Cereal Biotechnology and Biochemistry

Razi University

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Some biochemical traits related to cold tolerance in different bread wheat cultivars with different growth types in Kermanshah region

Negin Rezaei[1], Mohsen Saeidi[2]✉, Shahryar Sasani[3], Saeid Jalali-Honarmand[4] & Mohammad-Eghbal Ghobadi[5]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

[2]✉ Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: msaeidi@razi.ac.ir

[3] Crops and Horticultural Sciences Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Kermanshah, Iran.

[4] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

[5] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

ABSTRACT

Introduction: Wheat has more distribution range than any crop globally due to its wide adaptation to different climatic conditions. The occurrence of environmental stresses during the wheat growth period significantly reduces its yield in most cultivated areas. Among different stresses, cold stress is one of the environmental factors limiting wheat cultivation in cold and mountainous areas. Cold stress causes changes in physiological and biochemical traits in plants. This research was conducted to evaluate some physiological and biochemical traits related to cold tolerance in different wheat genotypes in the semi-cold winter region.

Materials and methods: This study was conducted at research farm and laboratory crop physiology, Department of Plant Production and Genetics, Razi University, Kermanshah, Iran, during the 2013-2014 cropping cycles. The farm experiment was a Randomized Complete Block Design (RCBD) with three replications. The sowing date was mid-November. The purpose of field cultivation was to induce the normal induction of cold acclimation in different wheat cultivars under natural field conditions. In this research 12 bread wheat cultivars such as Norstar, Zarin, Kavir, Baz, Sivand, Alvand, Pishgam, Pishtaz, Orum, Shahryar, Bahar, and Parsi were evaluated. These cultivars were purposefully selected from different wheat growth types of spring, autumn, and qualitative cultivars. Then, at different stages of cold acclimation, the crowns of the studied cultivars were transferred to the laboratory. To evaluate physiological traits were studied under different temperatures in a thermogradient freezer. To this end, a Factorial experiment based on a Completely Randomized Design (CRD) with three replications was used. In this experiment, the first factor was 12 above-mentioned wheat cultivars, and the second treatment was five temperature treatments (+3, -3, -6, -9, and -12 °C).

Results: The results showed that winter and facultative cultivars had more crown soluble proteins, membrane stability and antioxidant enzymes activity (peroxidase, superoxide dismutase and catalase) than spring cultivars. The LT50 average was -6.5 °C. In the meantime, LT50 in winter and facultative wheat cultivars was -8.5 °C, and in spring cultivars were -4.7 °C. The soluble proteins and catalase activity had the highest positive and significant correlation with cold tolerance.

Conclusion: In general, physiological and biochemical characteristics in winter and facultative cultivars (Norstar, Zarin, Orum, and Alvand) were more associated with cold tolerance than the others. In this research, Norstar cultivar with LT50= -14 °C and Orum with LT50= -11.5 °C were identified as resistant cultivars to cold stress.

Keywords: Crown, LT50, Membrane stability, Osmotic potential, Soluble proteins.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 28/08/2021, **Revised:** 07/01/2022, **Accepted:** 17/01/2022, **Published online:** 26/03/2022

Cite this article: Rezaei, N., Saeidi, M., Shahryar, S., Jalali-Honarmand, S. & Ghobadi, M, E. (2022). Some biochemical traits related to cold tolerance in different bread wheat cultivars with different growth types in Kermanshah region. Cereal Biotechnology and Biochemistry. 1 (1). 66-86. DOI: 10.22126/cbb.2022.1953

© The Author(s).

Publisher: Razi University

10.22126/cbb.2022.1953

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

بررسی صفات بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما در ارقام مختلف گندم نان با تیپ‌های مختلف رشد در منطقه کرمانشاه

نگین رضایی[۱]، محسن سعیدی[۲]✉، شهریار ساسانی[۳]، سعید جلالی‌هنرمند[۴] و محمداقبال قبادی[۵]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران.

[۲]✉ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران.. رایانامه: msaeidi@razi.ac.ir

[۳] بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

[۴] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران.

[۵] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه ایران.

چکیده

هدف: گندم به دلیل تطابق گسترده با شرایط آب و هوایی گوناگون، دارای دامنه‌ی پراکندگی بیش‌تری نسبت به هر گیاه زراعی می‌باشد. وقوع تنش‌های محیطی در طول دوره رشد گندم سبب کاهش معنی‌دار عملکرد آن در اکثر مناطق مورد کشت آن می‌شوند. در میان انواع تنش‌های محیطی، تنش سرما از عوامل محیطی محدودکننده‌ی کشت گندم در مناطق سردسیر و کوهستانی است. تنش سرما موجب تغییر در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان زراعی می‌گردد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما در ارقام مختلف گندم نان در مناطق با زمستان نیمه‌سرد انجام شد.

روش پژوهش: این تحقیق در مزرعه پژوهشی و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه رازی کرمانشاه اجرا شد. تحقیق مزرعه‌ای به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار انجام بود. کشت در اوایل آبان ماه انجام شد. هدف از انجام کشت مزرعه‌ای القاء طبیعی خوگیری گیاهان در شرایط طبیعی مزرعه بود. در این بررسی ۱۲ رقم گندم نان شامل: نورستار، زرین، کویر، باز، سیوند، الوند، پیشگام، پیشتاز، اروم، شهریار، بهار و پارسی بررسی شدند. این رقم‌ها به صورت هدفمند از تیپ‌های مختلف رشدی (زمستانه، بینابین و بهاره) انتخاب شدند. سپس در مراحل مختلف خوگیری به سرما، طوقه رقم‌های مورد بررسی به آزمایشگاه منتقل شده و به منظور مطالعه صفات فیزیولوژیک مرتبط با تحمل سرما به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در فریزر دارای خاصیت اعمال شیب دمایی تحت دماهای مختلف قرار گرفتند. فاکتور اول شامل ۱۲ رقم مذکور گندم نان و فاکتور دوم شامل تیمارهای دمایی (۳+، ۳-، ۶-، ۹-، و ۱۲- درجه سانتی‌گراد) بودند.

یافته‌ها: نتایج این پژوهش نشان داد که ارقام زمستانه و بینابین از نظر محتوای پروتئین‌های محلول طوقه، پایداری غشاء و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طوقه (پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) نسبت به ارقام بهاره برتر بودند. متوسط شاخص دمای کشنده ۵۰ درصد (LT50) برابر با ۶/۵- درجه سانتی‌گراد بود. در این بین، LT50 ارقام زمستانه و بینابین ۸/۵- و ارقام بهاره ۴/۷- درجه سانتی‌گراد بود. میزان پروتئین‌های محلول و سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز طوقه‌ها ازجمله صفاتی بودند که بیشترین همبستگی را با تحمل به سرما داشتند.

نتیجه‌گیری: به طور کلی ارقام زمستانه و بینابین (نورستار، زرین، اروم و الوند) نسبت به سایر ارقام از نظر صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما، برتر بودند. در این پژوهش، ارقام نورستار و اروم به‌ترتیب با LT50 برابر با ۱۴- و ۱۱/۵- درجه سانتی‌گراد، به عنوان مقاوم‌ترین ارقام به تنش دماهای پایین شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: پایداری غشاء، پتانسیل اسمزی، پروتئین‌های محلول، دمای کشنده ۵۰ درصد، طوقه.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۰۶ **اصلاح:** ۱۴۰۰/۱۰/۱۷ **پذیرش:** ۱۴۰۰/۱۰/۲۷، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۱/۰۱/۰۶

استناد: رضایی، ن.، سعیدی، م.، ساسانی، ش.، جلالی‌هنرمند، س. و قبادی، م. ا. (۱۴۰۱). بررسی صفات بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما در ارقام مختلف گندم نان با تیپ‌های مختلف رشد در منطقه کرمانشاه. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۱ (۱)، ۶۶-۸۶. DOI: 10.22126/cbb.2022.1953

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) نخستین غله از لحاظ ارزش غذایی و مهم‌ترین گیاه زراعی دنیاست که تأمین‌کننده غذای بخش عظیمی از مردم کره زمین است (Igrejas, 2020). گندم به دلیل تطابق گسترده با شرایط آب و هوایی گوناگون، دارای دامنه پراکندگی بیش‌تری نسبت به هر گیاه زراعی می‌باشد. تنش‌های محیطی از جمله تنش سرما در عدم رسیدن به پتانسیل عملکرد آن مؤثر هستند (Hassan *et al*., 2021).

مقاومت به سرما در گندم، از مهم‌ترین عواملی است که سبب بقای آن در زمستان مناطق سرد می‌شود. مقاومت به سرما بسته به شرایط آب و هوایی متغیر است و برای ایجاد مقاومت گیاه به سرما، وجود دوره‌های سرمایی ملایم (بالای صفر درجه سانتیگراد) در ابتدای رشد گیاه ضروری است. در این حالت، پدیده خوگیری به سرما در گیاه القاء شده و تغییرات مهم بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، سلولی، مولکولی و متابولیکی مانند افزایش سطح قندها، پروتئین‌های محلول، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، فلورسنس کلروفیل، ظهور ایزوفرم‌های جدید پروتئین، تغییرات ترکیبات لیپیدی غشاء و غیره در گیاه صورت می‌گیرد (Hassan *et al*., 2021; Majdi *et al*., 2009). در نتیجه این فرآیند (خوگیری به سرما)، گیاه قادر خواهد بود که شرایط سرما و زمستان را تحمل کند (Azizi *et al*., 2007). تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS[1]) در کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌ها، از مهمترین تغییرات بیوشیمیایی گیاهان تحت تنش سرما است (Sibi & Chegeni, 2014). گونه‌های فعال اکسیژن بسیار واکنش‌گر بوده و برای سلول اثر سمی داشته و در صورت عدم وجود برخی سازوکارهای محافظت‌کننده، می‌توانند به‌طور جدی سبب خسارت به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شوند (Ouellet, 2007; Hasanuzzaman *et al*., 2020). سازوکارهای متفاوتی در گیاهان جهت بالا بردن تحمل در برابر گونه‌های فعال اکسیژن وجود دارد که بلافاصله بعد از دریافت پیام‌های تنش فعال می‌شوند (Knight & Knight, 2001). این سازوکارها به دو صورت آنزیمی و غیرآنزیمی می‌باشند (Alscher *et al*., 2002; Heidarvand & Maali Amiri, 2010). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل ترکیبات آب‌گریز (توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و ...) و آب‌دوست (گلوتاتیون، اسید آسکوربیک و ...) می‌باشند (Hasanuzzaman *et al*., 2020). در حالی که آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، پراکسیداز و ... می‌باشند (Habibi *et al*., 2017; Mittler, 2002; Nedjadsadeghi *et al*., 2014). همچنین قندهای محلول، اسیدهای آمینه و پروتئین‌های محلول در ارقام

[1] Reactive oxygen species (ROS)

مقاوم به سرما در ایجاد مقاومت نقش کلیدی ایفاء می‌کنند (Vitamvas *et al*., 2007).

روش‌های مختلفی جهت ارزیابی مقاومت به سرما در ارقام مختلف وجود دارد که از آن‌ها می‌توان به شاخص بقای مزرعه‌ای (FSI[2])، شاخص دز کشنده (LD[3]) و شاخص دمای کشنده ۵۰ درصد بوته‌ها (LT_{50}[4]) اشاره کرد (Fowler, 1982; Limin & Fowler, 1988; Mahfoozi *et al*., 2005; Mahfoozi *et al*., 2000). در میان این شاخص‌ها، شاخص LT_{50} برخلاف روش‌های آزمون انجماد در مزرعه، تابع تغییرات آب و هوایی نیست. این روش، انعطاف‌پذیر، آسان و کم‌خرج بوده و برای ارزیابی ارقام از نظر تحمل سرما بسیار مناسب است. با استفاده از این روش می‌توان منابع ژنتیکی را در مدت کوتاهی ارزیابی کرد (Mahfoozi *et al*., 2005). با این حال می‌توان از تلفیق روش‌های کشت در شرایط مزرعه‌ای و کنترل شده (آزمایشگاه) برای تعیین تفاوت ژنتیکی بین ارقام گندم از نظر تحمل سرما، استفاده کرد. با توجه به بروز مستمر تنش سرما در مناطق تحت کشت گندم، باید تلاش نمود تا با شناخت سازوکار تحمل سرما و کمک گرفتن از برنامه‌های اصلاحی، به ایجاد ارقام گندم پر محصول دارای تحمل به تنش سرما اقدام نمود. بنابراین هدف از این تحقیق، ارزیابی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما در ارقام مختلف گندم نان از تیپ‌های مختلف رشدی (زمستانه، بهاره و بینابین) در منطقه کرمانشاه بود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعه پژوهشی و آزمایشگاه‌های گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشگاه رازی طی سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ اجرا شد. در بخش مزرعه‌ای، ۱۲ رقم گندم شامل نورستار، زرین، کویر، باز، سیوند، الوند، پیشگام، پیشتاز، اروم، شهریار، بهار و پارسی به صورت هدفمند از سه تیپ رشدی زمستانه، بینابین و بهاره انتخاب شده و در نیمه اول آبان ماه به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار کشت شدند. کشت هر رقم به صورت ردیفی در شش خط با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر و به طول چهار متر با تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع انجام شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کشت انجام شد. نیاز کودی بر اساس نتایج آزمون خاک، برطرف گردید. در بخش آزمایشگاهی، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتول اول ۱۲ رقم گندم ذکر شده و فاکتور دوم اعمال تیمارهای دمایی شامل ۳+، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد بر طوقه رقم‌های گندم بود که با استفاده از فریزر تحقیقاتی قابل برنامه‌ریزی (فریزر ترموگرادیان) اعمال گردید. به این منظور، ابتدا نمونه‌برداری طوقه رقم‌های مورد بررسی از مزرعه در اواخر دی ماه انجام شد. در مرحله ذکر شده تعدادی از بوته‌های هر رقم گندم (حدوداً ۱۰۰ بوته)، با دقت و با کمترین صدمه به ریشه‌ها، از خاک خارج شده، در

[2] Field survival index (FSI)
[3] Lenthal dose (LD)
[4] Lethal temperature for 50% of plant (LT_{50})

کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردیدند. هر کدام از بوته‌ها از یک سانتی‌متر پایین و سه سانتی‌متر بالای طوقه به وسیله تیغ جراحی تیز بریده شدند. هر ۱۰ طوقه بریده شده در یک سطح قرار گرفته و با برچسب پلاستیکی که دمای آزمایش و مشخصات رقم روی آن نوشته شده بود، به هم متصل شدند. در ادامه، دسته‌های ۱۰ تایی طوقه‌ها در ظروف آلومینیومی به نوعی قرار داده شدند که طوقه‌ها با جداره ظرف در تماس باشند. فضای خالی باقی‌مانده با ماسه بادی مرطوب پر شد. جهت جلوگیری از یخ زدن کامل فضای بین ذرات ماسه بادی، سعی گردید ماسه‌ها زیاد خیس نباشند. پس از قرار دادن نمونه‌ها در فریزر تحقیقاتی، دمای فریزر با شیب دو درجه سانتی‌گراد به ازای بازه زمانی ۲۰ دقیقه‌ای، کاهش یافت. بعد از رسیدن به دمای مورد نظر، نمونه‌ها به مدت چهار ساعت در آن دما نگه‌داری می‌شدند. سپس ظرف حاوی طوقه‌های آن دما از فریزر خارج و به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد جهت ذوب تدریجی بافت و ماسه یخ زده در یخچال نگه‌داری می‌شدند. سپس از بین طوقه‌های تحت تنش سرما، تعدادی برای اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک مرتبط با سرما، به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و بخشی دیگر از طوقه‌ها به منظور بررسی درصد زنده‌مانی برای کاشت مجدد در نظر گرفته شدند که در بستری با بافت سبک مشتمل بر مخلوطی از خاک مزرعه، خاک برگ و ماسه با نسبت ۱:۱:۱ کشت و به مدت سه هفته در گلخانه نگه‌داری شدند. در طول این سه هفته آبیاری به طور منظم صورت گرفت. بعد از گذشت ۲۱ روز از کاشت مجدد طوقه‌ها، با توجه به سیستم ریشه‌ای و هوایی زنده و فعال، تعداد بوته‌های مرده و زنده ثبت شده و بر این اساس میزان LT_{50} و تحمل سرما تعیین شد. جهت تعیین قابلیت تحمل انجماد در گیاهان از روش پیشنهادی لیمین و فاولر (Limin & Fowler, 1988) با تعیین LT_{50} استفاده شد. روش LT_{50} برگرفته از سری دماهای انجمادی است که درآن حداقل ۵۰ درصد بوته‌ها در دمای مزبور از بین می‌روند. اندازه‌گیری‌های انجام شده به شرح زیر است:

به منظور بررسی فنولوژی و همچنین مقایسه تعیین زمان گذار از فاز رویشی به زایشی ارقام، از مرحله‌ی سه برگی به بعد، نمونه‌برداری صورت گرفت. از هر کرت، پنج بوته به طور تصادفی انتخاب و با تشریح بوته به کمک میکروسکوپ، وضعیت توسعه مریستم انتهایی ساقه آن‌ها بررسی شد. اندازه‌گیری پایداری غشاء سلول‌های طوقه بعد از انجام آزمون انجماد روی طوقه‌ها انجام شد. اندازه‌گیری پایداری غشاء سلولی (CMS[5]) آن‌ها به روش سولیوان (Sullivan, 1972) انجام شد. طبق این روش ابتدا تکه‌هایی با وزن ثابت از طوقه‌ها تهیه شد. سپس نمونه‌ها داخل لوله آزمایش (فالکون) حاوی آب مقطر در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. نمونه‌ها مدتی در آزمایشگاه جهت رسیدن به دمای اتاق، نگه‌داری

[5] Cell Membrane Stability (CMS)

گردیدند و سپس هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (Extech EC500: Waterproof ExStik® II, EXTECH Instruments, USA) اندازه‌گیری شد (C_1). پس از آن فالکون‌های حاوی طوقه و آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه داخل آب جوش قرار داده شدند و پس از هم دما شدن با دمای اتاق، هدایت الکتریکی این محلول نیز به طور مجدد اندازه‌گیری شد (C_2). در ادامه پایداری غشاء سلولی با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید:

$$CMS=[1-(1-T_1/T_2)/(1-C_1/C_2)]\times 100 \quad (۱)$$

در معادله فوق، T معادل هدایت الکتریکی نمونه‌ها در شرایط تنش و C معادل هدایت الکتریکی نمونه‌ها در شرایط کنترل است.

اندازه‌گیری پتانسیل اسمزی سلول‌های طوقه، بعد از انجام آزمون انجماد روی طوقه‌ها و به روش جانارداهان و همکاران (Janardhan, 1975) انجام شد. طبق این روش، ابتدا نمونه‌های یک گرمی از بافت تر طوقه تهیه نموده و سپس عصاره آن‌ها با هاون و کمی آب مقطر گرفته شد. در ادامه، نمونه‌ها داخل فالکون حاوی آب مقطر قرار داده شدند و سپس هدایت الکتریکی آن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی (Extech EC500: Waterproof ExStik® II, EXTECH Instruments, USA) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد، مجدداً نمونه‌های یک گرمی از بافت تر طوقه تهیه گردید و برای اندازه‌گیری درصد رطوبت، نمونه‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. در ادامه پتانسیل اسمزی نمونه‌ها با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید:

$$Osmotic\ potential = \frac{EC \times 0.36 \times df}{0.987} \quad (۲)$$

در معادله فوق، (df) درصد رطوبت و (EC) هدایت الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد است.

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بعد از انجام آزمون انجماد روی طوقه‌ها انجام شد. پس از اعمال تنش سرما، نمونه‌ها جهت استخراج عصاره به آزمایشگاه منتقل شدند و برای عصاره‌گیری از روش راماچاندرا و همکاران (Ramachandra Reddy *et al.*, 2004) استفاده گردید. در ادامه جهت اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز به‌ترتیب از روش‌های چانس و ماهلی (Chance & Maehly, 1995)، بیشامپ و فریدوویچ (Beauchamp & Fridovich, 1971) و سینها (Sinha, 1972) با اندکی تغییرات استفاده شد. اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول نیز با استفاده از روش بردفورد (Bradford, 1976) انجام شد.

برای انجام آنالیز داده‌ها از نرم‌افزارهای Excel، MSTAT-C و SPSS استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها نیز توسط

آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اندازه‌گیری دمای روزانه هوا در ایستگاه هواشناسی شهرستان کرمانشاه در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ نشان داد که از ۱۰ تا ۲۵ دی ماه، تغییرات دمای هوا از ۹/۵- تا ۱۲/۴ متغیر بود. در این بازه زمانی، دمای هوا در اکثر شب‌ها (حدود ۱۱ شب) زیر صفر بود. بروز چنین شرایط دمایی در مناطق سرد و معتدل متداول است و زمینه‌ای مناسب را برای خوگیری به سرما در گیاه فراهم می‌آورد. در اواخر دی ماه، بوته‌های گندم برای خوگیری به سرما در شرایط دمایی مناسبی قرار داشتند و متوسط روزانه دمای هوا در دی ماه حدود ۱/۷ درجه سانتی‌گراد بود.

در اواخر دی ماه، طوقه ارقام زمستانه نورستار و اروم به ترتیب با LT_{50} برابر ۱۴- و ۱۱/۵-، نسبت به سایر ارقام از مقاومت بیشتری به سرما برخوردار بودند و کم‌ترین مقاومت به سرما مربوط به طوقه ارقام بهاره پارسی و باز، به‌ترتیب با LT_{50} معادل ۴- و ۳- بود. از لحاظ فنولوژی ارقام زمستانه نورستار و اروم به‌ترتیب در مرحله رشد رویشی و برجستگی ساده و ارقام بهاره باز و پارسی در مرحله برجستگی دوگانه قرار داشتند (جدول ۱). در راستای نتایج این تحقیق، فاولر و همکاران (Fowler *et al.*, 1999) گزارش کردند که رقم نورستار تحمل زیادی به دمای پایین دارد و این رقم دارای سازوکارهایی است که بر اساس آن‌ها قابلیت تحمل دماهای پایین را برای مدت طولانی دارد. متوسط تحمل سرما و LT_{50} ارقام گندم مورد بررسی در موقع خوگرفتن به سرما، برابر با ۶/۵- بود. در همین ارتباط، کاظمی شاهاندشتی و همکاران (Kazemi Shahandashti *et al.*, 2012) با بررسی برخی شاخص‌های خسارت سلولی تحت تنش سرما در نخود جم بیان کردند که تیمار سازگاری به سرما می‌تواند گیاه را از آسیب‌های احتمالی تنش سرما حفظ نماید.

به طورکلی نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تحمل سرمای ارقام زمستانه و بینابین، به مراتب بیشتر از ارقام بهاره بود. توسعه مریستم انتهایی ساقه و گذار از فاز رویشی به زایشی در ارقام بهاره، سریع‌تر محقق گردید. در نمونه‌برداری اواخر دی ماه، ارقام بهاره در مرحله برجستگی دوگانه و ارقام زمستانه و بینابین در مرحله رشد رویشی و برجستگی ساده قرار داشتند. در این مرحله، متوسط LT_{50} برای ارقام بهاره ۴/۷- و برای ارقام زمستانه و بینابین ۸/۵- بود. در مرحله نمونه‌برداری، با توجه به این‌که رقم زمستانه و مقاوم به سرمای نورستار در مرحله رشد رویشی قرار داشت، دارای بیشترین تحمل سرما با LT_{50} = ۱۴- بود (جدول ۱). مجدی و همکاران (Majdi *et al.*, 2009) در مطالعات خود نشان دادند که در ارقام گندم فاقد نیاز بهاره‌سازی، مراحل فنولوژی سریع تشکیل شده و سریعتر وارد مرحله زایشی می‌شوند و در نتیجه توانایی تحمل سرما را به مدت طولانی ندارند. در همین ارتباط، فوجی‌تا و همکاران (Fujita *et al.*, 1992) با مطالعه رشد مجدد ریشه ۳۰ ژنوتیپ گندم، میزان

LT_{50} را برای آن‌ها در محدوده ۳/۸- تا ۹/۲- گزارش کردند. در مطالعه آنان، LT_{50} برای ارقام بهاره از ۳/۸- تا ۵/۹- درجه‌سانتی‌گراد با میانگین ۴/۹- و برای ارقام پاییزه از ۴/۴- تا ۹/۲- با میانگین ۶/۸- متغیر بود. آن‌ها در این مطالعه نشان دادند که تحمل سرمای ژنوتیپ‌های پاییزه به مراتب بیشتر از بهاره است. محفوظی و همکاران (Mahfoozi *et al.*, 2005) نیز با ارزیابی تحمل سرمای ۵۴ لاین جو و ۴۰ لاین گندم، نتیجه گرفتند که در گندم بیشترین میزان تحمل دمای پایین مربوط به رقم نورستار با LT_{50} برابر با ۲۵- درجه سانتیگراد بود و گندم دوروم با LT_{50} کم‌تر از ۱۴- درجه سانتیگراد، بیشترین میزان تحمل به یخزدگی را داشت. آن‌ها با مطالعه ارقام مختلف گندم نان، گندم دوروم و جو عنوان کردند که میزان تحمل ژنوتیپ‌ها به قابلیت سازگای آن‌ها با شرایط آب و هوایی مناطقی بستگی دارد که از آن منشأ گرفته‌اند.

رقم نورستار که به دلیل نیاز بهاره‌سازی طولانی مدت، در زمره ارقام سازگار به مناطق بسیار سرد با زمستان طولانی به شمار می‌آید، در برخی از مناطق سرد ایالت ساسکاچوان کانادا کشت می‌گردد (Fowler *et al.*, 1996). این رقم جزء ارقام بسیار متحمل به سرما محسوب می‌گردد که در این آزمایش نیز توانست مقاومت بالایی را از خود نشان دهد. در مقابل، ارقام گندم متداول در مناطق معتدل سرد و سرد کشور مانند زرین، پیشگام، اروم، الوند و شهریار از نظر طول دوره بهاره‌سازی، دارای نیاز متوسطی بودند و مقاومت به سرمای این ارقام نسبت به رقم نورستار کم‌تر بود. ارقام بهاره سیوند، پارسی، بهار، باز، کویر و پیشتاز نیاز بهاره‌سازی ندارند و نسبت به ارقام زمستانه و بینابین که دارای نیاز بهاره‌سازی هستند، زودتر وارد فاز زایشی شدند و تحمل سرما خود را از دست دادند. بر اساس نتایج این تحقیق، در بین ارقام گندم تفاوت زیادی از نظر میزان تحمل سرما وجود داشت، میزان تحمل ارقام گندم بسته به مرحله رشدی متفاوت بود و به مرور زمان و با مساعد شدن هوا و نزدیک شدن به فصل بهار کاهش یافت.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما نشان داد که رقم زمستانه نورستار در تمام تیمارهای دمایی ۳+، ۳-، ۶-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد، به‌ترتیب با مقادیر ۸۸/۷۵، ۸۲/۳۵، ۸۰/۸۵، ۷۶/۸۵ و ۷۸/۳۵ درصد، دارای بیشترین پایداری غشاء بود (جدول ۲). منطبق با نتایج این تحقیق، سیبی و چگینی (Sibi & Chegeni, 2014) در بررسی دماهای مختلف یخزدگی بیان کردند که با افت دما، میزان پایداری غشاء سلولی کاسته و میزان نشت الکترولیت‌ها بیشتر می‌شود؛ به طوری که در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، میزان نشت الکترولیت‌ها به ۲۴/۶ درصد رسید. در تیمار دمایی ۳+ درجه سانتی‌گراد، رقم زمستانه شهریار با ۷۹/۷۵ درصد، پایداری غشاء کم‌تری نسبت به سایر ارقام داشت. در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد رقم بهاره باز با ۷۲/۵۰ درصد، در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد رقم بهاره پارسی با ۶۵/۲۵ درصد، در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد رقم بهاره کویر

با ۴۷/۶۸ درصد و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد رقم بهاره سیوند با ۳۲/۳۵ درصد دارای کم‌ترین پایداری غشاء بودند (جدول ۲). نتایج همچنین نشان دادند که ارقام مورد مطالعه (زمستانه، بینابین و بهاره) در دمای ۳+ درجه سانتی‌گراد دارای بیشترین پایداری غشاء بودند و با افت دما، میزان پایداری غشاء سلول‌های طوقه کاهش یافت؛ به طوری‌که در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، غشاء سلول‌ها دارای کم‌ترین پایداری و بیشترین میزان نشت یونی بود (جدول ۲). بررسی همبستگی تحمل سرما با پایداری غشاء پلاسمایی در مرحله نمونه‌گیری، نشان داد که ارقام مقاوم به سرما (ارقام زمستانه و بینابین) از پایداری غشاء بیشتری نسبت به ارقام حساس (ارقام بهاره) برخوردار بودند (جدول ۸). در همین ارتباط، عیوضی و همکاران (Eivazi *et al*., 2011) در تحقیقی روی ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش سرما، گزارش کردند که بیشترین و کم‌ترین میزان نشت یونی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های با تیپ رشد بهاره و بینابین می‌باشد. آسیب کم‌تر غشایی در برخی گیاهان نسبت به سایرین می‌تواند مربوط به فعالیت سازوکار تحمل سرما باشد که با فعالیت‌های اکسیداسیونی و خصوصیات و ترکیب غشاهای سلولی در ارتباط است (Nazari *et al*., 2012).

در تیمارهای دمایی اعمال شده، رقم زمستانه نورستار نسبت به سایر ارقام، بیشترین کاهش را در میزان پتانسیل اسمزی سلول‌های طوقه داشت (جدول ۳). کم‌ترین کاهش مقدار این صفت در دمای ۳+ درجه سانتی‌گراد، مربوط به رقم بهاره پارسی، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم زمستانه شهریار و در تیمارهای دمایی ۶-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهاره پیشتاز بود (جدول ۳). بررسی تغییرات میزان پتانسیل اسمزی در تیمارهای دمایی اعمال شده، روند ثابت و مشخصی را نشان نداد، اما بیشتر ارقام در محدوده دمایی ۳- تا ۶- درجه سانتی‌گراد، مقدار پتانسیل اسمزی خود را کاهش دادند. با کاهش دما از ۹- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد در ارقام مورد بررسی، افزایش در مقدار پتانسیل اسمزی مشاهده شد (جدول ۳). افزایش غلظت مواد محلول درون سلول و کاهش محتوی آب، منجر به منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی سلول و پایین‌تر رفتن نقطه انجماد مایع درون سلولی و افزایش مقاومت در برابر سرما می‌گردد (Siosemardeh *et al*., 2010). افزایش تحمل گیاهان نسبت به تنش دمای پایین با تجمع محافظت‌کننده‌های اسمزی و کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌ها توسط سایر محققان نیز گزارش شده است (Quick, 1989). در این تحقیق، بین تحمل سرما و پتانسیل اسمزی همبستگی منفی و معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۸). به عبارت دیگر، ارقامی که کاهش بیشتری در میزان پتانسیل اسمزی سلول‌های طوقه داشتند، از تحمل سرمای بیشتری برخوردار بودند. همچنین رابطه بین صفت پتانسیل اسمزی با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پایداری غشاء، به صورت منفی و معنی‌دار بود (جدول ۸). به عبارت دیگر، ارقامی که میزان پتانسیل اسمزی در سلول‌های طوقه آن‌ها

بیشتر کاهش پیدا کرده بود، از نظر سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای پروتئین‌های محلول و همچنین پایداری غشاء، در جایگاه بهتری قرار داشتند.

جدول ۱- فنولوژی و شاخص LT_{50} ارقام مورد مطالعه گندم نان در مرحله نمونه‌برداری

Table 1. Phenology and LT_{50} of the studied bread wheat cultivars on sampeling stage

ارقام Cultivars	تیپ رشدی Growth type	فنولوژی Phenology	شاخص زنده‌مانی LT_{50}
Norstar	زمستانه	Vg	-14 ± 1.15
Zarin	زمستانه	-SR	-8 ± 0.58
Pishgam	بینابین	SR	-5 ± 0.14
Orum	بینابین	SR	-11.5 ± 0.43
Sivand	بهاره	-DR	-7 ± 0.72
Alvand	بینابین	+SR	-7.5 ± 0.43
Shahryar	زمستانه	-DR	-5 ± 0.43
Bahar	بهاره	-DR	-4.5 ± 0.14
Parsi	بهاره	DR	-4 ± 0.14
Baz	بهاره	DR	-3 ± 0.00
Kavir	بهاره	DR	-4.5 ± 0.43
Pishtaz	بهاره	-DR	-5 ± 0.58

Vg: رشد رویشی، SR-: انتهای رشد رویشی، SR: برجستگی ساده، SR+: انتهای برجستگی ساده، DR-: شروع برجستگی دوگانه ، DR: برجستگی دوگانه.

Vg: Vegetative stage, -SR: Late vegetative stage, SR: Single ridge, +SR: Post single ridge, -DR: Start double ridge, DR: Ridge double.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما نشان داد که در تیمارهای دمایی ۳+ و ۳- درجه سانتی‌گراد، رقم زمستانه زرین، در دماهای ۶- و ۹- درجه سانتی‌گراد، رقم زمستانه نورستار و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، رقم زمستانه شهریار دارای بیشترین سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز طوقه بودند. نتایج تحقیقات انجام شده نشان‌دهنده این است که ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس به تنش سرما، دارای

فعالیت بالاتر آنزیم پراکسیداز هستند که باعث تجزیه بیشتر پراکسیدهیدروژن و کاهش خسارت‌های ناشی از انباشته شدن آن می‌شود (Scalet *et al.*, 1995). کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز طوقه در دماهای ۳-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهاره باز، در دمای ۳+ درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم زمستانه شهریار و در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهار بود (جدول ۴). طبق نتایج به دست آمده از این آزمایش، روند ثابتی برای فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای دمایی اعمال شده مشاهده نشد. فعالیت آنزیم پراکسیداز در طوقه ارقام مورد بررسی با کاهش دما از ۳+ تا ۶- درجه سانتی‌گراد به صورت نامنظم بود. اما با افت دما از ۶- تا ۱۲- درجه سانتی‌گراد، افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام زمستانه و بینابین زرین، پیشگام، اروم و شهریار و ارقام بهاره سیوند، بهار و کویر مشاهده گردید (جدول ۴). در همین ارتباط، نژادصادقی و همکاران (Nedjadsadeghi *et al.*, 2014) طی بررسی خود اظهار کردند که تحت تنش سرما، به موازات کاهش شاخص‌های خسارت، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به خصوص در گیاهان سازگار شده افزایش یافت؛ به طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌ها در رقم نورستار بیشتر و در ژنوتیپ SRN کمتر بود.

بررسی سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نشان داد که بیشترین سرعت فعالیت این آنزیم در تیمارهای دمایی ۳+، ۶- و ۹- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم زمستانه نورستار و در دماهای ۳- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بینابین پیشگام بود (جدول ۵). کم‌ترین سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در دمای ۳+ درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهار، در دماهای ۳- و ۹- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهاره باز، در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم زمستانه شهریار و رقم بهاره سیوند و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم بهاره کویر بود. نتایج به دست آمده از این آزمایش، بیانگر این بود که با کاهش دما از ۳+ به ۳- درجه سانتی‌گراد، سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در بعضی از ارقام به صورت افزایشی و در بعضی از ارقام به صورت کاهشی بود. اما با کاهش دما از ۳- به ۶- درجه سانتی‌گراد، افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در همه ارقام به جز رقم زمستانه زرین و شهریار و رقم بهاره سیوند مشاهده شد. در ادامه با کاهش دما از ۶- به ۹- درجه سانتی‌گراد در ارقام مورد بررسی، میزان فعالیت آنزیم باز هم افزایش یافت. البته در رقم بینابین الوند و ارقام بهاره باز و کویر کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد. همچنین کاهش دما از ۹- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد باعث کاهش سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در همه ارقام شد (جدول ۵). در همین ارتباط، حبیبی و همکاران (Habibi *et al.*, 2004)، گلعین و همکاران (Golein *et al.*, 2013) و امینی و حداد (Amini & Haddad, 2013) در بررسی نحوه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ترتیب در گیاهان

آفتابگردان، مرکبات و جو نشان دادند که در اثر تنش سرما فعالیت سوپراکسیددیسموتاز افزایش می‌یابد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر پایداری غشاء ارقام گندم نان

Table 2. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on cell membrane stability of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	پایداری غشاء (درصد) Cell membrane stability (%)				
	+3	-3	-6	-9	-12
Norstar	88.75 a	82.35 a-f	80.85 a-g	76.85 b-i	78.35 a-i
Zarin	85.90 ab	79.20 a-i	74.60 b-l	64.40 l-o	64.85 k-o
Pishgam	83.90 a-e	81.40 a-g	79.20 a-i	72.35 e-l	57.70 n-q
Orum	81.70 a-f	76.35 b-j	73.75 c-l	68.25 h-n	58.75 m-p
Sivand	82.73 a-f	73.75 c-l	65.50 j-o	55.35 o-q	32.35 s
Alvand	84.00 a-d	79.15 a-i	71.85 f-l	68.20 i-n	50.35 p-r
Shahryar	79.75 a-h	77.70 a-i	75.99 b-k	65.50 j-o	55.40 o-q
Bahar	84.60 a-c	82.00 a-f	76.95 b-i	70.03 g-l	40.70 rs
Parsi	83.70 a-e	75.20 b-l	65.25 j-o	50.25 p-r	35.50 s
Baz	82.60 a-f	72.50 d-l	65.47 j-o	56.36 o-q	47.86 qr
Kavir	81.73 a-f	76.49 b-j	69.31 h-m	47.68 qr	33.73 s
Pishtaz	85.73 ab	77.34 a-i	71.23 f-l	57.23 n-q	30.88 s
میانگین Mean	83.76 a	77.79 a	72.50 c	62.70 d	48.87 e

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بیانگر این بود که در تیمار ۳- درجه سانتی‌گراد، رقم زمستانه اروم و در سایر دماها (۳+، ۶-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد) رقم زمستانه و مقاوم به سرما نورستار دارای بیشترین سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز بودند؛ در حالی که کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای دمایی ۳+، ۶- درجه سانتی‌گراد، مربوط به رقم بهاره باز و در دماهای ۳-، ۹- و ۱۲- درجه سانتی گراد مربوط به رقم بهار بود (جدول ۶). نتایج به دست آمده از روند فعالیت این آنزیم نشان داد که با کاهش دما از ۳+ به ۶- درجه سانتی‌گراد، سرعت فعالیت این آنزیم در ارقام مورد مطالعه افزایش یافت و در ادامه با افت دما از ۶- به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، کاهش سرعت فعالیت آنزیم مشاهده شد (جدول ۶). انجم و همکاران (Anjum *et al.*, 2010) نیز افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش

سرما را گزارش نمودند. در دماهای زیر صفر، افزایش فعالیت سازوکارهای تخریب پروتئینی از یک طرف و کاهش فعالیت سازوکارهای سنتز پروتئینی از طرف دیگر، سبب روند رو به کاهش فعالیت آنزیم می‌شود اما در گیاهان سازگار شده به علت ایجاد تطابق نسبی و موقتی، این وضعیت محسوس نبوده اما در عوض در گیاهان سازگار نشده تغییرات فعالیت آنزیمی شدید می‌باشد (Kazemi Shahandashti *et al*., 2013).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر پتانسیل اسمزی ارقام گندم نان

Table 3. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on osmotic adjustment of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	پتانسیل اسمزی (بار) Osmotic adjustment (bar)				
	+3	-3	-6	-9	-12
Norstar	-0.338 a	-0.257 b-e	-0.274 bc	-0.279 b	-0.264 b-d
Zarin	-0.245 d-g	-0.230 f-m	-0.241 d-i	-0.244 d-h	-0.216 i-r
Pishgam	-0.210 j-t	-0.206 k-t	-0.228 f-n	-0.236 e-j	-0.230 f-l
Orum	-0.216 i-r	-0.223 g-p	-0.243 d-h	-0.231 e-k	-0.216 i-r
Sivand	-0.202 n-t	-0.194 q-u	-0.199 o-t	-0.191 r-u	-0.191 q-u
Alvand	-0.208 k-t	-0.252 c-f	-0.226 g-p	-0.226 f-o	-0.208 k-t
Shahryar	-0.245 d-g	-0.188 s-u	-0.216 i-r	-0.212 j-t	-0.203 m-t
Bahar	-0.199 p-t	-0.205 k-t	-0.205 k-t	-0.199 p-t	-0.195 q-u
Parsi	-0.191 r-u	-0.218 h-q	-0.202 n-t	-0.204 k-t	-0.193 q-u
Baz	-0.214 j-t	-0.206 k-t	-0.218 h-q	-0.214 j-t	-0.197 p-t
Kavir	-0.192 q-u	-0.192 q-u	-0.196 p-u	-0.188 r-u	-0.199 p-t
Pishtaz	-0.214 j-s	-0.203 l-t	-0.190 r-u	-0.187 tu	-0.171 u
میانگین Mean	-0.223 a	-0.214 b	-0.220 ab	-0.217 ab	-0.207 c

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

در بررسی همبستگی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در آزمایشگاه با شاخص LT_{50}، نتایج نشان داد که بین تحمل سرما با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) و پایداری غشاء همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۸). به عبارت دیگر در ارقام مقاوم به سرما، سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در سلول‌های طوقه‌ی آن‌ها نسبت به ارقام حساس بیشتر بود.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ارقام گندم نان

Table 4. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on peroxidase activity of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase activity (U g^{-1} mg^{-1} Sol.Protein)				
	+3	-3	-6	-9	-12
Norstar	41.62 a-c	35.13 c-g	38.94 a-d	44.94 a	38.69 a-d
Zarin	42.02 ab	36.67 b-e	33.70 d-i	35.90 b-f	35.40 c-g
Pishgam	36.00 b-f	32.79 d-j	29.18 f-n	34.93 d-h	34.27 d-h
Orum	25.48 k-r	27.33 i-q	27.29 i-q	30.98 e-l	34.32 d-h
Sivand	32.36 d-j	23.10 n-t	21.29 p-t	22.77 n-t	22.63 n-t
Alvand	31.31 e-k	28.79 g-o	31.28 e-k	34.45 d-h	28.16 h-p
Shahryar	17.71 st	30.17 e-m	29.26 f-n	34.05 d-i	41.54 a-c
Bahar	24.37 l-s	25.39 k-r	18.36 st	19.62 r-t	24.16 m-s
Parsi	22.90 n-t	23.75 m-t	23.40 m-t	18.21 st	22.76 n-t
Baz	25.52 k-r	21.27 p-t	20.36 q-t	17.01 t	22.10 o-t
Kavir	25.55 k-r	23.64 m-t	19.61 r-t	21.12 q-t	28.79 g-o
Pishtaz	21.27 p-t	23.62 m-t	26.03 j-r	21.19 q-t	23.82 m-t
میانگین Mean	28.84 ab	27.64 bc	26.56 c	27.93 bc	29.72 a

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما نشان داد که در تیمار دمایی ۳+ درجه سانتی‌گراد رقم نورستار، در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد رقم پیشگام، در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد ارقام زمستانه شهریار و نورستار، در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد رقم زمستانه‌ی نورستار و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد رقم سیوند دارای بیشترین محتوی پروتئین‌های محلول بودند (جدول ۷)؛ در حالی که کم‌ترین محتوی پروتئین‌های محلول در تیمارهای دمایی ۳+، ۳- و ۱۲- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم پارسی، در دمای ۶- درجه سانتی‌گراد مربوط به رقم پیشتاز و در دمای ۹- درجه سانتی‌گراد مربوط به ارقام پارسی، شهریار و پیشتاز بود (جدول ۷). بر اساس نتایج می‌توان دریافت که با کاهش دما از ۳+ به ۱۲- درجه سانتی‌گراد، محتوی پروتئین‌های محلول در ارقام مختلف دارای تغییرات متفاوتی است. افزایش

محتوی پروتئین محلول نیز همانند محتوی قند، یکی از صفات مهم در سازگاری گیاه به تنش سرما است که با افزایش غلظت مواد محلول درون سلول و کاهش محتوی آب، پتانسیل اسمزی سلول منفی‌تر شده و با پایین‌تر رفتن نقطه انجماد، مایع درون سلولی سبب کاهش خسارت سرما و یخزدگی بافت‌های گیاهی می‌گردد (Siosemardeh *et al*., 2010; Vitamvas *et al*., 2007).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ارقام گندم نان

Table 5. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on superoxide dismutase activity of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase activity (U g^{-1} mg^{-1} Sol.Protein)				
	+3	-3	-6	-9	-12
Norstar	124 a	105 b-i	123 ab	124 a	111 a-g
Zarin	121 a-c	96.59 d-m	94.79 e-o	111 a-h	92.87 g-r
Pishgam	98.54 d-k	107 a-i	113 a-f	113 a-e	112 a-f
Orum	93.58 g-q	75.51 o-w	96.35 d-m	105 b-i	82.50 j-u
Sivand	66.29 u-w	94.98 e-n	59.07 w	88.75 i-t	69.93 t-w
Alvand	111 a-h	104 c-i	115 a-d	105 b-i	100 d-j
Shahryar	73.80 r-w	79.11 l-v	59.02 w	110 a-h	97.18 d-l
Bahar	61.04 vw	67.25 u-w	76.33 n-w	92.11 h-r	75.32 p-w
Parsi	70.26 t-w	75.62 o-w	78.77 l-v	94.38 f-p	72.34 s-w
Baz	79.85 k-v	60.95 vw	82.69 j-u	76.01 n-w	70.51 t-w
Kavir	74.52 q-w	78.67 l-v	83.91 j-u	77.83 m-w	58.85 w
Pishtaz	68.78 u-w	66.96 u-w	76.08 n-w	90.25 i-s	78.03 l-w
میانگین Mean	86.96 b	84.36 b	88.29 b	99.19 a	85.17 b

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر فعالیت آنزیم کاتالاز ارقام گندم نان

Table 6. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on catalase ativity of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase ativity (U g^{-1} mg^{-1} Sol.Protein)				
	+3	-3	-6	-9	-12

Norstar	146 cd	172 b	195 a	150 c	110 g-m
Zarin	112 f-l	143 cd	181 ab	133 c-f	100 i-o
Pishgam	72.51 r-x	106 h-n	113 f-l	88.72 m-u	67.02 u-z
Orum	128 d-g	173 b	185 ab	112 f-l	91.03 l-t
Sivand	64.73 v-z	95.49 i-q	108 g-n	75.26 q-w	46.67 z
Alvand	79.39 o-w	116 f-j	139 cd	117 e-i	87.16 n-u
Shahryar	72.79 r-x	137 c-e	151 c	116 e-j	79.05 o-w
Bahar	52.48 x-z	66.75 u-z	100 i-o	69.44 t-z	38.00 z
Parsi	71.43 s-y	77.56 p-w	113 f-k	98.12 i-p	57.95 w-z
Baz	38.21 z	79.30 o-w	82.19 o-v	71.86 s-y	44.05 z
Kavir	57.26 w-z	91.09 k-s	106 h-n	88.59 m-u	50.46 y-z
Pishtaz	66.56 u-z	89.00 m-u	125 d-h	94.67 j-r	48.98 z
میانگین Mean	80.18 d	112 b	133 a	101 c	68.47 e

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان کرد که متوسط تحمل سرمای ارقام گندم مورد بررسی در موقع خوگرفتن به سرما (LT_{50})، برابر با ۶/۵- بود. ارقام زمستانه و بینابین نسبت به ارقام بهاره از مقاومت به سرمای بیشتری برخوردار بودند. توسعه مریستم انتهایی ساقه و گذار از فاز رویشی به زایشی در ارقام بهاره سریع‌تر محقق گردید؛ به طوری‌که در زمان نمونه‌برداری ارقام بهاره در مرحله برجستگی دوگانه و ارقام زمستانه و بینابین در مرحله رشد رویشی و برجستگی ساده قرار داشتند. در این مرحله متوسط LT_{50} برای ارقام بهاره ۴/۷- و برای ارقام زمستانه و بینابین ۸/۵- بود. میزان پایداری غشاء و سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سلول‌های طوقه در ارقام زمستانه و بینابین نسبت به ارقام بهاره بیشتر بود. همبستگی بین صفات فیزیولوژیک مانند پایداری غشاء و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با تحمل سرما به صورت مثبت و معنی‌دار بود. همچنین بین تحمل سرما با پتانسیل اسمزی، رابطه منفی و معنی‌دار مشاهده شد، به این معنی که در ارقام مقاوم به سرما میزان کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های طوقه آن‌ها بیشتر بود. بر اساس نتایج نیز کاهش پتانسیل اسمزی در ارقام زمستانه و بینابین نسبت به ارقام بهاره بیشتر بود؛ به طوری‌که ارقام نورستار و زرین، بیشترین کاهش را در مقدار پتانسیل اسمزی سلول‌های

طوقه داشتند. بررسی تغییرات میزان پتانسیل اسمزی در تیمارهای دمایی اعمال شده، روند ثابت و مشخصی را نشان نداد. به طور کلی، ارقام نورستار، اروم، زرین و الوند نسبت به سایر ارقام از نظر صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل سرما، در جایگاه برتری قرار داشتند. در این بررسی، رقم زمستانه نورستار با LT_{50}= -۱۴ و رقم اروم با LT_{50} = -۱۱/۵ به عنوان مقاوم‌ترین ارقام به سرما تعیین شدند.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × دما بر پروتئین‌های محلول ارقام گندم نان

Table 7. Mean comparison of cultivar × temperature interaction effect on soluble proteins of bread wheat cultivars

ارقام Cultivars	پروتئین‌های محلول Soluble proteins (mg/dl)				
	+3	-3	-6	-9	-12
Norstar	8.70 a-c	8.70 a-c	8.63 a-d	8.89 ab	8.09 a-f
Zarin	6.29 b-l	7.60 a-h	6.93 a-k	6.18 c-l	8.04 a-f
Pishgam	6.93 a-k	9.17 a	7.90 a-g	8.19 a-e	7.73 a-h
Orum	8.35 a-e	8.91 ab	8.25 a-e	6.92 a-k	8.40 a-e
Sivand	5.23 h-l	5.35 g-l	6.83 a-k	6.08 c-l	8.83 ab
Alvand	6.45 b-k	7.82 a-h	6.68 a-k	6.79 a-k	7.17 a-j
Shahryar	8.05 a-f	7.22 a-j	8.64 a-d	5.34 g-l	6.80 a-k
Bahar	6.50 b-k	4.53 k-l	6.51 b-k	6.00 d-l	6.79 a-k
Parsi	4.69 j-l	3.79 l	6.94 a-k	5.30 g-l	5.47 f-l
Baz	5.29 g-l	7.56 a-i	5.92 e-l	6.98 a-k	8.06 a-f
Kavir	5.20 h-l	7.11 a-k	7.02 a-k	5.96 e-l	6.71 a-k
Pishtaz	7.32 a-j	5.41 g-l	4.96 i-l	5.36 g-l	6.82 a-k
میانگین Mean	6.58 b	6.93 ab	7.10 ab	6.50 b	7.41 a

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌دار با هم ندارند.

Means followed by the same letters are not significantly different by Duncan's test at 5% probability level.

جدول ۸- همبستگی بین صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی با مقاومت به سرما

Table 8. Correlation coefficients among physiological and biochemical traits with cold tolerance

صفات Traits	فعالیت آنزیم پراکسیداز Peroxidase	فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز	فعالیت آنزیم کاتالاز Catalase	پروتئین‌های محلول Soluble	پایداری غشاء Cell membrane stability	پتانسیل اسمزی Osmotic	شاخص زنده‌مانی Lethal

	activity (POD)	Superoxide dismutase activity (SOD)	ativity (CAT)	proteins (SP)	(CMS)	adjustment (OA)	temperature for 50% of plant (LT_{50})
POD	1						
SOD	0.856 **	1					
CAT	0.754 **	0.751 **	1				
SP	0.713 **	0.752 **	0.722 **	1			
CMS	0.945 **	0.850 **	0.737 **	0.811 **	1		
OA	-0.830 **	-0.857 **	-0.836 **	-0.788 **	-0.879 **	1	
LT_{50}	0.671 *	0.670 *	0.883 **	0.729 **	0.675 *	-0.814 **	1

* و ** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

References

Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany, 53 (372), 1331-1341. https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331

Amini, Z., & Haddad, R. 2013. Role of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. Journal of Cellular and Molecular Research, 26 (3), 251-265. [In Persian]. DOI: https://doi.org/20.1001.1.23832738.1392.26.3.2.7

Anjum, N. A., Chan, M-T., & Umar, S. 2010. Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants. Springer, Dordrecht Heidelberg. 443 p. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9404-9

Azizi, H., Nezami, A., Nassiri Mahallati, M., & Khazaie, H. R. 2007. Evaluation of cold tolerance in wheat (Triticum aestivum L.) cultivars under controlled conditions. Iranian Journal of Field Crops Research, 5 (1), 109-120. [In Persian]. DOI: https://doi.org/10.22067/gsc.v5i1.902

Beauchamp, C., & Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay predictable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44, 276-287. http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Chance, B., & Maehly, A. C. 1995. Assay of catalase and peroxidase. In: Culowic, S. P. & Kaplan, N. O. (eds.), Methods in enzymology. Vol. 2. Academic Press. Inc. New York, pp. 764-765.

Eivazi, A., Javani, M., & Rezaei, M. 2011. Effect of planting date on cold tolerance of winter, spring and facultative growth types of wheat genotypes. Journal of Crop Production and Processing, 1 (2), 1-18. [In Persian]. DOI: https://doi.org/20.1001.1.22518517.1390.1.2.1.6

Fowler, D. B. 1982. Date of seedling, fall growth and winter survival of winter wheat and rye. Agronomy Journal, 74 (6), 1060-1063. https://doi.org/10.2134/agronj1982.00021962007400060030x

Fowler, D. B., Chauvin, L. P., Limin, A. E., & Sarhan, F. 1996. The regulatory role of vernalization in the expression of low-temperature-induced genes in wheat and rye. Theoretical and Applied Genetics, 93, 554-559. https://doi.org/10.1007/BF00417947

Fowler, D. B., Limin, A. E., & Ritchie, J. T. 1999. Low-temperature tolerance in cereals: Model and genetic interpretation. Crop Science, 39 (3), 626-633. https://doi.org/10.2135/cropsci1999.0011183X003900020002x

Fujita, M., Kawada, N., & Tahir, M. 1992. Relationship between cold resistance, heading traits and ear primordia of wheat cultivars. Euphytica, 64 (1-2), 123-130. https://doi.org/10.1007/bf00023545

Golein, B., Mohammadian Afshar, M., & Mobrami, Z. 2013. Investigation of superoxide dismutase (SOD) enzyme activity, β-carotene, total phenol and antioxidant capacity in fruit peel of five citrus cultivars under low temperature. Journal of Crop Production and Processing, 3 (8), 177-189. [In Persian]. DOI: https://doi.org/20.1001.1.22518517.1392.3.8.16.7

Habibi, D., Boojar, M. M. A., Mohmoudi, A., Ardakani, M. R., & Taleghani, D. 2004. Antioxidant enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress. 26 Sep-1 Oct 2004, Brisbane, Australia.

Habibi, G., Servation, N., & Abedini, M. 2017. Photoprotection mechanisms in wheat plants under high light and cold temperature conditions. Iranian Journal of Biology, 31, 59-72. [In Persian]. DOI: https://doi.org/10.22108/IJPB.2017.21566

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J., Fujita, M., & Fotopoulos, V. 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants, 9 (8), 681. https://doi.org/10.3390/antiox9080681

Hassan, M. A., Xiang, C., Farooq, M., Muhammad, N., Yan, Z., Hui, X., Yuanyuan, K., Bruno, A.K., Lele, Z., & Jincai, L. 2021. Cold stress in wheat: plant acclimation responses and management strategies. Frontiers in Plant Science, 12, 1-15. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.676884

Heidarvand, L., & Maali Amiri, R. 2010. What happens in plant molecular responses to cold stress? Acta Physiology of Plantarum, 32, 419-431. https://doi.org/10.1007/s11738-009-0451-8

Igrejas, G., Ikeda T. M., & Guzmán C. 2020. Wheat quality for improving processing and human health (1st ed.). Springer International Publishing.

Janardhan, K. V., Murthy, A. S. P., Giriraj, K., & Panchaksharaiah, S. 1975. A rapid method for determination of osmotic potential of plant cell sap. Current Science, 44 (11), 390-391.

Kazemi Shahandashti, S., Maali Amiri, R., & Zeinali Khaneghah, H. 2012. Evaluation of some cell damage indexes for low temperature stress in Jam chickpea. Modern Genetic Journal, 6 (4), 70-77. [In Persian]. DOI: https://doi.org/20.1001.1.20084439.1390.6.4.9.3

Limin, A. E., & Fowler, D. B. 1988. Cold hardiness expression in interspecific hybrids and amphidiploids of the Triticeae. Genome, 30 (3), 361-365. https://doi.org/10.1139/g88-063

Mahfoozi, S., Limin., A. E., Tlayes, P. M., Hucl, P., & Fowler, D. B. 2000. Influence of photoperiod response in the expression of cold hardiness in wheat and barley. Canadian Journal of Plant Science, 80 (4), 721-724. https://doi.org/10.4141/P00-031

Mahfoozi, S., Roustaii, M., & Ansari Maleki, Y. 2005. Determination of low-temperature tolerance in some bread wheat, durum wheat and barley genotypes. Seed Plant Improvement Journal, 21 (3), 467-483. [In Persian].

Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7, 405-410. http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9

Nedjadsadeghi, L., Maali Amiri, R., Zeynali Kkanghah, H., Sadeghzadeh, B., & Ramezanpour, S. S. 2014. Evaluation of some cold-induced responses in bread and durum wheat plants. Modern Genetic Journal, 9 (3), 353-362. [In Persian]. DOI: https://doi.org/20.1001.1.20084439.1393.9.3.10.3

Ouellet, F. 2007. Cold acclimation and freezing tolerance in plants. Encyclopedia of Life Sciences, 53, 67-78. https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0020093.pub2

Quick. P., Siegl, G., Neuhaus, E., Feil, R., & Stii, M. 1989. Short term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose phosphate synthase. Planta, 177, 535-546. https://doi.org/10.1007/BF00392622

Ramachandra Reddy, A., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P., & Sumithra, K. 2004. Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (Morus alba L.) cultivars. Environmental and Experimental Botany, 52 (1), 33-42. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.01.002

Scalet, M., Federice, R., Guido, M. C., & Manes, F. 1995. Peroxidase activity and polyamine changes in response to ozon and simulated acid rain in Aleppo pine needles. Environmental and Experimental Botany, 35, 417-425. https://doi.org/10.1016/0098-8472(95)00001-3

Sibi, M., & Chegeni, H. 2014. Evaluation of freezing tension tolerance in wheat (Triticum aestivum L.) Sayonz cultivar at 4 to 6 leaf stage, under controlled conditions. Crop Physiology Journal, 5 (4), 53-39. [In Persian]. http://cpj.iauahvaz.ac.ir/article-1-188-en.html

Sinha, A. K. 1972. Colorimetric assay of catalase. Analytical Biochemistry, 47 (2), 389-394. https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7

Siosemardeh, A., Mohammadi, Kh., Roohi, E. Aghaalikhani, M., & Mokhtasi Bidgoli, A. 2010. Physiological responses of different wheat genotypes to cold stress. Journal of Crop Production, 2 (4), 93-112. [In Persian].

Sullivan C. Y. 1972. Mechanism of heat and drought resistance in grain sorghum and method of measurement. In: Rao, N. G. P., & House, L. R. (eds.), Sorghum in the seventies, Oxford and IBH publ Co., New Dlhi, India, pp. 247-264.