

تأثیر تغذیه برگ سولفات پتاسیم و سولفات روی بر مقاومت به سرمای جوانه‌های انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم بیدانه قرمز

سهیلا نوجوان^۱، لطفعلی ناصری^{۲*}، حمید حسن پور^۲

تاریخ دریافت: ۹۸/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۲۵

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

*مسئول مکاتبه: Email: L.naseri@urmia.ac.ir

چکیده

اهداف: سرمازدگی زمستانه تاک‌ها یکی از مشکلات اساسی تاک‌داران در مناطق سردسیر می‌باشد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر تغذیه برگ سولفات پتاسیم و سولفات روی بر مقاومت به سرمای زمستانه جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز اجرا شد.

مواد و روش‌ها: بدین منظور سولفات پتاسیم در سه غلظت (۰، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر) و سولفات روی در چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر) و تیمارهای ترکیبی طی فصل رشد در چهار نوبت روی تاک‌های یک باغ تجاری محلول‌پاشی شدند. صفات اندازه‌گیری شده شامل تعیین LT_{50} بر اساس نشت الکترولیت و آزمون تترازولیوم، قندهای محلول، میزان پرولین و محتوای آب نسبی جوانه‌ها بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که پایین‌ترین دمای کشنده (LT_{50}) بر اساس دو روش ارزیابی، نشت الکترولیتی و آزمون تترازولیوم در تیمارهای شاهد به ترتیب ۱۶/۵- و ۱۵/۵- (درجه سانتی‌گراد) بودند در حالی‌که در تیمار محلول‌پاشی ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم همراه با ۲ گرم در لیتر سولفات روی به ترتیب ۲۰- و ۱۹/۳- (درجه سانتی‌گراد) بودند. همچنین بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول و میزان پرولین در تیمار ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۲ گرم در لیتر سولفات روی بدست آمد، کم‌ترین محتوای نسبی آب جوانه‌ها در تیمار ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۲ گرم در لیتر سولفات روی به تنهایی مشاهده شد. تغییرات بیوشیمیایی مشاهده شده در این پژوهش با کاهش LT_{50} مرتبط بود.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد محلول‌پاشی برگ تاک با سولفات پتاسیم و سولفات روی می‌تواند تحمل به خسارت سرمای زمستانی را در رقم بیدانه قرمز بیشتر نماید.

واژه‌های کلیدی: آزمون تترازولیوم، پتاسیم، پرولین، محلول‌پاشی، نشت الکترولیتی

The Effect of Foliar Nutrition with Potassium Sulfate and Zinc Sulfate on Winter Cold Hardiness of Grapevine Buds cv. Bidaneh Ghermez (*Vitis vinifera* L.)

Soheyla Nojavan¹, Lotfali Naseri^{2*}, Hamid Hassanpour²

Received: February 20, 2020 Accepted: August 15, 2020

1-Graduated MSc Student, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University.

2-Assoc. Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran.

*Corresponding Author Email: L.naseri@urmia.ac.ir

Abstract

Background and Objective: Winter cold damage is the main problem in the grape growing regions of Iran. The present study was conducted to investigate the nutritional effect of potassium sulfate and zinc sulfate on winter cold resistance of Bidaneh Ghermez grape buds.

Materials and Methods: For this purpose, foliar application of potassium sulfate in three concentrations (0, 5 and 10 g.l⁻¹) and zinc sulfate in four concentrations (0, 0.5, 1 and 2 g.l⁻¹) and combined treatments during the growing season on four occasions were sprayed the vines of a commercial vineyard. The measured traits included determining LT₅₀ based on electrolyte leakage and tetrazolium test, soluble sugars, proline content and relative water content of buds.

Results: The results showed that the lowest lethal temperature (LT₅₀) based on two methods of evaluation, electrolyte leakage and tetrazolium test in the control treatments were -16.5 and -15.5 (°C), respectively, while in the foliar treatment of 10 g.l⁻¹ of potassium sulfate with 2 g.l⁻¹ of zinc sulfate were -20 and -19.30 (°C), respectively. The results also showed that the highest soluble carbohydrates and proline content were obtained in 10 g.l⁻¹ potassium sulfate and 2 g.l⁻¹ zinc sulfate, the lowest relative water content of buds in 10 g.l⁻¹ potassium sulfate and 2 g.l⁻¹ zinc sulfate alone was observed. The observed biochemical changes observed were correlated with the reduction in LT₅₀.

Conclusion: It seems that the foliar application of K₂SO₄ and ZnSO₄ can simultaneously promote tolerance to winter cold in the grape cv. Bidaneh Ghermez.

Keywords: Electrolyte leakage, Foliar application, Potassium, Proline, Tetrazolium test

مقدمه

ایران ۱۴۱۹۱۴ هکتار می‌باشد، میزان تولید انگور دنیا ۷۴۲۷۶۵۸۳ تن بوده که میزان ۱۸۶۶۳۴۰ تن آن در ایران تولید می‌شود (فائو ۲۰۱۸). تنش یخ زدگی یک تنش غیرزنده است که رشد و تولید انگور را در مناطق سردسیر محدود می‌کند. تنش دمای کم، مانند تنش خشکی و شوری بر روابط آب یک

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* L. گیاهی دائمی از تیره Ampelidaceae است که گاهی تحت نام Sarmantaceae شناخته می‌شود ولی اکثر گیاه‌شناسان این خانواده را Vitaceae معرفی کرده‌اند (ونگ ۲۰۰۹). براساس آمار سازمان خواروبار جهانی (۲۰۱۷) سطح زیر کشت انگور در دنیا ۶۹۳۱۳۵۳ هکتار و در

همبستگی مثبت بین تحمل به سرما و محتوای پتاسیم در مطالعات میرباقری و همکاران (۲۰۱۸) در انگور رقم بیدانه سفید مشاهده شد. اثر بخشی پتاسیم در ترکیب با اوره روی تحمل به سرمای چمن (وبستر و ایدون ۲۰۰۵) نیز گزارش شده است.

روی یک عنصر اساسی در انگور است و در فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز، پروتئیناز، ساخت RNA و محتوای ریبوزومی در سلول‌های گیاهی و در تشکیل کربوهیدرات‌ها، ساختمان پروتئین‌ها و DNA نقش اساسی دارد (زهتاب سلماسی و همکاران ۲۰۱۲) و علاوه بر این در حفظ پایداری غشای سلول‌های ریشه نقش مهمی ایفا می‌کند (سعید نژاد و کافی ۲۰۱۳).

روش‌های مختلفی مانند اندازه‌گیری نشت الکترولیت (بر اساس اندازه‌گیری هدایت الکتریکی) و رنگ آمیزی با تترازولیوم برای ارزیابی خسارت ناشی از انجماد استفاده می‌شود. روش اندازه‌گیری نشت الکترولیت آسان، سریع و قابل اعتماد است. در مقایسه با روش‌های دیگر، هزینه کمتری را می‌طلبد و یک روش مناسب برای تعیین تحمل انجماد گیاهان است (لیونس و هیگ ۱۹۹۵). آزمون تری فنیل تترازولیوم کلرید در درجه اول به عنوان یک شاخص ارزیابی کیفی از زنده ماندن بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد. سلول‌های زنده گیاهی تترازولیوم را در میتوکندری خود کاهش می‌دهند و ماده فورمازون قرمز رنگ ایجاد می‌کنند، اما سلول‌های مرده چنین نمی‌کنند (پارکر ۱۹۵۱).

کربوهیدرات‌های محلول به شدت با تحمل گیاهان به یخ زدگی ارتباط دارند. در گونه‌هایی که ساکارز قند اصلی موجود در شیره پرورده آنها می‌باشد، ساکارز نیز مرتبط با تحمل به یخ‌زدگی آنها است (قوستا و همکاران ۱۹۹۶). قندها، سلول‌ها و غشاها را حفظ می‌کنند و کربوهیدرات‌های محلول در آپوپلاست در رشد کریستال‌های یخ دخالت کرده و آسیب‌های مکانیکی مرتبط با یخ زدگی را کاهش می‌دهند. قندهای محلول در سازگاری به سرما و افزایش مقاومت به یخ زدگی سوپرکولینگ را افزایش داده و تشکیل کریستال‌های یخ را کاهش داده یا

گیاه در سطح سلولی و همچنین کل سطح گیاه تأثیر می‌گذارد و باعث ایجاد واکنش‌های سازگاری و البته تحت برودت شدید باعث خسارت می‌شود (بیک و همکاران ۲۰۰۷). مقاومت به یخ‌زدگی انگور به عنوان توانایی انگور برای زنده ماندن در معرض تنش یخ‌زدگی (انجماد) در فصل زمستان تعریف شده است. بافت‌های مختلف انگور دارای سطوح مختلف مقاومت به یخ زدگی هستند. جوانه‌ها، حساس‌ترین عضو به یخ زدگی و پس از آن شاخه‌های یکساله و بازوها و سپس تنه‌ها حساس هستند (زبادال و همکاران ۲۰۰۷). ارقام مختلف انگور نیز دارای سطوح مقاومت متنوعی به یخ زدگی هستند.

روش‌های مختلف محافظت از یخ زدگی در انگور از جمله روش‌های فعال و غیرفعال توسعه یافته است. روش‌های محافظت فعال، شامل استفاده از ماشین‌های باد، بخاری و آبیاری می‌باشد (پولینگ ۲۰۰۸). روش‌های غیرفعال شامل انتخاب مکان و ارقام مناسب (زبادال و همکاران ۲۰۰۷) و کاربرد مواد شیمیایی می‌باشد (دمی و بیم ۲۰۰۴). بهبود وضعیت تغذیه‌ای انگور یک روش غیرفعال است که باعث کاهش آسیب یخ‌زدگی می‌شود (واریچ و همکاران ۲۰۱۱). تعادل برخی عناصر غذایی با افزایش ذخیره کربوهیدرات در بافت‌ها باعث افزایش تحمل به یخ‌زدگی در گیاهان می‌شود (چنک و همکاران ۲۰۰۴). پتاسیم یکی از عناصر مهم در رابطه با سازگاری گیاه به یخ زدگی است ولی نقش آن در گیاهان به دلیل عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی پیچیده است (منگل ۲۰۰۷، وبستر و ایدون ۲۰۰۵). حسین آبادی و همکاران (۲۰۱۸) در بررسی مصرف خاکی سولفات پتاسیم و سولفات منیزیم در تحمل انگور نسبت به سرمای مصنوعی و سرمازدگی طبیعی بهاره به این نتیجه رسیدند که تاک‌های تیمار شده با مصرف خاکی ۱/۵ کیلوگرم از سولفات پتاسیم به ازای هر تاک به همراه محلول‌پاشی ۹ کیلوگرم سولفات منیزیم در ۱۰۰۰ لیتر آب با کمترین نشت الکترولیت نسبت به دیگر تیمارها در مقابل سرمای مصنوعی و با ۳۲ درصد جوانه رشد کرده در رویارویی با سرمای طبیعی تحمل بیشتری داشتند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای تغذیه‌ای

تعداد ۳۶ تاک انگور رقم بیدانه قرمز با شرایط رشد و هرس یکنواخت در یک باغ تجاری واقع در شهر ارومیه انتخاب و نشانه‌گذاری شدند. تاک‌ها به صورت ایستاده تربیت شده بودند. محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف سولفات پتاسیم و سولفات روی در چهار مرحله (۱۲ تیر تا ۱۲ مهر) با استفاده از سمپاش ۲۰ لیتری تا مرحله آب چکه روی تاک‌ها انجام شد. برای افزایش بازده جذب ۰/۵ درهزار مویان به محلول غذایی اضافه و محلول‌پاشی هنگام غروب انجام شد. تاک‌های شاهد با محلول آب و مویان محلول‌پاشی شدند. تیمارها شامل محلول‌پاشی سولفات پتاسیم در سه غلظت (۰، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر) و سولفات روی در چهار غلظت (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ گرم در لیتر) و تیمارهای ترکیبی آنها بود.

نمونه برداری و اعمال تیمارهای سرمایی

در ۱۰ دی ماه (سال ۱۳۹۳) از گره‌های میانی شاخه‌های یک ساله به تعداد مورد نیاز قلمه به طول ۲۵-۳۰ سانتی‌متر از هر تاک برداشته شد. قلمه‌ها بلافاصله پس از نشانه‌گذاری درون حوله کاغذی مرطوب پیچیده شده و با یخدان یونولیتی ابتدا به پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه منتقل شدند. به منظور حذف آلودگی گرد و خاک، شاخه‌های یکساله با آب مقطر شستشو شدند. پس از حذف رطوبت اضافی با دستمال حوله‌ای شاخه‌های مربوط به هر تیمار تغذیه‌ای درون کیسه‌های نایلونی گذاشته شده و در فریزر ترموگرادیان در معرض تیمارهای سرمایی مختلف قرار داده شدند. تیمارهای سرمایی شامل: ۱۴-، ۱۶-، ۱۸- و ۲۰- درجه سانتی‌گراد بود. دمای اولیه اتاقت سرماساز در شروع تیمارهای سرمایی بر اساس دمای محیط در روز نمونه‌برداری تعیین شد و بعد از کاهش تدریجی دما تا تیمارهای سرمایی هدف، دمای اتاقت سرماساز به مدت سه ساعت در این دما ثابت باقی ماند. بعد از اعمال تیمارهای سرمایی قلمه‌ها از اتاقت سرماساز خارج و به منظور

از تشکیل آنها جلوگیری می‌کنند و باعث تثبیت ساختار غشاء می‌شوند (تایز و زایگر ۲۰۰۲).

پرویلین از جمله ترکیب‌های آلی با وزن مولکولی کم است که به عنوان محافظ اسمزی از پروتئین‌های سلولی محافظت می‌کند. این ترکیب به‌طور مستقیم و غیر مستقیم با ماکرومولکول‌ها ارتباط دارد و به این ترتیب به حفظ شکل فضایی و فعالیت‌های زیستی به وسیله پایدار ساختن آب‌گیری کامل لایه پروتئینی غشاء در شرایط تنش کمک می‌کند (چن و لی ۲۰۰۲، هیر و کریس ۱۹۹۷). پرویلین با تعدیل اسمزی باعث کم شدن پتانسیل آب یاخته‌ای و زدودن گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در زمان یخ‌زدگی می‌شود و به پایداری غشا در مواجهه با تنش یخ‌زدگی کمک می‌کند (توماشو ۱۹۹۹).

ساریخانی و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که محلول‌پاشی پتاسیم قبل از برداشت محصول، تحمل به انجماد را در انگورها بهبود می‌بخشد. خلدبرین و اسلام-زاده (۲۰۰۱) گزارش کردند که با افزایش مصرف پتاسیم مقاومت سیب زمینی به سرما افزایش می‌یابد. در مطالعات همتی و امینی (۲۰۱۳) نیز افزایش مقاومت به سرما با مصرف ۳۰۰ کیلوگرم پتاسیم در هکتار و ۱۰ کیلوگرم روی در هکتار بدست آمد.

متداول نبودن محلول‌پاشی سولفات پتاسیم در تاکستان‌ها از یک سو و بی توجهی به سرنوشت تاک در دوره بعد از برداشت محصول می‌تواند زمینه ساز مشکل تغذیه‌ای و فیزیولوژیکی تاک باشد. از طرف دیگر بالا بودن واکنش خاک اغلب تاکستان‌های ایران، منجر به کاهش جذب عنصر روی از خاک می‌شود و این امر در مناطق با اقلیم سرد که تاکستان‌ها در معرض خطرات یخبندان و سرمازدگی هستند از اهمیت بالاتری برخوردار است، لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی ارتباط محلول‌پاشی برگی سولفات پتاسیم، سولفات روی و تحمل به سرمای زمستانه جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز انجام گردید.

شاخه با تیغ اسکالپل یک برش نازک عرضی از نوک جوانه گرفته شد تا بافت جوانه اولیه در معرض مستقیم رنگ تترازولیوم قرار گیرد. سپس نمونه‌های مربوط به هر تیمار به‌طور جداگانه داخل لوله آزمایش حاوی محلول ۱ درصد تترازولیوم (واکنش برابر ۷ غوطه‌ور شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و محیط تاریک نگهداری شدند. میزان خسارت سرمازدگی نمونه‌ها با استفاده از لوپ بررسی شد. نمونه‌هایی که دارای رنگ قرمز بودند به‌عنوان بافت زنده و نمونه‌هایی که فاقد رنگ قرمز بودند به‌عنوان بافت مرده در نظر گرفته شدند. میزان خسارت به‌صورت زیر محاسبه شد (استیونکوس ۱۹۶۷).

$$\text{درصد خسارت} = \frac{\text{تعداد نمونه های مرده}}{\text{تعداد کل نمونه}} \times 100$$

اندازه‌گیری میزان قندهای محلول کل

برای اندازه‌گیری میزان قندهای محلول، ۰/۱ میلی لیتر از عصارهٔ الکلی نگهداری شده در یخچال به کمک میکروپیپت به داخل لوله آزمایش ریخته شده و سه میلی لیتر آنترون تازه تهیه شده (۱۵۰ میلی گرم آنترون + ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۷۲٪، W/W) به آن افزوده شد. لوله‌های آزمایش را به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد تا مادهٔ رنگی تشکیل گردد. پس از خنک شدن نمونه‌ها میزان جذب آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیهٔ استاندارد قند، محلول‌هایی از گلوکز با غلظت‌های صفر تا ۱۲۰ ppm تهیه و کلیهٔ مراحل آزمایش روی آنها انجام گردید و نهایتاً میزان جذب آنها در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت گردید (اریگوئن و همکاران ۱۹۹۲).

اندازه‌گیری میزان پرولین آزاد

ابتدا به منظور تعیین پرولین ($C_5H_9NO_2$) ۰/۵ گرم جوانه را در هاون چینی له کرده و به آن ۵ میلی‌لیتر اتانول (C_2H_5OH) ۹۵٪ اضافه گردید. روشناور داخل

نوب شدن تدریجی یخ ابتدا دو ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و سپس سه ساعت در دمای اتاق قرار داده شدند.

تعیین LT₅₀

دمایی که در آن ۵۰٪ نشت الکترولیت صورت می‌گیرد به‌عنوان دمای ۵۰٪ کشندگی (LT₅₀)^۱ آزمون نشت الکترولیت و دمایی که در آن ۵۰٪ مرگ جوانه‌ها براساس آزمون تترازولیوم اتفاق می‌افتد به‌عنوان دمای ۵۰٪ کشندگی (LT₅₀) آزمون تترازولیوم محاسبه گردید. برای تعیین دقیق LT₅₀ از منحنی سیگموئید ترسیم شده در نرم‌افزار اکسل استفاده شد. (فری و همکاران ۱۹۹۳).

اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها

برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها از روش ریپو و همکاران (۱۹۹۸) با کمی تغییر استفاده شد. به این صورت که تعداد ۵ جوانه از هر تیمار از نمونه‌های تحت تیمار یخ‌زدگی انتخاب و در ویال‌هایی با ۲۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر شده ریخته شد و روی شیکر به مدت ۲۴ ساعت تکان داده شدند. سپس هدایت الکتریکی اولیه (C₁) آنها توسط دستگاه هدایت سنج قرائت و پس از قرار دادن نمونه‌ها در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد تحت فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه هدایت الکتریکی نهایی آنها (C_{tot}) اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول زیر درصد نشت الکترولیت‌ها (EL) در هر تیمار تعیین شد.

$$EL\% = \frac{C_1}{C_{tot}} \times 100$$

آزمون رنگ آمیزی تترازولیوم

ابتدا محلول یک درصد تترازولیوم با حل نمودن یک گرم ماده تجاری تترازولیوم (۲ و ۳ و ۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد و سپس pH محلول با سود یک نرمال روی ۷ تنظیم شد. در تاک جوانه اولیه در مقایسه با جوانه‌های ثانویه و ثالثیه به سرما حساس‌تر است به همین دلیل برای تعیین درصد مرگ جوانه‌ها پس از جدا کردن جوانه‌ها از بافت

1- Lethal Temperature at which 50% of tissues are dead

طرح آزمایشی و روش تجزیه آماری

پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک کاملاً تصادفی با دو فاکتور سولفات پتاسیم در سه سطح و سولفات روی در چهار سطح با سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

تحمل به سرما بر اساس نشت الکترولیتی و آزمون تترازولیوم

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثرات ساده سولفات پتاسیم و سولفات روی بر تحمل به سرمای جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز محاسبه شده بر اساس نشت الکترولیتی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. با افزایش سطوح سولفات پتاسیم و سولفات روی مقدار LT_{50} در دی‌ماه کاهش پیدا کرد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد افزایش غلظت سولفات پتاسیم به طور معنی‌داری مقدار LT_{50} (-۱۹/۰۳) را کاهش داد و باعث افزایش تحمل به سرما در جوانه‌ها گردید. افزایش غلظت سولفات روی نیز مقدار LT_{50} را کاهش داد و بیشترین تحمل به سرما با کاربرد غلظت سولفات روی ۲ گرم در لیتر مشاهده شد.

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱)، نشان داد اثرات متقابل سولفات پتاسیم و سولفات روی نیز بر تحمل به سرمای جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز محاسبه شده بر اساس نشت الکترولیتی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. بیشترین تحمل به سرما با تیمارهای ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۱ گرم در لیتر سولفات روی به دست آمد که البته بین تیمارهای ۵ و ۱۰ گرم سولفات پتاسیم به همراه هر غلظتی از سولفات روی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین تحمل به سرما در تاک‌های شاهد مشاهده شد (شکل ۱).

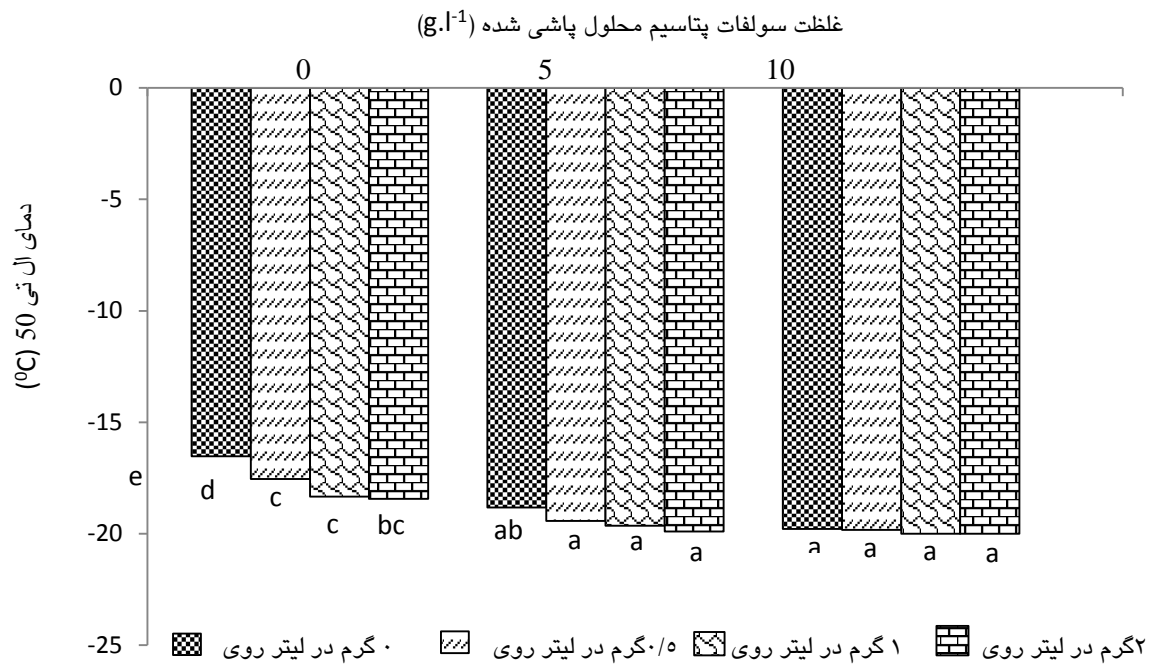
هاون را در لوله آزمایش ریخته و جهت حذف ناخالصی آن دوباره با اضافه کردن ۵ سی‌سی اتانول ۷۰٪ به داخل هاون جوانه را کاملاً له کرده و به محتویات لوله آزمایش اضافه شد. سپس در دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه در سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه، ناخالصی‌های آن به طور دقیق جدا گردید. در این حالت این عصاره به عنوان عصاره پایه برای اندازه‌گیری پرولین مورد استفاده قرار گرفت (اریگوئن و همکاران، ۱۹۹۲). سپس یک میلی لیتر از عصاره الکلی فوق را با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق نموده و ۵ میلی لیتر معرف نین هیدرین $(C_9H_6O_4)$ به آن اضافه شد، سپس ۵ میلی لیتر اسیداستیک گلاسیال به آن اضافه شد و مخلوط حاصله پس از به هم زدن به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از بیرون آوردن از حمام آب جوش و خنک شدن آنها ۱۰ میلی لیتر بنزن به هر کدام از نمونه‌ها افزوده شده و به شدت تکان داده شد تا پرولین وارد فاز بنزن شود. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حال سکون رها شدند. استانداردهایی از پرولین (صفر تا ۰/۱ میکروگرم سول در میلی لیتر) تهیه گردید و در نهایت میزان جذب محلول‌های استاندارد نمونه‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند (پکیوئن و لیچاسور ۱۹۷۹).

$$y = \frac{x+0.073}{1.1821} \quad x = \text{عدد اسپکت} \quad y = \text{مقدار پرولین}$$

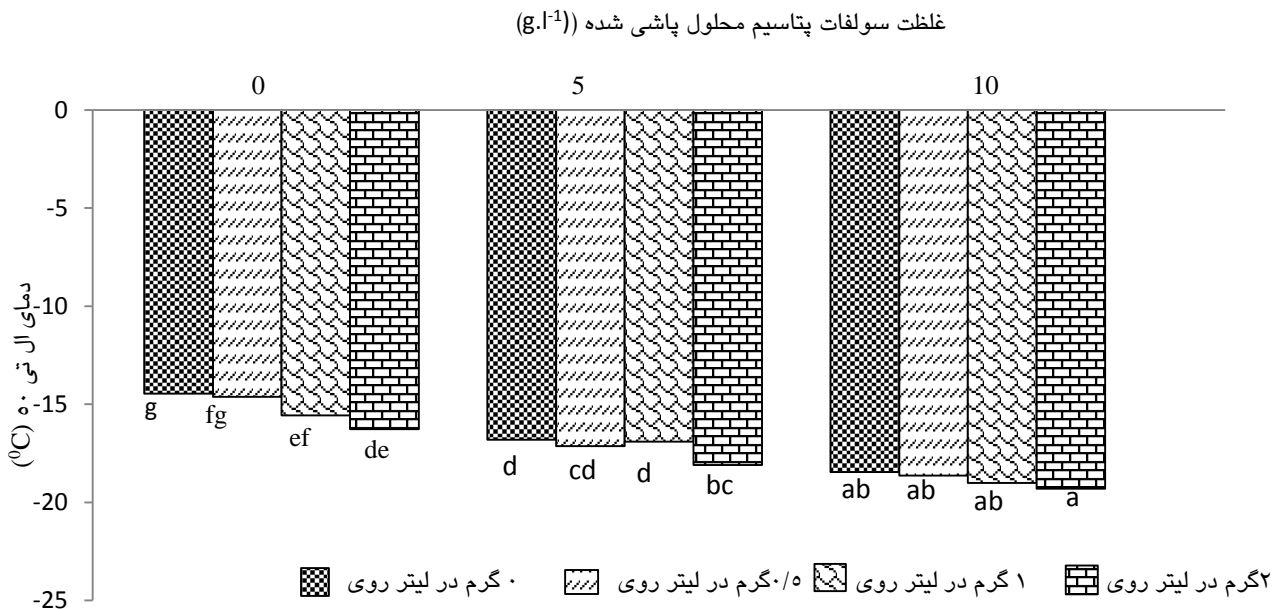
اندازه‌گیری محتوای نسبی آب جوانه‌ها

وزن جوانه‌ها ۲۴ ساعت پس از سرمادهی و توسط ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سپس وزن خشک جوانه‌ها پس از خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد و در ادامه محتوای رطوبت نسبی آنها بر اساس روش فولر و همکاران (۱۹۸۱) از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$100 \times \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر}}{\text{وزن تر}} = \text{محتوای رطوبت نسبی}$$



شکل ۱- مقایسه میانگین مقدارهای LT_{50} اندازه‌گیری شده با روش نشت یونی در جوانه انگور رقم بیدانه قرمز تیمار شده با غلظت‌های مختلف سولفات پتاسیم و سولفات روی. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می باشند.



شکل ۲- مقایسه میانگین مقدارهای LT_{50} اندازه‌گیری شده با روش آزمون مترازولیوم در جوانه انگور رقم بیدانه قرمز تیمار شده با غلظت‌های مختلف سولفات پتاسیم و سولفات روی. ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می باشند.

نتایج نشان داد که پایین‌ترین دمای کشنده (LT_{50}) بر اساس دو روش ارزیابی نشت الکترولیتی و آزمون تترازولیوم در تیمارهای شاهد به ترتیب $۱۶/۵-$ و $۱۴/۵-$ درجه سانتی‌گراد بودند. بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر ساده سولفات پتاسیم و سولفات روی باعث افزایش تحمل به سرمای جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز محاسبه شده بر اساس آزمون تترازولیوم شد (جدول ۱). تیمار سولفات پتاسیم به تنهایی در غلظت ۱۰ گرم در لیتر مقدار LT_{50} ($۱۸/۳۵-$) (درجه سانتی‌گراد) را کاهش داد. سولفات روی در غلظت ۲ گرم در لیتر باعث بیشترین تحمل به سرما در جوانه‌ها گردید. همچنین نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثرات متقابل سولفات پتاسیم و سولفات روی نیز بر تحمل به سرمای جوانه‌های انگور رقم بیدانه قرمز

محاسبه شده بر اساس آزمون تترازولیوم در سطح احتمال ۱% معنی‌دار شد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی توأم سولفات پتاسیم و سولفات روی باعث کاهش LT_{50} محاسبه شده بر اساس آزمون تترازولیوم گردید و پایین‌ترین LT_{50} در تیمار ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۲ گرم در لیتر سولفات روی با میانگین $۱۹/۳۰-$ (درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد (شکل ۲). محلول‌پاشی قبل از برداشت پتاسیم و روی تحمل به سرمای انگور را بهبود بخشیده است. در آزمایش‌های کریمی و همکاران (۲۰۱۴) نیز کاربرد سولفات پتاسیم در غلظت‌های $۱/۵$ و ۳% در ترکیب با نیتروژن تحمل به سرمای جوانه‌ها را بهبود بخشید که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر محلول پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر مقاومت به سرما و

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	LT_{50} حاصل از نشت الکترولیتی	LT_{50} حاصل از آزمون تترازولیوم	قندهای محلول	پرولین	محتوای آب نسبی
بلوک	۲	۰/۶۷**	۰/۲۶ ^{ns}	۰/۳۷ ^{ns}	۰/۸۲ ^{ns}	۵/۱۲ ^{ns}
سولفات پتاسیم	۲	۱۶/۰۶**	۳۹/۶۵**	۵/۳۹**	۴۷/۰۲**	۱۸۰/۹۸**
سولفات روی	۳	۲/۰۵**	۲/۹۷**	۹/۴۸**	۴/۰۹**	۷۵/۰۵*
سولفات پتاسیم × سولفات روی	۶	۰/۴۶**	۸/۱۹**	۱/۶۳*	۱/۳۷*	۴۱/۱۹۰ ^{ns}
خطا	۲۲	۰/۱۰	۰/۳۳	۰/۴۵	۰/۵۰	۲۴/۹۸
کل	۳۵					
ضریب تغییرات (%)	-	۱/۶۹	۳/۳۶	۱/۰۶	۱۹/۶۹	۱۳/۱۵

ns, *, **؛ به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد میباشد.

برخی صفات بیوشیمیایی جوانه انگور بیدانه قرمز

نتایج این تحقیق با نتایج حقی و همکاران (۲۰۱۱) نیز مطابقت دارد. آنها گزارش کرده‌اند که تفاوت LT_{50} حاصل از آزمون تترازولیوم جوانه‌های یک ساله بوته‌های تیمار شده انگور در سطح احتمال ۵% معنی‌دار شد. به‌طوریکه بالاترین LT_{50} جوانه در دی‌ماه مربوط به

همچنین کاربرد سطح‌های بالای کودهای دارای پتاسیم و نیتروژن باعث افزایش تحمل به سرمای دانهال-های کاج سیاه شد و درخت‌هایی که کودهایی با مقدارهای کم این عناصر را دریافت کرده بودند تحمل به سرمای کم‌تری داشتند (بیگ رس و همکاران ۱۹۹۶).

می‌تواند به کاهش آسیب سلولی کمک کند (ککمک ۲۰۰۰، تیسیدیل و همکاران ۲۰۰۳). نتایج مطالعات میرمحمدی و ترکش اصفهانی (۲۰۰۰) سدری و ملکوتی (۱۹۸۶) نشان می‌دهد که با افزایش پروتئین، مقاومت گیاهان باغی و زراعی در برابر سرمازدگی افزایش می‌یابد، به همین دلیل چون عنصر روی در سنتز پروتئین‌ها دخالت دارد لذا باعث افزایش مقاومت به سرما می‌شود.

میزان قندهای محلول

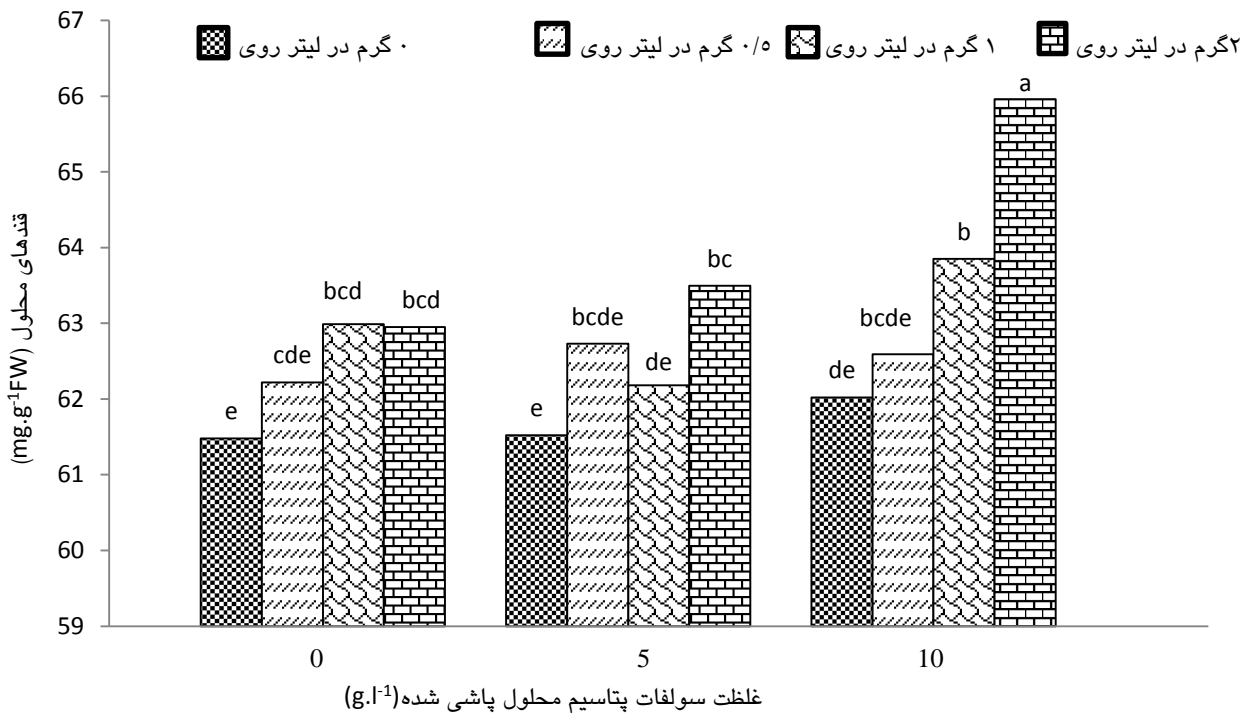
بر اساس نتایج تجزیه واریانس برهمکنش سطح‌های سولفات پتاسیم و سولفات روی بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول جوانه انگور رقم بیدانه قرمز در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد با افزایش سطوح سولفات پتاسیم و سولفات روی غلظت کربوهیدرات‌های محلول جوانه افزایش پیدا کرد. به‌طوریکه بیشترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تیمار ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۲ گرم در لیتر سولفات روی محقق شد. کم‌ترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۳). همچنین مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد تیمار ۵ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۰/۵ گرم در لیتر سولفات روی در مقایسه با تیمار ۱۰ گرم در لیتر سولفات پتاسیم و ۰/۵ گرم در لیتر سولفات روی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت. حقی و همکاران (۲۰۱۱) هم نشان دادند محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی باعث افزایش مقدار کربوهیدرات‌ها در جوانه انگور می‌شود و به این ترتیب مقاومت به سرمای تاک‌ها در اثر محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی افزایش می‌یابد. در نتایج آنها محلول‌پاشی سولفات پتاسیم در غلظت ۲٪ و سولفات روی در غلظت ۰/۰۸ درصد باعث افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در جوانه گردید. افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در اثر محلول‌پاشی با سولفات پتاسیم در انگور توسط کریمی و همکاران (۲۰۱۴) هم گزارش شده است. آنها گزارش کرده‌اند تاک‌هایی که با غلظت‌های ۱/۵

تیمار شاهد با میانگین ۱۱/۳۳- درجه سانتی‌گراد و پایین‌ترین LT₅₀ مربوط به تیمار سولفات روی ۲ درصد با میانگین LT₅₀ برابر ۱۷- درجه سانتی‌گراد بود. حقی و همکاران (۲۰۱۱) همچنین گزارش کردند جوانه‌ها و شاخه‌های یکساله بوته تیمارهای محلول‌پاشی شده با سولفات روی نسبت به نمونه‌های محلول‌پاشی نشده در آزمون تترازولیوم مقاومت بالاتری را نشان دادند.

گزارش شده است که پتاسیم از راه تعامل با نیتروژن موجب ایجاد تغییراتی در نشت الکترولیتی غشاء و افزایش تحمل به سرما می‌شود (وبستر و ابدون ۲۰۰۵). افزایش تحمل به یخ‌زدگی در تاک‌های تیمار شده با مقدارهای بالای پتاسیم نشان‌دهنده آسیب کم‌تر غشای یاخته‌ای و در نتیجه نشت کم‌تر محتوای یاخته و محافظت از آب‌کشیدگی یاخته در جوانه‌ها است (مارشنر ۲۰۰۲). بهبود وضعیت پتاسیم در گیاه باعث محافظت از غشاهای در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از تنش یخ‌زدگی و به دنبال آن افزایش پایداری غشاء در برابر نشت یونی می‌شود (ولف و پول ۱۹۸۸). مقدارهای ناکافی پتاسیم منجر به حساسیت بیشتر بافت‌های رویشی، تنه و جوانه‌های گل به سرما می‌شود. حساسیت بیشتر به سرما بعد از باردهی سنگین اتفاق می‌افتد که به دلیل حذف قابل توجه پتاسیم از تاک در موقع برداشت می‌باشد (اسچوپ و همکاران ۲۰۰۱). از طرف دیگر پتاسیم ناکافی باعث تأخیر در رسیدن میوه می‌شود و فاصله بین برداشت تا اولین سرمای کشنده را کوتاه می‌کند، بنابراین تغذیه با کود سولفات پتاسیم قبل از برداشت ضمن افزایش عملکرد، کیفیت و زودرسی میوه‌ها، باعث بهبود تحمل به سرما در مواجهه با دمای یخ‌زدگی در مرحله رکود می‌شود (حقی و همکاران ۲۰۱۱). روی از عنصرهای مهم کاهش‌دهنده آسیب‌های اکسیداتیو غشای سلولی ناشی از تنش‌های یخ‌زدگی است که منجر به کاهش متابولیسم سلولی می‌گردد. عنصر روی از طریق کمک در ساخته شدن آنزیم‌های خنثی‌کننده پراکسید هیدروژن و اکسیژن‌فعالی که در گیاهان هنگام مواجهه با دمای یخ‌زدگی تولید می‌شوند

انگور و مقاومت به سرما در این گیاه گزارش شده است و اغلب این‌گونه فرض می‌شود که افزایش در مقدار قند سلول نقطه انجماد شیره سلولی را پایین‌تر می‌آورد و به این ترتیب گیاه را در برابر آسیب یخ‌زدگی محافظت می‌کند (پول و همکاران ۱۹۹۰). کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع‌های انرژی و عملکرد حفاظتی در مقاومت به سرمای گیاهان نقش مؤثری دارند.

و ۳٪ سولفات پتاسیم تغذیه شده بودند در مجموع کربوهیدرات‌های بالاتری نسبت به دیگر تیمارها داشتند. آندر و همکاران (۱۹۹۰) هم گزارش کرده‌اند که تغذیه خاکی بوته‌های انگور با فسفر، پتاسیم و منیزیم باعث افزایش مقدار کربوهیدرات شاخه و افزایش مقاومت به سرمای زمستانه در رقم‌های انگور می‌شود. ارتباط مستقیمی بین افزایش مقدار کربوهیدرات بافت‌های جوانه



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر کاربرد برگی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر غلظت قندهای محلول جوانه انگور رقم بیدانه قرمز در دی‌ماه

ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می‌باشند.

۰/۳ درصد در فصل رشد موجب افزایش مقدار پروتئین و کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها شده و به این ترتیب سبب کاهش ۹-۷٪ آسیب‌های یخ‌زدگی بهاره در جوانه‌های مرکزی و ۱۲-۱۱٪ در جوانه‌های ثانوی شد. هامیمان و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کرده‌اند که بین مقاومت به سرمای زمستانه انگور و تجمع کربوهیدرات‌ها در شاخه و جوانه ارتباط وجود دارد. عنصر پتاسیم باعث تجمع کربوهیدرات‌های محلول، تنظیم اسمزی و فعال کردن آنزیم‌ها می‌شود (وبسیتر و ابدون ۲۰۰۵). قندها و قندهای

همبستگی بین میزان قندهای محلول و مقاومت به سرما در بسیاری از گونه‌های چوبی گزارش شده است (ویسنی اسکای و همکاران ۲۰۰۳). به نظر می‌رسد مقدار کافی روی در تاک، موجب افزایش مقدار کربوهیدرات در این گیاه می‌شود. این موضوع با نتایج تانارکو (۱۹۸۱) در مورد افزایش مقاومت به سرمای تاک بر اثر افزایش کربوهیدرات‌های محلول در نتیجه‌ی محلول‌پاشی سولفات روی مطابقت دارد. در این زمینه تاناکو نشان داد که محلول‌پاشی بوته‌های انگور با سولفات روی

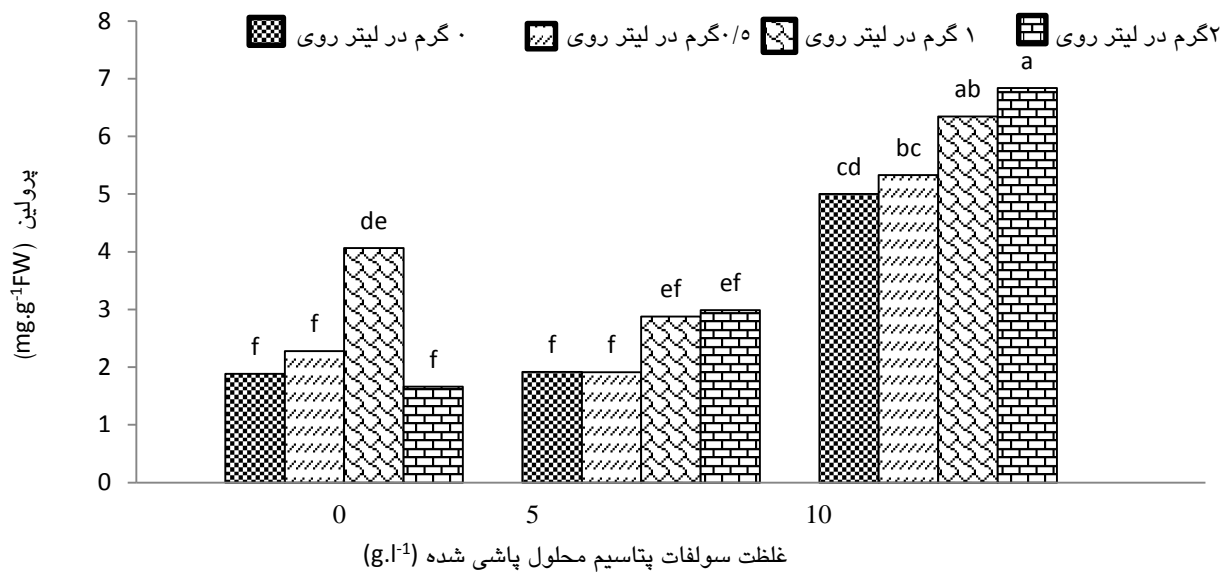
مقایسه با شاهد ظاهراً تفاوت معنی‌داری نداشت و این مورد دور از انتظار بود. با توجه به بالا بودن ضریب تغییرات در مورد غلظت‌های پرولین این نتیجه ممکن است به دلیل خطای آزمایش بوده است و لذا در سایر تیمارها، کاربرد سولفات روی موجب افزایش پرولین در جوانه‌های انگور شده است (جدول ۱). کاربرد توأم سولفات روی و سولفات پتاسیم نیز موجب افزایش بیشتر پرولین جوانه‌های انگور شده است.

نتایج به دست آمده از این تحقیق با نتایج سایر محققین روی انگور مطابقت داشت. حقی و همکاران (۲۰۱۱) با تحقیق روی انگور نشان دادند که با افزایش غلظت سولفات پتاسیم، در دی‌ماه محتوای پرولین از ۲/۶۳ (تیمار شاهد) به ۶/۶۷ میلی‌گرم در گرم (تیمار سولفات پتاسیم ۲٪) افزایش یافت. در این تحقیق میزان پرولین شدیداً تحت تأثیر غلظت پتاسیم قرار گرفت و افزایش غلظت این عنصر منجر به افزایش میزان پرولین بافت جوانه شد. افزایش مقدار پرولین در اثر محلول‌پاشی سولفات پتاسیم در مطالعه کریمی و همکاران (۲۰۱۴) نیز گزارش شده است. پرولین با تعدیل اسمزی باعث کم شدن پتانسیل آب یاخته‌ای و زدودن گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در زمان یخ‌زدگی می‌شود و به پایداری غشا در مواجهه با تنش یخ‌زدگی کمک می‌کند. همچنین پرولین با اثر بر آنزیم‌ها به حفظ ساختار و فعالیت پروتئین‌ها کمک می‌کند (تومارشو ۱۹۹۹). رابطه مثبت بین مقدار پرولین و افزایش مقاومت به سرما در بیشتر درخت‌های میوه از جمله سیب (خانی زاده، ۱۹۹۲)، پرتقال (سانگ و همکاران ۲۰۰۳) و انگور (ایت بارکا و اودران ۱۹۹۷) گزارش شده است.

الکی با افزایش پتانسیل اسمزی درون یاخته‌ای و کاهش نقطه انجماد ضمن کاهش آب‌کشیدگی بافت‌ها در زمان یخ‌زدگی برون یاخته‌ای از غشای یاخته نیز در برابر سرما محافظت می‌کنند و با پایداری پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و چربی‌های غشاء مقدار نشت یونی را کاهش می‌دهند (تومارشو ۱۹۹۹). گزارش شده است که کاربرد نیتروژن و پتاسیم باعث افزایش قطر و مقدار خشبی شدن شاخه‌های یکساله در انگور شده است (عبدالرازک و همکاران ۲۰۱۱) که این موضوع به دلیل اثر این عناصر در تجمع کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها و نقش آنها در تشکیل سلولز و لیگنین می‌باشد (داتن و جانسون ۲۰۱۱). این احتمال وجود دارد که کاربرد هم‌زمان غلظت‌های بالای اوره و سولفات پتاسیم باعث قدرت رشد بهتر گیاه و تداوم فتوسنتز بعد از برداشت میوه شود و با جبران مقدارهای از دست‌رفته این عناصر به دنبال برداشت میوه، گیاه را با شرایط کربوهیدراتی و نیتروژنی بهتری وارد مرحله سازگاری به سرما کند.

میزان پرولین

اثر ساده سطح‌های محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر غلظت پرولین جوانه انگور رقم بیدانه قرمز در سطح احتمال ۱٪ و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. در حالیکه میانگین میزان پرولین در نمونه‌های شاهد ۱/۹ (میکروگرم در گرم وزن تر) بود، بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها بیشینه غلظت پرولین جوانه در تاک‌هایی مشاهده شد که با ترکیب سولفات پتاسیم ۱۰ گرم در لیتر همراه با سولفات روی ۲ گرم در لیتر محلول‌پاشی شده بودند (۶/۸ میکروگرم در گرم وزن تر) (شکل ۴). محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی به تنهایی نیز اثرهای مثبتی بر افزایش پرولین جوانه داشتند. با توجه به شکل ۴ ملاحظه می‌شود که کاربرد غلظت یک گرم در لیتر سولفات روی نیز در مقایسه با شاهد موجب افزایش میزان پرولین از ۱/۹ به ۴ میکروگرم در گرم وزن تر شده است. در عین حال محلول‌پاشی سولفات روی با غلظت ۲ گرم در لیتر در



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر کاربرد برگی سولفات پتاسیم و سولفات روی بر غلظت پروتئین جوانه انگور رقم بیدانه قرمز ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می باشند.

محتوای نسبی آب

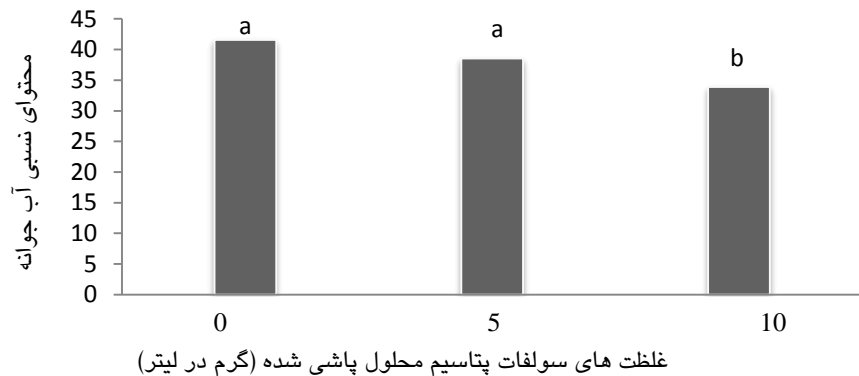
مطابقت ندارد. به نظر میرسد مکانیسم تحمل به یخ‌زدگی در گندم و تاک متفاوت می‌باشد.

مقاومت کمتر بافت شاهد جوانه نسبت به دیگر تیمارهای محلول‌پاشی درمقابل یخ‌زدگی مصنوعی را می‌توان به سطح بالای آب میان بافتی آنها ارتباط داد زیرا کاهش نسبی آب جوانه یکی از مکانیسم‌های مقاومت به سرما در انگور است. در راستای فرایند سازگاری به سرما و افزایش تحمل به یخ‌زدگی محتوای آب جوانه‌ها از پاییز تا میانه زمستان کاهش می‌یابد. این تغییر فیزیولوژیکی با هدف کاهش آب آزاد یاخته‌ای و کاهش نقطه انجماد در جوانه رخ می‌دهد (منگل ۲۰۰۷، واریچ و همکاران ۲۰۱۱). در مرحله استراحت عمیق، آب آزاد یاخته‌ای در جوانه‌های درختان میوه خزان‌دار به واسطه پیوند با پروتئین‌های آب‌دوست (دی هیدرین‌ها) یا درشت مولکول‌های دیگر مانند قندها کاهش می‌یابد. اگرچه نقش پتاسیم در گیاه پیچیده است ولی به نظر می‌رسد که بالا رفتن غلظت پتاسیم در تاک‌ها با افزایش زیر ساخت‌های لازم برای ساخت قندها و پروتئین‌ها زمینه را برای پیوند

محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی به تنهایی اثرهای معنی‌داری به ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ بر میزان محتوای نسبی آب جوانه‌ها داشت و باعث کاهش محتوای نسبی آب جوانه‌ها شدند (جدول ۱). بیشینه محتوای آب جوانه‌ها در تاک‌های شاهد دیده شد (۴۱/۱٪) و کم‌ترین محتوای آب جوانه‌ها (۳۳/۹٪) در تاک‌های تیمار شده با سولفات پتاسیم ۱۰ گرم در لیتر به تنهایی و سولفات روی ۲ گرم در لیتر (۳۴/۶٪) به تنهایی مشاهده شد (شکل ۵ و شکل ۶). کریمی و همکاران (۲۰۱۴) نیز در آزمایش‌های خود به کاهش محتوای نسبی آب در اثر محلول‌پاشی با سولفات پتاسیم اشاره کردند. همچنین حقی و همکاران (۲۰۱۱) نیز در طی تحقیق خود مشاهده کردند که نمونه‌های متحمل‌تر با LT₅₀ آزمون نشت یونی و آزمون تترازولیوم پایین‌تر نسبت به سایر نمونه‌ها محتوای آب کمتری داشتند. نتایج این پژوهش با نتایج همتی و امینی (۲۰۱۳) که روی گندم تحقیق کردند

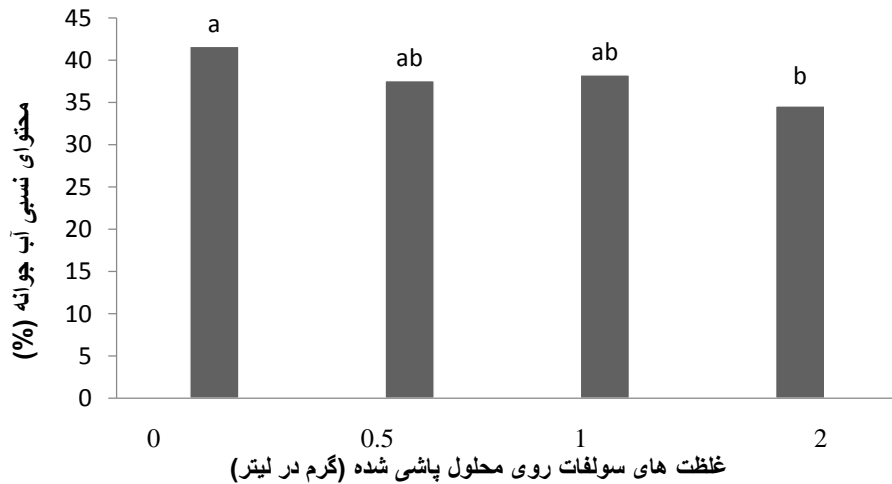
جوانه‌ها را قدرت می‌بخشد. البته ایجاد پیوند مستقیم بین پتاسیم و آب آزاد یاخته‌ای در زمان تشکیل بلورهای یخ به عنوان یک ساز و کار سازگاری در هنگام مواجهه با سرما در برخی گیاهان نیز به اثبات رسیده است (منگل ۲۰۰۷، وبستر و ایبدون ۲۰۰۵).

این درشت مولکول‌ها با آب آزاد یاخته‌ای فراهم می‌کند و به این ترتیب باعث افزایش تحمل به یخ‌زدگی در جوانه‌ها می‌شود. در واقع نگهداری آب به حالت پیوند با درشت مولکول‌ها یکی از ساز و کارهای مهم برای حفظ حالت خفتگی و جلوگیری از آب‌کشیدگی در دماهای یخ‌زدگی است که امکان فراسرد شدن را برای جوانه‌ها فراهم می‌کند و فرضیه دخالت غیرمستقیم پتاسیم در فراسرد شدن



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر کاربرد برگی سولفات پتاسیم بر محتوای آب جوانه انگور رقم بیدانه قرمز

ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می‌باشند.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر کاربرد برگی سولفات روی بر محتوای آب جوانه انگور رقم بیدانه قرمز

ستون‌های دارای حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۱ درصد می‌باشند.

همبستگی بین مقاومت به سرما و پرولین و محتوای نسبی آب

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقادیر EL-LT₅₀ و TST-LT₅₀ (مقاومت به سرمای جوانه‌ها) و میزان پرولین بر اساس نتایج جدول ۲ مشاهده شد. علاوه بر این نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد بین مقاومت به سرمای جوانه‌ها و محتوای نسبی آب جوانه‌ها همبستگی منفی و

معنی‌داری وجود دارد. همبستگی منفی بین مقاومت به سرمای جوانه‌ها و محتوای آب نسبی جوانه‌ها با نتایج حقی و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت دارد، اما با نتایج همتی و همکاران (۲۰۱۳) که روی گندم تحقیق کردند متفاوت می‌باشد. علاوه بر این حقی و همکاران (۲۰۱۳) و شور و همکاران (۲۰۰۹) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقاومت به سرما و میزان پرولین در تاک مشاهده کرده‌اند.

جدول ۲- ضریب همبستگی بین مقادیر EL-LT₅₀ و T-LT₅₀ با غلظت پرولین و محتوای نسبی آب در جوانه‌های انگور

محتوای آب نسبی	غلظت پرولین	متغیر
-۰/۴۶۳**	۰/۵۵۵**	دمای LT ₅₀ (°C) بر اساس نشت الکترولیت
-۰/۴۳۷**	۰/۶۹۵**	EL-LT ₅₀ (°C) دمای LT ₅₀ بر اساس آزمون تترازولیوم
		T-LT ₅₀ (°C)

ns, *, ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد میباشد.

نتیجه گیری کلی

نتایج کلی نشان داد که کاربرد محلولپاشی سولفات پتاسیم و سولفات روی، میزان LT₅₀ در جوانه‌های انگور بی‌دانه قرمز را کاهش داد که بر اساس اندازه‌گیری

نشت الکترولیت و آزمایش رنگ آمیزی تترازولیوم محاسبه گردید. بنابراین، محلول‌پاشی سولفات پتاسیم و سولفات در طول فصل رشد انگور بی‌دانه قرمز در افزایش تحمل به انجماد جوانه‌های آن در زمستان همان سال (دی ماه) مؤثر است.

منابع مورد استفاده

Abdel-Razek ED, Treutter MMS, Saleh M, El-Shammaa A.A and Abdel- Hamid N. 2011. Effect of nitrogen and potassium fertilization on productivity and fruit quality of 'Crimson Seedless' grape. Agriculture and Biology Journal of North America, 2: 330-340.

- Aitbarka E and Audran JC. 1997. Response of champenoise grapevine to low temperatures: Changes of shoot and bud proline concentrations in response to low temperatures and correlations with freezing tolerance. *Journal of Horticultural Science*, 72 (4):577-582.
- Alloway BJ. 2008. Zinc in soils and crop nutrition (2d Ed.). International Zinc Association (IZA). Brussels.136 p.
- Andre J and Hajdu E. 1990. The effect of fertilizers on different wine grape varieties in model container trial. *Vitis (Special Issue)*, 352-357.
- Bigras FJ, Gonzales A, Daoust AL and Hebert C. 1996. Frost hardiness, bud phenology and growth of containerized *Picea mariana* seedlings grown at three nitrogen levels and three temperature regimes. *New Forest, International Journal on the Biology, Biotechnology, and Management of Afforestation and Reforestation*, 12 (3): 243-259.
- Beck EH, Fettcg S, Knake C, Hartig K and Bhattarai T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Journal of Biosciences*, 32: 501-510.
- Cakmak I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen. *New Phytologist*, 146 (2): 185-205.
- Cheng L, Ma F and Ranwala D. 2004. Nitrogen storage and its interaction with carbohydrates of young apple trees in response to nitrogen supply. *Tree Physiology*, 24 (1): 91-98.
- Chen PW and Li PH. 2002. Membrane stabilization by abscisic acid under cold aids proline in alleviating chilling injury in maize. *Plant, Cell and Environment*, 25: 955-962.
- Dami IE and Beam BA. 2004. Response of grapevines to soybean oil application. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55: 269-275.
- Daten LS and Johnsen Q. 2004. CO₂ enrichment, nitrogen fertilization and development of freezing tolerance in norway spruce. *Trees*, 18: 10-18.
- Faost. 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). (<http://www.fao.org/faostat/en>).
- Fry JD, Langa NS, Clifton RGP and Maler FP. 1993. Freezing tolerance and carbohydrate content of low temperature acclimated and nonacclimated centipedegrass. *Crop Science*, 33:1051-1055.
- Fowler DB, Gusta LV and Tyler NJ. 1981. Selection for winter hardiness in wheat. Screening methods. *Crop Science*, 21:896-901.
- Gordon SH and Shaulis N. 1980. Factors influencing within-vine variation in the cold resistance of cane and primary bud tissues. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31: 158-161.
- Gusta LV, Wilen RW and Fu P.1996. Low-temperature stress tolerance: The role of abscisic acid, sugars, and heat-stable proteins. *Hortscience*, 31 (1): 39-46.
- Haghi H, Sarikhani H and Ershadi A, 2011. Effect of foliar application of zinc sulfate and potassium sulfate on winter hardiness of grapevine (*Vitis vinifera* cv. 'Bidaneh Sefid'). MSc thesis, Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran. (In Persian).
- Hamiman RA, Dami IE, Walsh TM and Stushnoff C. 1996. Seasonal carbohydrate changes and cold hardiness of Chardonnay and Riesling grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47:31-36.
- Hare P and Cress W. 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation*, 21 (2):79-102.
- Hemati A and Amini Z. 2013. Effect of zinc and potassium on quantitative and qualitative characteristics of yield and cold resistances in wheat, *Iranian Journal of soil research (soil and water sciences)*, 27 (2): 131-139. (In Persian).
- Hoseinabadi, H, Rasouli,M, Ebadi, A, Ershadi A, and Nejatian M.A.2018. Effect of potassium sulfate soil drench and foliar application of magnesium sulfate on grapevine tolerance to artificial and spring frostbite. *Iranian Journal of Horticultural science and technology*, 19 (2): 185-200 (In Persian).

- Irigoyen JJ, Emerich DW and Sanchez-dias M. 1992. Water stress Induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago Sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84 (1): 55-60.
- Karimi R, Ershadi A and Esnaashri M. 2014. Effects of late- season nitrogen and potassium spray on dormant buds cold tolerance of 'Bidaneh Sefid' Grapevine.). *Journal of Horticultural Science and biotechnology*, 15 (3): 419-434. (In Persian).
- Khanizadeh S, Buaard D and Zarakadas CG. 1992. Effect of crop load on hardiness, protein and amino acids content of apple flower buds at the wintering stage and the beginning of the growth, *Journal of Plant Nutrition*, 15 (11):2441-2455.
- Khaldabrin B and Islamzadeh, T. 2001. Mineral nutrition of excellent plants. Translation. first volume. Shiraz University Press. Shiraz. Iran, 386p. (In Persian).
- Lyons JM and Haig SM. 1995. Estimation of lean and lipid mass in shorebirds using total-body electrical conductivity. *The Auk*, 112 (3): 590-602.
- Marshner H. 2002. Mineral nutrition of higher plants, Second Edition. Academic Press, Great Britain, 906 pp.
- Mengel K. 2007. Potassium. pp: 91-120. In: Barker, A.V. and D.J. Pilbeam (Eds.). *Handbook of Plant Nutrition*. CRC Press, N.Y., USA, 632 p.
- Mirbagheri S.M, Karimi R and Rasouli M. 2018. The combined effect of potassium and iron on fruit yield and quality raisin and cold tolerance of grape. *Journal of Agricultural crops production*, 20 (3): 737-754.
- Mirmohamadi S.A and Torkash Esfahani S. 2000. Physiological and breeding aspects of cold and frost stresses of crops. First Edition, Golben publications. Esfahan, Iran, 222pp.
- Paquin R and Lechasseur P.1979. Observations issue une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes (in French, English abstract). *Canadian Journal of Botany*, 75:1851-1854.
- Parker J. 1951. Moisture retention in leaves of conifers of the northern rocky mountains. *Botanical. Gazette*, 113 (2): 210-216.
- Poling EB. 2008. Spring cold injury to wine grapes and protection strategies and methods. *Hortscience*, 43 (6): 1652-1662.
- Pool RM, Reisch BI and Welser MJ. 1990. Use of differential thermal analysis quantify bud cold hardiness of grape selections and clones. *Journal of Grapevine Research, Vitis*, 29: 318-329.
- Ryypyo A, Repo T and Vapaayuori, E. 1998. Development of frost hardiness in roots and shoots of scots pine seedlings at non-freezing temperatures. *Canadian Journal of Forest Research*, 28 (4): 557-565.
- Saeidnejad AH and Kafi M. 2013. Alleviative effects of Zinc on physiological properties and antioxidants activity of maize plants under salinity stress. *International journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(5):529-537.
- Sarikhani H, Haghi H, Ershadi A, Esnaashari M and Mehrdad P. 2014. Foliar application of potassium sulphate enhances the cold- hardiness of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89(2): 141-146. (In Persian).
- Sedri M.H and Malakouti M J. 1986. Determination the critical level of micronutritions in wheat field of kurdestan, Soil and water research institute, Iranian Journal of soil and water research, Tehran, Iran.
- Shoor M, Tehranifar A, Nematy S.H, Salahvarzy Y, Mokhtarian A and Rahmaty M. 2009. Evaluation and determination of chilling and frezzing resistance in three commercial grape cultivars (*vitis vinifera* L) in north of Khorasan, *Environmental stress in Agricultural sciences*, 2(2): 159-169.
- Schupp JR, Cheng L, Stiles WC, Stover ED and Iungerman K. 2001. Mineral nutrition as a factor in cold tolerance of apple trees. *New York Fruit Quarterly*, 9: 9-11.
- Steponkus PL and Lanphear FO. 1967. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. *Plant Physiology*, 42: 1423-1426.

- Sung DY, Kaplan F, Lee KJ and Guy CL. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science*, 8:179-189.
- Taiz L and Zeiger E. 2002. *Plant Physiology*. 3th ed. Sinauer Associates Inc., Sunderland, M.A.
- Tanurkov GR. 1981. Influence of the microelements zinc and manganese on frost resistance and productivity of vines. *Sadovod. Vinogradar. Vinodel. Moldavii* (in Russian with English Abstract), 36:39-41.
- Thomashow MF. 1999. Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology*, 50: 571-599.
- Tisdale SL, Nelson WL, Beaton JD and Havlin JL. 2003. *Soil fertility and fertilizers*. 5th (eds.) Prentice-Hall of India Preiate Limited. New Delhi. India. 634 p.
- Wong KYI. 2009. In vitro culture of dog ridge grapevine. Department of Horticultural Sciences, A&M University, Texas. Undergraduate research scholar (<http://hdl.handle.net/1969.1/86500>).
- Waraich EA, Ahmad R, Saifullah U, Ashraf M.Y and Ehsanullah A. 2011. Role of mineral nutrition in alleviation of drought stress in plants. *Australian Journal of Crop Science*, 5 (6): 764-777.
- Webster DE and Ebdon JS. 2005. Effects of nitrogen and potassium fertilization on perennial ryegrass cold tolerance during deacclimation in late winter and early spring. *Hortscience*, 40 (3): 842-849.
- Wisniewski M and Basett C. 2003. An overview of cold hardiness in woody plants. *HortScience*, 38: 953-959.
- Wolf TK and Pool RM. 1988. Nitrogen fertilization and rootstock effects on wood maturation and dormant bud cold hardiness of cv. Chardonnay grapevines. *American Journal Enology and Viticulture*, 39: 308-312.
- Zabadal TJ, Dami IE, Goffinet MC, Martinson TE and Cheen ML. 2007. Winter injury to grapevines and methods of protection. Michigan State University Extension, East Lansing.