نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۰، شماره ۲ ، تابستان ۱۳۹۱، ص. ۲۹۸-۲۹۲

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 10, No. 2, Summer. 2012, p. 292-298

گزینش برای تحمل به یخزدگی نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط این‌ویترو

فاطمه کیخا آخر [۱*]- عبدالرضا باقری [۲] - نسرین مشتاقی [۳] - احمد نظامی [۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۲/۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۳

چکیده

تنش سرما، یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که رشد و تولید گیاهان را محدود می‌کند. لذا تحمل به سرما به‌عنوان یکی از عوامل ضروری جهت بقاء در شرایط سخت زمستان ضروری است. این مطالعه با هدف بررسی تحمل به یخزدگی گیاه نخود در شرایط کشت این‌ویترو به‌منظور دستیابی به روش به‌گزینی سریع و قابل اعتماد برای تحمل به یخزدگی ژنوتیپ‌ها انجام شد. در این بررسی گیاهچه‌های حاصل از کشت ریزنمونه محور جنینی به همراه تک لپه سه ژنوتیپ نخود (MCC496، MCC763 و MCC798)، پس از اعمال خوسرمایی (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ روز) به منظور اعمال تیمارهای یخزدگی در معرض دماهای ۴-، ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۲-، ۱۴- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بقای گیاهچه‌ها و خسارت سرما پس از اتمام دوره بازیافت با ارزیابی مشاهده‌ای برآورد شد. اثر درجه حرارت‌های زیر صفر بر درصد خسارت گیاهچه‌ها معنی‌دار بود ($P\leq$۰/۰۵). با کاهش درجه حرارت، درصد خسارت در هر سه ژنوتیپ افزایش یافت، اما بین سه ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین بین سه ژنوتیپ از لحاظ درصد بقا، تفاوت معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) وجود نداشت. اما در بین تیمارهای دمایی موردنظر اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) مشاهده شد. با کاهش درجه حرارت، درصد بقای گیاهان کاهش یافت؛ به‌طوری‌که در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تمامی گیاهچه‌ها از بین رفتند. درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50}) بر اساس درصد خسارت و درصد بقا تعیین شد. در ژنوتیپ MCC763 وMCC798 دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد و در ژنوتیپ MCC496، درجه حرارت ۱۵/۵- درجه سانتی‌گراد، بر اساس درصد خسارت گیاهچه‌ها، به‌عنوان LT_{50} در نظر گرفته شد. LT_{50} بر اساس درصد بقا، به ترتیب در سه ژنوتیپ MCC496، MCC763 و MCC798 برابر با ۱۳-، ۱۲- و ۱۲/۵- درجه سانتی‌گراد تخمین زده شد. بنابراین گزینش ارقام نخود در شرایط این ویترو می‌تواند راهبرد مناسبی برای ارزیابی تحمل به یخزدگی ژنوتیپ‌ها باشد و جایگزین مناسبی برای روش‌های مزرعه‌ای است.

واژه‌های کلیدی: خوسرمایی، خسارت سرما، درصد بقا، LT_{50}، نخود (*Cicer arietinum* L.)

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L.)، از جمله حبوبات خودگرده-افشان است که به‌عنوان سومین بقولات دانه‌ای در جهان شناخته شده است (۱۴و۱۵). این گیاه در مقایسه با سایر گیاهان مهم اقتصادی، از پتانسیل عملکرد کمتری برخوردار است. از دلایل پایین‌بودن عملکرد این گیاه می‌توان به عدم وجود ارقام اصلاح شده، استفاده از توده‌های محلی، عکس‌العمل ضعیف ارقام به کودهای شیمیایی، حساسیت آن‌ها به عوامل نامساعد محیطی و زیستی نظیر انواع تنش‌ها و صدمه‌های ناشی از آفات و امراض، علف‌های هرز و کاشت در اراضی کم‌بازده نام برد. در مناطق مرتفع نظیر برخی از مناطق حبوبات‌کاری کشور ما و در نواحی با زمستان‌های خیلی سرد، کاشت نخود در فصل بهار انجام می‌شود (۳). کاشت گیاهان در بهار ضمن افزایش مصرف آب، دچار خسارت ناشی از گرمای فصل تابستان نیز خواهد شد. درصورتی‌که در کشت پاییزه گیاهان متحمل به سرما و یخزدگی، علاوه بر استفاده بهینه از منابع آب و افزایش طول فصل رشد گیاه، خطر کاهش عملکرد ناشی از گرمای تابستان نیز به حداقل می‌رسد (۶). در چنین شرایطی به نظر می‌رسد تغییر زمان کاشت نخود از بهار به پاییز-زمستان که مستلزم در اختیار داشتن لاین‌های متحمل به سرما می‌باشد، در افزایش و بهبود عملکرد تاثیر مهمی خواهد داشت (۱).

گزینش برای لاین‌های نخود متحمل به سرما که از درجه سازگاری مناسبی نیز برخوردارند، تاکنون بیشتر محدود به شرایط مزرعه‌ای بوده است. مطالعه در شرایط مزرعه هر چند که گیاه را در شرایط واقعی زمستان قرار می‌دهد، ولی به‌دلیل تنوع مکانی و زمانی

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی دانشکده‌کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: fatemeh_keykha@yahoo.com)
۴- دانشیار گروه زراعت، دانشکده‌کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

در بروز سرما ممکن است منجر به نتایج متفاوتی شود (۱۱)، ضمن این‌که هزینه این‌گونه آزمایش‌ها زیاد بوده و نیازمند زمان طولانی می باشد (۷). در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی برای تکمیل روش‌های متداول اصلاحی جهت تولید گیاهان متحمل در برابر تنش سرما صورت گرفته است. کشت این‌ویترو، یکی از این روش‌ها است که این امکان را فراهم می‌کند تا به‌گزینی در محیط کنترل شده، فارغ از محدودیت‌های فصلی و محیطی صورت گیرد و با انجام تکرارهای متعدد در مدت زمان کوتاه و حذف عوامل ناخواسته، طول دوره گزینش کاهش یابد. علاوه بر آن، این امکان وجود دارد که بتوان با انتخاب در محیط این‌ویترو، موتانت‌هایی با صفات مفید از جمله تحمل به شوری، خشکی، سرما یا مقاوم به بیماری‌ها را در یک مدت زمان کوتاه به‌دست آورد (۸).

در آزمایشی که روی گیاه گل کلم صورت گرفت، نوک ساقه‌های گل کلم در محیط کشت حاوی هیدروکسی پرولین و کلرید سدیم به مدت ۲۸ روز واکشت شد و سپس مقدار پرولین برگ‌ها اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل نشان داد که بین لاین‌های انتخاب شده در شرایط این‌ویترو و این‌ویوو، از نظرمقدار پرولین برگ همبستگی وجود داشت و مقدار آن در لاین‌های متحمل به سرما و شوری افزایش یافته بود. نتایج این تحقیق نشان داد که پرولین جز ضروری برای بهبود مقاومت به تنش‌های غیرزیستی نیست، اما اگر در محیط کشت وجود داشته باشد می‌تواند باعث بهبود مقاومت شود (۱۰). مشیری تاثیر طول دوره خوسرمایی بر تحمل به گیاهچه‌های تولید شده در شرایط این‌ویترو را تحت دو تیمار خوسرمایی شامل دوره خوسرمایی ۱۰ و ۲۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داد. در مرحله بعد خوسرمایی ۲۰ روز و نیز ترکیب محیط کشت MS با مقدار معمولی ساکارز (۳۰ گرم در لیتر) و بدون تنظیم‌کننده رشد را، در تمایز ارقام نخود برای تحمل به سرما در شرایط این‌ویترو مورد بررسی قرار داد. ارزیابی تحمل به سرما با توجه به نتایج LT_{50} نشان داد که تیمار خوسرمایی ۲۰ روز تاثیر بهتری در افزایش تحمل به سرما و زنده‌مانی گیاهچه‌ها داشت. همچنین به‌گزینی ارقام برای تحمل به سرما در شرایط این ویترو مشخص کرد که توده بومی قزوین نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، متحمل‌تر و رقم ILC533 حساس به سرما بود. نتایج این آزمایش نشان داد که دمای ۱۲- تا ۱۶- درجه سانتی‌گراد محدوده دمایی مناسبی برای تمایز ارقام نخود از نظر عکس العمل به سرما می‌باشد (۵).

در مجموع به نظر می‌رسد که گزینش این‌ویتروی لاین‌های سلولی یا گیاهان با درجه تحمل به سرمای بیشتر می‌تواند روش‌های اصلاح سنتی را تکمیل نموده و در شناخت مکانیزم‌های تحمل به سرما کمک موثری نماید. متخصصان علوم‌گیاهی با استفاده از این شیوه توانسته‌اند علاوه بر تسریع در فرایند گزینش، بر کارایی گزینش صفات مطلوب در سطح سلولی و در مراحل بعدی بر سطح تحمل گیاهان کامل بیفزایند (۱۳).

لذا این آزمایش، با هدف بررسی امکان استفاده از کشت این-ویتروی گیاه نخود جهت به‌گزینی ارقام متحمل به یخزدگی، طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۷در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد با هدف تعیین میزان تحمل به یخزدگی سه ژنوتیپ نخود (MCC496، MCC763 و MCC798) در ۷ سطح تیمار یخزدگی (دماهای یخزدگی)، در آزمایش فاکتوریل ۳×۷ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. بذور از بانک بذر حبوبات پژوهشکده علوم‌گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. حدود۱۰۰ بذر سالم و یکنواخت از هر ژنوتیپ با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۱۵دقیقه ضدعفونی سطحی و شستشو شدند. سپس به مدت ۲۴ ساعت درون آب‌مقطر استریل در زیر هود استریل نگهداری شدند. ریز نمونه محور جنینی به همراه تک لپه جهت کشت جداسازی شد. تعداد ۵ ریزنمونه درون هر پتری دیش حاوی محیط کشت MB (نمک‌های MS و ویتامین‌های B_5) با ترکیب هورمونی ۲میلی‌گرم در لیتر BAP و۰/۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، به اضافه۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار با pH معادل ۵/۸ کشت شد و اطراف پتری‌ها با چسب کاغذی ۱سانتی‌متری (به جای پارافیلم) پوشانده شد تا تبادل هوا به نحو بهتری صورت گرفته و از سرسوختگی گیاهچه‌ها جلوگیری به‌عمل آید. به‌منظور تسریع در جوانه‌زنی ریزنمونه‌ها و خروج ریشه‌چه، پتری دیش‌ها به مدت ۲ روز در اتاق رشد با دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی قرار گرفتند و پس از آن به شرایط نوری اتاق رشد (فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) منتقل شدند. پس از گذشت ۲ هفته از کشت و به‌منظور رشد طولی بیشتر، گیاهچه‌هایی که اندازه آن‌ها به ۴-۳ سانتی‌متر رسیده بود، درون ویال‌های حاوی محیط کشت MB فاقد هورمون و ۸ گرم در لیتر آگار با pH معادل ۵/۸ واکشت شدند. همچنین برای جلوگیری از سرسوختگی گیاهچه‌های حاصله و یا کاهش میزان سرسوختگی در آن‌ها از غلظت کم ساکارز (۱۵گرم در لیتر) استفاده شد. با گذشت ۱۰ روز از واکشت گیاهچه‌ها در محیط فاقد هورمون، کلیه نمونه‌ها برای اعمال خوسرمایی به اتاقک رشد با دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۳۰ میکرو مول برمترمربع در ثانیه و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۱۲ روز انتقال یافتند. با سپری‌شدن دوره خوسرمایی و به‌منظور اعمال تیمارهای یخزدگی، تمامی نمونه‌ها به فریزر ترموگرادیان قابل برنامه‌ریزی منتقل شدند. لازم به ذکر است قبل از کاهش دما، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در

دمای ۲- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا با تشکیل تدریجی هستک‌های یخی در آب سلولی از بروز پدیده فرا سرد شدن جلوگیری به‌عمل آید. نمونه‌ها با گذشت زمان دو ساعت که در ساعت دوم آن، دما در ۴- درجه سانتی‌گراد تثبیت شده بود، از فریزر خارج شدند و جهت جلوگیری از ذوب‌شدن سریع یخ، به مدت ۲۴ ساعت در اتاقک رشد با دمای ۱±۴ نگهداری و سپس به اتاق رشد با دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. سایر نمونه‌ها به طریق مشابه و در درجه حرارت‌های ۶-، ۸-، ۱۰-، ۱۴- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد از فریزر خارج شدند و مشابه قبل، ابتدا برای ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه نگهداری شده و سپس به اتاق رشد انتقال یافتند. کلیه گیاهچه‌ها به مدت ۳ هفته در اتاق رشد نگهداری شدند. در ادامه به‌منظور بررسی میزان تحمل به یخزدگی، درصد خسارت به روش مشاهده‌ای و با استفاده از درجه خسارت ((۱) زنده کامل؛ ۲) نابودی سرشاخه‌ها؛ ۳) دو گره سالم؛ ۴) یک گره سالم؛ ۵) طوقه سالم و ۶) مرگ کامل) تعیین گردید (۵).

۱۰۰ × (۶ / درجه خسارت)= درصد خسارت

همچنین درصد بقای گیاهچه‌ها به روش مشاهده‌ای و به‌صورت زیر تعیین شد: ۱)۱۰۰ درصد بقا؛ ۲) ۷۵ درصد بقا؛ ۳) ۵۰ درصد بقا؛ ۴) ۲۵ درصد بقا و ۵) عدم بقا.

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها (LT_{50})، بر اساس درصد خسارت و درصد بقا با استفاده از تجزیه پروبیت داده‌ها و بر اساس معادله خطی به‌دست آمده برای تمام تیمارها تعیین گردید. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C صورت گرفت و برای رسم نمودارها و تعیین LT_{50} به ترتیب از تجزیه پروبیت و نرم‌افزارهای Excel و Curve Expert استفاده شد. تمامی داده‌ها قبل از تجزیه واریانس، تبدیل به زاویه شده (Arcsine) و سپس تجزیه واریانس بر روی داده‌های تبدیل شده انجام گردید. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

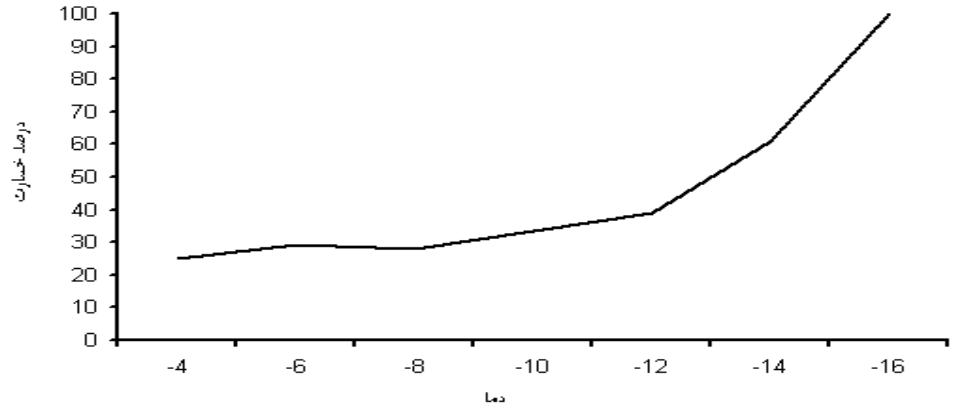
نتایج و بحث

درصد خسارت

نتایج این آزمایش نشان داد که اثر درجه حرارت‌های زیر صفر بر درصد خسارت گیاهان معنی‌دار ($P\leq$ ۰/۰۵) بود. با کاهش دما، درصد خسارت گیاه در هر سه ژنوتیپ افزایش یافت، به گونه‌ای که اختلاف درصد خسارت در دمای ۱۲- و ۱۶- درجه سانتی‌گراد،۶۰ درصد تخمین زده شد که این امر نشان دهنده افزایش ناگهانی آسیب یخزدگی در محدوده دمایی فوق می‌باشد (شکل۱). بین سه ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ و دما از نظر درصد خسارت اختلاف معنی‌داری ($P\leq$ ۰/۰۵) مشاهده نشد.

داده‌های به دست آمده نشان داد که تنش یخزدگی به بافت‌ها و سلول‌های گیاهی خسارت وارد می‌کند. از این‌رو بیشترین درصد خسارت در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد که در سه ژنوتیپ معادل با ۱۰۰درصد بود (جدول ۱). زاین و همکاران (۱۷) عنوان کردند که با کاهش بیشتر دما، خسارت شدیدتری به گیاه وارد شده و سبب از بین‌رفتن بخش‌های قابل‌توجهی در گیاه می‌شود. درجه حرارت‌های زیر صفر با تشکیل یخ در فضای بین سلولی، پتانسیل آب سلول را کاهش داده و سبب پسابیدگی سلول‌ها می‌شوند و از این طریق به گیاه خسارت وارد می‌کنند.

درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها با استفاده از درصد خسارت تعیین گردید که در ژنوتیپ MCC763 وMCC798 دمای ۱۵- درجه سانتی‌گراد و در ژنوتیپ MCC496، درجه حرارت ۱۵/۵- درجه سانتی‌گراد به‌عنوان LT_{50} در نظر گرفته شد. بین سه ژنوتیپ از نظر مقدارLT_{50} تفاوت معنی‌داری ($P\leq$ ۰/۰۵) مشاهده نشد (شکل ۲).



شکل۱- میزان خسارت در درجه حرارت‌های زیر صفر سه رقم نخود

جدول۱- میانگین درصد خسارت در درجه حرارت‌های زیر صفر در سه ژنوتیپ نخود

ژنوتیپ	درجه حرارت (سانتی گراد)						
	-۴	-۶	-۸	-۱۰	-۱۲	-۱۴	-۱۶
MCC496	۲۰/۸ d*	۲۹/۱ d	۳۳/۳ cd	۳۳/۳ cd	۳۷/۵ cd	۵۴/۱bc	۱۰۰/۰a
MCC 763	۲۰/۸ d	۲۹/۱ d	۲۹/۱ d	۳۳/۳ d	۴۱/۶ cd	۶۶/۶ b	۱۰۰/۰a
MCC 798	۲۵/۰d	۲۹/۱ d	۲۹/۱ d	۳۳/۳ cd	۳۷/۵ cd	۶۲/۵ b	۱۰۰/۰a

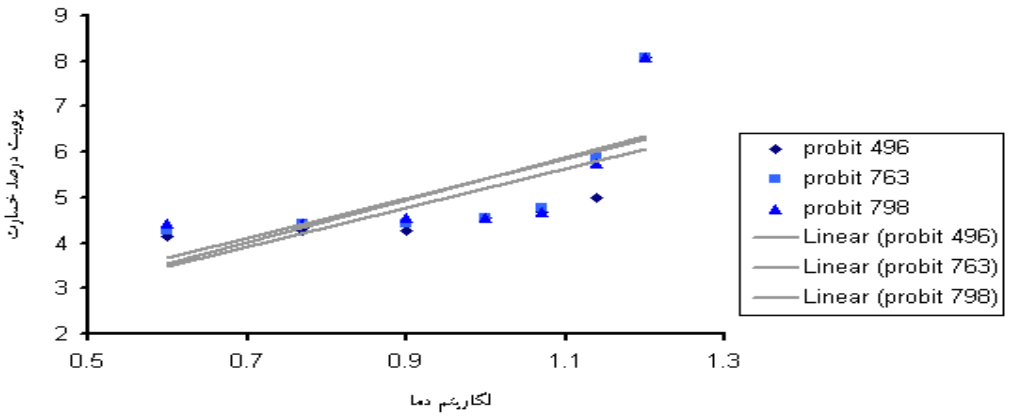
*اعداد با حروف مشابه با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

مشیری (۵) با بررسی تیمارهای دمایی مختلف جهت به‌گزینی ارقام نخود به این نتیجه رسید که در میان دماهای اعمال شده برای تمایز ارقام، دمای ۱۲- تا ۱۶- درجه سانتی‌گراد بیشترین اختلاف را از نظر یزان خسارت بین ارقام آشکار نمودند که به دمای LT_{50} بسیار نزدیک است.

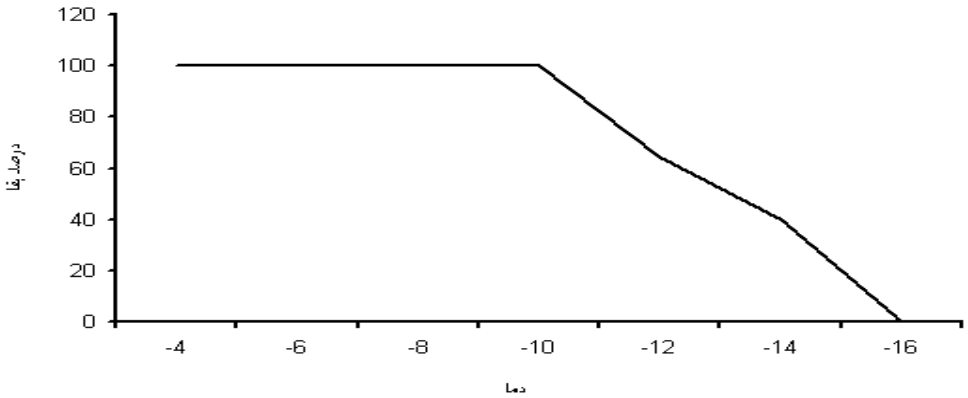
درصد بقا

با بررسی میزان بقای گیاهان پس از اعمال تیمارهای یخزدگی مختلف و اتمام دوره بازیافت و رشد مجدد گیاه، مشاهده شد که بین سه ژنوتیپ از لحاظ درصد بقا، تفاوت معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) وجود ندارد (جدول۲). اما در بین تیمارهای دمایی موردنظر اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) مشاهده شد. به‌طوری‌که اختلاف درصد بقا در دمای ۱۲- تا ۱۶- درجه سانتی‌گراد، بیش از۳۰ درصد تخمین زده شد (شکل۳).

مک ویلیام (۱۲) عنوان کرد که دمای پایین روی سیستم فتوسنتزی دارای اثر مستقیم بوده و موجب از دست رفتن رنگ طبیعی گیاه می‌شود. به نظر می‌رسد در این دما به علت تجمع هیدرات‌های کربن در کلروپلاست‌ها، فتوسنتز کاملاً متوقف می‌شود. در این آزمایش رنگ گیاهان در هر سه ژنوتیپ تا دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد طبیعی و سبز بود، اما در دماهای پایین‌تر، رنگ آن‌ها از سبز به سبز کم‌رنگ و زرد تغییر پیدا کرد تا در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد تمامی بخش‌های گیاه قهوه‌ای شدند. به نظر می‌رسد در دماهای ۴ تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد، سرما اثری بر سیستم فتوسنتزی گیاهان نداشته و گیاه قادر به سنتز کلروفیل و انجام فتوسنتز است، اما در دماهای پایین، روند تغییرات درصد بقا کاهشی بوده است. به‌عبارتی با اعمال دماهای پایین‌تر، اختلال در سیستم فتوسنتزی گیاه، باعث کاهش سوخت و ساز شده تا در نهایت فعالیت این سیستم متوقف شده یا از بین‌رفته است. جدول ۲ نشان می‌دهد که هر سه ژنوتیپ قادر به تحمل دماهای پایین (۱۰- درجه سانتی‌گراد) بوده‌اند و تغییری در درصد بقا و زنده‌مانی گیاهان رخ نداده است (بقا ۱۰۰ درصد)، اما از دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد، بقا در سه ژنوتیپ کاهش یافت تا در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد به صفر رسید. در مطالعه دیتا و همکاران (۲۰۰۶) بر روی گیاه زیتون نتایج مشابهی حاصل شده است. ساقه‌های زیتون برای تحمل به سرما در شرایط این‌ویترو ارزیابی شدند. سازگاری به سرما با افزایش تحمل به سرما مشاهده شد و LT_{50} در حدود ۴ درجه پایین‌تر از ساقه‌های تطابق نیافته به سرما بود، آسیب سرمایی ساقه‌های سازگار در ۱۵- درجه سانتی‌گراد واقع شد در حالی‌که ساقه‌های شاهد در ۱۰- درجه سانتی‌گراد صدمه دیده بودند.



شکل۲- رابطه درصد خسارت با درجه حرارت پایین در سه رقم نخود



شکل ۳- میزان بقا در درجه حرارت‌های زیر صفر سه رقم نخود

در این آزمایش LT50، بر اساس درصد بقا نیز، تعیین گردید که مقدارآن به‌ترتیب در سه ژنوتیپ MCC 496، MCC 763 و MCC 798 برابر با ۱۳-، ۱۲- و ۱۲/۵- درجه سانتی‌گراد تخمین زده شد و مشابه با درصد خسارت، بین ژنوتیپ‌ها از نظر درجه حرارت کشنده برای ۵۰ درصد نمونه‌ها، اختلاف معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) مشاهده نشد.

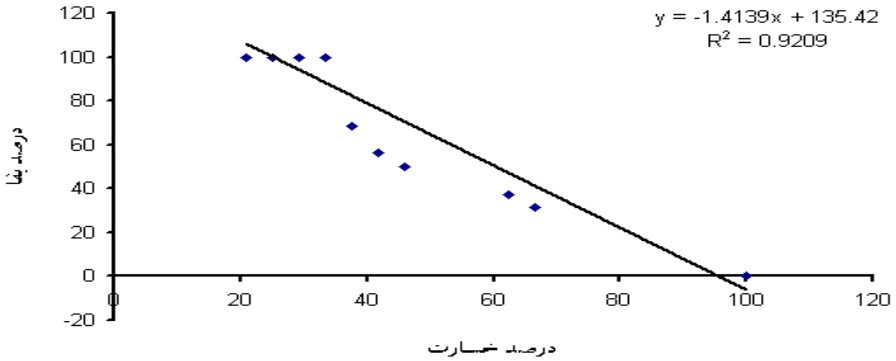
در بررسی همبستگی بین درصد خسارت ودرصد بقای سه رقم نخود مشاهده شد که بین این دو پارامتر همبستگی بسیار معنی‌داری ($r = ۰/۹۲^{**}$) وجود دارد به طوری‌که با کاهش درصد بقا، درصد خسارت ارقام مورد بررسی افزایش یافت (شکل۴). این همبستگی بالا احتمالاً می‌تواند نشان‌دهنده کارایی این روش در ارزیابی تحمل به سرما در گیاهان مورد مطالعه در شرایط این‌ویترو باشد.

در روش‌های مزرعه‌ای نیز مشابه با این آزمایش، درصد بقای گیاهان پس از گذراندن ۲۱ روز از اعمال تیمارهای سرمایی اندازه‌گیری (اتمام دوره رشد مجدد) و LT_{50} گیاهان بر اساس درصد بقای آن‌ها تعیین می‌گردد. مقایسه درصد بقای سه ژنوتیپ در محیط این ویترو و در آزمایش‌های مزرعه‌ای نشان داد که درصد بقای گیاهان در محیط این ویترو در مقایسه با مزرعه در یک محدوده‌ی دمایی خاص بیشتر بوده است.

جدول۲- میانگین درصد بقا در دماهای یخزدگی سه ژنوتیپ نخود.

	درجه حرارت (واحد)						
ژنوتیپ	-٤	-٦	-٨	-١٠	-١٢	-١٤	-١٦
MCC 496	١٠٠/٠a *	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	٦٨/٧ b	٥٠/٠cd	٠/٠ e
MCC 763	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	٦٥/٢bc	٣١/٢d	٠/٠ e
MCC 798	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	١٠٠/٠a	٦٨/٧ b	٣٧/٥ cd	٠/٠ e

*اعداد با حروف مشابه با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل٤- رابطه بین درصد خسارت و درصد بقا در ارقام نخود

به طوری‌که گیاهچه‌های حاصل از کشت این‌ویترو در محدوده دمایی ۱۰- درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ درصد بقا داشتند درحالی‌که در همین محدوده دمایی در شرایط مزرعه، متوسط بقای گیاهان ۸۰ درصد بوده است (جدول ۳). همین امر در مورد محدوده دمایی ۱۴- درجه سانتی‌گراد نیز صدق می‌کند (۲و۴).

افزایش درصد بقای گیاهان در شرایط این ویترو را ممکن است بتوان به عوامل مختلفی نسبت داد که مهم‌ترین آن‌ها، در دسترس‌بودن مقدار قند بیشتر در شرایط این ویترو است که با افزایش خاصیت اسمزی سلول‌ها، میزان تحمل به سرما را در گیاه افزایش می‌دهد (۵).

به‌طورکلی از آنجایی‌که نتایج این مطالعه، مشابهت زیادی با نتایج مزرعه‌ای دارد و از سویی سهولت، صرفه‌جویی در زمان و نیز تثبیت شرایط محیطی سبب کاهش خطای آزمایش می‌گردد، به‌گزینی ارقام نخود در محیط این ویترو امکان‌پذیر است و می‌توان در صورت بهینه‌نمودن این شیوه، از گزینش این‌ویترو به عنوان جایگزینی مناسب برای گزینش مزرعه‌ای استفاده نمود.

جدول۳- میانگین درصد بقای سه ژنوتیپ نخود در محیط این‌ویترو با نتایج حاصل از آزمایشات مزرعه‌ای.

ژنوتیپ	شرایط این ویترو درجه حرارت ۱۰- درجه سانتی‌گراد	*شرایط مزرعه (سال زراعی ۸۶-۸۵) محدوده دمایی ۹- تا ۱۰- درجه سانتی‌گراد	شرایط این ویترو درجه حرارت۱۴- درجه سانتی‌گراد	**شرایط مزرعه (سال زراعی ۸۳-۸۲) محدوده دمایی ۱۳- تا ۱۴- درجه سانتی‌گراد
MCC 496	۱۰۰/۰	۸۱/۰	۶۸/۷	۶۴/۸
MCC 763	۱۰۰/۰	۸۸/۰	۶۵/۲	۵۱/۸
MCC 798	۱۰۰/۰	۹۲/۰	۶۸/۷	۵۶/۸

*اقتباس از صداقت خواهی، ۱۳۸۶

**اقتباس از باقری و همکاران، ۱۳۸۷

منابع

۱- باقری، ع.، ا. نظامی، و م. سلطانی. ۱۳۷۹. اصلاح حبوبات سرمادوست برای تحمل به تنش‌ها. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی.

۲- باقری، ع.، ا. نظامی، ح. پرسا، و م. غلامی. ۱۳۸۷. ارزیابی تحمل به سرما در نخود به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مناسب جهت کاشت پاییزه در مناطق مرتفع ایران. گزارش نهایی طرح مطالعات و تحقیقات بین دانشگاهی (دانشگاه محور: دانشگاه فردوسی مشهد. دانشگاه همکار: دانشگاه بوعلی سینا همدان).

۳- پارسا، م. و ع. باقری. ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

۴- صداقت خواهی، ح. ۱۳۸۶. ارزیابی کشت انتظاری ژنوتیپ‌های نخود متحمل به سرما در شرایط آب و هوایی مشهد. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد.

۵- مشیری، ف. ۱۳۸۱. بررسی اثر عوامل خوسرمایی و محیط کشت بر تحمل به سرما جهت به‌گزینی ارقام نخود در شرایط این ویترو. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد.

6- Adamsen, F. J., and T. A. Coffelt. 2005. Planting date effects on flowering seed yield, and oil content of repe and crambe cultivars. Indus. Crop and Prod. 21: 293-307.

7- Blum, A. 1988. Plant Breeding for Environmental Stress. CRC press.

8- Chawla, H. S. (2002). Introduction to plant biotechnology. Genetic and plant breeding department. G. B. Plant university of agriculture and technology. Pantnagar, India. Science publishres, Inc. Second edition.

9- Dita, M. A., N. Rispail, E. Prats, D. Rubiales, and K. B. Singh. 2006. Biotechnology approaches to oveacome biotic and abiotic stress constraints in legumes. Euphytica. 147: 1-24.

10- Fuller, M. P., Meturali, E. M. R., Eed, M. H., and A. J. Jelllings. 2006. Evaluation of abiotic stress resistance in mutated populations of cauliflower. Plant Cell, tissue and Organ Culture. 86: 239-248.

11- Hana, B. and J. C. Bischofa. 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryo Bio. 48:8-21.

12- Mcwilliam, J. R. 1994. Physiological basis for chilling stress and the consequences for crop production. In "Crop

Reaction to Water and Temperature Stresses in Humid Temperature Climate". (Eds. C. D. Raper and P. J. Kramer). West view Press. pp.113-132.

13- Mohan Jain, S. 2001. Tissue culture derived variation in crop improvement. Euphytica. 118: 153-166.
14- Singh, K. B., and M. V. Reddy. 1996. Improving chickpea yield by incorporating resistance to ascochyta blight. Theor. Appl. Genet. 92: 509-515.
15- Singh, K. B. 1997. Chickpea (*Cicer arientinum* L.). Field Crops Research. 53: 161-170.
16- Xiao, Z. W., and B. Han. 2004. An interspecific somatic hybrid between *Actinidia chinensis* and *Actinidia kolomikta* and its chilling tolerance. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 79: 299-306.
17- Xin, Z., and J. Browse. 2000. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. Plant Cell and Environment. 23: 893-902.