مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۳ شماره ۱ صفحه های ۱۲۵ تا ۱۴۴ (۱۴۰۱)
مقاله پژوهشی

مقایسه اثر سیستم‌های تربیت داربستی و خزنده بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی مرتبط با تحمل سرما در دو رقم انگور[1]

Comparison of the Effect of Trellised and Non-Trellised Training Systems on Morphophysiological and Biochemical Indices Related to Cold Tolerance in Two Grapevine Cultivars

حمید مهرپور، روح الله کریمی* و علی اکبر قاسمی سلوکلوئی[2]

چکیده

پژوهش حاضر با هدف مقایسه اثر سیستم‌های تربیت داربستی و خزنده بر تحمل به‌سرمای زمستانه دو رقم انگور بیدانه‌قرمز و بیدانه‌سفید به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. طی مرحله سازگاری به سرما، کمترین محتوای عنصرهای برگ و بیشترین میزان ریزش برگ، تشکیل پریدرم برگ و لیگنین جوانه مربوط به رقم بیدانه‌قرمز با سیستم داربستی بود. افزون بر این، بیشترین میزان تحمل به سرمای زمستانه برآورد شده به روش نشت یونی و روش قهوه‌ای شدن اکسایشی و همچنین بیشترین میزان فنول‌کل، پرولین و کربوهیدرات محلول در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه‌قرمز با سیستم داربستی بود؛ در حالی که کمترین تحمل به سرمای زمستانه، فنول‌کل، پرولین و کربوهیدرات محلول مربوط به رقم بیدانه‌سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود. همچنین، بیشترین محتوای آب، نشاسته و پراکسیدهیدروژن و انباشت مالون‌دی‌آلدئید جوانه در دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه‌سفید با سیستم خزنده بود. در هر دو مرحله نمونه‌برداری، محتوای اسید ابسیزیک، ساکاروز، گلوکز، فروکتوز و رافینوز جوانه هر دو رقم با سیستم داربستی بیشتر از سیستم خزنده بود. نتیجه‌های این پژوهش می‌تواند برای ترغیب تاکداران در راستای تغییر شیوه پرورش انگور از سنتی به داربستی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: انگور، تحمل یخ‌زدگی، تشکیل پریدرم، روش تربیت، قندهای محلول.

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) مشابه با دیگر درختان میوه به منظور غلبه بر دمای پایین یکسری سازوکارهای سازگاری از خود نشان می‌دهند که امکان زنده‌مانی در این شرایط نامساعد را برای آن‌ها فراهم می‌کند. تغییرهای مورفوفیزیولوژیکی تاک‌ها طی مرحله سازگاری با کاهش و توقف کامل رشد و به دنبال آن پیری و ریزش برگ، توسعه پریدرم در میانگره شاخه‌ها و رسوب چوب و چوب پنبه در جوانه‌ها همراه است. همچنین، تحمل یخ‌زدگی در تاک‌ها با کاهش محتوای آب بافت‌های تنه و شاخه و فراسردی (سوپرکولینگ) جوانه‌ها افزایش می‌یابد. جوانه‌های تاک طی اوایل تا اواسط زمستان به بیشینه میزان تحمل یخ‌زدگی دست می‌یابند و مراحل مختلفی از رکود را در سراسر زمستان تجربه می‌کنند (۱۱). تاک‌ها طی مرحله سازگاری به سرما به منظور تحمل دمای پایین دستخوش تغییرهای فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی مانند کاهش محتوای آب، انباشت کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و تغییرهای هورمونی می‌شوند. سطوح درون‌زای قندهای محلول همبستگی نزدیکی با تحمل

۱- تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱/۲۰

۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه فضای‌سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، استادیارگروه اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران. کرج، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (R.Karimi@malayeru.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]
[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

یخ‌زدگی جوانه‌ها و بافت‌های شاخه تاک‌ها دارد (۱۹). ارتباط بین انباشت کربوهیدرات‌های محلول و تحمل سرما در گیاهان دیگر مانند انار (۱۳) و انگور (۱۷) نیز گزارش شده است. همچنین، ابسیزیک اسید نقش موثری در تنظیم فرآیند سازگاری به سرمای تاک‌ها دارد (۲۰). افزون بر این، مشخص شده که سطح این هورمون درون‌زا با ورود تاک‌ها به مرحله رکود افزایش و بعد از رکود مقدار آن کاهش می‌یابد که حاکی از نقش ابسیزیک اسید به عنوان بازدارنده شکوفایی جوانه‌های در حال خواب تاک می‌باشد (۲۳). طی دوره سازگاری به سرما، غلظت ترکیب‌های فنولی نیز افزایش می‌یابد و افزایش این ترکیب‌ها به طور مثبت با ظرفیت پاداکسایشی گیاه در ارتباط است. همچنین، پلیمرهای فنولی مانند لیگنین و سوبرین در جوانه‌های گل رقم‌های مقاوم به سرمای آزالیا با انسداد آوندهای چوبی و آبکش از پیشرفت بلورهای یخ موجود در شاخه و فلس‌ها به درون سرآغازه‌های گل جلوگیری می‌کنند (۸). یکی از مهمترین آسیب‌های تنش سرما، بروز پراکسیداسیون در لیپیدهای غشاء، است که طی آن رادیکال‌های هیدروکسیل باعث تغییر در سیالیت، انسجام و نفوذپذیری غشاء از راه بر هم‌زدن آرایش فسفولیپیدهای غشاء و کاهش نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اشباع می‌شوند (۵۶). بنابراین، تنش یخبندان باعث از بین رفتن انسجام غشاء اندامک‌های درون یاخته‌ای و در نتیجه نشت مواد محلول می‌شود که نشت این مواد باعث افزایش هدایت الکتریکی محلول شده و این تغییر افزایشی به‌عنوان نشانه‌ای از آسیب یا مرگ یاخته تلقی می‌شود. افزون بر این، تنش یخبندان به غشاء سیتوپلاسمی آسیب‌رسانده و در صورت ادامه انجماد، غشاء سیتوپلاسمی پاره شده و به دنبال آن مواد یاخته‌ای به خارج از یاخته نشت می‌نمایند (۱۹). بنابراین، پس از تنش یخبندان، اندازه‌گیری درصد نشت الکترولیتی بافت‌ها یک شاخص مناسب برای تخمین سلامت و تراوایی غشا است (۱۱) که توسط پژوهشگران مختلف برای ارزیابی تحمل به سرما و یخ‌زدگی گیاهان استفاده شده است (۱۷).

تحمل به سرما در تاک بسته به ژنتیک رقم، گونه، پایه و مراحل فنولوژیک متفاوت است. با این حال، شرایط اقلیمی و عملیات باغی مانند تغذیه، آبیاری، میزان محصول و سیستم تربیت نیز می‌تواند بر میزان تحمل به سرما تاثیر بگذارد (۱۹). سیستم تربیت با تغییر توزیع نور ورودی به درون تاج، اثر قابل توجهی بر بلوغ بافت‌ها و نیز انباشت کربوهیدرات‌ها در شاخه‌ها و جوانه‌های تاک دارد. نور کافی طی فصل رشد باعث بلوغ شاخه‌ها و افزایش تحمل یخ‌زدگی در آن‌ها می‌شود. بنابراین، اثر نور در تکمیل فرایند سازگاری به سرما با مشاهده شاخه‌های قهوه‌ای شده در بخش‌های خارجی تاک نسبت به رنگ سبز تا زرد شاخه‌های درونی واقع در بخش سایه‌گیر تاج، قابل تشخیص است (۳۸). همچنین، سطوح بالای نور درون تاج باعث افزایش تحمل یخ‌زدگی تاک در اواسط زمستان می‌شود که به احتمال این افزایش با انباشت بیشتر کربوهیدرات‌های محلول در ارتباط است (۲۸).

انگور یکی از مهمترین محصول‌های باغی در دنیا و ایران به شمار می‌رود. مشابه با بسیاری از تاکستان‌های کشور، بیش از ۹۰٪ باغ‌های انگور شهرستان ملایر با سیستم سنتی خزنده احداث شده‌اند که در این نوع سیستم پرورش، امکان مکانیزاسیون باغ وجود نداشته و از طرفی هزینه کارگری بالایی صرف پابیل‌زنی و خاک‌کردن بوته‌ها برای اجتناب از سرمازدگی و یخ‌زدگی می‌شود. از این رو، تغییر سیستم‌های سنتی خزنده باغ‌های انگور شهرستان به سیستم‌های مکانیزه داربستی در باغ‌های قدیمی و همچنین احداث باغ‌های جدید با سیستم داربستی و آبیاری قطره‌ای مکانیزه به جهت کاهش هزینه‌ها و افزایش بهره‌وری و درآمد باغداران امری گریز ناپذیر می‌باشد. افزون بر این، سیستم‌های داربستی با تاثیر بر میزان نور ورودی در تاج، زمان رسیدن میوه، راندمان فتوسنتز و ذخیره قندها در بافت‌های دائمی، بلوغ چوب و دیگر تغییرهای فیزیولوژیکی می‌توانند بر تحمل به سرمای تاک تاثیر داشته باشد (۱۸). با بررسی اثر سیستم تربیت خزنده بر کیفیت کشمش تولیدی و نیز تحمل به سرمای انگور بیدانه سفید مشخص شد که در این سیستم تربیت، نوع مدیریت تغذیه نقش به سزایی در عملکرد، کیفیت کشمش و نیز تحمل به سرمای شاخه‌های یکساله تاک دارد (۲۹). در مطالعه‌ای تحمل به سرمای تعداد ۲۰ رقم مختلف انگور (*Vitis vinifera* L.) سه ساله در سیستم داربستی کوردون نوع I در باغ پژوهشی شماره ۳ پژوهشکده انگور و کشمش دانشگاه ملایر با استفاده از دو روش نشت یونی و آزمون تترازولیوم مشخص شد که بین مقاومت به سرما و غلظت کربوهیدرات، پرولین، فنول کل و محتوای آب در این رقم‌ها ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۱۷). سرمازدگی و یخ‌زدگی و صدمه‌های حاصل از آن یک مشکل جدی در تاکستان‌ها است که باعث محدودیت‌های تولید در رقم‌های بومی و حتی رقم‌های به اصطلاح مقاوم به سرما نیز می‌شود. لذا کاربرد عملیات باغی بهینه مانند استفاده از سیستم‌های تربیت متناسب با هر منطقه جهت مدیریت سرمازدگی

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

امری ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف مقایسه تحمل به سرمای انگور بیدانه سفید و بیدانه قرمز به عنوان دو رقم تجاری و با پتانسیل تازه‌خوری و تولید کشمش در ایران زیر دو سیستم تربیت داربستی و خزنده انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل انجام پژوهش

این پژوهش در سال ۱۳۹۹ در یک تاکستان تجاری واقع در روستای ورچق از توابع شهرستان ملایر انجام شد. این مطالعه با هدف مقایسه میزان تحمل به سرمای دو رقم انگور بیدانه سفید (رقم حساس به سرما) و رقم بیدانه قرمز (رقم متحمل به سرما) (۱۱) با سیستم خزنده (سنتی یا خوابیده) و تربیت داربستی کوردون دوطرفه به صورت آزمایش فاکتوریل (۲×۲) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار (دو تاک در هر تکرار) در پاییز و زمستان ۱۳۹۹ اجرا شد. فاکتور اول شامل دو نوع سیستم تربیت (داربستی و خزنده) و فاکتور دوم شامل دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) بود. در قطعه شماره یک این تاکستان، تاک‌ها با سیستم داربستی کوردون با تیرک‌های بتنی در ردیف‌های شرقی- غربی (با فاصله ۲×۴) و در قطعه شماره دو تاک‌ها به صورت خزنده روی پشته‌ها هدایت شدند و برای این مطالعه استفاده گردیدند. تمام عملیات باغی برای هر دو باغ به صورت یکسان و بر اساس روش کشاورز انجام شد. این عملیات عبارت بودند از: ۱- مبارزه با آفات تریپس و خوشه خوار انگور با استفاده از سم دیازینون به ترتیب در ابتدا و اواسط فصل انجام شد؛ ۲- کنترل بیماری سفیدک سطحی از گل گوگرد در دو نوبت قبل و بعد گلدهی استفاده شد؛ ۳- آبیاری تاک‌ها به صورت غرقابی با دور آبیاری ۱۵ روز یکبار بود و ۴- به منظور هرس، تعداد ۲۰ شاخه شش جوانه‌ای باقی گذاشته شد. همزمان با کاهش طول روز و سردشدن هوا، شاخص‌هایی مانند محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، تشکیل پریدرم، محتوای لیگنین، خزان برگ در ابتدای فصل پاییز (مرحله شروع سازگاری به سرما) و سایر شاخص‌های فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی مرتبط با تحمل به سرما طی دو مرحله به ترتیب در مرحله خواب کامل در دی‌ماه (سازگاری کامل به سرما) و مرحله شکست خواب در اسفندماه (خروج از سازگاری به سرما) اندازه‌گیری شد.

کلروفیل و کارتنوئید برگ

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل کل، ابتدا مقدار ۰/۱۲۵ گرم بافت برگ تازه در حضور ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ در یک هاون چینی ساییده شد تا به صورت توده همگن درآمد. این عمل در نور کم و محیط خنک انجام شد و پس از سانتریفیوژ کردن عصاره حاصل (۶ هزار دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه)، محلول رویی برداشته و جذب نور آن در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (بیشینه جذب نور کلروفیل a) و ۶۴۵ نانومتر (بیشینه جذب نور کلروفیل b) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (اسپکول ۲۰۰۰، آلمان) و با استفاده از استون ۸۰٪ به عنوان بلانک خوانده شد. غلظت هر یک از رنگیزه‌ها در عصاره بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن‌تر محاسبه شد (۲۶).

عنصرهای تغذیه‌ای برگ

به‌منظور استخراج و اندازه‌گیری غلظت عنصرهای غذایی برگ، از بخش‌های میانی شاخه‌ها، به تعداد ۲۰ عدد از نمونه‌های برگی سالم در هر تیمار جمع‌آوری و در آزمایشگاه با آب مقطر شستشو داده شد و سپس نمونه‌ها در دمای ۷۵ درجه سلسیوس برای مدت ۷۲ ساعت خشک و آسیاب شدند. سپس غلظت عنصرهای فسفر، نیتروژن، پتاسیم، کلسیم و منیزیم به‌طور جداگانه مورد ارزیابی قرار گرفت. تهیه عصاره به‌روش هضم‌تر انجام گردید (۱) و برای این منظور به یک گرم پودر برگ، ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ (۶۵ درصد) افزوده شد. نمونه‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۶۵ درجه سلسیوس در حمام آب گرم قرار گرفت و سپس ۲/۶ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۲۰٪ به آن‌ها اضافه شد. پس از سرد شدن، نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف شده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پتاسیم به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر (مدل G 405 ساخت آلمان)، منیزیم و کلسیم با دستگاه جذب اتمی (مدل ۲۲۰ واریان، آسترالیا) و فسفر و نیترات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شدند.

درصد خزان تاک و تشکیل پریدرم شاخه

درصد خزان تاک با شمارش تعداد برگ‌های ریزش یافته از تعداد مشخصی شاخه (۵ شاخه در هر تاک) به کل برگ‌های شاخه در اوایل پاییز تعیین شد. همچنین، درصد تشکیل پریدرم با امتیازدهی رنگ اپیدرم خارجی پوست (۱ تا ۵ از رنگ سبز

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

تا قهوه‌ای) در شاخه‌های یکساله (۵ شاخه هر تاک) محاسبه و به صورت درصد بیان شد (۲۰).

اندازه‌گیری لیگنین کل شاخه

آماده‌سازی دیواره یاخته‌ای بدون پروتئین

تمام روش‌های مورد استفاده برای تعیین کمیت لیگنین پس از آماده‌سازی کامل بافت‌ها برای حذف پروتئین و سایر مواد جذب شونده در نور فرابنفش (UV) انجام شد؛ زیرا این حذف برای جلوگیری از اندازه‌گیری این ترکیب‌ها همراه با لیگنین در طول موج ۲۸۰ نانومتر ضروری بود. نمونه‌های خشک شاخه (۰/۳ گرم) با بافر ۵۰ میلی‌مولار فسفات‌پتاسیم (۷ میلی‌لیتر با پی‌اچ ۷) در بوته چینی همگن و پس از انتقال به لوله فالکون به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند (۱۲). رسوبات به دست آمده دو بار با بافر فسفات (pH 7.0؛ ۷ میلی لیتر)، سه بار با بافر ۱٪ (v/v) تریتون X-100 با pH خنثی، دو بار با کلرید سدیم ۱ مولار در بافر با pH خنثی، دو بار با آب مقطر (۷ میلی‌لیتر) و دو بار با استون (۵ میلی‌لیتر) شسته شد. سپس، نمونه‌ها در یک آون (۶۰ درجه سلسیوس، ۲۴ ساعت) خشک شد و در نهایت ماده خشک به دست آمده به عنوان بخشی از دیواره یاخته‌ای بدون پروتئین تعریف شد.

اندازه‌گیری لیگنین به روش کلاسون (Klason)

نمونه‌های عاری از پروتئین دیواره یاخته‌ای (یک گرم) در اسید سولفوریک ۷۲٪ و دمای ۴۷ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه به شدت هم‌زده شد تا هضم شود و پس از هضم کامل، نمونه‌های اتوکلاو شده (۱۲۱ درجه سلسیوس، ۱ اتمسفر، ۳۰ دقیقه) از کاغذ صافی عبور داده شد تا بخش‌های محلول و نامحلول جدا شوند. بخش محلول لیگنین در طول موج‌های۲۸۰ نانومتر و ۲۱۵ نانومتر خوانده و محتوای لیگنین با فرمول زیر محاسبه شد:

$$S = (4.53\ A215-A280)/300$$

این فرمول نمایانگر همزمان دو معادله $A280 = 0.68\ F+18\ S$ و $A215 = 0.15\ F+70\ S$ است که در آن A280 مقدار جذب در ۲۸۰ نانومتر، A215 مقدار جذب در ۲۱۵ نانومتر و F غلظت فورفورال است. حرف S نشان‌دهنده غلظت لیگنین محلول (g/ L) است. مقادیر ۰/۶۸ و ۰/۱۵ به ترتیب جذب مولی فورفورال‌ها در طول موج ۲۸۰ و ۲۱۵ نانومتر است. مقادیر ۱۸ و ۷۰ به ترتیب جذب مولی لیگنین محلول (S) در ۲۸۰ و ۲۱۵ نانومتر هستند (۱۲). میزان خاکستر تمام نمونه‌های باقیمانده (نامحلول) در کوره (دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس) به مدت ۴ ساعت تعیین شد. لیگنین بخش نامحلول با تفاوت در وزن خشک پیش از کوره و کل خاکستر به دست آمده برای هر نمونه محاسبه شد. محتوای لیگنین کل با مجموع لیگنین نامحلول و محلول تعیین شد و به صورت میلی‌گرم در گرم دیواره یاخته‌ای بیان شد.

ارزیابی تحمل به سرما

الف) روش نشت‌یونی

برای ارزیابی تحمل به سرما، در تاریخ ۱۵ دی‌ماه (دمای هوا ۱۲- درجه سلسیوس) و ۲۰ اسفندماه (دمای هوا ۱- درجه سلسیوس) سال ۱۳۹۹، از گره‌های میانی شاخه‌های یک ساله تعداد پنج قلمه به طول ۳۰-۲۵ سانتی‌متر از هر تاک انگور برداشت و در یخدان یونولیتی به آزمایشگاه تحقیقات باغبانی دانشگاه ملایر منتقل شد. به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی، شاخه‌های یکساله با آب مقطر شستشو شدند. پس از حذف رطوبت اضافی با دستمال حوله‌ای، ۵ شاخه از هر رقم درون کیسه‌های فریزر مجزا گذاشته و در معرض تیمارهای سرمایی مختلف در یک اتاقک سرماساز هوشمند (راد الکترونیک، تهران، ایران) قرار داده شد. تیمارهای دمایی در دی و اسفندماه شامل ۸-، ۱۲-، ۱۶-، ۲۰- و ۲۴- درجه سلسیوس و سرعت کاهش دما دو درجه سلسیوس در هر ساعت بود. بعد از اعمال تیمارهای سرمایی، شاخه‌ها از اتاقک سرماساز خارج و به منظور ذوب شدن تدریجی ابتدا ۲ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس و سپس ۳ ساعت در دمای ۲۳ درجه‌سلسیوس قرار داده شدند. سپس از شاخه‌های اختصاص یافته به هر تیمار دمایی پنج جوانه با چاقوی تیز جدا و به‌صورت جداگانه در قوطی‌های ۷۰ میلی‌لیتری حاوی۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شد. قوطی‌ها به‌مدت ۲۰ ساعت روی شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. پس از این مدت، هدایت الکتریکی آن‌ها با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج (مدل آتاگو، ژاپن) اندازه‌گیری شد (EC_1). سپس قوطی‌های حاوی نمونه‌های گیاهی در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه گذاشته و پس از سرد شدن نمونه‌ها، هدایت الکتریکی آن‌ها دوباره اندازه‌گیری شد (EC_2). درصد نشت‌یونی نسبی(REL)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد (۱۱).

رابطه (۱) $REL = (EC_1/EC_2) \times 100$ (نشت یونی نسبی)

ب) روش قهوه‌ای شدن اکسایشی

بعد از اعمال تیمارهای سرمایی مشابه با روش نشت یونی، در دو مرحله شروع سازگاری به سرما (دی‌ماه) و مرحله خروج از سازگاری (اسفندماه)، نمونه‌ها به صورت جداگانه در داخل کیسه‌های پلاستیکی به مدت یک هفته در دمای اتاق و محیطی با نور کم قرار داده شدند. این شرایط باعث اکسید شدن مواد محلول و ترکیب‌های فنولی نشت شده از بافت‌های جوانه در اثر تنش یخ‌زدگی می‌شود. برای ارزیابی خسارت یخ‌زدگی، به طور تصادفی تعداد ۱۵ جوانه از هر رقم در هر تیمار دمایی از شاخه‌های سرما دیده با استفاده از تیغ اسکالپل تیز از نوک جوانه‌ها تا اولین جوانه برش داده شد. در نهایت میزان خسارت سرما در مقطع عرضی جوانه اولیه با استفاده از بینوکولر (بزرگنمایی۴۰) جهت تعیین میزان قهوه‌ای یا بافت‌مرده شدن آن امتیازدهی شد. جوانه‌های اولیه‌ای که رنگ سبز داشتند به عنوان جوانه سالم و آن‌هایی که ظاهری قهوه‌ای، کهربایی و تیره داشتند به عنوان جوانه مرده امتیازدهی و سپس درصد جوانه‌های آسیب دیده در هر تیمار سرمایی با تقسیم جوانه‌های مرده به جوانه‌های سالم تعیین شد (۱۱).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی به‌وسیله اسید تیوباربیتوریک با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید انجام شد. مقدار ۰/۲ گرم بافت تازه جوانه در ۵ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۰/۱ درصد همگن شد. سپس عصاره حاصل به لوله فالکون انتقال یافته و به‌مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد اسید تیوباربیتوریک بود اضافه شد. آمیخته بالا به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سلسیوس) قرار گرفت و سپس بی‌درنگ در حمام یخ سرد و بعد از آن در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب نمونه‌ها ابتدا در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شده و از مقدار جذب آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر کم شد. غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از ضریب تصحیح ۰/۱۵۵ میکرومول بر سانتیمترمربع محاسبه و براساس میکرومول بر گرم وزن تر بیان شد (۱۴).

پراکسید هیدروژن

برای اندازه‌گیری پراکسید هیدروژن ابتدا مقدار ۰/۳ گرم از نمونه جوانه توزین و در سه میلی‌لیتر اسید تری کلرو استیک یک درصد همگن شد. سپس نمونه‌ها به لوله‌های سانتریفوژ منتقل و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از آن به ۰/۷۵ میلی‌لیتر از رونشین، ۰/۷۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با پی‌اچ ۷ و ۱/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه شد. غلظت پراکسید هیدروژن نمونه‌ها به‌وسیله مقایسه جذب آن‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر و منحنی استاندارد آن در طیفی از ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومول بر میلی‌لیتر محاسبه شد (۲۷).

محتوای آب

در هر مرحله از نمونه‌برداری شاخه‌های یکساله تاک‌ها جمع‌آوری و جوانه‌های واقع در گره‌های میانی آن‌ها جدا گردید و سپس وزن جوانه‌ها پیش و پس از قرار دادن در آون (مدت سه روز در دمای ۷۰ درجه سلسیوس) تعیین شد. محتوای آب جوانه‌ها بر اساس درصد وزن تر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (۳۷):

$$\text{محتوای آب}(\%) = \frac{\text{وزن تر} - \text{وزن خشک}}{\text{وزن خشک}} \times 100:$$

رابطه (۲)

فنول کل

برای استخراج و اندازه‌گیری فنول کل ابتدا ۰/۵ گرم از بافت منجمد شده جوانه در ۵ میلی‌لیتر متانول ۸۵٪ حل و به مدت ده دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و سپس ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول ۱۰٪ معرف فولین- سیوکالتیو مخلوط و ۵ دقیقه بعد، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷٪ نیز به آن اضافه شد. بعد از ۲۰

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

دقیقه جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک در غلظت‌های ۵۰۰-۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده شد. محتوای فنول کل بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک در وزن‌خشک بیان شد (۳۶).

پروتئین‌های محلول

نیم گرم بافت جوانه با ۵ میلی لیتر بافر استخراج (تریس با غلظت یک میلی‌مولار و pH=۷)، در هاون چینی کامل له شد و این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰ در دقیقه سانتریفوژ و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول روشناور با ۵ میلی‌لیتر معرف بیورد [(۱۰٪ اسید استیک گلایشیال + ۲۵٪ اتانول + ۶۵٪ آب مقطر + ۱٪ (حجم/وزن) محلول کوماسی بریلیانت بلوجی۲۵۰)] مخلوط و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد (۵). در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت‌های مختلف آلبومین گاوی، غلظت پروتئین‌های محلول به صورت میلی‌گرم برگرم وزن‌تر محاسبه شد.

پرولین

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از بافت جوانه با نیتروژن مایع در داخل هاون چینی سائیده و کامل خرد گردید و در مرحله بعد ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفو سالیسیلیک ۳ درصد به نمونه خرد شده اضافه و دوباره سائیده شد. دو میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده با دو میلی لیتر اسید استیک و دو میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین (۱/۲۵ گرم نین‌هیدرین + ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلایشیال + ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار) مخلوط و به مدت یک ساعت درون حمام آب گرم با دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. پس از سرد شدن فوری، به هر نمونه چهار میلی‌لیتر تولوئن اضافه و به شدت تکان داده شد تا رنگ آجری در فاز تولوئن تشکیل شود. پس از رسم منحنی استاندارد با غلظت‌های مختلف پرولین، میزان جذب محلول آجری رنگ در طول موج ۵۱۸ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده و غلظت پرولین به صورت میکرو مول بر گرم وزن تر جوانه تعیین شد (۲).

کربوهیدرات‌های محلول

به منظور اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول ابتدا نمونه‌های جوانه در آون (۷۲ ساعت، دمای ۷۵ درجه‌سلسیوس) خشک و توسط هاون برنجی کامل خرد و سپس غربال شد. برای استخراج کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۵ گرم از پودر جوانه‌ها با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی سائیده و قسمت بالای محلول جدا گردید. این عمل دو بار دیگر با ۵ میلی‌لیتر اتانول۷۰ درصد نیز تکرار و پس از سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه)، بخش بالایی شناور برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول استفاده شد. مقدار یک دهم میلی‌لیتر از عصاره الکلی به دست آمده با ۳ میلی‌لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی‌گرم آنترون + ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪) مخلوط گردید. برای شروع واکنش رنگ‌گیری، لوله‌ها به مدت ده دقیقه در حمام آب گرم ۹۰ درجه‌سلسیوس قرار داده شدند. بعد از سرد شدن، میزان جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده و غلظت کربوهیدرات‌های محلول بر اساس منحنی استاندارد گلوکز تعیین و به صورت میلی‌گرم در گرم وزن خشک بیان شد (۳۹).

نشاسته

برای استخراج و اندازه‌گیری نشاسته مقدار ۰/۵گرم از نمونه‌های جوانه در ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به حالت یکنواخت درآمد تا نشاسته جدا شود و سپس این مخلوط با سرعت ۵۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و ته‌نشین با اتانول ۸۰ درصد سه مرتبه دیگر شستشو داده شد. باقیمانده رسوبات، خشک شده و به آن ۵ میلی‌لیتر آب و ۶/۵ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۵۲ درصد اضافه شد. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری و دوباره سانتریفوژ و سپس فاز مایع به درون لوله آزمایش منتقل و در یخ نگهداری شد. پس از اضافه کردن ۳/۲ میلی‌لیتر اسید پرکلریک به لوله‌ها، عصاره‌گیری تکرار و برای بار سوم سانتریفیوژ انجام گردید. در این مرحله، فاز مایع جمع‌آوری شده جدا و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. از این محلول، ۰/۲ میلی‌لیتر برداشته و با ۳ میلی‌لیتر آنترون مخلوط و سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۰ درجه سلسیوس) قرار داده شد. پس از گذشت این مدت لوله‌ها به سرعت در آب-یخ سرد شده و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد. غلظت نشاسته بر اساس منحنی استاندارد نشاسته

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

تعیین و به صورت میکرومول گلوکز در گرم وزن‌تر بیان شد (۱۵).

قندهای محلول (گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و رافینوز)

برای استخراج قندهای محلول ابتدا جوانه‌ها از شاخه یکساله جدا و به کمک نیتروژن مایع کامل پودر و نیم گرم از بافت پودر شده توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ محلول و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. این محلول از صافی ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد تا برای تفکیک قندها به دستگاه HPLC تزریق شود (۳۴).

برای جداسازی قندها از دستگاه HPLC مدل Unicam-Crystal-200 ساخت کشور انگلستان که مجهز به آشکارساز UV-Vis SPDMLOAD از نوع Photodiod array بود، استفاده شد. مقدار تزریق ۱۰ میکرولیتر و ستون به کار گرفته شده Spherisorb C_8-ODS_2 به طول ۱۵۰ میلی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و قطر ذره‌ها ۰/۳ میکرون بود. بخش متحرک شامل بافر سیترات سدیم ۵/۵ =pH و استونیتریل فوق خالص با نسبت ۹۹: ۱ و با سرعت عبور ۰/۱ میلی‌لیتر بر دقیقه در دمای ۳۰ درجه‌سلسیوس بود. بر اساس زمان بازداری به ترتیب ۱۱، ۱۲، ۱۵/۵ و ۱۷ و با استفاده از استانداردهای گلوکز، ساکاروز، فروکتوز و رافینوز در طول موج ۱۹۵ نانومتر و دمای ستون ۳۰ درجه سلسیوس نوع و مقدار قندها در نمونه‌های مجهول مشخص و به صورت میکرومول درگرم وزن تر بیان شد (۱۱).

اسید ابسیزیک

به منظور استخراج و اندازه‌گیری اسید ابسیزیک مقدار یک گرم پودر منجمد شده بافت جوانه به ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪، ۰/۰۱ گرم پلی وینیل پیرولیدون و ۰/۰۱ گرم اسید آسکوربیک اضافه و به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سلسیوس روی دستگاره لرزا با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شد تا عمل انحلال هورمون ابسیزیک اسید به خوبی صورت گیرد. سپس، آمیخته یکدست به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و رونشین آن جدا شده و pH آن به ۸ رسانده شد. عمل استخراج از رسوبات باقیمانده دو بار تکرار شد. بعد از صاف کردن عصاره با کاغذ صافی (واتمن شماره ۱)، متانول اضافی تبخیر داده شد و سپس pH بخش باقیمانده با اسید هیدروکلریک ۰/۲ نرمال در حدود ۲/۵ تنظیم شده و به آن ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد تا اسید ابسیزیک وارد فاز اتیل استات شود. آنگاه اتیل استات تبخیر شده و به رسوب باقیمانده یک میلی‌لیتر محلول متانول ۳٪ و اسید استیک ۰/۱ مولار اضافه شد تا به صورت محلول درآید. مخلوط حاصل با استفاده از صافی ۰/۴۵ میکرونی پالایش و از آن ۲۰ میکرولیتر برای مرحله ارزیابی برداشت شد (۲۵).

ارزیابی با دستگاه HPLC: مقدار ۲۰ میکرولیتر محلول استخراج شده به ستون Diamonsic-C_{18} با قطر ذرات ۵ میکرومتر، طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر با سیستم فاز معکوس در دستگاه HPLC مدل Unicam-Crystal-200 ساخت کشور انگلستان تزریق گردید. فاز متحرک از گرادیان متانول- استیک اسید با نسبت ۹۷:۳ درصد با سرعت عبور ۴ میلی‌لیتر در دقیقه تشکیل شده بود. از آشکارساز UV-Vis SPD MLOAD از نوع Photodiod array در طول موج ۲۶۰ نانومتر استفاده شد. بر اساس زمان بازداری طبق نمونه استاندارد اسید ابسیزیک (۹۹/۹۷٪ خلوص، سیگما) و سطح زیر منحنی، مقدار اسید ابسیزیک نمونه‌ها مشخص و به صورت نانوگرم در گرم وزن تر بیان شد.

واکاوی داده‌ها

تحمل به سرما بر اساس شاخص LT_{50} (در مورد نشت‌یونی، دمایی که در آن ۵۰ درصد نشت‌یونی کامل اتفاق می‌افتد؛ درمورد روش قهوه‌ای شدن، دمایی که در آن ۵۰ درصد نمونه‌ها قهوه‌ای رنگ می‌شوند) با استفاده از برنامه Excel تعیین شد (۱۸). تجزیه داده‌ها با نرم افزار آماری SAS 9.1 (دستورالعمل GLM) و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

کلروفیل و کاروتنوئید

با توجه به نتیجه‌های مقایسه میانگین، بیشترین محتوای کلروفیل مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده با سیستم خزنده و کمترین میزان در رقم بیدانه قرمز با سیستم تربیت داربستی مشاهده شد (جدول ۱). میزان کاروتنوئید در رقم بیدانه‌قرمز در هر دو سیستم تربیت تفاوتی نشان نداد، اما رقم بیدانه‌سفید در سیستم تربیت داربستی بیشترین محتوای کاروتنوئید را داشت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

بنابراین، با توجه به اینکه حفظ یا تجزیه کلروفیل در انتهای فصل وابسته به رقم می‌باشد، اما سیستم تربیت نیز می‌تواند سرعت تجزیه کلروفیل را در راستای سازگاری به سرما در تاک‌ها افزایش دهد.

تاکنون گزارشی در مورد اثر سیستم تربیت بر محتوای کلروفیل به ویژه در آخر فصل منتشر نشده است، اما به نظر می‌رسد که سیستم‌های تربیت با تاثیر بر ریزاقلیم حاکم بر تاج تاک‌ها و همچنین تسریع در زمان برداشت می‌تواند بر غلظت کلروفیل پس از برداشت تاثیر معنی‌داری داشته باشد. همچنین، کاهش رشد ناشی شده از تنش دمای پایین و نیز حذف زودتر میوه‌ها در سیستم داربستی باعث کاهش ظرفیت استفاده از انرژی تولیدی در فتوسنتز شده و منجر به پدیده بازدارندگی برگشتی در فتوسنتز می‌گردد (۲۰).

محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی یکی از مهمترین عامل‌های محدود کننده سرعت فتوسنتز هستند. بنابر گزارش‌های پیشین در گیاه انگور، محتوای کلروفیل در تاک‌های زیر تنش سرمای آخر فصل کاهش می‌یابد که این کاهش ممکن است با صدمه‌های اکسایشی وارده به غشاهای کلروپلاست، انگیزش پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و سپس تخریب آنزیمی کلروفیل مرتبط باشد (۲۰).

همچنین، در ژنوتیپ‌های انگور تیمارشده با دمای پایین، سرعت فتوسنتز در نتیجه زوال کلروفیل کاهش یافته است (۳۰). کاهش محتوای کلروفیل ممکن است به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز، دکلاته شدن یون منیزیم در هسته مرکزی مولکول کلروفیل و یا از راه اکسیداسیون مولکول کلروفیل ایجاد شود (۱۶).

جدول ۱- اثر سیستم‌های تربیت بر برخی شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما.

Table 1. The effect of training systems (Trellised and Nontrellised) on some morph-physiological traits of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage.

سیستم تربیت Training System	رقم Cultivar	کلروفیل Chlorophyll (mg/g FW)	کاروتنوئید Carotenoid (mg/g FW)	ریزش برگ Leaf fall (%)	تشکیل پریدرم Periderm formation (%)	لیگنین Lignin (%)
داربستی Trellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	1.25 b	1.20 a	70.8 b	87.9 b	270.7 b
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	0.77 c	1.18 a	87.7 a	95.3 a	285 a
خزنده Nontrellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	1.43 a	1.04 b	55 d	78.4 d	253.8 d
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	1.0 c	1.12 ab	63.8 c	83 c	257.8 c

‡ میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون دانکن از لحاظ آماری (سطح ۵٪) تفاوت معنی‌داری ندارند.

‡ Means with the same letters in each column are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

ریزش برگ، تشکیل پریدرم و لیگنین

بر اساس نتیجه‌های مقایسه میانگین (جدول ۲) بیشترین میزان ریزش برگ، تشکیل پریدرم برگ و لیگنین جوانه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت‌شده در سیستم داربستی و کمترین مقدار این تغییرهای مورفوفیزیولوژیک مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت‌شده با سیستم خزنده مشاهده شد. سازگاری به سرما در تاک‌ها با کاهش و توقف کامل رشد و به دنبال آن پیری و ریزش برگ و توسعه پریدرم همراه است. بنابراین، توسعه پریدرم، که بلوغ چوب نیز نامیده می‌شود، یکی از تغییرهای مورفولوژیکی

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

مهم در انگور است که نشان‌دهنده سازگاری به سرما در بافت‌های شاخه است. افزون بر این، اسید ابسیزیک یکی از هورمون‌هایی است که در مهار رشد شاخساره‌ها، رشد برگ و رشد پریدرم موثر است (۲۰). همچنین، چوبی شدن (افزودن لیگنین) یک فرایند فیزیولوژیکی پویا است که در طی رشد عادی گیاه در پاسخ به چندین تنش محیطی در سطوح مختلف رخ می‌دهد. افزودن لیگنین به دیواره‌های یاخته‌ای منجر به سفتی ساختاری و دوام بافت‌های گیاهی می‌شود (۲۴) و شایان بیان است که محتوای لیگنین و ترکیب چوب به شدت در درون و بین گونه‌ها، بین مراحل رشد و در پاسخ به نشانه‌های محیطی متفاوت می‌باشد (۳۲). به عنوان مثال در اکالیپتوس، ساختار و محتوای لیگنین زیر تأثیر وضعیت نیتروژن گیاه قرار می‌گیرد؛ به گونه‌ای که به علت تاخیر در توقف رشد آخر فصل و رقیق شدن ترکیب‌های فنولی پیچیده (لیگنین و سوبرین)، میزان تشکیل پریدرم و خشبی شدن چوب در این درختان کاهش می‌یابد (۶). همچنین، در مطالعه‌ای روی نهال‌های ۶ ماهه اکالیپتوس، کاربرد تنش طولانی مدت سرما باعث رسوب بیشتر و ضخیم‌تر لیگنین در دیواره‌های یاخته‌ای آوند چوبی و همچنین تنظیم ژن‌های سازنده دیواره یاخته‌ای به ویژه ژن‌های دخیل در زیست‌ساخت لیگنین در سطح رونویسی می‌شود (۳۳) که تاییدی بر یافته‌های مطالعه حاضر است. افزون بر این، در مطالعه حاضر محتوای لیگنین در رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بیش از دیگر تیمارها بود که این تاثیر در اثر تغییر مورفوفیزیولوژیکی و همچنین محتوای لیگنین در رقم متحمل به سرمای بیدانه قرمز نسبت به رقم حساس به سرمای بیدانه سفید (۱۱) می‌باشد. از طرفی، ممکن است سیستم‌های داربستی از راه نورگیری نیز تاثیر مثبتی بر زیست‌ساخت لیگنین در جوانه‌های چوب یکساله در مرحله شروع سازگاری به سرما داشته باشند.

عنصرهای پرمصرف برگ

بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۲) بیشترین میزان نیتروژن، پتاسیم، فسفر، منیزیم و کلسیم برگ در انتهای فصل مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود که البته با مقادیر این عنصرها در برگ رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم خزنده تفاوت معنی‌داری نداشت؛ در حالیکه کمترین مقدار نیتروژن، پتاسیم، فسفر، منیزیم و کلسیم برگ مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود.

جدول ۲- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای عنصرهای پرمصرف برگ دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما.

Table 2. The effect of training system (Trellised and Nontrellised) on leaves macronutrients content of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage.

سیستم تربیت Training system	رقم Cultivar	نیتروژن Nitrogen (%)	پتاسیم Potassium (%)	فسفر Phosphoruse (%)	منیزیم Magnesium (%)	کلسیم Calcium (%)
داربستی Trellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	0.83 b	0.84 b	0.183 b	0.35 b	1.88 b
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	0.43 c	0.85 b	0.153 c	0.25 c	1.85 b
خزنده Nontrellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	1.1 a	0.94 a	0.213 a	0.43 a	1.95 a
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	0.97 a	0.87 ab	0.190 ab	0.37 ab	1.90 a

‡ میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن ندارند.

‡ Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

در انگور متحرک‌سازی مجدد نیتروژن، پتاسیم و دیگر عنصرهای از برگ و انباشت آن در اندام‌های دائمی در مدت کمی بعد از برداشت رخ می‌دهد (۳۴)؛ به طوری که بین برداشت و خزان برگ میزان عنصرهای غذایی به ویژه نیتروژن افت شدیدی پیدا می‌کند. جابجایی عنصرها و متحرک‌سازی مجدد آن‌ها همزمان با کاهش دما و طول روز به منظور تخلیه و ذخیره این عنصرها در پارانشیم آوند آبکش و چوبی، پارانشیم پوست و پارانشیم اشعه آوندی صورت می‌گیرد و کاهش در غلظت عنصرها تا مرحله خزان ادامه پیدا می‌کند و در صورت بروز توده هوای سرد این فرایند متوقف شده و برگ‌ها سبز خشک می‌شوند. به همین خاطر در سال‌هایی که درختان به دلیل کاهش تدریجی دما به صورت طبیعی خزان می‌کنند، به طور معمول بافت‌های دائمی مانند شاخه‌های یکساله، بازوها و تنه و ریشه‌ها با ذخیره بهتری از عنصرهای غذایی و ذخائر کربوهیدراتی و نیتروژنی وارد مرحله رکود زمستانه می‌شوند (۱۸). در مطالعه‌ای دیگر روی انگور طی ۷ مرحله نمونه‌برداری برگ در دوره پس از برداشت مشخص شد که با توجه به مساعد بودن شرایط رشد و تداوم فتوسنتز تا ۳۰ مهرماه مقدار انباشت نیترات در برگ‌ها افزایش می‌یابد و بعد از آن به دلیل متحرک‌سازی مجدد و تخلیه این عنصر از برگ جهت ذخیره در بافت‌های دائمی مقدار آن کاهش یافت (۳۰). نیاز به عنصر نیتروژن در بعضی از مراحل فنولوژیکی گیاه مانند مرحله تشکیل میوه ضروری است و عملکرد را به شدت زیر تاثیر قرار می‌دهد، اما مصرف کود نیتروژنی در انتهای فصل رشد، موجب ادامه رشد رویشی درختان شده و به دلیل نبود وقت کافی برای خشبی شدن در اثر سرمای زمستانه صدمه می‌بینند (۳۰).

بهبود وضعیت پتاسیم در گیاه به دلیل زیست‌ساخت آنزیم‌های خنثی کننده پراکسیدهیدروژن و اکسیژن فعال، باعث محافظت از غشاء در برابر تنش اکسایشی ناشی از یخ‌زدگی می‌شود و از این راه باعث افزایش پایداری غشاء در برابر نشت یونی می‌شود (۱۹). پتاسیم یکی از فراوان‌ترین کاتیون‌های غیرآلی در گیاهان است و نقش مهم آن در متابولیسم یاخته‌های گیاهی با تنظیم فشار اسمزی، فعال کردن بیش از ۶۰ نوع آنزیم، حمل و نقل آنیون‌ها، فتوسنتز، تنظیم روزنه‌ها و بزرگ شدن یاخته‌ها ثابت شده است (۹). پتاسیم از راه تعامل با نیتروژن موجب ایجاد تغییراتی در نشت یونی غشاء شده و افزایش مقاومت به سرما را به همراه دارد (۳۷). بین رقم‌های مختلف از لحاظ سرعت سازگاری به سرما تفاوت وجود دارد که حاکی از اثر رقم بر تغییرهای مورفوفیزیولوژیکی پس از برداشت تا زمان خزان برگ می‌باشد که در رقم‌ها با سرعت بالای سازگاری به سرما به طور معمول سرعت تجزیه کلروفیل و متحرک‌سازی مجدد عنصرهای غذایی بیشتر از رقم‌ها با سرعت سازگاری به سرمای پایین می‌باشد (۱۱). در مطالعه حاضر در انگور بیدانه قرمز به عنوان یک رقم با تحمل به سرمای بالا سرعت تجزیه کلروفیل، تشکیل پریدرم و خروج عنصرهای غذایی از برگ بیشتر از انگور بیدانه سفید به عنوان رقم با تحمل به سرمای کم می‌باشد. افزون بر این، سیستم‌های تربیت داربستی در مقایسه با سیستم‌های خزنده نورگیری بهتری در تاج دارند. بنابراین، سرعت سازگاری به سرمای بیشتری داشته و تخلیه عنصرها با سرعت بیشتری انجام می‌شود که در مطالعه حاضر برای اولین بار به اثبات رسید.

تحمل به سرما (روش نشت یونی و روش قهوه‌ای شدن اکسایشی)

بیشترین میزان تحمل به سرمای زمستانه برآورد شده به روش نشت یونی و قهوه‌ای شدن اکسایشی در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود؛ در حالیکه کمترین میزان تحمل به سرما زمستانه بر اساس روش نشت یونی و قهوه‌ای شدن اکسایشی مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده با سیستم خزنده بود (جدول ۳). پس از تنش یخ‌زدگی، اندازه‌گیری درصد نشت یونی بافت‌ها به عنوان یک شاخص مناسب جهت تخمین سلامت و تراوایی غشاء می‌باشد که توسط پژوهشگران مختلف جهت محاسبه تحمل به سرمای گیاهان استفاده شده است (۱۸). در انگور (۲۰) و انار (۱۳) تنش سرما منجر به افزایش نشت‌یونی برگ و شاخه شده است که حاکی از آسیب‌های وارده به غشاء یاخته‌ها در این شرایط است. مقدار LT_{50} برآورد شده با روش نشت یونی، با واکنش غشا یاخته بعد از تنش سرما مرتبط می‌باشد؛ در حالیکه مقدار LT_{50} برآورد شده با روش قهوه‌ای شدن، با میزان اکسیداسیون ترکیب‌های فنولی نشت‌یافته از غشاء بعد از تنش سرما در ارتباط است که میزان تحمل به سرما را تعیین می‌کند.

تنش اکسایشی یکی از دلایل ایجاد آسیب‌های غشایی است که در نتیجه افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شود. تنش سرما با کاهش سیالیت فسفولیپیدهای غشاهای زیستی یا غیرفعال کردن آن‌ها و یا دست کم کاهش سرعت پمپ‌های یونی متصل به غشاء، ضمن کاهش یا اختلال در عملکرد غشاء، نشت‌یونی را افزایش می‌دهد (۳). غشاء یاخته در هنگام تنش از حالت انعطاف‌پذیری مایع-بلور به یک ساختار ژل-جامد تبدیل شده، زیرا چربی‌های غشاء مانند فسفولیپیدها در

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

یک دمای بحرانی سخت می‌شوند و این تغییر حالت باعث ایجاد شکاف و درزهایی شده که افزایش نشت غشاء را به دنبال دارد. این تأثیر فوری بر نفوذ غشاء باعث ایجاد اختلال در تنظیم یون‌ها و هم‌چنین نشت یون‌ها می‌شود. افزایش در نفوذپذیری و نشت یون نشان‌دهنده سرمازدگی و آسیب به غشاء یاخته می‌باشد (۱۲).

جدول ۳- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر تحمل به سرمای زمستانه (شاخص LT_{50}) برآورد شده به دو روش نشت یونی و قهوه‌ای شدن اکسایشی در دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما.

Table 3. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on winter cold tolerance (LT_{50} index) estimated by two methods of electrolyte leakage and oxidative browning in two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage.

سیستم تربیت Training system	رقم Cultivar	تحمل یخزدگی بر اساس روش نشت یونی Freezing tolerance based on electrolyte leakage (ºC)		تحمل یخزدگی بر اساس روش قهوه‌ای شدن اکسایشی Freezing tolerance based on oxidative browning (ºC)	
		اسفند ماه March	دی ماه January	اسفند ماه March	دی ماه January
داربستی Trellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	-15.30 b	-17.46 b	-13.41 b	-16.12 b
	بیدانه قرمز Bidaneh Qermez	-18.69 a	-20.46 a	-16.87 a	-18.96 a
خزنده Nontrellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	-13.28 c	-15.25 c	-11.08 c	-14.10 c
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	-14.85 b	-17.47 b	-13.16 b	-15.79 b

‡ میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

‡ Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

تحمل به سرما یک صفت چندژنی بوده که توسط چندین مکان ژنی کنترل می‌شود. افزایش در تحمل به سرمای زمستانه در رقم بیدانه قرمز در سیستم داربستی و خزنده نشان‌دهنده این است که تحمل به سرما زیر کنترل ژنتیکی بوده و رقم‌ها از این نظر با هم متفاوتند. با این حال، عملیات باغی مختلف از جمله تغذیه، آبیاری، میزان محصول، کنترل آفات و بیماری‌ها و نیز نوع سیستم تربیت تاثیر به سزایی بر میزان تحمل به سرمای زمستانه تاک دارد؛ به طوری‌که در هر دو رقم مورد بررسی سیستم داربستی باعث افزایش تحمل به سرما (در حدود ۲ درجه سلسیوس) در هر دو مرحله مورد بررسی گردید. بنابراین، تحمل به سرمای بیشتر رقم‌ها در سیستم داربستی با برداشت زودتر، زرد شدن برگ، تشکیل پریدرم و لیگنین و انباشت بیشتر اسمولیت‌های سازگاری و اسید ابسیزیک می‌تواند در ارتباط باشد که در مطالعه حاضر در تاک‌های داربستی بیشتر از تاک‌های خزنده بود. افزون بر این، نوع سیستم تربیت می‌تواند با تغییر در ارتفاع از سطح زمین بر پدیدگی وارونگی و در نتیجه تحمل به سرما تاثیرگذار باشد.

محتوای آب و فنول کل

بیشترین درصد محتوای آب در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده درسیستم خزنده بود اما کمترین درصد محتوای آب مربوط به رقم بیدانه قرمز در سیستم داربستی بود (جدول ۴). افزون بر این، بیشترین محتوای فنول کل در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز در سیستم داربستی بود؛ در حالی که، کمترین محتوای فنول کل مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود (جدول ۴).

افزایش سازگاری به سرما در جوانه‌های رقم‌های مختلف تاک با خروج تدریجی آب جوانه‌ها، کاهش آب قابل انجماد و در نتیجه افزایش تحمل به یخزدگی همراه می‌باشد. محتوای آب جوانه هر دو رقم انگور در سیستم‌های تربیت متفاوت بود؛ به طوری که در رقم متحمل به سرمای بیدانه قرمز به ویژه در سیستم داربستی محتوای آب در هر دو مرحله نمونه‌برداری در

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

مقایسه با همین رقم در سیستم خزنده یا رقم بیدانه سفید پرورش یافته در هر دو سیستم کمتر بود. کاهش محتوای آب جوانه‌ها در دی‌ماه اغلب با هدف تغلیظ شیره یاخته‌ای (افزایش قندهای محلول و پرولین) در راستای فرآیند سازگاری به سرما تفسیر می‌شود. با توجه به نتیجه‌های ارائه شده در جدول ۴، میزان محتوای آب نسبی از دی‌ماه به اسفندماه در همه تیمارها افزایش ده درصدی از خود نشان داد. بنابراین، در بهار همزمان با گرم شدن هوا و از سرگیری رشد، جوانه‌ها آبگیری شده و در نتیجه مقاومت به سرما به ویژه در رقم‌های حساس به سرما به شدت کاهش می‌یابد.

بین غلظت فنول کل رقم‌ها و تحمل به سرما همبستگی بالا و معنی‌داری وجود دارد (۱۸)؛ به طوری که رقم‌های متحمل به سرمای بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی دارای مقدار فنول کل بیشتری نسبت به رقم‌های حساس به سرمای بیدانه سفید بود. گزارش شده است که رقم‌های متحمل به سرمای زمستانه انگور نسبت به رقم‌های حساس به سرما حاوی مقادیر بیشتری ترکیب‌های فنولی مانند تانن هستند. رسوب ترکیب‌های فنولی مانند لیگنین با بالا بردن درجه چوبی شدن بافت‌ها در جوانه‌های انگور (۳۰) و پسته (۳۱) و نیز رسوب سوبرین و در رویارویی با سرما باعث افزایش تحمل این درختان به سرما شده است. نبود مقاومت به سرما در رقم‌های دیررس انگور نیز به چوب پنبه‌ای شدن ناکافی بافت‌های جوانه و شاخه آن در این زمان نسبت داده شده است که در رقم بیدانه سفید به ویژه در سیستم تربیت خزنده مشاهده شد. در تنش دمای پایین فعالیت آنزیم فنیل آلانین‌آمونیالاز افزایش می‌یابد، اما فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده ترکیب‌های فنولی محلول مانند پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز کاهش می‌یابد (۳۱). این موضوع باعث افزایش انباشت ترکیب‌های فنولی محلول شده و ممکن است به عنوان یک سازوکار سازگاری برای غلبه بر تنش اکسیداتیو ناشی از دمای پایین در انگور عمل نماید.

جدول ۴- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای آب و فنول کل دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما.

Table 4. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on water content and total phenol of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage.

سیستم تربیت Training system	رقم Cultivar	محتوای آب Water content (%)		فنول کل Total phenol (mg/g DW)	
		اسفند ماه March	دی ماه January	اسفند ماه March	دی ماه January
داربستی Trellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	47.11 b	37.44 b	10.9 bc	13.2 c
	بیدانه قرمز Bidaneh Qermez	44.58 c	35.99 c	13.4 a	16.6 a
خزنده Nontrellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	51.66 a	41.40 a	10.1 b	12.8 c
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	48.83 b	38.69 b	11.9 b	14.83 b

‡ میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

‡ Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

کربوهیدرات محلول و پرولین

بیشترین محتوای کربوهیدرات محلول در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز پروش داده شده در سیستم داربستی بود؛ در صورتی‌که کمترین میزان کربوهیدرات کل مربوط به رقم بیدانه سفید در سیستم خزنده مشاهده شد (جدول ۵). در مورد پرولین نیز بیشترین غلظت در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود که البته در اسفندماه مقدار پرولین بین دو رقم تفاوت معنی‌داری نداشت، اما همچنان کمترین میزان پرولین مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود (جدول ۵).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

میزان مقاومت به سرما و سازگاری‌های مرتبط با آن بین گونه‌ها، رقم‌ها و اکوتیپ‌ها متغیر است که حاکی از تفاوت ژنتیکی مقاومت به سرما و سازگاری به یک اقلیم محلی است. کاهش محتوای آب بافت‌ها و انباشت ترکیب‌های سازگار مانند کربوهیدرات‌های محلول، آمینو اسیدها و ترکیب‌های ضد انجماد مانند پروتئین‌های ضد انجماد و اسید آبسیزیک از جمله تغییرهای فیزیولوژیکی مشخصی هستند که طی فرایند سازگاری به سرما در گیاهان ایجاد می‌شوند. انباشت ترکیب‌های سازگاری ممکن است در حفظ ساختار یاخته از خروج آب ناشی از انجماد و یا کاهش نقطه انجماد ایفای نقش کنند (۲۵).

جدول ۵- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای کربوهیدرات محلول و پرولین دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما.

Table 5. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on soluble carbohydrates and proline content of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage.

سیستم تربیت Training system	رقم Cultivar	کربوهیدرات محلول Soluble carbohydrates (mg/g DW)		پرولین proline (µ mol/g FW)	
		اسفند ماه March	دی ماه January	اسفند ماه March	دی ماه January
داربستی Trellised systems	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	77.37 b	90.41 b	5.4 a	6.8 c
	بیدانه قرمز Bidaneh Qermez	89.87 a	106.2 a	5.6 a	8.4 a
خزنده Nontrellised	بیدانه سفید Bidaneh Sefid	70.44 c	81.78 c	4.9 b	4.9 b
	بیدانه قرمز Bidaneh Ghermez	78.68 b	89.7 b	5.1 b	5.1 b

‡ میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

‡ Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به عنوان دو تنظیم کننده اسمزی مهم دارای نقش‌های متعددی در گیاهان به ویژه در شرایط تنش می‌باشند. انباشت بیشتر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به ویژه در رقم متحمل به سرمای بیدانه قرمز در سیستم داربستی می‌تواند ضمن تنظیم اسمزی باعث پایداری غشاءهای زیستی در دمای پایین شود. از مهم‌ترین نقش‌های پرولین در بحث تحمل به سرما می‌توان به نقش پاد اکسایشی آن، محافظت از گیاه در برابر تغییرات اسمزی، محافظت از غشاء و آنزیم‌های یاخته‌ای، جلوگیری از اسیدی شدن یاخته و محافظت از ساختمان درشت‌مولکول‌ها اشاره نمود. پرولین هم‌چنین با حفظ تعادل اسمزی بین آپوپلاست و سیم‌پلاست و حفظ انسجام عملکرد غشاء، میزان آسیب‌های ناشی از دمای پائین را کاهش می‌دهد (۳۷). ارتباط بین انباشت بیشتر پرولین و تحمل به سرما در انگور و دیگر درختان میوه گزارش شده است. رابطه مثبت بین مقدار پرولین و افزایش تحمل به سرما در برخی درختان میوه مانند انار (۱۳) و انگور (۱۷) گزارش شده است.

مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن

بیشترین محتوای پراکسیدهیدروژن (شکل ۱- الف) و مالون‌دی‌آلدئید (شکل ۱- ب) تولید شده در اثر پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه سفید در سیستم خزنده بود؛ به طوری‌که کمترین محتوای پراکسیدهیدروژن و مالون‌دی‌الدئید مربوط به رقم بیدانه قرمز در سیستم داربستی بود (شکل ۱).

رقم متحمل به سرمای بیدانه قرمز در شرایط سرمای طبیعی زمستانه باغ مقادیر خیلی کمتری مالون‌دی‌آلدهید و پراکسید هیدروژن نسبت به رقم بیدانه سفید (با تحمل به سرمای کمتر) در هر دو سیستم تربیت تولید کرد. با این حال،

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

تاک‌های داربستی مقایر کمتری از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء را نشان دادند که نشان‌دهنده تاثیر سیستم تربیت بر تحمل به سرمای زمستانه تاک می‌باشد.

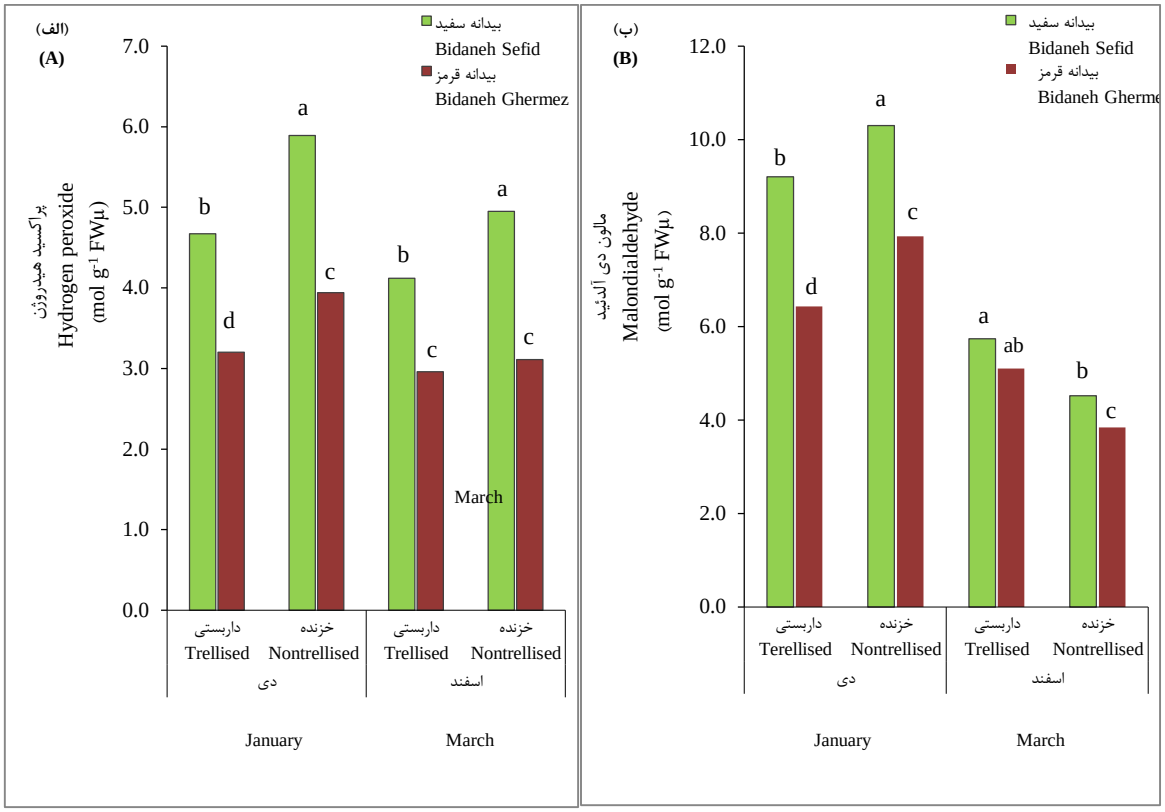

Fig. 1. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on hydrogen peroxide (Panel A) and malondialdehyde (Panel B) content of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

شکل ۱- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای پراکسید هیدروژن (نگاره الف) و مالون‌دی‌الدئید (نگاره ب) دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

تولید مالون‌دی‌آلدهید نتیجه تجزیه زنجیره لیپیدهای غیر اشباع در اثر فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز طی دمای پایین است. توانایی یک رقم برای ایجاد تعادل بین آنزیم‌های تبدیل کننده اسیدهای چرب اشباع به نوع غیر اشباع آن و آنزیم‌های اکسید کننده اسیدهای چرب غیر اشباع، نقش مهمی در کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء و در نتیجه افزایش میزان مقاومت به سرمای آن رقم دارد. ارتباط بین تحمل به سرما و تولید کمتر مالون‌دی‌آلدهید طی مواجهه با سرما، در قهوه (۷) و انگور (۱۲، ۲۶) نیز گزارش شده است که با نتیجه‌های این مطالعه همخوانی دارد. به نظر می‌رسد که انباشت بیشتر پروتئین‌های محلول و قندها، باعث افزایش انسجام غشاءها، تولید مالون‌دی‌آلدهید کمتر و در نتیجه سازگاری بیشتر به دمای پایین می‌شود که می‌تواند به عنوان یک شاخص تکمیل‌کننده در کنار دیگر شاخص‌های ارزیابی تحمل به سرما در تاک به کار رود.

اسید ابسیزیک و نشاسته

بیشترین محتوای اسید ابسیزیک (شکل ۲- الف) در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود و کمترین میزان این هورمون در هر دو مرحله نمونه‌برداری مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود (شکل ۲).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

الگوی تغییرهای اسید ابسیزیک جوانه طی هر دو مرحله نمونه‌برداری در هر دو رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم تربیت داربستی و خزنده متفاوت بود که تاییدی بر کنترل هورمونی تحمل به سرمای تاک در مرحله رکود زمستانه می‌باشد (۲۱) که می‌تواند زیر تاثیر عملیات باغی مانند کاربرد عنصرهای غذایی به ویژه در مراحل فنولوژیک مناسب و سیستم تربیت قرار بگیرد (۱۹). در مطالعه‌های پیشین مشاهده شده است که کاربرد خارجی اسید ابسیزیک در غلظت ۱۰۰ میکرومولار از راه بهبود سیستم پاد اکسایشی منجر به افزایش تحمل به سرمای بوته‌های انگور بیدانه سفید در تنش سرما شد (۲۰). دخالت اسید ابسیزیک در تنظیم زیست‌ساخت ژن‌های دخیل در تحمل به سرما مانند عوامل رونویسی متصل به توالی غنی از نوکلئوتید C ۱ تا ۳ (C-repeated Binding Factor) در مطالعات دیگران گزارش شده است (۲۲) که حاکی از نقش اسید ابسیزیک در سازگاری به سرما می‌باشد.

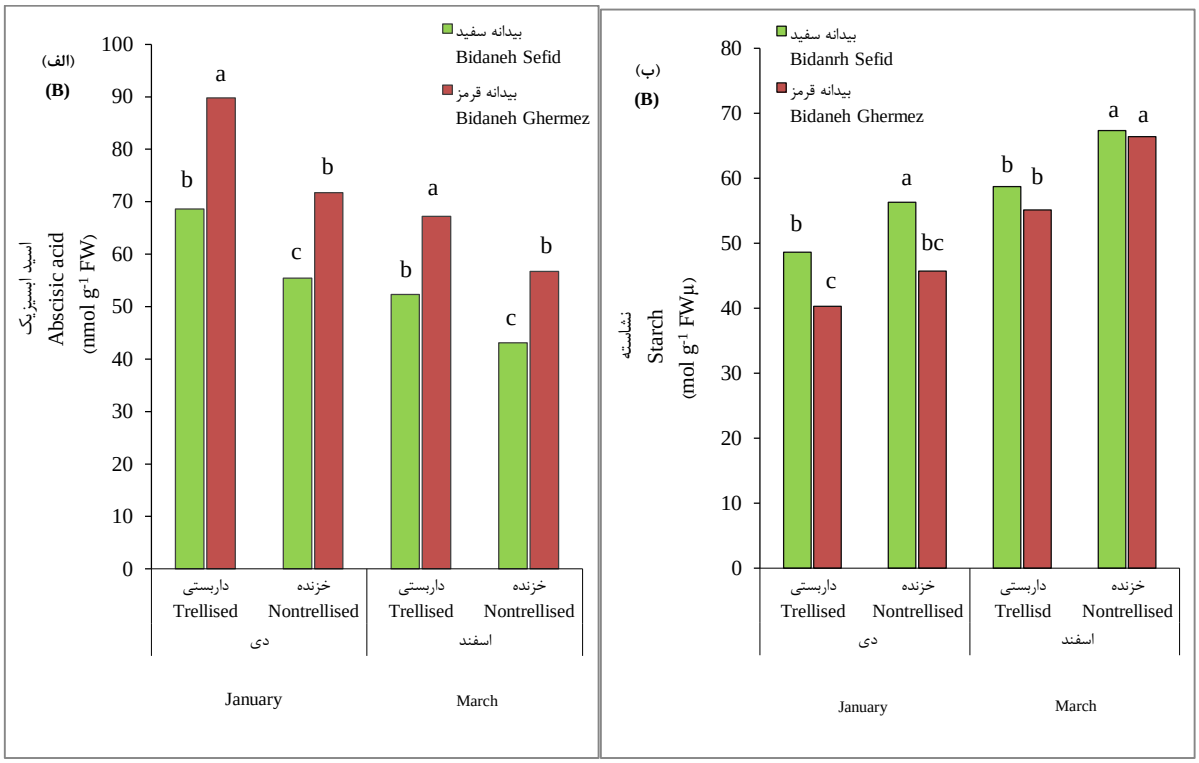

Fig. 2. The effect of training system (Trellised systems and Non-trellised) on abscisic acid (Panel A) and starch (Panel B) content of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during the cold acclimation stage. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

شکل ۲- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای اسید آبسیزیک (نگاره الف) و نشاسته (نگاره ب) دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

به تازگی گزارش شده که سیانید هیدروژن به عنوان یک ماده خواب شکن جوانه در انگور، محتوای اسید ابسیزیک را کاهش، اما میزان جیبرلین و اکسین جوانه را افزایش می‌دهد (۲۱). نتیجه‌های این پژوهشگران و نتیجه‌های مطالعه حاضر تاییدی بر نقش هورمون‌های گیاهی به ویژه اسید ابسیزیک در فرایندهای خواب و شکوفایی جوانه است که می‌تواند زیر تاثیر سیستم تربیت داربستی تقویت شود. افزون بر این، بیشترین محتوای نشاسته جوانه (شکل ۲- ب) در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود که البته با مقدار این نشاسته در رقم بیدانه قرمز پرورش داده شده با سیستم خزنده تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، کمترین محتوای نشاسته جوانه در هر دو مرحله نمونه‌برداری مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود (نمودار ۲- ب). طی فصل خواب، نشاسته موجود در تنه و شاخه یکساله و دوساله و جوانه‌ها به کربوهیدرات‌های محلول تبدیل می‌شوند. این تغییر، تحمل به یخزدگی را در این اندام‌ها افزایش

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

می‌دهد. تبدیل نشاسته به قند در پاییز و ساخت مجدد آن در بهار در یاخته‌های پارانشیم درختان، به ترتیب توسط دمای پایین و دمای معادل یا بیشتر از ۵ درجه سلسیوس انگیخته می‌شود. نشاسته از نظر اسمزی غیر فعال بوده و به خودی خود نمی‌تواند مقاومت به سرما را افزایش دهد. به همین خاطر سازگارشدن به سرما در انگور مستلزم تبدیل نشاسته ذخیره شده در یاخته‌های پارانشیم آوند آبکش و چوبی به قندهای محلول است که این تغییر امکان کاهش پتانسیل اسمزی در بافت‌ها را فراهم کرده و باعث محافظت بافت‌ها در برابر یخزدگی می‌شود (۱۱). سیستم‌های تربیت داربستی با تاثیر بر توزیع نور در تاج درخت می‌تواند ضمن بهبود کارایی فتوسنتز میزان ذخیره نشاسته را در بافت‌های گیاه افزایش دهند که این نشاسته‌های ذخیره شده در بافت‌های دائمی همزمان با کاهش دما و شروع سازگاری به سرما به قندهای محلول تبدیل شده و باعث تقویت تحمل به سرمای تاک می‌شوند (۱۸).

گلوکز و رافینوز

نتیجه‌های این پژوهش نشان داد که بیشترین محتوای رافینوز(شکل ۳- الف) و گلوکز (شکل ۳- ب) در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود؛ در حالیکه کمترین محتوای رافینوز و گلوکز جوانه در هر دو مرحله نمونه‌برداری مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود (شکل ۳).

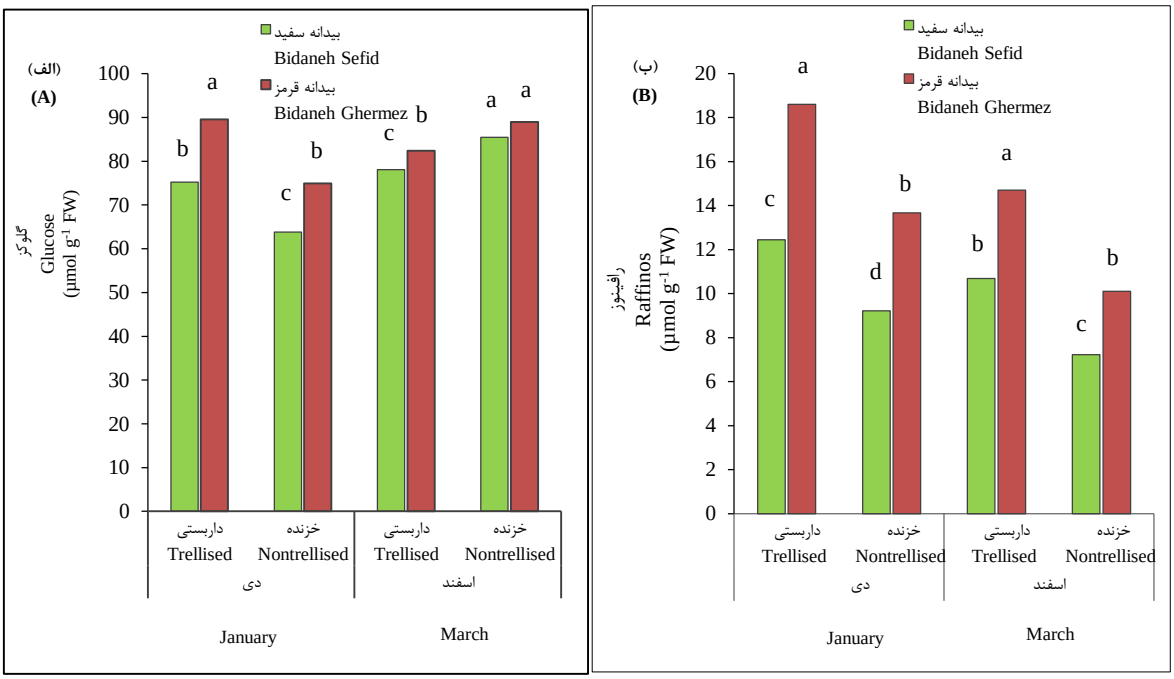

Fig. 3. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on raffinose (Panel A) and glucose (Panel B) content of two grapevine cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

شکل ۳- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای گلوکز (نگاره الف) و رافینوز (نگاره ب) دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

فروکتوز و ساکاروز

بیشترین محتوای فروکتوز (شکل ۴- الف) و ساکاروز (شکل ۴- ب) در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی و کمترین محتوای فروکتوز و ساکاروز جوانه در هر دو مرحله نمونه‌برداری مربوط به رقم بیدانه سفید در سیستم خزنده بود (شکل ۴).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

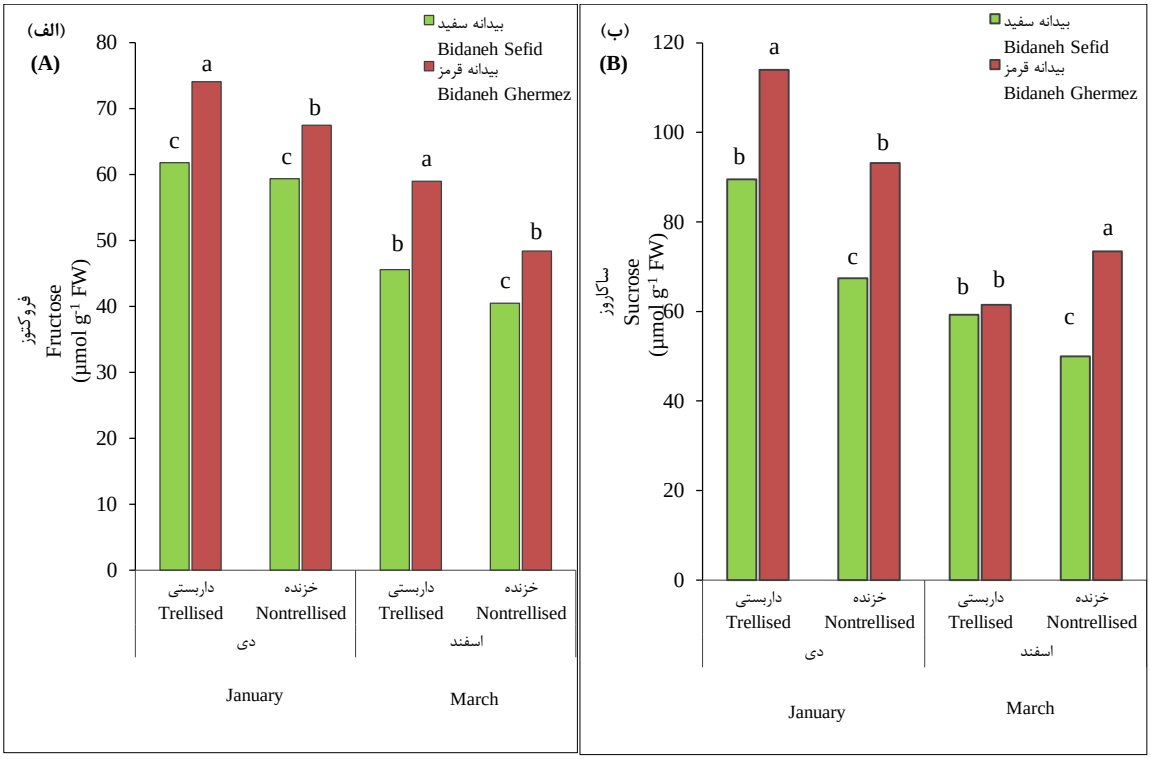

Fig. 4. The effect of training system (Trellised systems and Nontrellised) on fructose (Panel A) and sucrose (Panel B) content of two grapevine cultivars cultivars (Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez) during cold acclimation stage. Means with the same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level of probability.

شکل ۴- اثر سیستم تربیت (خزنده، داربستی) بر محتوای فروکتوز (نگاره الف) و ساکاروز (نگاره ب) دو رقم انگور (بیدانه سفید و بیدانه قرمز) طی مرحله سازگاری به سرما. دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری (سطح ۵٪) بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

در مطالعه حاضر محتوای قندهای محلول رافینوز، ساکاروز و فروکتوز بیشتری در جوانه تاک‌های هر دو رقم در سیستم داربستی در مقایسه با تاک‌های سیستم خزنده مشاهده شد. از طرفی، غلظت قندهای محلول رافینوز، ساکاروز و فروکتوز در رقم متحمل به سرمای بیدانه قرمز بیشتر از رقم کم‌تحمل به سرمای بیدانه سفید در هر دو سیستم بود. همانطور که در بخش‌های پیش شرح داده شده است، توانایی رقم‌ها در انباشت بیشتر قندهای محلول یک صفت وابسته به ژنتیک است که تاثیر زیادی بر سطح تحمل به سرمای آن‌ها دارد. با این حال، از نقش عملیات تاکداری در طول فصل رشد و تاثیر آن بر سطح تحمل به سرمای زمستانه نباید غافل شد، به ویژه اینکه تاک‌هایی که دارای سیستم تربیت داربستی هستند به دلیل توزیع مناسب نور در تاج، تهویه بهتر و تسریع در بلوغ تجاری میوه با شرایط بهتری از نظر ذخائر کربوهیدراتی وارد مرحله سازگاری به سرما می‌شوند که این شرایط بر میزان تحمل به سرمای تاک‌های دارای سیستم داربستی بیشتر از تاک‌های سیستم خزنده اثر دارد. همزمان با توقف رشد تاک در انتهای فصل، قندهای محلول دستخوش تغییرهای فصلی می‌شوند به طوری که در مرحله خواب عمیق زمستانه به بیشترین مقدار رسیده و در مرحله رشد فعال از مقدار آن‌ها کاسته می‌شوند. قندهای محلول نقش‌های متنوعی در گیاهان دارند؛ به‌طوریکه این اسمولیت‌های سازگاری به عنوان محافظت کننده در برابر یخ زدگی در دمای پایین عمل کرده و میزان انباشت این ترکیبات در جوانه و شاخه یکساله تعیین‌کننده میزان تحمل به دمای پایین است (۱۷). قندهای محلول از راه پیوند با آب درون یاخته‌ای و در نتیجه کاهش آب در دسترس در آپوپلاست، از ایجاد هسته یخی جلوگیری می‌کنند (۱۱). قندها به احتمال در زمان خروج آب درون‌سلولی یاخته در اثر سرما با جایگزین کردن مولکول‌های آب موجود در باندهای هیدروژنی استقرار یافته با مولکول‌های لیپید، موجب حفظ غشای یاخته گیاهی می‌شوند (۱۱). کربوهیدرات‌ها می‌توانند از راه نابود کردن گونه‌های فعال اکسیژن در افزایش پایداری غشاء سهم داشته باشند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

الیگوساکاریدهای رافینوز و استاکیوز به طور ویژه با تحمل به سرما و خواب گیاه در ارتباط هستند. ساکارز نیز در گونه‌های متحمل به سرما، قابل شناسایی‌ترین قند به حساب می‌آید که در زمان مواجهه با دمای پایین تا چند برابر افزایش می‌یابد (۳۵).

نتیجه‌گیری

بیشترین میزان تحمل به سرمای زمستانه برآورد شده به روش نشت‌یونی و قهوه‌ای شدن اکسایشی، فنول کل، پرولین و کربوهیدرات محلول در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه قرمز پرورش یافته در سیستم داربستی بود؛ در حالیکه در هر دو مرحله نمونه‌برداری (دی و اسفندماه) کمترین تحمل به سرمای زمستانه، فنول کل، پرولین وکربوهیدرات محلول مربوط به رقم بیدانه سفید تربیت شده در سیستم خزنده بود. افزون بر این، بیشترین محتوای آب، نشاسته و پراکسید هیدروژن و انباشت مالون‌دی‌آلدئید جوانه در هر دو مرحله دی و اسفندماه مربوط به رقم بیدانه سفید پرورش یافته در سیستم خزنده و کمترین میزان در رقم بیدانه قرمز تربیت شده در سیستم داربستی بود. از طرفی مشاهده شد که بیشترین محتوای قندهای محلول رافینوز، ساکاروز و فروکتوز در جوانه تاک‌های هر دو رقم مربوط به سیستم داربستی وجود دارد. این مطالعه می‌تواند به‌عنوان یک نقشه راه برای کارشناسان حوزه انگور و کشمش و نیز ترغیب تاکداران برای احداث تاکستان‌های انگور داربستی و یا اصلاح باغ‌های سنتی و تغییر شیوه پرورش انگور از خزنده به داربستی مورد استفاده قرار گیرد.

References منابع

1. Abdel-Shafey, H.I. W. Hegemann and L. Teiner. 1994. Digestion with concentrated HNO_3 and H_2O_2. Environ. Manage. Health. 5: 21-24.
2. Bates, T.R., R. M. and P. Dunstand Joy. 2002. Seasonal dry matter, starch, and nutrient distribution in 'Concord' grapevine roots. HortScience, 37(2): 313-316.
3. Beck, E.H., R. Heimand and J. Hansen. 2004. Plant resistance to cold stress: mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. J. Biosci. 29: 449-459.
4. Bertamini, M., K. Zulini, K. Muthuchelian and N. Nedunchezhian. 2007. Low-night temperature effects on photosynthetic performance on two grapevine genotypes. J. Plant Biol. 51:381-385.
5. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
6. Camargo, E.L.O., L.C. Nascimento and M. Soler. 2014. Contrasting nitrogen fertilization treatments impact xylem gene expression and secondary cell wall lignification in Eucalyptus. BMC Plant Biol. 14: 256.
7. Campos P., V. Quartin, J.C. Ramalho and M.A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity inleaves of *Coffea sp*. Plants. J. Plant Physiol. 160: 283–292.
8. Chalker-Scott, L. 1988.Relationships between endogenous phenolic compoundsof rhododendron tissues and organs and coldhardiness development. Ph.D. Dissertation, Oregon State University, USA.
9. Choi, S.T., D.S. Park and K.P. Hong. 2011. Status of nitrogenous and carbohydrate compounds as affected by nitrogenfertigation rates in young persimmon trees. Sci. Hort. 130: 354-356.
10. Comis, D.B., D.M. Tamayo and J.M. Alonso. 2001. Determination of monosacharids in cider by reversed-phase Liqueid Chromatography. Anal. Chim. Acta, 436:173- 178.
11. Ershadi, A., R. Karimi and K.N. Mahdei. 2016. Freezing tolerance and its relationship with soluble carbohydrates, proline and water content in 12 grapevine cultivars. Acta Physiol. Plant. 38(1): 210-215.
12. Ferrarese, M.L.L., A. Zottis and O. Ferrarese-Filho. 2002. Protein-free lignin quantification in soybean (*Glycine max*) roots. Biol. 57: 541-543.
13. Ghasemi Soloklui, A.A., A. Ershadi and E. Fallahi. 2012. Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. HortScience. 47:1821-1825.
14. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photo-peroxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Bioph. 125:189–198.
15. Hedge, J. E. and B. T. Hofreiter. 1962. Carbohydrate chemistry In: whistler, R. L. and Be-Miller J. N. (Eds), Academic press, New York. 211p.
16. Kanayama Y. and A. Kochetov. 2015. Abiotic stress biology in horticultural plants. New York, NY, USA: Speringer.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

17. Karimi R. 2020. Cold hardiness evaluation of 20 commercial table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars. Int. J. Fruit Sci. 20: 433-450,
18. Karimi, R. 2014. Evaluation of the effect of nutrition and abscisic acid on cold resistance of grapes. Doctoral dissertation, Bu Ali Sina University of Hamadan, Iran. (In persian).
19. Karimi, R. 2017. Potassium-induced freezing tolerance is associated with endogenous abscisic acid, polyamines and soluble sugars changes in grapevine. Sci. Hort. 215: 184-194.
20. Karimi, R., A. Ershadi, A. Rezaeinezhad and S. Khanizadeh. 2016. Abscisic acid alleviates the deleterious effects of cold stress on 'Sultana' grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants by improving the anti-oxidant activity and photosynthetic capacity of leaves. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 91: 386-395.
21. Khalil-Ur-Rehman, M., W. Wang, Y-S. Xu, M.S. Haider, C-X. Li. and J.M. Tao. 2017. Comparative study on reagents involved in grape bud break and their effects on different metabolites and related gene expression during winter. Front. Plant Sci. 8:1340-1349.
22. Knight, H., D.G. Zarka, H. Okamoto, M.F. Thomashow and M.R Knight. 2004. Abscisic acid induces CBF gene transcription and subsequent induction of cold-regulated genes via the CRT promoter element. Plant Physiol. 135: 1710–1717.
23. Koussa, T., D. Zaoui and M. Broquedis. 1998. Relationship between the Levels of abscisic acid in latent buds, in leaves and in internodes of *Vitis vinifera* L. cv. Merlot during the dormancy phase. J. Int. Sci. Vigne du Vin. 32:203-210.
24. Lee, B.R., K.Y. Kim, W.J. Jung, J. C. Avice, A. Ourry and T.H. Kim. 2007. Peroxidases and lignification in relation to the intensity of water deficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). J. Exp. Bot. 58(6): 1271-1279.
25. Li, Z., X. Zhao, A.K. Sandhu and L.Gu. 2010. Effects of exogenous abscisic acid on yield, antioxidant capacities, and phytochemical contents of greenhouse grown lettuces. J. Agric. Food Chem. 58:6503-6509.
26. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Meth. Enzymol.148:350-382.
27. Loreto, F. and V. Velikova. 2001. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. J. Plant Physiol. 127:1781-1787.
28. Mills, L.J., J.C. Ferguson and M. Keller. 2006. Cold hardiness evaluation of grapevine buds and cane tissues. Am. J. Enol. Vitic. 57(2): 194-200
29. Mirbagheri, S. M., R. Karimi and M. Rasooli. 2014. The combined effect of potassium and iron on yield, fruit quality, raisins and cold tolerance in grapes. Agriculture improvement, (3) 20:745-737. (In persian).
30. Naserpour, R. 2021. Investigation of leaf nitrogen and potassium dynamics in the stage of adaptation to cold and its relationship with changes in nitrogen compounds, soluble sugars and abscisic acid of two grape species. Master Thesis in Horticulture, Malayer University. (In persian).
31. Pakkish, Z., M. Rahemi and A. Baghizadeh. 2009. Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio *(Pistacia vera* L.) flower buds. World Appl. Sci. J. 6:1193-1199.
32. Plomion, C., G. Leprovost and A. Stokes. 2001. Wood formation in trees. Plant Physiol. 127: 1513-1523.
33. Ployet, R.,M. Soler, V. Carocha, N. Ladouce, A. Alves, J.C. Rodrigues, L. Harvengt, C. Marque, C. Teulières, J. Grima-Pettenati and F. Mounet. 2018. Long cold exposure induces transcriptional and biochemical remodelling of xylem secondary cell wall in Eucalyptus. Tree Physiol. 38(3): 409-422.
34. Shin, K.S., D. Chakrabarty and K.Y. Paek. 2002. Sprouting rate, change of carbohydrate contents and related enzymes during cold treatment of lily bulblets regenerated in vitro. Sci. Hort. 96:195–204
35. Thomashow, M.F. 2010. Molecular basis of plant cold acclimation: Insights gained from studying the CBF cold response pathway. Plant Physiol. 154: 571-577.
36. Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J. Agric. Food Chem. 46:4113-4117.
37. Webster, D.E. and J.S. Ebdon. 2005. Effects of nitrogen and potassium fertilization on perennial raygrass cold tolerance during deacclimation in late winter and early spring. Hortic. Sci. 40: 842-849.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

38. Wolf, T.K., P.R. Dry, P.G. Iland, D. Botting, J.O.Y. Dick, U. Kennedy and R. Ristic. 2003. Response of Shiraz grapevines to five different training systems in the Barossa Valley, Australia. Aust. J. Grape Wine Res. 9(2): 82-95.
39. Yemm, E.W. and. A.J. Willis. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochem. 57: 508-514.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 23 (1): 125-144 (2022)
Research article

Comparison of the Effect of Trellised and Non-Trellised Training Systems on Morphophysiological and Biochemical Indices Related to Cold Tolerance in Two Grapevine Cultivars

H. Mehrpour, R. Karimi*, A.A. Ghasemi-Soloklui[1]

The present study was conducted with the aim of comparing the effect of trellised and non-trellised training systems on winter cold tolerance of two cultivars of Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez factorially based on a randomized complete block design. During cold acclimation stage, the lowest content of leaf nutrients and the highest rate of leaf fall, leaf periderm formation and bud lignin belonged to Bidaneh Ghermez cultivar under trellised system. Moreover, the highest winter cold tolerance estimated by ion leakage and oxidative browning, total phenol, proline and soluble carbohydrates in both January and March were related to the Bidaneh Ghermez cultivar under the trellised system. Howevere, the lowest winter cold tolerance, total phenol, proline and soluble carbohydrates was related to Bidaneh Sefid cultivar under the non-trellised system. Forthermore, the highest bud water content, starch, hydrogen peroxide and malondialdehyde in both stages of January and March were related to Bidaneh Sefid cultivar under the non-trellised system. In both stages of sampling, the contents of abscisic acid, sucrose, glucose, fructose and raffinose in the bud of both cultivars were higher with the trellised system than with the non-trellised training system. The results of this research can be used to encourage vine growers to change the method of growing grapes from traditional to trellised system.

Keywords: Grape, Freezing tolerance, Periderm formation, Trellised systems, Soluble sugars.

1. M.Sc. Student and Associate Professor of Department of Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran; Assitant Professor of Department of Plant Breeding, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran, Karaj, Iran, Iran, respectively.

***** Corresponding Author, Email: (R.Karimi@malayeru.ac.ir)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1401.23.1.14.2]