بررسی مقاومت گندم به سرما با روش‌های آزمایشگاهی

اصغر میرزائی اصل[۱]، بهمن یزدی صمدی[۲]، عباسعلی زالی[۲] و سید یعقوب صادقیان مطهر[۳]

چکیده

به منظور بررسی روش‌های ارزیابی مقاومت به سرما وتعیین روشی سریع و مؤثر در ارزیابی گندم برای مقاومت به سرما ، ۹ ژنوتیپ در سه آزمایش بررسی گردید. ژنوتیپ‌ها عبارت بودند از پنج رقم تجارتی (بزوستایا، سبلان ، بولانی ، خلیج و ناز) و چهار نمونه محلی (شماره‌های ۵۱۸، ۵۸۳، ۵۹۲ و ۱۲۵۵). در آزمایش اول ، ژنوتیپ‌ها در گلدان‌های کوچک کشت ، وپس از عادت‌دهی به سرما در شرایط طبیعی ، به اتاقک انجماد منتقل شدند، وتحت درجات حرارت مختلف یخ‌زدگی (زیر صفر) قرار گرفتند و دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT50) آنها تعیین گردید. در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد نیز میزان پایداری غشای سیتوپلاسمی ژنوتیپ‌ها اندازه‌گیری شد. در آزمایش دوم ، ژنوتیپ‌ها در مزرعه ، در چارچوب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کشت شدند، و پس از سازش با سرما در اواخر زمستان ، با انتقال طوقه ژنوتیپ‌ها از مزرعه به آزمایشگاه ، دمای ۵۰ درصد کشندگی (LT50) تعیین گردید. هم‌چنین ، محتوای آب طوقه و برگ ، محتوای قند طوقه و ارتفاع گیاه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی اندازه‌گیری شد. در آزمایش سوم ، محتوای آب طوقه و برگ در شرایط ناسازگاری با سرما در گلخانه بررسی گردید.

در میان صفات مورد بررسی ، پایداری غشای سیتوپلاسمی ، محتوای آب طوقه و محتوای قند طوقه هم‌بستگی معنی‌داری با LT50 نشان دادند. LT50 حاصل از طوقه‌های مزرعه هم‌بستگی زیادی با LT50 حاصل از گلدان‌های کوچک در آزمایشگاه داشت (r = ۰/۹۸). پایداری غشای سیتوپلاسمی بیشترین هم‌بستگی را با LT50 (r = ۰/۸۸) نشان داد. مشخص شد که محتوای آب گیاه با عادت‌دهی به سرما کاهش می‌یابد ، و میزان کاهش محتوای آب در ژنوتیپ‌های مقاوم بیشتر است. هم‌بستگی معنی‌داری بین محتوای آب طوقه و برگ در شرایط ناسازگاری با سرما و LT50 دیده نشد. رقم بزوستایا با داشتن LT50 = -۱۶/۷ °C مقاوم‌ترین ژنوتیپ ، و نمونه ۵۱۸ با LT50 = -۸/۲°C حساس‌ترین ژنوتیپ به سرما شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: *مقاومت به سرما، گندم نان ، دمای ۵۰٪ کشندگی (LT50) پایداری غشای سیتوپلاسمی*

---

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۲. استاد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

۳. پژوهشیار اصلاح نباتات، مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، کرج

مقدمه

توانایی گیاه برای زنده ماندن در زمستان‌های سخت را مقاومت زمستانه گویند. این صفت از طریق اندازه‌گیری ماندگاری در مزرعه تعیین می‌شود (٦). یکی از مشکلات اصلی در مزرعه ناتوانی در کنترل شدت تنش سرما می‌باشد. به همین دلیل ، تلفات کامل در زمستان یا فقدان تلفات ، در بیشتر آزمایش‌های ماندگاری درمزرعه وجود دارد، که مانع از نتیجه‌گیری می‌شود . از این رو ، پژوهشگر باید در انتظار زمستانی با حساسیت مطلوب باشد، و یا مواد اصلاحی را در سطح گسترده‌ای ارزیابی کند، به امید این که تنش مورد نظر را در یک یا چند مکان به دست آورد . افزون بر آن ، در شدت تنش سرما در آزمایش‌های مزرعه ای هم روندی وجود ندارد، و اغلب اشتباه آزمایشی زیاد است (٤).

پژوهش‌های بسیاری برای یافتن روش‌های ارزیابی سریع و مؤثر انجام شده است تا بتوان مقاومت به سرمای ارقام را پیشگویی نمود (٦). اتاقک‌های انجماد که مقاومت گیاهان را می‌توان در آنها به سرعت آزمایش کرد، نخست به وسیله هاروی درسال ۱۹۱۸ ابداع شد (برگرفته از ۹). وی با انجماد شماری واریته سیب ، خسارت آنها را با توجه به مقاومت یا حساسیت رتبه‌بندی کرد. پژوهشگران سوئدی از این روش استفاده کردند و رتبه عددی از یک تا ده را برای مقاومت به کار بردند. تعیین دمایی که سبب ۵۰ در صد تلفات (LT50 یا Lethal Temperature50) درگیاه شود یک روش مناسب برای اندازه‌گیری مقاومت به سرما است . در این روش گیاهان در شرایط کنترل شده در دماهای مختلف قرار می‌گیرند و ماندگاری آنها تعیین می‌گردد (۹). تعیین LT50 طوقه بهترین روش برآورد ماندگاری در مزرعه می‌باشد، زیرا طوقه گیاه در غلات بحرانی‌ترین قسمت گیاه است و در رشد دوباره پس از تنش سرما نقش حیاتی دارد (۷).

فولر و همکاران (٦) به منظور بررسی روش‌های ارزیابی مقاومت به سرما وتعیین سودمندی آنها ، ۳٤ صفت‌فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مورفولوژیک را در ۳٦ رقم گندم زمستانه اندازه‌گیری نمودند. این ارقام سه سال کشت شدند ودر هر سال صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد. در میان این صفات LT50، محتوای آب طوقه ، محتوای آب برگ ، ارتفاع گیاه ، محتوای فسفر طوقه و محتوای کل قند طوقه همبستگی زیادی با شاخص ماندگاری در مزرعه داشتند.

پولی (۱۰) هدایت الکتریکی برگ گیاه سازش یافته با سرما وخسارت دیده در آزمایش انجماد را با نتایج انجماد ۹ رقم گندم ، ۱۰ رقم چاودار و۱۲ رقم شبدر قرمز (*Trifolium pratense*) در مزرعه مقایسه کرد. در گندم زمستانه و شبدر قرمز هدایت الکتریکی گیاهان سازش یافته همبستگی معنی‌داری با نتایج مزرعه داشت، ولی این رابطه در گیاه چاودار دیده نشد. نتایج نشان داد که هدایت الکتریکی روش مفیدی برای انتخاب ارقام مقاوم در اصلاح گیاهان است .

هومر(۸) توانایی سازش با سرما را در ۱۲ رقم گندم ، ۸ رقم چاودار و ۵ رقم جو از طریق هدایت الکتریکی بررسی نمود، و نتیجه گرفت که روش هدایت الکتریکی می‌تواند برای تعیین ماندگاری زمستانه استفاده شود.

هدف از انجام این پژوهش بررسی روش‌های گوناگون آزمایشگاهی ، برای ارزیابی مقاومت به سرما در گندم ، و تعیین روشی سریع و مؤثر برای این منظور است .

مواد وروش‌ها

تعداد ۹ رقم و رگه گندم شامل پنج رقم تجاری و چهار رگه از کلکسیون دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انتخاب شد، و در سه آزمایش بررسی گردید.

آزمایش اول

برای تعیین LT50 ژنوتیپ‌های مورد بررسی و اندازه‌گیری پایداری غشای سیتوپلاسمی آنها، ده گلدان کوچک برای هر ژنوتیپ در نظر گرفته شد، تا امکان قرار دادن آنها در اتاقک انجماد موجود باشد. درون گلدان‌ها مخلوطی از خاک زراعی و کود دامی به نسبت مساوی ریخته شد، و در هر گلدان ده بذر

کاشته و در گلخانه قرار داده شد. پس از جوانه‌زنی و پیدایش نخستین برگ ، گلدان‌ها در آذرماه به بیرون از گلخانه منتقل گردیدند تا به طور طبیعی به سرما سازش یابند. گلدان‌ها در اسفندماه همان سال به اتاقک انجماد (ازنوع Kottermann آلمانی به ابعاد ۱۱۵×٦٦×٦٦ سانتی‌متر و با دامنه دمای ۲۰ - تا ٦۰+ درجه سانتی‌گراد) منتقل ، و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱ـ۳ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت در دمای ۳- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن هر یک ساعت دو درجه سانتی‌گراد دما کاهش داده شد، و در هر یک از دماهای ٦-، ۸-، ۱۲-، ۱٦- و ۱۷- درجه سانتی‌گراد، از هر ژنوتیپ دو گلدان از داخل اتاقک انجماد خارج شد، و بی‌درنگ گلدان‌های خارج شده در دمای ۱°C- به مدت شش ساعت نگهداری شدند. سپس گلدان‌ها ۱۲ ساعت در دمای ۳ -٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند، و پس از سپری شدن این مدت به گلخانه منتقل گردیدند. پس از دو هفته بوته‌ها ارزیابی شده و بوته‌های زنده مانده در هر گلدان شمارش شدند. با استفاده از رسم نمودار، دمایی که در آن ۵۰ درصد بوته‌های هر ژنوتیپ از بین رفتند(LT50) تعیین گردید.

برای تعیین پایداری غشای سیتوپلاسمی ، از روش اندازه‌گیری تراوش الکترولیتی (Electrolyte leakage) استفاده شد. برای این کار از هر ژنوتیپ در دمای ۱۲ - درجه سانتی‌گراد دو گلدان از اتاقک انجماد خارج شد، و از هر گلدان دو نمونه برای اندازه‌گیری تراوش الکترولیتی مورد استفاده قرار گرفت . برای تهیه هر نمونه ، دو قطعه برگ از بوته‌های هر گلدان جدا و در داخل قوطی‌های پلاستیکی گذاشته شد، و مقدار ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل آن ریخته شد. در ضمن ، یک نمونه شاهد از گندمی که تحت تنش سرما قرار نگرفته بود و در دمای ۳-٤ درجه سانتی‌گراد قرار داشت تهیه شد.

برای تعیین بهترین زمان اندازه‌گیری هدایت الکتریکی، ۱، ۲/۵، ۵/۵، ۱٤/۵ و ۱۸/۵ ساعت پس از تهیه نمونه ، میزان هدایت الکتریکی آنها اندازه‌گیری شد. در طول این مدت نمونه‌ها به طور مرتب در دستگاه تکان دهنده (Shaker) تکان داده شدند. پس از آخرین قرائت هدایت الکتریکی ، نمونه‌ها به داخل انکوباتور منتقل گردیدند و نیم ساعت در دمای ۹۰° C قرار گرفتند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی نهایی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی نمونه‌ها از دستگاه هدایت‌سنج متروم (Metrohm)، استفاده شد و با استفاده از فرمول زیر درصد تراوش الکترولیتی تعیین گردید (۲).

$$EL(\%) = \frac{C_t}{C_{tot}} \times ۱۰۰$$

در این فرمول Ct هدایت الکتریکی در زمان های مختلف، Ctot هدایت الکتریکی نهایی ، و EL درصد تراوش الکترولیتی است .

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تراوش الکترولیتی در چارچوب طرح کرت‌های خرد شده با دو مشاهده انجام شد. عامل اصلی زمان‌های مختلف اندازه‌گیری هدایت الکتریکی ، و عامل فرعی ژنوتیپ بود.

آزمایش دوم

به منظور بررسی انجماد مصنوعی طوقه گیاه و اندازه‌گیری برخی صفات مرتبط با سرما در شرایط سازش با سرما به طور طبیعی، ۹ ژنوتیپ مورد نظر در سال زراعی ۷۸ـ۱۳۷۷ در چارچوب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در مزرعه کشت گردید. هر واحد آزمایشی شامل دو خط دو متری بود، که روی پشته‌هایی با فواصل ۵۰ سانتی‌متر قرار داشتند.

در این آزمایش LT50 طوقه ، محتوای آب طوقه ، محتوای آب برگ، محتوای قند طوقه و ارتفاع (ایستادگی) گیاه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری LT50 در اسفندماه ۵۰ بوته از هر واحد آزمایشی برداشت گردید. سه سانتی‌متر بالای طوقه و یک سانتی‌متر زیر طوقه آنها قطع ، و طوقه‌ها به داخل اتاقک انجماد منتقل شدند، و به مدت شش ساعت در ۳ـ٤ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت در ۳- تا ۱ـ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند . سپس در هر ساعت دو درجه سانتی‌گراد دما کاهش داده شد. دماهای مورد آزمایش ٤ ـ ، ۸ـ ، ۱۱- ،۱۳ـ و ۱۵ـ درجه سانتی‌گراد بود. در هر دما از هر واحد آزمایشی ۱۰ بوته

بیرون آورده شد، و بی‌درنگ به یخچال انتقال یافت ، و مدت شش ساعت در دمای ۱ـ درجه و ۱۲ ساعت در دمای ۳ـ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت . طوقه‌ها پس از این مدت از یخچال خارج شدند. طوقه‌های هر ژنوتیپ مربوط به یک دما و یک تکرار با هم در کاغذ صافی پیچیده و در قوطی‌های پلاستیکی جای داده شدند. مقدار کمی محلول هوگلند (Hoagland) در هر قوطی ریخته شد. پس از یک هفته طوقه‌های زنده رشد یافته بودند. شمار طوقه‌های زنده در هر قوطی پلاستیکی یادداشت شد، و با استفاده از رسم نمودار، دمایی که در آن ۵۰ در صد بوته‌های هر ژنوتیپ از بین رفته بودند (LT50) تعیین گردید(٦).

برای اندازه‌گیری محتوای آب طوقه و برگ در شرایط سازش با سرما ، از هر واحد آزمایشی دو نمونه ، که هر کدام شامل ده بوته بود، برداشت شد. نیم سانتی‌متر از زیر طوقه و سه سانتی‌متر از بالای طوقه هر بوته قطع ، و بلافاصله وزن تر برگ‌ها و طوقه‌های هر نمونه جداگانه توزین گردید. پس از توزین ، نمونه‌ها داخل پاکت‌هایی قرار داده شد و به داخل انکوباتور منتقل گردید، و به مدت ٢٤ ساعت در ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا خشک شوند. سپس وزن خشک طوقه و برگ‌ها با دقت ۰/۰۰۱ g اندازه‌گیری ، و با استفاده از فرمول‌های زیر درصد آب طوقه و برگ تعیین گردید (٦).

$$\text{درصد آب طوقه} = \frac{\text{وزن تر طوقه} - \text{وزن خشک طوقه}}{\text{وزن تر طوقه}} \times ۱۰۰$$

$$\text{درصد آب برگ} = \frac{\text{وزن تر برگ} - \text{وزن خشک برگ}}{\text{وزن تر برگ}} \times ۱۰۰$$

برای اندازه‌گیری قندهای محلول در شرایط سازش با سرما، طوقه‌های گیاهان از مزرعه برداشت شدند، و پس از خشک و آسیاب شدن با روش فنل اسید سولفوریک و با دستگاه اسپکتروفتومتر ، محتوای قندهای محلول طوقه اندازه‌گیری شد (۳). در همان زمان ارتفاع گیاه از زمین نیز تعیین گردید (٦).

آزمایش سوم

برای بررسی آب طوقه و برگ در شرایط ناسازگاری با سرما، بذرهای ۹ ژنوتیپ مورد بررسی در ظروف پتری کشت و پس از جوانه‌زنی به مدت ۵۰ روز در دمای ۱ـ۳ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند تا نیاز آنها به سرما برای بهاره‌سازی (ورنالیزاسیون) تأمین گردد. سپس هر ژنوتیپ در چهار گلدان، و در هر گلدان هشت بذر دارای جوانه کاشته شد، و به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در گلخانه قرار گرفت . پس از این که گیاهچه‌ها به مرحله چهار برگی رسیدند، محتوای آب طوقه و برگ آنها طبق روش ذکر شده در آزمایش دوم اندازه‌گیری شد.

نتایج وبحث

مقادیر LT50 ژنوتیپ‌های مورد بررسی در آزمایش اول [(۱) LT50 اندازه‌گیری شده از گلدان‌های کوچک] و آزمایش دوم [(۲)LT50 اندازه‌گیری شده از طریق طوقه گیاهان منتقل شده از مزرعه] ، در شکل ۱ دیده می‌شود. بزوستایا بیشترین مقاومت به سرما را در میان ژنوتیپ‌ها داشت، و رقم سبلان نیز مقاومت خوبی نشان داد. رگه ۵۸۳ دارای مقاومت متوسط و رگه ۵۱۸ کمترین مقاومت را به سرما داشت .

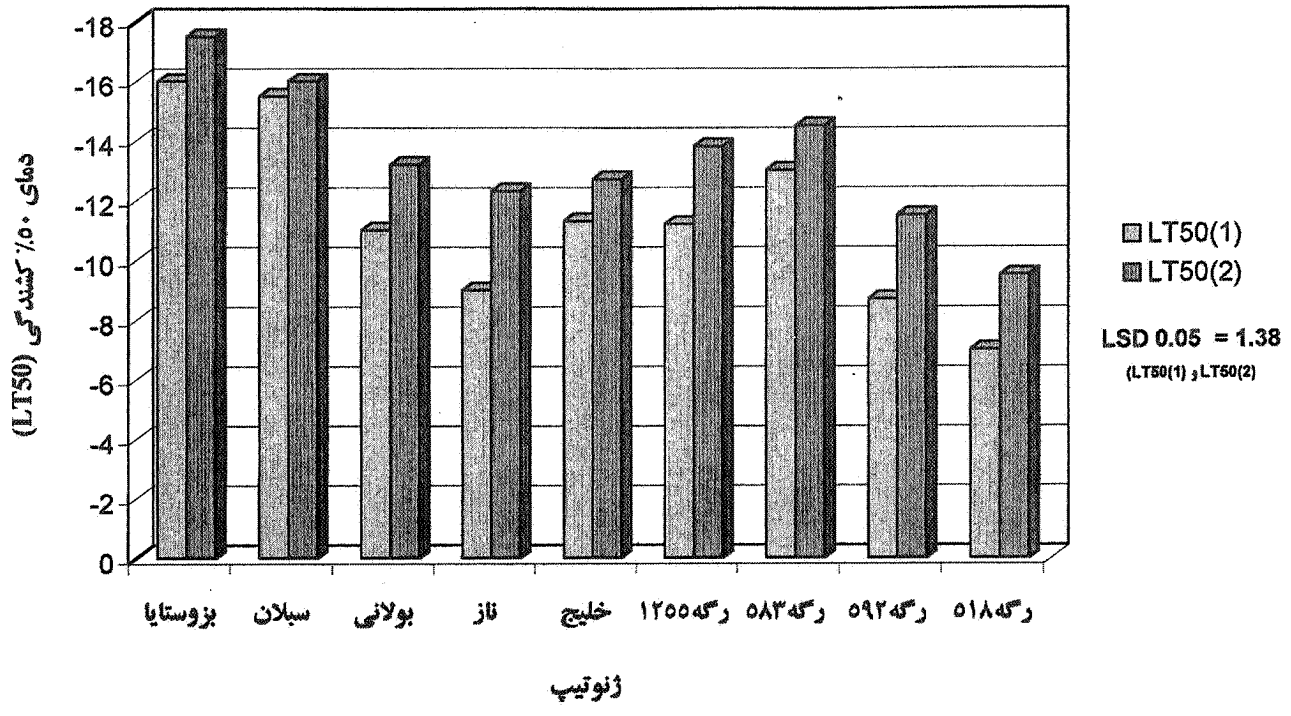
ضریب هم‌بستگی بین (۱) LT50 و (۲) LT50 محاسبه و مشاهده شد که هم‌بستگی شدیدی میان دو LT50 وجود دارد (r=۰/۹۸۰). به منظور مقایسه میانگین‌های LT50 ژنوتیپ‌ها، مقادیر LT50 آزمایش اول به عنوان یک تکرار و مقادیرLT50 آزمایش دوم به عنوان تکرار دیگر، به صورت طرح بلوک با دو تکرار مورد تجزیه آماری قرار گرفت ، که نتیجه آن در جدول ۱ آورده شده است . ژنوتیپ‌ها (تیمارها) تفاوت بسیار معنی‌داری (در سطح ۰/۱ درصد) با هم داشتند. تفاوت میان تکرارها (بلوک‌ها) نیز در سطح ۰/۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌ها در مزرعه مقاومت بیشتری به سرما نسبت به گیاهان در گلدان دارند. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای LT50 انجام شد، که نتایج آن در جدول ۲ آمده است.

نتایج اندازه‌گیری درصد تراوش الکترولیتی در آزمایش اول نشان داد که زمان‌های مختلف اندازه‌گیری درصد هدایت

جدول ۱. خلاصه نتایج تجزیه داده‌های آزمایش‌های ۱، ۲ و ۳

صفت	F بلوک (تکرار)	F تیمار (ژنوتیپ)	CV	شماره آزمایش
قند طوقه	۰/۰۳۳۵^{ns}	٦/۲۲٥**	۲٦/۰۲	۲
LT50	٤۸/۹٦***	۳۸/۰۲***	٤/۹٦	۲ و ۱
آب طوقه در شرایط سازش با سرما	۰/۸۷٦۲^{ns}	٤/۳۳*	۱/۰٤	۲
آب برگ در شرایط سازش با سرما	۲/۷۳۳^{ns}	۷/۹٦**	۰/۷٤	۲
آب طوقه در شرایط ناسازگاری با سرما	٥/۳٤**	۲/٦۲۷**	۱/۳۸	۳
آب برگ در شرایط ناسازگاری با سرما	۱/۷٤۹^{ns}	۲/۱۱۹^{ns}	۱/۷۳	۳
ارتفاع گیاه	۰/۱٦٤۸^{ns}	۳٤/۱٥***	۹/۸٦	۲
تراوش الکترولیتی در زمان چهارم	–	٥/٦۲٤**	۹/۰۱	۱

، * و ns : به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ و غیرمعنی‌دار



شکل ۱. نمایش LT50 ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در آزمایش اول ((LT50(1)) و آزمایش دوم ((LT50(2))

الکتریکی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ دارند. در نتیجه ، فاصله زمانی میان گذاشتن بافت گیاه در داخل آب مقطر تا زمان قرائت هدایت الکتریکی ، بر درصد تراوش الکترولیتی تأثیر می‌گذارد، و باید مدت زمان لازم که بافت گیاه خسارت دیده نیاز دارد تا یون‌های داخل سلول‌های خسارت دیده خود را به بیرون از سلول منتقل نماید، تعیین گردد. تغییرات درصد تراوش الکترولیتی برای میانگین همه ژنوتیپ‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که هدایت الکتریکی با گذشت زمان افزایش می‌یابد، و این افزایش در قرائت‌های اولیه زیاد، ولی با گذشت زمان تغییر هدایت الکتریکی کم شده و به یک حالت ثابتی

نزدیک می‌شود . گروه‌بندی زمان‌های اندازه‌گیری با آزمون دانکن (جدول ۳) نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان زمان چهارم و پنجم وجود ندارد، و مناسب‌ترین زمان برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی تقریباً ۱۵ ساعت پس از قرار دادن نمونه‌های برگی در داخل آب مقطر است .

گروه‌بندی میانگین درصد تراوش الکترولیتی (هدایت الکتریکی) ژنوتیپ‌ها در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری در جدول ٤ آمده است . این جدول گویای آن است که اندازه‌گیری هدایت الکتریکی در زمان اول تفاوت میان ژنوتیپ‌ها را نشان نمی‌دهد. در زمان‌های چهارم و پنجم ، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مشابه هم هستند، و می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت معنی‌داری میان زمان چهارم و پنجم وجود ندارد. شکل ۲ این موضوع را آشکارا نشان می‌دهد.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در زمان چهارم بیانگر این است که ارقام بزوستایا و سبلان با ژنوتیپ‌های دیگر تفاوت چشم‌گیری دارند. این دو رقم دارای کمترین میزان تراوش یون‌های سیتوپلاسمی به خارج سلول هستند، و در نتیجه بیشترین پایداری غشای سیتوپلاسمی را در ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارند. روند تغییر میزان تراوش الکترولیتی در بزوستایا با گذشت زمان مشابه نمونه شاهد می‌باشد، که تحت تنش سرما قرار نگرفته است (جدول ۲) . هم‌بستگی شدید میزان تراوش الکترولیتی با LT50 (جدول ۵) نشان‌دهنده کارایی این روش در ارزیابی مقاومت به سرما است .

نتایج اندازه‌گیری محتوای آب طوقه و برگ در شرایط سازش با سرما

تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط سازش با سرما تفاوت معنی‌داری در میزان آب طوقه و برگ نشان داد (جدول ۱) . گروه‌بندی میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما همچون سبلان و بزوستایا، میزان آب طوقه و برگ کمتری دارند، و ژنوتیپ‌های حساس مانند رگه ۵۱۸ ، از محتوای آب طوقه و برگ بیشتری برخوردار هستند.

این نتایج با گزارش‌های پژوهشگران دیگر (۱،۵ و ٦) هم‌خوانی دارد.

هم‌بستگی معنی‌داری (r=۰/ ۷۵) میان محتوای آب طوقه و LT50(۱) ، و نیز میان آب طوقه و LT50(۲) (r=۰/۷۸) دیده شد جدول ۵). هم‌بستگی محتوای آب برگ با LT50 معنی‌دار نبود، که می‌تواند ناشی از شرایط محیطی زمان اندازه‌گیری و میزان تبخیر آب از سطح برگ (با توجه به بالا بودن سطح ویژه برگ نسبت به طوقه) باشد.

تجزیه واریانس محتوای آب طوقه و برگ ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط ناسازگاری با سرما (آزمایش سوم) نشان داد که ژنوتیپ‌ها از لحاظ محتوای آب طوقه تفاوت معنی‌داری با هم دارند. شکل‌های ۳ و٤ نشان می‌دهند که محتوای آب گیاه با عادت دادن آن به سرما کاهش می‌یابد. در پژوهش‌های مشابه دیگران نیز دیده شده است که کاهش میزان آب طوقه و برگ راه‌کاری برای افزایش مقاومت به سرما است (۷ و ۱۱).

هم بستگی معنی‌داری میان محتوای آب طوقه و برگ در شرایط ناسازگاری با سرما با LT50 مشاهده نشد (جدول ۵).

تجزیه واریانس میزان قندهای محلول در طوقه در شرایط سازش با سرما (جدول ۱) ، نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها (جدول ۲) بیانگر آن است که دو رقم مقاوم بزوستایا و سبلان نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر از میزان قندهای محلول بالاتری برخوردار هستند. این صفت هم‌بستگی معنی‌داری با LT50 دارد (جدول ۵).

تجزیه آماری داده‌های مربوط به ارتفاع گیاه نشان داد که میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱) . رابطه ارتفاع گیاه با LT50(۱) و با LT50(۲) در ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۵) . هم‌بستگی منفی و معنی‌داری میان مقاومت به سرما و ارتفاع گیاه گزارش شده است (۵)، به طوری که ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما ارتفاع کمتری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس دارند. این مسئله در مورد رقم سبلان (۷/۱ سانتی‌متر) صادق است، ولی

جدول ۲. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد بررسی به روش دانکن

ژنوتیپ	LT50 (درجه سانتی‌گراد) (آزمایش ۲ و ۱)	محتوای قند طوقه (mg/g) (آزمایش ۲)	محتوای آب طوقه در شرایط سازش (٪) (آزمایش ۲)	محتوای آب برگ در شرایط سازش (٪) (آزمایش ۲)	میزان هدایت الکتریکی در زمان چهارم (٪) (آزمایش ۱)	ارتفاع گیاه (cm) (آزمایش ۲)	محتوای آب طوقه در شرایط ناسازگاری (٪) (آزمایش ۳)	محتوای آب برگ در شرایط ناسازگاری (٪) (آزمایش ۳)
بزوستایا	-۱۶/۷^{a}	۱۵۸/۱^{a}	۸۰/۱۵^{bc}	۷۹/۳۰^{cd}	۱۴/۳۰^{b}	۱۲/۴^{b}	۸۶/۳۳^{ab}	۸۴/۲۳^{a}
سبلان	-۱۵/۷^{a}	۱۶۳/۱^{a}	۷۸/۸۷^{c}	۷۸/۶۵^{cd}	۲۴/۹۶^{b}	۷/۱^{a}	۸۴/۶۷^{bc}	۸۲/۹۹^{a}
۵۸۳	-۱۳/۷^{b}	۱۳۷/۸^{b}	۷۹/۸۰^{bc}	۷۸/۸۲^{cd}	۵۵/۰۱^{a}	۸/۹^{cd}	۸۴/۶۶^{bc}	۸۲/۰۹^{a}
۱۲۵۵	-۱۲/۵^{bc}	۱۳۲/۸^{b}	۸۰/۴۵^{bc}	۷۸/۴۶^{d}	۶۷/۹۴^{a}	۶/۸^{d}	۸۳/۸۳^{c}	۸۲/۵۳^{a}
بولانی	-۱۲/۱^{cd}	۱۲۹/۳^{b}	۸۱/۱۲^{ab}	۸۱/۵۸^{ab}	۵۹/۵۴^{a}	۱۲/۳^{b}	۸۶/۶۵^{a}	۸۴/۳۹^{a}
خلیج	-۱۲^{cd}	۱۲۸/۷^{b}	۸۱/۸۶^{ab}	۸۰/۳۴^{bc}	۸۰/۳۳^{a}	۶/۸^{d}	۸۵/۲۲^{abc}	۸۲/۵۶^{a}
ناز	-۱۰/۶^{de}	۱۳۰/۷^{b}	۸۱/۲۱^{ab}	۸۰/۱۴^{bcd}	۷۸/۵۹^{a}	۱۷/۱^{a}	۸۵/۱۴^{abc}	۸۱/۱۶^{a}
۵۹۲	-۱۰/۱^{e}	۱۱۷/۲^{b}	۸۰/۳۵^{bc}	۷۸/۷۴^{cd}	۸۶/۱۴^{a}	۱۹/۳^{a}	۸۴/۱۲^{c}	۸۲/۲۸^{a}
۵۱۸	-۸/۲^{f}	۱۳۷/۰^{b}	۸۳/۲۳^{a}	۸۲/۲۲^{a}	۷۴/۳^{a}	۹/۹^{bc}	۸۵/۶۷^{ab}	۸۲/۰۶^{a}

میانگین‌های ژنوتیپ‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

جدول ۳. مقایسه میانگین زمان‌های مختلف اندازه‌گیری هدایت الکتریکی

زمان اندازه‌گیری	درصد میانگین
اول	۱۳/۴۲^{b}
دوم	۲۲/۷۰^{ab}
سوم	۴۰/۷۴^{ab}
چهارم	۶۲/۶۱^{a}
پنجم	۶۶/۶۳^{a}

میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (α=۰/۰۵).

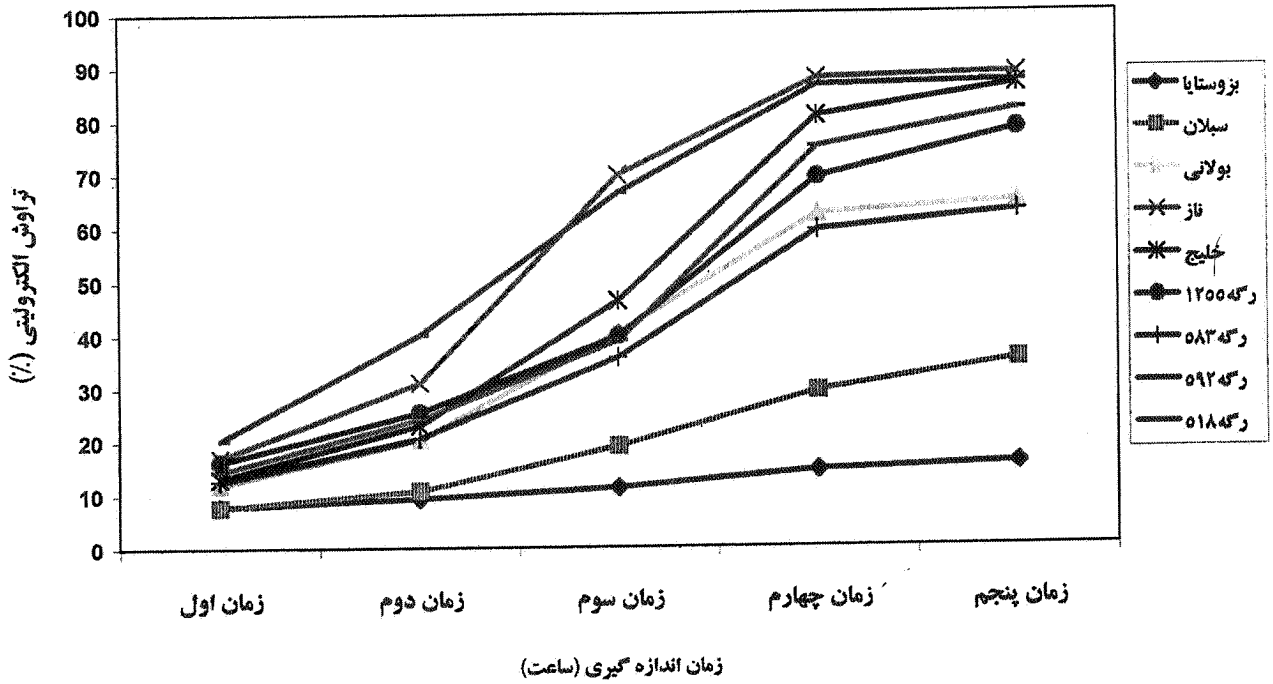
جدول ٤. مقایسه میانگین میزان هدایت الکتریکی در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری (آزمایش اول)

ژنوتیپ	زمان اول		زمان دوم		زمان سوم		زمان چهارم		زمان پنجم	
	٪۱	میانگین	٪۱	میانگین	٪۱	میانگین	٪۱	میانگین	٪۱	میانگین
بزوستایا	a	۷/۸	c	۹/۲۷	c	۱۱/۲۱	b	۱٤/٤	c	۱۵/۶۲
سبلان	a	۷/۶۲	bc	۱۰/۶۷	bc	۱۸/۹٤	b	۲۹/۱۵	bc	۳٤/۹۷
۵۸۳	a	۱۲/۶۵	abc	۲۰/۵۷	ab	۳۵/۶۹	a	۵۹/۲۵	ab	۶۲/۸۱
بولانی	a	۱۱/۸۹	abc	۲۰/۲۶	ab	٤۰/۲۱	a	۶۲/۱۹	a	۶٤/۵
۱۲۵۵	a	۱۶/۲	abc	۲۵/٤۱	ab	۳۹/۶۵	a	۶۹/۱۲	a	۷۸/۱۰
۵۱۸	a	۱٤/۳۱	abc	۲٤/۱۳	ab	۳۸/۷۲	a	۷٤/۸۱	a	۸۱/۶۹
خلیج	a	۱۳/۰۶	abc	۲۲/۹۸	a	٤۶/۲۵	a	۸۰/۶	a	۸۶/٤۷
۵۹۲	a	۲۰/۲٤	a	٤۰/۰۲	a	۶۶/۳۱	a	۸۶/۳۷	a	۸۶/۹۹
ناز	a	۱۶/۹۵	ab	۳۰/۹۷	a	۶۹/۶۷	a	۸۷/۶۳	a	۸۸/۵٤

جدول ۵. هم‌بستگی صفات مورد بررسی در آزمایش‌های ۱ و ۲ و ۳ مقاومت گندم به سرما

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰
۱=LT50(۱)	۱									
۲=LT50(۲)	۰/۹۷٦***	۱								
۳=LT50 میانگین	۰/۹۹۵**	۰/۹۹۲**	۱							
٤= هدایت الکتریکی در زمان چهارم	۰/۸۸۵**	۰/۸٦۹**	۰/۸۸۳**	۱						
٥= محتوای آب طوقه در شرایط سازش با سرما	۰/۷٥٥*	۰/۷۷۸*	۰/۷۷*	۰/٥٦٤	۱					
٦= محتوای آب برگ در شرایط سازش باسرما	۰/٥۳٦	۰/٥۸٤	۰/٥٦	۰/۳۰۳	۰/۸٤٥**	۱				
۷- محتوای آب طوقه در شرایط ناسازگاری	-۰/۱۲٤	-۰/۱۱۷	-۰/۱۲۲	-۰/۳۳۹	۰/۳٥	۰/۷۰۲*	۱			
۸= محتوای آب برگ در شرایط ناسازگاری	-۰/٥٦۷	-۰/٥٥٦	-۰/٥٦٦	-۰/٦٥۱	-۰/۲۲۹	۰/۰۹۱	۰/٦۱۲	۱		
۹= محتوای قند طوقه	-۰/۷۸۹*	-۰/۷۳۸*	-۰/۷۷۱*	-۰/۹۰۷**	-۰/٤٥۹	-۰/۲۲	۰/۲۳٤	۰/۳۸۱	۱	
۱۰= ارتفاع گیاه	۰/٤۰۳	۰/۲۷٥	۰/۳٤۸	۰/۲٦٥	۰/۰٥٦	۰/۰٤٥	۰/۰۷۹	-۰/۱٦۳	-۰/٤٤۲	۱

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد

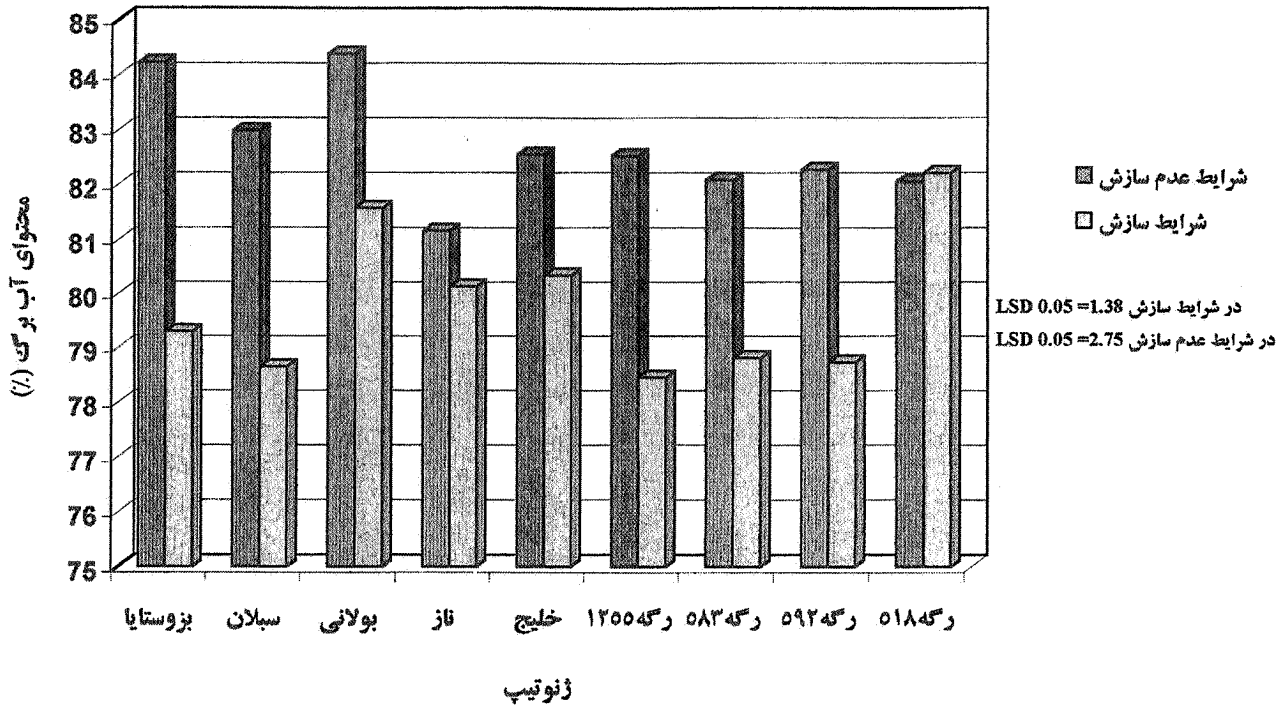


شکل ۲. میزان تراوش الکترولیتی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در زمان‌های مختلف (آزمایش اول)

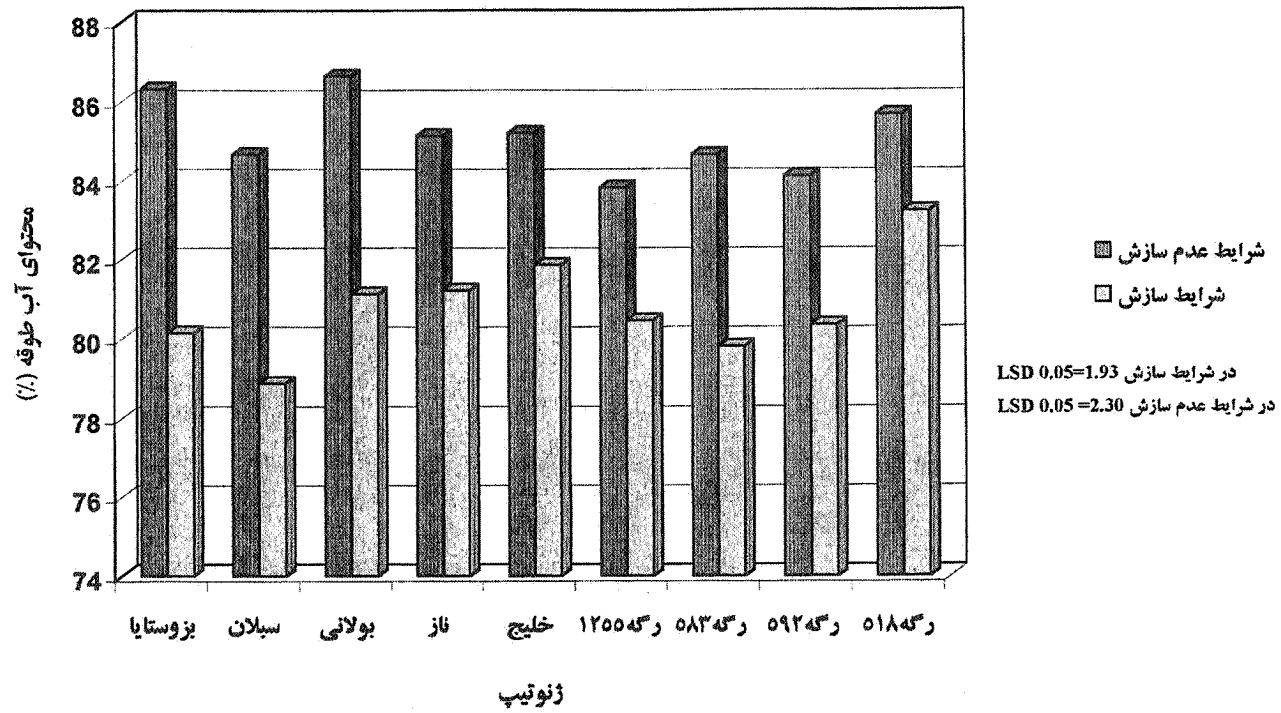
بزوستایا که مقاوم به سرما است ارتفاع متوسطی (۱۲/٤سانتی‌متر) دارد. به طور کلی ، رابطه رشد گیاه در طول زمستان با مقاومت به سرما منفی است (۹).

با وجود این که مقاومت زمستانه ارقام شامل تحمل تنش‌های بسیاری همچون تنش یخزدگی ، پوشش یخ ، بیماری‌ها، قطع شدن طوقه و خشکی است ، ولی دمای یخزدگی به عنوان عامل اصلی محدود کننده در مزرعه شناخته شده است (۹). تعیین LT50 یک رقم ، بهترین روش برآورد مقاومت زمستانه است ، و بیشترین تکرارپذیری را دارد. با وجود این LT50 یک روش مخرب است و گیاه را از بین می‌برد ، و در یک بوته هم نمی‌توان LT50 را تعیین نمود.

با در نظر گرفتن این که در میان صفات مورد بررسی،



شکل ۳. نمایش میانگین محتوای آب برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط سازش و عدم سازش به سرما (آزمایش ۲ و ۳)



شکل ٤. نمایش میانگین محتوای آب طوقه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط سازش و عدم سازش به سرما (آزمایش ۲ و ۳)

میزان تراوش الکترولیتی ، که بیانگر پایداری غشای سیتوپلاسمی است ، بیشترین هم‌بستگی را با LT50 نشان داده است ، اندازه‌گیری تراوش الکترولیتی ، به دلیل کم هزینه بودن، وقت‌گیر نبودن وکارایی بسیار در ارزیابی حجم زیادی از ژرم -

پلاسم ، روش مفیدی در ارزیابی برای مقاومت به سرما می‌باشد. افزون بر آن ، غیر مخرب بودن این روش امکان استفاده از آن را در نسل‌های در حال تفکیک فراهم می‌کند، به طوری که با نمونه‌گیری از برگ یک بوته ، بدون این که موجب از بین رفتن آن شود، می‌توان میزان مقاومت آن را به سرما ارزیابی نمود.

منابع مورد استفاده

1. Andrews, C. J., M. K. Pomeroy, W. L. Seaman, G. Bulter, P. C. Bonn and G. Hoekstra. 1997. Relationships between plantinjg date, winter survival and stress tolerances of soft white winter wheat in Eastern Ontario. Can. J. Plant Sci. 77: 507-513.
2. Bertin, P., J. Bouharmont and J. M. Kinet. 1996. Somaclonal variation and improvement in chilling tolerance in rice: Changes in chilling- induced electrolyte leakage. Plant Breed. 115: 268-272.
3. Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers and F. Smith. 1956. Colormetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3): 350-356.
4. Fowler, D. B. and L. V. Gusta. 1979. Selection for winter hardiness in wheat I. Identification of genotypic variability. Crop Sci. 19: 769-772.
5. Fowler, D. B., J. Dvorak and L. V. Gusta. 1977. Comparative cold hardiness of several *Triticum* species and *Secale cereale* L. Crop Sci. 17: 941-943.
6. Fowler, D. B., L. V. Gusta and N. J. Tyler. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. III. Screening methods. Crop Sci. 21: 896-901.
7. Gusta, L. V. and T. H. H. Chen. 1987. The physiology of water and temperature stress. PP. 115-144. *In*: E. G. Heyne (Ed.), Wheat and Wheat Improvement. ASA, CSSA, and SSSA, Agron. Monograph 13, Madison, WI, USA.
8. Hommo, L. M. 1992. Hardening ability of some winter wheat, winter rye and winter barley varieties. Norwegian J. Agric. Sci. Supplement 7: 39-50.
9. Levitt, J. 1972. Responese of Plants to Environmental Stresses. Academic Press, New York.
10. Pulli, S. 1994. Conductivity testing for screening the winter hardiness of cereals, grasses and legumes. Nordisk Jordisk Jordbruksforskning 76(2): 58-59.
11. Yoshida, M. 1994. Physical state of crown water in overwintering wheat. Hokkaido Nat. Agric. Exp. Station: 49-52.