



## اثر سرمای زمستان بر پایداری غشای سیتوپلاسمی، میزان کلروفیل و عمق طوقه در تعدادی از ژنوتیپ‌های بهاره و زمستانه گندم در منطقه اردبیل

امیر غریب عشقی<sup>\*</sup>، رضا عادل‌زاده، محمدرضا شیرینی و کمال شهبازی

اعضای هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی استان اردبیل (مغان)

### چکیده

سرمازدگی اندام‌های رویشی غلات از تنش‌های مهم محیطی در برخی نقاط کشور ما به‌شمار می‌رود. به‌منظور شناسایی صفات مرتبط با تحمل به سرما، ۲۲ ژنوتیپ گندم در منطقه اردبیل کشت شدند. ژنوتیپ‌ها پس از تحمل سرمای زیر صفر در زمستان (۱۳۵ روز یخبندان)، از نظر صفات پایداری غشاء سیتوپلاسمی، غلظت کلروفیل، عمق طوقه و عملکرد مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارها برای صفات پایداری غشاء سیتوپلاسمی و غلظت کلروفیل و عملکرد دانه اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد وجود دارد، ولی از نظر صفت عمق طوقه بین تیمارها اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید. مقایسه میانگین عملکرد دانه ژنوتیپ‌ها نشان داد ژنوتیپ‌های Au//gt/54/0079/Grk، نوید، C-73-8، سرداری و C-70-3 به ترتیب با ۳/۵۲، ۳/۴۱، ۳/۳۴، ۳/۲۶ و ۳/۲۴ تن در هکتار بیشترین و ژنوتیپ ۴۲۱۳ با ۱/۵۹ تن در هکتار کمترین عملکرد دانه را داشتند. همچنین مقایسه میانگین داده‌ها، نشان داد که ژنوتیپ‌های متحمل‌تر عموماً دارای غشاء سیتوپلاسمی پایدارتر (EC پایین‌تر) و غلظت کلروفیل بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس‌تر می‌باشند. همچنین همبستگی معنی‌داری بین عملکرد دانه و پایداری غشاء سیتوپلاسمی (منفی) و عملکرد دانه و غلظت کلروفیل برگ‌ها (مثبت) پس از گذراندن سرمای زمستانه بین ژنوتیپ‌ها مشاهده گردید. به نظر می‌رسد می‌توان از این روش‌ها به‌عنوان ابزاری مناسب، ساده و سریع برای ارزیابی و غربال کردن ژنوتیپ‌ها از نظر تحمل به سرمای زمستانه استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** پایداری غشاء سلولی، سرما، عمق طوقه، گندم

<sup>\*</sup> - مسئول مکاتبه: adelzadeh53@yahoo.com

## مقدمه

بر اساس آمار موجود در کشور، حدود ۶۶ درصد اراضی دیم و ۵۱ درصد اراضی آبی زیر کشت گندم و جو، در مناطق سردسیر و کوهستانی واقع شده‌اند. مناطق سردسیر کشور دارای ارتفاعی بیش از چهار هزار متر از سطح دریا بوده و متوسط حداقل مطلق درجه حرارت در طی یک دوره طولانی کمتر از ۱۲ درجه سلسیوس می‌باشد (محفوظی و همکاران، ۱۹۹۳). با توجه به اینکه هر کدام از مراحل رشد گیاه، نیازهای دمایی متفاوتی دارند، لذا در تنش‌های دمایی، مرحله وقوع و دوام و شدت تنش سرما مهمترین عوامل موثر به حساب می‌آیند (بلوم، ۱۹۸۸)، (لویت، ۱۹۸۰) و راسل و همکاران (۲۰۰۶) تاکید کرده‌اند که تنش انجماد یا یخ‌زدگی در معنای وسیع خود شامل واکنش‌های پیچیده‌ای است و به حالتی اطلاق می‌شود که گیاهان تحت فشار دمای زیر صفر قرار می‌گیرند. تنش‌های محیطی غشاء سیتوپلاسمی یاخته‌های گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (کوچکی و همکاران، ۱۹۸۸). استتا و همکاران (۲۰۰۳)، بلوم (۱۹۸۸) و ریزا و همکاران (۱۹۹۴) نیز گزارش کرده‌اند تنش سرما به غشاء سیتوپلاسمی آسیب می‌رساند و در صورت ادامه انجماد، غشاء سیتوپلاسمی پاره شده و متعاقب آن مواد سلولی به خارج از سلول نشت می‌نماید. النوا و همکاران (۱۹۹۵) نیز از روش اندازه‌گیری میزان هدایت الکتریکی برای ارزیابی گندم‌های زمستانه از نظر مقاومت به سرما استفاده کرده‌اند. استفاده از روش اندازه‌گیری نشت یونی برای آزمایشات مقاومت به سرما توسط ولف و همکاران (۱۹۹۴) و بلوم و ابرکون (۱۹۸۱) نیز گزارش شده است. محفوظی و همکاران (۱۹۹۴)، ولف و همکاران (۱۹۹۴) در ارزیابی‌های خود در تنش سرما از روش اندازه‌گیری پایداری کلروفیل سود جستند. اشرف و تیلور (۱۹۷۴) طوقه را از مهمترین اعضاء رویشی غلات در رابطه با مقاومت به انجماد گزارش کرده‌اند. آنها معتقدند که طوقه‌هایی که در عمق بیشتر خاک تشکیل می‌شوند، نسبتاً به انجماد مقاوم‌ترند. دوفینگ و اشمیت (۱۹۸۵) معتقدند که هرچه طوقه در عمق بیشتری تشکیل شده باشد، از سرما کمتر آسیب می‌بینند. در عین حال همبستگی بین عمق طوقه<sup>۱</sup> و شاخص زنده ماندن در مزرعه<sup>۲</sup> بوسیله فاولر و همکاران (۱۹۸۱) غیر معنی‌دار گزارش شده است. هانت و همکاران (۱۹۸۳) نیز اعلام کرده‌اند که استفاده از عمق طوقه روش مناسبی برای غربال کردن ارقام مقاوم به انجماد

1- Crown depth

2- Field Survival Index (FSI)

نمی‌باشد. با توجه به سردسیر بودن منطقه اردبیل در این تحقیق سعی شده است، صفات مرتبط با مقاومت به سرما در گندم‌های نان در این منطقه بررسی شود تا بتواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی پاره‌ای صفات مرتبط با تحمل به سرما در گندم، ۲۲ ژنوتیپ از ارقام بومی ولاین‌های پیشرفته داخلی و خارجی (جدول ۲) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در منطقه اردبیل به صورت پاییزه کشت شدند. این منطقه دارای ۱۳۵ روز دوره یخبندان طی فصل آزمایش است. کشت به صورت دستی در ۶ خط مجزا در کرت‌های به طول ۲/۵ متر و عرض ۱ متر با فاصله خطوط کاشت ۲۰ سانتی‌متر انجام گردید. آزمایش در شرایط بدون آبیاری (دیم) انجام گرفت. عملیات داشت طبق عرف منطقه انجام شد. در ارزیابی میزان تخریب غشاء سیتوپلاسمی، از روش اندازه‌گیری میزان نشت یونی استفاده شد. به این منظور، در مرحله ۸-۷ برگ، از هر ژنوتیپ در هر تکرار ۵ برگ به صورت تصادفی انتخاب و سپس با استفاده از پانچ از برگ پرچم ۱ عدد نمونه دایره‌ای شکل به قطر ۳/۵ میلی‌متر تهیه و نمونه‌ها بلافاصله به داخل شیشه‌های درپوش‌دار محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر منتقل شدند و سپس در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سلسیوس) قرار گرفته و میزان پایداری غشاء سیتوپلاسمی آنها پس از ۲۰ ساعت توسط دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی تعیین گردید (ریزا و همکاران ۱۹۹۴). برای تعیین غلظت و پایداری کلروفیل برگ پرچم ۰/۲۵ گرم از برگ‌های هم‌سن جدا شده و سپس با استن ۸۰ درصد به خوبی هم‌وزنیزه گردید و در نهایت مایع حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر، طیف سنجی شد (کیلن و آندریو، ۱۹۶۹). برای اندازه‌گیری عمق طوقه از روش فاولر و گوستا (۱۹۷۷) استفاده شد و عمق طوقه (فاصله بین طوقه و ابتدای ساقه که حاوی کلروفیل است) به وسیله خط کش بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. برای تجزیه و تحلیل عملکرد دانه از توزین عملکرد دانه دو خط وسط هر کرت پس از تبدیل به تن در هکتار استفاده گردید. پس از تکمیل داده‌ها، تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون LSD انجام گرفت.

### نتایج و بحث

تجزیه واریانس ساده صفات نشان داد، اختلاف ارقام مورد مطالعه از نظر این صفات پایداری غشاء سیتوپلاسمی و پایداری کلروفیل و عملکرد دانه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل جذبی	هدایت الکتریکی برگ	عملکرد	عمق طوقه
تکرار	۲	۰/۰۰۳	۸۰/۳۷۵	۸/۵۱۱	۰/۱۰۳
تیمار	۲۱	۰/۰۶۵ *	۴۶/۴۲ *	۰/۶۵۶ *	۰/۰۸۵ n.s
اشتباه	۴۲	۰/۰۲۴	۲۵/۱۶۶	۰/۲۷۹	۰/۱۴۷
ضرب تغییرات	-	۶/۸	۱۷/۰۳	۱۹/۷	۱۱/۲۱

\* و n.s: به ترتیب نشانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

این اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر میزان تراوشات سلولی پس از گذراندن سرمای زمستان بدین معنی است که میزان تحمل سرمای ژنوتیپ‌ها متفاوت بوده و از این حیث در میان ژنوتیپ‌ها تنوع لازم جهت انتخاب ژنوتیپ برتر وجود دارد. جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) همچنین نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های C-70-3، C-73-8، نوید، Bezostaya، 4209، قدس، C-73-5، سرداری و C-70-20 از نظر میزان هدایت الکتریکی در شرایط سرمای زمستان به ترتیب کمترین میزان تراوشات سلولی را در شرایط سرمای زمستان داشته و از نظر عملکرد دانه ژنوتیپ‌های Au//gt/54/0079/Grk، نوید، C-73-8، سرداری و C-70-3 دارای عملکرد بالاتری در مقایسه با سایر ارقام بودند. این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات توی ویو و همکاران (۱۹۸۱)، بلوم (۱۹۸۸)، ریزا و همکاران (۱۹۹۴)، النا و همکاران (۱۹۹۵) و استنا و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد. همچنین معنی‌دار بودن تفاوت واکنش ژنوتیپ‌ها از نظر میزان کلروفیل برگ‌ها نیز حاکی از آن است که سرمای زمستان واکنش‌های متفاوتی را در بین ژنوتیپ‌ها موجب شده است و از این نظر نیز تنوع ژنتیکی کافی بین ژنوتیپ‌ها وجود دارد، که مراجعه به مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد ژنوتیپ‌های متحمل‌تر به سرما از میزان کلروفیل بیشتری در برگ‌ها برخوردار می‌باشند، با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌گردد که ژنوتیپ‌های نوید، سرداری، C-73-8، سرخس، Au//gt/54/0079/Grk و C-70-3 دارای بیشترین میزان جذب طیف‌های نوری توسط مولکول‌های کلروفیل هستند. این نتیجه با نتایج محفوظی و همکاران (۱۹۹۴) و ولف و همکاران (۱۹۹۴) منطبق است. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به صفت عمق طوقه نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت در شرایط آزمایش مشاهده نگردید. بنابراین با توجه به اینکه اشرف و تیلور (۱۹۷۴) و دوفینگ و اشمیت (۱۹۸۵) معتقدند که طوقه‌هایی که در عمق بیشتر خاک تشکیل می‌شوند، نسبتاً به انجماد

مقاوم‌تر بوده و از سرما کمتر آسیب می‌بینند. اما از سوی دیگر هانت و همکاران (۱۹۸۳) نیز اعلام کرده‌اند که استفاده از عمق طوقه روش مناسبی برای غربال کردن ارقام مقاوم به انجماد نمی‌باشد. لذا به نظر می‌رسد استفاده از این روش به تنهایی جهت غربال‌گری و سلکسیون مواد ژنتیکی متحمل به سرما اطمینان بخش نباشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های گندم

ردیف	ژنوتیپ	تیپ‌رشد	عملکرد (تن‌درهکتار)	کلروفیل جذبی	هدایت‌الکتریکی برگ(میلی‌موس /سانتی متر)	عمق طوقه (سانتی متر)
۱	امید	زمستانه	۲/۴۴ ab	۲/۲۴ a	۳۰/۴۳ b	۳/۷۳ a
۲	C-70-20	بهاره	۲/۱۷ ab	۲/۱۸ a	۲۶/۸ b	۳/۰۰ a
۳	C-70-3	زمستانه	۳/۲۴ a	۲/۱۹ a	۲۳/۶۳ b	۲/۹۳ a
۴	C-73-5	بهاره	۲/۸۷ ab	۲/۴۱ a	۲۶/۵ b	۳/۲۴ a
۵	4213	بینابین	۱/۵۹ b	۱/۸۷ b	۴۲/۰۷ a	۳/۲۹ a
۶	C-73-20	زمستانه	۲/۶۵ ab	۲/۳۴ a	۳۰/۳ b	۳/۰۹ a
۷	4209	بهاره	۲/۶۲ ab	۲/۲ ab	۲۶/۳۷ b	۳/۱۵ a
۸	4214	زمستانه	۲/۲۱ ab	۲/۳۷ a	۳۱/۱۳ b	۳/۳۹ a
۹	4216	زمستانه	۲/۶۸ ab	۲/۱۵ ab	۳۲/۲۳ b	۳/۳۱ a
۱۰	4215	زمستانه	۲/۹۸ ab	۲/۳۹ a	۲۶/۶ b	۳/۹۳ a
۱۱	4204	زمستانه	۲/۳ ab	۲/۱۲ ab	۲۸/۸ b	۳/۸۵ a
۱۲	Au//gt/54/0079/Grk	زمستانه	۳/۵۲ a	۲/۴۳ a	۲۸/۱۳ b	۳/۱۵ a
۱۳	قدس	بهاره	۲/۵۹ ab	۲/۱۹ ab	۲۶/۳۷ b	۳/۲۳ a
۱۴	سرخس	بهاره	۲/۵ ab	۲/۴۴ a	۲۸/۳۹ b	۳/۲۹ a
۱۵	اردبیل ۱۱	زمستانه	۲/۴۷ ab	۲/۱۲ ab	۲۹/۵۷ b	۳/۹۲ a
۱۶	اردبیل ۱۲	زمستانه	۲/۷۹ ab	۲/۱۳ ab	۳۰/۵۳ b	۳/۲۵ a
۱۷	سیلان	بهاره	۲/۸۹ ab	۲/۱۶ ab	۴۴/۳ a	۳/۰۰ a
۱۸	MV-17	زمستانه	۲/۲۲ ab	۲/۲۷ ab	۲۸/۳۳ b	۳/۹۱ a
۱۹	Bezostaya	زمستانه	۲/۲۴ ab	۲/۲۲ ab	۲۵/۸۵ b	۳/۹۸ a
۲۰	سرداری	زمستانه	۳/۲۶ a	۲/۳۸ a	۲۶/۶ b	۳/۶۲ a
۲۱	نوید	بهاره	۳/۴۱ a	۲/۴۴ a	۲۵/۶۳ b	۳/۴۰ a
۲۲	C-73-8	زمستانه	۳/۳۴ a	۲/۴ a	۲۴/۵۳ b	۳/۳۵ a

مطالعه جدول همبستگی صفات مورد مطالعه با عملکرد دانه هم نشان داد که عملکرد با کلروفیل دارای همبستگی مثبت و معنی داری (۰/۶۳) می باشد و هدایت الکتریکی برگ، دارای همبستگی منفی و معنی داری (۰/۴۶-) با عملکرد دانه می باشد. همچنین عمق طوقه همبستگی معنی داری با هیچ یک از صفات از جمله با عملکرد دانه ندارد (جدول ۳).

جدول ۳- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ های گندم.

عملکرد	کلروفیل جذبی	هدایت الکتریکی برگ	عمق طوقه
عملکرد	۱		
کلروفیل جذبی	+۰/۶۳**		
هدایت الکتریکی برگ	-۰/۴۶*	۱	
عمق طوقه	-۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۱

\*، \*\* و N.S: به ترتیب نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد عدم اختلاف معنی دار می باشد.

نتیجه گیری کلی بیانگر آن است که ژرم پلاسما های متحمل به سرما دارای میزان کمتری از تراوشات سلولی و میزان بالاتری از کلروفیل در شرایط گذراندن سرمای زمستان بوده اند و با کاهش پایداری کلروفیل در شرایط سرمای زمستان، عملکرد نیز کاهش می یابد لذا به نظر می رسد می توان از اندازه گیری این صفات فیزیولوژیک به عنوان ابزاری مناسب، ساده و سریع برای مطالعات مربوط به سرما و ارزیابی و غربال کردن ژنوتیپ ها استفاده کرد.

## منابع

- Ashraf, M., and Taylor, G.A. 1974. Morpho-development factors related to winter survival of wheat. Association of characteristics of dark green seedling and winter survival. Crop Sci. 14: 499- 502
- Bagheri, M., Lesani, H., Khodabande, N., and Khoshkholgh, A. 1997. Study of physiological indices for evaluating of drought resistance wheat. M.Sc Agron Thesis. Azad Islamic Univ. Karaj, Iran.
- Banisadr, N. 1996. Study of warm and cold tolerance in some Iranian barley. Seed. Plant J. Agric. Res. 11: 63-67.
- Blum, A., and Ebercon, A. 1981. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat. Crop Sci. 21:43-47.
- Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environment. CRC Press, Boca- Raton,

- Florida.
- Dofing, S.M., and Schmidt, J.W. 1985. Relationship between subcrown internode length and winter survival in winter barley. *Crop Sci.* 25: 690-692
- Esenta, G., Okke, A., and Nalbanto, B. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Reg.* 41: 231-236.
- Elena, P., and Terbea, M. 1995. Proline content and the conductivity test as screening methods for frost tolerance of winter wheat. *Bulg. J. Plant physiol.* 21(4): 3-11.
- Fowler, D.B., and Gusta, L.V. 1977. Influence of fall growth and development of cold tolerance of rye and wheat. *Can J. Plant Sci.* 57: 751-755.
- Fowler, D.B., Gusta, L.V. and Taylor, N.J. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. Three screening methods. *Crop Sci.* 21: 895-901.
- Hunt, L.A., Mckersie, D.D., and Tauner, D.G. 1983. Crown depth in eastern soft white winter wheat. *Crop Sci.* 23: 513-515.
- Kocheki, A., Rashedmohassell, M., Nasiri, M., and Sadriabadi, R. 1989. Physiological basics of growth and development of crops. *Astane Ghodse Razavi Pubication.*
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress. Vol., 1. Freezing and high temperature stress. *Academic press.* New York.
- Mahfoozi, S., Majidi, E., Taeb, M. and Taleii, A. 1994. Methodology of evaluating of cold tolerant sources in wheat cultivars. M.Sc. Thesis. Univ. Azad Islamic, Karaj, Iran.
- Mazur, P. 1970. The freezing of biological systems. *Cryobiology, Sci.* 158: 935-949.
- Rizza, F., Crossatti, C., Stancan, M. and Cattevelli, L. 1994. Studies for assessing the influences of hardening on cold tolerance of barley genotypes. *Euphytica* 75: 131-138.
- Russel, G.T., Schilling, B.S., Wisniewski, M. and Gusta, L.V. 2006. Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. P. 131-155. Springer Netherlands, Pub.
- Steponkus, P.L. 1984. Role of the plasma membrane in freeze injury and cold acclimation. *Ann. Plant Physiol.* 35: 543-584
- Toivio-Kinnucan, M.A., Chen, H.H., Li, P.H. and Stushnoff, C. 1981. Plasma membrane alterations in callus tissue of tuber bearing *Solanum* species during cold acclimation. *Plant Physiol.* 57: 478-483.
- Wulff A., Sheppard, L. and Leith I. 1994. Evaluation of electrolyte leakage, chlorophyll fluorescence and ultrastructural techniques for detecting effects of acid mist on frost hardiness of sitka spruce shoots. *Env. Exp. Bot.* 34: 261-273.
- Wiest, S.C., and Steponkus, P.I. 1978. Freeze- thaw injury to isolated protoplasm and its simulations at above freezing temperature. *Plant. Phsyiol.* 62: 599-705.



## Effect of winter cold on membrane stability, chlorophyll Content and crown depth in some spring and winter wheat Genotypes in Ardabil Region

A. Gharib Eshghi, \*R. Adelzade, M.R. Shirii and K. Shahbazi  
Faculty members of Agricultural Research center of Ardabil Province (Moghan)

### Abstract

Cold is one of the most important abiotic stresses in some regions of Iran. To Investigate of some tolerance related traits to cold condition, 22 bread wheat genotypes planted in Ardabil region in 1980. After plants passed winter cold condition (135 freezing days), cell membrane stability, chlorophyll content of leaf and crown depth and grain yield of genotypes were measured. ANOVA analysis showed significant differences between genotypes for grain yield, cell membrane stability and chlorophyll content of leaf at 5%. While there was none significant differences between genotypes for crown depth. Mean comparison showed that , Aug//gt/..., Navid, C-73-8, sardari and C-70-3 genotypes with 3.52, 3.41, 3.34, 3.26 and 3.24 ton/ha respectively had the highest and 4213 genotype with 1.59 tn/ha had the least grain yield in experiment condition. Correlation coefficients showed negative significant correlation between grain yield and cell membrane Stability, and positive correlation between grain yield and chlorophyll content of leaf. Overall it seems these methods can be used as simple and quick tools for evaluating and screening wheat genotypes in winter cold condition.

**Keywords:** Cell Membrane injury; Cold; Crown Depth; *Triticum aestivum*;

---

\*-Corresponding Author; Email: adelzadeh53@yahoo.com