

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

سعید عشقی^{۱*} و مهدی گاراژیان^۲

۱ و ۲. دانشیار و دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۷/۱۲)

چکیده

این پژوهش به منظور 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 دوره 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 درجه 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 آبسزیک 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 به ترتیب 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 آبسزیک‌اسید کاهش یافت. در نتیجه نیاز سرمایی رقم‌های یاقوتی، رطبی و سیاه شیراز به ترتیب ۴۰۰، ۵۰۰ و ۴۰۰ ساعت و نیاز گرمایی ۵۴۷۲، ۴۳۲۰ و ۸۰۶۴ درجه‌ساعت (GDH) تعیین شد.

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

مقدمه

انگور یکی از میوه‌های معتدله قابل کشت در اقلیم‌های مختلف از جمله مناطق گرم و نیمه‌گرم است (Antonio et al., 2009; Corrales-Maldonado et al., 2010)، اما در برخی از این مناطق، نبود سرمای زمستانه کافی مشکل‌ساز است. این مشکل حتی در مناطق معتدله‌ای که زمستان‌های ملایم دارند یا مناطقی که تحت تأثیر پدیده گرم‌شدن جهانی کره زمین قرار گرفته‌اند، نیز دیده می‌شود. سرمای زمستانه کافی در درختان

مناطق معتدله سبب برطرف‌شدن درون‌خفتگی (Endodormancy) می‌شود. نشکفتن یا شکوفایی نامنظم و غیرطبیعی جوانه‌ها و کاهش درصد آن از جمله آثار سرمای زمستانه ناکافی است. اصطلاح شکوفایی جوانه هنگامی به کار 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-Maldonado et al., 2010). هرچند عواملی مانند میزان ذخیره کربوهیدرات،

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 میوه خزان‌دار مناطق معتدله، نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان دارد. در انتهای فصل رویشی، کربوهیدرات‌ها به نشاسته تبدیل و ذخیره می‌شوند. نشاسته اندوخته‌شده به‌منزله 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, 2006; Aysel, 2002). 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 فندهای محلول در میانه زمستان افزایش می‌یابد و در نتیجه سبب افزایش مقاومت گیاه به سرمای زمستانه می‌شود (Aysel, 2006; Chinnasamy & Bal, 2003).

با ورود گیاه به شرایط دمایی پایین و طول روز کوتاه در پاییز میزان هورمون‌های درونی نیز تغییر می‌یابد (Arora & Tanino, 2003). رابطه مثبتی بین میزان ABA و میزان آب موجود در پوست *V. vinifera* و *V. riparia* با شرایط طول روز کوتاه 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 فعالیتت 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

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. به‌رحال به‌دلیل زودرسی، نوبر بودن، 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 دامنه دمایی ۲/۵ تا ۱۲/۵ درجه سلسیوس محاسبه می‌شود، خارج از این محدوده 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 دمایی کمتر از ۷ درجه سلسیوس تعیین کردند. Francisco *et al.* (2008) نیز میزان نیاز سرمایی انگور رقم 'تامسون‌سیدلس' را در شمال منطقه شیلی ۵۰۰ تا ۸۰۰ ساعت و در دره 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 تحت تأثیر عوامل درونی و شرایط محیطی است. از جمله عوامل درونی مؤثر بر چرخه‌های رشدی درون خفتگی است که خود تحت تأثیر میزان کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های داخلی

مطابق فرمول زیر میانگین دمای بعد از سرمادهی و طول این مدت براساس ساعت نشان‌دهنده میزان نیاز گرمایی رقم بررسی شده است. در این فرمول a نشان‌دهنده تعداد ساعت پس از تأمین نیاز سرمایی و b صفر فیزیولوژیکی انگور (۱۰ درجه سلسیوس) است.

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

شاخص شکوفایی، مرحله 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 نمونه پودر شده 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 محاسبه میزان نشاسته استفاده شد. همچنین میزان تغییرات هورمون‌های داخلی شامل اکسین، سایتوکینین، جبرلیک‌اسید و آبسزیک‌اسید در رقم یاقوتی براساس روش Ergun *et al.* (2002) اندازه‌گیری شد. مقدار هورمون‌های استخراج‌شده به‌وسیله اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۲۲ و ۲۸۰ nm برای تعیین مقدار IAA، ۲۵۴nm برای GA₃، ۲۶۳nm برای ABA و ۲۶۹ nm برای زاتین استفاده و مقدار هورمون موجود در هر نمونه به‌دست آمد. داده‌های ثبت‌شده توسط نرم‌افزار SPSS16 و مقایسه 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

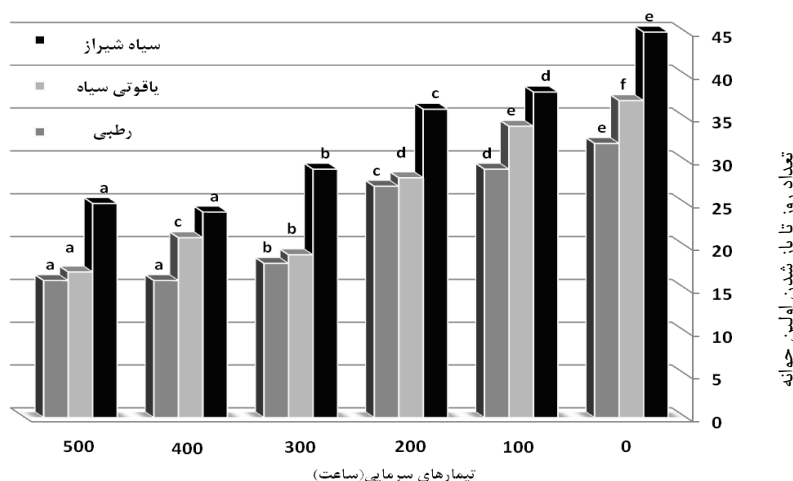
ABA تنظیم‌کننده اصلی خفتگی در تمشک است. همچنین Bonhomme *et al.* (2005) نشان دادند که با افزایش میزان سایتوکینین، شکوفایی جوانه‌ها نیز افزایش می‌یابد.

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 چرخه 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 دوره سرمادهی نیز بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشکده 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 درجه 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 پارچه نظیف مرطوب پیچیده شدند. تیمارهای سرمایی شامل ۰ (شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی در دمای ۲ درجه 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 درجه 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

سرمادهی به دست آمد (شکل ۳). بیشترین زمان تا شکوفایی اولین جوانه نیز در تیمار شاهد بود (شکل ۱). 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 (شکل ۲). کوتاه‌ترین زمان تا شکوفایی اولین جوانه در ارقام سیاه شیراز و رطبی در تیمار ۴۰۰ ساعت سرمادهی به دست آمد. براساس نتایج به دست آمده از تعداد روز تا شکوفایی ۵۰ درصد جوانه‌ها، میزان نیاز گرمایی رقم یاقوتی سیاه ۴۳۲۰، رطبی ۵۴۷۲ و سیاه شیراز ۸۰۶۴ درجه ساعت (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.



شکل ۱. تعداد روز تا باز شدن اولین جوانه در ۳ رقم بررسی شده

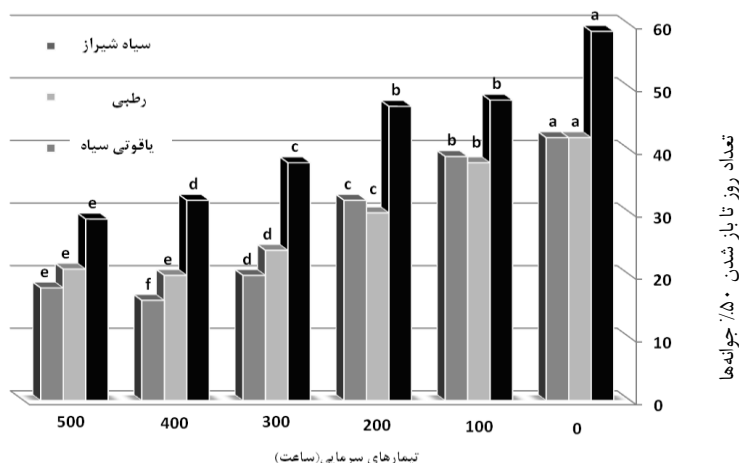
* مقایسه میانگین‌ها برای ساعت‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.

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

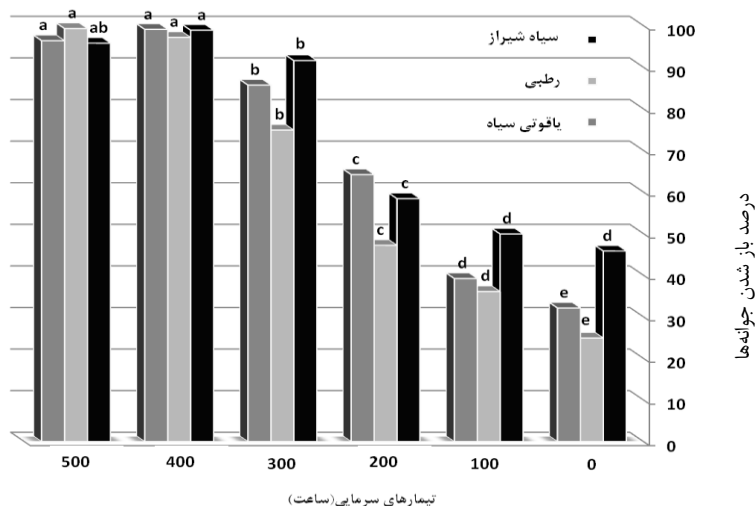
برای رشد و شکوفایی جوانه‌ها در ابتدای بهار ضروری است. در صورتی که نیاز سرمایی کافی وجود نداشته باشد به همان نسبت شکوفایی جوانه و میزان عملکردی که در انگور رابطه مستقیم با تعداد جوانه‌های شکوفاشده دارد، کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش Kavooosi *et al.* (2008)، Mathiason *et al.* (2002)، Jalili-Marandi (2008)، و Francisco *et al.* (2008) نیز مطابقت داشت.

Egea *et al.* (2003)، Citadin *et al.* (2001) و

همچنین Ruiz *et al.* (2007) به ترتیب 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 به دست آمده نشان می‌دهد سرمادهی و دمای پایین طی فصل خفتگی



شکل ۲. تعداد روز تا باز شدن ۵۰ درصد جوانه‌ها در ۳ رقم بررسی شده
 * مقایسه میانگین‌ها برای ساعات‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.
 * ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



شکل ۳. درصد باز شدن جوانه‌ها در ۳ رقم بررسی شده
 * مقایسه میانگین‌ها برای ساعات‌های سرمادهی در هر رقم انجام شده است.
 * ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معناداری از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

داشت و با اعمال تیمارها کاهش معناداری نشان داد. همچنین میزان نشاسته اندازه‌گیری شده در بافت میان‌گره بیشتر از سایر بافت‌ها بود. تغییرات نشاسته بر اثر سرمادهی در بافت‌های بررسی شده نیز روند مشابهی داشت (شکل‌های ۴-۹).

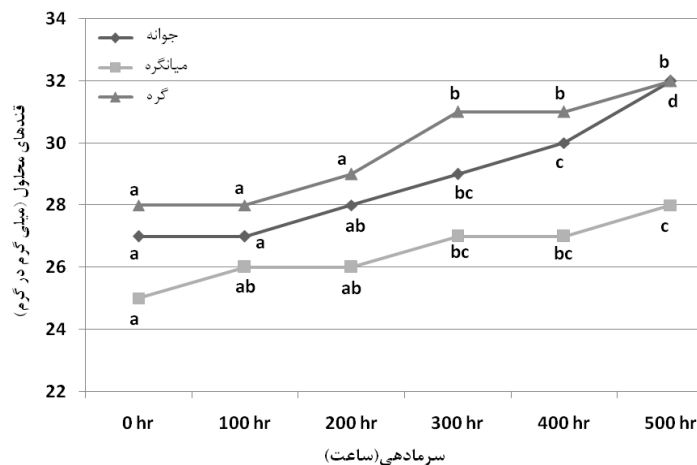
سرمادهی سبب تبدیل نشاسته به قندهای محلول از جمله سوکروز، سوربیتول و رافینوز می‌شود (Cox & Stushnoff, 2001; Barbarox & Breda, 2002; Bhowmik & Matsui, 2003). تبدیل نشاسته به قندهای محلول و کاهش میزان آن ممکن است برای

کربوهیدرات‌ها

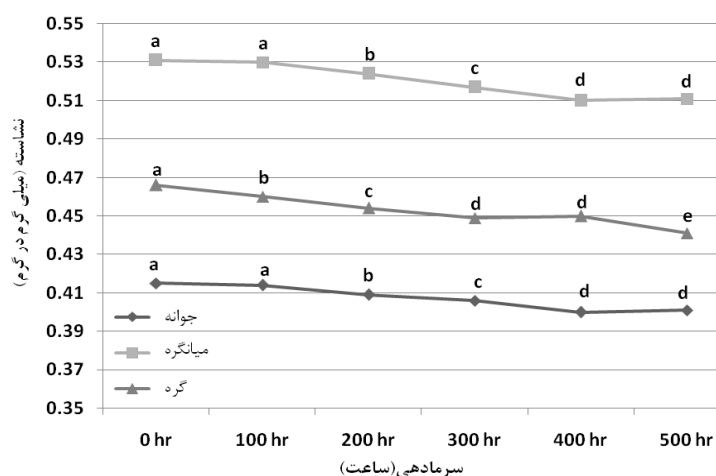
قندهای محلول در بافت جوانه رقم سیاه شیراز کمترین میزان در تیمار شاهد (بدون سرمادهی) (۲۷ mg/g) و بیشترین نیز در تیمار ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی بود (۳۶ mg/g). با سرمادهی و افزایش زمان آن، میزان قندهای محلول افزایش معناداری داشت. در رقم رطبی و یاقوتی سیاه نیز روند مشابهی در مورد کربوهیدرات‌ها و بافت‌های بررسی شده مشاهده شد. هرچند این میزان در بافت چوبی میان‌گره و گره کمتر از جوانه بود. در ابتدای سرمادهی میزان نشاسته در بالاترین اندازه خود قرار

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. Terence *et al.* (2004) Zapata *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.

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 بررسی شده مشاهده شد، اما در بافت جوانه، شدت بیشتری داشت که نشان‌دهنده 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 & Cox, 2003). نتایج این بررسی با یافته‌های (Matsui, 2003) نیز 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.



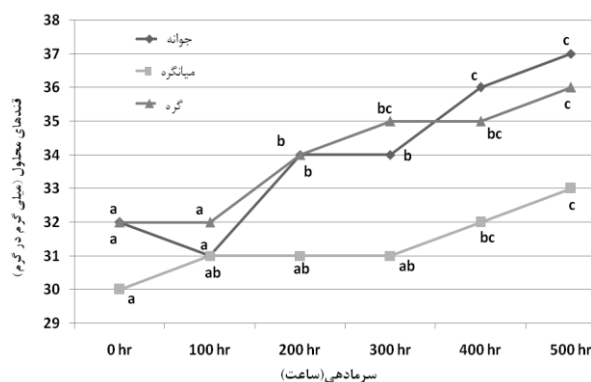
شکل ۵. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم یاقوتی سیاه * تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

هورمون‌ها

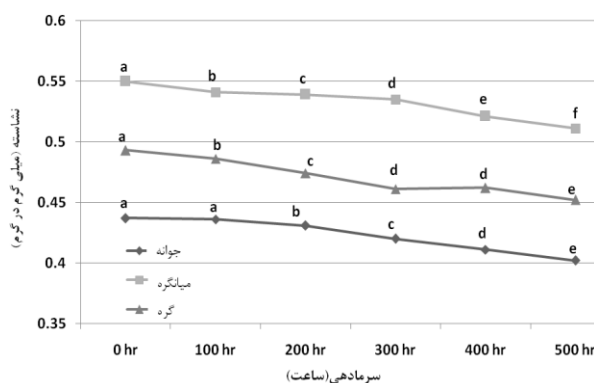
بررسی میزان هورمون‌های درونی نشان داد که سرمادهی سبب افزایش میزان جیبرلین می‌شود که در هر سه بافت بررسی شده روند مشابهی داشت، هرچند که تنها در بافت جوانه معنادار بود. میزان جیبرلین جوانه در تیمار شاهد و ۱۰۰ ساعت سرمادهی کمترین و در تیمار ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت بیشترین ($2/94 \mu\text{g/g}$) بود. میزان سایتوکینین نیز به جز 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 بررسی شده نشان داد میزان افزایش اکسین در هر سه بافت روند مشابهی دارد. همچنین سرمادهی سبب کاهش معنادار میزان آبسزیک‌اسید موجود در بافت‌ها می‌شود. در بین عوامل مؤثر بر چرخه رشدی گیاه، هورمون‌ها نقش بسزایی دارند. با کوتاه‌شدن طول

روز و کاهش دما در پایین میزان هورمون‌های درونی تغییر می‌یابد. از جمله مهم‌ترین این هورمون‌ها جیبرلین است که احتمالاً در جوانه درختان افزایش میزان جیبرلین به‌نوعی شروع تحریک تجزیه 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 تولیدکننده هورمون جیبرلین است. در ابتدای ورود گیاه به شرایط نامساعد محیطی، تولید جیبرلین متوقف می‌شود (Arora & Tanino, 2003).



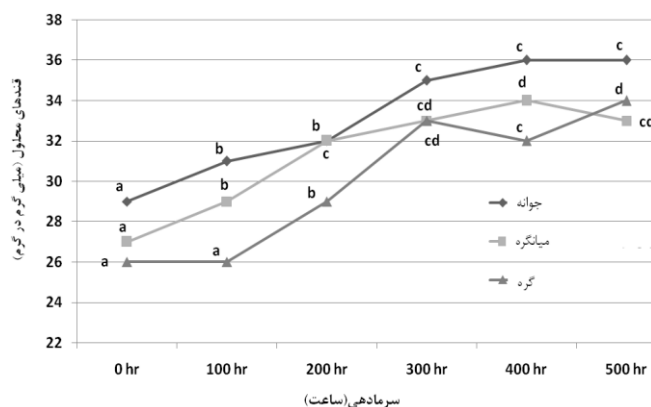
شکل ۶. تغییرات مقدار قندهای محلول در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی در رقم رطبی * تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



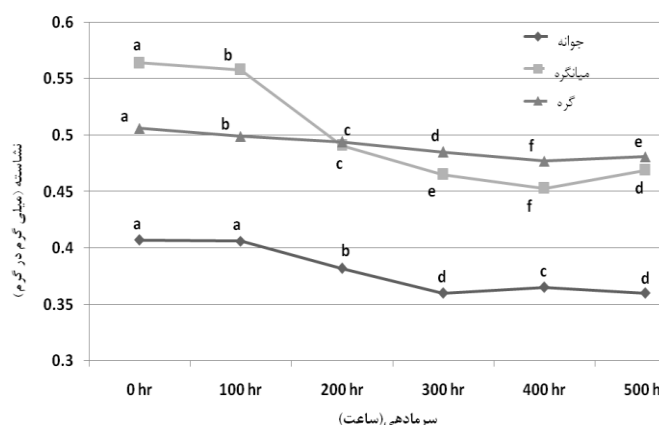
شکل ۷. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم رطبی * تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

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.

پژوهش‌های سایر پژوهشگران نیز نشان‌دهنده 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



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.

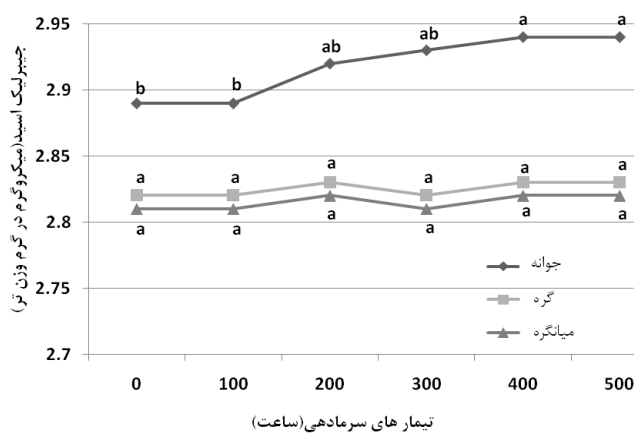


شکل ۹. تغییرات مقدار نشاسته در بافت‌های مختلف در تیمارهای متفاوت سرمادهی رقم سیاه شیراز * تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.

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. شیرۀ آوند چوبی گیاهان تیمار شده 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،

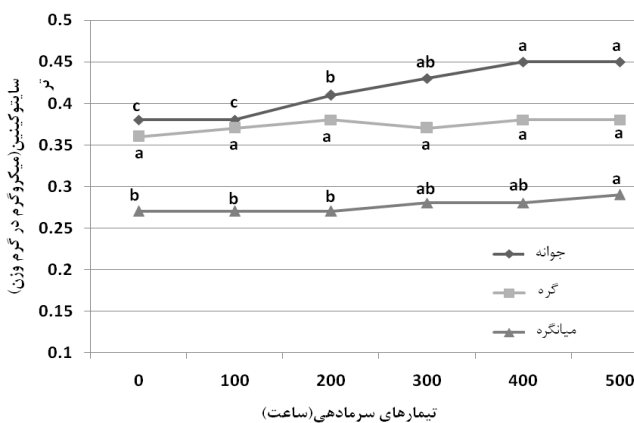
پژوهش‌ها در مورد نقش سایتوکینین در خفتگی نشان می‌دهد مقدار این هورمون گیاهی هنگام ورود گیاه به حالت خفتگی کاهش معناداری دارد (*Mohamed & El-Sese*, 2004). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که مقدار سایتوکینین در تیمار بدون سرمادهی کمترین است و با اعمال تیمارها افزایش معناداری پیدا می‌کند. افزایش غلظت سایتوکینین در آوند آبکش در اواخر زمستان و قبل از تورم جوانه‌ها نشانه‌ای از پایان خفتگی زمستانه است.

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

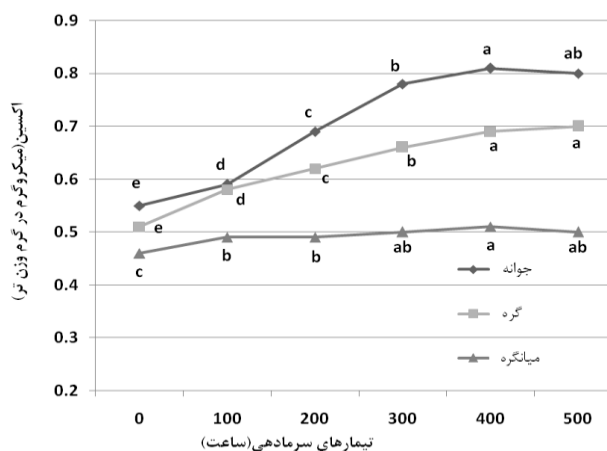


شکل ۱۰. تغییرات مقدار جیبرلیک‌اسید موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی انگور رقم یاقوتی سیاه

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



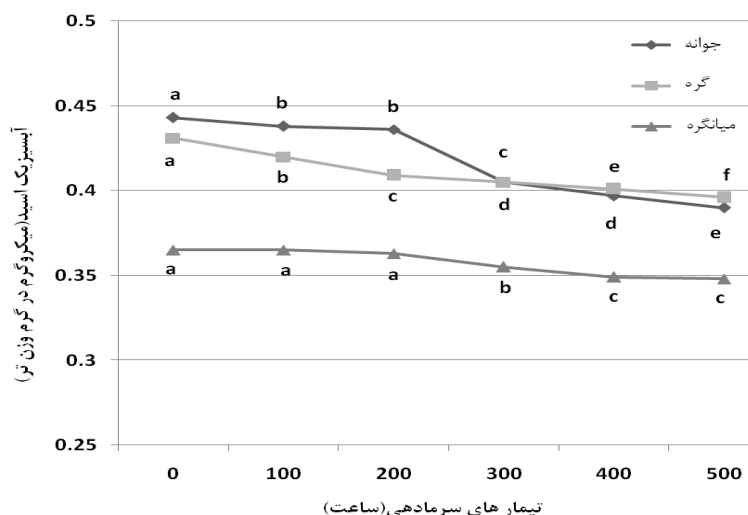
شکل ۱۱. تغییرات مقدار سایتوکینین موجود در بافت‌های جوانه، چوب گره و چوب میان‌گره در تیمارهای متفاوت سرمادهی تیمارهای دارای حروف مشترک تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد آزمون LSD ندارند.



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.

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).

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



شکل ۱۳. تغییرات مقدار آبسیزیک اسید 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.

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 (*Betula pubescens*) 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 ادامه فعالیت چرخه سلولی در فاز S می‌شود.

به‌طور کلی، 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 به ترتیب ۴۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ ساعت سرمادهی و نیاز گرمایی آن‌ها ۴۳۲۰، ۵۴۷۲ و ۸۰۶۴ درجه‌ساعت (GDH) تعیین می‌شود. همچنین مشخص شد که

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 & Mori, 2001; Wheeler, 2006). Sato & Mori (2001) 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 dioxygenase (NECD) و Zeaxanthin Epoxidase (ZEP) تولید ABA را کنترل

هورمون‌هایی مانند جیبرلین و سایتوکینین به حداقل خود می‌رسد. طی دوره سرمادهی و با افزایش زمان آن میزان هورمون‌هایی مانند سایتوکینین و اکسین افزایش می‌یابد و میزان آبسزیک‌اسید نیز کاهش چشمگیری را نشان می‌دهد.

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 آبسزیک‌اسید در ایجاد خفتگی زمستانه کاملاً مشهود است. با ورود به خفتگی میزان

REFERENCES

- 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.
- Andreini, L., Viti, R. & Scalabrelli, G. (2009). Study on the morphological evolution of bud break in *Vitis vinifera*. *Vitis*, 48(4), 153-158.
- 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.
- 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.
- Antonio, M., Martinez, T. & Antonio, J. (2009). Metabolic activity of low chilling grapevine buds forced to break. *Thermochimica Acta*, 481, 28-31.
- Arora, R. & Tanino, K. (2003). Induction and release of bud dormancy in woody perennials: a science comes of age. *Hort Science*, 38, 911-921.
- Aysel, S. (2006). Seasonal changes of total carbohydrate contents in three varieties of apple (*Malussylvestris* Miller) stem cuttings. *Science Horticulture*, 109, 234-237.
- 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.
- 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.
- Bonhomme, M., Regeau, R., Lacoite, 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.
- Boonprakob, U. & Byrne, D. H. (2005). Breeding low chill stone fruit in Thailand. *Aciat Technical Report*, 61, 39-42.
- Byrne, D. H. (2005). Trends and progress of low chill stone fruit breeding. *Australian Centre for International Agricultural Research*, (ACIAR), 61, 5-12.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Egea, J., Ortega, E., Martinez-Gomez, P. & Dicenta, F. (2003). Chilling and heat requirements of almond cultivars for flowering. *Environment and Experimental Botany*, 50, 79-85.
- 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.
- 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.

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. Kavooosi, 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 amurensishybrids* 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.

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

Saeed Eshghi^{1*} and Mehdi Garazhian²

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). Cuttings were 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', 'Rotabi' 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 carbohydrate, starch, *Vitis vinifera*.