



مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۸۸
۸۵-۱۰۶
www.ejcp.info



تأثیر سرمای بهاره‌سازی بر برخی صفات فیزیولوژیکی در دو رقم مقاوم و حساس گندم نان

سودابه جهانبخش‌گده‌کهریز^۱، *قاسم کریم‌زاده^۲، فردوس رستگار^۳،
سیروس محفوظی^۴ و قاسم حسینی‌سالکده^۵

^۱دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ^۲دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ^۳استادیار مرکز ملی مهندسی ژنتیک و فن‌آوری زیستی، ^۴استادیار پژوهش بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج، ^۵دانشیار پژوهشکده تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کرج
تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۰/۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۳/۱۶

چکیده

فرآیند عادت‌دهی به سرما از سازوکارهای مهم در تحمل ارقام گندم به تنش سرما است. این تحقیق با هدف تعیین ارتباط نیاز بهاره‌سازی با بیان تحمل به سرما و تغییرات فیزیولوژیکی در یک رقم بسیار متحمل و یک رقم حساس به تنش سرما در شرایط کنترل شده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تکمیل بهاره‌سازی با استفاده از روش شمارش تعداد نهایی برگ و میزان تحمل به سرما با روش LT_{50} تعیین گردید. عدم نیاز بهاره‌سازی در رقم بهاره‌کوه‌دشت و تکمیل بهاره‌سازی در روز ۴۲ سرمای بهاره‌سازی در رقم زمستانه شایان با استفاده از نتایج تعداد نهایی برگ حاصل شد. بررسی LT_{50} نشان داد که در رقم شایان حداکثر مقاومت به سرما در زمان تکمیل بهاره‌سازی ۱۷- درجه سانتی‌گراد و در رقم کوه‌دشت ۲- درجه سانتی‌گراد می‌باشد. ارتباط بین محتوی کلروفیل، میزان کلروفیل فلورسانس، انباشت پرولین و قندهای کل با میزان بیان تحمل به سرما بررسی گردید. نتایج نشان داد که در اثر القاء سرما، کاهش راندمان کوآنتومی فتوسیستم II در رقم شایان بسیار کمتر از رقم کوه‌دشت می‌باشد. تیمار سرما باعث کاهش معنی‌دار ۳۰ درصد محتوی کلروفیل در رقم کوه‌دشت و افزایش ۳۶ درصد آن در رقم شایان در زمان اشیاع بهاره‌سازی گردید. همچنین در رقم زمستانه شایان انباشت ۳ و ۲ برابر پرولین و قندهای کل نسبت به رقم بهاره‌کوه‌دشت در روز ۴۲ سرما کاملاً مشهود بود. این عکس‌العمل‌ها، بیانگر پاسخ بهتر به سرما در رقم دارای نیاز بهاره‌سازی در مقایسه با رقم بدون نیاز بهاره‌سازی است.

واژه‌های کلیدی: گندم، سرمای بهاره‌سازی، تعداد نهایی برگ، LT_{50} ، کلروفیل، پرولین، قند

* - مسئول مکاتبه: karim_gh@modares.ac.ir

مقدمه

سرما، شوری و خشکی از جمله عوامل نامساعد محیطی هستند که سبب آسیب‌های جبران‌ناپذیری بر رشد و تولید گیاهان می‌شوند. برخورد گیاهان با دماهای پایین، توزیع جغرافیایی آنها را تحت‌تأثیر قرار داده و باعث کاهش چشم‌گیری در متابولیسم گیاهان می‌گردد (لویت و همکاران، ۱۹۸۰). در استان‌های خراسان‌شمالی، جنوبی و رضوی نزدیک به ۷ درصد از کل تولید گندم در اثر کاهش ناگهانی دمای هوا در اواخر اسفند ۱۳۸۳ و اوایل بهار ۱۳۸۴ از بین رفتند (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۵). در سال زراعی ۸۷-۱۳۸۶، در استان‌های اردبیل، آذربایجان‌شرقی و غربی، زنجان (در مناطقی که پوشش برف کمتری داشت) سرمای شدید در طول فصل زمستان باعث مرگ بوته‌های ارقام تجاری گندم شد (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به این مسائل بایستی تلاش نمود تا با شناخت مکانیسم تحمل به سرما و کمک گرفتن از برنامه‌های اصلاحی به ایجاد گونه‌های متحمل به سرما اقدام نمود. بهاره‌سازی (ورنالیزاسیون) از مکانیسم‌های سازگاری غلات زمستانه به شرایط محیطی است که باعث می‌شود گیاهان بتوانند رشد خود را متناسب با تغییرات فصل کنترل کنند و با قرار گرفتن در شرایط رشد رویشی در طول زمستان، با نیاز بهاره‌سازی خود را از خسارت تنش سرما مصون نگه دارند. بهاره‌سازی تحت‌تأثیر دو عامل سرما و نور می‌باشد (فولر و همکاران، ۱۹۹۶؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۱۱a؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۶). معمولاً دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را دمای بهینه برای بهاره‌سازی در نظر می‌گیرند این دمای بهینه و دوره نیاز به آن در ارقام مختلف، متفاوت است (راوسون و همکاران، ۱۹۹۸). گیاهانی که نیاز به بهاره‌سازی دارند چنانچه در معرض سرما قرار گیرند تعداد نهایی برگ آنها تا رسیدن به نقطه تکمیل یا اشباع بهاره‌سازی کاهش یافته و بعد از آن به تعداد ثابتی می‌رسد (محفوظی و همکاران، ۲۰۱۱b؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۸؛ فولر و همکاران، ۱۹۹۶). در طی سرما سازگاری تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی زیادی شامل، افزایش سطح قندها، پروتئین‌های محلول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پرولین، کلروفیل فلورسانس، محتوی کلروفیل، ظهور ایزوفرم‌های جدید پروتئین و تغییرات ترکیبات لیپیدی غشاء رخ می‌دهد (لویت، ۱۹۸۰؛ هوقس و دان، ۱۹۹۶؛ کاواکامی و یوشیدا، ۲۰۰۲؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۰؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۳؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۵؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۶؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۶؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹a؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹b؛ جوادیان و همکاران، ۲۰۰۷؛ کاواکامی و همکاران، ۲۰۰۷؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۹).

سودابه جهانبخش گده کهریز و همکاران

دستگاه فتوستتزی به دلیل قرارگیری در کلروپلاست تحت تأثیر سرمای بهاره سازی قرار می گیرد و این امر به دلیل سیستم های حساس غشاء داخلی تیلاکوئید (شامل ترکیب لیپید با اسیدهای چرب) می باشد. در اثر تنش سرما گونه های آزاد اکسیژنی^۱ تولید می گردد که این امر باعث اکسیداسیون رنگینه های فتوستتزی، پروتئین و لیپیدهای غشای تیلاکوئیدی و در نهایت تجزیه آنها می شود (سونویک، ۱۹۹۹؛ آلن و ارت، ۲۰۰۱؛ پوکوک و همکاران، ۲۰۰۱). تأثیر اولیه تنش سرما بر روی فعالیت فتوستتزی کاهش کارایی کرین دی اکسید می باشد. این مسأله به دلیل افزایش تجزیه و یا کاهش فعالیت آنزیم های متعدد شرکت کننده در چرخه های ۳ و ۴ کربنه می باشد که این عمل باعث بسته شدن مسیر چرخه ها و ایجاد تغییراتی در تشکیل و توزیع قندهای مختلف می گردند (ساویچ، ۲۰۰۰؛ ساندر و ردی، ۲۰۰۰). تجمع پرولین در سلول باعث از بین رفتن رادیکال های آزاد اکسیژن، حفاظت آنزیم ها از تجزیه شدن، تنظیم اسمزی سلول و حفظ حالت طبیعی غشاء می گردد. در تعدادی از گیاهان تحت شرایط تنش سرما تا ۱۰۰ برابر شرایط نرمال غلظت پرولین افزایش می یابد (ماتیسیک و همکاران، ۲۰۰۲). قندها رابطه مستقیمی با فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوستتزی و تنفس دارند. قندها با بالا بردن غلظت درون سلولی، مانع یخ زدن آن در اثر سرما می شوند (گالیا و همکاران، ۱۹۹۷) و آنها از غشای پلاسمایی و پروتئین ها در برابر خسارت های تنش سرمایی محافظت می کنند (ساساکی و همکاران، ۱۹۹۸).

این تحقیق با هدف تعیین ارتباط نیاز بهاره سازی با بیان تحمل به سرما و تغییرات فیزیولوژیکی (راندمان کوآنتومی فتوستتزی، محتوی کلروفیل، انباشت پرولین، قندهای کل) در گندم رقم زمستانه شایان بسیار متحمل به سرما و گندم رقم بهاره کوهدشت حساس به سرما صورت گرفت.

مواد و روش ها

مواد ژنتیکی مورد استفاده، شرایط کاشت و نمونه برداری: ارقام گندم شایان و کوهدشت از بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر تهیه گردید. کوهدشت یک رقم بهاره، حساس به سرما و شایان یک رقم زمستانه و مقاوم به سرما می باشد (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۶). این بررسی در سال ۱۳۸۶ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تحت شرایط کاملاً کنترل شده اتاق رشد در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گردید. بذور پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد (حجمی/حجمی) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شدند و تعداد

1- Reactive Oxygen Species (ROS)

۱۵ عدد بذر در هر گلدان در عمق ۲ سانتی متر کشت گردید. گلدان‌ها در اتاق رشد در دمای 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد، روشنایی ۳۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه و دوره نوری ۱۲ ساعت در روز قرار داده شدند. نیمی از گلدان‌های هر دو رقم گندم در این شرایط تا آخر آزمایش (به مدت ۵۶ روز در رقم بهاره کوهدشت و ۷۷ روز در رقم پاییزه شایان نگه داشته (تیمار دمایی شاهد) و نیمی دیگر در روز ۱۴ از شروع آزمایش به دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد (به مدت ۴۲ روز در رقم بهاره کوهدشت و ۶۳ روز در رقم پاییزه شایان) قرار داده شدند (تیمار سرمای). اولین نمونه برداری در هر دو رقم در روز ۱۴ (روز انتقال به تیمار ۴ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید که این روز به عنوان روز صفر سرما در نظر گرفته شد. سپس در گندم بهاره کوهدشت در روزهای ۲۱، ۴۲ و در گندم زمستانه شایان در روزهای ۲۱، ۴۲ و ۶۳ سرما نمونه برداری از جوان‌ترین برگ‌ها صورت گرفت. در این زمان‌ها، از گیاهچه‌های شاهد هر دو رقم به‌طور هم‌زمان نمونه برداری به عمل آمد. مجموعاً در این آزمایش ۴ زمان مختلف نمونه برداری برای رقم زمستانه مقاوم به سرما و ۳ زمان نمونه برداری برای رقم بهاره حساس به سرما وجود داشت.

روش اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی

محاسبه تعداد نهایی برگ^۱: بذور هر دو رقم گندم به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. یک‌سری از آنها به عنوان شاهد بدون القاء سرمای بهاره‌سازی (۴ درجه سانتی‌گراد) تا ظهور برگ پرچم در این دما قرار گرفتند (روز صفر سرما). سری‌های دیگر به مدت زمان‌های متفاوت ۲۱ و یا ۴۲ روز در رقم بهاره و ۲۱، ۴۲ و یا ۶۳ روز در رقم زمستانه القاء سرمای بهاره‌سازی در آنها صورت گرفت و سپس به ۲۰ درجه سانتی‌گراد عودت داده شدند تا برگ پرچم در آنها ظهور کند. در این زمان، تعداد برگ‌ها روی ساقه اصلی شمارش شدند. تفاوت در زمان‌های القاء سرمای بهاره‌سازی به دلیل تفاوت در طول دوره رویشی دو رقم گندم می‌باشد: رقم بهاره زودتر به خوشه می‌رود.

اندازه‌گیری LT₅₀: این اندازه‌گیری براساس روش (لیمین و فولر، ۱۹۸۸) انجام گردید. در هر زمان نمونه برداری (به‌ازای هر رقم در هر تیمار دمایی)، طوقه‌های مربوط به ۳۵ عدد بوته برای آزمون انجماد آماده شدند. طوقه‌ها در داخل ظروف آلومینیومی حاوی ماسه مرطوب در دمای ۱- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت نگهداری شدند. سپس به فریزر مخصوص آزمون انجماد و قابل

1- Final Leaf Number (FLN)

برنامه‌ریزی با رایانه انتقال یافتند و به‌ازای هر یک ساعت دو درجه سانتی‌گراد دما کاهش می‌یافت (برای هر رقم در هر زمان نمونه‌برداری، ۷ درجه مختلف انجماد (۲-، ۷-، ۹-، ۱۳-، ۱۵-، ۱۷- و ۱۹- درجه سانتی‌گراد منظور گردید). زمانی که دمای فریزر به دماهای مورد نظر می‌رسید، نمونه‌ها از فریزر خارج و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت نگهداری می‌شدند و سپس در داخل جعبه‌های پلاستیکی در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در گل‌خانه کشت گردیدند. پس از ۳ هفته، تعداد بوته‌های زنده شمارش گردیده و دمای انجمادی که القاء آن باعث از بین رفتن ۵۰ درصد بوته‌ها می‌گشت به‌عنوان LT₅₀ ثبت می‌شد. بنابراین، در هر زمان نمونه‌برداری برای هر رقم یک داده که میانگین ۳ تکرار بود به‌عنوان LT₅₀ منظور گردید.

بررسی کلروفیل فلورسانس: مقدار کلروفیل فلورسانس توسط دستگاه تنش‌سنج یا فلوریمتر، مدل PSM Biomonitor S.C.I. AB, Umea Sweden اندازه‌گیری شد. قسمت میانی پهنک جوان‌ترین برگ به مدت ۱۵ دقیقه در داخل گیره در تاریکی قرار گرفتند. جهت انتخاب طول موج مناسب ۶۹۵ نانومتر، سطح نوری دستگاه روی ۴ و زمان اندازه‌گیری روی ۵ ثانیه تنظیم شد و پارامتر Fv/Fm اندازه‌گیری گردید.

محاسبه محتوی کلروفیل: اندازه‌گیری محتوی کلروفیل (اسپاد) با استفاده از دستگاه SPAD-502 در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری انجام گردید. قسمت میانی پهنک جوان‌ترین برگ در بین گیره دستگاه قرار گرفت و با فشار دادن گیره، میزان کلروفیل برحسب واحد اسپاد اندازه‌گیری شد. به‌منظور کاهش خطا برای هر تکرار حدود ۵ بار قرائت گردید و از میانگین آنها به‌عنوان اندازه‌گیری مربوط به هر تکرار استفاده شد.

سنجش مقدار پرولین برگ: استخراج پرولین از جوان‌ترین برگ با استفاده از روش (اونسل و همکاران، ۲۰۰۴؛ چاکرابرتی و تندن، ۲۰۰۵؛ بیس و همکاران، ۱۹۷۳) صورت گرفت.

سنجش مقدار قندهای کل برگ: برای استخراج قندهای کل از جوان‌ترین برگ از روش فنول سولفوریک (بوردلوف و همکاران، ۲۰۰۱؛ دوپوس و همکاران، ۱۹۵۶) استفاده گردید.

تجزیه‌های آماری: به‌منظور بررسی دو پارامتر LT₅₀ و تعداد نهایی برگ، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲ فاکتور: رقم در ۲ سطح و روزهای بهاره‌سازی در ۳ سطح (روزهای صفر، ۲۱ و ۴۲ سرما) و ۳ تکرار استفاده گردید. در مطالعه تغییرات فیزیولوژیکی (Fv/Fm، محتوی کلروفیل، پرولین و قندهای کل) آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ فاکتور: رقم در ۲

سطح، تیمار دمایی در ۲ سطح و زمان نمونه برداری در ۳ سطح و با ۳ تکرار به کار رفت. در تجزیه واریانس، برای مقایسه ۲ رقم در شرایط کاملاً مساوی، کلیه پارامترها در ۳ سطح مشترک ذکر شده زمان‌های نمونه برداری انجام گردید و به عبارتی داده‌های مربوط به روز ۶۳ در رقم زمستانه شایان از محاسبه خارج شد. در هر پارامتر، از جوان‌ترین برگ‌ها نمونه برداری به عمل آمد.

در دو پارامتر LT_{50} و تعداد نهایی برگ، برای مقایسه هر رقم در روزهای مختلف بهاره‌سازی از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید و میانگین مربعات تیمار (روزهای بهاره‌سازی) هر ترکیب رقم در پارامتر در ردیف آخر جدول ۲ آمده است. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های پارامترهای فیزیولوژیکی (Fv/Fm ، محتوی کلروفیل، پرولین و قندهای کل) بین ۲ تیمار دمایی در هر ترکیب رقم در زمان نمونه برداری از آزمون T استفاده گردید. برای تجزیه‌های آماری داده‌ها از دو نرم‌افزار Minitab و SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تعداد نهایی برگ: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر ساده رقم و اثر متقابل رقم در روزهای بهاره‌سازی در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار بوده ولی اثر ساده روزهای بهاره‌سازی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج مقایسه میانگین‌ها در جدول (۲) و تغییرات تعداد نهایی برگ در شکل (۱) آمده است.

جدول ۱- میانگین مربعات تجزیه واریانس LT_{50} و تعداد نهایی برگ در دو رقم گندم مورد مطالعه.

MS		درجه آزادی	منبع تغییرات
LT_{50}	FLN		
۵/۲۱۵***	۱۶/۲۸۱***	۱	رقم (cv)
۲/۱۰۹***	۰/۰۳۸ ^{ns}	۲	روزهای بهاره‌سازی (d)
۱/۳۹۷***	۲/۵۴۹***	۲	cv×d
۰/۰۵۷	۰/۰۸۱	۱۸	خطا
		۲۳	کل
۱۱/۹۱	۱۳/۴۹		CV%

^{ns} و *** به ترتیب تفاوت غیرمعنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱ درصد.

سودابه جهانبخش گده کهریز و همکاران

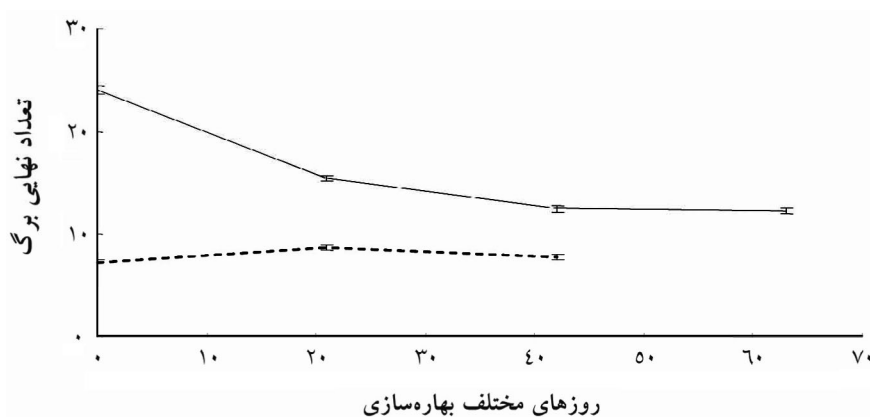
جدول ۲- مقایسه میانگین‌های $LT_{50} (\pm Se)$ و تعداد نهایی برگ در دو رقم گندم مورد مطالعه.

LT_{50}		FLN		روزهای بهاره‌سازی
زمستانه	بهاره	زمستانه	بهاره	
$-2/00 \pm 0/00^a$	$-2/00 \pm 0/00^a$	$24/00 \pm 0/41^a$	$7/25 \pm 0/25^a$	صفر (شاهد)
$-10/67 \pm 0/67^c$	$-2/00 \pm 0/00^a$	$15/50 \pm 0/29^b$	$8/75 \pm 0/25^a$	۲۱
$-16/67 \pm 0/67^d$	$-2/67 \pm 0/67^a$	$12/50 \pm 0/29^c$	$7/75 \pm 0/25^a$	۴۲
$-8/67 \pm 0/88^b$	-	$12/25 \pm 0/00^c$	-	۶۳
۲/۳	۱۱/۲	۱/۶	۴/۵	CV%
۲/۳۰۷***	۰/۰۶۲ ^{ns}	۱/۱۳۴***	۰/۶۸۷ ^{ns}	MS

در هر پارامتر، برای مقایسه هر رقم در روزهای مختلف نمونه‌برداری، میانگین‌هایی که با حرف لاتین مشابه در هر ستون نشان داده شده‌اند، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند.

^{ns} و *** به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱ درصد.

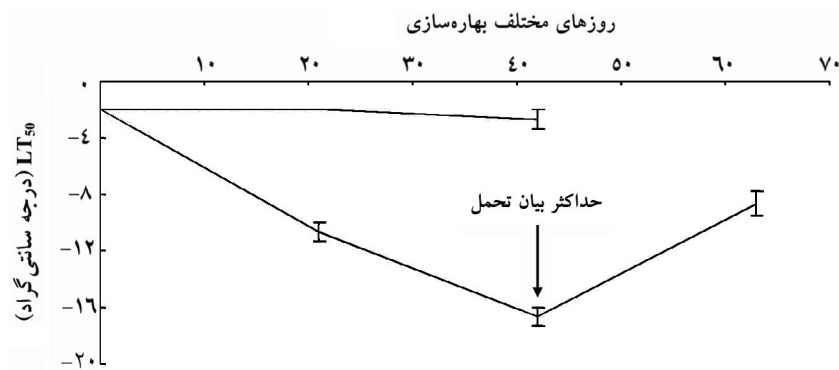
در گندم رقم بهاره کوه‌دشت تعداد روزهای بهاره‌سازی تأثیری بر تعداد نهایی برگ نداشته است (جدول ۲ و شکل ۱). بنابراین، این بررسی نشان می‌دهد که بدون تیمار سرمای بهاره‌سازی رشد رویشی در این رقم تکمیل می‌شود و بهاره‌سازی تأثیری در جلو انداختن شروع دوره گل‌دهی آن ندارد. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که در ارقام گندم فاقد نیاز بهاره‌سازی مراحل فنولوژی سریع تشکیل شده و زودتر وارد مرحله زایشی می‌گردد و در نتیجه توانایی تحمل به سرما را به مدت طولانی ندارند (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱a؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۶؛ فولر و همکاران، ۲۰۰۱؛ لیمین و فولر، ۲۰۰۶؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸).



شکل ۱- تغییرات تعداد نهایی برگ در روزهای مختلف بهاره‌سازی در گندم رقم بهاره کوه‌دشت (خط نقطه‌چین) و رقم زمستانه شایان (خط ممتد).

در گندم رقم زمستانه شایان تعداد روزهای بهاره‌سازی تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد بر تعداد نهایی برگ داشته است (جدول ۲ و شکل ۱). این بررسی نشان می‌دهد که در ارقام زمستانه تعداد نهایی برگ تحت تأثیر طول مدت دوره سرمای بهاره‌سازی می‌باشد به نحوی که با قرار دادن این رقم در دمای بهاره‌سازی (۴ درجه سانتی‌گراد) تعداد نهایی برگ به طور چشمگیری کاهش پیدا می‌کند به طوری که بهاره‌سازی در روز ۴۲ سرما به اشباع رسیده است. بررسی‌های متعددی نشان داده است که در ارقام زمستانه غلات بعد از قرار گرفتن در مقابل سرمای بهاره‌سازی تعداد نهایی برگ کاهش می‌یابد و سپس به نقطه‌ای می‌رسد که بعد از آن تعداد نهایی برگ ثابت می‌ماند که آن محدوده را به عنوان محدوده تکمیل بهاره‌سازی می‌نامند (فولر و همکاران، ۱۹۹۶؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱b؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸). رقم شایان زمانی که در معرض دمای پایین قرار نگیرد برای رسیدن به فاز زایشی تعداد برگ‌های زیادی (۲۴ عدد) تولید می‌کند و مدت زمان طولانی‌تری برای رسیدن به فاز زایشی نیاز دارد ولی با قرار گرفتن در دمای پایین تعداد برگ‌های خود را به نصف (۱۲/۵ عدد) کاهش داده و با گذراندن ۴۲ روز دوره بهاره‌سازی سریع‌تر وارد فاز زایشی می‌گردد. این پاسخ رقم زمستانه شایان نشان می‌دهد که دارای نیاز بهاره‌سازی بالایی هست و دیرتر وارد فاز زایشی می‌شود و در نتیجه مدت زمان بیان ژن‌های مقاومت به سرما که در دوره رشد رویشی است، بیشتر بوده و باعث مقاومت بیشتر این رقم به سرما می‌گردد (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱b؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸).

نتایج آزمون LT_{50} : نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر رقم، روزهای بهاره‌سازی و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار است. با توجه به نتایج جدول (۲) و شکل (۲)، تفاوت معنی‌داری از نظر مقدار LT_{50} در روزهای مختلف بهاره‌سازی در گندم رقم بهاره کوه‌دشت مشاهده نشد ولی این تفاوت در رقم زمستانه شایان در سطح احتمال ۰/۱ درصد معنی‌دار بود.



شکل ۲- تغییرات LT_{50} در روزهای مختلف بهاره‌سازی در گندم رقم بهاره کوه‌دشت (خط نقطه‌چین) و رقم زمستانه شایان (خط ممتد).

بنابراین، مشاهده می‌شود که تکمیل بهاره‌سازی نقطه عطفی در بیان مقاومت به سرما است. بررسی‌های انجام شده توسط فولر و همکاران (۲۰۰۱) و محفوظی و همکاران (۲۰۰۶ و ۲۰۰۱b) نشان داد که در ارقام غلات دارای نیاز بهاره‌سازی حداکثر بیان تحمل به سرما در زمان تکمیل بهاره‌سازی بوده و بعد از آن میزان بیان تحمل به سرما کمتر می‌گردد. نتایج تحقیق ما نیز بیان‌کننده همین مطلب می‌باشد.

نتایج راندمان کوآنتومی فتوسیستم II و محتوی کلروفیل: در تحقیقات علمی پارامترهای راندمان کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) به عنوان معیاری برای بررسی کلروفیل فلورسانس به کار می‌رود. همچنین مقدار کلروفیل به عنوان پارامتر متأثر تحت تنش می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس Fv/Fm (جدول ۳) نشان می‌دهد که اثرات ساده و اثر متقابل تیمار در زمان نمونه برداری اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۱ درصد داشته‌اند. نتایج تجزیه واریانس مقدار کلروفیل نشان داد که

اثرات ساده رقم و تیمار دمایی و اثرات متقابل دو عاملی رقم در تیمار دمایی و رقم در زمان‌های نمونه‌برداری معنی‌دار است. نمودارهای تغییرات Fv/Fm و محتوی کلروفیل به ترتیب در شکل‌های (۳) و (۴) و نتایج مقایسه بین دو تیمار دمایی میانگین‌های آنها نیز به ترتیب در جدول‌های (۴) و (۵) آمده است.

بررسی تغییرات Fv/Fm نشان می‌دهد که میزان راندمان کوآنتومی فتوسیستم II در برگ‌های گیاهچه‌های شاهد هر دو رقم در طی دوره آزمایش تغییر محسوسی نشان نداد. تیمار سرما در گندم رقم بهار کوهشدت باعث کاهش فاحش معنی‌داری در نسبت Fv/Fm در روزهای ۲۱ (۲۸ درصد) و ۴۲ (۲۶ درصد) در مقایسه با شاهد گردید در حالی که در رقم زمستانه شایان این میزان کاهش معنی‌دار در روزهای ۴۲ (۱۳ درصد) و ۶۳ (۶ درصد) بود (جدول ۴ و شکل ۳). به بیانی دیگر، این بررسی نشان می‌دهد که میزان کاهش سرما القایی راندمان کوآنتومی فتوسیستم II در گندم رقم بهار بیشتر از رقم زمستانه بود.

جدول ۳- میانگین مربعات تجزیه واریانس راندمان کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm)، محتوی کلروفیل، مقدار پرولین و قندهای کل در دو رقم گندم مورد مطالعه.

MS				درجه آزادی	منبع تغییرات
Fv/Fm	کلروفیل	پرولین	قندهای کل		
۳/۹۰۴***	۳/۰۳۸**	۲/۰۰۰**	۱/۱۵۳***	۱	رقم (cv)
۱۰/۶۹۴***	۱/۳۶۳*	۵/۷۳۳***	۳/۳۸۰***	۱	تیمار دمایی (T)
۳/۵۳۴***	۰/۵۲۵ ^{ns}	۷/۳۴۴***	۹/۶۷۱***	۲	زمان نمونه‌برداری (S)
۰/۰۹۸ ^{ns}	۹/۰۴۵***	۱/۲۰۴*	۰/۴۰۵*	۱	cv × T
۰/۰۴۰ ^{ns}	۱/۲۹۸*	۰/۸۵۰*	۰/۶۰۵***	۲	cv × S
۲۰/۸۰۵ ^{ns}	۰/۷۲۵ ^{ns}	۱/۵۳۲**	۰/۸۷۴***	۲	T × S
۰/۴۱۰ ^{ns}	۲/۷۹۹***	۰/۳۲۵ ^{ns}	۰/۱۰۲ ^{ns}	۲	cv × T × S
۰/۲۷۰	۰/۳۰۳	۰/۱۸۳	۰/۰۶۶	۲۴	خطا
				۳۵	کل
۱۷/۶	۱/۵	۲۲/۲	۱۳/۶		CV%

^{ns} و * و ** و *** به ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و ۰/۱ درصد.

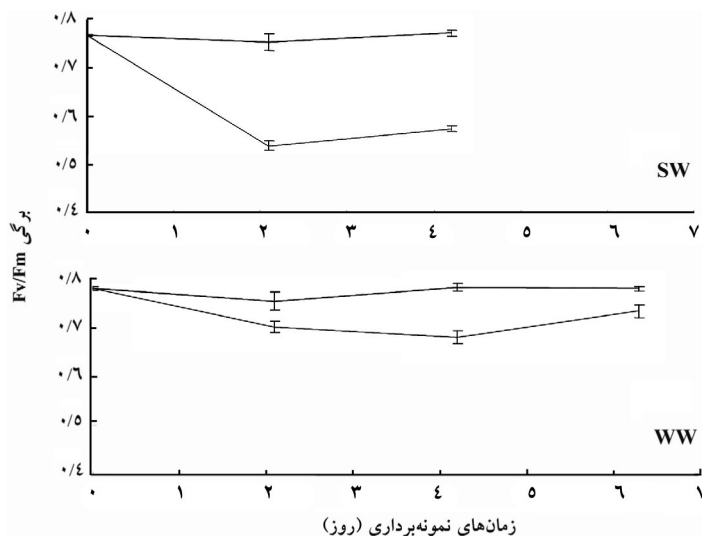
جدول ۴- مقایسه میانگین‌های ($\pm Se$) راندامان کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و مقدار کلروفیل (اسپاد) بین دو تیمار دمایی در زمان‌های نمونه‌برداری در گندم رقم بهاره (SW) کوهدشت و زمستانه (WW) شایان.

ارقام گندم	روزهای نمونه‌برداری	Fv/Fm		کلروفیل
		۴ درجه سانتی‌گراد	۲۰ درجه سانتی‌گراد	
WW	صفر	۰/۷۸۱±۰/۰۰۴ ^a	۰/۷۸۱±۰/۰۰۴ ^a	۳۵/۱۰±۰/۹۸ ^a
	۲۱	۰/۷۰۲±۰/۰۱۲ ^a	۰/۷۵۵±۰/۰۲۰ ^b	۳۶/۳۸±۱/۰۰ ^a
	۴۲	۰/۶۸۱±۰/۰۱۳ ^a	۰/۷۸۳±۰/۰۰۸ ^a	۳۵/۷۴±۱/۵۱ ^b
	۶۳	۰/۷۳۴±۰/۰۱۳ ^b	۰/۷۸۰±۰/۰۰۵ ^a	۳۴/۶۳±۱/۰۶ ^b
SW	صفر	۰/۷۶۶±۰/۰۰۲ ^a	۰/۷۶۶±۰/۰۰۲ ^a	۳۵/۳۹±۱/۱۹ ^a
	۲۱	۰/۵۳۸±۰/۰۱۰ ^b	۰/۷۵۲±۰/۰۱۸ ^a	۳۸/۵۹±۲/۱۹ ^a
	۴۲	۰/۵۷۳±۰/۰۰۶ ^b	۰/۷۷۱±۰/۰۰۶ ^a	۴۱/۳۱±۲/۴۶ ^a
				۲۸/۷۲±۰/۴۲ ^b

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های ($\pm Se$) مقدار پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) و مقدار کل قندها (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) بین دو تیمار دمایی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در گندم رقم بهاره (SW) کوهدشت و زمستانه (WW) شایان.

ارقام گندم	روزهای نمونه‌برداری	پرولین		قندهای کل	
		۴ درجه سانتی‌گراد	۲۰ درجه سانتی‌گراد	۴ درجه سانتی‌گراد	۲۰ درجه سانتی‌گراد
WW	صفر	۰/۱۲۶±۰/۰۱۹ ^a	۰/۱۲۶±۰/۰۱۹ ^a	۴۲/۱۳±۰/۵۲ ^a	۴۲/۱۳±۰/۵۲ ^a
	۲۱	۳/۵۹۳±۰/۱۱۷ ^a	۰/۱۲۵±۰/۰۲۱ ^b	۵۴/۴۴±۳/۶۳ ^b	۱۶۵/۳۶±۱/۶۱ ^a
	۴۲	۶/۵۰۹±۰/۲۰۹ ^a	۰/۱۵۱±۰/۰۲۱ ^b	۵۶/۹۵±۱/۴۹ ^b	۳۰۲/۰۰±۱۷/۵۰ ^a
	۶۳	۵/۱۹۲±۰/۰۴۲ ^a	۰/۱۳۶±۰/۰۲۰ ^b	۶۰/۸۹±۱/۱۹ ^b	۲۷۰/۹۱±۳/۲۳ ^a
SW	صفر	۰/۰۸۱±۰/۰۰۷ ^a	۰/۰۸۱±۰/۰۰۷ ^a	۳۵/۲۲±۰/۵۶ ^a	۳۵/۲۲±۰/۵۶ ^a
	۲۱	۱/۹۹۱±۰/۱۵۵ ^a	۰/۲۲۴±۰/۰۶۸ ^b	۶۵/۲۴±۳/۶۴ ^b	۱۵۷/۷۰±۱۱/۵۰ ^a
	۴۲	۲/۱۱۱±۰/۰۳۳ ^a	۰/۱۴۸±۰/۰۲۷ ^b	۵۹/۷۵±۴/۲۸ ^b	۱۵۲/۱۳±۵/۱۱ ^a

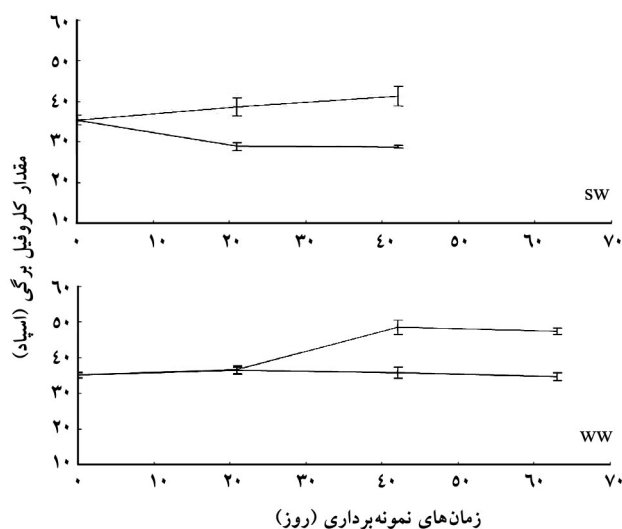
در هر پارامتر، دو میانگینی که با حرف لاتین مشابه در هر ردیف (زمان نمونه‌برداری در رقم) نشان داده شده‌اند، نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ۳- تغییرات راندمان کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در رقم بهاره کوهدشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی شاهد ۲۰ درجه سانتی گراد (خط ممتد) و سرمایی ۴ درجه سانتی گراد (خط نقطه چین) در زمان‌های مختلف نمونه برداری.

در رقم بهاره کوهدشت، در اثر تیمار سرمای بهاره سازی کاهش معنی داری در محتوی کلروفیل در روزهای ۲۱ (۲۵ درصد) و ۴۲ (۳۰ درصد) در مقایسه با شاهد مشاهده گردید (جدول ۴ و شکل ۴). در رقم زمستانه شایان، برخلاف رقم بهاره، تیمار سرما باعث افزایش قابل توجه ۳۶ درصد در مقدار کلروفیل در روزهای ۴۲ و ۶۳ در مقایسه با شاهد شده است. به طور کلی، این نتایج نشان می دهد که در گندم زمستانه مقاوم رقم شایان سیستم فتوسنتزی خسارت کمتری نسبت به رقم بهاره حساس کوهدشت در طول دوره تنش سرمایی متحمل می شود. این مسأله ناشی از تأثیر سوء تنش سرمایی بر فتوسیستم II، انتقال الکترون در فتوستنز و فتواکسیداسیون است که خسارت بیشتری بر گندم رقم حساس به سرما نسبت به رقم مقاوم دارد. این خسارت ها ممکن است در نتیجه اختلال در واکنش های نوری و زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم باشد که در نتیجه باعث تولید گونه های فعال اکسیژنی می شود و این مولکول ها باعث واکنش فتواکسیداتیو در کلروپلاست و همچنین باعث اکسیداسیون کاروتنوئید و پروتئین ها می شود، در نتیجه باعث کاهش راندمان کوآنتومی فتوسیستم II می شود (کوده و سونویک، ۲۰۰۲؛ کوک و همکاران، ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر، تنش سرمایی باعث کاهش مقدار

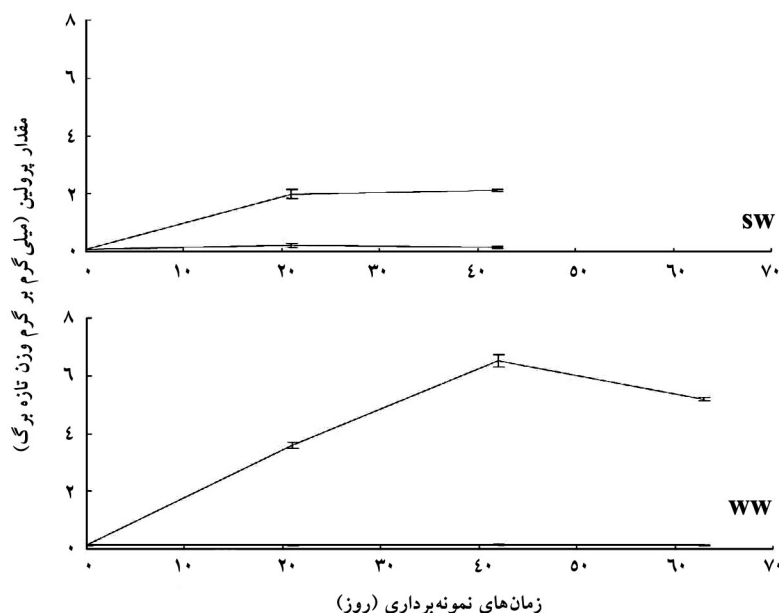
کلروفیل در برگ‌های سرما دیده گندم رقم حساس کوهدشت و افزایش در برگ‌های سرما دیده رقم مقاوم شایان شده است. این نتایج با بررسی‌های گزارش شده توسط آروکا و همکاران (۲۰۰۱) و مجدی و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. در واقع کاهش مقدار کلروفیل برگگی و راندمان کوآنتومی فتوسیستم II در ارقام حساس در نتیجه خسارت به غشاء کلروپلاست طی تنش سرما می‌باشد (یانگ و همکاران، ۲۰۰۳؛ نتو و همکاران، ۲۰۰۵). با افزایش دوره سرمادهی، آب سلول به میزان بیشتری کاهش می‌یابد که رابطه معنی‌داری ما بین LT_{50} و ظرفیت آبی سلول وجود دارد به طوری که با افزایش LT_{50} ظرفیت آبی سلول مخصوصاً در وارته‌های سازگار شده کاهش می‌یابد (یاماگوشی - شینوزاکی و شینوزاکی، ۲۰۰۶؛ پراسیل و همکاران، ۲۰۰۷) که این مکانیسم‌های مقاومت در گیاهان مقاوم به تنش سرمایی بهتر عمل می‌کند و احتمالاً باعث افزایش کلروفیل می‌شود.



شکل ۴- تغییرات مقدار کلروفیل برگگی (اسپاد) در گندم رقم بهاره کوهدشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی، شاهد ۲۰ درجه سانتی‌گراد (خط ممتد) و سرمایی ۴ درجه سانتی‌گراد (خط نقطه‌چین) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

نتایج بررسی مقدار پروکلین: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد که اثرات ساده رقم، تیمار دمایی و زمان نمونه‌برداری و اثرات متقابل دو عاملی آنها معنی‌دار می‌باشند. شکل (۵) و مقایسه میانگین‌ها بین دو تیمار دمایی در جدول (۵) نشان می‌دهد که مقدار پروکلین در برگ‌های گیاهچه‌های

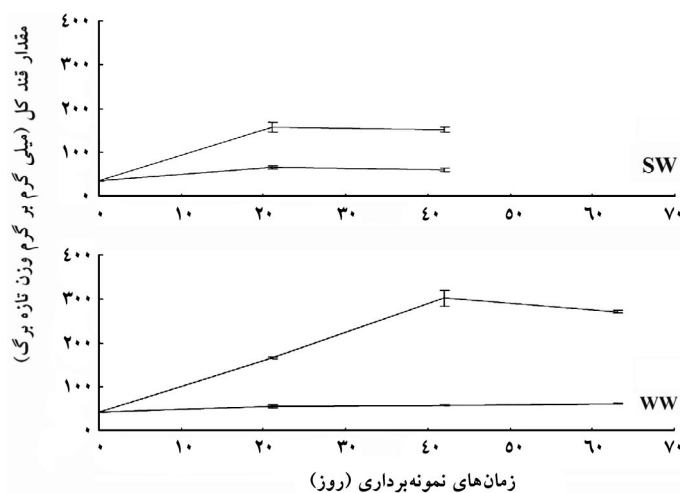
شاهد (۲۰ درجه سانتی گراد) هر دو رقم گندم در طول دوره آزمایش تغییر محسوسی نداشت ولی تیمار سرمایی (۴ درجه سانتی گراد) باعث افزایش قابل توجهی در مقدار پرولین در برگ‌های گیاهچه‌های سرما دیده دو رقم در مقایسه با شاهد گردید: این افزایش معنی دار در رقم زمستانه بسیار بیشتر از رقم بهاره بود. به بیانی دیگر، در رقم زمستانه مقدار پرولین در روزهای ۲۱، ۴۲ و ۶۳ سرما به ترتیب ۲۹، ۴۳ و ۳۸ برابر در مقایسه با شاهد افزایش یافت در حالی که این افزایش در رقم بهاره در روزهای ۲۱ و ۴۲ سرما به ترتیب ۹ و ۱۴ برابر در مقایسه با شاهد آنها بود.



شکل ۵- تغییرات مقدار پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ) در گندم رقم بهاره کوهدشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی، شاهد ۲۰ درجه سانتی گراد (خط ممتد) و سرمایی ۴ درجه سانتی گراد (خط نقطه چین) در زمان‌های مختلف نمونه برداری.

در آخر آزمایش، تیمار سرمای بهاره سازی در گندم رقم زمستانه شایان باعث انباشت ۳ برابر پرولین نسبت به رقم بهاره کوهدشت گردید. این اثر تیمار سرمایی در افزایش قابل توجه مقدار پرولین در رقم زمستانه شایان در مطالعه حاضر با نتایج تحقیقات محققین (پتکو و تربی، ۱۹۹۵؛ پالدی و

همکاران، ۲۰۰۲؛ کنستانتینوا و همکاران، ۲۰۰۲؛ جوادیان و همکاران، ۲۰۰۷) مطابقت دارد. در تحقیقی که توسط کنستانتینوا و همکاران (۲۰۰۲) صورت گرفت ژن کدکننده آنزیم‌های سنتز پرولین (ژن *VacP5CS17* ایزوله شده از *Vigna aconitifolia*) به توتون منتقل شد. این بررسی نشان داد که در گیاه تراریخت حاصل افزایش بسیار معنی‌داری در غلظت پرولین تحت تیمار سرمایی (۲- درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) نسبت به شرایط شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) وجود داشت که گیاه تراریخت حاصل دارای توانایی بالایی برای تحمل تنش سرما بود. این تحقیق با نتیجه بررسی ما مطابقت دارد و بیان‌کننده نقش پرولین در ایجاد تحمل به سرما می‌باشد.



شکل ۶- تغییرات مقدار قندهای کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) در رقم بهاره کوه‌دشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی شاهد ۲۰ درجه سانتی‌گراد (خط ممتد) و سرمایی ۴ سانتی‌گراد (خط نقطه‌چین) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

نتایج بررسی مقدار کل قندها: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد که اثرات ساده رقم، تیمار دمایی و زمان نمونه‌برداری و اثرات متقابل دو عاملی آنها معنی‌دار می‌باشد. با توجه به شکل (۶) تغییرات مقدار کل قندها مشابه با روند تغییرات مقدار پرولین (شکل ۵) می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین‌های مقدار کل قندها بین دو تیمار دمایی در جدول (۵) نشان می‌دهد که انباشت قندهای کل، در گندم رقم بهاره در روزهای ۲۱ و ۴۲ سرمای بهاره‌سازی نسبت به شاهد ۲/۵ برابر بود و در رقم

زمستانه در روزهای ۲۱، ۴۲ و ۶۳ سرما نسبت به شاهد به ترتیب ۳، ۵/۳ و ۴/۵ برابر مشاهده گردید. بیشترین مقدار تجمع قندها در رقم زمستانه در روز ۴۲ تیمار سرما (روز تکمیل بهاره‌سازی) بود که این مقدار نسبت به رقم بهاره ۲ برابر بیشتر بوده است. در مطالعه‌ای دیگر، جوادیان و همکاران (۲۰۰۷) انباشت سرما القایی ۴/۶ و ۶ برابر قندهای کل به ترتیب در برگ‌های سرمادیده گندم زمستانه دو رقم آذر ۲ (روز ۲۱ سرمای بهاره‌سازی) و نورستار (روز ۴۲ سرما) در مقایسه با شاهد آنها (۲۰ درجه سانتی‌گراد) گزارش کردند که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. از طرفی دیگر، ژن‌های مقاومت سرمایی (Fr1) و بهاره‌سازی (Vrn1) روی بازوی بلند کروموزوم ۵A گندم قرار دارند که تأثیری بر روی ژن‌های تنظیم‌کننده برخی از قندها (تجمع فروکتان و ساکارز) در ارقام گندم حساس به سرما ندارد. اما در ارقام گندم متحمل به سرما وضعیت مغلوبیت این ژن‌ها (fr1, vrn1) باعث افزایش مقدار تجمع قندها می‌شوند (گالیا و همکاران، ۱۹۹۷). در بررسی حاضر، احتمالاً افزایش مقدار انباشت قندها در گندم رقم زمستانه شایان نسبت به رقم بهاره کوه‌دشت در نتیجه بهاره‌سازی و تأثیر وجود ژن‌های مقاومت به سرما در رقم شایان می‌باشد. تحقیقات گزارش شده نشان داده‌اند که ژن‌های بهاره‌سازی بر روی بیان برخی از ژن‌های سرما القایی تأثیر می‌گذارند (دانیلوک و همکاران، ۲۰۰۳؛ فولر و لیمین، ۲۰۰۴؛ یان و همکاران، ۲۰۰۴؛ کین و همکاران، ۲۰۰۵؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۶).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج بررسی‌های LT50 و تعداد نهایی برگ نشان‌دهنده نیاز به بهاره‌سازی و تکمیل یا اشباع آن در روز ۴۲ سرما در گندم رقم زمستانه شایان و عدم نیاز بهاره‌سازی در رقم بهاره کوه‌دشت بود. بالاترین میزان تحمل به سرما در گندم شایان در زمان اشباع بهاره‌سازی (۱۷- درجه سانتی‌گراد) و تحمل پایین و ثابت در طول دوره سرما (۲- درجه سانتی‌گراد) در گندم کوه‌دشت تشخیص داده شد. سرمای بهاره‌سازی باعث کاهش محتوی کلروفیل در گندم بهاره و افزایش آن در گندم زمستانه شایان گردید. شدت کاهش سرما القایی راندمان کوآتومی فتوسنتز (Fv/Fm) II در رقم متحمل زمستانه بسیار کمتر از آن در رقم حساس بهاره بود. مقدار و طول دوره انباشت پرولین و قندهای کل در برگ‌های گیاهچه‌های سرما دیده گندم زمستانه شایان نسبت به گندم بهاره کوه‌دشت بیشتر بود. در کل این بررسی نشان دهنده نیاز سرمای بهاره‌سازی، تجمع بالای اسمولیت و عملکرد بالای دستگاه فتوسنتزی در گندم زمستانه بود. بنابراین، به نظر می‌رسد که مقاومت به سرما ناشی از مجموعه‌ای از عوامل

مختلف مانند انباشت غلظت کلروفیل، انسجام کلروپلاست و ظرفیت فتوسنتزی، تجمع اسمولیت‌ها باشد که این مسأله ناشی از بیان ژن‌های سرما القایی است که باعث مقاومت به سرما می‌گردد. در ادامه بررسی حاضر، از طریق تکنیک پروتئومیکس^۱ تعداد ۱۱۰ و ۹۲ لکه پروتئینی سرما القایی به ترتیب در گندم زمستانه شایان و بهاره کوهدشت تشخیص داده شد (جهانبخش گده کهریز و همکاران، ۲۰۰۹a؛ جهانبخش گده کهریز و همکاران، ۲۰۰۹b). برای مثال در گندم شایان، WCOR18، LEA و Cysteine Proteinase Inhibitor از جمله این پروتئین‌ها هستند. به منظور تأیید نتایج پروتئومیکس از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس نیمه کمی^۲ استفاده شد و این تجزیه ثابت نمود که این ژن‌های سرما القایی در این گندم بیان گردیدند در حالی که در رقم بهاره کوهدشت بیان نداشتند. افزایش ۱۳ برابر بیان ژن WCOR18 و ۴/۲ برابر بیان ژن LEA در اثر تیمار سرمای بهاره‌سازی نسبت به شاهد در گندم زمستانه شایان تشخیص داده شد (داده‌های گزارش نشده). از طرفی دیگر، در گندم بهاره کوهدشت پروتئین 1-5 ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase small subunit یکی از پروتئین‌های مهم مرتبط با فتوسنتز است که بیان آن در اثر تیمار سرمای بهاره‌سازی نسبت به شاهد کمتر شده بود که این مسئله نشان‌دهنده حساسیت دستگاه فتوسنتزی در مقابل تنش سرما را نشان می‌دهد (داده‌های گزارش نشده).

فهرست منابع

- Allen, D.J., and Ort, D.R. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends in Plant Science*, 6: 36-42.
- Aroca, R., Irigoyen, J.J., and Sánchez-Díaz, M. 2001. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against oxidative stress during chilling and subsequent recovery in two maize varieties differing in chilling sensitivity. *Plant Science*, 161: 719-726.
- Bates, L.S., Walderen, R.D., and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39: 205-207.
- Bordloff, D., Etchebfr, H., and Buscall, R. 2001. Improved procedures for extraction of water-extractable carbohydrates from particulate organic matter. *Oceanologica Acta*, 24: 343-347.

1- Proteomics

2- RT-PCR

- Chakraborty, U., and Tongden, C. 2005. Evaluation of heat acclimation and salicylic acid treatments as potent inducers of thermo tolerance in *Cicer arietinum*. *Science*, 89: 384-386.
- Danyluk, J., Kane, N.A., Breton, G., Limin, A.E., Fowler, D.B., and Sarhan, F. 2003. TaVRT-1, a putative transcription factor associated with vegetative to reproductive transition in cereals. *Plant Physiology*, 132: 1849-1860.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substrates. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- Fowler, D.B., and Limin, A.E. 2004. Interactions among factors regulating phenological development and acclimation rate determine low-temperature tolerance in wheat. *Annals of Botany*, 94: 717-724.
- Fowler, D.B., Breton, G., Limin, A.E., Mahfoozi, S., and Sarhan F. 2001. Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. *Plant Physiology*, 127: 1676-1681.
- Fowler, D.B., Limin, A.E., Wang, S.Y., and Ward, R.W. 1996. Relationship between low-temperature tolerance and vernalization response in wheat and rye. *Canadian Journal of Plant Science*, 76: 32-44.
- Galiba, G., Kerepesi, I., Snape, J.W., and Sutka, J. 1997. Location of a gene regulating cold-induced carbohydrate production on chromosome 5 of wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 95: 265-270.
- Hughes, M.A., and Dunn, M.A. 1996. The molecular biology of plant acclimation to low temperature. *Journal of Experimental Botany*, 47: 291-305.
- Jahanbakhsh-Godehkahriz, S., Karimzadeh, G., and Rastegar, F. 2006. Low temperature-induced accumulation of, and SDS-PAGE changes in soluble proteins in the leaves of spring and winter wheat genotypes. *Journal of Agricultural Science*, 16: 4. 73-83. (In Persian with English Abstract).
- Jahanbakhsh-Godehkahriz, S., Karimzadeh, G., Rastgar-Jazii, F., Zolla, L., Egidi, M.G., Mahfoozi, S., and Hosseini-Salekdeh, G. 2009a. Low temperature-induced proteins in Chayene winter wheat: A proteomics study. In: *The Proceedings of The 2nd Iranian Proteomics Congress*, 23-24 Apr, 2009, Royan Institute, Tehran, Iran, 80p.
- Jahanbakhsh-Godehkahriz, S., Rastgar-Jazii, F., Karimzadeh, G., Zolla, L., Egidi, M.G., Mahfoozi, S., and Hosseini-Salekdeh, G. 2009b. Proteome analysis of Kohdasht spring wheat under cold stress. In: *The Proceedings of The 2nd Iranian Proteomics Congress*, 23-24 Apr, 2009, Royan Institute, Tehran, Iran, 81p.
- Javadian, N., Karimzadeh, G., and Mahfoozi, S. 2007. Changes in accumulation of cold-induced total protein, antioxidant enzymes, proline, carbohydrates and chlorophyll fluorescence in wheat. In: *The Proceedings of The 6th Asian Crop Science Association Conference*, 5-9 Nov, 2007. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand, 107p.

- Kane, N.A., Danyluk, J., Tardif, G., Ouellet, F., Laliberte, J.F., Limin, A.E., Fowler, D.B., and Sarhan, F. 2005. TaVRT-2, a member of the StMADS-11 clade of flowering repressors, is regulated by vernalization and photoperiod in wheat. *Plant Physiology*, 138: 4. 2354-2363.
- Karimzadeh, G., Bagheri, K., and Jalali-Javaran, M. 2003. Changes in the callus soluble proteins of winter and spring wheat cultivars following cold treatment. *Plant Tissue Culture (PTC)*, 13: 2. 135-144.
- Karimzadeh, G., Darvishzadeh, R., Jalali-Javaran, M., and Dehghani, H. 2005. Cold-induced accumulation of protein in the leaves of spring and winter barley cultivars. *Acta Biologica Hungarica*, 56: 1-2. 83-96.
- Karimzadeh, G., Francis, D., and Davies, M.S. 2000. Low temperature-induced accumulation of protein is sustained both in root meristems and in callus in winter wheat but not in spring wheat. *Annals of Botany*, 85: 769-777.
- Karimzadeh, G., Sharifi-Sirchi, G.R., Jalali-Javaran, M., Dehghani, H., and Francis, D. 2006. Soluble proteins induced by low temperature treatment in the leaves of spring and winter wheat cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 4. 1015-1026.
- Kawakami, A., and Yoshida, M. 2002. Molecular characterization of sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase and sucrose: fructan 6-fructosyltransferase associated with fructan accumulation in winter wheat during cold hardening. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66: 2297-2305.
- Kawakami, A., Sato, Y., and Yoshida, M. 2007. Genetic engineering of rice capable of synthesizing fructans and enhancing chilling tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 59: 793-802.
- Konstantinova, T., Parvanova, D., Atanassor, A., and Djilianov, D. 2002. Freezing tolerance tobacco transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science*, 163: 157-164.
- Kudoh, H., and Sonoike, K. 2002. Irreversible damage to photosystem I by chilling in the light: cause of the degradation of chlorophyll after returning to normal growth temperature. *Planta*, 215: 541-548.
- Kuk, Y.I., Shin, J.S., Burgos, N.R., Hwang, T.E., Han, O., Cho, H.B., Jung, S., and Guh, J.O. 2003. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. *Crop Science*, 163: 157-164.
- Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. Vol. 1. Chilling, Freezing and High Temperature Stresses. Academic Press: New York, USA.
- Limin, A.E., and Fowler, D.B. 1988. Cold hardiness expression in interspecific hybrids and amphiploids of the Triticeae, *Genome*, 30: 261-265.
- Limin, A.E., and Fowler, D.B. 2006. Low-temperature tolerance and genetic potential in wheat (*Triticum aestivum* L.): responses to photoperiod, vernalization and plant development. *Planta*, 224: 360-366.

- Mahfoozi, S., Hosseini-Salekdeh, G., Mardi, M., and Karimzadeh, G. 2008. Freezing resistance from the lab to the field in wheat: what should we breed for? In: The Proceedings of the 10th Iranian Congress on Agronomy and Plant Breeding Sciences, 18-20 Aug, 2008. Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran, 163p. (In Persian).
- Mahfoozi, S., Limin, A.E., and Fowler, D.B. 2001a. Influence of vernalization and photoperiod responses and cold hardiness in winter cereals. *Crop Science*, 41: 1006-1011.
- Mahfoozi, S., Limin, A.E., and Fowler, D.B. 2001b. Developmental regulation of low temperature in winter wheat. *Annals of Botany*, 82: 751-757.
- Mahfoozi, S., Limin, A.E., Ahakpaz, F., and Fowler, D.B. 2006. Phenological development and expression of freezing resistance in spring and winter wheat under field conditions in North-West of Iran. *Field Crops Research*, 97: 182-187.
- Mahfoozi, S., Sharifi, H.R., Zare-Faizabadi, A., Beheshti, S.A., Nazeri, S.M., and Ghodsi, M. 2005. The effect of early spring freezing in cereals in Khorasan province, Iran: A survey report. Seed and Plant Improvement, Department, Agricultural and Resource Research Center of Khorasan, Pp: 1-25. (In Persian).
- Majdi, M., Karimzadeh, G., and Mahfoozi, S. 2008. Effects of low temperature and exogenous calcium on the quantum efficiency of photosystem II (Fv/Fm) and relative content of chlorophyll in cold susceptible and tolerant wheat cultivars. *Pajouhesh & Sazandegi*, 77: 175-181. (In Persian with English Abstract).
- Majdi, M., Karimzadeh, G., and Mahfoozi, S. 2009. The relationship between developmental accumulation of leaf soluble proteins and vernalization response of wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell). *Agricultural Sciences in China*, 8: 4. 410-417.
- Matysik, J., Bhalu, A.B., and Mohnty, P. 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82: 525-532.
- Oncel, I., Yardakulol, E., Keler, Y., Kurt, L., and Yildiz, A. 2004. Role of antioxidant defense system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. *Acta Oecologica*, 26: 211-218.
- Paldi, E., Szalai, G., Marton, C., Pal, M., and Janda, T. 2002. Role of some N-containing compounds in chilling tolerance of maize. *Acta Biologica Szegediensis*, 46: 99-100.
- Petcu, E., and Terbea, M. 1995. Proline content and the conductivity test as screening methods for frost tolerance of winter wheat. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 21: 3-11.

- Pocock, T.H., Hurry, V., Savitch, L.V., and Huner, N.P.A. 2001. Susceptibility to low-temperature photoinhibition and the acquisition of freezing tolerance in winter and spring wheat: the role of growth temperature and irradiance. *Plant Physiology*, 113: 499-506.
- Prasil, I.T., Prasilova, P., and Mark, P. 2007. Comparative study of direct and indirect evaluation of frost tolerance in barley. Available on www.durb.cz/files/report2006.pdf. Last accessed 5/2/2009.
- Rawson, H.M., Zajac, M., and Penrose, L.D.J. 1998. Effect of seedling temperature and its duration on development of wheat cultivars differing in vernalization response, *Field Crops Research*, 57: 289-300.
- Sasaki, H., Ichimura, K., Okada, K., and Oda, M. 1998. Freezing tolerance and soluble sugar contents affected by water stress during cold-acclimation and de-acclimation in cabbage seedling. *Scientia Horticulturae* 76: 161-169.
- Savitch, L.V., Harney, T., and Huner, N.P.A. 2000. Sucrose metabolism in spring and winter wheat in response to high irradiance, cold stress and cold acclimation. *Plant Physiology*, 108: 270-278.
- Sonoike, K. 1999. The different roles of chilling temperatures in the photoinhibition of photosystem I and photosystem II. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 48: 136-141.
- Sundar, D., and Reddy, A.R. 2000. Low night temperature-induced changes in photosynthesis and rubber accumulation in guayule (*Parthenium argentatum* Gray). *Photosynthetica*, 38: 421-427.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. 2006. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. *Annual Review of Plant Biology*, 57: 781-803.
- Yan, L., Loukoianov, A., Blechl, A., Tranquilli, G., Ramakrishna, W., SanMiguel, P., Bennetzen, J.L., Echenique, V., and Dubcovsky, J. 2004. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down regulated by vernalization. *Science*, 303: 1640-1644.
- Yong, I.J.S., Nilda, R., Tay, E., Oksoo, H., Baik, S., and Ock, G. 2003. Antioxidative enzyme offer protection from chilling damage in rice plants. *Crop Science*, 43: 2109-2117.



Influence of Vernalization on some Physiological Characteristics and Cold Tolerance in two Susceptible and Tolerant Cultivars of Bread Wheat

S. Jahanbakhsh-Godehkahriz¹, * Gh. Karimzadeh², F. Rastgar³,
S. Mahfoozi⁴ and Gh. Hosseini-Salekdeh⁵

¹Ph.D. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, ²Associate Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, ³Assistant Prof., National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran, ⁴Assistant Prof., Physiology-Agronomy Unit of Dept. of Cereals Research, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran, ⁵Associate Prof., Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj, Iran

Abstract

The process of adaptation to cold is an important mechanism in wheat cultivars to tolerate cold stress. This work was aimed to clarify the relationship between vernalization requirement with cold tolerance by assessing physiological changes in cold susceptible spring and tolerant winter wheat (*Triticum aestivum*, cvs. Kohdasht and Cheyyene, respectively) in environmentally controlled conditions, using factorial experiment on the basis of completely randomised design (CRD). By using final leaf number (FLN) method, the vernalization saturation and by using LT₅₀, the level of cold tolerance were determined in both wheat cultivars. FLN results verified no vernalization requirement in Kohdasht and vernalization saturation in Cheyyene at 42nd-d of exposure to 4°C. The results of LT₅₀ proved the maximum cold tolerance on either 42nd-d in Cheyyene (-17°C), or -2°C in Kohdasht (fixed at cold treatment period). The relationship of chlorophyll fluorescence, chlorophyll content (SPAD), proline and total carbohydrates with cold tolerance were studied. The results indicated that chlorophyll fluorescence was less influenced in Cheyyene than in Kohdasht in response to cold stress. Vernalization cold caused significant 30% decline in chlorophyll content in Kohdasht and 36% increase in Cheyyene cultivar on vernalization saturation time (day 42). At this time, 3- and 2-fold cold-induced accumulations of proline and total carbohydrates, respectively were detected in Cheyyene compared to Kohdasht cultivar. In conclusion, such physiological results verified the advantageous response to cold of vernalization required-cultivar in comparison with non-vernalization required-cultivar.

Keywords: Wheat; Vernalization cold; Final leaf number; LT₅₀; Chlorophyll; Proline; Carbohydrate

*- Corresponding Author; Email: karim_gh@modares.ac.ir