مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۸۸
۱۰۶-۸۵
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]

[۱]دانشجوی دکتری گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، [۲]دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، [۳]استادیار مرکز ملی مهندسی ژنتیک و فن‌آوری زیستی، [۴]استادیار پژوهش بخش غلات مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج،
[۵]دانشیار 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 بهاره کوهدشت 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 اشباع بهاره‌سازی گردید. همچنین در رقم زمستانه شایان انباشت ۳ و ۲ برابر پرولین و قندهای کل نسبت به رقم بهاره کوهدشت 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

Archive of SID
www.SID.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 ۱۳۸٤ از بین رفتند (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۵). در سال زراعی ۸۷-۱۳۸٦، 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، ۱۹۹٦؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱a؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰٦). معمولاً دمای ٤ 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، ۲۰۰۱b؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۸؛ فولر و همکاران، ۱۹۹٦). 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، ۱۹۹٦؛ کاواکامی و یوشیدا، ۲۰۰۲؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۰؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۳؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰۵؛ کریم‌زاده و همکاران، ۲۰۰٦؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰٦؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹a؛ جهانبخش‌گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹b؛ جوادیان و همکاران، ۲۰۰۷؛ کاواکامی و همکاران، ۲۰۰۷؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۹).

Archive of SID

www.SID.ir

دستگاه فتوسنتزی به‌دلیل قرارگیری در کلروپلاست تحت‌تأثیر سرمای بهاره‌سازی قرار می‌گیرد و این امر به‌دلیل سیستم‌های حساس غشاء داخلی تیلاکوئید (شامل ترکیب لیپید با اسیدهای چرب) می‌باشد. در اثر تنش سرما گونه‌های آزاد اکسیژنی[1] تولید می‌گردد که این امر باعث اکسیداسیون رنگینه‌های فتوسنتزی، پروتئین و لیپیدهای غشای تیلاکوئیدی و در نهایت تجزیه آنها می‌شود (سونویک، ۱۹۹۹؛ آلن و ارت، ۲۰۰۱؛ پوکوک و همکاران، ۲۰۰۱). تأثیر اولیه تنش سرما برروی فعالیت فتوسنتزی کاهش کارایی کربن دی‌اکسید می‌باشد. این مسأله به‌دلیل افزایش تجزیه و یا کاهش فعالیت آنزیم‌های متعدد شرکت‌کننده در چرخه‌های ۳ و ٤ کربنه می‌باشد که این عمل باعث بسته شدن مسیر چرخه‌ها و ایجاد تغییراتی در تشکیل و توزیع قندهای مختلف می‌گردند (ساویچ، ۲۰۰۰؛ ساندر و ردی، ۲۰۰۰). تجمع پرولین در سلول باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، حفاظت آنزیم‌ها از تجزیه‌شدن، تنظیم اسمزی سلول و حفظ حالت طبیعی غشاء می‌گردد. در تعدادی از گیاهان تحت شرایط تنش سرما تا ۱۰۰ برابر شرایط نرمال غلظت پرولین افزایش می‌یابد (ماتیسیک و همکاران، ۲۰۰۲). قندها رابطه مستقیمی با فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز و تنفس دارند. قندها با بالا بردن غلظت درون سلولی، مانع یخ زدن آن در اثر سرما می‌شوند (گالیبا و همکاران، ۱۹۹۷) و آنها از غشای پلاسمایی و پروتئین‌ها در برابر خسارت‌های تنش سرمایی محافظت می‌کنند (ساساکی و همکاران، ۱۹۹۸).

این تحقیق با هدف تعیین ارتباط نیاز بهاره‌سازی با بیان تحمل به سرما و تغییرات فیزیولوژیکی (راندمان کوآنتومی فتوسنتزی، 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 روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد استفاده، شرایط کاشت و نمونه‌برداری: 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 می‌باشد (محفوظی و همکاران، ۲۰۰٦). این بررسی در سال ۱۳۸٦ 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) به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق به‌مدت ۲٤ ساعت در آب خیسانده شدند و تعداد

1- Reactive Oxygen Species (ROS)

Archive of SID

www.SID.ir

۱۵ عدد بذر در هر گلدان در عمق ۲ سانتی‌متر کشت گردید. گلدان‌ها در اتاق رشد در دمای ۱±۲۰ 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 (به‌مدت ٥٦ روز در رقم بهاره کوهدشت و ۷۷ روز در رقم پاییزه شایان نگه داشته (تیمار دمایی شاهد) و نیمی دیگر در روز ١٤ از شروع آزمایش به دمای ١±٤ درجه سانتی‌گراد (به‌مدت ٤٢ روز در رقم بهاره کوهدشت و ٦٣ روز در رقم پاییزه شایان) قرار داده شدند (تیمار سرمایی). اولین نمونه‌برداری در هر دو رقم در روز ١٤ (روز انتقال به تیمار ٤ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید که این روز به‌عنوان روز صفر سرما در نظر گرفته شد. سپس در گندم بهاره کوهدشت در روزهای ۲۱، ٤٢ و در گندم زمستانه شایان در روزهای ۲۱، ٤٢ و ٦٣ سرما نمونه‌برداری از جوان‌ترین برگ‌ها صورت گرفت. در این زمان‌ها، از گیاهچه‌های شاهد هر دو رقم به‌طور هم‌زمان نمونه‌برداری به عمل آمد. مجموعاً در این آزمایش ٤ زمان مختلف نمونه‌برداری برای رقم زمستانه مقاوم به سرما و ۳ زمان نمونه‌برداری برای رقم بهاره حساس به سرما وجود داشت.

روش اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی

محاسبه تعداد نهایی برگ[1]: بذور هر دو رقم گندم به‌مدت ١٤ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. یک‌سری از آنها به‌عنوان شاهد بدون القاء سرمای بهاره‌سازی (٤ درجه سانتی‌گراد) تا ظهور برگ پرچم در این دما قرار گرفتند (روز صفر سرما). سری‌های دیگر به‌مدت زمان‌های متفاوت ۲۱ و یا ٤٢ روز در رقم بهاره و ۲۱، ٤٢ و یا ٦٣ 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 به‌دلیل تفاوت در طول دوره رویشی دو رقم گندم می‌باشد: رقم بهاره زودتر به خوشه می‌رود.

اندازه‌گیری LT_{50}: این اندازه‌گیری براساس روش (لیمین و فولر، ۱۹۸۸) انجام گردید. در هر زمان نمونه‌برداری (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 به‌مدت ۱۲ ساعت نگهداری شدند. سپس به فریزر مخصوص آزمون انجماد و قابل

1- Final Leaf Number (FLN)

Archive of SID

www.SID.ir

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). زمانی‌که دمای فریزر به دماهای مورد نظر می‌رسید، نمونه‌ها از فریزر خارج و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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 LT_{50} ثبت می‌شد. بنابراین، در هر زمان نمونه‌برداری برای هر رقم یک داده که میانگین ۳ تکرار بود به‌عنوان LT_{50} منظور گردید.

بررسی کلروفیل فلورسانس: مقدار کلروفیل فلورسانس توسط دستگاه تنش‌سنج یا فلوئوریمتر، مدل PSM Biomonitor S.C.I. AB, Umea Sweden اندازه‌گیری شد. قسمت میانی پهنک جوان‌ترین برگ به‌مدت ۱۵ دقیقه در داخل گیره در تاریکی قرار گرفتند. جهت انتخاب طول موج مناسب ٦۹۵ نانومتر، سطح نوری دستگاه روی ٤ 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، ۲۰۰٤؛ چاکرابرتی و تندن، ۲۰۰۵؛ بیتس 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؛ دوبیوس و همکاران، ۱۹۵٦) استفاده گردید.

تجزیه‌های آماری: به‌منظور بررسی دو پارامتر LT_{50} 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 ٤۲ 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

Archive of SID

www.SID.ir

سطح، تیمار دمایی در ۲ سطح و زمان نمونه‌برداری در ۳ سطح و با ۳ تکرار به‌کار رفت. در تجزیه واریانس، برای مقایسه ۲ رقم در شرایط کاملاً مساوی، کلیه پارامترها در ۳ سطح مشترک ذکر شده زمان‌های نمونه‌برداری انجام گردید و به‌عبارتی داده‌های مربوط به روز ٦٣ در رقم زمستانه شایان از محاسبه خارج شد. در هر پارامتر، از جوان‌ترین برگ‌ها نمونه‌برداری 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. به‌منظور 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 نمونه‌برداری 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.

منبع تغییرات	درجه آزادی	MS	
		FLN	LT_{50}
رقم (cv)	۱	۱٦/۲۸۱***	۵/۲۱۵***
روزهای بهاره‌سازی (d)	۲	۰/۰۳۸^{ns}	۲/۱۰۹***
cv×d	۲	۲/۵٤۹***	۱/۳۹۷***
خطا	۱۸	۰/۰۸۱	۰/۰۵۷
کل	۲۳		
CV%		۱۳/٤۹	۱۱/۹۱

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

Archive of SID

www.SID.ir

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

روزهای بهاره‌سازی	FLN		LT_{50}	
	بهاره	زمستانه	بهاره	زمستانه
صفر (شاهد)	۷/۲۵±۰/۲۵^{a}	۲٤/۰۰±۰/٤۱^{a}	-۲/۰۰±۰/۰۰^{a}	-۲/۰۰±۰/۰۰^{a}
۲۱	۸/۷۵±۰/۲۵^{a}	۱۵/۵۰±۰/۲۹^{b}	-۲/۰۰±۰/۰۰^{a}	-۱۰/٦۷±۰/٦۷^{c}
٤۲	۷/۷۵±۰/۲۵^{a}	۱۲/۵۰±۰/۲۹^{c}	-۲/٦۷±۰/٦۷^{a}	-۱٦/٦۷±۰/٦۷^{d}
٦۳	-	۱۲/۲۵±۰/۰۰^{c}	-	-۸/٦۷±۰/۸۸^{b}
CV%	٤/۵	۱/٦	۱۱/۲	۲/۳
MS	۰/٦۸۷^{ns}	۱/۱۳٤***	۰/۰٦۲^{ns}	۲/۳۰۷***

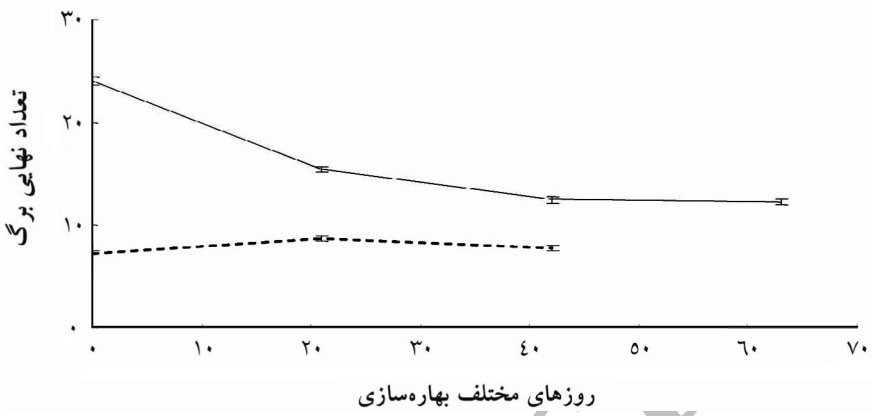
در هر پارامتر، برای مقایسه هر رقم در روزهای مختلف نمونه‌برداری، میانگین‌هایی که با حرف لاتین مشابه در هر ستون نشان داده شده‌اند، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند.

^{ns} و ***به‌ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار درسطح احتمال ۵ درصد و تفاوت معنی‌دار درسطح 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 به‌مدت طولانی ندارند (محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱a؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰٦؛ فولر و همکاران، ۲۰۰۱؛ لیمین و فولر، ۲۰۰٦؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸).

Archive of SID

www.SID.ir



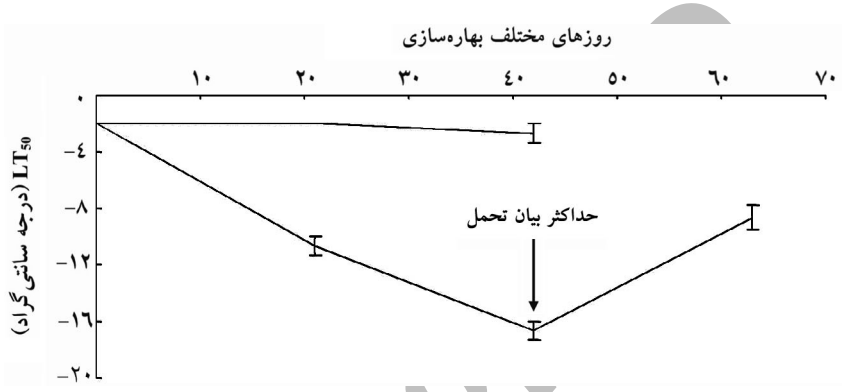
شکل ۱- تغییرات تعداد نهایی برگ در روزهای مختلف بهاره‌سازی در گندم رقم بهاره کوهدشت (خط نقطه‌چین) و رقم زمستانه شایان (خط ممتد).

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 تحت‌تأثیر طول مدت دوره سرمای بهاره‌سازی می‌باشد به‌نحوی‌که با قرار دادن این رقم در دمای بهاره‌سازی (٤ درجه سانتی‌گراد) تعداد نهایی برگ به‌طور چشمگیری کاهش پیدا می‌کند به‌طوری‌که بهاره‌سازی در روز ٤۲ 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 به‌عنوان محدوده تکمیل بهاره‌سازی می‌نامند (فولر و همکاران، ۱۹۹٦؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰۱b؛ مجدی و همکاران، ۲۰۰۸). رقم شایان زمانی‌که در معرض دمای پایین قرار نگیرد برای رسیدن به فاز زایشی تعداد برگ‌های زیادی (۲٤ 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 ٤۲ 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).

Archive of SID

www.SID.ir

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 (۲۰۰۱b و ۲۰۰۶) 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 بیان کننده همین مطلب می‌باشد.

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

Archive of SID

www.SID.ir

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 به‌ترتیب در شکل‌های (۳) و (٤) و نتایج مقایسه بین دو تیمار دمایی میانگین‌های آنها نیز به‌ترتیب در جدول‌های (٤) و (٥) 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 بهاره کوهدشت باعث کاهش فاحش معنی‌داری در نسبت Fv/Fm در روزهای ۲۱ (۲۸ درصد) و ٤۲ (۲٦ درصد) در مقایسه با شاهد گردید در حالی‌که در رقم زمستانه شایان این میزان کاهش معنی‌دار در روزهای ٤۲ (۱۳ درصد) و ٦۳ (٦ درصد) بود (جدول ٤ و شکل ۳). به بیانی دیگر، این بررسی نشان می‌دهد که میزان کاهش سرما القایی راندمان کوانتومی فتوسیستم II در گندم رقم بهاره 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.

منبع تغییرات	درجه آزادی	MS			
		قندهای کل	پرولین	کلروفیل	Fv/Fm
رقم (cv)	۱	۱/۱٥۳***	۲/۰۰۰**	۳/۰۳۸**	۳/۹۰٤***
تیمار دمایی (T)	۱	۳/۳۸۰***	٥/۷۳۳***	۱/۳٦۳*	۱۰/٦۹٤***
زمان نمونه‌برداری (S)	۲	۹/٦۷۱***	۷/۳٤٤***	۰/٥۲٥^{ns}	۳/٥۳٤***
cv × T	۱	۰/٤۰٥*	۱/۲۰٤*	۹/۰٤٥***	۰/۰۹۸^{ns}
cv × S	۲	۰/٦۰٥***	۰/۸٥۰*	۱/۲۹۸*	۰/۰٤۰^{ns}
T × S	۲	۰/۸۷٤***	۱/٥۳۲**	۰/۷۲٥^{ns}	۲۰/۸۰٥^{ns}
cv × T× S	۲	۰/۱۰۲^{ns}	۰/۳۲٥^{ns}	۲/۷۹۹***	۰/٤۱۰^{ns}
خطا	۲٤	۰/۰٦٦	۰/۱۸۳	۰/۳۰۳	۰/۲۷۰
کل	۳٥				
CV%		۱۳/٦	۲۲/۲	۱/٥	۱۷/٦

^{ns} و * و ** و *** به‌ترتیب عدم تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد، تفاوت معنی‌دار در سطوح احتمال ٥ درصد، ۱ درصد و ۰/۱ درصد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های (±Se) راندمان 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	روزهای	Fv/Fm		کلروفیل	
گندم	نمونه‌برداری	٤ درجه سانتی‌گراد	٢٠ درجه سانتی‌گراد	٤ درجه سانتی‌گراد	٢٠ درجه سانتی‌گراد
WW	صفر	٠/٧٨١±٠/٠٠٤^{a}	٠/٧٨١±٠/٠٠٤^{a}	٣٥/١٠±٠/٩٨^{a}	٣٥/١٠±٠/٩٨^{a}
	٢١	٠/٧٠٢±٠/٠١٢^{a}	٠/٧٥٥±٠/٠٢٠^{b}	٣٦/٦٥±١/٠٩^{a}	٣٦/٣٨±١/٠٠^{a}
	٤٢	٠/٦٨١±٠/٠١٣^{a}	٠/٧٨٣±٠/٠٠٨^{a}	٤٨/٥٢±١/٩٦^{a}	٣٥/٧٤±١/٥١^{b}
	٦٣	٠/٧٣٤±٠/٠١٣^{b}	٠/٧٨٠±٠/٠٠٥^{a}	٤٧/٤١±٠/٨٣^{a}	٣٤/٦٣±١/٠٦^{b}
SW	صفر	٠/٧٦٦±٠/٠٠٢^{a}	٠/٧٦٦±٠/٠٠٢^{a}	٣٥/٣٩±١/١٩^{a}	٣٥/٣٩±١/١٩^{a}
	٢١	٠/٥٣٨±٠/٠١٠^{b}	٠/٧٥٢±٠/٠١٨^{a}	٢٨/٧٩±٠/٩٤^{b}	٣٨/٥٩±٢/١٩^{a}
	٤٢	٠/٥٧٣±٠/٠٠٦^{b}	٠/٧٧١±٠/٠٠٦^{a}	٢٨/٧٢±٠/٤٢^{b}	٤١/٣١±٢/٤٦^{a}

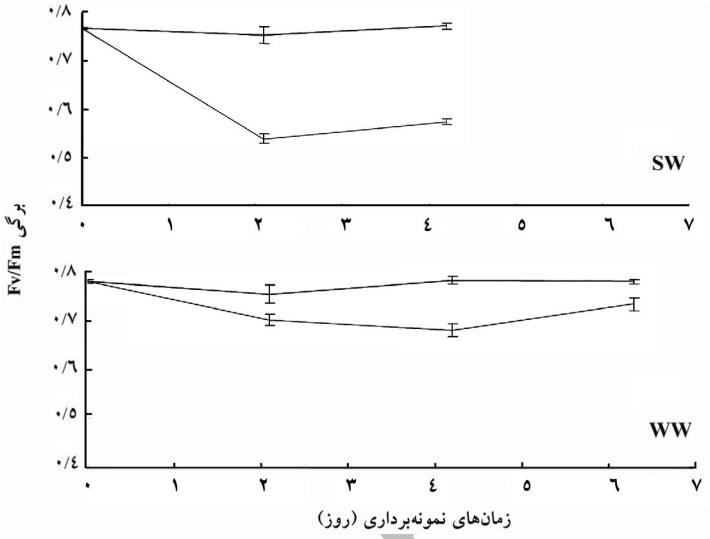
جدول ٥- مقایسه میانگین‌های (±Se) مقدار پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) و مقدار کل قندها (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) بین دو تیمار دمایی در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری در گندم رقم بهاره (SW) کوهدشت و زمستانه (WW) شایان.

ارقام	روزهای	پرولین		قندهای کل	
گندم	نمونه‌برداری	٤ درجه سانتی‌گراد	٢٠ درجه سانتی‌گراد	٤ درجه سانتی‌گراد	٢٠ درجه سانتی‌گراد
WW	صفر	٠/١٢٦±٠/٠١٩^{a}	٠/١٢٦±٠/٠١٩^{a}	٤٢/١٣±٠/٥٢^{a}	٤٢/١٣±٠/٥٢^{a}
	٢١	٣/٥٩٣±٠/١١٧^{a}	٠/١٢٥±٠/٠٢١^{b}	١٦٥/٣٦±١/٦١^{a}	٥٤/٤٤±٣/٦٣^{b}
	٤٢	٦/٥٠٩±٠/٢٠٩^{a}	٠/١٥١±٠/٠٢١^{b}	٣٠٢/٠٠±١٧/٥٠^{a}	٥٦/٩٥±١/٤٩^{b}
	٦٣	٥/١٩٢±٠/٠٤٢^{a}	٠/١٣٦±٠/٠٢٠^{b}	٢٧٠/٩١±٣/٢٣^{a}	٦٠/٨٩±١/١٩^{b}
SW	صفر	٠/٠٨١±٠/٠٠٧^{a}	٠/٠٨١±٠/٠٠٧^{a}	٣٥/٢٢±٠/٥٦^{a}	٣٥/٢٢±٠/٥٦^{a}
	٢١	١/٩٩١±٠/١٥٥^{a}	٠/٢٢٤±٠/٠٦٨^{b}	١٥٧/٧٠±١١/٥٠^{a}	٦٥/٢٤±٣/٦٤^{b}
	٤٢	٢/١١١±٠/٠٣٢^{a}	٠/١٤٨±٠/٠٢٧^{b}	١٥٢/١٣±٥/١١^{a}	٥٩/٧٥±٤/٢٨^{b}

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 ٥ درصد است.

Archive of SID

www.SID.ir

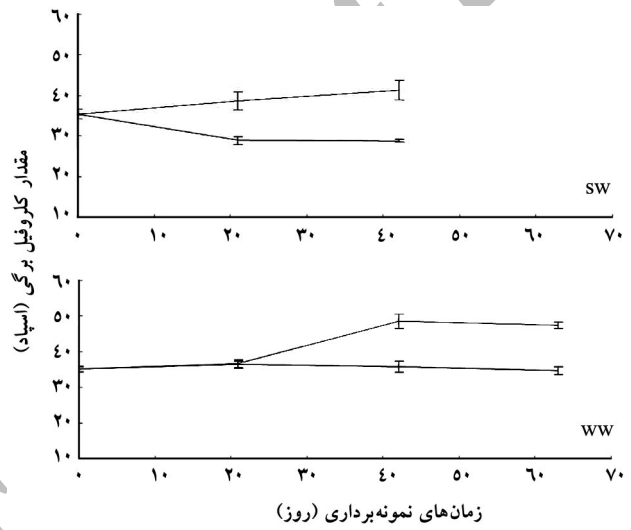


شکل ۳- تغییرات راندمان کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در رقم بهاره کوهدشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی شاهد ۲۰ درجه سانتی‌گراد (خط ممتد) و سرمایی ٤ درجه سانتی‌گراد (خط نقطه چین) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

در رقم بهاره کوهدشت، در اثر تیمار سرمای بهاره‌سازی کاهش معنی‌داری در محتوی کلروفیل در روزهای ۲۱ (۲۵ درصد) و ٤۲ (۳۰ درصد) در مقایسه با شاهد مشاهده گردید (جدول ٤ و شکل ٤). در رقم زمستانه شایان، برخلاف رقم بهاره، تیمار سرما باعث افزایش قابل توجه ۳٦ درصد در مقدار کلروفیل در روزهای ٤۲ و ٦۳ در مقایسه با شاهد شده است. به‌طورکلی، این نتایج نشان می‌دهد که در گندم زمستانه مقاوم رقم شایان سیستم فتوسنتزی خسارت کمتری نسبت به رقم بهاره حساس کوهدشت در طول دوره تنش سرمایی متحمل می‌شود. این مسأله ناشی از تأثیر سوء تنش سرمایی بر فتوسیستم II، انتقال الکترون در فتوسنتز و فتواکسیداسیون است که خسارت بیشتری بر گندم رقم حساس به سرما نسبت به رقم مقاوم دارد. این خسارت‌ها ممکن است در نتیجه اختلال در واکنش‌های نوری و زنجیره انتقال الکترون در فتوسیستم باشد که در نتیجه باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژنی می‌شود و این مولکول‌ها باعث واکنش فتواکسیداتیو در کلروپلاست و همچنین باعث اکسیداسیون کاروتنوئید و پروتئین‌ها می‌شود، در نتیجه باعث کاهش راندمان کوآنتومی فتوسیستم II می‌شود (کوده و سونویک، ۲۰۰۲؛ کوک و همکاران، ۲۰۰۳). در مطالعه حاضر، تنش سرمایی باعث کاهش مقدار

Archive of
www.SID.ir

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 برگی 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 به‌میزان بیشتری کاهش می‌یابد که رابطه معنی‌داری ما بین LT_{50} و ظرفیت آبی سلول وجود دارد به‌طوری‌که با افزایش LT_{50} ظرفیت آبی سلول مخصوصاً در واریته‌های 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.

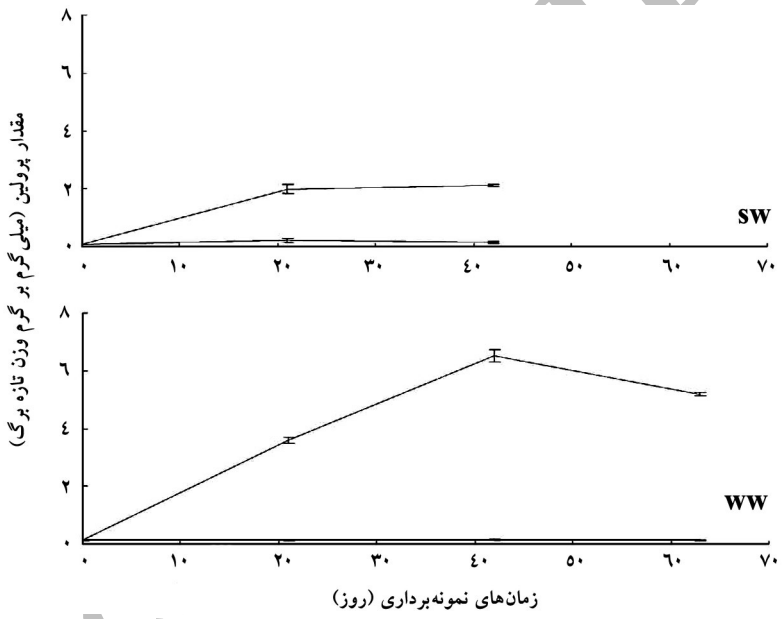


شکل ٤- تغییرات مقدار کلروفیل برگی (اسپاد) در گندم رقم بهاره کوهدشت (SW=Spring Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی، شاهد ۲۰ درجه سانتی‌گراد (خط ممتد) و سرمایی ٤ درجه سانتی‌گراد (خط نقطه‌چین) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

نتایج بررسی مقدار پرولین: 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 پرولین در برگ‌های گیاهچه‌های

www.SID.ir

شاهد (۲۰ درجه سانتی‌گراد) هر دو رقم گندم در طول دوره آزمایش تغییر محسوسی نداشت ولی تیمار سرمایی (٤ درجه سانتی‌گراد) باعث افزایش قابل‌توجهی در مقدار پرولین در برگ‌های گیاهچه‌های سرما دیده دو رقم در مقایسه با شاهد گردید: این افزایش معنی‌دار در رقم زمستانه بسیار بیشتر از رقم بهاره بود. به بیانی دیگر، در رقم زمستانه مقدار پرولین در روزهای ۲۱، ٤۲ و ٦۳ سرما به‌ترتیب ۲۹، ٤۳ و ۳۸ برابر در مقایسه با شاهد افزایش یافت در حالی‌که این افزایش در رقم بهاره در روزهای ۲۱ و ٤۲ سرما به‌ترتیب ۹ و ۱٤ برابر در مقایسه با شاهد آنها بود.

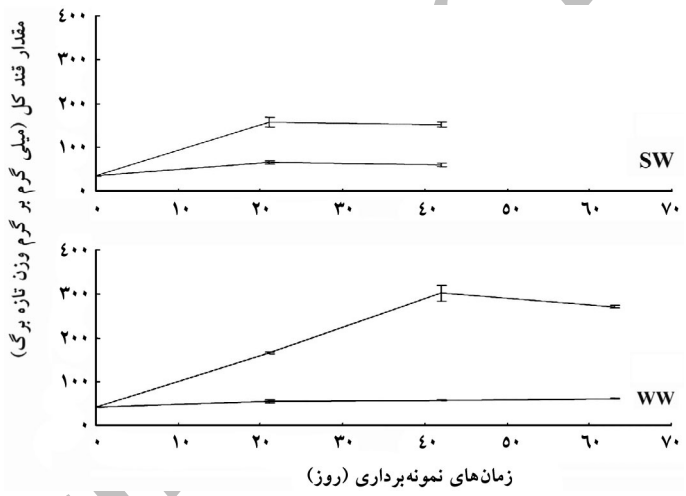


شکل ۵- تغییرات مقدار پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) در گندم رقم بهاره کوهدشت SW=Spring (Wheat) و زمستانه شایان (WW=Winter Wheat) در دو تیمار دمایی، شاهد ۲۰ درجه سانتی‌گراد (خط ممتد) و سرمایی ٤ درجه سانتی‌گراد (خط نقطه چین) در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری.

در آخر آزمایش، تیمار سرمای بهاره‌سازی 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

www.SID.ir

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 به‌مدت ۲٤ 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 ٦- تغییرات مقدار قندهای کل (میلی‌گرم بر گرو 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 ٤ 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 (٦) 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 ٤۲ سرمای بهاره‌سازی نسبت به شاهد ۲/۵ برابر بود و در رقم

www.SID.ir

زمستانه در روزهای ۲۱، ٤۲ و ٦۳ سرما نسبت به شاهد به‌ترتیب ۳، ۵/۳ و٤/۵ برابر مشاهده گردید. بیشترین مقدار تجمع قندها در رقم زمستانه در روز ٤۲ 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 ٤/٦ و ٦ برابر قندهای کل به‌ترتیب در برگ‌های سرمادیده گندم زمستانه دو رقم آذر ۲ (روز ۲۱ سرمای بهاره‌سازی) و نورستار (روز ٤۲ 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 برروی 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 (گالیبا 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، ۲۰۰٤؛ یان و همکاران، ۲۰۰٤؛ کین و همکاران، ۲۰۰۵؛ محفوظی و همکاران، ۲۰۰٦).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج بررسی‌های LT_{50} و تعداد نهایی برگ نشان‌دهنده نیاز به بهاره‌سازی و تکمیل یا اشباع آن در روز ٤۲ 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 کوآنتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) 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

Archive of SID

www.SID.ir

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[1] تعداد ۱۱۰ و ۹۲ لکه پروتئینی سرما القایی به‌ترتیب در گندم زمستانه شایان و بهاره کوهدشت تشخیص داده شد (جهانبخش گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹a؛ جهانبخش گده‌کهریز و همکاران، ۲۰۰۹b). برای مثال در گندم شایان، WCOR18، LEA و Cysteine Proteinase Inhibitor از جمله این پروتئین‌ها هستند. به‌منظور تأیید نتایج پروتئومیکس از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز نیمه‌کمی[2] استفاده شد و این تجزیه ثابت نمود که این ژن‌های سرما القایی در این گندم بیان گردیدند در حالی‌که در رقم بهاره کوهدشت بیان نداشتند. افزایش ۱۳ برابر بیان ژن WCOR و ٤/۲ 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 bisphosphate 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

Archive of SID

www.SID.ir

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.

Archive of SID

www.SID.ir

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.

Archive of SID

www.SID.ir

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.

Archive of SID

www.SID.ir

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. Scientica 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.

Archive of SID

www.SID.ir

EJCP., Vol. 2 (3): 85-106
www.ejcp.info

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

S. Jahanbakhsh-Godehkahriz[1], *Gh. Karimzadeh[2], F. Rastgar[3], S. Mahfoozi[4] and Gh. Hosseini-Salekdeh[5]

[1]Ph.D. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, [2]Associate Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, [3]Assistant Prof., National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran, [4]Assistant Prof., Physiology-Agronomy Unit of Dept. of Cereals Research, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran, [5]Associate 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 calrify 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 factiral experiment on the basis of completely randomised design (CRD). By using final leaf number (FLN) method, the vernalization saturation and by using $LT_{50,}$ 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 LT_{50} 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 cholorophyll fluorescence, chlorophyll content (SPAD), proline and total carbohydrates with cold tolerance were studied. The results indicated that cholorophyll 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; LT_{50}; Cholorophyll; Proline; Carbohydrate

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

Archive of SID

www.SID.ir