



ارزیابی مورفولوژیک و گزینش تک درختان متحمل به تنش یخ‌زدگی در باغات زیتون استان گلستان

عیسی کرامتلو^۱ - سعید نواب‌پور^{۲*} - خلیل زینلی‌نژاد^۳ - الهه توکل^۴ - سید مهدی حسینی مزینانی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۲

چکیده

دمای پایین یکی از تنش‌های عمده غیر زیستی است که بر رشد و نمو و تولید میوه زیتون تاثیر مستقیم دارد. این مطالعه در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ با هدف ارزیابی خسارت یخ‌زدگی و شناسایی تک درختان متحمل به تنش یخ‌زدگی زودرس پاییزه پس از وقوع یخبندان آذر ماه ۱۳۹۵ در باغات زیتون شرق استان گلستان انجام شد. علائم تنش یخ‌زدگی در درختان زیتون با توجه به نوع رقم و ژنوتیپ، شامل خشکیدگی و ریزش برگ، ترکیدگی شاخه‌های یک تا چند ساله، تیرگی رنگ پوست و چوب، خروج محتویات میوه و تغییر رنگ میوه بلافاصله بعد از تنش یخ‌زدگی تا هفت ماه بعد از تنش مطالعه شد. در ابتدا ۱۱۸ تک درخت زیتون که نسبت به سرما از خود تحمل نشان داده بودند شناسایی و مجدداً یک ماه، چهار ماه و هفت ماه بعد از تنش، مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت، تعداد ۳۸ اصله درخت زیتون با تحمل پایدار نسبت به تنش یخ‌زدگی در باغات مختلف شناسایی، شماره‌گذاری و از نظر صفات مکانی، عملکردی و مورفولوژیک بررسی شدند. تراکم متوسط کانونی، دارا بودن طول میان‌گره متوسط و عادت رشد گسترده، رشد رویشی کمتر، ریزش نکردن برگ و عدم ترکیدگی پوست مهمترین صفات مورفولوژیک در درختان شناسایی شده بود. برخی از این تک درختان در ارتفاع و دامنه‌های مختلف، علاوه بر تشکیل میوه، الگوهای رفتاری مشابهی نسبت به تنش یخ‌زدگی نشان دادند که با انجام تحقیقات تکمیلی، احتمال معرفی ارقام متحمل به سرما با عملکرد قابل قبول از بین درختان شناسایی شده وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش غیر زیستی، تراکم کانونی، سرمای زودرس، عادت رشد

مقدمه

بحرانی در نظر می‌گیرند (۱۷). دماهای کمتر از منفی ۱۲ درجه سانتی‌گراد می‌تواند آسیب جدی به گیاه وارد کرده و حیات گیاه را مورد تهدید قرار دهد (۲۷). تنش یخ‌زدگی اغلب در اواخر پاییز و زمستان علاوه بر خسارت به محصول زیتون رقم‌های روغنی دیررس، باعث خشکیدگی شاخساره سال جاری و شاخه‌های یکساله می‌شود و در خوش بینانه‌ترین حالت، محصول سال آینده آسیب جدی می‌بیند. تنش یخ‌زدگی در ابتدا سبب تشکیل بلورهای یخ در آوندهای گیاهان می‌شود؛ سپس این بلورها به سرعت، تمام شاخه‌های گیاه را در بر می‌گیرند، در نهایت یخ به فضای بین سلولی نفوذ می‌کند و باعث ایجاد اختلاف فشار اسمزی در بیرون و درون سلول شده و منجر به نشت آب و پلاسمولیز شدید سلول‌ها می‌شود. فرآیند بازگشت از یخ‌زدگی در کنار تشکیل حباب‌های هوا در بافت آوندی به شکل قابل توجهی باعث ایجاد آسیب و از بین رفتن بخش هوایی گیاه می‌گردد (۴۲).

کامبود آب مهمترین تنشی است که سلول‌های یخ زده از آن رنج می‌برد. افزایش غلظت ترکیبات سلولی، رسوب پروتئین، تغییر در نفوذ

زیتون (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *europaea*; Oleaceae) از گونه‌های باغی همیشه سبز و دیپلوئید ($2n=2x=46$) است. صفت همیشه سبز بودن درخت زیتون حساسیت این گیاه را به کاهش دما افزایش داده است. دمای پایین یکی از تنش‌های عمده غیر زیستی است که رشد و تولید میوه زیتون را تهدید می‌کند. کاهش دما در اواخر پاییز، زمستان و اوایل بهار مهمترین عوامل محدود کننده رشد زیتون می‌باشد. اگرچه دماهایی که به زیتون آسیب وارد می‌کند با توجه به شرایط آب و هوایی متفاوت هستند، با این حال اغلب دمای منفی ۷ درجه سانتی‌گراد را دمای

۱ و ۲ - به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* - نویسنده مسئول: (Email: s.navabpour@gau.ac.ir)

۴ - استادیار، بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۵ - استاد پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.74100

منابع ژنتیکی جدید، مطالعه و شناسایی تک درختان متحمل به سرما نسبت به شرایط نامساعد محیطی می‌باشد. با توجه به گستردگی و خسارت تنش یخ زدگی آذر ماه ۱۳۹۵ و نگرانی باغداران از تکرار این تنش در سال‌های آینده، این مطالعه با هدف بررسی خسارت یخ زدگی و شناسایی تک درختان متحمل به یخ‌زدگی زودرس پاییزه در باغات زیتون شرق استان گلستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ بر روی تک درختان متحمل به سرما، پس از وقوع یخبندان آذر ماه ۱۳۹۵ شرق استان گلستان، انجام شد. تاکنون با وجود تکرار وقوع سرما در سال‌های متمادی، مطالعه قابل استنادی در باغات زیتون استان از نظر تحمل به شرایط سرما انجام نشده است. مراجعه به باغات زیتون در دو منطقه عمده پرورش زیتون در شرق استان؛ حوزه اول شامل گنبد، کلاله و مراوه‌تپه و حوزه دوم آزادشهر، مینودشت و گالیکش با شرایط آب و هوایی نسبتاً مشابه برنامه‌ریزی شد. معیار تحمل به سرما، سبز بودن و ریزش نکردن برگ‌ها، سالم بودن پوست درخت در انواع شاخه‌های یک تا چند ساله و تنه بود. درختان سالم در باغات مختلف در مرحله اول (سه روز بعد از تنش) شناسایی و پلاک گذاری شد. تک درختان شناسایی شده مجدداً یک ماه بعد از تنش (مرحله دوم)، سپس چهار ماه بعد (مرحله سوم) و در نهایت هفت ماه (مرحله چهارم) بعد از تنش مطالعه و درختان گزینش شده شماره گذاری (عدد-CTO) شدند. بررسی‌های مربوط به صفات مورفولوژیک در هر یک از ژنوتیپ‌ها بر اساس نتایج پروژه CFC/IOOC/03 (۱۲) و مطالعه لودینی و همکاران (۲۸) انجام شد (جدول ۱).

سن درختان گزینش شده از ۱۱ تا ۲۵ سال متفاوت بود. برای محاسبه عملکرد محصول سال ۱۳۹۵ درختان گزینش شده به داده‌های کارشناسان باغبانی مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان‌های مورد مطالعه و اطلاعات باغداران استناد شد. برای تعیین جهت شیب و درصد آن، پلیگون باغات زیتون سال ۱۳۹۵ با نرم‌افزار تحت وب Google Earth ترسیم، سپس با نرم‌افزار ArcGIS³ محاسبه شد. صفات ارتفاع درخت، ارتفاع کانوبی و متوسط قطر کانوبی از طریق تهیه تصاویر دیجیتالی و آنالیز آن با نرم‌افزار دیجی مایزر⁴ (۴۵) تعیین شد. از آنجائیکه تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر مدیریت عملیات باغبانی شامل هرس، تغذیه، مدیریت کف باغ و آبیاری در باغات زیتون مورد بررسی مشاهده نشد، لذا از مطالعه نقش مدیریت عملیات باغبانی در مقاومت به تنش سرما صرف نظر شد.

پذیری غشاء سلولی، کاهش حجم سلول و تغییر pH، از جمله نتایج مستقیم یخ‌زدگی در سلول محسوب می‌شود (۴۷). در حال حاضر در استان گلستان نزدیک به ده هزار هکتار باغ زیتون وجود دارد که ۶۰ درصد آن را ارقام کنسروی و باقیمانده را رقم‌های روغنی شامل می‌شود. با این حال در ده سال گذشته به دفعات شرایط سرما در باغات زیتون تجربه شده است. خسارت در سال‌های ۱۳۸۶، ۱۳۹۲ و وقوع تنش سرما در اوایل آذر ماه ۱۳۹۵ به بیش از نه هزار هکتار از باغات زیتون استان آسیب وارد کرد.

مکانیسم‌های تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان، بر پایه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مرتبط با آسیب یخ زدگی متفاوت است. این مکانیسم‌ها شامل فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تغییر در ترکیب غشاء سلولی، فعال‌سازی مسیر فیتوهورمونی سیگنال سرما مانند اسید آسبیک اسید (ABA)، تجمع ترکیبات محافظت کننده از سرما و فعال‌سازی ژن‌های پاسخ دهنده به سرما است (۵، ۱۱، ۱۶، ۲۲ و ۲۳). درخت زیتون سوپرکولینگ^۱ (اجتناب از تشکیل یخ در بافت‌ها) مکانیسم اصلی مقاومت به سرما است (۳۲ و ۴). ارقام مختلف زیتون واکنش‌های متفاوتی در برابر تنش سرما دارند. با این وجود، به علت افزایش تقاضا نسبت به روغن با کیفیت زیتون، کشت آن در مناطق با عرض جغرافیایی بالاتر از منشاء کاشت آن، در حال افزایش است (۱۴، ۲۹ و ۳۶). این مسئله به ویژه در استان گلستان که کشت زیتون در اراضی شیبدار کم بازده یکی از اولویت‌های برنامه توسعه باغات می‌باشد، اهمیت ویژه‌ای دارد. از آنجائیکه انتخاب رقم‌های مقاوم و درک مکانیسم مقاومت به سرما، موثرترین روش برای اجتناب از خسارت سرما با روش‌های اصلاح گیاهی و مهندسی ژنتیک به شمار می‌رود، بنابراین اولین گام برای رسیدن به این هدف، شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در مناطق زیتون خیز می‌باشد؛ این هدف از نیازهای اساسی توسعه زیتون در استان و کشور می‌باشد. تعیین میزان تحمل به سرما در گیاهان چوبی نیازمند صرف هزینه زیاد، زمان طولانی و شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و یا مزرعه‌ای می‌باشد. تاکنون روش‌های مختلفی برای بررسی و انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در گونه زیتون پیشنهاد شده است. این روش‌ها شامل تراکم روزنه‌ها (۳۹)، فعالیت فتوسنتزی (۳)، اندازه روزنه‌ها (۳۸)، آزاد شدن ترکیبات فنولی (۴۰)، آنالیز افتراقی حرارتی (۱۸)، نشت یونی (۲۶)، تکنیک الکتروشیمیایی در ترکیب با آنالیز فراکتال برگ^۲ (۷)، کلروفیل فلورسنسی (۴۳) و درجه‌بندی ریزش برگ و ترکیب پوست در تنش یخ زدگی طبیعی (۲۸) می‌باشد. با توجه به فنوتایپینگ طبیعی نسبت به تنش دمای پایین در سال‌های اخیر بویژه تنش یخ‌زدگی آذر ماه ۱۳۹۵، یکی از روش‌های سریع دستیابی به

3- ESRI ArcGIS for Desktop v10.4

4- Digimizer (v.4.6.1) Application MedCalc Software

1- Supercooling

2- Leaf fractal analysis

برای اندازه‌گیری طول میان‌گره در ۱۰ شاخه میوه دهنده (یکساله) واقع در شاخه‌های اطراف درختان گزینش شده، تعداد ۵۰ میان‌گره با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری و ثبت شد. طول میان‌گره کمتر از یک سانتی‌متر، بین ۱-۳ سانتی‌متر و بیشتر از ۳ سانتی‌متر به ترتیب کوتاه، متوسط و طویل طبقه‌بندی شدند (۱۲).

جدول ۱- صفات مورفولوژیک مورد بررسی تک درختان زیتون گزینش شده هفت ماه بعد از تنش یخ‌زدگی
Table 1- Morphological traits of the selected olive trees on seventh months after the freezing stress

ردیف Row	صفت Trait	واحد Unit	روش اندازه‌گیری Measurement method
1	سن درختان Tree age	سال Year	تعداد سال از زمان احداث باغ Year after planting
2	ارتفاع محل Location altitude	متر Meter	نرم افزار گوگل ارث Google Earth software
3	جهت شیب و درصد آن Dip direction and its percentage	-	جهت جغرافیایی و گوگل ارث Cardinal direction
4	عملکرد سال گذشته Previous yield	کیلوگرم Kg	متوسط عملکرد سال گذشته Past average yields
5	ارتفاع درخت Tree height	متر Meter	نرم افزار دیجی مایزر Digimizer software
6	ارتفاع کانوپی Canopy height (H)	متر Meter	نرم افزار دیجی مایزر Digimizer software
7	متوسط قطر کانوپی Average of canopy diameter (D)	متر Meter	نرم افزار دیجی مایزر Digimizer software
8	حجم کانوپی Canopy volume (CV)	متر مکعب m ³	$CV=0.5236 \times (D)^2 \times H$
9	مساحت سطح کانوپی Canopy surface area(CSA)	متر مربع m ²	$CSA=3.1416 \times DH$
10	محیط تنه Trunk perimeter (TP)	میلی متر mm	متر پارچه‌ای Sewing tape measure
11	قطر تنه Trunk diameter (TD)	سانتی متر cm	$TD=(TP/2\pi) \times 2$
12	مساحت مقطع عرضی تنه Trunk cross section area (TCSA)	سانتی متر مربع cm ²	$TD= \pi \times (TD/2)^2$
13	طول میان‌گره Length of internode	سانتی متر cm	خط‌کش Ruler
14	عادت رشد Growth habit	کد Code	۱- عمودی ۲- پهن ۳- آویزان 1: erect, 2: spreading, 3: drooping
15	تراکم کانوپی Canopy density	کد Code	نامتراکم ۲- متوسط ۳- متراکم 1: sparse, 2: medium, 3: dense
16	ریزش برگ کانوپی Canopy defoliation	کد Code	۰- بدون ریزش ۱- <50% ۲- >50% ۳- ریزش کامل 0: no leaf drop, 1: <50%, 2: >50% and 3: totally defoliated
17	درجه گسترش ترکیبگی پوست Barksplit ranging	کد Code	۰- بدون ترک ۱- شاخه یکساله ۲- شاخه دو و سه ساله ۳- شاخه اصلی ۴- تنه 0: none, 1: only on 1-year-old shoots, 2: extended to 2- and 3-years-old branches, 3: extended to primary branches and 4: extended to the trunk
18	گلدهی و تشکیل میوه Flowering and fruit set	کد Code	۱- عدم تشکیل گل و میوه ۲- تشکیل گل و میوه 1: no-flower, 2: flowering and fruit Production

ورود جبهه هوای سرد به استان و کاهش ناگهانی دما به پایین تر از صفر درجه سانتی‌گراد و پایداری این شرایط به مدت چهار روز در هفته اول آذر ماه (جدول ۲)، حادث شد (۴۶).

بررسی تعداد روزهای با دمای زیر صفر نشان داد، حداقل به مدت ۴۸ ساعت؛ در روزهای سوم و چهارم آذر ماه ۱۳۹۵، باغات زیتون در دمای زیر صفر درجه سانتی‌گراد قرار داشتند. با این حال خسارت عمده یخ‌زدگی به باغات زیتون به علت کاهش دما به کمتر از منفی ۷ درجه سانتی‌گراد در روز چهارم آذر ماه بود. میانگین دمای هوا در روز چهارم آذر ماه از منفی ۴/۴ تا منفی ۸ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. حداقل دمای ثبت شده در مناطق مورد مطالعه در روز چهارم آذر به ترتیب در مراوه تپه، گنبد، کلاله و مینودشت، منفی ۱۴/۲، منفی ۱۲/۷، منفی ۱۲/۳ و منفی ۸/۵ درجه سانتی‌گراد است (۴۶). در همین زمان بیشینه سرعت وزش باد شش متر بر ثانیه در مینودشت و مراوه تپه گزارش شده است. در این شرایط هوای سرد نزدیک سطح زمین و هوای گرمتر در ارتفاع ۷/۶ تا ۱۵/۲ متر قرار می‌گیرد (۱۷). عوامل موثر در خسارت یخ‌زدگی، حداقل دما، مدت زمان آن به همراه مرحله سازگاری به سرما در گیاه می‌باشد (۴۹). بارانکو و همکاران (۸) آستانه خسارت منفی ۸/۶ را به عنوان دمای خسارت زننده به ارقام زیتون گزارش کرده‌اند، در حالی که روئیز و همکاران (۴۱) دامنه دمایی بین صفر تا شش درجه سانتی‌گراد زیر صفر را دما آسیب زننده به سلول‌های رقم‌های مختلف زیتون بیان کرده‌اند. وقوع تنش یخ‌زدگی در باغات زیتون تنها در شمال ایران نیست و در بسیاری از مناطق زیتون خیز دنیا تجربه شده است. تنش یخ‌زدگی به دفعات در کشورهای ایتالیا، آمریکا و استرالیا خسارت وارد کرده است (۲۸ و ۳۴).

صفت عادت رشد به پراکنش طبیعی شاخه‌های اصلی و شاخساره قبل از تربیت و هرس درختان اشاره دارد. با این وجود از آنجائیکه در بیشتر باغات مراجعه شده، در درختان گزینش شده حداقل هرس انجام شده بود، این صفت به منظور گروه‌بندی درختان متحمل به سرما در سه طبقه عمودی، پهن (گسترده) و آویزان (مجنون) انتخاب شد (جدول ۱). تراکم کانوپی، ریزش برگ، درجه گسترش ترکیبگی پوست، گلدهی و تشکیل میوه بر اساس اطلاعات جدول (۱) ارزیابی شد. برای محاسبه آمار توصیفی و تجزیه صفات از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج و بحث

تحلیل داده‌های هواشناسی

تنش سرما به دفعات در سال‌های ۱۳۸۶، ۱۳۸۹، ۱۳۹۰، ۱۳۹۲ و ۱۳۹۵ به باغات زیتون آسیب وارد کرد. در ۱۷ دی ماه ۱۳۸۶ با کاهش دمای هوا به کمتر از صفر درجه سانتی‌گراد در شهرهای کلاله، گنبد و مراوه تپه به ترتیب با منفی ۸/۶، منفی ۱۱/۶ و منفی ۱۲ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاد. در ۱۴ بهمن ماه سال ۱۳۸۹ به علت حجم زیاد برف باعث شکسته شدن شاخه‌ها و در ۲۲ آذرماه ۱۳۹۰ به میوه‌های ارقام دیررس مانند کرنائیکی خسارت وارد شد. در ۱۴ بهمن ماه ۱۳۹۲ دمای هوای گنبد، مراوه تپه و کلاله به ترتیب به منفی ۹، منفی ۱۰/۴ و منفی ۱۰/۸ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. به علت یافت نشدن اطلاعات قابل استناد هواشناسی در شهرهای آزادشهر، مینودشت و گالیکش در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۹۲ از گزارش حداقل دما و تحلیل شرایط سرما در این مناطق صرف نظر شد. سال ۱۳۹۵ با

جدول ۲- رکورد حداقل دمای ثبت شده در هفته اول آذر ماه سال ۱۳۹۵ در ایستگاه‌های هواشناسی مناطق عمده پرورش زیتون در شرق استان

گلستان

Table 2- Minimum recorded temperature in the first week of December 2016 in the meteorological stations of the major regions of olive growing in the east of Golestan province

منطقه Region	روز Day						
	1	2	3	4	5	6	7
مینودشت Minudasht	00.8	-03.1	-05.5	-08.5	-07.1	-03.7	06.4
گنبد Gonbad	-00.5	-05.1	-05.4	-12.7	-07.9	-01.4	-00.6
کلاله Kalaleh	-00.5	-05.3	-08.0	-12.3	-08.7	-05.0	-01.3
مراوه تپه Maravehtapeh	-02.6	-05.5	-10.5	-14.2	-07.3	-01.7	03.2

علائم تنش یخزدگی

سه روز بعد از تنش یخزدگی و بروز علائم اولیه خسارت، نوک سوختگی و خشکیدگی برگ، ترکیدگی و خشک شدن شاخه‌های سال جاری، ترکیدگی شاخه‌های یک ساله، دوساله، چند ساله و تنه در رقم‌های حساس، ریزش برگ، خروج شیره گیاهی از تنه و شاخه‌های اصلی، تیرگی رنگ پوست و چوب، خروج محتویات میوه به بیرون آگزوکارپ در برخی رقم‌ها مانند آرکین و آربوسانا، رنگ پریدگی و چروکیدگی میوه در سایر رقم‌ها بود. ده روز بعد از تنش، ریزش شدید برگ‌ها، جدا شدن کامل پوست شاخه‌های سال جاری از چوب و قهوه‌ای شدن چوب تنه در رقم‌های حساس مانند کرنائیکی و آربوسانا نمایان بود. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند که اندام‌های مختلف درخت زیتون نسبت به سرما مقاومت متفاوتی از خود نشان می‌دهند، با این حال برگ‌ها حساس‌ترین اندام درخت زیتون تشخیص داده شد. در یک ارزیابی آزمایشگاهی مانکوسو (۲۹) حساسیت اندام‌های زیتون به سرما را به ترتیب ریشه، برگ، شاخساره و جوانه تعیین کرد. از آنجائیکه ریشه در خاک قرار دارد از خسارت تنش سرما محافظت می‌شود. تیرگی پوست می‌تواند نتیجه اکسیداسیون مواد فنلی در دیواره سلولی به علت متلاشی شدن سلول‌های زنده به علت کریستال‌های یخ باشد (۱۷ و ۱۹).

یک ماه بعد از تنش در رقم آرکین که نوک سوختگی برگ علامت غالب تنش بود، ریزش ناگهانی برگ ظاهر شد و در سایر درختان حساس علاوه بر ریزش کامل برگ، خشکیدگی چوب در سرشاخه‌ها مشخص بود. لودلینی و همکاران (۲۸) در مطالعه رفتار برخی از ارقام زیتون به یخبندان طبیعی گزارش کردند، رقم‌های آرکین و FS17 بیشترین ریزش برگ را داشتند. گومز دل کامپو و بارانکو (۱۸) در ارزیابی مقاومت به تنش یخزدگی درختان یک‌ساله رقم‌های مختلف زیتون نسبت به وقوع یخبندان ۱۱ نوامبر و ۱۶ دسامبر ۲۰۰۱ در مادرید اسپانیا نشان دادند که رقم کورنی‌کابرا و آرکین کمترین علائم تنش یخزدگی را داشتند؛ در حالی که رقم‌های امپلتر، فرانویو، اوخی بلانکا بیشترین علائم خسارت یخزدگی را بروز دادند.

شناسایی تک درختان متحمل به سرما

علائم تنش یخزدگی در باغات شرق استان گلستان کاملاً مشهود بود. با این حال در بین درختان آسیب دیده، تک درختانی مشاهده شد که هیچ گونه علائمی از خسارت یخزدگی نداشتند. این درختان ممکن است در میزان تحمل به سرما با یکدیگر تفاوت داشته باشند (۲). برای بررسی بیشتر این درختان با توجه به معیار انتخاب درختان متحمل به سرما در ابتدا تعداد ۱۱۸ تک درخت زیتون در مناطق مختلف که نسبت به سرما از خود تحمل نشان داده بودند شناسایی گردید. سپس

در ارزیابی مرحله دوم (یک ماه بعد از تنش) این درختان مجدداً ارزیابی شدند. در ارزیابی مرحله سوم (اسفند ماه ۱۳۹۵) تعدادی از درختان شناسایی شده با خشکیدگی برگ مواجه شدند یا به علت قطع درختان توسط باغدار از ادامه مطالعه حذف شدند. در ارزیابی خرداد ماه ۱۳۹۶ (هفت ماه بعد از تنش) برخی از این درختان بطور کامل خشک شدند بطوریکه برگ‌های خشک قهوه‌ای بر روی درخت نمایان بود. این درختان رشد رویشی جدید نداشتند، اما شاخساره و برگ تا سه ماه بعد از تنش یخزدگی سالم بود. در برخی گیاهان به ویژه گیاهان چوبی، علائم یخزدگی ممکن است چند ماه یا حتی یک یا دو سال بعد ظاهر شود (۳۱). در نهایت تعداد ۳۸ اصله درخت زیتون که تحمل نسبتاً پایداری نسبت به سرما از خود نشان داده بودند، انتخاب و از نظر ۱۸ صفت مورفولوژیک، عملکردی و مکانی (جدول ۱) ارزیابی شدند. از آنجائیکه اطلاعات قابل استنادی در خصوص نوع رقم درختان شناسایی شده وجود نداشت، از گروه‌بندی این درختان بر حسب رقم اجتناب شد. گئوریورو و همکاران (۲۰) در مطالعه مزرعه‌ای کلون‌های رقم زیتون لچینو نسبت به تنش یخزدگی سطوح مختلفی از تحمل در این کلون‌ها را گزارش کردند. الفی و همکاران (۱) بعد از وقوع یخبندان طبیعی در ایتالیا رقم‌های پینتون و لچینو را متحمل (کمترین آسیب) و رقم کانینو و روشیولا را به عنوان رقم‌های حساس معرفی کردند. مطابق با نتایج این تحقیق لودلینی و همکاران (۲۸) بعد از وقوع یخبندان سال ۲۰۱۳ در مرکز ایتالیا اختلاف در تحمل به یخ-زدگی و بازجوانه‌زنی رقم‌های مختلف زیتون را گزارش کردند.

ارزیابی مکانی تک درختان متحمل به سرما

مشخصات صفات اندازه‌گیری شده و میزان ضریب تنوع هر صفت در ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در جدول ۳ آمده است. باغات زیتون و تک درختان متحمل به سرما به ترتیب در محدوده ارتفاع ۵۲ تا ۶۱۰ متر و ۱۰۷ تا ۳۸۷ متر از سطح دریا قرار دارند. تعداد کل درختان بررسی شده (۱۴۸۰۶۴ اصله درخت) و درختان متحمل به سرما گزینش شده (۳۸ اصله) بر حسب ارتفاع از سطح دریا در جدول ۴ طبقه بندی شده است. جدول ۴ نشان می‌دهد کمترین تعداد درختان (۵ درصد) در ارتفاع بین صفر تا ۱۰۰ متر و ۴۰۰ تا ۵۰۰ متر قرار دارند و ۵۵ درصد درختان در ارتفاع بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ متر (بیشترین تعداد درختان) جای دارند. در ارتفاع بین ۵۰۰ تا ۶۰۰ متر هیچ درخت متحمل به سرما شناسایی نشد. به طور کلی ۷۱ درصد درختان شناسایی شده در ارتفاع بین ۱۰۰ تا ۳۰۰ متر قرار داشتند. هر چند فاکتورهای محیطی در مناطق مختلف تأثیر متفاوتی بر محصولات باغبانی دارد، از آنجائیکه بیشترین سطح باغات زیتون در ارتفاع ۱۰۰ تا ۳۰۰ متر احداث شده است ممکن است عامل شناسایی بیشترین تعداد درختان باشد. شاخص تنوع برای این صفت ۳۵/۰۸ درصد می‌باشد.

جدول ۳- دامنه تغییرات و ضریب تنوع برخی صفات مورد بررسی در ۳۸ ژنوتیپ زیتون متحمل به سرما ۱۳۹۵ شرق استان گلستان
 Table 3. Descriptive statistic of the studied traits in 38 cold tolerant olive genotypes in the east of Golestan province

ردیف Row	صفت Trait	حداکثر Maximum	حداقل Minimum	میانگین Mean	انحراف معیار Standard deviation	درصد تنوع Coefficient of variation
1	سن درخت Tree age (year)	24	11	17.55	4.45	25.36
2	ارتفاع محل Location altitude (meter)	387	107	206.37	72.39	35.08
3	درصد شیب Percent gradient	56.80	0	28.22	12.95	45.89
4	عملکرد سال ۱۳۹۵ Yield 2016 (kg)	60	0	11.68	10.59	90.60
5	ارتفاع درخت Tree height (meter)	6.4	2	4.01	0.98	24.50
6	ارتفاع کانوپی Canopy height (meter)	6.07	2	3.47	0.87	25.00
7	متوسط قطر کانوپی Average of canopy diameter (meter)	4.89	1.01	2.68	0.81	30.06
8	حجم کانوپی Canopy volume (m ³)	61.39	1.62	15.50	12.50	80.67
9	مساحت سطح کانوپی Canopy surface area (m ²)	83.81	9.65	30.61	15.73	51.37
10	قطر تنه Trunk diameter (cm)	38.45	8.31	16.64	5.35	32.15
11	مساحت مقطع عرضی تنه Trunk cross section area (cm ²)	1161.25	54.21	239.43	186.35	77.83
12	طول میان‌گره Length of internodes (cm)	2.16	1.05	1.53	0.23	15.06

جدول ۴- تعداد کل درختان زیتون ارزیابی شده و متحمل به سرما در ۱۳۹۵ در مناطق شرقی استان گلستان در ارتفاعات مختلف
 Table 4. Number of total trees assessed and cold tolerant olive trees in 2016 in the Eastern region of Golestan province at different elevations

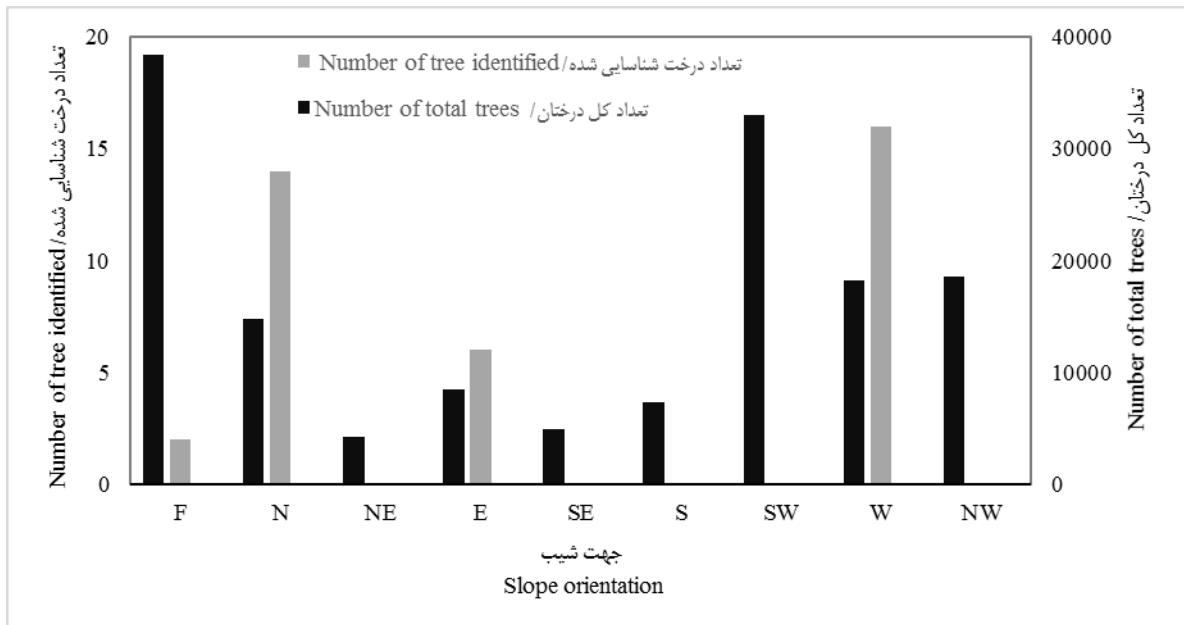
ارتفاع Elevation (m)	تعداد درخت متحمل به سرما شناسایی شده Number of tolerant trees	تعداد کل درختان ارزیابی شده Total number of trees evaluated
0-100	2	27961
100-200	21	51091
200-300	6	41740
300-400	7	16723
400-500	2	7328
500-600	0	3221

شمالی، غربی و شرقی به ترتیب ۱۴، ۱۶ و ۶ اصله درخت را شامل می‌شود و بطور کلی ۹۵ درصد کل درختان متحمل به سرما را شامل شد و ۵ درصد باقیمانده مربوط به اراضی مسطح بود. با این وجود در شیب‌های شمال شرقی، جنوب شرقی، شمال غربی، جنوب و جنوب غربی که نزدیک به ۴۶ درصد کل درختان ارزیابی شده را به خود

تعداد کل درختان ارزیابی شده در شیب‌های مختلف همراه با تعداد درخت متحمل به سرما شناسایی شده در شکل ۱ نشان داده شده است. بیشترین تعداد درخت (۳۸۴۲۴ اصله) در بخش مسطح و کمترین تعداد مربوط به شیب شمال شرقی با ۴۲۱۰ اصله درخت می‌باشد. تعداد درخت متحمل به سرمای شناسایی شده در شیب‌های

درختان شناسایی شده در مناطق شیبدار قرار داشتند. شاخص تنوع برای این صفت ۴۵/۸۹ درصد برآورد شد.

اختصاص دادند، درخت متحمل به سرما یافت نشد. شیب زمین از صفر تا ۵۶/۸ درصد در شیب غربی منطقه چراغ‌تپه مینودشت متفاوت بود. بطور کلی متوسط شیب باغات ۲۸/۲۲ درصد بود و ۹۵ درصد کل



شکل ۱- تعداد کل درختان ارزیابی شده در جهات مختلف جغرافیایی و درختان شناسایی شده در هر جهت شیب

Figure 1- Number of total trees assessed in different geographical directions and number of trees identified in each direction (F=مسطح/Flat, N=شمال/North, NE=شمال شرقی/Northeast, E=شرقی/East, SE=جنوب شرقی/Southeast, S=جنوب/South, SW=جنوب غربی/Southwest, W=غرب/West, NW= Northwest/شمال غرب)

توضیح احتمالی اختلاف در بروز علائم تنش یخ‌زدگی در یک رقم را نوع خاک، پوشش زمین، محتوای آب خالص و غلظت باکتری‌های مولد هسته یخ بیان کردند.

ارزیابی عملکرد تک درختان متحمل به سرما

اطلاعات مربوط به میزان محصول درختان متحمل به سرما در سال ۱۳۹۵ از طریق پرسش از باغداران و تخمین محصول تا حد امکان جمع‌آوری گردید. تعداد اصله درخت تولید میوه نداشتند در حالیکه در ۳۲ اصله از درختان بین ۲ تا ۶۰ کیلوگرم میوه زیتون برداشت شد. از این تعداد در ۷ درخت کمتر از ۱۰ کیلوگرم در هر درخت میوه برداشت شد. با این حال در ۱۷ درخت بین ۱۰ تا ۲۰ کیلوگرم و در ۸ درخت بین ۲۰ تا ۶۰ کیلوگرم برداشت میوه گزارش شد. مطالعه تشکیل گل در بهار سال ۱۳۹۶ نشان داد به جز ۱۰ درخت که گلدهی نشان ندادند در ۲۸ درخت باقیمانده تشکیل گل آذین و مرحله تمام گل مشاهده گردید؛ با این وجود به علت تنش گرمای شدید در ۲۱ اردیبهشت سال ۱۳۹۶ با افزایش ناگهانی دما به ۳۹/۳ درجه سانتی‌گراد تنها در ۱۶ درخت میوه تشکیل شد. تحمل

درختان واقع در دامنه‌های جنوبی و غربی در اثر تنش یخ‌زدگی آسیب کمتری می‌بینند (۳۷) زیرا خاک این دامنه‌ها گرمای تابشی بیشتری جذب می‌کند و محیط اطراف درختان را گرم‌تر نگه می‌دارد، با این حال به دلیل افزایش تابش آفتاب به یخ‌زدگی دیررس بهاره حساس‌تر هستند. مقایسه صفات جدول (۱) نشان داد برخی از درختان شناسایی شده در شیب‌های مختلف شبیه به هم هستند، همانند دو اصله درخت موجود در اراضی مسطح (شکل ۱) با وجود اختلاف ارتفاع مکانی، در دامنه‌های شمالی و غربی هم یافت شدند، اما در دامنه جنوبی درختی یافت نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت این درختان بایستی از نظر ژنتیکی تفاوت‌هایی نسبت به سایر درختان زیتون در این منطقه داشته باشند. اگرچه مقاوم شدن به سرما توسط عوامل ژنتیکی کنترل می‌شود (۴۸) با این حال، پیام‌های محیطی با تغییر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، مانند تبدیل نشاسته به قندهای محلول، عامل القاء تحمل بیشتر است (۴، ۳۰ و ۳۵). در یک گونه خاص، مقاومت به سرما یک صفت با سازگاری خوب بین تغییرات تابستان و زمستان، همچنین صفتی تغییر پذیر با تنوع بین مناطق است (۹). اسنایدر و دملو-ابرتو (۴۴) در شرایط اقلیمی و توپوگرافی مشابه، تنها

طول میان‌گره در ارقام زیتون (۱۲) و تغییرات طول میان‌گره، همچنین متوسط طول میان‌گره در درختان گزینش شده (۱/۵۳ سانتی‌متر) طول میان‌گره در طبقه متوسط ۳-۱ سانتی‌متر قرار می‌گیرند. شاخص تنوع صفت ۱۵/۰۶ درصد گزارش شد. نتایج گروه بندی درختان گزینش شده نسبت به صفت عادت رشد نشان داد ۹۷ درصد درختان دارای عادت رشد گسترده یا پهن می‌باشند و تنها ۹-CTO عادت رشد عمودی یا ایستاده دارد. ریزش برگ یکی از نشانه‌های مهم تنش یخ‌زدگی می‌باشد. مطالعه درختان گزینش شده نشان داد تعداد ۳۳ درخت (۸۶ درصد) علائمی از ریزش برگ نشان ندادند و تنها در ۵ درخت کمتر از ۵۰ درصد ریزش برگ مشاهده شد. ترکیبگی پوست بر روی شاخه‌های یکساله در درختان گزینش شده، مشاهده نشد.

ساختار کانوبی احتمال و شدت یخ‌زدگی را افزایش یا کاهش می‌دهد (۱۰). این اتفاق از طریق ساختار آرایشی شاخساره، ارتفاع کانوبی، تراکم و نفوذپذیری تنظیم می‌شود (۴۵). ارتفاع و حجم کانوبی پیش‌بینی کننده پتانسیل رشد گیاه است. رشد زیاد درختان به عنوان یک صفت منفی در مناطقی که خطر سرمای زودرس پاییزه وجود دارد به حساب می‌آید (۱۵). این صفات علاوه بر ژنتیکی بودن تحت تاثیر خصوصیات خاک و دسترسی درختان به عناصر غذایی مانند نیتروژن و پتاسیم دارد (۳۳). بجز در درختان شناسایی شده سایر درختان زیتون از نظر رشد رویشی در شرایط نرمال نبودند، بنابراین امکان مقایسه رشد رویشی در سال بعد از تنش سرما وجود نداشت. با این حال، میزان رشد رویشی سالانه (اطلاعات نشان داده نشده است) درختان گزینش شده بین ۳/۶ تا ۲۸/۶ متر متغیر و بطور میانگین ۱۰/۱۵ سانتی‌متر در سال ۱۳۹۶ بود. بنابراین به نظر می‌رسد درختان با رشد رویشی کمتر در مقایسه با درختانی که رشد رویشی بیشتری دارند به سرما متحمل تر می‌باشند.

تراکم کانوبی نشان‌دهنده فشردگی کانوبی است و با طول میان‌گره، قدرت رشد شاخساره و اندازه برگ‌ها مرتبط می‌باشد. نتایج این صفت بیانگر این بود همه درختان گزینش شده دارای تراکم متوسط می‌باشند. در این حالت فاصله میان‌گره‌ها سبب می‌شود فضای داخلی کانوبی بصورت سایه روشن مشاهده شود (۱۲). موافق با نتایج این پژوهش، کانوبی‌های متراکم به طور غیرمستقیم به علت کاهش فتوسنتز و در نتیجه تجمع پایین قند در کانوبی، باعث افزایش حساسیت به تنش یخ‌زدگی می‌شوند (۴۴). در نتیجه، با تربیت درختان با کانوبی متراکم به فرم عادت رشد گسترده و افزایش نفوذپذیری نور به درون کانوبی تحمل درخت به سرما افزایش می‌یابد. در شرایطی که درختان با کمبود پتاسیم مواجه باشند، طول میان‌گره و همچنین رشد شاخساره با وجود تعداد طبیعی گره کاهش می‌یابد و مقاومت درخت به سرما، خشکی و بیماری‌ها کاهش می‌یابد (۲۴). لودلینی و همکاران (۲۸) در ارزیابی تحمل ۲۴ رقم مختلف زیتون در مناطق مرکزی ایتالیا نسبت به تنش یخ‌زدگی سال ۲۰۱۲ با مطالعه ریزش

درختان به سرما علاوه بر خصوصیات ژنتیکی رقم، به شرایط آب و هوایی و شیوه‌های مدیریت عملیات باغبانی نیز بستگی دارد (۴). با توجه به دیم بودن باغات زیتون در منطقه در باغ‌هایی که درختان متحمل به سرما شناسایی شد تفاوتی از نظر مدیریت عملیات باغی مانند هرس، تغذیه، مدیریت بستر باغ مشاهده نشد. از آنجائیکه زمان وقوع سرما بعد از برداشت میوه زیتون در آذر ماه بود بین ردیف‌ها و کف درختان عاری از هر گونه پوشش گیاهی و مالچ طبیعی بود. پوشش گیاهی خطر یخ‌زدگی را همانند سایر مالچ‌ها افزایش می‌دهد (۴۴) زیرا گرمای کمتری در روز توسط خاک جذب و در طی شب آزاد می‌شود. بنابراین درختان گزینش شده نسبت به سایر درختان که علائم تنش یخ‌زدگی را نشان داده بودند، از نظر مدیریت عملیاتی باغبانی تفاوتی نداشتند. درختان آسیب دیده با سایر تنش‌های محیطی نسبت به درختان بدون تنش به علت سطح پایین قندها علائم تنش سرما را سریع‌تر بروز می‌دهند. همچنین محصول زیاد درخت بدون توجه به تاریخ برداشت به علت کاهش ذخایر قندی، مقاومت به سرما را کاهش می‌دهد (۱۳). مطالعه گولن و همکاران (۲۱) نشان داد افزایش سطح قندهای محلول و فسفولیپیدها در توانایی ایستادگی رقم‌های زیتون در برابر سرما نقش مهمی دارد. بررسی کایا و همکاران (۲۵) بر روی انگور نشان داد کانوبی فشرده و روش‌های مدیریتی ضعیف مانند هرس تابستانه و شرایط رشدی نامناسب باعث کاهش مقاومت به سرما می‌شود. با توجه به موارد فوق می‌توان نتیجه گرفت، انتخاب درخت متحمل به سرما کاری مشکل و پیچیده است و به سادگی نمی‌توان یک درخت را متحمل یا مقاوم به سرما معرفی کرد.

ارزیابی مورفولوژیک تک درختان متحمل به سرما

ارتفاع درختان شناسایی شده از دو متر در ژنوتیپ CTO-35 تا ۶/۰۵ متر در ژنوتیپ CTO-29 متفاوت بود. متوسط ارتفاع درختان شناسایی شده ۴/۰۱ متر برآورد شد (جدول ۳). از نظر ارتفاع کانوبی کمترین ارتفاع مربوط به ژنوتیپ CTO-37 و بیشترین ارتفاع کانوبی مربوط به CTO-29 بود. متوسط ارتفاع کانوبی ۳/۴۷ متر محاسبه شد. بیشترین میانگین قطر کانوبی ۴/۸۹ متر در CTO-14 و کمترین قطر مربوط به CTO-13، ۱/۰۱ متر محاسبه شد. در حالت کلی میانگین قطر کانوبی در کلیه ژنوتیپ‌ها ۲/۶۸ متر گزارش شد. بیشترین و کمترین حجم و سطح کانوبی به ترتیب در CTO-29 و CTO-13 محاسبه شد. همچنین از نظر صفات قطر تنه و مساحت مقطع عرضی تنه، ژنوتیپ CTO-29 بیشترین و CTO-9 کمتر مقدار را به خود اختصاص دادند.

تغییرات طول میان‌گره بین ۱/۰۵ سانتی‌متر در CTO-20 تا ۲/۱۶ سانتی‌متر در CTO-49 متفاوت می‌باشد. با توجه به گروه‌بندی

مراحل ظهور گل، بویژه رشد و نمو طبیعی میوه را نشان دادند. در مطالعه رفتار گیاهان چوبی نسبت به دماهای پایین قدرت درخت، نوع رقم یا ژنوتیپ، میزان محصول، خصوصیات خاک و مدیریت عملیات باغی موثر می‌باشند، با این وجود برخی از درختان شناسایی شده در ارتفاع و دامنه‌های مختلف، ویژگی‌های ظاهری و رفتاری مشابه داشتند. در نتیجه، با تکثیر و تولید نهال از گیاهان مادری و اعمال تیمارهای یخ‌زدگی در شرایط کنترل شده بر روی اندام‌های مختلف گیاهی و نهال؛ همچنین احداث باغ زیتون در مکانی با خصوصیات آب و هوایی و خاکی یکسان، به همراه ارزیابی مولکولی این درختان، می‌توان امیدوار بود رقم‌های متحمل به سرما با عملکرد قابل قبول شناسایی و معرفی شوند.

سپاسگزاری

بخش عمده هزینه انجام این طرح از محل اعتبار طرح شماره ۷۱۰ پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری تامین شده است.

برگ کانوبی و ترکیبگی پوست سه ماه بعد از وقوع تنش رقم‌های آسکولانا دورا و اوریتانا را به عنوان مقاومترین رقم به تنش یخ‌زدگی گزارش کردند. در مرکبات ریزش برگ چند روز بعد از تنش یخ‌زدگی نشان‌دهنده سالم بودن چوب، در حالی که ماندگاری برگ آسیب دیده بر روی شاخه‌ها، نشانه آسیب به چوب می‌باشد (۴۹).

نتیجه‌گیری کلی

تحمل به سرما صفتی است که تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی فراوان قرار دارد. اگرچه درخت زیتون نسبت به سایر درختان میوه نیمه‌گرمسیری به سرما متحمل تر می‌باشد، با این حال برخی رقم‌ها نسبت به سایر ارقام به سرما تحمل بیشتری دارند. در سرمای آذرماه سال ۱۳۹۵ به ده‌ها هکتار از باغ‌های زیتون شرق استان گلستان خسارت جدی وارد شد، بطوریکه بسیاری از باغداران درختان خشکیده زیتون را از زمین خارج کرده و به سمت کشت جایگزین رفتند. در لابلای درختان آسیب‌دیده و تحت شرایط اقلیمی و باغی یکسان؛ تعداد ۳۸ تک درخت زیتون بعد از هفت ماه نسبت به سرما تحمل پایداری داشتند و هفتاد و چهار درصد از آن‌ها، سال ۱۳۹۶

منابع

- Alfei B., Cavezza G., Santinelli A., and Panelli G. 1999. Osservazioni sul comportamento agronomico di alcune varietà autoctone ed alloctone di olivonelle Marche (Agronomic behaviour of native and non-native olive varieties of the Marche Region-Italy). In: Atti V Convegno Nazionale Biodiversità: Biodiversità e Sistemi Ecocompatibili, 9–10 Sept. 1999, Caserta, Italy.
- Antognozzi E., Famiani F., Proietti P., Pannelli G., and Alfei B. 1994. Frost resistance of some olive cultivars during the winter, *Acta Horticulturae*, 356:152–155.
- Antognozzi E., Pilli M., Proietti P., and Romani F. 1990. Analysis of some factors affecting frost resistance in olive trees. p. 4280. In: Proceedings 23rd International Horticultural Congress, Aug 30. 1990. Firenze, Italy.
- Arias N.S., Bucci S.J., Scholz F.G., and Goldstein, G. 2015. Freezing avoidance by supercooling in *Olea europaea* cultivars: the role of apoplastic water solute content and cell wall rigidity, *Plant, Cell & Environment*, 38: 2061–2070.
- Asadi-Sanam S., Pirdashti H., Hashempour A., Nematzadeh G.A., and Yaghoobian Y. 2014. The physiological and biochemical responses of eastern purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.) to freezing stress, *Russian Journal of Plant Physiology*, 62: 515–523.
- Auslander A., Nevo E., and Inbar M. 2002. The effects of slope orientation on plant growth, developmental instability and susceptibility to herbivores, *Journal of Arid Environments*, 55:405–416.
- Azzarello E., Mugnai S., Pandolfi C., Masi E., Marone E., and Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive, *Structure and Function*, 23:159–167.
- Barranco D., Ruiz N., and Gomez-del Campo M. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars, *HortScience*, 40(3):558–560.
- Bower A.D., and Aitken S.N. 2006. Geographic and seasonal variation in cold hardiness of whitebark pine, *Canadian Journal of Forest Research*, 36:1842–1850.
- Charrier G., Ngao J., Saudreau M., and Ameglio T. 2015. Effects of environmental factors and management practices on microclimate, winter physiology, and frost resistance in trees, *Frontiers in plant science*, 6(259).
- Chinnusamy V., Zhu J., and Zhu J.K. 2006. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*, 126:52–61.
- Cimato A., and Attilio C. 2008. Conservation, characterization, collection and utilization of the genetic resources in olive, Technical paper (CFC/IOOC/03).

- 13- Clements, J. 2014. Cold injury to fruit trees (well, with an emphasis on tender fruit), Ontario Fruit & Vegetable Conference, 19-20 Feb. 2014. Ontario, Canada.
- 14- Connor D.J., and Fereres E. 2005. The physiology of adaptation and yield expression in olive, *Horticultural Reviews*, 31:155–229.
- 15- Coopman R.E., Jara J.C., Escobar R., Corcuera L. J., and Bravo L. A. 2010. Genotypic variation in morphology and freezing resistance of *Eucalyptus globulus* seedlings subjected to drought hardening in nursery, *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(1): 5-6.
- 16- D'Angeli S. and Altamura M.M. 2007. Osmotin induces cold protection in olive trees by affecting programmed cell death and cytoskeleton organization, *Planta*, 225: 1147–1163.
- 17- Denney J.O., Martin G.C., Kammereck R., Ketchie D.O., Connell J.H., Krueger W.H., Osgood J.W., Sibbett G.S., and Nour G.A. 1993. Some olives show damage; many, coldhardiness, *California Agriculture*, 47:2–12.
- 18- Fiorino P., and Mancuso S. 2000. Differential thermal analysis, deep supercooling and cell viability in organs of *Olea europaea* at subzero temperatures, *Advances in Horticultural Science*, 19:23–27.
- 19- Gomez-del-Campo M., and Barranco D. 2005. Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars, *Plant Genetic Resources*, 3:385-390.
- 20- Guerriero R., Vitagliano C., Bartolini S., and Andreoni N. 1988. La selezione clonale della cultivar “Leccino”: osservazioni su 31 presunti cloni nel campo di comparazione della Maremma Toscana, *Atti del Convegno Olive da Tavola*, Ascoli Piceno.
- 21- Gulen H., Cansev A., and Eris A. 2009. Cold hardiness of olive (*Olea europaea* L.) cultivars in cold-acclimated and non-acclimated stages: seasonal alteration of soluble sugars and phospholipids, *Journal of Agricultural Science*, 147:459–467.
- 22- Hashempour A., Ghasemnezhad M., Fotouhi Ghazvini R. and Sohani M.M. 2014. The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid, *Russian Journal of Plant Physiology*, 61: 443–450.
- 23- Hashempour A., Ghasemnezhad M., Sohani M.M., Fotouhi Ghazvini R. and Abedi A. 2019. Effects of Freezing Stress on the Expression of Fatty Acid Desaturase (FAD2, FAD6 and FAD7) and Beta-Glucosidase (BGLC) Genes in Tolerant and Sensitive Olive Cultivars, *Russian Journal of Plant Physiology*, 1-9.
- 24- Kailis S., and Harris D. 2007. *Producing Table Olives*, Landlinks press, Collingwood.
- 25- Kaya O., and Kose S. 2017. Determination of resistance to low temperatures of winter buds on lateral shoot present in Karaerik (*Vitis vinifera* L.) grape, *Acta Physiol Plant*, 39:209.
- 26- La Porta N., Zacchini M., Bartolini S., Viti R., and Roselli G. 1994. The frost hardiness of some clones of olive cv. Leccino, *Journal of Horticultural Science*, 69(3):433–435.
- 27- Larcher W. 1970. Okophysiology der Pflanzen, *Oecologia Plantarum*, 5:267–286.
- 28- Lodolini E.M., Alfei B., Santinelli A., Cioccolanti T., Polverigiani S., and Neri D. 2016. Frost tolerance of 24 olive cultivars and subsequent vegetative-sprouting as indication of recovery ability, *Scientia Horticulturae*, 211:152–157.
- 29- Mancuso S. 2000. Electrical resistance changes during exposure to low temperature measure chilling in freezing tolerance in olive tree (*Olea europaea* L.) plants, *Plant, Cell and Environment*, 23:291–299.
- 30- Morin X., Ameglio T., Ahas R., Kurz-besson C., Lanta V., Lebourgeois F., Miglietta F., and Chuine I. 2007. Variation in cold hardiness and carbohydrate concentration from dormancy induction to bud burst among provenances of three European oak species, *Tree Physiology*, 27: 817–825.
- 31- Morris R., and Crites A.M. 2007. Freeze damage to plants in lower elevations of Southern Nevada, *Nevada Cooperative Extension*, 1-10.
- 32- Mousavi S., Arzani K., Hosseini-Mazinani M., and Yadollahi A. 2015. Responses of Commercial Olive Cultivars (*Olea europaea* L.) to Cold Stress Using Electrolyte Leakage Method and Measuring Total Soluble Carbohydrate, *Journal of Crop Production and Processing*, 5(16) :85-95. (in Persian).
- 33- Noori O., Arzani K., Moameni A., and Taheri M. 2015. Vegetative growth and fruit set of olive (*Olea europaea* L. cv. ‘Zard’) in response to some soil and plant factors, *Journal of Central European Agriculture*, 16(3).
- 34- Palliotti A., and Bongi G. 1996. Freezing injury in the olive leaf and effects of mefluidide treatment, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 71:57-63.
- 35- Poirier M., Lacoite A., and Ameglio T. 2010. A semi-physiological model of cold hardening and dehardening in walnut stem, *Tree Physiology*, 30:1555–1569.
- 36- Rahemi M., Yazdani F., and Sedaghat S. 2016. Evaluation of freezing tolerance in olive cultivars by stomatal density and freezing stress, *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 3(2):145-153.
- 37- Reddick, L. 2009. Identification and prevention of frost or freeze damage, *Arizona Cooperative extension*, 1-6. Available at https://cals.arizona.edu/mohave/master_gardeners/kingman/articles/frostorfreeze.pdf (visited 5 May 2018).
- 38- Roselli G., and Venora G. 1990. Relationship between stomatal size and winter hardiness in the olive, *Acta Horticulturae*, 286:89–92.

- 39- Roselli G., Benelli G., and Morelli D. 1989. Relationship between stomatal density and winter hardiness in olive (*Olea europaea* L.), Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 64:199–203.
- 40- Roselli G., La Porta N., and Morelli D. 1992. Valutazioni del germoplasma di olivo per la tolleranza a stress da freddo Atti Convegno Germoplasma Frutticolo, Alghero, Italy.
- 41- Ruiz N., Barranco D., and Rapoport H.F. 2006. Anatomical response of olive (*Olea europaea* L.) to freezing temperatures, Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 81(5):783–790.
- 42- Schreiber S.G., Hamann A., Hacke U.G., and Thomas B.R. 2013. Sixteen years of winter stress: an assessment of cold hardiness, growth performance and survival of hybrid poplar clones at a boreal planting site, Plant, Cell and Environment, 36:419-429.
- 43- Simkeshzadeh N., Mobli M., Etemadi N., and Bani Nasab B. 2011. Evaluation of cold tolerance in some olive cultivars by measuring chlorophyll fluorescence and morphological injuries, Journal of Horticultural Science, 24(2):163-169. (in Persian).
- 44- Snyder R.L., and de Melo-Abreu J.P. 2005. Frost Protection: fundamentals, practice and economics, Vol. 1, Environmental and Natural Resouces Series, FAO, Rome.
- 45- Stephan J. M., Teeny P. W., Vessella F., and Schirone B. 2018. Oak morphological traits: between taxa and environmental variability, Flora, 243:32-44.
- 46- Synoptic station in Minudasht. 2017. Statistics, Minudasht, Iran.
- 47- Wisniewski M., Carole B., and Gusta L.V. 2003. An overview of cold hardiness in woody plants: seeing the forest through the trees, Hortscience, 38:952–959.
- 48- Xin Z., and Browse J. 2000. Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures, Plant, Cell & Environment, 23:893–902.
- 49- Zekri M., Oswald C., Futch S. and Hurner L. 2016. Freeze damage symptoms and recovery for citrus, Citrus Industry (December), 18-21.



Morphological Evaluation and Selection of Tolerant Trees to Freezing Stress at the Olive Orchards in Golestan Province

I. Karamatlou¹- S. Navabpour^{2*}- Kh. Zainilnejad³- E. Tavakol⁴- M. Hosseini Mazinani⁵

Received: 28-07-2018

Accepted: 03-07-2019

Introduction: Low temperature is one of the major abiotic stresses which can cause a significant reduction in olive growth and productivity mainly at late autumn, winter and early spring. Although olive is moderately freezing tolerant, temperatures below a certain threshold -7°C can damage the plant, while at -12°C damage may be serious enough to threaten the life of the tree. Different cultivars of olives have diverse reactions to cold stress and so, the selection of cold resistant cultivars is the most effective method to avoid frost damages. First step to achieve this goal, is identifying tolerant cultivar and genotypes in olive area growing. Due to extensive and high freezing damage in November 2016, the objective of the present study was to evaluate morphological characteristics and selection of individual cold tolerant trees.

Materials and Methods: The present study was carried out in some cold tolerant olives after freezing event in December 2016 in eastern region of Golestan province of Iran. After freezing stress, healthy olive trees were identified in two major olive cultivation regions and then were evaluated in four stages. Thus, this study included: 1- meteorological data analysis, 2- evaluation of freezing stress symptoms in olive orchards and identification of single tolerant trees, 3- study of single tolerant cold trees in four stages. For each genotype, studies on morphological traits (tree age, location altitude, dip direction and its percentage, previous yield, tree height, canopy height, average of canopy diameter, canopy volume, canopy surface area, trunk perimeter, trunk diameter, trunk cross section area, length of internodes, growth habit, canopy density, canopy defoliation, bark split ranging, flowering and fruit set) based on CFC/IOOC/03 and Lodolini et al. (2016) results.

Results and Discussion: History of cold climate in the last two decades showed freezing event several times caused damage to olive orchards. The last freezing stress occurred with the entrance of the cold air to the Golestan province and a sudden drop in temperature to less than 0 degrees Celsius and stability of these conditions for 5-days in the late of November, 2016. The temperature dropped below 0°C began on November 23 and lasts for 4-days. However, the main damage to the olive orchards is on November 25, when temperature is -7°C . The minimum temperature recorded in the studied regions in November 25, Maravehtapeh, Gonbad, Kalaleh and Minoudasht are -14.2 , -12.7 , -12.3 and -8.5°C , respectively. Symptoms of freezing damage on olive tree can range from shoot tip burns and defoliation up to bark split on branches or trunk. After four stages visiting olive orchards, finally, from 118 primary individual trees, 38 trees were introduced for further evaluation. Location altitude (meters above sea level) of the individual trees were 107-387 in the CTO-39 and CTO-35 genotypes, respectively. Generally, 95% of all trees identified in sloping land orchards, and the percentage variation for this trait was 48. 52. Fruit production of selected olives before freezing event in 2016 showed except of six trees, 32 of olives was of 2-60 kg/tree. The height of tree were 2-6.05 in CTO-37 and CTO-49 genotypes, respectively. However, average of canopy diameter in all genotypes was 2.73. Also, trunk diameter (TD) and trunk cross section area (TCSA) were maximum in CTO-55 and minimum in CTO-9. However, the average of this trait was 16.60 cm. Variation between genotype in internode length changed between 1.05 in CTO-20 and 2.16 in the CTO-49. Reduction of internode spaces and shoot growth, even though the total node number is normal resistance of the olive tree to cold is reduced. Leaf defoliation is one of the most important symptoms of freezing event. The study of selected trees showed that 33 trees (86%) did not showed symptoms of leaf loss, and only five tree showed less than 50% leaf loss. Except for the CTO-54 genotype, which showed symptoms of bark splitting on one-year shoots, no evidence of bark splitting observed in other selected olives.

Conclusions: Although olive is the most cold-hardy of the subtropical fruit trees, some varieties can withstand low temperatures better than the other. Although temperatures at which olive trees can be damaged

1, 2 and 3- Ph.D student, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran, Respectively

(*-Corresponding Author Email: s.navabpour@gau.ac.ir)

4- Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

5- Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran

vary, depending on climatic conditions, temperatures at or below -7°C are often critical. The most important symptoms were leaf defoliation, bark split, and limb dieback. Finally, because of different influence of environmental factor in different regions, evaluation of location, yield and morphological traits showed some of cold tolerant olive in different region had a similar behavior, thus by supplementary molecular studies, it can be hoped that among recognized trees, cold resistant cultivars with acceptable yields were introduced.

Keywords: Abiotic stress, Canopy density, Early cold, Growth habit