شناسایی برخی از ارقام وژنوتیپ‌های مقاوم به سرمای گردو، با استفاده از روشهای اگزوترم ، نشت یونی و مشاهده میکروسکوپی

اسد الله اصلانی (۱)، کورش وحدتی (۲)، داراب حسنی (۳) و مجید راحمی (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد تولید محصولات باغبانی، پردیس کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ۲- دانشیار گروه باغبانی، پردیس کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ۳- استادیار بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ۴- استاد وابسته گروه باغبانی، پردیس کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران

چکیده

سرما یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده موثر در پراکنش گیاهان در مناطق مختلف می‌باشد. به همین علت، مطالعه مکانیسم‌های مقاومت به سرما و پیدا کردن ارقام مقاوم به سرما در گیاهان مختلف بسیار مهم است. در این آزمایش که در ماههای آبان، آذر و دی در سالهای ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ انجام شد، مقاومت به سرما در ارقام خارجی و ژنوتیپهای برتر گردوی ایرانی ("وZ_{67}" ، "Z_{63}" ، "Z_{53}" و"Z_{30}" ، "پدرو"، "هارتلی"،" سر" و " لارا") مورد مطالعه قرار گرفت. در روش اگزوترم، دمای تشکیل یخ با استفاده از حسگرهای حرارتی دریافت و هر ۶ ثانیه یک بار به کامپیوتری که متصل به این حسگرها بود منتقل می‌شد. در روش نشت یونی قطعات ۱/۵ گرمی از چوب را در داخل ظرفهای پلاستیکی که حاوی ۲۰ میلی‌گرم آب مقطر بودند قرار داده و نقطه ای را که درآن ۵۰ درصد از نشت یونی به وقوع پیوست؛ به عنوان نقطه مرگ گیاه تشخیص داده شد. در روش مشاهده میکروسکوپی، که اساس آن بر قهوه‌ای شدن بافتهای سرمازده می-باشد؛ پس از ایجاد سرمازدگی مصنوعی در بافتها، آنها را برای تعیین درصد خسارت سرمازدگی مورد ارزیابی قرار دادیم. این سه آزمایش مختلف دارای نتایج نسبتاً مشابهی بودند. مشاهدات نشان دهنده آن بود که مقاوم‌ترین ارقام وژنوتیپ‌ها شامل ارقام و ژنوتیپ‌های "لارا" و "پدرو" و" Z_{63}" و حساسترین آنها "Z_{30}" و "سر" بودند. ارقام و ژنوتیپ‌های "هارتلی"، "Z_{67}" و "Z_{53}" از لحاظ مقاومت در زمره نیمه مقاوم‌ها قرار داشتند.

مقدمه

سرمازدگی و یخبندان یکی از علل اساسی تلفات و مهم‌ترین عامل محدود کننده، در توزیع گیاهان در مناطق مختلف می‌باشد. گردو، گیاهی است متعلق به تیره *Juglandaceae* و جنس *Juglans* و در شرایط سرد و مرطوب دارای بهترین رشد است. گیاه کامل (قلمه ریشه دار، دانهال) و یا قطعه بریده شده شامل جوانه، ریشه یا برگ می‌توانند جهت آزمایش و مطالعات سرمایی مورد استفاده قرار بگیرند (کاسول و همکاران، ۱۹۸۶؛ زاتیلنی و همکاران، ۱۹۹۳). میزان خسارت در بافتها، با استفاده از مشاهده بافتهای سرما دیده امکان‌پذیر می‌باشد. صدمه در بافتها، در زیر میکروسکوپ، به صورت قهوه ای، سیاه یا زرد شدن خود را نشان می دهد؛ که علت آن اکسید شدن پلی فنل‌های موجود در بافت می-باشد. آزمایش نشت یونی بر این اصل استوار است، که غشای سلولهای سرما دیده پس از ذوب به علت صدمات ناشی از تنش سرمایی، عناصر داخل سلولی را آزاد می‌کنند. عمده ترین این عناصر، پتاسیم می‌باشد (استویانف، ۱۹۷۳). هنگامی که آب میان سلولی و درون سلولی یخ می‌زند، از خود گرمایی آزاد می‌کند که این گرما در شرایط آزمایشگاهی و با استفاده از حسگرهای الکتریکی، قابل اندازه گیری می‌باشد.این گرمای آزاد شده را اگزوترم می‌نامند. این اگزوترم‌ها

ثابت می‌کنند که دو واقعه در طی یخ زدن در شاخه های درخت اتفاق می افتد (جرج وبارک ۱۹۷۷). که اولی مربوط به یخ زدن آب بین سلولی(غیر کشنده) و دومی مربوط به یخ زدن آب داخل سلولی(کشنده) می‌باشد. در این مقاله به بررسی مقاومت به سرمای ارقام و ژنوتیپهای برتر گردو با استفاده از روشهای مختلف پرداخته می_شود.

مواد و روش‌ها

الف) اگزوترم

در این روش شاخه‌ها در ماههای آبان، آذر و دی از باغ مادری، جمع آوری و لابه‌لای پارچه‌های مرطوب پیچانده شدند و پس از قرار دادن در کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل شدند. هر کدام از شاخه‌ها به اندازه‌های ۱±۱۰ سانتیمتری بریده شدند. سپس حسگرهای الکتریکی در داخل این شاخه‌ها قرارداده شدند و پس از انجام این کارها، درب یخچال را بسته و دمای یخچال به میزان ۲ درجه سانتی گراد بر ساعت پایین آورده شد. و این‌کار را تا رسیدن به دمای ۳۰- درجه سانتیگراد ادامه داده شد. دما توسط حسگرها، به کامپیوتر منتقل گردید و پس از آن دمای هر شاخه در داخل یکی از سلول‌های اِکسل ثبت گردید.

ب) نشت یونی: در این روش ابتدا شاخه‌های ارقام و ژنوتیپ‌های جمع آوری شده به قطعات ۱/۵ گرمی تقسیم شدند .و در داخل ظرف های پلاستیکی قرار داده شدند. سپس تحت تیمارهای ۰ تا ۳۰- درجه سرد شدند. پس از بیرون آوردن از یخچال با ۲۰ میلی گرم آب مقطر پرشدند و به مدت ۲۴ ساعت در داخل یک شیکر قرار داده شدند. پس از آن مقدار نشت یونی آن با استفاده از دستگاه ای-سی متر اندازه گیری شد. پس از این کار همین نمونه‌ها در یخچالی با دمای ۸۰- درجه سانیگراد قرار داده شدند و میزان نشت یونی آنها در حالت مرگ بافتها محاسبه شدند. دمایی که در آن ۵۰ درصد نشت یونی به وقوع پیوست، به عنوان نقطه مرگ گیاه در نظر گرفته شد.

مشاهده میکروسکوپی:

ج) پس از تهیه نمونه‌ها و حمام پیش سرما، لوله‌های آزمایش در داخل حمام پیش سرما قرار داده شدند. و پس از آن به داخل یخچال منتقل گردیدند. پس از آن دمای یخچال به میزان ۲ درجه سانتیگراد بر ساعت و تا دمای ۳۰- درجه پایین آورده شد. در فاصله های زمانی ۵ درجه سانتیگراد، ۴ لوله آزمایش معادل ۸ شاخه، از داخل یخچال خارج شدند. سپس نمونه‌ها از لای پارچه خارج شدند و پس از پیچاندن در لابه‌لای کاغذ صافی مرطوب، در یک پتری دیش سترون قرار داده شدند.. پس از برش شاخه‌ها و تهیه مقطع عرضی از آنها با تیغِ اصلاحِ صورت، اقدام به مشاهده بافتهای خسارت دیده توسط میکروسکوپ استریو شد.

نتایج

در بین ژنوتیپهای ایرانی، "Z_{30}" دارای کمترین نقطه تشکیل یخ بیرون سلولی و "Z_{63}"دارای بیشترین نقطه تشکیل یخ بیرون سلولی بود. ژنوتیپ‌های دیگر دارای حد متوسط دمایی از لحاظ تشکیل نقطه یخ در شاخه‌های خود بودند. در میان ارقام خارجی، رقم "سر"، دارای کمترین و "پدرو" و "لارا" دارای بیشترین نقطه تشکیل یخ بودند. رقم" هارتلی" از این نظر در حد وسط قرار داشت.

نتایج نشان دهنده همخوانی نسبتا بالایی از مقاومت یا حساسیت ارقام وژنوتیپ های مختلف نسبت به سرما در آزمایشات مختلف بود. نتایج مربوط به سنجش مقاومت ارقام، که به وسیله آزمایشات اگزوترم و مشاهده آزمایشگاهی و نشت یونی بدست آمد نشان دادند که مقاوم‌ترین ارقام وژنوتیپ‌ها شامل ارقام و ژنوتیپ‌های "لارا" و "پدرو" و "Z_{63}" و حساسترین آنها "Z_{30}" و "سر" بودند. ارقام و ژنویپ‌های "هارتلی"، "Z_{67}" و "Z_{53}" از لحاظ مقاومت در زمره نیمه مقاوم‌ها قرار داشتند.

منابع

Aslani Aslamarz, A.A., K.Vahdati, M. Rahemi, and D. Hassani. 2009. Estimation of chilling and heat requirement of some Persian walnut cultivars. HortScience 44:1-5.

Burke, M.J., L.V. Gusta , H.A. Quamme, C.J. Weiser, and P.H. Li. 1976. Freezing injury in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 27:507-528.

Gusta, L.V., M. Wisniewski, N.T. Nesbitt, and K.T. Tanino. 2003. Factor to consider in artificial freezes tests. Acta Hort. 618:493-507.

Khanizadeh, S. 1991. Controlling temperature by microcomputer. HortScience 26:607.

Lapins, K. 1961. Artificial freezing of 1-year-old shoots of apple varieties. Can. J. Plant Sci. 41:381-393.

Mills, L.J., J.C. Ferguson, and M. Keller. 2006. Cold- hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues. Amer. J. Enol. Viticult. 57:194-200.

Olien, G.R. 1978. Analyses of freezing stress and plant response in plant cold hardiness and freezing stress, p. 37-38. In: P.H. Li, C.R. Olien, and A. Sakai (eds.). Plant cold hardiness and freezing stress. Academic press, N.Y.

Richardson, E.A., S.D. Seeley, and D.R. Walker. 1974. A model for estimating the completion of rest of 'Redhaven' and 'Elberta' peach trees. HortScience 9:331-332.

Sakai, A. and W. Larcher. 1987. Frost survival of plants: Responses and adaptation to freezing stress. Ecological Studies, Vol. 62. Springer Verlag, Berlin.

Wisniewski, M. and R. Arora. 2000. Structural and biochemical aspects of cold hardiness in woody plants. In: S.M. Jain and S.C. Minocha (eds.). Molecular biology of woody plants. Vol. 2. Kluwer Academic Publ., Dordrecht.

Estimation of cold hardiness of some cultivars and promising genotypes of Persian walnut by exotherm, electrolyte leakage and freezing technique

Asadolah Aslani Aslamarz[1], Kourosh Vahdati[2], Majid Rahemi[3], Darab Hassani[4]
[1,2,3] Department of Horticulture, University of Tehran, Abouraihan Campus, Tehran, Iran, E-mail: kvahdati@ut.ac.ir
[4] Department of Horticulture, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

Abstract

Low temperature is one of the major factors for distribution of woody plants and result in freezing injury that causes horticultural yields losses. The estimation of cold hardiness of some cultivars and promising genotypes of Persian walnut was carried out using three methods: 1) thermal analysis 2) freezing technique 3) electrolyte leakage from November 2008 to January 2009. The shoot segments used were prepared from 4 walnut cultivars 'Z_{63}', 'Z_{53}', 'Z_{30}' (and 4 native promising genotypes) 'Serr', 'Pedro', 'Hartley', 'Lara'(and 'Z_{67}'). The result of varied experiments is relatively similar and cultivars/genotypes were classified into three groups based on their hardening: sensitive ('Z_{30}', 'Serr'), semi hardy ('Z_{53}', 'Z_{67}', 'Z_{63}', 'Hartley') and hardy ('Lara', 'Pedro').