Archive of SID

علوم باغبانی ایران
دورۀ ۴۶، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۴ (ص ۳۵۶-۳۴۵)

تعیین نیازهای سرمایی و گرمایی قلمه‌های انگور و تغییر کربوهیدرات و هورمون‌ها در دورۀ سرمادهی

سعید عشقی[1*] و مهدی گاراژیان[2]
۱ و ۲. دانشیار و دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه شیراز
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۷/۱۲)

چکیده

این پژوهش به‌منظور تعیین نیاز سرمایی و گرمایی انگور رقم‌های رطبی، سیاه شیراز و یاقوتی انجام شد. همچنین تغییر کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های درونی در رقم یاقوتی سیاه در دورۀ سرمادهی بررسی شد. بدین منظور، قلمه‌های یک‌اندازه (۳۰ سانتی‌متر) بی‌درنگ پس از خزان‌برگ‌ها در پاییز جمع‌آوری شدند. سرمادهی شامل ۰ (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت در دمای ۲ درجۀ سلسیوس بودند. سپس، قلمه‌ها در آب‌مقطر و در شرایط دمای اتاق و نور ممتد قرار گرفتند. درصد شکوفایی جوانه، تعداد روز تا شکوفایی اولین جوانه و ۵۰ درصد جوانه‌ها، میزان نشاسته، کربوهیدرات‌های محلول، جیبرلین، سایتوکینین، اکسین و اسید آبسیزیک در بافت‌های جوانه، گره و میان‌گره اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که بالاترین درصد شکوفایی جوانه و کوتاه‌ترین زمان تا شکوفایی ۵۰ درصد جوانه‌ها در رقم‌های سیاه شیراز، رطبی و یاقوتی به‌ترتیب در تیمارهای ۵۰۰، ۴۰۰ و ۴۰۰ ساعت سرمادهی بود. در هر ۳ رقم، بالاترین میزان نشاسته در تیمارهای بدون سرمادهی بود و با سرمادهی میزان نشاسته کاهش و کربوهیدرات محلول افزایش یافت. میزان جیبرلین، سایتوکینین و اکسین با اعمال تیمارهای سرمادهی، افزایش و آبسیزیک‌اسید کاهش یافت. درنتیجه نیاز سرمایی رقم‌های یاقوتی، رطبی و سیاه شیراز به‌ترتیب ۴۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت و نیاز گرمایی ۵۴۷۲،۴۳۲۰ و ۸۰۶۴ درجه‌ساعت (GDH) تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: **قندهای محلول، نشاسته، نیاز سرمایی،** *Vitis vinifera*.

مقدمه

انگور یکی از میوه‌های معتدلۀ قابل کشت در اقلیم‌های مختلف ازجمله مناطق گرم و نیمه‌گرم است (Antonio *et al.*, 2009; Corrales-Maldonado *et al.*, 2010)، اما در برخی از این مناطق، نبود سرمای زمستانۀ کافی مشکل‌ساز است. این مشکل حتی در مناطق معتدله‌ای که زمستان‌های ملایم دارند یا مناطقی که تحت‌تأثیر پدیدۀ گرم‌شدن جهانی کرۀ زمین قرار گرفته‌اند، نیز دیده می‌شود. سرمای زمستانۀ کافی در درختان مناطق معتدله سبب برطرف‌شدن درون‌خفتگی (Endodormancy) می‌شود. نشکفتن یا شکوفایی نامنظم و غیرطبیعی جوانه‌ها و کاهش درصد آن ازجمله آثار سرمای زمستانۀ ناکافی است. اصطلاح شکوفایی جوانه هنگامی به‌کار می‌رود که بیش از ۵۰ درصد جوانه‌ها شکوفا شده باشد (Antonio *et al.*, 2009). در مناطقی که سرما کافی نباشد کاهش محصول چشمگیر است (Corrales-Maldnado *et al.*, 2010). هرچند عواملی مانند میزان ذخیرۀ کربوهیدرات،

* تلفن: ۰۹۱۷۳۱۶۵۳۰۸
E-mail: eshghi@shirazu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

خشکی و آبیاری کم در سال زراعی قبل، آسیب‌های سرمایی و ... می‌تواند اثر منفی بر شکوفایی جوانه داشته باشد (Umberto *et al*., 2006; Corrales-Maldonado *et al*., 2010). آگاهی از میزان نیاز سرمایی یا تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درونی گیاه به ما در مدیریت بهتر کشت انگور در مناطق گرم و نیمه‌گرم که جنبه‌های اقتصادی خاصی دارد، کمک ویژه‌ای می‌کند. به‌هرحال به‌دلیل زودرسی، نوبربودن، کیفیت و درآمد بالا، تمایل به تولید و پرورش انگور در مناطق گرم افزایش یافته است (Corrales-Maldonado *et al*., 2010; Antonio *et al*., 2009).

براساس پژوهش‌های صورت‌گرفته، میزان نیاز سرمایی انگور بین ۱۰۰ تا ۴۰۰ ساعت برآورد شده است (Antonio *et al*., 2009; Boonprakob & Byrne, 2005). Mathiason *et al*. (2008) با استفاده از روش ریچاردسون (در این مدل سرمای تجمع‌یافته در دامنهٔ دمایی ۲/۵ تا ۱۲/۵ درجهٔ سلسیوس محاسبه می‌شود، خارج از این محدودهٔ دمایی اثری بر تأمین نیاز سرمایی ندارد یا اثر منفی دارد) قلمه‌های انگور (*V. riparia*) را در تیمارهای سرمایی ۰ (کنترل)، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ ساعت سرمادهی قرار دادند و نیاز سرمایی این گونه انگور را ۱۵۰۰ ساعت دمای کمتر از ۷ درجهٔ سلسیوس تعیین کردند. Francisco *et al.* (2008) نیز میزان نیاز سرمایی انگور رقم 'تامسونسیدلس' را در شمال منطقهٔ شیلی ۵۰۰ تا ۸۰۰ ساعت و در درهٔ آکانکاگو (Aconcagua Valley) ۴۳۰ ساعت گزارش کردند. زمان شکوفایی جوانه یا گل‌دهی، علاوه بر میزان نیاز سرمایی به نیاز گرمایی گیاه نیز بستگی دارد. آگاهی نسبت به نیاز گرمایی می‌تواند ما را در انتخاب رقم‌های مناسب برای کشت در مناطق دارای سرمای دیررس بهاره یاری کند (Citadin *et al*.,2001). Andreini *et al.* (2009) نیاز گرمایی رقم‌های مختلف انگور را ۵۰۰۰ تا ۷۰۰۰ GDH تعیین کردند.

چرخه‌های رشدی گیاه تحت‌تأثیر عوامل درونی و شرایط محیطی است. ازجمله عوامل درونی مؤثر بر چرخه‌های رشدی درون‌خفتگی است که خود تحت‌تأثیر میزان کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های داخلی گیاه است. در درختان میوه بررسی‌های کمی در مورد تغییر میزان کربوهیدرات‌های جوانه و بافت‌های اطراف آن طی سرمادهی صورت گرفته است (Antonio *et al*., 2009; Arora & Tanino, 2003). میزان کربوهیدرات‌های در دسترس در این بافت‌ها احتمالاً یکی از عوامل اصلی کنترل رشد و نمو جوانه و رفع خفتگی است (Boonprakob & Byrne, 2005). میزان کربوهیدرات‌ها و تغییرات آن در درختان میوهٔ خزان‌دار مناطق معتدله، نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان دارد. در انتهای فصل رویشی، کربوهیدرات‌ها به نشاسته تبدیل و ذخیره می‌شوند. نشاستهٔ اندوخته‌شده به‌منزلهٔ منبع انرژی برای شکفتن جوانه در فصل رشد بعدی استفاده می‌شود. گزارش‌های فراوانی مبنی بر تغییر فصلی میزان کربوهیدرات در گیاهان وجود دارد (Bhowmik & Matsui, 2003; Barbarox & Breda, 2002; Aysel, 2006). تبدیل نشاسته به ساکارز در اواخر پاییز و زمستان می‌تواند در افزایش مقاومت بافت به سرما نقش داشته باشد(Cox & Stushnoff, 2001). گزارش شده است که میزان قندهای محلول در میانهٔ زمستان افزایش می‌یابد و درنتیجه سبب افزایش مقاومت گیاه به سرمای زمستانه می‌شود (Aysel, 2006; Chinnasamy & Bal, 2003).

با ورود گیاه به شرایط دمای پایین و طول روز کوتاه در پاییز میزان هورمون‌های درونی نیز تغییر می‌یابد (Arora & Tanino, 2003). رابطهٔ مثبتی بین میزان ABA و میزان آب موجود در پوست *V.vinifera* و *V. riparia* با شرایط طول روزکوتاه گزارش شده است (Fennel & Line, 2001). سایر هورمون‌ها نیز بر ورود و رهاسازی خفتگی جوانه نقش دارند (Finkelstein *et al*., 2008). مشخص شده است که اتیلن فعالیتی ضد ABA در خفتگی گیاهان دارد (Ruonala *et al*., 2006; Ruttink *et al*., 2007). GA نیز آثار ضد ABA دارد و در شرایط طول روز بلند، افزایش و در طول روز کوتاه بیوسنتز جیبرلین کند می‌شود (Kucera *et al*., 2005). در حالت خفتگی نسبت ABA به GA در گیاهان بالا است و در زمان رفع خفتگی این نسبت کاهش می‌یابد (Cadman *et al*., 2006). Mazzitelli *et al*. (2007) نشان دادند که

www.SID.ir

Archive of SID

ABA تنظیم‌کنندهٔ اصلی خفتگی در تمشک است. همچنین Bonhomme *et al.* (2005) نشان دادند که با افزایش میزان سایتوکینین، شکوفایی جوانه‌ها نیز افزایش می‌یابد.

با توجه به سودمندی‌های کشت انگور در مناطق گرم و نبود اطلاعات کافی و جامع در مورد نیاز سرمایی رقم‌های تجاری انگور در ایران، هدف از این پژوهش تعیین نیاز سرمایی و گرمایی ۳ رقم انگور تجاری استان فارس بود. همچنین با توجه به نقش مهم کربوهیدرات‌ها و هورمون‌ها در چرخهٔ رشدی گیاهان و اینکه فهم این تغییرات درونی گیاه در مدیریت بهتر کشت انگور در مناطق گرم کمک شایان توجهی می‌کند، تغییر کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های داخلی گیاه در دورهٔ سرمادهی نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در ۲۰ کیلومتری شیراز و به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. قلمه‌های یکنواخت سه رقم انگور سیاه شیراز، رطبی و یاقوتی در ابتدای پاییز و پس از ریزش برگ‌ها (با کاهش طول روز و رسیدن میانگین دما به زیر ۱۳ درجهٔ سلسیوس) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. طول قلمه‌ها به‌طور میانگین ۳۰ سانتی‌متر بود و ۳ جوانه داشت. قلمه‌ها به دسته‌های ۱۰۰ تایی تقسیم و در پارچهٔ تنظیف مرطوب پیچیده شدند. تیمارهای سرمایی شامل ۰ (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی در دمای ۲ درجهٔ سلسیوس یخچال بود. پس از کامل‌شدن ساعت سرمادهی هر تیمار، قلمه‌ها (دسته‌های ۶ تایی با ۴ تکرار) در آب‌مقطر و در شرایط دمای اتاق (حدود ۲۲ درجهٔ سلسیوس) و نور ممتد قرار گرفتند. تعداد روز تا شکوفایی اولین جوانه، تعداد روز تا شکوفایی ۵۰ درصد جوانه‌ها و درصد نهایی شکفتن جوانه‌ها برای تعیین نیاز سرمایی براساس روش ریچاردسون و تا ۶۰ روز پس از اعمال تیمارها ثبت شد (Richardson *et al.*, 1974). نیاز گرمایی نیز با استفاده از مدل (GDH) (Luedeling *et al.*, 2009; Anderson *et al.*, 1986) تعیین شد. در این روش مطابق فرمول زیر میانگین دمای بعد از سرمادهی و طول این مدت براساس ساعت نشان‌دهندهٔ میزان نیاز گرمایی رقم بررسی‌شده است. در این فرمول a نشان‌دهندهٔ تعداد ساعت پس از تأمین نیاز سرمایی و b صفر فیزیولوژیکی انگور (۱۰ درجهٔ سلسیوس) است.

$$GDH = \left(\frac{Max^{\circ}C + Min^{\circ}C}{2} - b \right) a$$

شاخص شکوفایی، مرحلهٔ پدیدارشدن نوک‌سبز (Green-tip) در ۵۰ درصد جوانه‌ها بود (Kovacs *et al.*, 2003). میزان کربوهیدرات کل و نشاسته براساس روش Rangana (1977) در ۳ بافت گره، میان‌گره و جوانه در تمامی تیمارها و در هر ۳ رقم اندازه‌گیری شد. در این روش مقدار ۰/۱ گرم نمونهٔ پودرشده همراه با ۱۳ سی‌سی اتانول ۸۰ درصد سانتریفیوژ شده و سپس همراه با محلول فنول و همچنین اسید سولفوریک و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان قندهای محلول اندازه‌گیری شد. رسوب باقی‌مانده از اندازه‌گیری قند همراه با اسید پرکلریک و محلول آنترون نیز برای محاسبهٔ میزان نشاسته استفاده شد. همچنین میزان تغییرات هورمون‌های داخلی شامل اکسین، سایتوکینین، جیبرلیک‌اسید و آبسیزیک‌اسید در رقم یاقوتی براساس روش Ergun *et al.* (2002) اندازه‌گیری شد. مقدار هورمون‌های استخراج‌شده به‌وسیلهٔ اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۲۲ و ۲۸۰ nm برای تعیین مقدار IAA، ۲۵۴nm برای GA_3، ۲۶۳nm برای ABA و ۲۶۹ nm برای زاتین استفاده و مقدار هورمون موجود در هر نمونه به‌دست آمد. داده‌های ثبت‌شده توسط نرم‌افزار SPSS16 و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

نیاز سرمایی و گرمایی

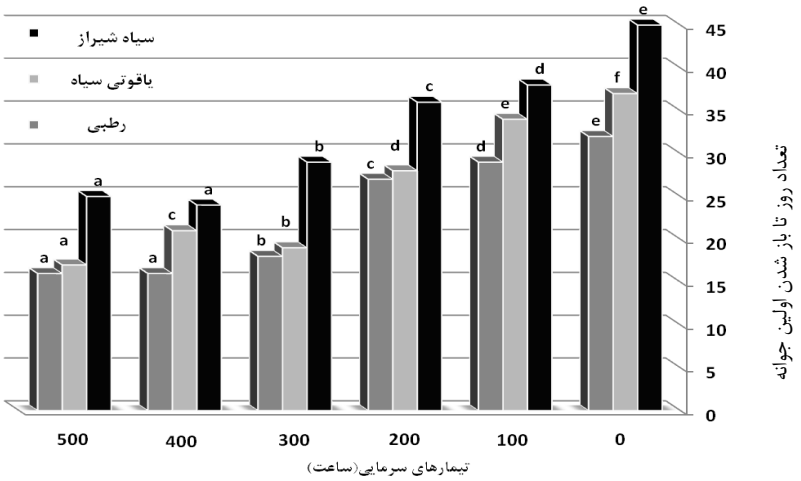
براساس نتایج به‌دست‌آمده، تیمار سرمایی تأثیر معناداری بر میزان شکوفایی جوانه داشت. بیشترین میزان شکوفایی جوانه در هر ۳ رقم در تیمار ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی و کمترین میزان، در ارقام یاقوتی و رطبی در تیمار شاهد (بدون سرمادهی) و در رقم سیاه شیراز در تیمار شاهد و ۱۰۰ ساعت

www.SID.ir

Archive of SID

سرمادهی به دست آمد (شکل۳). بیشترین زمان تا شکوفایی اولین جوانه نیز در تیمار شاهد بود (شکل۱). کوتاه‌ترین زمان تا شکوفایی، ۵۰ درصد جوانه‌ها نیز در رقم سیاه شیراز در تیمار ۵۰۰ ساعت سرمادهی و در رقم یاقوتی و رطبی در تیمار ۴۰۰ ساعت سرمادهی ثبت شد (شکل۲). کوتاه‌ترین زمان تا شکوفایی اولین جوانه در ارقام سیاه شیراز و رطبی در تیمار ۴۰۰ ساعت سرمادهی به دست آمد. براساس نتایج به‌دست‌آمده از تعداد روز تا شکوفایی ۵۰ درصد جوانه‌ها، میزان نیاز گرمایی رقم یاقوتی سیاه ۴۳۲۰، رطبی ۵۴۷۲ و سیاه شیراز ۸۰۶۴ درجه‌ساعت (GDH) تعیین شد.

گسترش کشت انگور در شرایط اقلیمی متفاوت و همچنین تنوع ژنتیکی فراوان منجر به ایجاد نیازهای سرمایی متفاوت در بین ارقام انگور شده است (Antonio *et al.*, 2009). در این پژوهش میزان نیاز سرمایی ارقام بررسی‌شده براساس درصد جوانه‌های شکوفاشده و تعداد روز تا شکوفایی نیمی از جوانه‌ها در تیمارهای سرمادهی برآورد شد. نیاز سرمایی رقم‌های یاقوتی سیاه و رطبی، ۴۰۰ و سیاه شیراز ۵۰۰ ساعت تعیین شد. میزان شکوفایی جوانه و یکنواختی در شکوفاشدن جوانه‌ها، به نیاز گرمایی نیز بستگی دارد. مطالعات نشان داده است که سرمادهی پیوسته یا بیش از نیاز گیاه سبب کاهش نیاز گرمایی درخت می‌شود (Citadin *et al.*, 2001; Ruiz *et al.*, 2007). همان‌طور که در پژوهش حاضر مشاهده شد بین نیاز گرمایی و میزان شکوفایی جوانه رابطهٔ عکس وجود دارد و این مورد در نتایج حاصل از پژوهش Ruiz *et al.* (2007) نیز قابل مشاهده است.



شکل ۱. تعداد روز تا بازشدن اولین جوانه در ۳ رقم بررسی‌شده

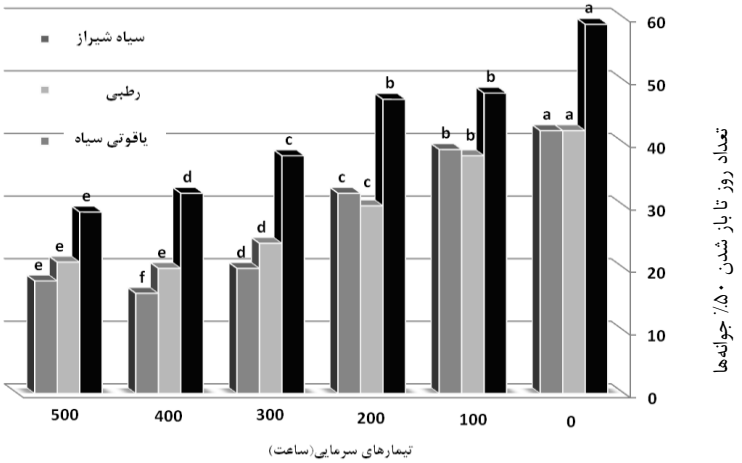
* مقایسهٔ میانگین‌ها برای ساعت‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.

* ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

Egea *et al.* (2003)، Citadin *et al.* (2001) و همچنین Ruiz *et al.* (2007) به‌ترتیب نیاز گرمایی برخی ارقام بادام، هلو و زردآلو را با روش ریچاردسون تخمین زدند. با تعیین میزان نیاز سرمایی هر رقم و یافتن ارقام با نیاز سرمایی کم می‌توان از این ارقام برای کشت در مناطق گرم یا در برنامه‌های به‌نژادی تولید ارقام با نیاز سرمایی کم (Low chill) استفاده کرد (Byrne, 2005). بررسی نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد سرمادهی و دمای پایین طی فصل خفتگی برای رشد و شکوفایی جوانه‌ها در ابتدای بهار ضروری است. در صورتی که نیاز سرمایی کافی وجود نداشته باشد به همان نسبت شکوفایی جوانه و میزان عملکردی که در انگور رابطهٔ مستقیم با تعداد جوانه‌های شکوفاشده دارد، کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش Kavoosi *et al.* (2008)، Jalili-Marandi (2002)، Mathiason *et al.* (2008)، و Francisco *et al.* (2008) نیز مطابقت داشت.

www.SID.ir

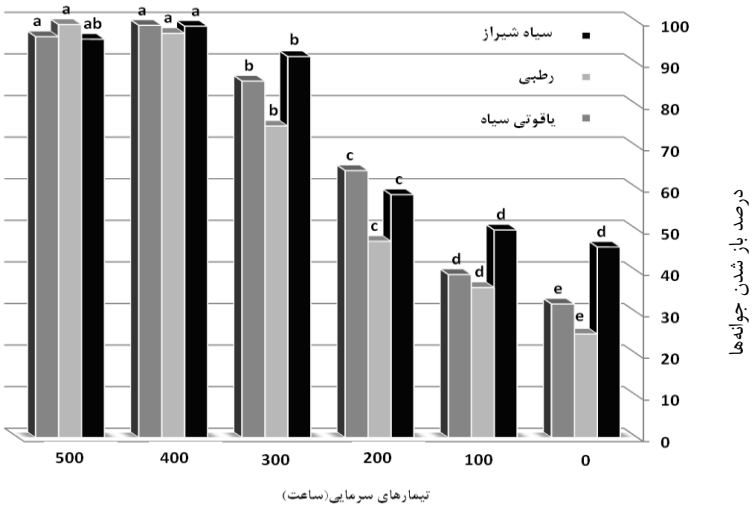
Archive of SID



شکل ۲. تعداد روز تا بازشدن ۵۰ درصد جوانه‌ها در ۳ رقم بررسی‌شده

* مقایسهٔ میانگین‌ها برای ساعت‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.

* ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمونLSD ندارند.



شکل ۳. درصد بازشدن جوانه‌ها در ۳ رقم بررسی‌شده

* مقایسهٔ میانگین‌ها برای ساعت‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.

* ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمونLSD ندارند.

کربوهیدرات‌ها

قندهای محلول در بافت جوانهٔ رقم سیاه شیراز کمترین میزان در تیمار شاهد (بدون سرمادهی) (۲۷ mg/g) و بیشترین نیز در تیمار ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی بود (۳۶ mg/g). با سرمادهی و افزایش زمان آن، میزان قندهای محلول افزایش معناداری داشت. در رقم رطبی و یاقوتی سیاه نیز روند مشابهی در مورد کربوهیدرات‌ها و بافت‌های بررسی‌شده مشاهده شد. هرچند این میزان در بافت چوبی میان‌گره و گره کمتر از جوانه بود. در ابتدای سرمادهی میزان نشاسته در بالاترین اندازهٔ خود قرار داشت و با اعمال تیمارها کاهش معناداری نشان داد. همچنین میزان نشاستهٔ اندازه‌گیری شده در بافت میان‌گره بیشتر از سایر بافت‌ها بود. تغییرات نشاسته بر اثر سرمادهی در بافت‌های بررسی‌شده نیز روند مشابهی داشت (شکل‌های ۴ـ ۹).

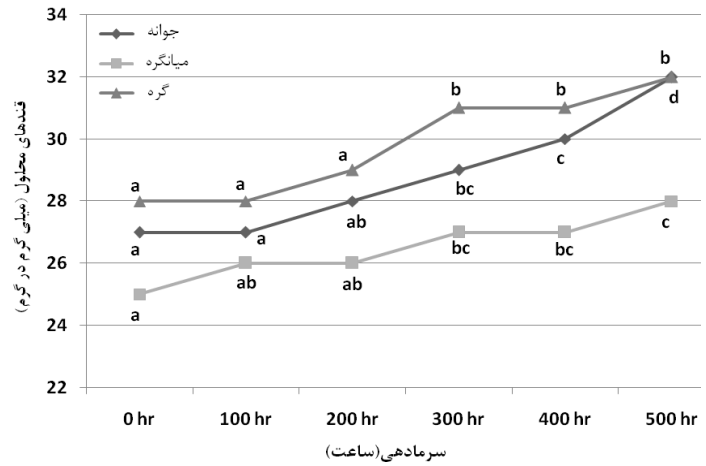
سرمادهی سبب تبدیل نشاسته به قندهای محلول ازجمله سوکروز، سوربیتول و رافینوز می‌شود (Cox & Stushnoff, 2001; Barbarox & Breda, 2002; Bhowmik & Matsui, 2003). تبدیل نشاسته به قندهای محلول و کاهش میزان آن ممکن است برای

www.SID.ir

Archive of SID

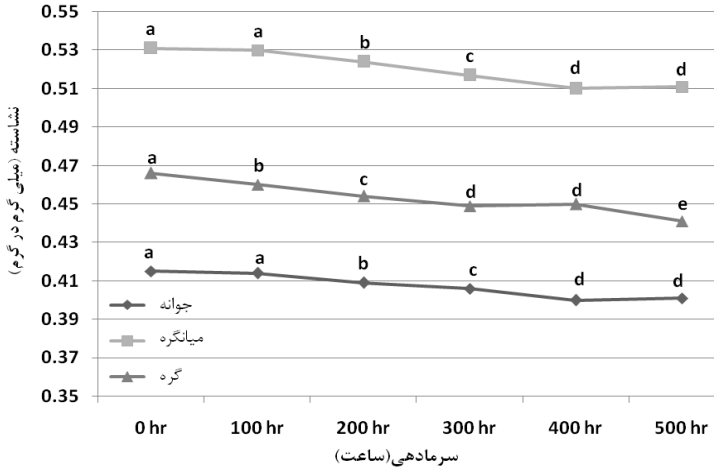
ایجاد مقاومت به شرایط بد محیطی طی زمستان باشد. همچنین افزایش قند در دسترس، انرژی لازم برای متابولیسم سلول‌ها در ابتدای فصل رشد را تأمین خواهد کرد. این تغییر در هر سه بافت بررسی‌شده مشاهده شد، اما در بافت جوانه، شدت بیشتری داشت که نشان‌دهندهٔ نیاز بیشتر این بافت به مواد غذایی و حساسیت بیشتر به شرایط بد محیطی است. همچنین گزارش شده است با شروع و پیشرفت سرمادهی، میزان نوکلئیک‌اسید، پروتئین، پلی‌آمین‌ها و آمینواسیدها نیز تغییر می‌یابد (Bonhomme *et al.*, 2005; Barbarox & Breda, 2002; Bhowmik & Matsui, 2003). نتایج این بررسی با یافته‌های Cox & Stushnoff (2001) نیز مطابقت دارد.

Aysel (2006) پژوهشی بر روی قلمه‌های چند رقم سیب انجام داد و دریافت که بیشترین میزان تغییرات کربوهیدرات در ماه‌های دسامبر تا ژانویه رخ می‌دهد که هم‌زمان با فصل سرما و تأمین نیاز سرمایی گیاهان است. Zapata *et al.* (2004) و همچنین Terence *et al.* (2002) گزارش کردند که سرمادهی سبب کاهش میزان نشاسته و تبدیل آن به کربوهیدرات‌های محلول در قلمه‌های انگور می‌شود. Bonhomme *et al.* (2005) نیز گزارش کردند میزان قندهای محلول در جوانه بیشتر از سایر بافت‌هاست. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با یافته‌های Chinnasamy & Bal (2003)، Barbarox & Breda (2002) و Bhowmik & Matsui (2003) مطابقت دارد.



شکل ۴. تغییرات مقدار قندهای محلول در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی در رقم یاقوتی سیاه

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



شکل ۵. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم یاقوتی سیاه

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

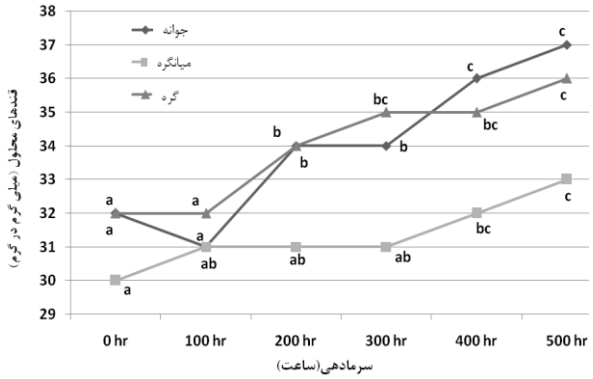
www.SID.ir

Archive of SID

هورمون‌ها

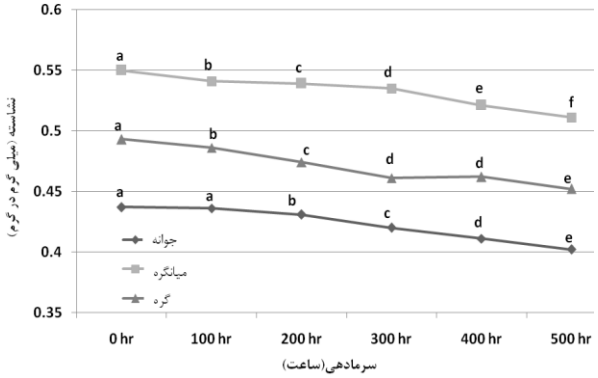
بررسی میزان هورمون‌های درونی نشان داد که سرمادهی سبب افزایش میزان جیبرلین می‌شود که در هر سه بافت بررسی‌شده روند مشابهی داشت، هرچند که تنها در بافت جوانه معنادار بود. میزان جیبرلین جوانه در تیمار شاهد و ۱۰۰ساعت سرمادهی کمترین و در تیمار۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت بیشترین (۲/۹۴µg/g) بود. میزان سایتوکینین نیز به‌جز در بافت گره با سرمادهی افزایش معناداری را نشان داد. اکسین نیز با سرمادهی افزایش یافت که بیشترین میزان آن مربوط به بافت جوانه و کمترین میزان افزایش در بافت میان‌گره رخ داد. تغییرات میزان اکسین در بافت‌های بررسی‌شده نشان داد میزان افزایش اکسین در هر سه بافت روند مشابهی دارد. همچنین سرمادهی سبب کاهش معنادار میزان آبسیزیک‌اسید موجود در بافت‌ها می‌شود. در بین عوامل مؤثر بر چرخهٔ رشدی گیاه، هورمون‌ها نقش بسزایی دارند. با کوتاه‌شدن طول روز و کاهش دما در پاییز میزان هورمون‌های درونی تغییر می‌یابد. ازجمله مهم‌ترین این هورمون‌ها جیبرلین است که احتمالاً در جوانهٔ درختان افزایش میزان جیبرلین به‌نوعی شروع تحریک تجزیهٔ نشاسته به قندهای محلول و آماده‌سازی برای سوخت‌وساز توسط جوانه می‌شود (Mostafa & Saleh, 2006).

همان‌گونه که در نتایج به‌دست‌آمده نیز مشاهده می‌شود با افزایش تعداد ساعت‌های سرمادهی، مقدار جیبرلین و همچنین مقدار قندهای محلول در جوانه و در پی آن میزان شکوفایی جوانه افزایش معناداری می‌یابد. میزان بیشتر جیبرلین در بافت جوانه نسبت به سایر بافت‌ها احتمالاً به این دلیل است که جوانه بخش مریستمی گیاه و از اندام‌های تولیدکنندهٔ هورمون جیبرلین است. در ابتدای ورود گیاه به شرایط نامساعد محیطی، تولید جیبرلین متوقف می‌شود (Arora & Tanino, 2003).



شکل۶. تغییرات مقدار قندهای محلول در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی در رقم رطبی

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



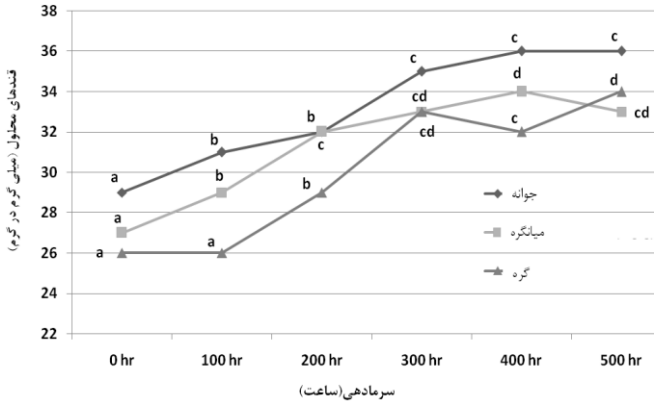
شکل ۷. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم رطبی

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

www.SID.ir

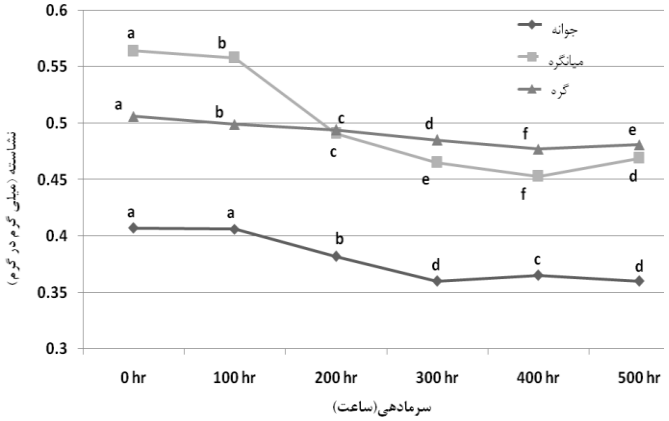
Archive of SID

پژوهش‌های سایر پژوهشگران نیز نشان‌دهندهٔ نقش جیبرلین در رهایی گیاه از خفتگی است (El-Agamy *et al.*, 2001). Arora& Tanino (2003) گزارش کرد با ورود گیاه به شرایط طول روز کوتاه، مقدار GA تولیدی کاهش می‌یابد. Kucera *et al.* (2005) نیز اعلام کردند GA سبب خروج گیاه از حالت خفتگی می‌شود. همچنین Allona *et al.* (2008) گزارش کردند کاهش مقدار GA در ارتباط با توقف تقسیم سلولی در نقاط زیر مریستمی ساقه است و با تیمار GA، تقسیم سلولی به‌سرعت در این نقطه افزایش می‌یابد.



شکل ۸. تغییرات مقدار قندهای محلول در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی در رقم سیاه شیراز

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



شکل ۹. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم سیاه شیراز

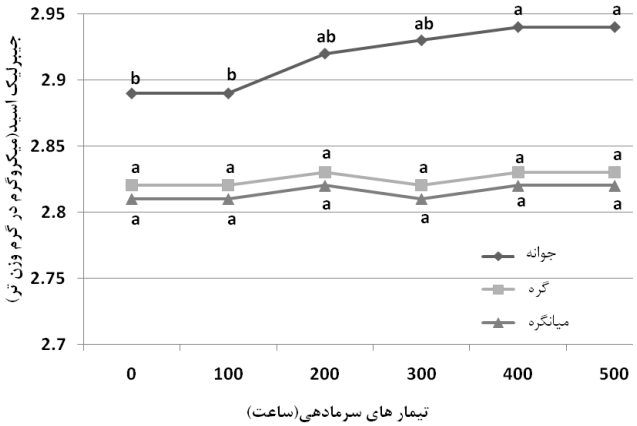
* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

پژوهش‌ها در مورد نقش سایتوکینین در خفتگی نشان می‌دهد مقدار این هورمون گیاهی هنگام ورود گیاه به حالت خفتگی کاهش معناداری دارد (Mohamed & El-Sese, 2004). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مقدار سایتوکینین در تیمار بدون سرمادهی کمترین است و با اعمال تیمارها افزایش معناداری پیدا می‌کند. افزایش غلظت سایتوکینین در آوند آبکش در اواخر زمستان و قبل از تورم جوانه‌ها نشانه‌ای از پایان خفتگی زمستانه است. در شرایط تأمین‌نشدن نیاز سرمایی گیاه در زمستان و در صورت استفاده‌نکردن از موادی مانند هیدروژن سیانامید، مقدار شکوفایی جوانه به‌شدت کاهش می‌یابد و زمان شکوفایی نیز به تأخیر خواهد افتاد. شیرهٔ آوند چوبی گیاهان تیمارشده با هیدروژن سیانامید مقدار زاتین‌ریبوزاید (ZR) بیشتری دارد و مقدار شکوفایی جوانه نیز در آن‌ها بیشتر است (Lombard *et al.*, 2006). همچنین Bonhomme *et al.* (2005) نشان دادند با افزایش مقدار سایتوکینین،

www.SID.ir

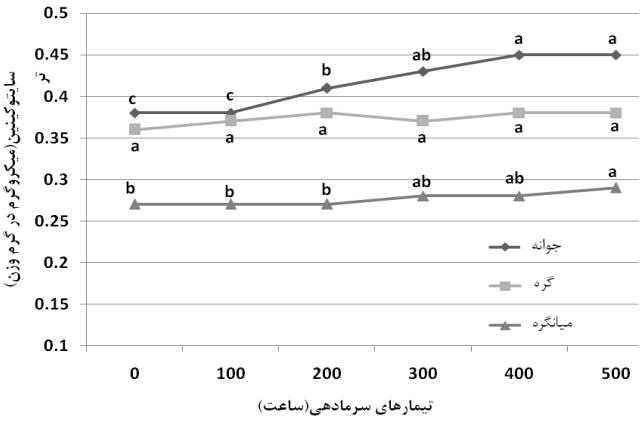
Archive of SID

شکفتن جوانه نیز در درختان سیب افزایش می‌یابد. سایر پژوهش‌های انجام‌شده نیز نقش سایتوکینین را در رفع خفتگی و افزایش مقدار شکفتن جوانه تأیید کرده‌اند (Reinoso *et al*., 2002).



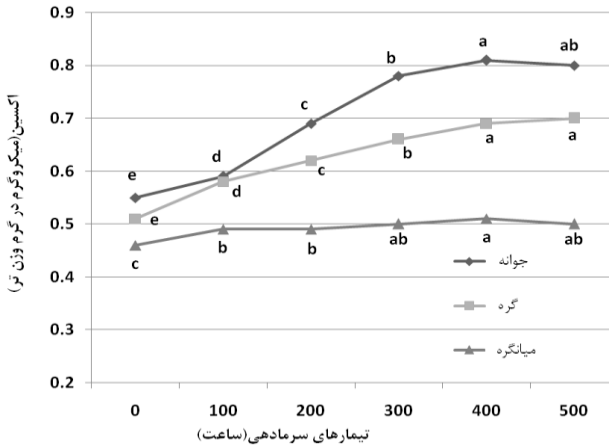
شکل ۱۰. تغییرات مقدار جیبرلیک‌اسید موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی انگور رقم یاقوتی سیاه

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



شکل ۱۱. تغییرات مقدار سایتوکینین موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



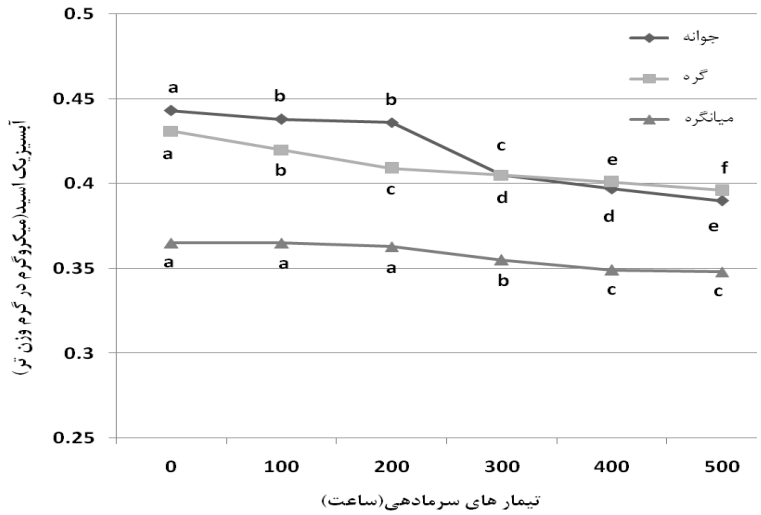
شکل ۱۲. تغییرات مقدار اکسین موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی

* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

نقش اکسین در آزادسازی گیاهان از خفتگی هنوز به‌صورت کامل شناخته‌شده نیست. به نظر می‌رسد با ورود گیاه به حالت خفتگی مقدار اکسین کم می‌شود، اما با سرمادهی و حرکت به سمت شکفتن جوانه مقدار اکسین درونی افزایش می‌یابد. اکسین و سایتوکینین در تنظیم فراخفتگی (Paradormancy) نقش دارند، ولی نقش آن‌ها در درون‌خفتگی (Endodormancy) هنوز شناخته‌شده نیست. یکی از نقش‌های اکسین تمایز و انتقال از حالت فراخفتگی به درون‌خفتگی است (Horvath *et al*., 2008).



شکل ۱۳. تغییرات مقدار آبسیزیک‌اسید موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی
* تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمونLSD ندارند.

با کوتاه‌شدن طول روز و کاهش دما در ابتدای پاییز، گیاه با افزایش مقدار ABA موجود در جوانه، سبب کاهش رشد و ورود به خفتگی می‌شود. کاربرد تیمار سرمادهی بر بافت‌های مختلف گیاه سبب کاهش مقدار ABA در بافت‌ها می‌شود. همان‌گونه که در نتایج حاصل از این پژوهش هم دیده می‌شود، بیشترین مقدار ABA موجود در بافت‌ها در تیمارهای بدون سرمادهی دیده می‌شود. با کاهش مقدار ABA با اعمال تیمار سرمادهی، میزان شکفتن جوانه نیز افزایش معناداری را نشان می‌دهد. ورود و همچنین آزادشدن گیاه از خفتگی به مقدار ABA داخلی گیاهی بستگی دارد و به این دلیل این هورمون را هورمون خفتگی می‌نامند (Shimizu-Sato & Mori, 2001). Wheeler (2006) طی بررسی‌های خود گزارش کرد که با کاهش خفتگی، مقدار ABA نیز به‌شدت کاهش پیدا می‌کند. همچنین وی در پژوهش‌های خود به این نتیجه رسید که دو ژن 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenose (NECD) و ZeaxouthinEpoxidose (ZEP) تولید ABA را کنترل می‌کنند که با ورود گیاه به شرایط محیطی تنش‌زا و طول روز کوتاه فعال می‌شوند (Allona *et al*., 2008; Kucera *et al*., 2005). Arora & Tanino (2003) با استفاده از گیاه جهش‌یافته توس (*Betulapubescens*) که گیاهی بدون توانایی تولید ABA بود، ثابت کرد که ABA سبب ایجاد خفتگی می‌شود. Anderson *et al*. (2001) در بررسی‌های خود بیان کرد که ABA فعالیت و تولید پروتئین Kinase (نوعی پروتئین بازدارنده) را زیاد می‌کند و سبب می‌شود تقسیم سلولی در فاز S متوقف شود، ولی GA با اثر آنتاگونیسمی خود، سبب ادامهٔ فعالیت چرخهٔ سلولی در فاز S می‌شود.

به‌طورکلی، سرمادهی سبب شکوفایی جوانه‌ها و کاهش میزان نیاز گرمایی آن‌ها می‌شود که البته در ارقام مختلف این میزان متفاوت است. براساس جدول‌های ۱ و ۲ نیاز سرمایی و گرمایی ارقام یاقوتی سیاه، رطبی و سیاه شیراز به‌ترتیب۴۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی و نیاز گرمایی آن‌ها ۴۳۲۰، ۵۴۷۲ و ۸۰۶۴ درجه‌ساعت (GDH) تعیین می‌شود. همچنین مشخص شد که

www.SID.ir

Archive of SID

نشاسته با تبدیل به کربوهیدرات‌های محلول نقش مهمی در تغذیه و آغاز رشد گیاه در ابتدای فصل رشد دارد. در بین هورمون‌ها نیز نقش سایتوکینین و جیبرلین در تحریک شکفتن جوانه و آبسیزیک‌اسید در ایجاد خفتگی زمستانه کاملاً مشهود است. با ورود به خفتگی میزان هورمون‌هایی مانند جیبرلین و سایتوکینین به حداقل خود می‌رسد. طی دورهٔ سرمادهی و با افزایش زمان آن میزان هورمون‌هایی مانند سایتوکینین و اکسین افزایش می‌یابد و میزان آبسیزیک‌اسید نیز کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد.

REFERENCES

1. Allona, I., Ramos, A., Ibanez, C., Contreras, A., Casado, R. & Aragoncillo, C. (2008). Molecular control of winter dormancy establishment in trees. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6, 201-210.
2. Andreini, L., Viti, R. & Scalabrelli, G. (2009). Study on the morphological evolution of bud break in *Vitis vinifera*. *Vitis*, 48(4), 153-158.
3. Anderson, J. V., Chao, W. S. & Horvath, D. P. (2001). A current review on the regulation of dormancy in vegetative buds. *Weed Science*, 49, 581-589.
4. Anderson, J. L., Richardson, E. L. & Kesner, C. D. (1986). Validation of chill unit and flower bud phenology models for Montmorency sour cherry. *Acta Horticulturae*, 184, 71-78.
5. Antonio, M., Martinez, T. & Antonio, J. (2009). Metabolic activity of low chilling grapevine buds forced to break. *Thermochimica Acta*, 481, 28-31.
6. Arora, R. & Tanino, K. (2003). Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. *Hort Science*, 38, 911-921.
7. Aysel, S. (2006). Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malussylvestris* Miller) stem cuttings. *Science Horticulture*, 109, 234-237.
8. Barbarox, C. & Breda, N. (2002). Contrasting distribution and seasonal dynamics of carbohydrate reserves in stem wood of adult ring-porous sessile oak and diffuse-porous beech trees. *Tree Physiology*, 22, 1201-1210.
9. Bhowmik, P. K. & Matsui, T. (2003). Carbohydrate status and sucrose metabolism in Asparagus roots over an extended harvest season. *Asian Journal of Plant Science*, 2 (12), 891-893.
10. Bonhomme, M., Regeau, R., Lacointe, A. & Gendraud, M. (2005). Influences of cold deprivation during dormancy on carbohydrate contents of vegetative and floral primordia and nearby structures of peach buds (*Prunus persica* L. Batch). *Scientia Horticulturae*, 105, 223-240.
11. Boonprakob, U. & Byrne, D. H. (2005). Breeding low chill stone fruit in Thailand. *Aciat Technical Report*, 61, 39-42.
12. Byrne, D. H. (2005). Trends and progress of low chill stone fruit breeding. *Australian Centre for International Agricultural Research*, (ACIAR), 61, 5-12.
13. Cadman, C.S.C., Toorop, P.E., Hilbirst,H.W.M. & Finch-Savage,W.E. (2006). Gene expression profiles of *Arabidopsis* Cvi seed during cycling through dormant and non-dormant states indicate a common underlying dormancy control mechanism. *Plant Journal*, 46, 805-822.
14. Chinnasamy, G. & Bal, A. K. (2003). Seasonal changes in carbohydrates of perennial root nodules of beach pea. *Journal of Plant Physioogyl*, 160 (10), 1185-1192.
15. Citadin, I., Raseira, M.C.B., Herter, F.G. & Dasilva, J.B. (2001). Heat requirement for blooming and leafing in peach. *HortScience*, 36, 305-307.
16. Corrales-Maldonado, C., Martinez-Tellez, M. A., Gardea, A. A., Orozco-Avitia, A. & Vargas-Arispuro, I. (2010). Organic alternative for breaking dormancy in table grapes grown in hot regions. *American Journal of Agricultural Biology and Science*, 5(2), 194-198.
17. Cox, S. & Stushnoff, E. C. (2001). Temperature related shifts in soluble carbohydrate content during dormancy and cold acclimation in *populustremuloides*. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(4), 730-737.
18. El-Agamy, S. Z., Mohamed, A. K. A., Mostafa, F. M. A. & Abdallah, A. Y. (2001). Chilling and heat requirements for bud break and fruiting of Anna and Dorsett Golden apple cultivars under warm climatic conditions. *Acta Horticulturae*, 565, 103-108.
19. Egea, J., Ortega, E., Martınez-Gomez, P. & Dicenta, F. (2003).Chilling and heat requirements of almond cultivars for flowering. *Environment and Experimental Botany*, 50, 79-85.
20. Ergun, N., Topcuoulu, F. &Yildiz, A. (2002). Auxin (Indole-3-acetic acid), gibberellic acid (GA3), abscisic acid (ABA) and cytokinin (zeatin) production by some species of mosses and lichens. *Turkish Journal of Botany*, 26, 13-18.
21. Fennel, A. & Line, M.J. (2001). Identifying differential tissue response in grape (*Vitis riparia*) during induction Endodormancy using nuclear magnetic resonance imaging. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 126, 681-688.

www.SID.ir

Archive of SID

22. Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T. & Steber, C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Plant Biology*, 59, 387-415.
23. Francisco, J., Orme, J. & Reynaert, B. (2008). Use of the dynamic model for the assessment of winter chilling in a temperate and a subtropical climatic zone of Chile. *Chilen Journal of Agricultural Research*, 68, 198-206.
24. Horvath, D., Chao, W. S., Suttle, J. C., Thimmapuram, J. & Anderson, J. A. (2008). Transcriptome analysis identifies novel responses and potential regulatory genes involved in seasonal dormancy transitions of leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *BMC Genomics*, 9, 536.
25. Jalili-Marandi, R. (2002). Investigation on different rest periods and chilling requirement of some grapevine cultivars. *Journal of Research in Agricultural Science*, 2(1), 14-21. (in Farsi)
26. Kavoosi, B., Eshghi, S., Tafazoli, E. & Rahemi, M. (2008). Determination of chilling requirement in 'Askari' grapevine. *Iranian Journal of Horticultural Science & Technology*, 9(3), 153-162. (in Farsi)
27. Kovacs, L., Byers, G., Kaps, P. L. & Saenz, M. L. J. (2003). Dormancy, cold hardiness and spring frost hazard in *Vitis amurensis*hybrids under continental climatic conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 8-14.
28. Kucera, B., Cohn, M. A. & Leubner-Metzger, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research*, 15, 281-307.
29. Lombard, P., Cook, N. C. & Bellstedt, D. U. (2006). Endogenous cytokinin levels of table grape vines during spring budburst as influenced by hydrogen cyanamide application and pruning. *Scientia Horticulturae*, 109, 92-96.
30. Luedeling, E., Zhang, M., McGranahan, G. & Leslie, C. (2009). Validation of winter chill models using historic record of walnut phenology. *Agricultural For Meteorol*, 149, 1854-1864.
31. Mathiason, K., He, D., Grimplet, J. &Venkateswari, J. (2008). Transcript profiling in *Vitis riparia* during chilling requirement fulfillment reveals coordination of gene expression patterns with optimized bud break. Funct. Integr. *Genomic*, 1, 1-16.
32. Mazzitelli, L., Hancock, R. D., Haupt, S., Walker, P. G., Pont, S. D. A., McNicol, J., Cardle, L., Morris, J., Viola, R., Brennan, R., Hedley, P. E. & Taylor, M. A. (2007). Co-ordinated gene expression during phases of dormancy release in raspberry (*Rubus idaeus* L.) buds. *Journal of Experimental Botany*, 58, 1035-1045.
33. Mohamad, A.K.A. & El-Sese, A.M. (2004). Effect of some chemical compounds and growth regulators on regularity of bud break, flowering and fruiting of Red Roomy grapevines (*Vitis vinifera* L). *Assiut Journal of Agricultural Science*, 35(2), 165-181.
34. Mostafa, E. A. M. & Saleh, M. M. S. (2006). Influence of Spraying with Gibberellic Acid on Behaviour of Anna Apple Trees. *Journal of Applied Science Research*, 2(8), 477-483.
35. Ranaga, S. (1977). Manual for analysis of fruit and vegetable product. Tate Mcgraw Hill co. Pvt. Ltd New Delhi. Page, 20-21.
36. Reinoso, H., Luna, V., Dauria, C., Pharis, R. P. & Bottini, R. (2002). Dormancy in peach (*Prunus persica*) flower buds. VI. Effects of gibberellins and an acylcyclohexanedione (trinexapac-ethyl) on bud morphogenesis in field experiments with orchard trees and on cuttings. *Canadian Journal of Botany*, 80, 664-674.
37. Richardson, E. A., Seeley, S. D. & Walker, D. R. (1974). A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees. *Hort Science*, 1, 331-332.
38. Ruiz, D. J., Antonio, C. & Egea, J. E. (2007). Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. *Environmental and Experimental Botanic*, 61, 254-263.
39. Ruonala, R., Rinne, P.L.H., Bangour, M., Moritz, T., Tuominen, H. & Kangasjarvi, J. (2006). Transitions in the functioning of the shoot apical meristem in birch (*Betulapendula*) involve ethylene. *Plant Journal*, 46, 628-640.
40. Ruttink, T., Arend, M., Morreel, K., Storme, V., Rombauts, S., Bhalerao, R., Boerjan, W. & Rohde, A. (2007). A molecular timetable for apical bud formation and dormancy induction in poplar. *Plant Cell*, 19, 2370-2390.
41. Shimizu-Sato, S. & Mori, H. (2002). Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *American Society of Plant Biology*, 127, 1405-1413.
42. Terence, R. B., Dunst, M. & Joy,P. (2002). Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in 'Concord' grapevine roots. *HortScience*, 37(2), 313-316.
43. Umberto, A., Camargo, J., Dimas, G., Maia, P. & Ritschel, S. (2006). Grapevine breeding for tropical and subtropical environments in Brazil. *Embrapa Grape and Wine*. Caixa Postal 130–CEP 95700-000 Bento Goncalves, RS, Brazil.1-5.
44. Wheeler, S. F. (2006). *The role of abscisic acid in grape berry development*. A thesis submitted for the degree of doctor of Philosophy at the University of Adelaide. 1-3.
45. Zapata, C., Deleensb, E., Chaillouc, S. & Magned, C. (2004). Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant Physiology*, 161, 1031-1040.

www.SID.ir

Archive of SID Iranian Journal of Horticultural Science, Vol. 46, No. 3, Autumn 2015

Determination of chilling and heat requirements of grape cuttings and changes in carbohydrates and hormones during chilling period

Saeed Eshghi[1*] and Mehdi Garazhian[2]

1, 2. Associate Professor and Ph.D. Student of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Iran

(Received: May 5, 2013 - Accepted: Oct. 4, 2014)

ABSTRACT

This research was carried out to determine the chilling and heat requirements of grapevine cultivars (Rotabi, Siah Shiraz and Yaguti) and carbohydrate and hormones changes in chilled cuttings. Uniform cuttings of above mentioned cultivars were harvested when leaves were abscised in autumn, and then transferred to refrigerator (2˚C). Cuttingswere subjected to 0 (unchilled control), 100, 200, 300, 400, 500 chilling hours, then cuttings were put in distilled water at room temperature and continues light conditions. Results indicated that the highest bud break percent of 'Siah Shiraz', 'Rotaby' and 'Yaguti' were obtained from 500, 400 and 400 h respectively. The shortest time (29d) to 50% bud break of 'Siah Shiraz' was in 500 h(29 d), in 'Rotabi' and 'Yaguti' were in 400 h (20 and 16d) chilling. Rate of starch content in all cultivars were decreased when chilling exposed hours increased, while soluble carbohydrate content in cuttings increased with increasing chilling hours. Also, with increasing chilling exposed hours, GA, Cytokinin and Auxin contents increased whereas ABA decreased. In conclusion, chilling requirement of 'Yaguti', 'Rotabi' and'Siah Shiraz'cultivars were 400, 400, 500 hours and heat requirements were 4320, 5472 and 8064 GDH, respectively.

Keywords: chilling requirement, soluble car bohydrate, starch, *Vitis vinifera*.

* Corresponding author E-mail: eshghi@shirazu.ac.ir Tel: +98 9173165308

www.SID.ir