



## ارزیابی برخی از ژنوتیپ‌های گندم نان در مرحله زایشی تحت الگوی تنش سرمای بهاره

علیرضا عسکری کلستانی<sup>۱</sup>، ابودر اسدی<sup>۱</sup>، رضاقلی میرفخرایی<sup>۲</sup> و علیرضا عباسی<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس  
۲- استادیار، دانشگاه تربیت مدرس، (نویسنده مسؤول: abdhooz@modares.ac.ir)  
۳- دانشیار، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۸

### چکیده

گیاهان اغلب در معرض شدت‌های مختلفی از تنش‌های غیرزیستی هستند که این تنش‌ها اثرات نامطلوبی بر بقاء، رشد، کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی دارند. سرما یکی از این تنش‌ها است که نوع سرمای دیرس بهاره آن، می‌تواند زراعت‌های غلات را در طول دوره‌ی زایشی با خسارت بزرگی مواجه سازد. هدف این تحقیق، بررسی اثر تنش سرمای بهاره روی صفات فیزیولوژیک شامل میزان نشت یونی، تغییرات کمی رنگ‌دانه‌های گیاهی و پرولین در مرحله زایشی بود. به این منظور ۲۰ رقم گندم نان همراه با ۴ سطح دمایی +۸ (شاهد)، +۲°C، +۰°C و -۲°C در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در شرایط قابل کنترل اتاقک ویژه رشد به اجرا درآمد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح تنش سرما، رقم و اثرات متقابل رقم و سطوح تنش سرما در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشند. مقایسه میانگین اثر متقابل نشان داد ارقام تحمل‌کننده سرما از تراوش سلولی کمتر و میزان رنگیزه‌ی گیاهی و پرولین بیشتری برخوردار می‌باشند. بر این اساس، ارقام اروم و افلاک دارای تحمل بیشتر و در مقابل ارقام لاین آ و Mv17 واجد حساسیت بیشتر شناخته شدند. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که صفات فیزیولوژیکی مثل نشت یونی، رنگ‌دانه‌های گیاهی و پرولین می‌توانند صفات مناسبی برای بررسی تحمل به تنش سرما در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: تنش سرمای بهاره، پرولین، رنگیزه‌های گیاهی، غشاء سیتوپلاسمی، گندم

### مقدمه

گیاهان در طول دوره رشدشان در مزرعه اغلب با انواع متفاوتی از تنش‌های محیطی مواجه می‌شوند، که می‌تواند باعث کاهش عملکرد آن‌ها شود (۳۲). سرما یکی از این تنش‌هاست که همه ساله خسارات قابل توجهی را به تولیدات کشاورزی و در نهایت به اقتصاد کشورها تحمیل می‌کند (۳۹). با گذشت سرمای زمستانه و افزایش دما، زراعت گندم به تدریج تحمل خود را نسبت به سرما از دست می‌دهد و پس از این مرحله اگر چنانچه تنش دیررس سرمای بهاره پدید آید، علائمی هم‌چون پیچیدگی شدید برگ (نیزه‌ای شدن برگ)، مرگ دادنه‌ی گرده و سفید و پوک شدن خوشه بروز می‌نماید. سرمدنیا تأثیر سرما در مرحله جوانه‌زنی، پنجه‌زنی و گلدهی را بر عملکرد پنج رقم گندم مورد مطالعه قرار داد و نتیجه گرفت که بیشترین خسارت سرما در مرحله گلدهی اتفاق می‌افتد (۳۳). مکانیسم‌های مولکولی و فیزیولوژیکی در تحمل تنش‌های محیطی نقش دارند که شناسایی آن‌ها می‌تواند گام مهمی برای مقابله با آثار زیان‌آور تنش‌های مذکور باشد (۲۶، ۱۱). در پاسخ به سرما گیاهان خود را در سطوح مورفولوژی، آناتومی، فیزیولوژی و بیوشیمی

تطابق می‌دهند (۴۲). مکانیسم‌هایی که گیاهان برای بالا بردن تحمل خود در برابر تنش‌ها به کار می‌برند شامل سازگاری‌های فیزیکی و تغییرات سلولی و مولکولی است که بلافاصله بعد از دریافت پیام‌های تنش صورت می‌گیرد (۱۴). دما یکی از عوامل مهمی است که بر سیالیت، پایداری و انعطاف‌پذیری غشاء سلولی اثرگذار است. به همین دلیل از غشاء حسگر اولیه زیستی تنش سرما نام می‌برند (۳۷). غشاء پلاسمائی نخستین محل پاسخ سلولی به تنش سرما مورد بررسی قرار گرفته (۳۶، ۱۷). به طور کلی هنگامی که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند، در فعالیت غشاء اختلال ایجاد شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند (۹). کوچکی و همکاران (۱۵)، النا و همکاران (۵)، بلوم (۳)، ولف و همکاران (۴۰)، ریزا و همکاران (۳۱) و استنا و همکاران (۶) از روش اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی برای ارزیابی مقاومت به سرما استفاده کردند. با بروز سرما سازگاری تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی زیادی شامل، افزایش سطح قندها، پروتئین‌های محلول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پرولین، کلروفیل فلئورسانس، محتوی کلروفیل، ظهور ایزوفرم‌های جدید پروتئین و تغییرات ترکیبات لیپیدی

### مواد و روش‌ها

این بررسی در سال ۱۳۸۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و پردیس کشاورزی دانشگاه تهران تحت شرایط کاملاً کنترل شده اتاق رشد با بهره‌گیری از آزمایش فاکتوریل با ۲ فاکتور، رقم در ۲۰ سطح و تیمار دمایی در ۴ سطح در ۳ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی در مرحله زایشی انجام گردید. فاکتورهای آزمایشی شامل ۲۰ رقم گندم نان: کاسکوژن، سیوند، کراس شاهی، پیشگام، لاین آ، الوند، میهن، زارع، اروم، کویر، شیراز، داراب، عدل، Mv17، امید، سایسون، نوید، بم، پارس و افلاک و دما در ۴ سطح (۸+، شاهد)، ۲، ۰ و ۲- درجه سلسیوس) بودند. بذرها را ارقام برای بهاره‌سازی پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شست‌وشو گردید و سپس در پتری دیش‌ها بر روی کاغذ صافی خیس به مدت ۴ روز در دمای ۲۰°C برای جوانه زدن قرار گرفتند و بعد از جوانه زنی (به اندازه ۲cm) به مدت ۶ هفته در دمای ۱۳±۱°C بهاره سازی شدند (۲۰). بعد از پایان بهاره‌سازی، جوانه‌های گندم درون گلدان‌هایی با مخلوطی از خاک مزرعه، خاک برگ و کود دامی به نسبت ۱:۱:۱ نشاء و گلدان‌ها در اتاق رشد با دمای ۲۵°C روز و ۱۸°C شب و با فتوپریود ۱۶ d<sup>-1</sup> h و شدت نور ۳۰۰ μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> قرار داده شدند گلدان‌ها به طور پکنواخت و به مدت ۴ هفته در دمای مناسب رشد، ۲۵°C قرار گرفتند. تمامی گلدان‌ها تا مرحله خوشه‌دهی در این شرایط نگهداری شدند. وقتی بوته‌های گندم به اوایل مرحله زایشی (سنبله‌دهی و گل‌دهی (کد زیداک ۵۰ الی ۶۸)، رسیدند (۴۱)، گلدان‌ها برای القاء تنش سرما، به اتاقک رشد با دمای پایین منتقل و به مدت یک هفته در دمای ۱۶°C روز به مدت ۱۲ ساعت و ۸°C شب به مدت ۸ ساعت قرار گرفتند و بعد از طی این مدت برای شروع تنش در دمای ۸°C و در تاریکی مطلق قرار داده شدند. پس از آن هر یک ساعت ۲°C دما کاهش داده شد، و در هر یک از سطوح دماهای ۲، ۰ و ۲- درجه سلسیوس، گلدان‌ها به مدت ۲ ساعت تحت تنش سرما قرار گرفتند و بعد از پایان تنش دمای محیط هر ساعت ۲°C افزایش داده شد تا به شرایط دمای شاهد رسید و گلدان‌های شاهد نیز به منظور مقایسه تاثیر سرما بر گیاه گندم در شرایط عادی و بدون تنش روز/ شب ۸/۱۶ و دمای ۱۶°C/۸°C قرار داده شدند، و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌گیری به منظور اندازه‌گیری صفات مورد نظر صورت گرفت.

غشا رخ می‌دهد (۲۲). پرولین اسید آمینه محلول در آب است که تحت تنش‌های محیطی در گیاهان انباشته می‌شود (۲۴). تجمع پرولین در سلول باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، حفاظت آنزیم‌ها از تجزیه شدن، تنظیم فشار اسمزی سلول و موجب حفاظت غشاها و پروتئین‌ها در برابر اثرات سمی غلظت‌های بالای یون‌های معدنی در دماهای بالا و پایین می‌گردد. در تعدادی از گیاهان تحت شرایط تنش سرما تا حد ۱۰۰ برابر شرایط نرمال، غلظت پرولین افزایش می‌یابد (۲۴). در تنش‌های اکسیداتیو، پرولین نقش آنتی‌اکسیداتیو دارد (۲۳). یکی دیگر از تاثیرات سرما، تغییرات در رنگی‌های گیاهی است. مهم‌ترین رنگی‌های جذب کننده نور (کلروفیل) در غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست‌ها می‌باشند. علاوه بر کلروفیل‌ها، غشاهای تیلاکوئیدی دارای رنگی‌های جذب نور ثانویه یعنی کارتنوئیدها هستند. رنگ‌دانه‌های کارتنوئیدی نور را در طول موجی جذب می‌کنند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌شوند و بنابراین گیرنده‌های نوری مکمل هستند (۱۱). به فعالیت آنزیم‌ها، انتقال الکترون در فتوسنتز و متعاقب آن مقدار کلروفیل در گیاهان، در اثر تنش سرما آسیب جدی وارد می‌گردد و کاهش معنی‌داری پدیدار می‌گردد، که علت آن تغییرات اجزاء پروتئینی و لیپیدی غشاء تیلاکوئیدی کلروپلاست می‌باشد (۲۷، ۱۸، ۷). تنش سرما با مهار کردن واکنش تاریکی و روشنائی، بر نرخ فتوسنتز اثر می‌گذارد (۲۶).

تنش کم آبی که می‌تواند ناشی از خشکی، شوری و سرما باشد، محتوی رنگ‌دانه‌هایی مثل کلروفیل، کارتنوئید و آنتوسیانین را کاهش می‌دهد (۱۸). محفوظی و همکاران (۲۱) و ولف و همکاران (۴۰) در ارزیابی در تنش‌های سرما از روش پایداری کلروفیل بهره جستند. در مطالعه‌ای بر روی ۴ رقم گندم نان مقدار کلروفیل و کارتنوئید در تنش سرما به طور معنی‌داری کاهش یافته و این کاهش برای ارقام حساس به سرما بیشتر بوده است (۲۶). در مطالعه دیگری روی ۲۰ رقم گندم نان، مقدار کلروفیل، کارتنوئید و نش‌یونی را در چهار سطح تنش سرمایی بررسی و گزارش گردید که هرچه رقم سرما را بهتر تحمل کند، رنگی‌زه کمتری نسبت به ارقام حساس از دست می‌رود (۲۵). هدف طرح حاضر آن است که تنوع ژنتیکی در تعدادی از ارقام گندم برای تحمل به تنش سرمای بهاره بررسی شود که در نتیجه آن، والدین مناسب از طریق انجام تلاقی‌ها برای تولید ارقام متحمل‌تر به سرما قابل استفاده باشد. به این منظور، اثر الگوی تنش سرما در اتاقک الگوسازی سرمای بهاره بر روی ارقام تجاری گندم نان بررسی خواهد شد.

### اندازه‌گیری پایداری غشای سیتوپلاسمی

برای تعیین این صفت از روش اندازه‌گیری نشت یونی استفاده شد ابتدا ۰/۱۵g برگ پرچم وزن شد و سپس به درون فالكون‌های ۵۰ml منتقل شدند و ۴۰ml آب مقطر به هر نمونه اضافه شد پس از ۱۵h قرار گرفتن روی شیکر، هدایت الکتریکی با دستگاه هدایت سنج متروم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به درون حمام بن‌ماری به مدت ۴۵ min در دمای ۹۵C قرار گرفتند، بعد از این مدت، هدایت الکتریکی دوباره اندازه‌گیری شد و بعد از آن، با استفاده از فرمول زیر درصد نشت یونی محاسبه گردید (۲).

$$El (\%) = \frac{C_t}{C_{tot}} \times 100$$

Ct هدایت الکتریکی در زمان اول، Ctot هدایت الکتریکی نهایی و EL% نشت یونی تعیین غلظت رنگیزه‌های گیاهی

ابتدا ۵۰mg برگ پرچم را درون فالكون ۱۵ml قرار داده، سپس ۱۰ml متانول ۹۹/۸٪ را به آن اضافه کرده آنگاه ترکیب حاضر را با دور ۱۹۳۱۴/۲۸ g در دمای ۴ به مدت ۱۵min سانتریفیوژ گردید. سپس مایع رویی را برداشته و در درون کسووت اسپکتروفتومتر قرار داده و در طول موج ۴۷۰nm، ۶۵۲/۴nm و ۶۶۵/۲nm قرائت‌ها انجام شد (۱۸) و در نهایت مقدار غلظت کلروفیل b، a و مجموع آنها و کارتنوئید با استفاده فرمول‌های زیر به دست آمدند:

$$C_a = 16.72 A_{665.2} - 9.16 A_{652.4} \quad \text{کلروفیل a}$$

$$C_b = 34.09 A_{652.4} - 15.28 A_{665.2} \quad \text{کلروفیل b}$$

$$C_{a+b} = 1.44 A_{665.2} - 24.93 A_{652.4} \quad \text{کلروفیل کل}$$

کارتنوئید:

$$C_c = \frac{1000 A_{470} - 1.63 C_a - 104.96 C_b}{221}$$

### تعیین میزان پرولین اندام‌های هوایی

استخراج پرولین از جوان ترین برگ‌ها با استفاده از روش بیتس و همکاران (۱) صورت گرفت. مقدار ۰/۲g نمونه برگی برای هر تکرار وزن شد و سپس در ازت مایع پودر شد آنگاه در ۱۰ml اسید سولفوسالسیلیک ۳/۳٪ سائیده شده، سپس ماده حاصله را از کاغذ صافی عبور داده و عصاره در فالكون ۱۵ml درون سانتریفیوژ قرار داده شد (۴۰۰۰ rpm در دمای ۴ C به مدت ۱۰ min) پس از سانتریفیوژ فاز بالایی را جداسازی و به لوله‌ی ۱۵ml منتقل شد. به مقدار ۲ml از عصاره حاضر، ۲ml معرف ناین هیدرین و ۲ml اسید استیک گلاسیال

خالص اضافه شد؛ لوله‌ها به مدت ۱h در بن‌ماری قرار داده شدند و سپس به منظور خنک کردن در دمای آزمایشگاه قرار گرفتند. آنگاه به هر کدام از لوله‌ها ۴ml تولوئن<sup>۱</sup> اضافه شد و به مدت ۱۵s تا ۲۰s به شدت تکان داده شدند. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی که حاوی اسید آمینه پرولین می‌باشد، جدا می‌گردد. این فاز آماده‌ی قرائت در دستگاه اسپکتروفتومتر می‌باشد. از استانداردهای تهیه شده ۲ml برداشته شد و تمام مراحل پیش گفته در مورد آن‌ها نیز انجام گرفت. دستگاه اسپکتروفتومتر را با استفاده از تولوئن خالص (۵۲۰nm) کالیبره گردید. سپس جذب نوری استانداردهای تهیه شده پرولین از غلظت کم به زیاد در دستگاه قرائت شد و در انتها نمونه‌های مجهول آزمایشی در دستگاه قرار گرفت و مقدار جذب آن‌ها قرائت شد. پس از تست نرمالیده داده‌های صفات فیزیولوژیک، با استفاده از نرم‌افزار Minitab14، تجزیه و تحلیل آماری و هم‌چنین مقایسه‌های میانگین با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح آماری ۱٪ با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گرفت (۳۵).

### نتایج و بحث

#### بررسی اثر تنش سرمای بهاره بر رنگیزه‌های گیاهی

جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثرات جداگانه کلروفیل a، b، ab و کارتنوئید و هم‌چنین اثرات متقابل رقم در تیمار دمایی در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است (جدول ۱). معنی‌دار بودن اثر متقابل بدین معناست که تنش سرمای بهاره واکنش‌های متفاوتی را در بین ارقام موجب شده است به همین دلیل برش‌دهی<sup>۲</sup> اثر متقابل برای صفات مذکور انجام گرفت. در بیشتر ارقام در سطح دمایی ۲C و ۰C میزان رنگیزه‌های گیاهی نسبت به دمای شاهد افزایش یافت. از آنجا که واکنش ارقام نسبت به تنش سرمایی متفاوت است میزان رنگیزه در ارقام مورد بررسی در تنش‌های سرمایی اعمال شده از یک روند ثابت تبعیت نمی‌کرد و واکنش ارقام از این نظر متفاوت بود (شکل ۱). محمدی و همکاران (۲۵) همین یافته را تأیید می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که احتمالاً این افزایش کلروفیل به واسطه‌ی از دست دادن آب می‌باشد (۱۲، ۸). اما در اکثر ارقام در دمای ۲C- میزان رنگیزه کاهش یافته بود. تحقیقات نشان می‌دهد که تنش دمایی پایین موجب کاهش شدید فعالیت آنزیم پورفوبیلینوژن دی آمیناز<sup>۳</sup> شده و از این طریق سنتز پروتوپورفین IX (یکی از حد واسطه‌های مهم در مرحله دوم سنتز کلروفیل) را کاهش می‌دهد و هم‌چنین با بازداري آنزیم‌های منیزیم- شلتاز<sup>۵</sup> و منیزیم پورتوپورفین IX منوسیکلاز<sup>۶</sup> در نهایت، موجب کاهش محتوی کلروفیل در برگ می‌شود (۳۸).

1- Toluene  
4- Protoporphyrin IX

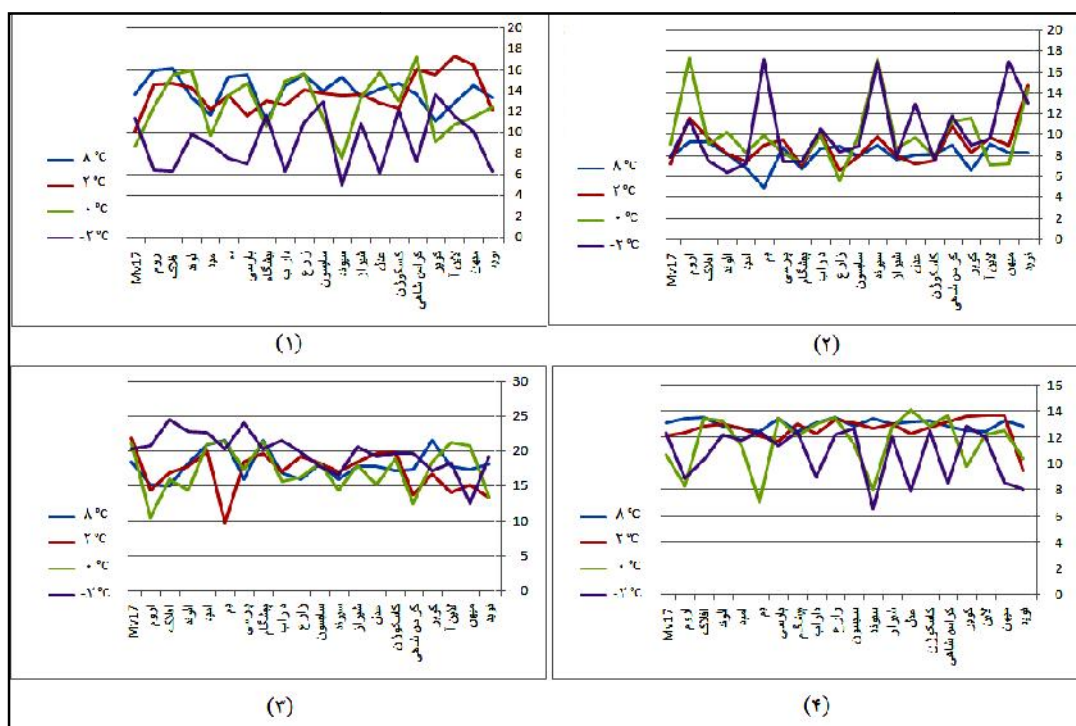
2- Slicing  
5- Mg-chelatase

3- Porphobilinogen Deaminase  
6- Mg-protoporphyrin IX

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a، b، کارتنوئید، پرولین و هدایت الکترولیتی

منبع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	پرولین	نشت یونی
رقم	۱۹	۱۲/۵ <sup>***</sup>	۳۵/۶ <sup>***</sup>	۳۱/۲ <sup>***</sup>	۷/۹ <sup>***</sup>	۱۳۶۹/۲ <sup>***</sup>	۰/۱ <sup>***</sup>
تنش سرما	۳	۲۴۷/۷ <sup>***</sup>	۴۷/۹ <sup>***</sup>	۷۷/۹ <sup>***</sup>	۶۱/۹ <sup>***</sup>	۳۳۸۷/۷ <sup>***</sup>	۰/۴ <sup>***</sup>
رقم × تنش سرما	۵۷	۱۸/۲ <sup>***</sup>	۱۰/۷ <sup>***</sup>	۱۶/۷ <sup>***</sup>	۵/۷۹ <sup>***</sup>	۹۲۴/۶ <sup>***</sup>	۰/۱ <sup>***</sup>
اشتباه	۱۶۰	۵/۹	۷/۳	۸	۲/۴۸	۲۸۸/۸	۰/۰۱۲
ضریب تغییرات (%)		۲۴/۳	۲۵/۳	۱۹/۷	۱۷/۵	۱۷/۳	۸/۲

\*\* معنی داری در سطح احتمال ۱٪



شکل ۱- روند تغییرات میزان کلروفیل a (۱)، کلروفیل b (۲)، کلروفیل کل (۳) و کارتنوئید (۴) در دمای‌های مختلف بر اساس جدول مقایسه میانگین

(۵/۰۳)، زارع (۶/۷)، زارع (۵/۷) و الوند (۶/۵) در کلروفیل کل به ترتیب به ارقام افلاک (۱۵/۲)، بزم (۹/۸)، اروم (۱۰/۶) و میهن (۱۲/۷) و در کارتنوئید به ترتیب به ارقام پیشگام (۱۲/۵)، نوید (۹/۵)، بزم (۷/۱) و سیوند (۶/۶) اختصاص یافت. بنابراین در مجموع مشخص می‌شود که بیشترین مقدار در کل رنگیزه‌های گیاهی مربوط به رقم افلاک و کمترین آن مربوط به رقم سیوند بود. به طوری که رقم افلاک به طور میانگین در صفات مورد نظر کمترین مقدار کاهش در صفت فیزیولوژیک میزان رنگدانه‌های گیاهی پس از اعمال تنش  $-2^{\circ}\text{C}$  نسبت به حالت شاهد دارا بود و رقم سیوند به طور میانگین بیشترین کاهش را در رنگیزه‌های گیاهی در  $-2^{\circ}\text{C}$  نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۲).

با بروز تنش‌های محیطی میزان سنتز کارتنوئید در برگ به علت نقش آن‌ها در حفاظت، در مقابل رادیکال‌های آزاد، افزایش یافته اما با گذشت زمان و در تطابق گیاه با تنش، میزان آن کاهش پیدا می‌کند (۸). مقایسه میانگین جداگانه نتایج، نشان داد که در کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید در شرایط بدون تنش، رقم افلاک بیشترین و در تنش‌های دمایی  $+2^{\circ}\text{C}$ ،  $0^{\circ}\text{C}$  و  $-2^{\circ}\text{C}$  رقم کویر بیشترین مقدار رنگیزه‌های گیاهی را در سه سطح، به خود اختصاص داد. کمترین مقدار رنگیزه-های گیاهی در شرایط بدون تنش و تنش‌های دمایی  $+2^{\circ}\text{C}$ ،  $0^{\circ}\text{C}$  و  $-2^{\circ}\text{C}$  در کلروفیل a به ترتیب به ارقام عدل (۶/۳)، Mv17 (۱۰/۲)، سیوند (۷/۶) و سیوند (۵/۰۳) در کلروفیل b به ترتیب به ارقام بزم

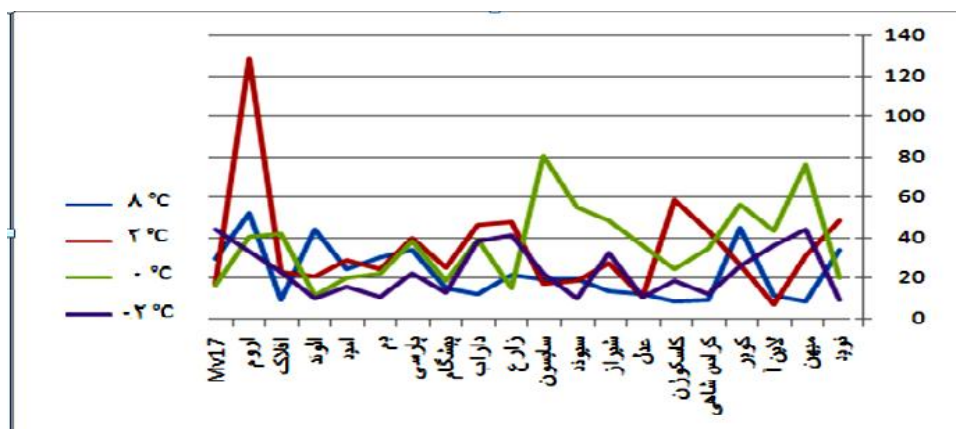
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و دما در ارقام گندم نان بر صفات مورد مطالعه بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار

ارقام	کلروفیل a (µg/ml)				کلروفیل b (µg/ml)				کلروفیل کل (µg/ml)				کارتونید (µg/ml)				پروتین (µg/ml)				نشت یونی (%)		
	شاهد	۲C°	۰C°	۲C°	شاهد	۲C°	۰C°	۲C°	شاهد	۲C°	۰C°	۲C°	شاهد	۲C°	۰C°	۲C°	شاهد	۲C°	۰C°	۲C°	شاهد		
Mv17	۱۱/۴	۱۰/۲	۸/۷	۱۱/۴	۷/۹	۷/۳	۹/۱	۷/۳	۲۱/۴	۲۱/۹	۲۱/۳	۱۳/۱	۱۳/۱	۱۲/۱	۱۰/۷	۱۲/۴	۱۲/۴	۲۹/۷	۱۷/۸	۱۷	۴۴	۹/۱	
اروم	۶/۵	۱۴/۶	۱۲/۵	۶/۵	۹/۴	۱۱/۶	۱۷/۳	۱۱/۴	۱۵/۴	۱۴/۴	۱۰/۶	۲۰/۹	۱۳/۴	۱۲/۴	۸/۳	۸/۹	۱۲/۴	۱۲/۴	۱۲/۸	۴۰/۸	۳۳/۱	۱۰/۶	
افلاک	۶/۴	۱۴/۷	۱۵/۵	۶/۴	۹/۴	۹/۸	۹/۱	۹/۸	۱۵/۲	۷/۶	۱۷	۱۵/۲	۲۴/۶	۱۳/۵	۱۳/۴	۱۰/۳	۹/۶	۲۴/۰۲	۲۴/۳	۴۲/۳	۲۳/۱	۸/۶	
الوند	۹/۹	۱۴/۳	۱۶	۹/۹	۸/۳	۸/۲	۱۰/۳	۶/۵	۱۸/۵	۱۷/۹	۱۴/۵	۲۲/۹	۱۲/۹	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۲/۲	۴۴/۳	۲۱/۴	۱۱/۶	۱۰/۳	۹/۹	۱۲/۸	
امید	۹	۱۲/۳	۹/۸	۹	۶/۹	۷/۵	۸/۳	۷/۳	۲۱/۱	۲۰/۱	۲۱/۲	۲۲/۸	۱۲/۷	۱۲/۷	۱۱/۴	۱۱/۸	۲۵/۰۲	۲۹/۷	۲۰	۱۶/۱	۲۵/۹	۱۴/۱	
بم	۷/۶	۱۳/۶	۱۳/۶	۷/۶	۵۰/۳	۷/۶	۹/۰۴	۹/۹	۲۱/۷	۲۱/۷	۲۱/۵	۲۰/۴	۱۲/۵	۱۲/۱	۱۲/۱	۱۲/۵	۳۰/۹	۲۵/۴	۲۲/۵	۱۰/۹	۲۲/۵	۱۶/۱	
پارسی	۷/۱	۱۱/۶	۱۴/۷	۷/۱	۸/۹	۹/۶	۸/۳	۷/۵	۱۶/۱	۱۸/۵	۱۷/۴	۲۴/۱	۱۳/۴	۱۱/۷	۱۳/۴	۱۱/۴	۳۳/۹	۴۰/۷	۳۸/۴	۲۲/۳	۵۲/۳	۱۲/۴	
پیشگام	۱۱/۷	۱۳/۱	۱۰/۶	۱۱/۷	۶/۸	۷/۱	۷/۱	۷/۵	۲۱/۷	۱۹/۸	۲۱/۵	۲۰/۴	۱۲/۵	۱۲/۰۱	۱۳/۰۱	۱۲/۵	۱۵/۱	۲۵/۶	۱۸/۶	۱۲/۷	۱۱/۷	۲۱/۴	
داراب	۶/۴	۱۲/۷	۱۴/۹	۶/۴	۸/۸	۱۰/۳	۹/۹	۱۰/۶	۱۷/۱	۱۵/۸	۱۷/۱	۱۳/۱	۲۱/۷	۱۲/۳	۱۳/۰۴	۹/۰۴	۱۲/۶	۳۹/۵	۱۷	۴۱/۶	۹/۳	۱۲/۸	
زارع	۱۱	۱۴/۱	۱۵/۷	۱۱	۹	۶/۷	۵/۷	۸/۵	۱۶/۱	۱۹/۳	۱۶/۳	۲۰/۰۴	۱۳/۵	۱۳/۴	۱۳/۵	۲۲/۱	۴۸/۱	۱۵/۵	۴۱/۲	۸/۳	۸/۳	۸/۳	
سایسون	۱۳	۱۳/۸	۱۱/۴	۱۳	۸/۰۱	۸	۹/۹	۹	۱۸/۳	۱۸/۴۲	۱۸/۰۳	۱۸/۰۳	۱۸/۴۲	۱۸/۰۳	۱۸/۴۲	۱۸/۰۳	۱۸/۴۲	۱۸/۰۳	۱۸/۴۲	۲۲/۱	۲۲/۱	۲۱/۳	
سیوند	۵/۰۳	۱۳/۶	۷/۶	۵/۰۳	۹/۰۴	۹/۹	۱۷/۲	۱۷	۱۶/۲	۱۷/۰۳	۱۴/۵	۱۶/۷	۱۶/۷	۱۳/۴	۱۲/۷	۱۳/۴	۶/۶	۱۹/۷	۵۵/۱	۹/۹	۲۶/۳	۲۶/۳	
شیراز	۱۰/۹	۱۳/۷	۱۳/۴	۱۰/۹	۷/۷	۸	۷/۷	۷/۹	۱۸	۱۸/۵	۱۸/۱	۱۸/۱	۲۰/۷	۱۳	۱۳/۰۳	۱۲/۱	۱۲/۵	۲۸	۴۹	۳۲/۸	۶/۱	۶/۱	
عدل	۶/۳	۱۲/۹	۱۵/۸	۶/۳	۸/۱	۷/۳	۹/۷	۱۳/۰۲	۱۸	۱۹/۸	۱۵/۳	۱۹/۴	۱۳/۲	۱۲/۳	۱۲/۳	۱۲/۴	۷/۹	۱۱/۵	۳۶/۲	۱۰/۸	۴۴/۷	۱۵/۲	
کاسکوزن	۱۲/۲	۱۲/۴	۱۳/۱	۱۲/۲	۸/۳	۷/۶	۸	۷/۷	۱۷/۴	۱۹/۹	۱۹/۰۲	۱۹/۸	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۲/۸	۱۲/۹	۸/۹	۵۹	۲۴/۶	۱۸/۷	۹/۲	۹/۲	
کراس شاهی	۷/۳	۱۶/۱	۱۷/۲	۷/۳	۹/۱	۷/۳	۱۰/۹	۱۱/۳	۱۷/۵	۱۳/۹	۱۳/۶	۱۳/۹	۱۳/۹	۱۲/۹	۱۳/۲	۱۳/۲	۹/۷	۴۴/۳	۱۲/۵	۳۶/۴	۵/۱	۵/۱	
کوبیر	۱۳/۷	۱۵/۶	۹/۱	۱۳/۷	۶/۷	۸/۳	۱۱/۶	۱۱/۶	۲۱/۷	۱۶/۸	۱۸/۶	۱۷/۴	۱۳/۶	۱۲/۶	۱۳/۶	۱۲/۹	۹/۸	۴۴/۸	۲۷/۲	۵۶/۱	۸۸/۹	۱۱/۳	
لاین آ	۱۱/۶	۱۷/۳	۱۰/۸	۱۱/۶	۹/۲	۹/۷۳	۷/۲	۹/۷	۱۸	۱۴/۱	۲۱/۴	۱۸/۴	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۳/۷	۱۲/۱	۱۱/۶	۷/۸	۴۲/۳	۳۶/۴	۵۰/۴	۵۷/۳	
میهن	۱۰/۲	۱۶/۵	۱۱/۵	۱۰/۲	۸/۴	۹/۱	۷/۳	۱۷/۰۱	۱۷/۵	۱۵/۲	۲۰/۸	۱۲/۷	۱۳/۳	۱۳/۳	۱۳/۷	۱۲/۵	۸/۶	۸/۷	۷۶/۳	۱۳/۴	۱۱/۹	۱۷/۲	
نوبد	۶/۴	۱۲/۳	۱۲/۴	۶/۴	۸/۴	۱۴/۷	۱۴/۴	۱۳/۱	۱۸/۳	۱۳/۳	۱۳/۵	۱۳/۵	۱۳/۴	۱۲/۹	۹/۵	۱۲/۹	۸/۱	۳۴	۴۹/۴	۲۰/۳	۷/۷	۹۷/۵	
LSD %1	۳/۰۲	۴/۸	۵	۳/۰۲	۲/۹	۱/۷	۲/۷	۲/۹	۳/۵	۴/۸	۳/۸	۴/۸	۳/۵	۴/۱	۰/۸	۱/۸	۵/۸	۳/۰۱	۱/۷	۳/۵	۲/۲	۰/۲۴	۰/۲۱

### اثر تنش سرمای بهاره بر میزان پرولین

همان‌طور که جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد، اثر تنش سرما در رقم در مقدار پرولین اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱٪ نشان می‌دهد. کمترین مقدار پرولین در سطوح دمایی ۸C، ۲C، ۰C و ۲۰C- به ترتیب مربوط به ارقام میهن (۸/۷)، لاین آ (۷/۸)، الوند (۱۱/۶) و میهن (۹/۳) و بیشترین مقدار پرولین در سطوح دمایی مذکور مرتبط به ارقام میهن (۴۴/۱)، سایسون (۸۰/۷)، اروم (۱۲۸/۹) و اروم (۵۲/۴) می‌باشد. مشاهده می‌شود که برخی ارقام بعد از تنش مقدار پرولین آنها نسبت به شاهد کاهش یافته و در برخی ارقام افزایش دارد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سنتز پروتئین به آسانی به وسیله تنش آب جلوگیری شده ولی هیدرولیز پروتئین تسریع می‌گردد. یکی از موادی که از این هیدرولیز بوجود می‌آید پرولین می‌باشد. بعد از تنش، غلظت افزایش یافته پرولین، کاهش سریعی نشان می‌دهد و غلظت آمونیم افزایش می‌یابد. بعد از پایان تنش، پرولین در چرخه کربن گروه آمینی خود ارقام به تنش سرمای بهاره وجود دارد (جدول ۲ و شکل ۲). در تحقیقی ژن رمزکننده آنزیم موثر در سنتز پرولین

(VacP5CS17) ایزوله شده از *Vigna aconitifolia* و انتقال یافته به توتون، افزایش بسیار معنی‌داری در غلظت پرولین، تحت شرایط یخ‌زدگی در دمایی ۲۰C- به مدت ۲۴ ساعت، نسبت به شرایط کنترلی ۲۵C فراهم آورده است که این گیاه تراخیست توانایی بیشتری برای تحمل شرایط سرمایی به‌دست آورده است (۱۶). همچنین نتایج بررسی تغییرات محصول ژن P5CS در گیاه برنج تحت تنش سرمایی از سوی هور و همکاران (۱۰)، مشابه نتایج تحقیقات کانسانتینو و همکاران (۱۶) می‌باشد. با شناسایی ارقام مقاوم به سرما از طریق بررسی ترکیبات اسموپروتکتانت در گندم از جمله تغییرات اسیدآمینه پرولین و قندهای محلول همچون قند فروکتان می‌توان گیاهان را از خسارات تنش‌های غیر زیستی دور ساخت (۳۶). مقدار خسارتی که سرما بر گیاهان وارد می‌سازد موجب تلاش بیشتر، برای فهم اثرات تنش سرما روی سازوکارهای مختلف متفاوت در ارقام به ازای هر سطح تنش دمایی و به ازای خود ارقام می‌باشد که قطعاً توجیه و تبیین موضوع را پیچیده می‌سازد.



شکل ۲- روند تغییرات میزان پرولین در دمای‌های مختلف بر اساس جدول مقایسه میانگین.

### نشت یونی

شاخص نشت یونی یکی از روش‌های کارآمد در سنجش میزان آسیب غشای سلولی می‌باشد (۱۳). نتایج حاصل از تجزیه واریانس پایداری غشا سیتوپلاسمی نشان داد که اثر رقم، سطوح تنش سرما و اثرات متقابل آنها نسبت به میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی، اختلاف معنی‌داری در سطحی کمتر ۱٪ داشتند (جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین جداگانه، مشخص گردید که تنوع در پاسخ ارقام به تنش سرمای بهاره وجود داشت (جدول ۲ و شکل ۳) و این تنوع منعکس‌کننده‌ساز و کارهای متمایز درونی گیاه و

تفاوت‌ها در نوع و میزان فعالیت ژن‌ها باشد و این مسئله با توجه به پاسخ‌های معنی‌دار ژنوتیپ‌ها در تجزیه نشت یونی در شرایط دمایی شاهد قابل متحمل است (۴۴، ۲۵). در شرایط بدون تنش و در تنش‌های دمایی ۲۰C، ۰C و ۲۰C- به ترتیب ارقام زارع (۸۱/۵)، کویر (۸۸/۹)، نوید (۹۷/۵) و الوند (۱۸/۶) بیشترین مقدار و ارقام سایسون (۷/۴)، کاسکوژن (۴/۱)، شیراز (۶/۱) و اروم (۵/۲) کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). بنابراین با توجه به جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) مشخص می‌شود که رقم نوید و سایسون به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار نشت یونی را دارند. از





## منابع

1. Bates, L.S., R.D. Walderen and I.D. Taere. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil Journal*, 39: 205-207.
2. Bertin, P., J. Bouharmont and J.M. Kinet. 1996. Somaclonal variation and improvement in chilling tolerance in rice. *Plant Breeding*, 115: 268-273.
3. Blum, A. 1988. *Plant breeding for stress environment*. CRC Press, Boca-Raton, Florida. 223 pp.
4. Cao, S., X. Bian and S. Jiang. 2010. Cold treatment enhances lead resistance in *Arabidopsis*. *Acta Physiology Plant*, 32: 19-25.
5. Elena, P. and M. Terbea. 1995. Proline content and the conductivity test as screening methods for frost tolerance of winter wheat. *Bulgarian Journal Plant physiology*, 21: 3-11.
6. Esenta, G., A. Okke and B. Nalbanto. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regulation*, 41: 231-236.
7. Graham, D. and D. Patterson. 1982. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: proteins, metabolism and acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 33: 347-372.
8. Groppa, M.D. and M.P. Benavides. 2008. Polyamines and a biotic stress: recent advances. *Amino Acids*, 34: 35-45.
9. Hanna, B. and J.C. Bischofa. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryo biosystem*, 48: 8-21.
10. Hur, J., K.H. Jung, Ch.H. Lee and G. Ana. 2004. Stress-inducible OsP5CS2 genes in essential for salt and cold tolerance in rice. *Plant Science*, 167: 417-426.
11. Hopkins, W.G. 2008. *Introduction to Plant Physiology*. Wiley (4<sup>th</sup> ed).
12. Huilian, U., I. Shii and H. Xu. 1996. Wheat cultivar differences in photosynthetic response to low soil water potentials, maintenance of photosynthesis and leaf water potential. *Japanese Journal of Crop Science*, 65: 509-517.
13. Jahanbakhsh, S., Gh. Karimzade and Gh. Rastehgar. 2007. Cold-induced accumulation of protein electrophoretic patterns and changes in wheat leaves in spring and autumn. *Journal of Agriculture science*, 16: 73-83 (In Persian).
14. Knight, H. and M.R. Knight. 2001. Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk. *Trends Plant Science*, 6: 262-267.
15. Kocheiki, A., M.M. Rashedmohassell, R. Nasiri and R. Sadriabadi. 1989. *Physiological basics of growth and development of crops*. Astane Ghodse Razavi Publication, 404 pp.
16. Konstantinova, T., D. Parvanova, A. Atanassov and D. Djilianov. 2002. Freezing tolerant tobacco, transformed to accumulate osmoprotectants. *Plant Science*, 163: 157-164.
17. Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Chilling, freezing and high temperature stresses, 1: 2<sup>nd</sup> Edn. Academic Press, Orlando, Florida. 497 pp.
18. Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.
19. Los, D.A. and N. Murata. 2004. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimica Biophysica Acta*, 1666: 142-157.
20. Maali-Amiri, R., I.V. Goldenkova-Pavlova, V. Pchelkin, V.D. Tsydendambaev, A.G. Vereshchagin, A.N. Deryabin, T.I. Trunova, D.A. Los and A.M. Nosov. 2007. Lipid fatty acid composition of potato plants transformed with the 12-desaturase gene from cyanobacterium. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54: 678-685.
21. Mahfoozi, S. and Sh. Sasani. 2009. Require vernalization some genotype of wheat and barley and its association with the expression of cold tolerance in controlled conditions and field. *Iranian Journal of Crop Science*, 39: 113-126 (In Persian).
22. Majdi, M., G. Karimzadeh and S. Mahfoozi. 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: 410-417.
23. Mantyla, E., V. Long and E.T. Palva. 1995. Role of abscisic acid in drought-induced freezing tolerance, cold acclimation and accumulation of LTI78 and RAB18 proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 107: 141-148.
24. Matysik, J., A.B. Bhalu and P. Mohnty. 2002. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82: 525-532.
25. Mohammadi, M., R. Mirfakhraei and A. Abasii. 2012. Effect of spring cold stress pattern on the membrane stability and plant pigments in twenty bread wheat cultivar. *National Conference on Achievements in Agronomy*, 1-13 (In Persian).
26. Mohsenzade, S., G. Karimi Andani and H. Mohabatkar. 2011. Study the physiological response to cold stress responses and sequences of genes in susceptible and resistant wheat cultivars. *Iranian Journal of Crop Science*, 41: 611-619 (In Persian).
27. Mostowska, A. 1997. Environmental factors affecting chloroplasts. In: M. Pessarakli (ed.) *Handbook of photosynthesis*, New York: Marcel Dekker, pp: 407-426.
28. Nazari, M., R. Maali Amiri and F.H. Mehraban. 2012. Change in antioxidant responses against oxidative damage in black chickpea following cold acclimation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59: 12-20 (In press).
29. Osamu, M. and K. Iba. 2005. Trienoic fatty acids and stress responses in higher plants. *Plant Biotechnology*, 22: 423-43.
30. Palta, J.P., J. Levitt and E.J. Stadelmann. 1977. Freezing injury in onion bulb cells. I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux from injured cells. *Plant Physiology*, 60: 393-397.



31. Rizza, F., C. Crossatti, M. Stancan and L. Catteveli. 1994. Studies for assessing the influences of hardening on cold tolerance of barley genotypes. *Euphytica*, 75: 131-138.
32. Saleh. A.A. 2007. Amelioration of Chilling Injuries in Mung Bean (*Vigna radiata* L.) Seedlings by Paclobutrazol, Absciscic Acid and Hydrogen Peroxide. *American Journal of Plant Physiology*, 2: 318-332.
33. Sadeghi, A., H. Kazemi Arbat, M. Rustaie and Gh. Ghorevash. 2011. Evaluation of cold tolerance in some geneotype intermediate and winter wheat in field conditions in the farming, 26: 61-76 (In Persian).
34. Simon, E.W. 1974. Phospholipids and plant membrane permeability. *New Phytology*, 73: 377-420.
35. Soltanie, A. 2012. Application of SAS in statistical analysis. Mashhad University Jihad, 2<sup>nd</sup> Edition.
36. Steponkus, P.L. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Reviwer. Plant Physiology*, 35: 543-584.
37. Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology* Sunderland: (3<sup>ed</sup>). Sinauer Associates, Inc, 690 pp.
38. Tewari, K.A. and C.B. Tripathy. 1998. Temperature-stress-induced Impairment of Chlorophyll Biosynthetic Reactions in Cucumber and Wheat. *Plant Physiology*, 117: 851-858.
39. Thomas, H. 1990. Osmotic adjustment in *lolium perenne*: its heritability and the nature of solute accumulation, *Annals of Botany*, 66: 521-530.
40. Wulff, A., L. Sheppard and I. Leith. 1994. Evaluation of electrolyte leakage, chlorophyll fluorescence and ultra structural techniques for detecting effects of acid mist on frost hardiness of sitka spruce shoots. *Enviromental and Experimental Bottany*, 34: 261-273.
41. Zadoks, J.C., T.T. Chang and C.F. Konzak. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, 14: 415-421.
42. Zhang, Y.Q., C.M. Liu, Y.J. Shen, A. Kondoh, C.Y. Tang and T. Tanaka. 2002. Measurement of evapotranspiration in a winter wheat field. *Hydrological process*, 16: 2805-2817.

## **Evaluation of Some Bread Wheat Genotypes in the Reproductive Stage under Pattern Chilling Stress**

**Ali Reza Askary Kelestanie<sup>1</sup>, Abuzar Asadi<sup>1</sup>, Reza Gholi Mirfakhraii<sup>2</sup> and Ali Reza Abasi<sup>3</sup>**

---

1- Graduated M.Sc., Tarbiat Modarres University

2- Assistant Professor, Tarbiat Modarres University (Corresponding author: abdhooorz@modares.ac.ir )

3- Associate Professor, University of Tehran

Received: August 7, 2012

Accepted: January 8, 2014

---

### **Abstract**

Plants are usually exposed to a range of environmental stresses. These stresses have undesirable effects on survival create growth, quantity and quality of agriculture products. Chilling stress is one of them that can damage cereals at the reproductive stage. The aim of present study was investigation of chilling effects on physiological traits, plant pigments (total, a and b chlorophyll and Carotenoid), proline content and ion leakage at reproductive stage under artificial conditions. To reach to this aim na experiment with 20 bread wheat cultivars with four levels of chilling stress (+8 (control), +2, 0, -2 Celsius) using factorial arrangement based on a completely randomized design was implemented. Results of variance analysis showed that cold levels, cultivars and effects of interaction signification at the 1% level. Comparison of means effects of interaction showed that the tolerant cultivars have little cell membrane leakage and more plant pigments and proline content at different levels of artificial chilling stress. Oroom and Aflak were known as the most tolerant cultivars and Line A and Mv17 as the most susceptible cultivars According to these criteria. Totally, this research showed that ion leakage, plant pigments and proline content can suitable traits for assessment of chilling stress.

**Keywords:** Membrane Stability, Plant Pigments, Proline, Spring Cold Stress