهایت رقم ناز چندشاخه، رقم متحمل و رقم نیشابور، رقم حساس به سرما معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش سرما، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کنگد (*Sesamum indicum* L.)، مالون‌دی‌آلدئید

مقدمه

کنجد (*Sesamum indicum* L.) یکی از گیاهان گرمسیری حساس به سرما می‌باشد که معمولاً درجه حرارت پایین در اوایل دوره‌ی رشد مانع از استقرار گیاهچه و در اواخر دوره باعث توقف رشد طولی ساقه و نیز توقف تشکیل گل و در نهایت، به غیر یک نواختی رسیدگی محصول منجر شده و به طور چشم گیری، عملکرد را کاهش می‌دهد (۱۵). با وجود ارزش غذایی کنگد و اثرات مفید بسیاری که بر روی سلامتی دارد، و هم چنین اهمیت فرهنگی و تاریخی آن، تحقیقات بر روی کنگد اندک بوده و اخیراً توجه برخی پژوهشگران به آن جلب شده است.

دمای پایین یکی از عوامل محدودکننده رشد و پراکنش گیاهان بوده و کیفیت و کمیت تولید گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳۳). رویارویی با دماهای پایین (صفر تا ۱۲ درجه سانتی‌گراد) در طول فصل رشد برای گیاهان محتمل می‌باشد که چنین شرایطی می‌تواند در برخی از آن‌ها به ویژه گیاهان گرمسیری حساس به سرما ایجاد تنش نموده و بر عملکرد آن‌ها تأثیر بگذارد (۳۴). گیاهان با سازوکارهای متعددی به تنش‌ها پاسخ داده و بنابراین درجه‌های متفاوتی از تحمل را

نشان می‌دهند (۱۱،۳۳). این اختلاف فراوان در بین گیاهان در زمینه تحمل به دماهای مختلف از پاسخ وسیع در سطوح دیواره‌ی سلولی، غشای سلولی، اندامک‌ها، ریز مولکول‌ها، درشت مولکول‌ها و در نهایت بیان متفاوت ژن‌های مرتبط منشاء می‌گیرد (۹). سنجش میزان اثر عوامل مختلف در تحمل به تنش‌های غیرزنده از روش‌های متعددی از جمله اندازه‌گیری سطوح رونویسی ژن‌ها (۱۹) و روش‌هایی در سطح فیزیولوژیکی گیاه (۳۵) انجام می‌پذیرد. یکی از مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان - که تحت تنش‌های سرما و یخبندان ایجاد می‌شود - تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۱ در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها است (۲۴،۳). این رادیکال‌های آزاد در مراحل حیاتی مانند تنفس نوری و فتوسنتز تولید شده و شدیداً با ماکرومولکول‌های عمده سلولی نظیر پروتئین‌ها، لیپیدها، RNA، DNA و آنزیم‌های حیاتی واکنش داده و موجب تخریب غشاهای سلولی می‌شود. این نوع خسارت را آسیب اکسیداتیو گویند (۲) که به مختل شدن متابولیسم طبیعی گیاه و در نهایت مرگ سلول‌ها منجر می‌شود (۸،۲۱). برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی می‌توانند مانند یک نشان گر در تحمل تنش‌های محیطی استفاده شوند

1- Reactive oxygen species

و نیشابور، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده علوم زراعی دانشگاه علوم کشاورزی ساری انجام شد. برای اجرای آزمایش در مرحله گیاهچه‌ای، قبل از کاشت تمامی بذور ضدعفونی شده و پس از شستشو با آب مقطر، در گلدان‌هایی با خاک استریل کشت شدند. گیاهچه‌ها پس از رسیدن به مرحله چهار برگی برای اعمال تنش سرما به ژرمیناتور با دمای ۸ درجه سانتی‌گراد منتقل و تا دو روز تحت تنش قرار گرفتند. سپس نمونه‌های گیاهی در زمان‌های صفر، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از قرارگیری در ژرمیناتور از قسمت برگ تهیه و برای آزمایشات بعدی بلافاصله پس از برداشت، در ازت مایع ۱۸۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردید.

سنجش مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش پورا (۲۳) استفاده شد. بدین منظور مقدار ۰/۵ گرم از نمونه برگ توزین و در فالكون حاوی ۴ میلی‌لیتر متانول ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس مقدار ۳ میلی‌لیتر از این محلول در کووت^۳ ریخته و در داخل دستگاه اسپکتوفتومتر قرار داده شد. متانول خالص به صورت بلانک مورد استفاده قرار گرفت و قرائت در سه طول موج ۶۶۵، ۶۸۲، ۴ و ۴۷۰ نانومتر انجام شد و میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان پرولین

بر اساس روش بیتز و همکاران (۴)، مقدار ۰/۵ گرم بافت تر برگ سائیده شد و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد اضافه و مخلوط یک‌نواختی تهیه گردید. مخلوط حاصل در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد تا مواد اضافی از محلول جدا شود. می‌توان به جای سانتریفوژ از کیف شیشه‌ای و کاغذ صافی برای صاف کردن نمونه‌ها استفاده کرد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص در یک لوله آزمایش مخلوط کرده و به مدت یک ساعت جوشانیده شدند. برای توقف واکنش نمونه‌ها سریع به ظرف محتوی آب و یخ انتقال داده شدند (به مدت ۲۰ دقیقه). در مرحله بعد به هر لوله ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه شدیداً مخلوط گردید. جذب فاز رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود، در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شده و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد براساس میکروگرم به ازای هر گرم نمونه تعیین گردید. به‌منظور رسم منحنی استاندارد از محلول مادر ال-پرولین با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آب مقطر استفاده شد. از این محلول غلظت‌های ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ساخته شد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول سه جزئی نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید به ۲ میلی‌لیتر از هر استاندارد افزوده و پس از ورتکس، به مدت یک ساعت درون بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد حرارت داده و بلافاصله به حمام یخ منتقل شدند. سپس ۴ میلی‌لیتر تولوئن به نمونه‌ها اضافه کرده و پس از ورتکس، جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و منحنی استاندارد آن رسم شد.

(۲۲). یکی از پاسخ‌های شناخته شده گیاهان به تنش‌های مختلف محیطی تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند آمینواسیدهای پرولین، بتائین، گلايسین و قند الک‌ها است (۱۴). در بسیاری از گیاهان پرولین آزاد در پاسخ به تأثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی انباشته می‌شود (۲۹). این تغییرات به طور مستقیم، در تحمل به تنش درگیر بوده و از عناصر فعال در تحمل به تنش‌های محیطی به خصوص تنش سرما محسوب می‌شوند (۳۱، ۳۲). نقش‌های فیزیولوژیکی متعددی برای تجمع پرولین در واکنش به تنش گزارش شده است که مهم‌ترین آن‌ها تأکید بر نقش پرولین به صورت یک ماده تنظیم کننده اسمزی و عامل حفاظت کننده آنزیم‌های سیتوپلاسمی و ساختمان غشا می‌باشد (۲۹). به علاوه، پرولین می‌تواند همانند عمل آنتی‌اکسیدان‌ها در مکانیسم‌های مهار یک جاروب کننده ROS نیز باشد (۲۵). افزایش پرولین به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان منجر می‌شود. بدین ترتیب، با روش تنظیم اسمزی تحمل به تنش افزایش می‌یابد (۲۰). تنش سرما همچنین میزان کلروفیل گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. به این ترتیب که با پیشروی تنش، به دلیل کاهش فاکتورهای لازم برای سنتز کلروفیل و تخریب ساختمان آن و نیز افزایش کاتابولیسم کلروفیل در شرایط تنش، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد که ثابت شده این کاهش در ارقام حساس‌تر بیشتر می‌باشد (۱۲، ۲۶). برای خنثی کردن اثر سمی گونه‌های اکسیژن فعال ایجاد شده در تنش سرما، یک سیستم آنتی‌اکسیدان با کارایی بالا نیاز است. به خوبی مشخص شده است که کاروتنوئیدها می‌توانند سیستم جمع کننده نور دستگاه فتوسنتزی را از گزند مولکول‌های اکسیژن منفرد حفاظت نمایند. همچنین کاروتنوئیدها می‌توانند مستقیماً اکسیژن منفرد را خاموش و غیرفعال کنند و یا به وسیله آن اکسید شوند. بنابراین به طور غیرمستقیم تولید گونه های اکسیژن را کاهش می‌دهند. همچنین کاروتنوئیدها از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود، باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌شوند (۱). از دیگر اثرات بارز رادیکال‌های آزاد اکسیژن بر سلامت سلول‌ها، تخریب غشای سلولی است. بررسی غلظت مالون دی‌آلدید (MDA) بافت گیاهی می‌تواند بیان‌گر میزان تخریب غشای سلولی باشد، زیرا این ترکیب تحت تأثیر تخریب و پراکسیده شدن غشای سلولی آزاد می‌شود (۵).

در این پژوهش اثر تنش سرما بر ارقام مختلف کنجد با بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیکی از جمله رنگیزه‌های فتوسنتزی، پرولین و مالون دی‌آلدید مورد مطالعه قرار گرفته تا براساس این پارامترها ارقام متحمل را شناسایی کرده و بتوان در جهت کشت این گیاه در مناطق سردسیری و همچنین کشت زود هنگام آن در سایر مناطق گام برداشت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور بررسی تأثیر تنش سرما بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ده رقم کنجد شامل ورامین، قائم، اولتان، یکتا، دشتستان ۲، داراب ۱، تک شاخه، چندشاخه، جهاد

اندازه‌گیری میزان مالون دی آلدیید

سنجش میزان پراکسیداسیون های غشایی به وسیله تست تیوباریتوریک اسید با سنجش میزان مالون دی آلدیید به روش Heath & Packer (۱۹۷۳) انجام شد. بدین منظور، ۰/۲ گرم بافت‌های گیاهی در ازت مایع پودر شده سپس در ۱۸۰۰ میکرولیتر تری‌کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱٪ همگن شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۶۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر از محلول به دست آمده را با ۱۲۰۰ میکرولیتر محلول تری‌کلرو استیک اسید ۲۰٪ حاوی ۰/۵ گرم تیوباریتوریک اسید در لوله آزمایش ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم انکوبه شد. مخلوط حاصله بلافاصله

در حمام یخ، سرد شده و به تیوب ۲ میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. میزان جذب مایع رویی در ۵۳۲ نانومتر تعیین و جذب ناویژه در ۶۰۰ نانومتر از آن کسر گردید. غلظت MDA با استفاده از ضریب تصحیح (n mol-1 cm-1) ۱۵۵ محاسبه و براساس واحد (n mol g-1 F.W.) بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل‌های داده‌ها با طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای ارزیابی اثر تنش سرما روی صفات اندازه‌گیری شده، داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS و Excel و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی

Table 1. The results of variance analysis of Photosynthesis Pigments

مجموع مربعات						درجه آزادی	رنگیزه‌های فتوسنتزی	منابع تغییر
مدت زمان سرمادهی (ساعت)								
۷۲	۴۸	۲۴	۱۲	۶	۰			
۵۰/۵۵**	۵۸/۳۳**	۸/۴۴*	۵/۲۶ ^{ns}	۸/۴۷**	۸/۲۳**	۹	کلروفیل a	تیمار
۶۵/۴۳**	۳۸/۴۸**	۲/۶۷**	۳/۸۷ ^{ns}	۱/۲۴ ^{ns}	۱/۹۲ ^{ns}		کلروفیل b	
۱/۴۴ ^{ns}	۵/۲۶ ^{ns}	۰/۹۳ ^{ns}	۱/۳۳ ^{ns}	۰/۶۱ [~]	۰/۸۹ [~]		کاروتنوئید	
۴/۲۶	۷/۵۲	۳/۱۱	۳/۴۴	۱/۱۱	۰/۶۹	۱۸	کلروفیل a	خطا
۳/۸۵	۵/۷۸	۰/۴۹	۳/۱۷	۰/۸۰	۱/۰۸		کلروفیل b	
۰/۹۴	۲/۴۲	۰/۴۱	۱/۲۴	۰/۱۹	۰/۱۸		کاروتنوئید	
۲/۴۲	۹/۸۹	۲/۳۶	۷/۴۶	۱/۲۵	۰/۷۱		کلروفیل a	ضریب تغییرات (%)
۶/۱۲	۶/۶۳	۰/۹۱	۵/۶۷	۰/۵۰	۲/۶۵		کلروفیل b	
۰/۷۴	۶/۷۸	۰/۳۱	۱/۵۶	۰/۸۹	۰/۵۳		کاروتنوئید	

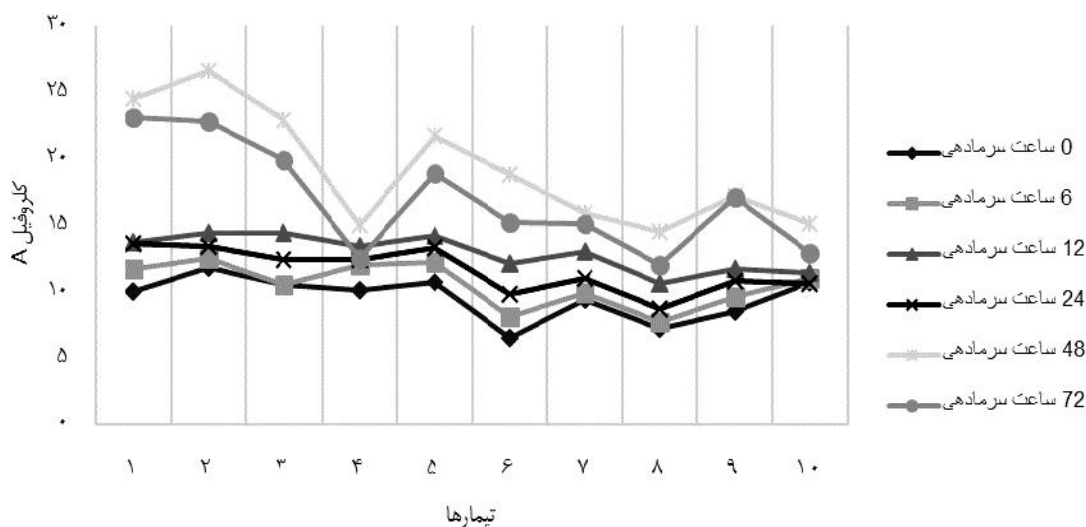
* و **: به ترتیب معنی‌داری در سطوح ۵ و ۱ درصد

نتایج و بحث

بررسی تغییرات در مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در بین ژنوتیپ‌ها از نظر مقدار کلروفیل a در زمان‌های صفر، ۶، ۴۸ و ۷۲ ساعت تنش، در سطح احتمال ۱٪ و در زمان ۲۴ ساعت تنش در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت که می‌توان این اختلاف را اولاً ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی و ثانیاً تفاوت در واکنش ژنوتیپ‌های مختلف و سطح تحمل آن‌ها در برابر تنش سرما دانست. با گذشت ۱۲ ساعت از طول مدت سرمادهی، میزان کلروفیل a در همه ژنوتیپ‌ها نزدیک به هم بود و اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). این امر با توجه به متفاوت بودن میزان کلروفیل a در میان ژنوتیپ‌ها در زمان‌های قبل از ۱۲ ساعت، نشان‌دهنده روند متفاوت تغییرات کلروفیل a در ژنوتیپ‌های مختلف می‌باشد. در مورد کلروفیل b، اختلاف معنی‌داری در زمان‌های ۰، ۶ و ۱۲ ساعت در بین

ژنوتیپ‌ها وجود نداشت، اما در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. این روند، حاکی از آن است که تغییرات کلروفیل b تا ۱۲ ساعت پس از تنش، برای همه ژنوتیپ‌ها تقریباً یکسان بود، اما پس از این زمان روند متفاوتی داشت. می‌توان گفت واکنش ژنوتیپ‌ها تا اواسط دوره سرمادهی نزدیک به هم بود و پس از آن، ژنوتیپ‌های مختلف پاسخ‌های متفاوتی به تنش داده و به تبع آن تغییرات در کلروفیل b نیز متفاوت بود. اختلاف در میزان کاروتنوئید در بین ژنوتیپ‌ها تنها در زمان صفر در سطح احتمال ۱٪ و زمان ۶ ساعت در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود و در سایر زمان‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از این نتایج می‌توان چنین استنباط کرد که معنی‌دار بودن مقادیر کاروتنوئیدها در ابتدا به دلیل اختلاف در ژنوتیپ‌ها بود، اما با پیشروی تنش، روند تغییرات یکسان بود و مقادیر آن در ژنوتیپ‌ها نزدیک به هم شد.

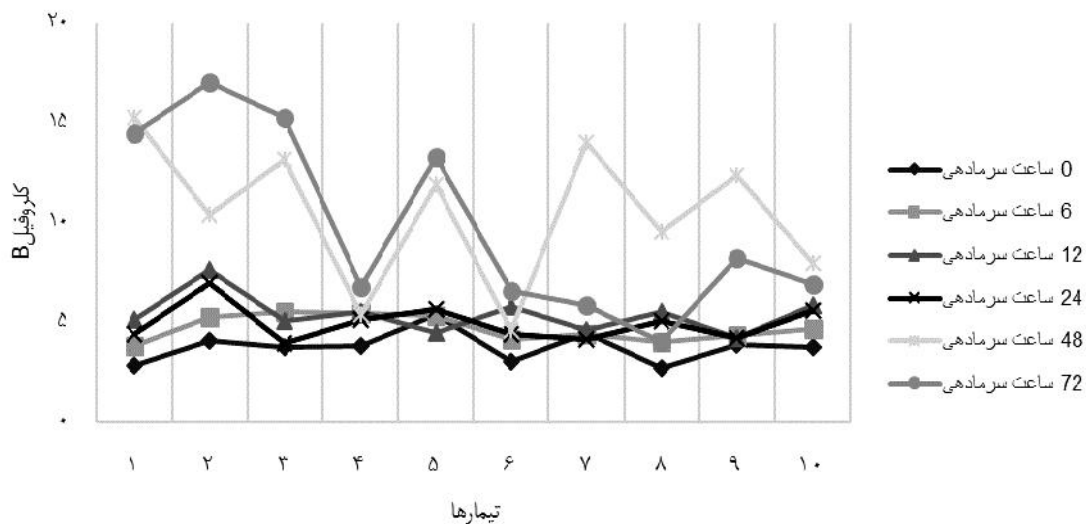


شکل ۱- روند تغییرات کلروفیل a در در بازه‌های زمانی مختلف تنش سرما.

۱: ناز تک شاخه، ۲: ناز چندشاخه، ۳: جهاد، ۴: دشتستان ۲، ۵: قائم، ۶: ورامین، ۷: اولتان، ۸: نیشابور، ۹: داراب ۱ و ۱۰: یکتا

Figure 1. The changes of Chlorophylla in different time periods of cold stress.

1: Naz Takshakheh, 2: Naz Chandshakheh, 3: Jahad, 4: Dashtestan 2, 5: Qa'im, 6: Varamin, 7: Ultan, 8: Nishapur, 9: Darab 1 and 10: Yekta.

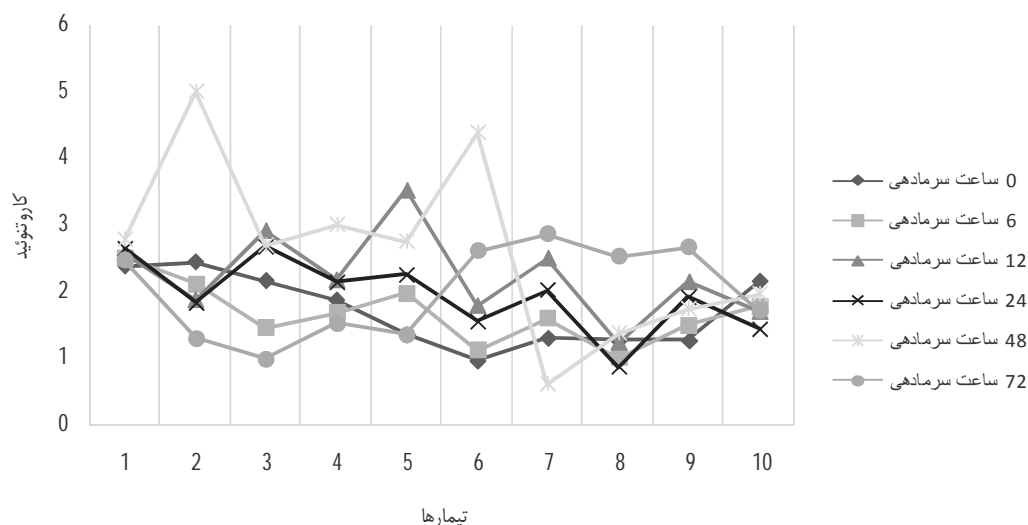


شکل ۲- روند تغییرات کلروفیل b در بازه‌های زمانی مختلف تنش سرما.

۱: ناز تک شاخه، ۲: ناز چندشاخه، ۳: جهاد، ۴: دشتستان ۲، ۵: قائم، ۶: ورامین، ۷: اولتان، ۸: نیشابور، ۹: داراب ۱ و ۱۰: یکتا

Figure 2. The changes of Chlorophyllb in different time periods of cold stress.

1: Naz Takshakheh, 2: Naz Chandshakheh, 3: Jahad, 4: Dashtestan 2, 5: Qa'im, 6: Varamin, 7: Ultan, 8: Nishapur, 9: Darab1 and 10: Yekta.



شکل ۳- روند تغییرات کاروتنوئیدها در بازه‌های زمانی مختلف تنش سرما.

۱: ناز تک‌شاخه، ۲: ناز چندشاخه، ۳: جهاد، ۴: دشتستان ۲، ۵: قائم، ۶: ورامین، ۷: اولتان، ۸: نیشابور، ۹: داراب ۱ و ۱۰: یکتا

Figure 3. The changes of Carotenoids in different time periods of cold stress.

1: Naz Takshakheh, 2: Naz Chandshakheh, 3: Jahad, 4: Dashtestan2, 5: Qa'im, 6: Varamin, 7: Ultan, 8: Nishapur, 9: Darab1 and 10: Yekta.

ساعت تنش که چروکیده و تاحدودی خشک شده، می‌توان روند رو به کاهش غلظت کلروفیل a را با نبود آب کافی و مختل شدن سنتز کلروفیل توجیه کرد. با توجه به شکل ۲ می‌توان گفت که با گذشت ۱۲ ساعت از تنش سرمایی، در بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر میزان کلروفیل b مشاهده نشده و در طول دوره تنش روند تقریباً مشابهی داشته‌اند. مقدار کلروفیل b در ژنوتیپ‌های شماره ۴، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ از زمان ۱۲ تا ۲۴ تقریباً ثابت بوده و در ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۳ و ۶ در این فاصله کاهش و در ژنوتیپ ۵ افزایش یافته است. بیشترین تغییرات در فاصله ۲۴ ساعت تا ۴۸ ساعت اتفاق افتاده که به صورت افزایش در میزان کلروفیل b بوده است. در نهایت با گذشت ۷۲ ساعت از تنش سرما، ژنوتیپ شماره ۲ و پس از آن ژنوتیپ شماره ۳ بیشترین و ژنوتیپ شماره ۸ کمترین میزان کلروفیل b را به خود اختصاص داده‌اند. با توجه به این مشاهدات چنین به نظر می‌رسد که ژنوتیپ شماره ۲ و ۳ مقدار آب بیشتری از دست داده و به همین سبب غلظت بالاتری از کلروفیل b را نشان می‌دهند و می‌توان گفت از تحمل بالاتری در برابر تنش سرما برخوردارند. در مقابل، ژنوتیپ شماره ۸ غلظت کمتری از کلروفیل b را داشته که بیان‌گر ضعیف بودن سیستم دفاعی و پایین بودن قدرت کاهش آب نسبی و به تبع آن مقاومت کمتر این ژنوتیپ در برابر تنش سرما می‌باشد. با توجه به شکل ۳، ژنوتیپ‌های مختلف از لحاظ میزان کاروتنوئیدها در طول دوره تنش، به صورت نامنظم افزایش و کاهش داشته‌اند و روند منظم و قابل پیش‌بینی مشاهده نمی‌شود. پس از ۴۸ ساعت سرمادهی، بیشترین میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ شماره ۲ و پس از آن در ژنوتیپ شماره ۶ و کمترین مقدار آن در ژنوتیپ شماره ۷ و پس از آن در ژنوتیپ شماره ۸ بوده است. در فاصله

با توجه به شکل ۱، روند تغییرات کلروفیل a تا ۲۴ ساعت تنش سرما برای همه ژنوتیپ‌ها شبیه هم بوده و تقریباً رو به افزایش بوده اما در دو زمان پایانی یعنی ۴۸ و ۷۲ ساعت سرمادهی، نوسان تغییرات کلروفیل a بیشتر از زمان‌های قبل بود. در میان ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ شماره ۲ (ناز چندشاخه) بیشترین و ژنوتیپ‌های شماره ۶ (ورامین) و ۸ (نیشابور) به ترتیب کمترین میزان کلروفیل a را از ابتدا تا انتهای تنش به خود اختصاص داده‌اند که بیان‌گر تفاوت در میزان تحمل به سرما در ژنوتیپ‌های مختلف می‌باشد. در تمام ژنوتیپ‌ها تا ۱۲ ساعت پس از تنش سرما، میزان کلروفیل a رو به افزایش گذاشت. هیلان و همکاران (۱۳) و تولیت و همکاران (۲۸)، کاهش میزان نسبی آب سلول را یکی از مکانیسم‌های مقاومت به سرما بیان کردند. بنابراین می‌توان گفت ژنوتیپ‌ها با از دست دادن آب درون سلولی در حال مقابله با تنش بوده و این مسئله موجب شده تا غلظت کلروفیل در واحد سطح افزایش پیدا کند، این در حالی است که مقدار کلروفیل تحت تنش کاهش می‌یابد. با گذشت ۲۴ ساعت از تنش، افت ناچیزی در میزان کلروفیل a در همه ژنوتیپ‌ها ایجاد شده و پس از آن مجدداً در زمان ۴۸ ساعت، به حداکثر مقدار خود رسیده که می‌توان چنین استنباط کرد که این مرحله از تنش با بیشترین میزان از دست دادن آب همراه بوده و حداکثر مقاومت ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهد که در این میان، ژنوتیپ شماره ۲ با دارا بودن بیشترین میزان کلروفیل a از تحمل بالاتری در برابر سرما برخوردار بوده و احتمالاً قدرت کاهش آب نسبی بالاتری نیز داشته است. در مقابل، ژنوتیپ شماره ۴ و پس از آن ژنوتیپ شماره ۸ کمترین میزان کلروفیل a را داشته و با قدرت کاهش آب نسبی کمتر، حساس‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. با توجه به ظاهر برگ‌های گیاه پس از ۷۲

فتوستتزی، کاهش مقدار کلروفیل برگ و تخریب تشکیلات فتوستتزی شده و سبب شده تا گیاه کتجد با کاهش آب نسبی سلولها برای انجام فعل و انفعالات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی از جمله سنتز پرولین، قند و ... تنش وارده را تحمل نماید که این امر خود موجب مختل شدن سیستمهای دخیل در سنتز کلروفیل شده است.

۴۸ تا ۷۲ ساعت، افت شدیدی در میزان کاروتنوئید ژنوتیپهای ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ و به میزان کمتری در ژنوتیپهای ۶ و ۱۰ اتفاق افتاده، اما برعکس، در مورد ژنوتیپهای ۷، ۸ و ۹ میزان کاروتنوئید در این زمان افزایش یافته است. مطابق مطالعات جرمیتس و همکاران (۱۰)، کیمک و همکاران (۱۶) و لوجینی و همکاران (۱۸) این نتیجه حاصل می شود که تنش سرما موجب تخریب رنگدانه های

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تغییرات پرولین

Table 2. The results of variance analysis of Proline

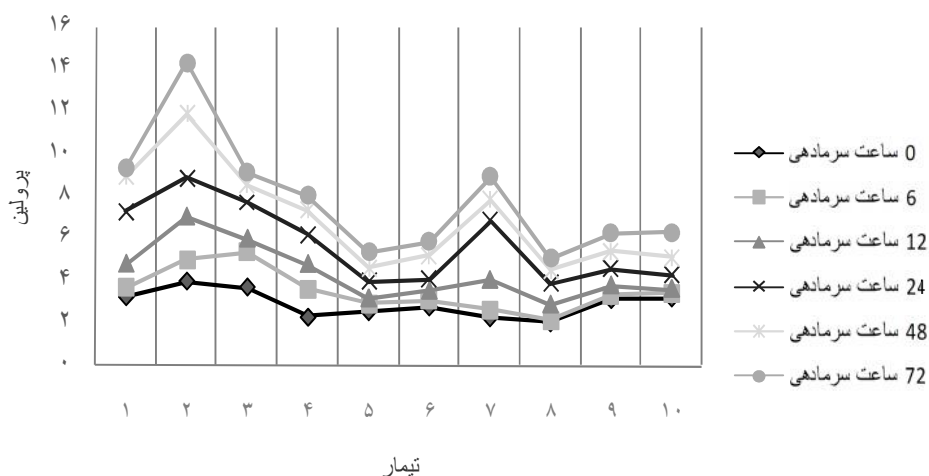
منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات					
		مدت زمان سرمادهی (ساعت)					
تیمار	۹	۱/۲۵۹**	۲/۹۸۵**	۵/۱۸۶**	۱۰/۳۳۸**	۱۷/۵۰۷**	۲۳/۳۶۳**
خطا	۱۸	۰/۱۱۵	۰/۱۱۶	۰/۱۱۴	۰/۲۸۴	۰/۴۴۰	۰/۴۳۶
ضریب تغییرات (%)	-	۰/۲۴	۰/۲۸	۰/۲۱	۰/۶۵	۱/۴۴	۱/۶۲

* و **: به ترتیب معنی داری در سطوح ۵ و ۱ درصد

واکنش متفاوت ژنوتیپها در برابر تنش سرما می باشد (جدول ۲).

بررسی تغییرات پرولین

نتایج تجزیه واریانس تغییرات پرولین نشان داد که تنش سرما باعث ایجاد اختلاف معنی دار از نظر میزان پرولین در بین ژنوتیپها شده که نشان دهنده تفاوت های ژنتیکی و نیز



شکل ۴- روند تغییرات پرولین در بازه های زمانی مختلف تنش سرما.

۱: ناز تک شاخه، ۲: ناز چند شاخه، ۳: جهاد، ۴: دشتستان، ۵: قائم، ۶: ورامین، ۷: اولتان، ۸: نیشابور، ۹: داراب ۱ و ۱۰: یکتا

Figure 4. The changes of Proline in different time periods of cold stress.

1: Naz Takshakheh, 2: Naz Chandshakheh, 3: Jahad, 4: Dashtestan2, 5: Qa'im, 6: Varamin, 7: Ultan, 8: Nishapur, 9: Darab1 and 10: Yekta

شماره ۸ کمترین تجمع پرولین را نسبت به سایر ژنوتیپها داشته اند. ژنوتیپ شماره ۷ پس از ژنوتیپ شماره ۲ حاوی مقادیر بالایی از پرولین بوده و ژنوتیپهای شماره ۳ و ۴ حد متوسطی داشته و در ژنوتیپهای شماره ۹، ۱۰ و ۶ مقادیر کمتری پرولین تجمع پیدا کرده است. به عقیده لویت (۱۷) تجمع پرولین هنگامی رخ می دهد که پتانسیل آبی برگ به زیر حد آستانه لازم رسیده باشد. بالای این محدوده تغییرات پرولین اندک است. این نتیجه در این تحقیق نیز کاملاً مشهود

با توجه به شکل ۴، در تمام ژنوتیپها از ابتدا تا انتهای دوره تنش، روند رو به افزایش در میزان پرولین مشاهده می شود که مشابه این نتیجه، در مطالعه های- کینگ و همکاران (۱۲) بر روی برنج هندی تحت تنش سرما به دست آمده است. در واقع همه ژنوتیپها با سنتز مقادیر متفاوت پرولین در مقابل تنش سرما مقاومت کرده اند اما بسته به نوع ژنوتیپ، قدرت مقابله آن ها با هم متفاوت بوده است. در این میان، ژنوتیپ شماره ۲ در همه ساعات بیشترین و ژنوتیپ

بررسی اثر تنش سرما در مرحله گیاهچه‌ای بر میزان پرولین، مالون‌دی‌آلدهید و رنگیزه‌های فتوستنزی در ژنوتیپ‌های کتجد ۱۷۲

موجود در برگ کاهش یافته، روند افزایشی قابل توجهی در میزان پرولین رخ داده است.

بوده و ملاحظه می‌گردد که تا ۱۲ ساعت سرمادهی تجمع پرولین چندان زیاد نبوده اما پس از آن که مدت زمان قرار گرفتن گیاه در معرض سرما افزایش و به تبع آن مقدار آب

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مقادیر مالون دی‌آلدهید

Table 3. The results of variance analysis of Malondialdehyde

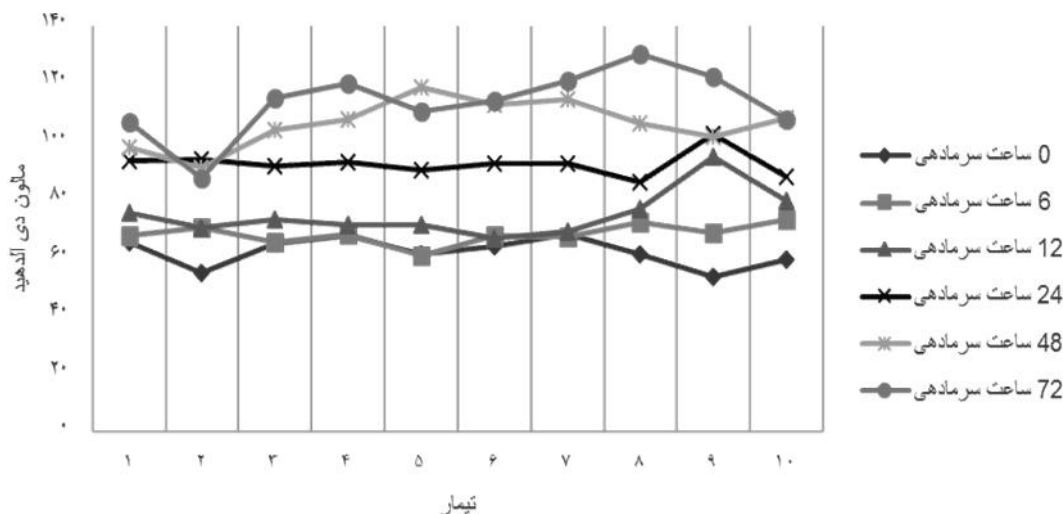
منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات مدت زمان سرمادهی (ساعت)				
		۰	۶	۱۲	۲۴	۴۸
تیمار	۹	۷۶/۳۷*	۳۶/۱۳ ^{ns}	۱۹۱/۱ ^{***}	۵۶/۲۰ ^{***}	۱۹۹/۲۲ ^{***}
خطا	۱۸	۲۵/۹۸	۱۹/۲۶	۹/۷۲	۱۰/۴۱	۴/۹۷
ضریب تغییرات (%)	-	۲/۱۴	۳/۰۴	۴/۱۶	۳/۴۹	۲/۰۹

* و **: به ترتیب معنی‌داری در سطوح ۵ و ۱ درصد

تغییرات میزان مالون دی‌آلدهید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در زمان صفر (بدون تنش) بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر میزان MDA در سطح ۵٪ داشته که نشان‌دهنده تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها می‌باشد. با گذشت ۶ ساعت از تنش سرما، اختلافات به

حداقل رسیده و ژنوتیپ‌ها مقادیر تقریباً مشابهی از MDA را نشان داده‌اند. در سایر زمان‌ها اختلاف ژنوتیپ‌ها در سطح ۱٪ معنی‌دار بوده و بسته به میزان تحمل ژنوتیپ‌ها در برابر تنش سرما، مقادیر متفاوتی از MDA به خارج غشا آزاد شده است.



شکل ۵- روند تغییرات مالون دی‌آلدهید در بازه‌های زمانی مختلف تنش سرما.

۱: ناز تک‌شاخه، ۲: ناز چندشاخه، ۳: جهاد، ۴: دشتستان ۲، ۵: قائم، ۶: ورامین، ۷: اولتان، ۸: نیشابور، ۹: داراب ۱ و ۱۰: یکتا

Figure 5. The changes of Malondialdehyde in different time periods of cold stress.

1: Naz Takshakheh, 2: Naz Chandshakheh, 3: Jahad, 4: Dashtestan2, 5: Qa'im, 6: Varamin, 7: Ultan, 8: Nishapur, 9: Darab1 and 10: Yekta

چشم‌گیر MDA در گونه حساس بودند. با توجه به شکل ۵، پیش از اعمال تنش سرما (در زمان صفر) ژنوتیپ‌ها مقادیر متفاوتی از MDA داشته و با واکنش‌های متفاوتی که نسبت به سرما نشان دادند، در زمان ۶ ساعت مقادیر MDA نزدیک به هم داشتند. پس از گذشت ۱۲ ساعت از تنش، تنها ژنوتیپ شماره ۹ افزایش قابل توجهی داشت و سایر ژنوتیپ‌ها به میزان کمتری افزایش داشتند. در زمان ۲۴ ساعت نیز هم چنان ژنوتیپ شماره ۹ بیشترین میزان MDA را به خود اختصاص داد. با رسیدن مدت زمان تنش سرما به ۴۸ ساعت، روند متفاوتی از نظر تغییرات MDA در ژنوتیپ‌ها اتفاق افتاد. بدین صورت که بیشترین میزان MDA مربوط به ژنوتیپ

انتظار می‌رود که تحت تنش سرما به علت فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تخریب غشا، میزان مالون دی‌آلدهید آزاد شده افزایش یابد. تحقیقات نشان داده که میزان MDA در ارقامی که مقاومت بیشتری در مقابل تنش داشته باشند کمتر و در ارقام کم‌تحمل‌تر و به عبارتی حساس‌تر، بیشتر خواهد بود. در این باره، دیستل‌بارز و همکاران (۷) در مطالعه‌ای با بررسی پراکسیداسیون لیپید در گونه‌های مختلف آرایه‌پرسیس تحت تنش سرما، شاهد افزایش میزان MDA در گونه حساس‌تر بودند. در پژوهشی دیگر، ونگ و همکاران (۳۰) دو گونه از گیاه برنج را تحت تنش سرما مورد بررسی قرار داده و شاهد آسیب بیشتر غشا و تجمع

پرویلین و مالون دی آلدئید در ده ژنوتیپ مورد مطالعه تحت تنش سرما به دست آمد، انتخاب ژنوتیپ شماره ۲ (ناز چندشاخه)، ژنوتیپ متحمل و ژنوتیپ شماره ۸ (نیشابور)، ژنوتیپ حساس به سرما، دور از انتظار نخواهد بود. چرا که این دو ژنوتیپ در اکثر اندازه گیری ها به طور کاملاً مشهودی، عکس العمل هایی مبنی بر مقاومت و حساسیت داشتند. همچنین در طول دوره تنش، با بررسی ظاهر ژنوتیپ ها، تا حدودی این نتیجه قابل پیش بینی بود. چون با پیشروی تنش سرما سطح برگ های ژنوتیپ ناز چندشاخه که با کرک های بسیار زیاد و ضخیمی پوشیده شده بود. به طور واضح، قابل مشاهده بود (شکل ۶)، اما این وضعیت در سایر ژنوتیپ ها از جمله ژنوتیپ نیشابور وجود نداشت یا بسیار ضعیف بود.

شماره ۵ و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ شماره ۲ می باشد. نهایتاً پس از ۷۲ ساعت، ژنوتیپ شماره ۲ جایگاه قبلی خود را حفظ کرده و کمترین میزان MDA را به خود اختصاص داده اما بیشترین مقدار MDA مربوط به ژنوتیپ شماره ۸ و پس از آن ژنوتیپ شماره ۹ بوده است. نکته قابل ملاحظه این است که در این میان، ژنوتیپ شماره ۸ از ابتدا تا انتهای تنش یک روند منظم افزایشی داشته و میزان MDA آن با پیشروی و شدت یافتن تنش سرما رابطه مستقیم داشت. لذا می توان این گونه استنتاج نمود که در میان ده ژنوتیپ مورد بررسی، ژنوتیپ شماره ۸ بیشترین تخریب غشا را متحمل شده و در برابر تنش سرما آسیب پذیرتر بوده و در مقابل، ژنوتیپ شماره ۲ آسیب کمتری دیده و تحمل به سرمای آن بیشتر می باشد. با توجه به نتایجی که از تغییرات رنگی زده های فتوسنتزی،



شکل ۶- کرکدار شدن ژنوتیپ ناز چندشاخه پس از ۷۲ ساعت سرمادهی
Figure 6. Genotype cute downy latest multipronged after 72 hours of cold

منابع:

1. Alizadeh, A. 1996. The relationship between soil, water and plant. Mashhad Press, Mashhad, Iran, 744 pp. (In Persian).
2. Ashraf, M. and Q. Ali. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Journal of Environmental and Experimental Botany, 63: 266-273.
3. Bakalova, S., A. Nikolova and D. Nedeva. 2004. Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Journal of Plant Physiology, 30: 64-77.
4. Bates, L.S., R.P. Waldern and I.D. Tear. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
5. Bhattacharjee, S. and A.K. Mukherjee. 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Science and Technology, 30: 279-287.
6. Davey, M.W., E. Stals, B. Panis, J. Keulemans and R.L. Swennen. 2005. High throughput of malondialdehyde in plant tissues. Analytical Biochemistry, 347: 201-207.
7. Differentially regulated in response to high-salinity, cold and drought. Bio Med Central Genomics, 8: 303.
8. Distelbarth, H., T. Neagele and A.G. Heyer. 2012. Responses of antioxidant enzymes to cold and high light are not correlated to freezing tolerance in natural accessions of *Arabidopsis thaliana*. Plant Biology ISSN, 1435-8603.
9. Esfandiari, E., F. Shekari and M. Esfandiari. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Journal of Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 35: 48-56.
10. Filippi, L.D., M. Fournier, E. Cameroni, P. Linder, C.D. Virgilio, M. Foti and O. Deloche. 2007. Membrane stress is coupled to a rapid translational control of gene expression in chlorpromazine-treated cells. Curr Genetics, 52: 171-185.

11. Grmaetxe, I., P.R. Escurede and C. Arrese-Igor. 1998. Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. *Plant Physiology*, 116: 173-181.
12. Guy, C. 1999. Molecular responses of plants to cold shock and cold acclimation. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 1: 231-242.
13. Hai-qing, Z., Z. Ying-bin, X. Guo-chao and X. Yuan-fu. 2007. Effect and Mechanism of Cold Tolerant Seed-Coating Agents on the Cold Tolerance of Early Indica Rice Seedlings. *Agricultural Sciences in China*, 6: 792-801.
14. Huilian, U., I. Shii and H. Xu. 1996. Wheat cultivar differences in photosynthetic response to low soil water potentials, maintainance of photosynthesis and leaf water potential. *Japanese Journal of Crop Science*, 65: 509-517.
15. Hussein, S.H. and N. Terry. 2002. Phyto-monitoring the unique colonization of oil-contaminated saline environment by *Limoniastrum monopetalum* L. Boiss in Egypt. *Journal of Environment International*, 28: 127-135.
16. Khajeh Poor, M.R. 2012. Industrial plants. 5th edn. Isfahan University Press, Isfahan, Iran, 564 pp (In Persian).
17. Kirnak, H., C. Kaya, I. TAS and D. Higgs. 2001. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in egg plants. *Plant Physiology*, 27: 34-46.
18. Levitt, J. 1980. Salt and ion stresses response of plant to environmental stresses. *Academic press*, 2: 365-88.
19. Loggini, B., A. Scartazza, E. Brugnoli and F. Navari-Izzo. 1999. Antioxidative defense system pigment composition and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to Drought. *Plant Physiology*, 119: 1091-1100.
20. Mantri, N.L., R. Ford, T.E. Coram and E.C.K. Pang. 2007. Transcriptional profiling of chickpea genes
21. Pandey, R. and R.M. Agarwal. 1998. Water stress-induced change in proline contents and nitrate reductase activity in rice under light and dark condition. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 4: 53-57.
22. Pennycooke, J.C., S. Cox and C. Stushnoff. 2004. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia hybrida*). *Journal of Environmental & Experimental Botany*, 53: 225-232.
23. Peretiemo-Clarke, B.O. and F.I. Achuba. 2007. Phytochemical effect of petroleum on peanut (*Arachis hypogea*) seedlings. *Journal of Plant Pathology*, 6: 179-182.
24. Porra, R.J. 2002. The cheque red history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, 73: 149-156.
25. Rahimzadeh, M., D. Habibi, H. Madani, H. Mohammadi, A. Mehraban and A.M. Sabet. 2007. The effect of micronutrients on antioxidant enzymes metabolism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under drought stress. *Journal of Helia*, 47: 167-174.
26. Smirnoff, N. and Q.J. Cumbes. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Journal of Phytochemistry*, 28: 1057-1060.
27. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondialdehyde content during re-watering in olive tree. *Plant Science*, 166: 293-30.
28. Stewart, R.C. and J.D. Beweley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65: 245-248.
29. Teulate, B., D. Rekika, M. Nachit and P. Monnerux. 1997. Comparative osmotic adjustments in barley and tetraploid wheats. *Plant Breeding*, 116: 519-523.
30. Verbruggen, N. and C. Hermans. 2008. Proline accumulation in plants. *Journal of Amino Acids*, 35: 753-759.
31. Wang, X., G. Fang, Y. Li, M. Ding, H. Gong and Y. Li. 2013. Differential antioxidant responses to cold stress in cell suspension cultures of two subspecies of rice. *Plant Cell Tissue Organisms Culture*, 113: 353-361.
32. Xin, Z. and J. Browse. 1998. Eskimo1 mutants of Arabidopsis are constitutively freezing-tolerant. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 95: 7799-7804.
33. Xin, Z. and J. Browse. 2000. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. *Plant Cell Environ*, 23: 893-902.
34. Xin, Z., A. Mandaokar, J. Chen, R.L. Last and J. Browse. 2007. Arabidopsis ESK1 encodes a novel regulator of freezing tolerance. *The Plant Journal*, 49: 786-799.
35. Yan, S.P., Q.Y. Zhang, Z.C. Su, W.A. Tang and W.N. Sun. 2005. Comparative proteomic analysis provides new Insights into Chilling Stress Responses in Rice. *American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.*
36. Zhang, X.Y., C. Liang, G.P. Wang, Y. Luo and W. Wang. 2010. The protection of wheat plasma membrane under cold stress by glycine betaine overproduction. *Biologia Plantarum*, 54: 83-88.

Evaluated of Effect of Cold Stress on Proline, Malondialdehyde and Photosynthetic Pigments in Seedling Stage of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Genotypes

Fereshteh Aki¹, Seyyed Kamal Kazemitabar², Seyyed Hamidreza Hashemi³ and Hamid Najafi Zarini³

1- M.Sc. Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

(Corresponding author: akifereshteh1992@gmail.com)

2 and 4- Associate Professor and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

3- Ph.D. Student, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan

Received: June 13, 2015 Accepted: December 22, 2015

Abstract

Sesame (*Sesamum indicum* L.) is one of tropical plants that sensitive to cold. In order to evaluate the tolerance of different genotypes of sesame to cold stress and effect of cold on their physiological characteristics, an experiment was conducted using a completely randomized design on ten genotypes including Varamin, Qa'im, Ultan, Yekta, Dashtestan 2, Darab 1, Naz Takshakheh, Naz Chandshakheh, Jahad and Nishapur with three replications. The genotypes exposed three days in 8°C and the leaf samples were prepared at 0 (pre-stress), 6, 12, 24 and 48 hours. The highest amount of chlorophyll *a* was measured in Naz Chandshakheh, and the lowest amount was in Varamin and then was in Nishapur genotype after 48 hours. About chlorophyll *b*, the Naz Chandshakheh and after it, Jahad genotypes had the highest and the Nishapur genotype had the lowest amount after 72 hours. The amount of carotenoids, just in time zero and the beginning of stress (6), a significant difference was observed among genotypes and with advancing the stress, changes in ten genotypes carotenoids in such a way that no significant differences were found. The process of proline changes was incremental and proline accumulation found during cold stress in all genotypes. The difference between genotypes in stress and non-stress (time zero) conditions was significant and the highest amount of proline accumulated in Naz Chandshakheh and the lowest found in the Nishapur genotype at all times. The changes of malondialdehyde (MDA) was different in the genotypes at all times and the Nishapur and then Darab 1 genotype had the highest and the Naz Chandshakheh genotype had the lowest amount of MDA at the end of cold stress duration, which represent respectively the maximum and minimum damage to the membrane. The cold stress leads to loss of intracellular water of leaves and thus, the concentration of photosynthetic pigments increased. On the other hand, the lost water is used to interactions, such as the synthesis of proline and its levels has increased under the stress. As well as damage to the membrane, causing exit substances such as MDA that due to these factors finally, the Naz Chandshakheh and the Nishapur genotype introduced respectively as cold tolerant and cold sensitive cultivar.

Keywords: Cold stress, Malondialdehyde, Photosynthetic pigments, Proline, Sesame