

اثر محلول پاشی هورمون‌های اکسین، اسید ابسیک و سایتوکاینین بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد سه ژنوتیپ برنج در شرایط تنش دمای پایین  
Effect of foliar application of auxin, abscisic acid and cytokinin hormones on grain yield and yield components of three rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under low temperature stress conditions

فرهاد محبتی<sup>۱</sup>، فواد مرادی<sup>۲</sup>، فرزاد پاک نژاد<sup>۳</sup>، سعید وزان<sup>۴</sup>، داود حبیبی<sup>۴</sup> سعیده بهنیا<sup>۵</sup> و هاشم پورایراندوست<sup>۵</sup>

چکیده

محبتی، ف.، ف. مرادی، ف. پاک نژاد، س. وزان، د. حبیبی، س. بهنیا و ه. پورایراندوست. ۱۳۹۱. اثر محلول پاشی هورمون‌های اکسین، اسید ابسیک و سایتوکاینین بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد سه ژنوتیپ برنج در شرایط تنش دمای پایین. *مجله علوم زراعی ایران*. ۱۴(۱): ۷۱-۵۸.

به منظور بررسی تاثیر محلول پاشی هورمون‌های اکسین (IAA)، اسید ابسیک (ABA) و سایتوکاینین (CK) بر عملکرد و اجزای عملکرد برنج در دمای پایین آزمایشی به صورت آبکشت در سال ۱۳۸۷ در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج اجرا گردید. در این آزمایش دو ژنوتیپ برنج خارجی متحمل (شماره‌های ۳۳: IR72944-1-2-2 و ۳۴: IR73688-57-2) و یک رقم داخلی حساس به دمای پایین (هویزه) با استفاده از هورمون‌های اکسین، اسید ابسیک و سایتوکاینین محلول پاشی شده و سپس به مدت ۱۴ روز در دو شرایط دمای شاهد ۲۹/۲۲ (شب/روز) درجه سانتیگراد و دمای پایین ۱۵/۱۳ (شب/روز) درجه سانتیگراد در فیتوترون قرار داده شدند. صفات وزن دانه در کپه، تعداد خوشه‌چه در خوشه، درصد باروری خوشه، تعداد کل پنجه و تعداد پنجه بارور به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. از نظر تحمل تنش دمای پایین، بین ارقام اختلاف معنی داری وجود داشت. در تیمار شاهد و بدون هورمون پاشی، وزن دانه در کپه رقم هویزه ۲۶/۲ گرم بود که در تیمار تنش به ۱/۴ گرم کاهش یافت، در حالی که مقادیر آن در تیمارهای محلول پاشی با اکسین، اسید ابسیک و سایتوکاینین به ترتیب ۲۰/۸، ۲۴/۱ و ۳۰/۴ گرم بود. سایتوکاینین در شرایط شاهد نیز باعث افزایش این صفت در رقم مذکور شد و مقدار آن را از ۲۶/۲ گرم در تیمار بدون محلول پاشی به ۴۰/۱ گرم افزایش داد. بین ژنوتیپ و هورمون اثرات متقابل معنی داری مشاهده گردید. هورمون‌های مورد استفاده در شرایط تنش مانع از کاهش وزن دانه در کپه شدند. هورمون پاشی در تنش دمای پایین باعث افزایش معنی دار وزن دانه در کپه گردید. در رقم هویزه در شرایط تنش دمای پایین، محلول پاشی با هورمون‌های اکسین، اسید ابسیک و سایتوکاینین به ترتیب باعث افزایش ۹۴/۱، ۹۳/۳ و ۹۵/۴ درصدی وزن دانه در کپه و همچنین افزایش ۸۵/۵، ۸۲/۳ و ۸۵/۵ درصدی تعداد پنجه بارور نسبت به تیمار بدون هورمون پاشی شدند. افزایش ۱۴/۴ درصدی تعداد خوشه‌چه در خوشه در اثر سایتوکاینین در تنش دمای پایین در رقم هویزه مشاهده شد. براساس نتایج آزمایش حاضر بنظر می‌رسد که میزان و تعادل بین هورمون‌ها، یکی از مهم‌ترین عوامل موثر تحمل به تنش دمای پایین در برنج است.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنش دمای پایین، وزن دانه و هورمون.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱/۲۸

- ۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد کرج
- ۲- استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: foadmoradi@yahoo.com)
- ۳- دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
- ۴- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
- ۵- کارشناس پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

## مقدمه

پایین است (Bodapati, 2005). گیاهان اسید افسزیک را به طور عمدۀ به منظور کنترل هدایت روزنه‌ای و کاهش شدت تنش تولید می‌کنند (Stoll *et al.*, 2000). مصرف خارجی اسید افسزیک در ذرت (Anderson *et al.*, 1994)، گندم (Dallaire *et al.*, 1994)، کلزا (Johnson-Flanagan *et al.*, 1991) و نخود (Bakht *et al.*, 2006) باعث افزایش تحمل به دمای پایین گردید. در گیاه نخود تیمار شده با اسید افسزیک، ماندگاری گل‌ها در تنش دمای پایین به طور معنی‌داری افزایش یافت (Kumar *et al.*, 2008). در شرایط تنش، مصرف اسید افسزیک در گندم، به دلیل حفظ مقادیر زیادی کلروفیل و محتوای آب نسبی و در نتیجه حفظ فتوسنتز، باعث افزایش عملکرد دانه شد (Travaglia *et al.*, 2007).

نتایج آزمایش‌های انجام شده روی برنج ژاپونیکا نشان داده است که مصرف اکسین خارجی (*Exogenous*) منجر به فعالیت گروهی از ژن‌ها (*Auxin response elements*) و تولید پروتئین‌ها (*Auxin-induced proteins*) در چند ساعت اولیه تنش دمای پایین شده و در نهایت باعث تحمل گیاه به تنش می‌گردد. به این ژن‌ها اصطلاحاً ژن‌های واکنش سریع اولیه (*Rapid early response genes*) گفته می‌شود (Cheng *et al.*, 2007).

سایتوکاینین‌ها برای حفظ فعالیت مرستم‌ها و رشد و توسعه برگ در شاخساره گیاه مورد نیاز هستند. مصرف سایتوکاینین در مراحل مختلف توسعه برگ لوبیا نشان داد که این هورمون باعث به تاخیر افتادن تخریب کلروفیل می‌شود (Fletcher *et al.*, 1970). مصرف سایتوکاینین‌های خارجی باعث افزایش پنجه زنی در گیاهان برگ باریک مانند گندم، یولاف و جو می‌گردند (Liu *et al.*, 2001). نتایج آزمایش‌های شریف و دال (Sharif and Dale, 1980) روی جو نشان داد که مصرف سایتوکاینین در ریشه‌ها باعث

گیاه برنج می‌تواند در دماهای بین ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتیگراد بطور عادی رشد کند و دماهای بحرانی برای آن به نوع ژنوتیپ، دوام دمای بحرانی، تغییرات دوره‌ای و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه بستگی دارد (Yoshida, 1981). دمای پایین، حتی در مرحله استقرار گیاه و توسعه پنجه (مرحله رویشی) می‌تواند رشد و نمو گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. تنش دمای پایین یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاه برنج در شالیزارهای ایران است و هر ساله باعث ایجاد خسارت در خزانه و مراحل اولیه رشد گیاه، در تاریخ‌های کاشت متداول برنج به خصوص در شمال کشور می‌شود و برطرف شدن این مشکل، سبب افزایش تولید محصول برنج خواهد شد (Hassibi, 2007). مراحل جوانه زنی و استقرار گیاهچه، حساس‌ترین مراحل رشدی برنج نسبت به دمای پایین می‌باشند و همبستگی بالایی بین تحمل به دمای پایین در مراحل گیاهچه‌ای و زایشی گزارش شده است (Naidu *et al.*, 2005). نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که فتوسنتز پس از مدت کوتاهی (بین چند ساعت تا چند روز در اثر دمای پایین کاهش می‌یابد) (Shimono *et al.*, 2004). گزارش شده است که استفاده از اسید افسزیک در سبب زمینی (Chen *et al.*, 1979) و یونجه آبکشت (Rikin *et al.*, 1975) و گیاهچه‌های چاودار (Churchill *et al.*, 1998) باعث افزایش معنی‌دار سازگاری آنها به دمای پایین گردید. تنش دمای پایین، به دو طریق بر رشد و عملکرد گیاه برنج تاثیر می‌گذارد. در وهله اول طی نمو و تمایز خوشه، عملکرد بالقوه و توان باروری خوشه‌چه‌ها تعیین می‌شود، تنش منجر به کاهش تعداد دانه می‌گردد (Takeoka *et al.*, 1992)؛ همچنین به علت آسیب دیدن دستگاه فتوسنتزی، تولید مواد پرورده کاهش یافته و عملکرد به طور مستقیم آسیب می‌یابد (Smillie *et al.*, 1988). اسید افسزیک دارای نقش اساسی و مهم در کاهش عقیمی در دمای

مراحل آغازش خوشه تا رسیدگی کامل است. بذور خشک (مرحله S0) ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر خیسانده شده و سپس به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه سانتیگراد، چرخه نوری ۱۲ ساعت روشنایی / تاریکی با شدت ۷۵ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و رطوبت نسبی ۷۵ درصد در ژرمیناتور جوانه دار شدند (مرحله S3-S0). کاشت بذور بر اساس روش گریگوریو و همکاران انجام شد (Gregorio *et al.*, 1997). سه عدد بذر جوانه‌دار (بین مراحل V1-V3) در روی توری هر یک از سوراخ‌های تعبیه شده در صفحه یونولیتی ظرف ۱۸ لیتری حاوی آب مقطر کاشته شده و پس از سه روز (در مرحله V3-V2)، آب مقطر با محلول یوشیدا (Yoshida, 1981) جایگزین شد و پس از آن به فیتوترون با دمای ۲۹/۲۲ (شب/روز) با رطوبت نسبی  $70 \pm 5$  درصد و طول روز ۱۲ ساعت شب/روز، با شدت تابش  $600 \pm 100$  میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه، منتقل شدند. هورمون پاشی یک‌بار و زمانی که گیاهچه در مرحله حدود پنج برگی (V5) بودند، با غلظت ۱۰۰ میکرومولار در کل سطح اندام هوایی انجام گرفت. در تیمار شاهد دمایی، کلیه بوته‌ها به مدت ۲۸ روز در همین شرایط نگهداری شدند، درحالی‌که در تیمار تنش دمایی پایین، دمای فیتوترون به مدت دو هفته تا ۱۵/۱۳ درجه سانتیگراد (شب/روز) کاهش داده شد، سپس (از مرحله V12 به بعد) دما دوباره به حالت اولیه برگشت داده شد تا یک مرحله بازبازی پس از تنش صورت گیرد. گیاهان تا مرحله برداشت (R9) در شرایط دمایی شاهد قرار داده شدند. در پایان فصل رشد نیز برداشت صورت گرفته و در هر گُبه، وزن دانه، وزن هزاردانه، تعداد خوشه‌چه در خوشه، درصد باروری خوشه، تعداد کل پنجه‌ها، تعداد پنجه‌های بارور در دو تیمار دمایی اندازه‌گیری شدند. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزارهای Excel، Minitab، SAS و MSTATC انجام شدند.

تحریک رشد جوانه‌های پنجه می‌شود. سایتوکاینین‌ها نقش اساسی در تغذیه گیاهان داشته و در تبدلات گازی روزنه در تنش آبی اثر دارند (Goicoechea *et al.*, 1995). کاهش میزان عملکرد احتمالا به دلیل اختلال در فرایند فتوسنتز و محدودیت قابلیت دسترسی به مواد پرورده در اثر تنش دمایی پایین است (Ying *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2001).

این آزمایش به منظور تعیین میزان تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین، اسید ایزوزیک و سایتوکاینین بر عملکرد دانه و اجزای عملکرد سه ژنوتیپ برنج در شرایط تنش دمایی پایین و بررسی میزان نقش آنها در افزایش عملکرد دانه در دمای پایین، انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این آزمایش که در سال ۱۳۸۶ در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج انجام شد، دو ژنوتیپ برنج با شماره‌های ۳۳ (IR72944-1-2-2) و ۳۴ (IR73688-57-2) از سری خزانه بین‌المللی ارقام برنج متحمل به تنش دمایی پایین ارسالی از انستیتو بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) که بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش حسیبی (Hassibi, 2007) به عنوان متحمل به دمای پایین معرفی شده بودند، به همراه برنج رقم هویزه (حساس به دمای پایین) مورد ارزیابی قرار گرفتند. سه ژنوتیپ در دو سطح دمایی، شاهد ۲۹/۲۲ (شب/روز) و دمای پایین ۱۵/۱۳ (شب/روز) درجه سانتیگراد و سه نوع هورمون شامل اکسین، اسید ایزوزیک، سایتوکاینین و شاهد (بدون هورمون) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمایش مراحل فنولوژیکی بر اساس روش کانس و همکاران (Counce *et al.*, 2000) تعریف شدند که در آن S0 بذر خشک، S3 زمان خروج ساقه‌چه از کلئوپتیل، V1-V12 مراحل تشکیل یقه (Collar) روی برگ اول تا برگ دوازدهم و R0-R9

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اجزای عملکرد سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای دمایی و هورمون پاشی

Table 1. Analysis of variance for yield components of three rice genotypes under temperature and hormonal treatments

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات (MS)					
			وزن دانه در کپه Grain.hill <sup>-1</sup>	وزن هزار دانه 1000 grain weight	تعداد خوشه چه در خوشه Spikelet.panicle <sup>-1</sup>	درصد باروری Panicle fertility	تعداد پنجه کل No. total tiller	تعداد پنجه بارور No. fertile tiller
Temperature (T)	دما	1	368**	5.1 ns	6176**	154**	15.8 ns	195.5**
Hormone (H)	هورمون	3	405**	1.1 ns	179 ns	77**	281.1**	199.7**
Genotype (G)	ژنوتیپ	2	1097**	113.8**	5533**	659**	176.6**	54.6**
(T×H)	دما × هورمون	3	213**	4.3 ns	693**	40 ns	149.4**	47.0**
(T×G)	ژنوتیپ × دما	2	680**	4.1 ns	943**	750**	37.9*	60.5**
(H×G)	ژنوتیپ × هورمون	6	171**	4.4 ns	800**	150**	78.8**	56.0**
(T×H×G)	ژنوتیپ × هورمون × دما	6	46*	2.3 ns	485**	100**	197.3**	29.0**
Error (E)	خطای آزمایشی	72	16	2.4	117	30	9.6	7.5
C.V (%)	ضریب تغییرات		21.2	7.82	12.29	6.74	13.39	27.67

ns: Not significant

\*, \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

ns: غیر معنی دار

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

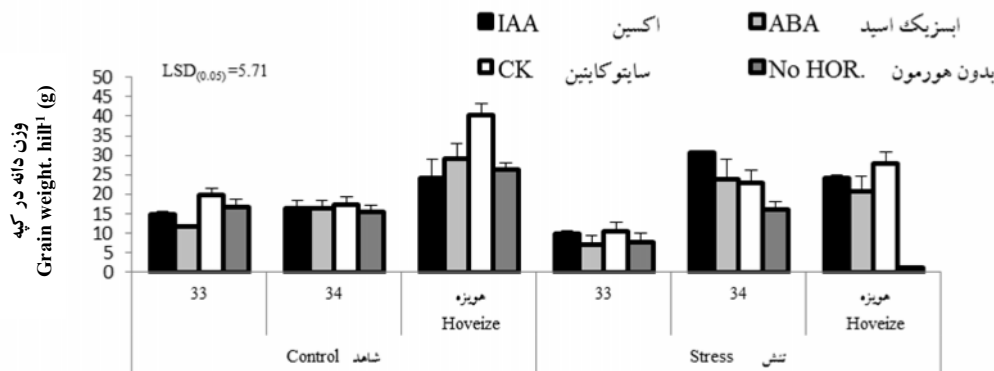
## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که دما، جز بر وزن هزار دانه و تعداد کل پنجه‌ها، روی سایر صفات اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). هورمون پاشی نیز غیر از وزن هزاردانه و تعداد خوشه‌چه در خوشه، اثر معنی‌داری بر سایر صفات مرتبط با عملکرد داشت. اثر متقابل دما در هورمون، دما در ژنوتیپ، هورمون در ژنوتیپ و همچنین اثرات متقابل سه گانه، به جز وزن هزار دانه، در مورد بقیه صفات معنی‌دار بودند (جدول ۱).

### وزن دانه در کپه

دمای پایین باعث کاهش معنی‌دار وزن دانه در کپه گردید. همانطور که پرز و همکاران (Pérez *et al.*, 2001)، قبلاً گزارش کرده‌اند، به نظر می‌رسد که یکی از عوامل اصلی این کاهش، اثر بازدارندگی تنش دمای پایین بر تولید و قابلیت دسترسی گیاه به مواد پرورده بوده است. حسیبی (Hassibi, 2007)، نیز اعلام نمود که دمای پایین، مراحل نموی و فتوسنتز گیاه برنج را مختل کرده و عملکرد دانه را کاهش می‌دهد. وزن دانه در کپه ژنوتیپ‌های خارجی در شرایط شاهد در تیمارهای هورمونی و غیر هورمونی کمتر از هویزه بود. وزن دانه در کپه رقم هویزه در تنش دمای پایین و بدون هورمون پاشی به طور بسیار معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. در شرایط تنش، در ژنوتیپ ۳۳ هورمون پاشی موثر نبود. در تیمار شاهد دمایی، هورمون سایتوکاینین اثر معنی‌داری بر افزایش وزن دانه در کپه ژنوتیپ ۳۳ داشت. در ژنوتیپ ۳۴ نیز در شرایط تنش دمای پایین، هر سه هورمون باعث افزایش معنی‌دار وزن دانه در کپه شدند و نقش هورمون اکسین بیشتر از اسید ایزوزیک و آن نیز بیشتر از سایتوکاینین بود، ولی با توجه به اینکه رقم مذکور، متحمل به دمای پایین می‌باشد، حتی در تیمار بدون هورمون پاشی و در شرایط

تنش نیز وزن دانه در کپه بالاتری نسبت به هویزه داشت (شکل ۱). در تیمار شاهد در هویزه و ژنوتیپ ۳۳، هورمون سایتوکاینین بیش از سایر هورمون‌ها وزن دانه در کپه را افزایش داد ولی در رقم هویزه، این افزایش در اثر هورمون مذکور کاملاً مشهود و معنی‌دار بود. در رقم هویزه کمترین مقدار وزن دانه در کپه مربوط به تیمار بدون هورمون پاشی در شرایط تنش دمای پایین بود، در حالیکه در تیمارهای هورمون پاشی، این کاهش مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که هورمون پاشی تاثیر دمای پایین را کاهش داده و وزن دانه در کپه، کاهش معنی‌داری نداشته است (شکل ۱). در رقم هویزه، هورمون سایتوکاینین بیشترین تاثیر را در افزایش وزن دانه در کپه در تیمار شاهد دمایی داشت. در شرایط شاهد و در تیمار بدون هورمون پاشی، وزن دانه در کپه رقم هویزه بیشتر از سایر ارقام بود و با هورمون پاشی با هر یک از هورمون‌های سایتوکاینین و اسید ایزوزیک، وزن دانه در کپه آن بالاتر رفت. این موضوع نشان می‌دهد که ارقام مختلف در شرایط دمایی مختلف به یک هورمون خاص واکنش نشان می‌دهند، بطوری که در شرایط تنش، سایتوکاینین و اکسین باعث افزایش این صفت به ترتیب در هویزه و ۳۴ شدند. در همه ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در تیمار شاهد، هورمون سایتوکاینین بیشترین تاثیر را در افزایش وزن دانه در کپه نسبت به سایر تیمارهای هورمونی داشت که به ویژه در هویزه آشکارتر بود (شکل ۱). به نظر می‌رسد که استفاده از آن را بتوان حتی در شرایط معمول و دمای عادی هم توصیه نمود. با توجه به این موضوع که سایتوکاینین‌ها نسبت منبع-مخزن را تغییر می‌دهد، به نظر می‌رسد که سایتوکاینین در تنش دمای پایین باعث بارگیری و جهت‌گیری مقادیر زیادی مواد پرورده به سمت دانه‌ها شده، تعداد دانه‌های پر را افزایش داده و از این طریق وزن دانه در کپه را افزایش داده است.



اثر متقابل دما×هورمون×ژنوتیپ برنج  
Temperature×hormone×rice genotype interactions

شکل ۱ - وزن دانه در کپه در شرایط دمایی پایین و شاهد در سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای محلول پاشی هورمونی

Fig. 1. Grain weight.hill<sup>-1</sup> under control and low temperatures stress in three rice genotypes with hormonal treatments

شده است.

### وزن هزاردانه

با توجه به اینکه وزن هزار دانه در اثر سرما تفاوت معنی داری نسبت به شاهد نشان نداد و تاثیر هورمون‌ها نیز روی آن معنی دار نبود و همچنین با توجه به معنی دار بودن این صفت، تنها در بین ژنوتیپ‌ها (جدول ۱) به نظر می‌رسد که این مؤلفه، بیشتر تحت تاثیر ژنوتیپ بوده و سرما روی آن تاثیر نداشته باشد.

### تعداد خوشه‌چه در خوشه

تنش سرما باعث کاهش معنی دار تعداد خوشه‌چه در خوشه از ۱۰۳ به ۷۶ عدد (کاهش حدود ۲۶ درصد) گردید. هورمون پاشی در شرایط شاهد در همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی تاثیری بر تعداد خوشه‌چه در خوشه نداشت (شکل ۲). در تیمار تنش دمایی پایین، در ژنوتیپ ۳۳، هورمون اکسین و در ژنوتیپ ۳۴، هورمون‌های اکسین و سایتوکالین، باعث افزایش معنی دار تعداد خوشه‌چه در خوشه شدند. در رقم هویزه هورمون‌های اکسین و اسید ابسزیک باعث کاهش این صفت شده، در حالیکه سایتوکالین به طور معنی داری منجر به افزایش ۱۴/۴ درصدی این صفت شد (جدول ۲).

در رقم هویزه در شرایط تنش، محلول پاشی هورمون‌های اکسین، اسید ابسزیک و سایتوکالین به ترتیب باعث افزایش ۹۴/۱، ۹۳/۳ و ۹۵/۴ درصدی وزن دانه در کپه نسبت به تیمار بدون هورمون پاشی شدند که این افزایش بسیار معنی دار بود (جدول ۲). در شرایط تنش دمایی پایین، تیمارهای هورمونی باعث افزایش معنی دار وزن دانه در کپه نسبت به تیمار بدون هورمون پاشی شدند (شکل ۱). تیمار سایتوکالین حتی در شرایط شاهد (بدون تنش) نیز باعث افزایش قابل ملاحظه وزن دانه در کپه گردید که احتمالاً به دلیل تاثیر سایتوکالین بر بهبود روند انتقال مواد پرورده از منبع به مخزن و دانه‌های در حال پر شدن می‌باشد؛ این موضوع توسط کمولینگ (Schmülling, 2004) نیز گزارش شده است. یانگ و همکاران با تیمار گیاهان برنج با اسید ابسزیک به وزن دانه بیشتری دست یافتند (Yang et al., 2003). گزارش شده است که تیمار گیاه جو با اسید ابسزیک، باعث حفظ کلروفیل و پایداری دستگاه فتوسنتزی می‌شود (Ivanov et al., 1992)، شاید بتوان گفت که تداوم فتوسنتز و انتقال مواد تولید شده در شرایط تنش، در اثر هورمون اسید ابسزیک باعث افزایش وزن دانه‌ها و نهایتاً افزایش وزن دانه در کپه

" اثر محلول پاشی هورمون‌های اکسین، اسید ابسزیک....."

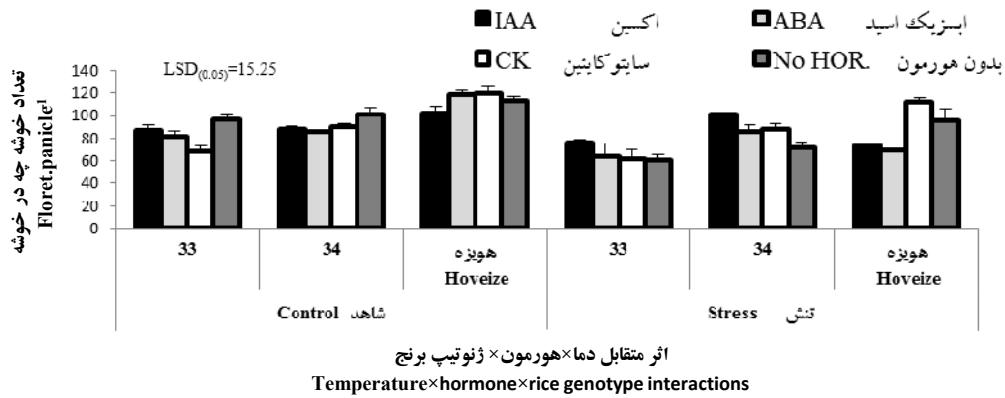
جدول ۲- مقایسه میانگین صفات گیاهی سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای دمای پایین و شاهد در اثر متقابل تیمارهای ژنوتیپ × دما × محلول پاشی هورمون‌های اکسین، اسید ابسزیک و سایتوکاینین

Table 2. Mean comparison (Duncan's test) of triple interactions of genotype, temperature and hormone application on plant characteristics of three rice genotypes

under low temperature stress and control						
ژنوتیپ برنج Rice genotype	هورمون Hormone	دما Temperature	وزن دانه در کپه Grain.hill <sup>-1</sup>	تعداد خوشه‌چه در خوشه No. floret.panicle <sup>-1</sup>	درصد باروری Panicle fertility	تعداد پنجه بارور No. fertile tiller
33	اکسین	شاهد Control	16.2±0.19	87.0±10.61	71.8±6.78	15.5±2.38
	AUX	تنش Stress	10.0±1.13	75.5±7.59	89.3±3.87	13.8±2.06
	اسید ابسزیک	شاهد Control	11.8±0.76	81.8±10.44	76.3±5.87	20.5±2.65
	ABA	تنش Stress	7.1±4.65	64.0±21.95	85.2±0.90	13.5±2.38
	سایتوکاینین	شاهد Control	20.7±2.00	68.3±11.00	80.4±4.05	18.5±4.80
	CK	تنش Stress	10.6±4.59	61.5±17.60	89.4±8.54	11.0±1.83
34	بدون هورمون	شاهد Control	18.4±1.49	97.3±6.85	79.7±4.46	17.3±2.99
	No Hormone	تنش Stress	7.8±4.29	60.3±10.63	81.4±2.94	10.3±3.78
	اکسین	شاهد Control	14.5±0.48	87.8±6.19	88.6±7.41	22.5±2.65
	AUX	تنش Stress	30.6±0.74	101.3±3.40	87.7±2.88	20.8±2.06
	اسید ابسزیک	شاهد Control	18.3±1.32	85.5±5.07	79.1±4.34	20.3±1.71
	ABA	تنش Stress	23.9±10.27	86.0±11.61	83.3±3.34	17.5±3.79
هویزه Hoveize	سایتوکاینین	شاهد Control	18.9±0.90	90.0±6.68	81.6±8.54	15.3±2.50
	CK	تنش Stress	23.0±6.45	88.3±9.85	95.8±1.39	11.8±0.96
	بدون هورمون	شاهد Control	15.5±3.40	101.0±12.96	82.3±1.10	14.5±3.32
	No Hormone	تنش Stress	16.2±3.65	71.8±9.91	92.3±5.38	13.0±0.82
	اکسین	شاهد Control	27.3±5.64	102.3±12.58	79.0±7.45	14.0±2.58
	AUX	تنش Stress	24.1±1.56	73.5±3.11	77.4±6.76	19.3±2.06
هویزه Hoveize	اسید ابسزیک	شاهد Control	25.0±2.82	118.8±7.23	86.6±2.95	16.0±2.58
	ABA	تنش Stress	20.8±7.58	69.3±4.79	80.5±0.56	19.3±3.86
	سایتوکاینین	شاهد Control	40.1±5.86	119.5±12.34	83.2±8.45	16.0±2.71
	CK	تنش Stress	30.4±1.18	112.5±6.95	71.1±2.55	15.8±2.22
	بدون هورمون	شاهد Control	26.2±3.82	113.5±6.25	77.4±5.78	12.5±3.11
	No Hormone	تنش Stress	1.4±0.28	96.3±18.89	62.8±9.82	2.8±2.36

All values are means ± SD of three replicates

کلیه اعداد ± خطای معیار سه تکرار هستند



شکل ۲- تعداد خوشه چه در خوشه در شرایط دمای پایین و شاهد در سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای هورمونی

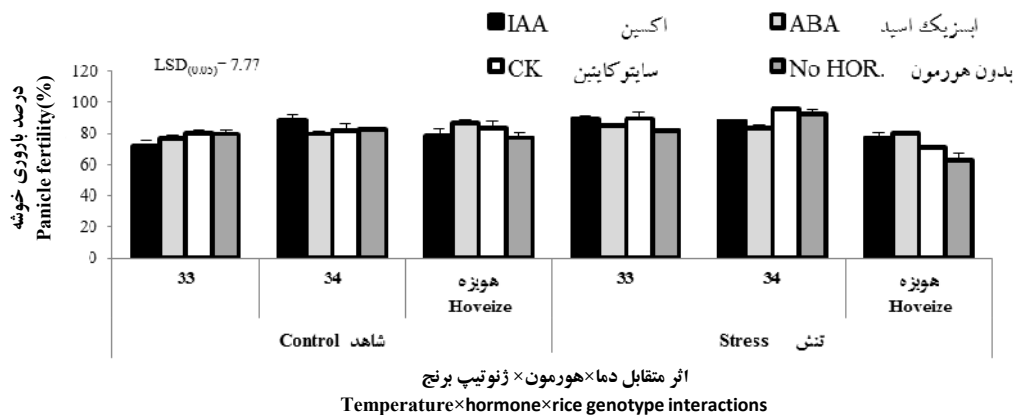
Fig. 2. The number of spikelet per spike under control and low temperatures stress in rice genotypes with hormonal treatments

تأثیری بر درصد باروری خوشه نداشت، ولی در ژنوتیپ ۳۳ باعث افزایش درصد باروری خوشه نسبت به تیمار بدون هورمون شد. بیشترین تأثیر در زمان محلول پاشی اکسین و اسید ابسیزیک دیده شد (شکل ۳). در رقم هویزه در تیمار تنش دمای پایین، محلول پاشی هر یک از هورمون ها باعث افزایش معنی دار درصد باروری خوشه شد، بطوری که محلول پاشی اکسین، اسید ابسیزیک و سایتوکائینین این صفت را به ترتیب ۱۸/۸، ۲۲ و ۱۱/۶ درصد افزایش دادند (جدول ۲). گزارش شده است که دمای پایین به دو طریق به گیاه برنج آسیب می رساند، به طوری که یا از طریق

به نظر می رسد که هورمون سایتوکائینین تنها در رقم هویزه و در شرایط تنش، با افزایش تعداد خوشه چه در خوشه باعث افزایش وزن نهایی دانه در کپه شده است. به طور کلی تأثیر هورمون پاشی بر روی تعداد خوشه چه در خوشه معنی دار نبوده و حتی در مواردی باعث کاهش آن نیز گردیده است (شکل ۲).

### درصد باروری خوشه

هورمون پاشی در تیمار شاهد در ژنوتیپ های ۳۳ و هویزه موثر نبود ولی در ژنوتیپ ۳۴، اکسین باعث افزایش درصد باروری خوشه گردید (شکل ۳). در تیمار تنش دمای پایین، هورمون پاشی در ژنوتیپ ۳۴



شکل ۳- درصد باروری خوشه در شرایط تنش دمای پایین و شاهد در سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای هورمونی

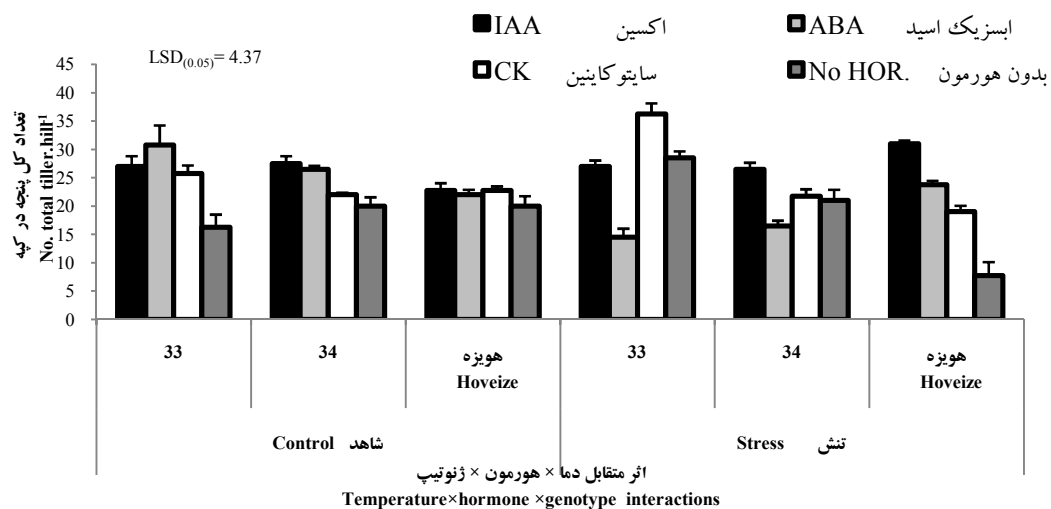
Fig. 3. Panicle fertility percentage under control and low temperatures stress in rice genotypes with hormonal treatments

ژنوتیپ ۳۳، اکسین و اسید ابسیزیک باعث کاهش معنی دار و سایتوکاینین باعث افزایش معنی دار تعداد پنجه‌ها گردید (شکل ۴). در ژنوتیپ ۳۴، اکسین باعث افزایش و اسید ابسیزیک باعث کاهش صفت مزبور شده و سایتوکاینین تاثیر معنی داری روی آن نداشت. در ژنوتیپ هویزه، اکسین، اسید ابسیزیک و سایتوکاینین به ترتیب باعث افزایش ۷۴/۸، ۶۷/۲ و ۵۸/۹ درصدی تعداد پنجه‌ها نسبت به تیمار بدون هورمون شدند که این افزایش معنی دار بود (جدول ۲).  
اثرات متقابل دما، هورمون و ژنوتیپ در ارتباط با

تاثیر مستقیم بر فرایندهای نموی محور شاخساره، باعث کاهش رشد دانه‌ها می‌گردد (Takeoka et al., 1992)، و یا با آسیب رساندن به دستگاه فتوسنتزی به دلیل کاهش تولید و انتقال کربوهیدرات‌ها و مواد پرورده به دانه‌های در حال رشد شده و عملکرد را کاهش می‌دهد (Bodapati, 2005).

#### تعداد پنجه‌ها

در تیمار شاهد، هورمون پاشی تاثیر چشمگیری روی این صفت نداشت، در حالی که در تیمار تنش دمای پایین وضعیت کاملا متفاوت بود، به طوری که در

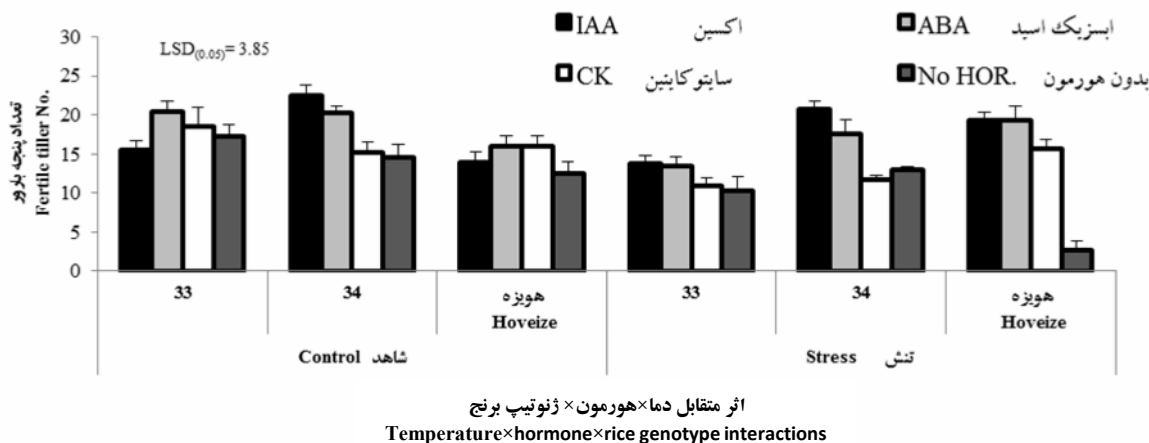


شکل ۴- تعداد کل پنجه‌ها در شرایط دمای پایین و شاهد در سه ژنوتیپ برنج و در تیمارهای هورمونی

Fig. 4. The number of total tiller under control and low temperatures stress in rice genotypes with hormonal treatments

سایتوکاینین و تیمار بدون هورمون باعث افزایش صفت یاد شده گردیدند. در حالیکه در ژنوتیپ ۳۴، اکسین بیش از اسید ابسیزیک و پس از آن سایتوکاینین باعث افزایش تعداد پنجه بارور نسبت به تیمار بدون هورمون پاشی شدند. در ژنوتیپ حساس هویزه کلیه تیمارهای هورمونی منجر به افزایش تعداد پنجه بارور نسبت به تیمار بدون هورمون شدند، بطوری که هورمون پاشی اکسین، اسید ابسیزیک و سایتوکاینین به ترتیب، افزایش ۸۵/۵، ۸۵/۵ و ۸۲/۳ درصدی را نسبت به تیمار بدون هورمون نشان دادند (شکل ۵ و جدول ۲). با توجه به

تعداد پنجه بارور در شکل ۵ نشان داده شده است. در تیمار شاهد، اسید ابسیزیک و سایتوکاینین باعث افزایش معنی دار تعداد پنجه بارور نسبت به سایر تیمارهای هورمونی در ژنوتیپ ۳۳ شدند. در ژنوتیپ ۳۴ نیز اکسین و اسید ابسیزیک و در هویزه اسید ابسیزیک و سایتوکاینین و پس از آن اکسین باعث افزایش معنی دار پنجه بارور نسبت به تیمار بدون هورمون شدند. در شرایط تنش دمای پایین، واکنش ارقام به هورمون‌ها متفاوت بود، به طوری که در ژنوتیپ ۳۳، اکسین و اسید ابسیزیک بیش از



شکل ۵- تعداد پنجه بارور در شرایط دمای پایین و شاهد در سه ژنوتیپ برنج در تیمارهای هورمونی

Fig. 5. The number of fertile tiller under control and low temperatures stress in rice genotypes with hormonal treatments

داد و تعداد پنجه بیشتر منجر به افزایش وزن دانه در کپه و یا جلوگیری از کاهش آن در تنش نسبت به شاهد گردید.

همبستگی بالایی بین تعداد پنجه های بارور و عملکرد دانه در برنج گزارش شده است (Kalaimani and Kadambavanasundaram, 1988; Rashid and Tahir, 2005). نتایج این آزمایش نشان داد که تیمارهای هورمونی بکار رفته در این آزمایش باعث بهبود وضعیت رشد و عملکرد گیاه شده و نهایتاً منجر به افزایش وزن دانه در کپه و یا جلوگیری از کاهش آن در شرایط تنش بویژه در رقم حساس هویزه شدند.

اثرات متقابل معنی دار بین ژنوتیپ های برنج مورد بررسی و هورمون ها در شرایط دمایی متفاوت، این فرضیه را مطرح می سازد که تفاوت های ژنتیکی موجود در ژنوتیپ های مختلف منجر به واکنش های متفاوت آنها در برابر تیمارهای هورمونی در مواجهه با تنش دمای پایین می گردد و هر ژنوتیپ از طریق سازوکارهای متفاوت و مختص به خود، به تنش کاهش دما پاسخ می دهد که این موضوع به بررسی های بیشتری نیاز دارد. هویزه، یک رقم پر محصول بومی خوزستان، در شرایط دمای عادی و بدون تنش بوده و عملکرد آن

همبستگی بالای این صفت با وزن دانه در کپه (داده ها ارائه نشده اند)، به نظر می رسد که یکی از دلایل اصلی افزایش وزن دانه در کپه توسط هورمون ها افزایش تعداد پنجه های بارور بوده است. لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2001) نیز مشاهده کردند که پنجه زنی در گندم، یولاف و جو در اثر محلول پاشی سایتوکاینین افزایش می یابد. محلول پاشی کایتین بر روی بخش هوایی بوته های یولاف باعث تحریک جوانه پنجه می شود (Harrison and Kaufman, 1980) و در مورد جونیز نتایج مشابهی گزارش شده است (Suge and Iwamura, 1993).

نتایج تحقیقات نشان دهنده اثر تحریک کننده سایتوکاینین بر پنجه زنی می باشد. اثرات مثبت سایتوکاینین روی پنجه زنی سایر غلات نیز گزارش شده است (Liu *et al.*, 2001). از طرف دیگر لیو گزارش کرده است که سایتوکاینین باعث افزایش نسبت پنجه های بارور به تعداد پنجه کل می گردد. بنابراین بنظر می رسد که سایتوکاینین می تواند از طریق افزایش پنجه زنی، وزن دانه در کپه را افزایش دهد. اکسین نیز با تحریک پنجه زنی، تعداد پنجه کل را نسبت به تیمار بدون هورمون پاشی افزایش

کوتاه مدت با محلول پاشی هورمون ها در مراحل ابتدایی رشد می توان آنها را به تنش سازگارتر نمود و برداشت محصول بهتری را تا حدود زیادی تضمین نمود و در بلند مدت با شناسایی ژنوتیپ های متحملی که تعادل هورمونی مطلوبی در شرایط تنش داشته باشند و نیز استفاده از آنها در برنامه های دورگ گیری، می توان ارقام پر محصول با کیفیت بالا و سازگار به شرایط نامساعد اقلیمی تولید نمود.

### تشکر و قدردانی

از راهنمایی ها و کمک دوستان ارجمند آقایان دکتر حمید محمدی و دکتر مجید قربانی و کارشناس محترمه بخش فیزیولوژی گیاهی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی خانم مهندس روشنگر سپهری صمیمانه تشکر می کنیم.

در تنش دمای پایین به شدت کاهش می یابد، ولی بهتر از سایر ارقام به هورمون پاشی واکنش نشان داد. در شرایط عدم تنش نیز هورمون سائتوکاینین باعث افزایش قابل ملاحظه وزن دانه در کپه در این رقم گردید. در تحقیق حاضر هورمون ها عمدتاً از طریق افزایش تعداد پنجه بارور، منجر به افزایش وزن دانه در کپه شدند و تاثیر این جزء از عملکرد در افزایش عملکرد بیش از سایر اجزا بود. نتایج این آزمایش به خوبی نشان داد که هورمون ها باعث افزایش و یا ثبات تولید دانه برنج، در زمان بروز تنش دمای پایین می شوند. به نظر می رسد که یکی از دلایل کاهش بقای ارقام موجود، محصول عدم تعادلی است که در ساخت یا توزیع هورمون ها به وجود می آید. از این نظر می توان دو راهکار کلی برای افزایش بقاء و تولید ژنوتیپ های برنج در زمان بروز تنش دمای پایین پیشنهاد نمود. در

### منابع مورد استفاده

### References

- Anderson, M. D., T. K. Prasad, B. A. Martin and C. R. Stewart. 1994. Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance. *Plant Physiol.* 105: 331-339
- Bakht, J., A. Bano and P. Dominy. 2006. The role of abscisic acid and low temperature in chickpea (*Cicer arietinum*) cold tolerance. II. Effects on plasma membrane structure and function. *J. Exp. Bot.* 57: 3707-3715
- Bodapati, N., T. Gunawardena and S. Fukai. 2005. Increasing cold tolerance in rice by selecting for high polyamine and gibberellic acid content. *In* A report for the Rural Industries Research and Development Corporation, Australia.
- Chen H. H., P. Gavinlertvatana and P. H. Li. 1979. Cold acclimation of stem-cultured plants and leaf callus of *Solanum* species. *Botanical Gazette.* 140: 142-147
- Cheng C., K-Y. Yun, H. Ransom, B. Mohanty, V. Bajic, Y. Jia, S. Yun, B and de los Reyes. 2007. An early response regulatory cluster induced by low temperature and hydrogen peroxide in seedlings of chilling-tolerant japonica rice. *BMC Genomics.* 8(175): 1-18.
- Churchill G. C., M. J. T. Reaney, S. R. Abrams and L. V. Gusta. 1998. Effects of abscisic acid and abscisic acid analogs on the induction of freezing tolerance of winter rye (*Secale cereale* L.) seedlings. *Plant Growth Regul.* 25: 35-45.
- Counce P. A., T. C. Keisling and A. J. Mitchell. 2000. A uniform, objective and adaptive system for

- expressing rice development. *Crop Sci.* 40: 436-443.
- Dallaire S., M. Houde, Y. Gagne, H. S. Saini, S. Boileau, N. Chevrier and F. Sarhan. 1994.** ABA and low temperature induce freezing tolerance via distinct regulatory pathways in wheat. *Plant Cell Physiol.* 35: 1-9.
- Fletcher R. A., G. Hofstra and N. O. Adedipe. 1970.** Effects of benzyladenine on bean leaf senescence and the translocation of <sup>14</sup>C-assimilates. *Physiol. Plant.* 23: 1144-1148.
- Goicoechea N., K. Dolezal, M. C. Antolin and M. Strnad. 1995.** Influence of mycorrhizae and rhizobium on cytokinin content in drought-stressed alfalfa. *J. Exp. Bot.* 46: 1543.
- Gregorio G. B., D. Senadhira and R. D. Mendoza. 1997.** Screening rice for salinity tolerance. International Rice Research Institute, Discussion paper series 22.
- Harrison M. and P. Kaufman. 1980.** Hormonal regulation of lateral bud (tiller) release in oats (*Avena sativa* L.). *Plant Physiol.* 66: 1123-1127.
- Hassibi, P. 2007.** Physiological investigation of low temperature stress effect on different rice genotypes during seedling stage. PhD Thesis, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University. 235p. (In Persian).
- Ivanov A. G., M. I. Kitcheva, A. M. Christov and L. P. Popova. 1992.** Effects of abscisic acid treatment on the thermostability of the photosynthetic apparatus in barley chloroplasts. *Plant Physiol.* 98: 1228-1232.
- Johnson-Flanagan A. M., Z. Huiwen, M. R. Thiagarajah and H. S. Saini. 1991.** Role of abscisic acid in the induction of freezing tolerance in *Brassica napus* suspension-cultured cells. *Plant Physiol.* 95: 1044-1048.
- Kalaimani S. and M. Kadambavanasundaram. 1988.** Correlation studies in rice (*Oryza sativa* L.). *Madras Argil. J.* 75: 380-383.
- Kumar S., G. Kaur and H. Nayyar. 2008.** Exogenous application of abscisic acid improves cold tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J. Agron. Crop Sci.* 194: 449-456.
- Liu Z., Y. Goto, I. Nishiyama and M. Kokubun. 2001.** Effects of foliar and root-applied benzylaminopurine on tillering of rice plants grown in hydroponics. *Plant Prod. Sci.* 4: 220-226.
- Pérez P., R. Morcuende, I. Martín del Molino, L. Sánchez de la Puente and R. Martínez Carrasco. 2001.** Contrasting responses of photosynthesis and carbon metabolism to low temperatures in tall fescue and clovers. *Physiol. Plantarum.* 112: 478-486.
- Rashid M. and G. Tahir. 2005.** Association analysis of some yield influencing traits in aromatic and non aromatic rice. *Pak. J. Bot.* 37: 613-627.
- Rikin A., M. Waldman, A. E. Richmond and A. Dovrat. 1975.** Hormonal regulation of morphogenesis and cold-resistance: I. Modifications by abscisic acid and by gibberellic acid in alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedlings. *J. Exp. Bot.* 26: 175-183.
- Schmülling T. 2004.** Cytokinin. In: Lennarz, W. and M. D. Lane (Eds.). *Encyclopedia of Biological Chemistry.* Amsterdam: Academic Press, Elsevier Science.
- Sharif R. and J. Dale. 1980.** Growth regulating substances and the growth of tiller buds in barley; effects of

cytokinins. J. Exp. Bot. 31: 921-930.

- Shimono H., T. Hasegawa, S. Fujimura and K. Iwama. 2004.** Responses of leaf photosynthesis and plant water status in rice to low water temperature at different growth stages. *Field Crops Res.* 89: 71-83.
- Smillie R. M., S. E. Hetherington, J. He and R. Nott. 1988.** Photoinhibition at chilling temperatures. *Func. Plant Biol.* 15: 207-222.
- Stoll M., B. Loveys and P. Dry. 2000.** Hormonal changes induced by partial root zone drying of irrigated grapevine. *J. Exp. Bot.* 51: 1627-1634.
- Suge H. and H. Iwamura. 1993.** Effect of cytokinin and anticytokinin on the tillering of barley. *Jpn. J. Crop Sci.* 62: 595-600.
- Takeoka Y., A. Al Mamun, T. Wada and P. B. Kaufman. 1992.** Reproductive adaptation of rice to environmental stress. Japan Scientific Societies Press Amsterdam: Elsevier, Tokyo.
- Travaglia C., A. C. Cohen, H. Reinoso, C. Castillo and R. Bottini. 2007.** Exogenous abscisic acid increases carbohydrate accumulation and redistribution to the grains in wheat grown under field conditions of soil water restriction. *J. Plant Growth Regul.* 26: 285-289.
- Yang J., J. Zhang, Z. Wang and Q. Zhu. 2003.** Hormones in the grains in relation to sink strength and postanthesis development of spikelets in rice. *Plant Growth Regul.* 41: 185-195.
- Ying J., E. A. Lee and M. Tollenaar. 2000.** Response of maize leaf photosynthesis to low temperature during the grain-filling period. *Field Crops Res.* 68: 87-96.
- Yoshida, S. 1981.** Fundamentals of Rice Crop Science. In: *Climate and Rice*. Los Baños (Philippines): International Rice Research Institute. p 87-88.

## Effect of foliar application of auxin, abscisic acid and cytokinin hormones on grain yield and yield components of three rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under low temperature stress conditions

Mohabbati F<sup>1</sup>., F. Moradi<sup>2</sup>, F. Paknejad<sup>3</sup>, S. Vazan<sup>3</sup>., D. Habibi<sup>4</sup>. S. Behneya<sup>5</sup>  
and H. Pour Irandoost<sup>5</sup>

### ABSTRACT

Mohabbati F., F. Moradi, F. Paknejad, S. Vazan., D. Habibi, S. Behneya and H. Pour Irandoost. 2012. Effect of foliar application of auxin, abscisic acid and cytokinin hormones on grain yield and yield components of three rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under low temperature stress conditions *Iranian Journal of Crop Sciences*. 14(1):58-71. (In Persian).

To study the effects of auxin (IAA), abscisic acid (ABA) and cytokinin (CK) hormones on grain yield and its components of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes under low temperature stress conditions, an experiment was conducted during 2008 in phytotron in Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran. Three rice genotypes (33: IR72944-1-2-2, 34: IR73688-57-2 as exotic cold-tolerant and Hoveizeh as Iranian cold-sensitive genotypes) were foliar-applied with IAA, ABA and CK hormones and treated with two temperatures conditions including; 22/29 °C (night/day) and 15/13 °C (night/day) as control and stress temperatures, respectively. Grain weight.hill<sup>-1</sup> (g), spikelet.spike<sup>-1</sup>, fertility (%), maximum tiller number, fertile tiller number were examined in a factorial experiment using completely randomized design (CRD) with four replications. Results showed that there were significant differences among the genotypes. Grain weight.hill<sup>-1</sup> of Hoveizeh cultivar was significantly higher in control (26.2 g) than stress (1.4 g) conditions. This trait showed a significant reduction in non-applied treatment as compared with hormonal treatments. IAA, ABA, and CK hormones, under stress conditions, increased grain weight.hill<sup>-1</sup> from 1.2 g to 24.1 g, 20.8 g and 30.4 g, respectively. Grain weight.hill<sup>-1</sup> under control temperature increased from 26.2 g in non-applied to 40.1 g in CK-applied treatment. There were significant interactions between genotypes and hormonal treatments. Application of hormones prevented the reduction of grain weight.hill<sup>-1</sup> under stress temperatures. Grain weight.hill<sup>-1</sup> of Hoveizeh cultivar with application of IAA, ABA and CK under stress conditions, showed 94.1%, 93.3% and 95.4% increases, respectively. IAA, ABA and CK applications under stress conditions also increased fertile tillers (%) to 85.5%, 85.5% and 82.3 %, respectively, in comparison to non-applied treatment. CK caused a significant increase in grain weight.hill<sup>-1</sup> under stress conditions. It increased the number of spike in Hoveizeh up to 14.4 % under low temperature stress conditions. It is concluded that the amount and balance of hormones are the most important and effective factors in rice plants to tolerate low temperature stress conditions.

**Key words:** Grain weight, Hormone, Low temperature stress and Rice.

**Received: August, 2010      Accepted: April, 2011**

1- Ph.D. Student, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Assistant Prof., Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran (Corresponding author)  
(Email: foadmoradi@yahoo.com)

3- Associate Prof., Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

4- Assistant Prof., Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

5- Research Officer, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran