بررسی تنوع ژنتیکی میزان قندهای محلول در آب و تیپ رشد و تعیین ارتباط این صفات با تحمل به سرما در ژنوتیپ‌های جو

مهدی فیضی[۱]، بهزاد صادق زاده[۲]، یوسف انصاری[۳]، تیمور دولت پناه[۳] و نیما صالحی قره ورن[۴]

چکیده

به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی برای میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول در آب و بررسی ارتباط آن با تحمل به سرما (LT_{50})، تعداد ۱۱۹ ژنوتیپ جو دیم در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه در شرایط مزرعه‌ای با سه تکرار کشت شد و میزان تحمل سرمای ژنوتیپ‌ها (با اندازه‌گیری LT_{50}) تعیین و ارتباط آن با میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و تیپ رشد بررسی شد. نتایج اندازه‌گیری LT_{50} نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تنوع ژنتیکی وجود داشت و میزان تحمل ژنوتیپ‌ها از ۹- تا ۱۶- درجه سانتی‌گراد متغیر بود. محدوده مقدار قندهای محلول در آب برای ژنوتیپ‌ها از ۱۵ تا ۵۴ میلی‌گرم کربوهیدرات در گرم ماده خشک برگ در نوسان بود. به علاوه، تحمل سرما همبستگی مثبتی با میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب (r^2 = ۰/۲۳*) نشان داد. بصورت کلی نتایج این مطالعه نشان داد ژنوتیپ‌های جو با تیپ رشد پائیزه و نیز حاوی کربوهیدرات محلول در آب زیادتر، عموما از تحمل سرمای بیشتر در طی زمستان بعد از مرحله هاردنینگ برخوردار بودند و تحمل بیشتری به خسارت سرما در دیم‌زارهای سرد مناطق کوهستانی داشتند. از این‌رو انتخاب برای تحمل به سرما می‌تواند بر اساس اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات در برگ و تعیین تیپ رشد در برنامه‌های اصلاح جو مد نظر قرار گیرد.

کلمات کلیدی: *تنوع ژنتیکی، تحمل به سرما، جو زراعی، کربوهیدرات‌های محلول در آب.*

Archive of SID

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۶/۲۵

۱. دانشجوی دکترای اصلاح نباتات (نویسنده مسئول)

E- mail: mehdi_feizi_64@yahoo.com

۲. استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور.

۳. کارشناس پژوهشی موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور.

۴. کارشناس زراعت و اصلاح نباتات.

www.SID.ir

مقدمه و بررسی منابع علمی

در دیم‌زارها، تنش‌های محیطی از عوامل مهم اولیه در کاهش عملکرد گیاهان از جمله جو بوده و به طور متوسط باعث کاهش ۵۰ درصدی محصول گیاهان زراعی عمده در دنیا می‌شوند (Bray et al., 2000). از بین تنش‌های محیطی، سرمای کشنده زمستان از عوامل عمده محدود کننده در تولید جو در دیم‌زارهای مناطق کوهستانی بوده که مانع از پراکنش و افزایش سطح زیر کشت، بقا و تولید اپتیمم این محصول می‌گردد.

گیاهان روش‌هایی را برای سازش به سرما توسعه داده‌اند. گیاهان نواحی معتدل می‌توانند به سرمای زیر صفر سازش پیدا کنند زمانی که آن‌ها با سرمای ملایمی قبل از وقوع سرمای شدید زمستان تیمار داده شوند، که به این فرایند سازش به سرما (acclimation cold) یا هاردنینگ (hardening) گفته می‌شود که به صورت ژنتیکی کنترل شده و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در طول این فرایند اتفاق می‌افتد (Guy, 1990). در نتیجهٔ این فرآیندها، گیاه مواد حفاظت کننده در برابر تنش سرما را ذخیره می‌کند تا برای مقابله با شرایط سخت زمستان آماده شود (Mahfoozi et al., 2001). به علاوه، گیاهانی که در معرض دمای عادت‌دهی قرار گرفتند، تظاهر ژن‌های ساختمانی مرتبط با تحمل به سرما آغاز و به تدریج میزان تحمل به سرما در آن‌ها افزایش یافته و در نهایت به حداکثر تحمل خود می‌رسد (Guy, 1990).

در طی فرایند سازش به سرما، تغییرات در میزان مواد محلول موجود در بافت‌های گیاهی از قبیل کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، پلی‌آمین‌ها، آبسیزیک اسید (ABA) و غیره می‌توانند در مکانیسم‌های تحمل به تنش مؤثر باشند (Dorffling et al., 2009; Galiba, 1994). در این میان تغییرات در میزان کربوهیدرات‌ها به دلیل ارتباط مستقیم آن‌ها با فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل فتوسنتز، جابجایی عناصر و تنفس از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. کربوهیدرات‌های غیرساختمانی از جمله کربوهیدرات‌های محلول در آب ظاهراً نقش مهمی در تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان بازی می‌کنند (Ball et al., 2002; Bravo et al., 1998; Larsson, 1994; Levitt, 1980). به عنوان مثال، فروکتان‌ها نقش کلیدی در فرآیندهای متابولیکی ناشی از تنش بازی کرده (Housley and Pollock, 1993) و به میزان زیاد در گرامینه‌ها در دمای پایین تجمع می‌یابند، که شاید این افزایش تجمع در نتیجه کاهش تقاضا برای مواد فتوسنتزی نیز باشد (Galiba et al., 1997; Wagner and Wiemken, 1986).

تیماردهی سرما در طی مراحل هاردنینگ باعث کاهش میزان آب در گیاه و در نتیجه باعث افزایش قابل توجهی در کربوهیدرات‌های مؤثر در تنظیم فشار اسمزی (Morgan, 1992) و یا مؤثر در محافظت از غشای سلولی می‌گردد (Guy, 1990). فرای و همکاران (Fry et al., 1993) مشاهده نمودند تجمع ساکارز در طی مرحله هاردنینگ

Archive of SID

www.SID.ir

باعث افزایش تحمل به سرما در گیاهان سازش یافته شده و همبستگی مثبتی را بین میزان ساکارز و بقای استولون‌ها در گراس‌ها نشان داد. راجرز و همکاران (Rogers et al., 1975) نیز افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول از جمله ساکارز و نشاسته در گراس زوسیا در طی مرحله هاردنینگ را گزارش کردند. براو و همکاران (Bravo et al., 1998) در مطالعه تحمل به سرما در جوهای سازش داده شده و نشده به سرما مشاهده کردند در گیاهان سازش یافته میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافته و میزان LT_{50} از ۵/۸- به ۱۱/۴- کاهش یافت. لویت (Levitt, 1980) تاثیر قندها بر روی میزان تحمل به سرما را چنین تشریح کرده است که اولا تجمع قندها در واکوئل می‌تواند میزان تشکیل یخ را کاهش دهد و کمک به جلوگیری از سرما زدگی کند، ثانیا قندها برخی تاثیرات حفاظتی در سلول‌ها و تحمل آن‌ها به یخزدگی و جلوگیری از ایجاد پسابیدگی را در گیاهان دارند.

در مقابل، برخی از تحقیقات نیز نشان داده هیچ نوع ارتباط یا همبستگی بین تحمل به یخزدگی و میزان کربوهیدرات‌ها وجود ندارد، مخصوصاً در برخی از گونه‌های گراس که تحمل به یخزدگی پایینی دارند (Bush et al., 2000; Fry et al., 1991; Maier et al., 1994). این مشاهدات متضاد نشان می‌دهد که هنوز نقش کربوهیدرات‌های غیرساختمانی از جمله کربوهیدرات‌های محلول در آب در تحمل به یخزدگی به صورت واضح مشخص نمی‌باشد و ممکن است بین گونه‌های گیاهی متفاوت باشد و لزوم مطالعات بیشتر در دیگر گونه‌های گیاهی و نیز شرایط مختلف آب و هوایی را می‌طلبد. از این‌رو بررسی تنوع ژنتیکی میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و تعیین ارتباط بین کربوهیدرات‌های محلول در آب با تحمل به سرما (تعیین LT_{50}) جهت استفاده در برنامه‌های اصلاح جو در دیم‌زارهای سرد کوهستانی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و می‌تواند اصلاح‌گران را در یافتن ارقام مناسب برای کشت در شرایط دیم سردسیر یاری نماید.

مواد و روش‌ها

اندازه‌گیری LT_{50}: به منظور مطالعه میزان تنوع ژنتیکی برای تجمع کربوهیدرات‌های محلول در آب با میزان تحمل به سرما (LT_{50}) تعداد ۱۱۹ ژنوتیپ جو در کرت‌هایی با ۳ ردیف و به طول ۳ متر در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه در سال ۸۹-۱۳۸۸ کشت شدند. ژنوتیپ‌های جو در پاییز کشت شد و در مرحله پنجه‌دهی، با کاهش تدریجی دما و طول روز در طی فصل پاییز، عادت‌دهی به سرما در آن‌ها انجام شد. بعد از بارش برف و شروع یخبندان و توقف رشد نبات، تست انجماد طوقه انجام گردید. برای اجرای آزمایش انجماد طوقه در هر سری دمایی (مثلا ۹- درجه سانتی‌گراد) یک طرح در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار با ۱۱۹ تیمار (۱۱۹ ژنوتیپ) اجرا شد. برای هر تکرار، ابتدا تعدادی بوته از هر ژنوتیپ برای هر سری دمایی مورد

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی (مثلا ۹- درجه سانتی‌گراد) از خاک بیرون آورده شده، سپس تعداد ۵ عدد بوته یکسان از نظر مرحله رشدی انتخاب و در دمای مورد نظر (مثلا ۹- درجه) مورد بررسی قرار گرفت. سری دمایی مورد نظر در این بررسی شامل دماهای ۹-، ۱۱-، ۱۳- و ۱۵- درجه سانتی‌گراد بودند (Mahfoozi, 2005).

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌ها: برای مطالعه وجود تنوع ژنتیکی برای میزان تجمع کربوهیدرات‌های محلول در آب و ارتباط آن با میزان تحمل به سرما، قسمت هوایی نمونه‌های مورد مطالعه برای تست LT_{50} ابتدا در آب دیونیزه شسته شد، سپس در دمای C °۷۲ به مدت ۷۲ ساعت خشک شده و آسیاب گردیدند. سپس ۰/۱ گرم از هر نمونه آسیاب شده (خشک شده در دمای C °۷۲ به مدت ۴۸ ساعت) برای اندازه‌گیری قندهای محلول، در ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق شیک شدند. پس از زمان مذکور نمونه‌ها با استفاده از کاغذ واتمن صاف و تا زمان اندازه‌گیری در دمای C °۲۰- نگهداری شدند. میزان قندهای محلول با استفاده از معرف آنترون اندازه‌گیری گردید (Yemm and Wilhs, 1954). مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول صاف شده در لوله‌های آزمایش ریخته و حجم آن به ۱ میلی‌لیتر رسید. سپس به آن ۴ میلی‌لیتر از محلول معرف آنترون اضافه شد. پس از آن به مدت ۸ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بلافاصله به مدت ۴ دقیقه در حمام آب سرد قرار داده شد. برای قرائت میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب، از فاز پایینی به میزان ۱ میلی‌لیتر به داخل کوت ریخته و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد.

تعیین تیپ رشد: برای تعیین تیپ رشد، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در اواسط تابستان در ردیف‌های نیم متری کشت شدند و به صورت امتیازدهی یادداشت برداری انجام شد. ژنوتیپ‌هایی که در کلیه مراحل یادداشت برداری در حال رشد رویشی بودند شاخص عددی ۵، ارقام و لاین‌هایی که در آن‌ها پنجه‌ها در حال طویل شدن بودند شاخص عددی ۴، ژنوتیپ‌هایی که در مرحله ساقه روی بودند، شاخص عددی ۳، ارقام و لاین‌هایی که مراحل مذکور را گذرانده و در مرحله ظهور سنبله بودند شاخص عددی ۲ و ژنوتیپ‌هایی که از مرحله گرده‌افشانی عبور کرده بودند شاخص عددی ۱ را دریافت کردند. سرانجام نتیجه‌گیری نهایی بر اساس نتایج و جمع بندی یادداشت‌های به عمل آمده صورت گرفت. به صورتی‌که ژنوتیپ‌های دارای شاخص ۵ به عنوان تیپ زمستانه، شاخص ۴ به عنوان تیپ زمستانه متمایل به بینابین، شاخص ۳ به عنوان تیپ بینابین، ژنوتیپ‌هایی با شاخص ۲ به عنوان تیپ بهاره متمایل به بینابین و ژنوتیپ‌هایی با شاخص ۱ به عنوان تیپ بهاره مشخص شدند.

در پایان به منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار GenStat استفاده شده و مقایسه میانگین‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت. برای تعیین میزان همبستگی صفات از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس صفات (جدول ۱)، بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب و میزان تحمل به سرما (LT_{50}) اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

جدول ۱- میانگین مربعات در تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ های جو

Table 1- Analysis of variance mean squares for all traits in barley genotypes

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	LT_{50}	کربوهیدرات‌ها Carbohydrate
تکرار (R)	2	8/59**	30 ns
تیمار (T)	118	2/4 **	182**
اشتباه (E)	236	1/5	2/12
CV%	-	9	4

ns ، * و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and **: non significant and significant respectively at 5 and 1 percent

محدوده میزان قندهای محلول در آب برای ژنوتیپ‌ها از ۱۵ (لاین ۳۰) تا ۵۴ (لاین ۴۶) میلی‌گرم کربوهیدرات در گرم ماده خشک در نوسان بود (جدول ۲). ارقام شاهد آبیدر و سهند دارای میزان قند به ترتیب ۲۶/۳ و ۲۶ میلی‌گرم بوده و جزء ژنوتیپ‌های با میزان قند متوسط به شمار می‌آیند. حساس‌ترین لاین نسبت به سرما (Rihane-03) با میزان کربوهیدرات ۱۶ میلی‌گرم جزو ژنوتیپ‌هایی با قند پایین بود؛ ولی متحمل‌ترین ژنوتیپ (لاین ۵۹) با داشتن ۳۰ میلی‌گرم جزو ژنوتیپ‌های با قند نسبتا بالا بود (جدول ۲). وجود همبستگی مثبت و معنی‌دار بین LT_{50} و میزان کربوهیدرات ($r = ۰/۲۳^*$) نیز موید این نتایج است (جدول ۳). از این‌رو می‌توان نتیجه‌گیری کرد داشتن میزان بیشتری از قندهای محلول در آب باعث افزایش تحمل به سرما می‌گردد. فاولر و همکاران (Fowler et al., 1981) و محفوظی و همکاران (Mahfoozi et al., 1993) نیز اظهار داشته‌اند ارقام پائیزه گندم به علت دارا بودن مقدار زیادی کربوهیدرات‌های ذخیره شده در طوقه و سایر اندام‌ها، از تحمل به سرمای بیشتری برخوردار می‌باشند. یوشیدا و همکاران (Yoshida et al.,

محدوده LT_{50} برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از ۹- تا ۱۶- درجه سلسیوس متغیر بود (جدول ۲). ژنوتیپ شماره ۵۹ (۱۶- ̊C) کمترین LT_{50}، و رقم Rihane-03 بیشترین LT_{50} را به خود اختصاص دادند (۹- ̊C). ضمنا ارقام شاهد آبیدر و سهند دارای LT_{50} به ترتیب ۱۴/۸- $^{\circ}C$ و ۱۵- $^{\circ}C$ بودند که نشان از تحمل نسبتا زیاد این ارقام در برابر سرما بود.

Archive of SID

www.SID.ir

1997) با بررسی مقادیر LT_{50} و میزان کربوهیدرات‌های محلول در طوقه و برگ‌های گندم گزارش نمودند که در ارقام مقاوم به دماهای یخ زدگی، مونو و دی ساکاریدهای بیشتری تجمع می‌یابد. در بین ژنوتیپ‌های گندم نیز تفاوت در تجمع کربوهیدرات‌ها با میزان تحمل به سرما همبستگی نشان داد و میزان کربوهیدرات‌های محلول در آب در طول مدت اعمال تیمارهای سرما به صورت پیوسته افزایش یافت (Vagujfalvi et al., 1999). گالیبا و همکاران (Galiba et al., 1997) مشاهده نمودند که گندم‌های متحمل به سرما میزان بالاتری از فروکتان و ساکارز نسبت به ژنوتیپ‌های حساس داشتند. به طور کلی قندها در کاهش دمای انجماد آب سلولی، تأمین انرژی قابل دسترس و محافظت از ساختمان و نحوه عمل پروتئین‌ها در ایجاد مقاومت به سرما نقش عمده‌ای دارند (Atici and Nalbantoglu, 2003). قندها هم‌چنین باعث کاهش پسابیدگی سلول‌ها در مقابل تشکیل یخ‌های بین سلولی می‌گردند. افزایش غلظت مواد محلول درون سلول و کاهش محتوای آب منجر به منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول و پایین‌تر رفتن نقطه انجماد مایع درون سلولی و افزایش مقاومت در برابر سرما می‌گردد. به طور کلی افزایش محتوی قند را می‌توان به عنوان یک شاخص فیزیولوژیک مناسب برای مقاومت به سرما در نظر گرفت (Kerepesi et al., 2004)، و از آن به عنوان معیاری برای ارزیابی ژنوتیپ‌های متحمل به سرما استفاده کرد.

در بررسی صفت تیپ رشد، ۲۵ ژنوتیپ تیپ رشد زمستانه (W)، ۹ عدد زمستانه متمایل به بینابین (WF)، ۳۰ عدد بینابین (F)، ۱۵ عدد بهاره متمایل به بینابین (SF) و ۴۰ عدد بهاره (S) داشتند. اکثر ژنوتیپ‌هایی که دارای تیپ رشدی زمستانه و زمستانه متمایل به بینابین بودند، مقاوم به سرما بودند. بر اساس نتایج این مطالعه، بین صفت تیپ رشد و تحمل به سرما همبستگی مثبت و غیر معنی‌داری ($r=۰/۱۳$) وجود داشت، بدین معنی که تیپ‌های رشد پاییزه عموما از تحمل بیشتری نسبت به سرما برخوردار بودند (LT_{50} کمتری داشتند). با توجه به وجود همبستگی مثبت بین میزان کربوهیدرات و تیپ رشد زمستانه ($r=۰/۱۹^*$)، تحمل بیشتر تیپ‌های زمستانه می‌تواند به دلیل تجمع بیشتر کربوهیدرات در این ژنوتیپ‌ها باشد. فاولر و همکاران (Fowler et al., 1981)، محفوظی و همکاران (Mahfoozi et al., 2003) نیز اظهار داشتند که ارقام پاییزه به علت دارا بودن مقدار زیادی قند و کربوهیدرات‌های ذخیره شده در طوقه و سایر اندام‌ها، از قدرت مقاومت به سرمای بیشتری برخوردار می‌باشند. روستایی (Roustae, 1997) در بررسی ۲۴ رقم گندم از نظر تحمل به سرما نتیجه گرفت که کلیه ارقام مقاوم به سرما دارای تیپ رشد زمستانه هستند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- میانگین کل، دامنه تغییرات و اشتباه استاندارد صفات در ژنوتیپ ها به همراه شاهدهای آزمایش (سهند و Rihane-03)

Table 2- Overall mean, standard error and range of traits in genotypes with checks (Sahand and Rihane-03)

LSD 5%	Rihane-03	سهند Sahand	Se	دامنه تغییرات Changes Domain	میانگین Average	صفات Traits
2/04	-9	15	0/1	-9 تا -16	-14	LT_{50}
5/82	16	26	0/7	14 – 54	25	کربوهیدرات محلول در آب (W.S.C)
---	1	3	0/1	1 – 5	2.6	تیپ رشد (T.G)

جدول ۳- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های جو

Table 3- Phenotypic correlations between traits in barley genotypes

تیپ رشد Type Growth	کربوهیدرات محلول در آب Water-Soluble Carbohydrates	LT_{50}	صفات Traits
		1	LT_{50}
	1	0/23*	کربوهیدرات محلول در آب (W.S.C)
1	0/19*	0/13	تیپ رشد (T.G)

بصورت خلاصه نتایج این مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی برای صفات میزان کربوهیدات‌های محلول در آب و نیز میزان تحمل به سرما (LT_{50}) در بین ژنوتیپ‌های جو وجود داشته و ژنوتیپ‌های جو حاوی کربوهیدرات بیشتر و تیپ رشد پائیزه عموما از تحمل به سرمای بیشتر در طی زمستان برخوردار می‌باشند. از این‌رو انتخاب برای تحمل به سرما می‌تواند بر اساس اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات در برگ در برنامه‌های اصلاح جو مد نظر قرار گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

References منابع مورد استفاده

✓ Atici, ?., and B. Nalbantoglu. 2003. Antifreeze proteins in higher plants. Phytochemistry. 64: 1187- 1196.

✓ Ball, S., Y. Qian, and C. Stushnoff. 2002. Soluble carbohydrates in two buffalograss cultivars with contrasting freezing tolerance. J. Am. Hort. Sci. 127: 45- 49.

✓ Bravo L. A., G. E. Zuniga., M. Alberdi, and L. J. Corcuera. 1998. The role of ABA in freezing tolerance and cold acclimation in barley. Physiologia Plantarum. 103: 17- 23.

✓ Bray E. A., J. Bailey-Serres, and E. Weretilnyk. 2000. Responses to abiotic stresses, in: W. Gruissem, et al. (Eds.), Biochemistry and molecular biology of plants, American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD. Pp: 1158- 1249.

✓ Bush, E., P. Wilson., D. Shepard, and J. McCrimmon. 2000. Freezing tolerance and nonstructural carbohydrate composition of carpetgrass (*Axonopus afficinalis* Chase). HortScience. 35: 187- 189.

✓ Dorffling, K., H. Dorffling, and E. Luck. 2009. Improved frost tolerance and winter hardiness in proline over-accumulating winter wheat mutants obtained by in vitro-selection is associated with increased carbohydrate, soluble protein and abscisic acid (ABA) levels. Euphytica. 165: 545- 556.

✓ Fowler, D. B., L. V. Gusta, and N. J. Tyler. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. Crop Sei. 21: 896- 901.

✓ Fry, J. D., N. S. Lang., R. G. P. Clifton, and F. P. Maier. 1993. Freezing tolerance and carbohydrate content of low temperature-acclimated and non-acclimated centipede grass. Crop Science. 33: 1051- 1055.

✓ Fry, J. D., N. S. Lang, and R. G. P. Clifton. 1991. Freezing resistance and carbohydrate composition of 'Floratam' St. Augustine grass. HortScience. 26: 1537- 1539.

✓ Galiba, G. 1994. In vitro adaptation for drought and cold hardiness in wheat, in: J. Janick (Ed.), Plant breeding reviews, John Wiley and Sons, New York. Pp: 115- 162.

✓ Galiba, G., I. Kerepesi, and J. W. Snape Sutka. 1997. Location of a gene regulating cold-induced carbohydrate production on chromosome 5A of wheat. Theoretical and Applied Genetics. 95: 265- 270.

✓ Guy, C. L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 41: 187- 223.

Archive of SID

www.SID.ir

✓ Housley, T. L., and C. J. Pollock. 1993. The metabolism of fructans in higher plants, in: M. Suzuki and N. J. Chatterton (Eds.), Science and Technology of Fructans, CRC Press, Boca Raton, FL. Pp: 191- 225.

✓ Kerepesi, I., E. B?nyai-Stefanovits, and G. Galiba. 2004. Cold acclimation and abscisic acid induced alterations in carbohydrate content in calli of wheat genotypes differing in frost tolerance. Journal of Plant Physiology. 161: 131- 133.

✓ Larsson, S. 1994. Soluble sugars and membrane lipids in winter wheat during cold acclimation. Nord. Jordbruksforsk. Pp: 48- 76.

✓ Levitt, J. 1980. Responses of Plants to Environmental Stress, Vol. I: Chilling, Freezing, and High Temperature Stress. Academic Press, New York.

✓ Mahfoozi, S., A. E. Limin, and D. B. Fowler. 2001. Developmental regulation of low-temperature tolerance in winter wheat. Ann. Bot. 87: 751- 757.

✓ Mahfoozi, S., M. Roustae, and Y. Ansari Maleki. 2005. Determining cold tolerance in some genotypes of bread wheat, durum wheat and barley. Seed and Plant Journal. 21 (3): 476-483. (In Persian)

✓ Mahfoozi, S., A. Majidi, and M. Taeb. 1993. Research Report accumulation of carbohydrates as physiological indicators in evaluating sources of cold tolerance. Publications Seed and Plant Improvement Institute, Karaj. (In Persian)

✓ Maier, F. P., N. S. Lang, and J. D. Fry. 1994. Freezing tolerance of three St. Augustinegrass cultivars as affected by stolon carbohydrate and water content. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 119: 473- 476.

✓ Morgan, J. M. 1992. Osmotic components and properties associated with genotypic differences in osmo-regulation in wheat. Australian Journal of Plant Physiology. 19: 67- 76.

✓ Rogers, R. A., J. H. Dunn, and C. J. Nelson. 1975. Cold hardening and carbohydrate composition of ‘Meyer’ zoysia. Agron. J. 67: 836- 838.

✓ Roustae, M. 1997. Winter wheat varieties resistant to cold and its relationship with MORPHO-PHYSIOLOGICAL TRAITS. MA Thesis Breeding. Faculty of Agriculture. Tabriz University. (In Persian)

✓ Vagujfalvi, A., I. Kerepesi., G. Galiba, T. Tischner, and J. Sutka. 1999. Frost hardiness depending on carbohydrates changes during cold acclimation in wheat. Plant Science. 144: 85- 92.

Archive of SID

www.SID.ir

✓ Wagner, W., and A. Wiemken. 1986. Properties and subcellular localisation of fructan hydrolase in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Gerbel). Journal of Plant Physiology. 123: 429- 439.

✓ Yemm, E. W., and A. J. Wilhs. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochemistry Journal. 57: 508- 514.

✓ Yoshida, M., J. Abe., M. Mariyama, and Y. Nakamura. 1997. Seasonal changes in the physical state of crown water associated with freezing tolerance in winter wheat. Physiol. Plant. 99: 363- 370.

Archive of SID

www.SID.ir