Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 50, No 4, Winter 2020 (911-933)
DOI: 10.22059/ijhs.2019.270202.1544

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۸ (ص ۹۳۳-۹۱۱)

اثر تیمار اسید سالیسیلیک بر تحمل یخ زدگی زمستانه در انگور رقم شاهانی

علی عبادی[1*]، اسماء عباسی کاشانی[2]، محمدرضا فتاحی مقدم[1] و مجید شکرپور[3]
۱، ۲ و ۳. استاد، دانشجوی دکتری و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۵)

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر اسیدسالیسیلیک در افزایش تحمل یخ‌زدگی در انگور رقم شاهانی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل‌در قالب طرح بلوک‌های کامل‌تصادفی با سه‌تکرار انجام شد. عامل‌اول اسیدسالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۰/۵و ۱ میلی‌مولار)، عامل‌دوم زمان محلول‌پاشی در چهار سطح (مرحله رنگ‌گیری‌حبه‌ها، زمان برداشت، یک‌ماه پس از برداشت و مجموع سه زمان) و عامل‌سوم سرمای‌مصنوعی در چهار سطح (٤+، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه‌سانتی‌گراد) بود که روی قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند اعمال شد. آزمایش‌سال دوم براساس نتایج آزمایش سال اول طراحی و شامل اسیدسالیسیلیک در سه سطح (صفر، ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌مولار) در مرحله یک‌ماه پس‌از برداشت و سرمای مصنوعی در چهار سطح (٤+، ۱۷-، ۱۹- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد) بود که روی قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند انجام شد. براساس نتایج کاهش دما تا ۲۱- درجه‌سانتی‌گراد منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در هر دو سال آزمایش گردید و در نتیجه، درصد نشت یونی، درصد نشت فنول‌ها و میزان مالون‌دی‌آلدهید پس‌از اعمال سرمای مصنوعی افزایش یافت. همچنین در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد، برخی از شاخص‌های رویشی از قبیل درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه، درصد سبزشدن نقطه رویشی‌ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌ها کاهش نشان دادند. کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار در سال اول و ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌مولار در سال دوم باعث کاهش درصد نشت‌یونی، درصد نشت فنول‌ها و غلظت مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه و افزایش درصد سبزشدن نقاط رویشی‌اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های تحت تنش یخ‌زدگی گردید. همچنین نتایج نشان داد با کاهش دما تا ۲۱- درجه سانتی‌گراد، میزان کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و ترکیبات‌فنولی نیز افزایش یافت. همچنین مشاهده شد کاربرد اسیدسالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار در آزمایش سال اول و غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌مولار در آزمایش سال دوم منجر به افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید سالیسیلیک، انگور، تغییرات مورفولوژیک، تغییرات فیزیولوژیک، تنش یخ زدگی.

Effects of salicylic acid on winter freezing tolerance in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Shahani)

Ali Ebadi[1*], Asma Abbasi Kashani[2], Mohammad Reza Fattahi Moghaddam[1] and Majid Shokrpour[3]
1, 2, 3. Professor, Ph. D. Candidate and Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Nov. 24, 2018- Accepted: Jan. 15, 2019)

ABSTRACT

Cold stress as one of the major constraints on the growth and production of grapes creates huge economic damage to gardeners. Accordingly,the present study was conducted to evaluate the effects of salicylic acid on freezing tolerance in grapevine (*Vitis vinifera* cv. Shahani) as a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications. Factors in the first year included SA (0, 0.5 and 1 mM), the time of spraying (veraision, harvest, one month after harvest along with all the noted three times) and temperature (4, -15,-18 and -21°C) on cuttings that collected in January and March. Second year experiment based on the results of the first year and was included SA (0, 0.5 and 1.5 mM) in the stage of one month after harvest and temperature (4,-17,-19 and -21°C) on the cutting that collected in January and March. Based on the results of this study, which deduction the temperature to -21°C increased the peroxidation of membrane lipids in 2015 and 2016 and thus, increased EC, PCL and MAD after freezing stress. Also, some of the vegetative parameters of cuttings were reduced at -21°C, such as primary bud, secondary bud burst and recovery. The use of the SA 0.5 and 1 mM in the first year and 0.5 and 1.5 mM in the second experiment reduced EC, PCL and MAD and increased primary bud burst, secondary bud burst and recovery under freezing stress. Also, the results showed deduction the temperature to -21°C increased soluble carbohydrate, and phenolic compounds. Also, it was seen that SA 0.5 and 1 mM in 2015 and 0.5 and 1.5 mM in 2016 increased soluble carbohydrate, proline and phenolic compounds.

Keywords: Freezing stress, grapevine, morphological and physiological parameters, salicylic acid.

* Corresponding author E-mail: aebadi@ut.ac.ir

مقدمه

انگور یکی از محصولات مهم باغی جهان و ایران بوده و با دامنه وسیعی از اقلیم‌ها سازگار است و نقش مهمی در اقتصاد کشاورزی دنیا دارد (Atashkar & Ebadi, 1999). مطابق با آمار سازمان خواروبار جهانی[1] (۲۰۱۶) حدود ۷۰۹۶۷۴۱ هکتار در جهان به کشت انگور اختصاص یافته و با تولید سالانه بیش از ۷۷ میلیون تن، پس از موز و سیب در رده سوم قرار دارد. انگور به عنوان یکی از محصولات صادراتی ایران (عمدتا به صورت کشمش)، نقش عمده‌ای در ارزآوری و افزایش صادرات غیر نفتی دارد. کشور ایران با حدود ۳۱۶ هزار هکتار، از نظر سطح زیر کشت در رده هفتم و با حدود دو میلیون تن، از نظر تولید در رتبه نهم جهانی قرار دارد. استان فارس با حدود ۷۴ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید ۱۴/۶ درصد از کل تولید کشور در جایگاه نخست تولیدکنندگان انگور واقع شده است (دفتر آمار وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۵). رقم شاهانی یکی از رقم‌های مهم و تجاری انگور می‌باشد. این رقم از نظر تنوع مصرف بی‌نظیر بوده و علاوه بر مصرف تازه‌خوری، در صنایع تبدیلی نیز در تمام طول سال به صورت فرآورده‌هایی نظیر مویز، شیره، آب انگور، سرکه و غیره در دسترس است. انگور رقم شاهانی سیاه رنگ بوده و به‌دلیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فراوان از قبیل آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها از خواص دارویی بیشتری نسبت به سایر رقم‌ها برخوردار می‌باشد.

تغییرات شدید و کاهش ناگهانی دما، متاسفانه در برخی سال‌ها باعث بروز خسارات سنگین به باغات میوه کشور و زیان اقتصادی زیادی به بخش کشاورزی و منابع طبیعی می‌شود. هر ساله آمار قابل توجهی از خسارت ناشی از یخبندان‌های زمستانه، سرمای زودرس پاییزه و دیررس بهاره در محصولات مختلف باغی از جمله انگور از سوی سازمان جهاد کشاورزی استان‌های کشور گزارش می گردد و اقتصاد و چرخه تولید کشور را دچار اختلال می نماید که از آن جمله می توان به یخبندان زمستان سال ۱۳۸۶، سرمازدگی زودرس پاییزه سال ۱۳۹۵ و سرمازدگی دیررس بهاره سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۷ اشاره نمود. بنابر خبرگزاری علم و فناوری ایران، در پی وقوع سرما، برف و یخبندان سال ۱۳۹۵ بالغ بر ۱۱۶۷۷ میلیارد ریال به زیر بخش‌های مختلف کشاورزی به‌ویژه تولید محصول اساسی مرکبات در استان های شمالی کشور، خسارت وارد شد. همچنین خبرگزاری ایسنا گزارش نمود که طی سرمازدگی بهار ۹۷، خسارت‌های باغی بیشتر از خسارت‌های زراعی بوده است و خسارت‌های باغی متوجه باغ‌های سیب، انگور، درختان هسته‌دار و گردو بوده که درصد خسارت‌ها بین ۱۰ تا ۹۰ درصد برآورد شده است و برآورد تقریبی خسارت، ۱۲ هزار میلیارد تومان تخمین زده شده است.

انگور از جمله محصولاتی است که عملکرد آن در مواجه شدن با تنش سرما به شدت کاهش می‌یابد. به‌دلیل توزیع جغرافیایی نامناسب تاکستان‌ها در مناطق سردسیر، سطح زیادی از تاکستان‌های کشور در معرض خسارت ناشی از تنش یخزدگی قرار دارند (Shoor *et al*., 2009). اگر دمای هوا در مناطق کشت انگور به کمتر از حد تحمل برسد، بخش هوایی مورد آسیب قرار می‌گیرد. در سرمای شدیدتر ریشه هم آسیب می‌بیند و امکان رویش مجدد در فصل رشد بعد کاهش می‌یابد. مقاومت به سرما در انگور بسته به نوع گونه و رقم متفاوت می‌باشد، به‌طوری که تقریبا تمامی رقم‌های وینیفرا توانایی رشد در اقلیم‌های معتدله و نیمه‌خشک را دارند و تا حدودی به دمای یخزدگی زمستانه متحمل هستند. با سرد شدن تدریجی دما، رقم‌هایی از انگور وینیفرا دمای زمستان را تا منفی ۱۵ درجه سانتی‌گراد تحمل می‌کنند، درحالی‌که گونه‌های آسیایی و آمریکای شمالی دمای ۳۵ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر را تحمل می‌کنند (Fennell, 2004). Paul & Gamet (2008) میزان تحمل در جوانه ثالثیه انگور را بیشتر از جوانه ثانویه و در جوانه ثانویه بیشتر از جوانه اولیه برآورد کرده‌اند. بافت‌ها زمانی که رشد فعال دارند، تحمل اندکی به سرما نشان می‌دهند، به همین دلیل جوانه‌های گل در حالت خواب بیشترین مقاومت را داشته و با تورم جوانه، مقاومت افت می‌کند و در گل‌های باز شده به حداقل

1. Food and Agriculture Organization (FAO)

می‌رسد (Linden, 2002). سرمازدگی منجر به از هم پاشیدگی مواد پکتیکی در دیواره سلولی، جامدشدن بخش لیپیدی و ایجاد شکاف‌هایی در غشا و اختلال در فعالیت آنزیم‌های کنترل‌کننده ورود و خروج مواد از سلول می‌شود (Guy, 2003). بررسی غلظت مالون‌دی‌آلدهید بافت گیاهی می‌تواند بیانگر میزان تخریب غشاء سلولی باشد، زیرا این ترکیب تحت تأثیر پراکسیده‌شدن غشای سلولی آزاد می‌شود (Bhattacharjee & Mukherjee, 2002). اندازه‌گیری میزان نشت الکترولیتی نیز، تخمین خسارت بافت‌ها را امکان‌پذیر می‌کند. استفاده از این روش اولین بار توسط Dexter *et al*. (1932) برای بررسی مقاومت به سرما در گیاهان به‌کار برده شد. خسارت‌های مورفولوژیکی سرمازدگی در شاخه‌ها نیز مانند شاخص رشد مجدد (Bigras, 1997) می‌تواند در تعیین میزان مقاومت به سرما مورد ارزیابی قرار گیرد. گیاهان می‌توانند از طریق انباشتن برخی مواد تنظیم‌کننده اسمزی مانند اسید آمینه پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین‌ها مقاومت خود را به دمای پایین افزایش داده (Ashraf & Foolad, 2007) و از این طریق منجر به محافظت از غشای سلولی (Mahajan & Narendra, 2005)، کاهش تلفات آب و پایداری غشا شوند (Gusta *et al*., 2005).

با توجه به سازگاری و قابلیت‌هایی که در رقم‌های انگور وجود دارد، می‌توان با استفاده از عوامل مدیریتی حساسیت تاک‌ها را به آسیب‌های ناشی از سرما تحت تأثیر قرار داد. استفاده از رقم‌های مقاوم، بهبود وضعیت تغذیه و آبیاری، سیستم‌های تربیت مناسب، هرس صحیح، زمان مناسب برداشت محصول و همچنین استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از جمله روش‌هایی هستند که استفاده از آن‌ها در برنامه‌های مدیریتی تاکستان‌ها، از اهمیت زیادی برخوردار است (Zabadal *et al*., 2007). یکی از این تنظیم‌کننده‌های رشد، اسید سالیسیلیک است. به نظر می‌رسد که اسید سالیسیلیک در مقاومت به تنش سرما از طریق تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیسم پراکسیدهیدروژن، زمینه کاهش خسارت سرما و افزایش تحمل گیاه به سرما را فراهم می‌آورد. نقش حفاظتی اسید سالیسیلیک در برابر آسیب سرمایی در گیاهان مختلف مانند لیموآب (Baghbanha *et al*., 2007)، پسته (Sajjadian, 2011)، هلو (Cao *et al*., 2010)، انار (Sayyari *et al*., 2009)، زردآلو (Guo *et al*., 2007) و گردو (Khorramshahi, 2012) گزارش شده است. بررسی‌ها نشان داده است محلول‌پاشی قلمه‌های انگور با اسید سالیسیلیک باعث افزایش مقاومت به تنش‌های سرمایی و گرمایی از طریق کاهش پراکسیداسیون غشای سلول‌ها و کاهش نشت یونی شده است (Wang & Li, 2006). همچنین گزارش شده است اسید سالیسیلیک سبب افزایش مقاومت محورهای جنینی زیتون تلخ در برابر سرما گردیده است (Kaviani *et al*., 2005). این تنظیم‌کننده رشد، استحکام غشای سلولی موز را در برابر سرما بهبود بخشیده و منجر به کاهش میزان نشت یونی آن گردیده است (Kang *et al*., 2003). به نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک آنزیم‌های متابولیسم پرولین و متعاقب آن تجمع پرولین را نیز افزایش می‌دهد (Borsani *et al*., 2001). Luo *et al*. (2014) بیان نمودند که محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ و یک میلی‌مولار روی نشاهای گیاه اینکا اینچی[1] منجر به افزایش میزان پرولین و قندهای محلول گردید و به‌نظر می‌رسد از این طریق موجب بهبود تحمل به سرما در گیاهان تحت تنش گردید.

هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین اثر اسید سالیسیلیک بر افزایش تحمل یخزدگی در انگور بود که بدین منظور، پس از محلول‌پاشی در تابستان، قلمه‌های جمع‌آوری شده در زمستان تحت شرایط سرمای مصنوعی قرار گرفتند و سپس از طریق اندازه‌گیری برخی از شاخص‌های رویشی قلمه‌ها و همچنین اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نمونه‌های بافت جوانه تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند، میزان اثرگذاری اسید سالیسیلیک بررسی گردید.

1. *Plukenetia volubilis*

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک تاکستان تجاری، با سیستم داربستی از نوع هدایت عمودی شاخه‌ها (VSP)[1] واقع در شهرستان هشتگرد استان البرز، روی بوته‌های شش ساله رقم شاهانی در تابستان سال‌های ۱۳۹۴ (آزمایش سال اول) و ۱۳۹۵ (آزمایش سال دوم) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار (سه بوته در هر تکرار) اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی سال اول شامل اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و دما بود. اسید سالیسیلیک ($C_7H_6O_3$) با وزن مولکولی ۱۳۸/۲ گرم، محصول شرکت مرک آلمان) با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار (Baghbanha *et al*., 2007; Ershadi & Taheri, 2013, Luo *et al*., 2014)، در چهار زمان، مطابق با مراحل فنولوژیکی ایکورن و لورنز[2] در انگور (Coombe, 1995)، شامل مرحله رنگ‌گیری حبه‌ها، زمان برداشت، یک ماه پس از برداشت و مجموع هر سه زمان روی بوته‌های مورد نظر محلول‌پاشی شد. در ماه‌های دی و اسفند، از هر تیمار در تکرار، تعدادی قلمه از بخش میانی شاخه به قطر ۸-۶ میلی‌متر تهیه و داخل کیسه های پلاستیکی (به‌منظور حداقل نمودن نوسانات دمایی در سطح بافت‌ها) بسته‌بندی شدند. سپس تیمار سرمای مصنوعی در دماهای مورد نظر شامل ۴+، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد هر کدام به مدت هشت ساعت توسط دستگاه سرماساز (ساخت شرکت کیمیا رهاورد ایرانیان) (Linden *et al*., 2002) روی قلمه‌های جمع آوری شده اعمال شد (Balanian *et al*., 2015). روند کاهش دمای دستگاه، دو درجه سانتی‌گراد در ساعت بود تا به دمای مورد نظر برسد و پس از مدت معین سرمادهی، قلمه‌ها از دستگاه خارج شدند (Ghasemi Soloklui *et al*., 2012). آزمایش سال دوم بر اساس نتایج آزمایش سال اول طراحی شد و شامل تیمارهای اسید سالیسیلیک و دما بود. بدین منظور، محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک با غلظت‌های صفر، ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌مولار در مرحله یک‌ماه پس‌از برداشت انجام شد و سپس سرمادهی مصنوعی روی قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند (مطابق با سال اول) در دماهای ۴+، ۱۷-، ۱۹- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد به مدت هشت ساعت اعمال گردید.

در هر دو سال آزمایش پس از تیمار سرما، تعداد ۳۰ قلمه سه جوانه‌ای داخل شیشه‌های حاوی آب مقطر و در گلخانه با دمای حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Balanian *et al*., 2015). پس از مدت حدود ۳۵ روز، تعداد جوانه‌های رشد کرده و نوع جوانه سبز شده ثبت گردید. به این صورت که شاخه حاصل از جوانه اولیه قویتر بوده و قطر بیشتری داشته و در مرکز دیده می‌شود، در حالی که شاخه حاصل از جوانه ثانویه ضعیف‌تر بوده و دارای قطر کمتری است و در اطراف جوانه اولیه دیده می‌شود و در نهایت، درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه قلمه‌های تحت تنش محاسبه شد. قدرت بازیابی قلمه‌های سرمادیده نیز از طریق اندازه‌گیری طول شاخه رشدکرده برحسب سانتی‌متر تعیین گردید (Holubowicz *et al*., 1982).

شکل ۱. اندازه‌گیری درصد زنده‌مانی و قدرت بازیابی در قلمه‌های سرمادیده انگور رقم شاهانی

Figure 1. Measuerment of recovery percentage of grape cutting ‘Shahani’ under cold stress

1. Vertical Shoot Positioned
2. Eichorn-Lorenz

پس از اعمال تیمار سرما در هر دو سال آزمایش، جوانه‌های قلمه‌های هر تیمار از شاخه جدا گردیده و جوانه‌های هر تیمار با هم مخلوط شدند. کلیه اندازه‌گیری‌ها روی این جوانه‌ها انجام شد.

درصد نشت یونی جوانه‌های جداشده از قلمه‌های سرمادیده با روش Barranco *et al.* (2005) و با استفاده از رابطه (۱) اندازه‌گیری شد:

$$REL= EL_1/EL_2 \times 100 \quad (۱)$$

که در آن REL: درصد نشت یونی، EL_1: نشت یونی اولیه، EL_2: نشت یونی ثانویه می‌باشد.

یکی دیگر از شاخص‌ها در بررسی میزان آسیب سرمایی در جوانه‌ها، اندازه‌گیری میزان نشت فنولیک می‌باشد که توسط روش Viti & Bartolini (1998) و براساس رابطه (۲) تعیین گردید:

$$RPCL= PCL_1/PCL_2 \times 100 \quad (۲)$$

که در آن RPCL: درصد نشت فنول‌ها، PCL_1: نشت فنول اولیه، PCL_2: نشت فنول ثانویه است.

برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان محصول پراکسیده‌شدن اسیدهای چرب غشا به‌روش Heath & Packer (1968) در بافت جوانه انگور تهیه‌شده اندازه‌گیری و غلظت آن با استفاده از ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ بر حسب نانومول بر گرم بافت تازه و توسط رابطه (۳) تعیین شد:

$$MDA=(A_{532}-A_{600})/155\times 1000 \quad (۳)$$

که در آن MDA: غلظت مالون‌دی‌آلدهید (nM/gFW)، A_{600}: طول موج ۶۰۰ نانومتر، A_{532}: طول موج ۵۳۲ نانومتر است.

به‌منظور اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های بافت جوانه انگور تحت تیمار اسید سالیسیلیک و دماهای مختلف، پس از استخراج عصاره و افزودن معرف آنترون، میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Somogyi & Nelson, 1952).

برای اندازه‌گیری میزان پرولین محلول نمونه‌های بافت جوانه انگور مورد آزمایش از روش Bates *et al.* (1973) استفاده شد. به این منظور، پس از عصاره‌گیری و افزودن اسید استیک و محلول ناین هیدرین، میزان جذب نوری نمونه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی بافت جوانه انگور با استفاده از معرف فولین سیوکالتو و به‌وسیله جذب نوری نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر انجام گردید (Chow *et al.*, 2003).

تجزیه آماری نتایج توسط نرم‌افزار (IBM SPSS Statistics 22) SPSS، رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel و مقایسه میانگین داده‌ها با روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی سال اول

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱)، تیمار اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و سرما بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و همچنین قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۴ از نظر آماری اثر معنی‌داری داشت.

با توجه به جدول ۳، اثر متقابل کاربرد اسید سالیسیلیک در غلظت ها و زمان‌های مختلف منجر به افزایش درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه قلمه‌های انگور جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ گردید، به‌طوری‌که بیشترین درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه در تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و در زمان‌های برداشت و یک‌ماه پس از برداشت (۸۱ درصد) و محلول‌پاشی در هر سه زمان (۸۳ درصد) وجود داشت. نتایج محلول‌پاشی بین زمان‌های مذکور از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نداشتند، ولی با کاربرد اسید سالیسیلیک در زمان رنگ‌گیری حبه‌ها (۷۲ درصد) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد و در کل تیمارهای محلول‌پاشی‌شده با اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد (عدم کاربرد اسید سالیسیلیک) تفاوت معنی‌دار داشتند.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی تحت تنش سرمایی (۴، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد)، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴

Table 1. Variance analysis of effect of salicylic acid and time of spraying on primary and secondary bud burst (%) and recovery of grapevine cuttings (*Vitis vinifera* cv. Shahani) under cold stress (4, -15, -18, -21°C) collected in January and March, 2015

Source of variation	df	(MS)					
		Primary bud burst		Secondary bud burst		Recovery (Shoot length)	
		January	March	January	March	January	March
Replication	2	43.17 ^{ns}	203.60 ^{ns}	16.68 ^{ns}	1.43 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.68 ^{ns}
Dose	2	379.85**	3704.66**	15.99 ^{ns}	8.09*	8.74**	11.70**
Time***	3	107.18*	33.60 ^{ns}	24.15 ^{ns}	0.08 ^{ns}	2.05**	0.13 ^{ns}
Dose × Time	6	105.68**	115.27 ^{ns}	8.49 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.73 ^{ns}	0.43 ^{ns}
Temp	3	2741.72**	2776.90**	251.41**	8.96**	7.30**	16.64**
Dose × Temp	6	44.17 ^{ns}	54.55 ^{ns}	21.07 ^{ns}	0.52 ^{ns}	0.45 ^{ns}	0.11 ^{ns}
Time × Temp	9	12.63 ^{ns}	16.55 ^{ns}	5.85 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.34 ^{ns}	0.10 ^{ns}
Dose × Time × Temp	18	11.52 ^{ns}	21.94 ^{ns}	2.16 ^{ns}	0.17 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.08 ^{ns}
Error	72	24.45	56.32	20.24	1.91	0.36	0.18

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.
***: Time of spraying SA

بیشترین طول شاخه رشد کرده در قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ نیز در تیمار زمان‌های برداشت (۴/۷ سانتی‌متر)، یک‌ماه پس از برداشت (۴/۹ سانتی‌متر) و مجموع هر سه زمان (۴/۷ سانتی‌متر) وجود داشت که در مقایسه با زمان رنگ‌گیری حبه‌ها (۴/۳ سانتی‌متر) تفاوت معنی‌دار نشان دادند (جدول ۲).

برطبق نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴)، غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه (قلمه‌های اسفندماه ۱۳۹۴ برابر ۶۸/۳ درصد)، درصد سبزشدن نقطه رویشی ثانویه (قلمه‌های اسفندماه ۱۳۹۴ برابر ۴/۴) و قدرت بازیابی (طول شاخه رشدکرده در قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ به‌ترتیب برابر ۵ و ۴ سانتی‌متر) گردیده است. همان‌طورکه در جدول ۵ آورده شده است، با کاهش دما تا ۲۱- درجه سانتی‌گراد، درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه (قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ به‌ترتیب برابر ۶۹/۱ و ۵۰/۹ درصد) و درصد سبزشدن نقطه رویشی ثانویه (قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ به‌ترتیب برابر ۲/۹ و ۳/۶ درصد) و قدرت بازیابی (طول شاخه رشد کرده در قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ به‌ترتیب برابر ۴/۱ و ۳ سانتی‌متر) در مقایسه با نمونه‌های قرار گرفته در دمای ۴+ درجه سانتی‌گراد کاهش یافته است.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر زمان محلول‌پاشی بر قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴

Table 2. Mean comparison of spraying time on recovery of grapevine cuttings (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January, 2015

Time of spraying	Means (± SE)
	Recovery (shoot length) (cm)
	January 2015
Veraision	4.37 (±0.11)b
Harvest	4.70 (±0.12)a*
One month after harvest	4.94 (±0.15)a
Three Times	4.76 (±0.13)a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه قلمه‌های انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴

Table 3. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and time of spraying on primary bud burst (%) of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January, 2015

SA (mM)* Time of spraying	Means (± SE)
	Primary bud burst (%)
	January 2015
0 * veraision	75.14 (±2.12) b*
0 * harvest	77.04 (±2.82) b
0 * One month after harvest	72.04 (±2.70) b
0 * three Times	75.11 (±2.56) b
0.5 * veraision	78.02 (±2.41) ab
0.5 * harvest	80.64 (±3.28) a
0.5 * One month after harvest	81.88 (±2.86) a
0.5 * three Times	77.72 (±2.98) ab
1 * veraision	73.92 (±2.54) b
1 * harvest	81.10 (±2.20) a
1 * One month after harvest	81.40 (±3.14) a
1 * three Times	83.73 (±2.06) a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی تحت تنش سرما (۴، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی گراد)، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۴

Table 4. Mean comparison effect of salicylic acid on primary bud burst and secondary bud burst (%) and recovery of grapevine cutting (*Vitis vinifera* cv. Shahani) under cold stress (4, -15, -18, -21 °C) collected in January and March, 2015

SA (mM)	Means (± SE)			
	Primary bud burst (%)	Secondary bud burst (%)	Recovery (Shoot length) (cm)	
	March	March	January	March
0	51.52 (±1.38) c	3.75 (±0.06) b	4.22 (±0.09) b	3.19 (±0.08) b
0.5	64.22 (±1.52) b	4.50 (±0.22) a	4.81 (±0.10) a	4.01 (±0.11) a
1	68.38 (±1.83) a	4.42 (±0.20) a	5.05 (±0.12) a	4.08 (±0.11) a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر دما بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۴

Table 5. Mean comparison effect of temperature on primary bud burst and secondary bud burst (%) and recovery of grapevine cuttings (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2015

Temperature (°C)	Means (± SE)					
	Primary bud burst (%)		Secondary bud burst (%)		Recovery (Shoot length) (cm)	
	January	March	January	March	January	March
4	89.5 (±0.97)a	70.74 (±1.80)a	9.23 (±0.49)a	4.75 (±0.22)a	5.20 (±0.11)a	4.64 (±0.13)a
-15	79.6 (±0.91)b	66.04 (±1.67)b	6.70 (±0.55)ab	4.49 (±0.22)ab	4.91 (±0.13)b	3.89 (±0.08)b
-18	74.4 (±1.10)c	57.71 (±1.80)c	7.42 (±0.56)ab	4.02 (±0.17)bc	4.48 (±0.12)c	3.45 (±0.07)c
-21	69.1 (±0.87)d	50.93 (±1.89)d	2.94 (±0.64)b	3.63 (±0.18)c	4.18 (±0.10)d	3.05 (±0.09)d

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

صفات مورفولوژیکی سال دوم

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶) نشان داد تیمار اسید سالیسیلیک و سرما بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و همچنین قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ اثر معنی‌داری داشتند.

با توجه به نتایج شکل ۷، کاربرد اسید سالیسیلیک بر درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در اسفندماه ۱۳۹۵ اثر افزایشی داشت، به‌طوری که بیشترین میزان این شاخص در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۷۳/۴ درصد) در مقایسه با عدم کاربرد این هورمون (۶۲/۵ درصد) وجود داشت.

نتایج جدول ۸ نشان داد درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ تحت تأثیر تیمار سرما قرار گرفتند و با کاهش دما، روند نزولی داشتند، به‌طوری‌که کمترین میزان درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه (قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۵۲/۹ و ۴۵/۸ درصد)، درصد سبزشدن نقطه رویشی ثانویه (قلمه‌های اسفندماه ۱۳۹۵برابر ۳/۱ درصد) و قدرت بازیابی (قلمه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۳/۸ و ۳/۳ سانتی‌متر) در منفی‌ترین دما مشاهده شد.

برای تخمین اثرات طولانی‌مدت تنش یخزدگی می‌توان درصد زنده‌مانی و رشد مجدد گیاهان تحت تنش را اندازه‌گیری نمود (Bigras, 1997). درصد بالای جوانه‌های سبزشده بعد از سرمادهی مصنوعی، نشان‌دهنده توانایی یک رقم برای تحمل به دمای کم و معیاری قابل اعتماد برای مقایسه مقاومت به سرمای رقم‌ها است (Nzokou & Nikiema, 2008). همانطور که نتایج این پژوهش نشان داد، با افزایش دمای یخزدگی خسارت مورفولوژیکی در قلمه‌ها رخ داد و منجر به مرگ جوانه‌های اولیه و ثانویه قلمه‌های جمع آوری شده در ماه‌های دی و اسفند سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ تحت تنش یخزدگی گردید و قدرت بازیابی آن‌ها را کاهش داد. نتایج حاکی از آن بود که درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های تهیه‌شده در هر دو سال آزمایش که توسط اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی شده بودند نسبت به شاهد بیشتر بود. این نتایج با یافته‌های سایر محققین

مطابقت دارد، به‌طوری‌که Nejatyan (2012) در پژوهشی تأثیر سرما بر چند کلون انگور بی‌دانه را در شرایط سرمای طبیعی و مصنوعی بررسی نمود و نشان داد که با افزایش شدت سرمای مصنوعی میزان مرگ جوانه‌ها بیشتر بود. Karimi *et al.* (2014) نیز نشان دادند که در رقم‌های انگور حساس به سرما، تیمارهای دمایی ۱۴- درجه سانتی‌گراد و پایین‌تر، سبب خسارت شدید به جوانه‌ها شد و به اصطلاح جوانه‌ها کور ماندند و رشد جدید در آن‌ها حاصل نشد، درحالی‌که در رقم‌های مقاوم، تیمار دمایی ۱۸- درجه سانتی‌گراد موجب مرگ کامل همه جوانه‌ها شده و بازشدن جوانه‌ها مشاهده نشد. Kavoosi *et al.* (2012) نیز نتایج مشابهی گزارش نمودند. میزان رشد مجدد پس از برطرف شدن سرما در شاخه‌های کیوی (Chat, 1995) و انگور (Shoor *et al.*, 2009) مورد ارزیابی قرار گرفته است. از مهم‌ترین دلایل کاهش قدرت بازیابی تحت تنش یخزدگی را می‌توان به تخریب یاخته‌های پارانشیمی (Malone & Ashworth, 1991)، نشت الکترولیت‌ها (Pietsch *et al.*, 2009) و افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Inze & Van Montagu, 2002) نسبت داد.

جدول ۶. تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و تنش سرما بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 6. Variance analysis of effects of salicylic acid and cold stress on primary and secondary bud burst (%) and recovery of grapevine cuttings (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

Source of variation	df	(MS)					
		Primary bud burst		Secondary bud burst		Recovery (Shoot length)	
		January	March	January	January	March	January
Replication	2	23.75 ^{ns}	62.48 ^{ns}	25.60 ^{ns}	0.49 ^{ns}	4.20 ^{ns}	2.07 ^{ns}
Dose	2	155.52 ^{ns}	356.47*	3.62 ^{ns}	0.36 ^{ns}	2.57 ^{ns}	1.17 ^{ns}
Temp***	3	2586.50**	3064.97**	9.40 ^{ns}	1.05*	60.59**	27.88**
Dose× Temp	6	24.24 ^{ns}	48.55 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.42 ^{ns}	0.36 ^{ns}
Error	22	52.44	79.29	3.38	0.34	2.07	0.81

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.
***: Time of spraying SA

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر درصد سبزشدن نقطه رویشی اولیه قلمه‌های انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در اسفند ماه ۱۳۹۵

Table 7. Mean comparison effect of salicylic acid on primary bud burst (%) of grapevine cutting (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in March, 2016

SA (mM)	Means (± SE)
	Primary bud burst (%)
	March, 2016
0	62.55 (±6.67) a
0.5	68.11 (±5.19) ab
1.5	73.45 (±4.36) b

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثر دما بر درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 8. Mean comparison effect of temperature on primary bud burst and secondary bud burst (%) and recovery of grapevine cuttings (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

Temperature (°C)	Means (± SE)				
	Primary bud burst (%)		Secondary bud burst (%)	Recovery (Shoot length) (cm)	
	January	March	March	January	March
4	92.70 (±0.5) a	86.83 (±1.62) a	3.90 (±0.15) a	9.54 (±0.37) a	7.28 (±0.18) a
-17	80.05 (±2.7) b	78.97 (±3.11) a	3.54 (±0.22) ab	7.79 (±0.40) b	5.53 (±0.39) b
-19	68.07 (±3.1) c	60.51 (±3.09) b	3.28 (±0.12) b	5.06 (±0.34) c	3.88 (±0.28) c
-21	52.97 (±2.3) d	45.85 (±5.13) c	3.11 (±0.21) b	3.81 (±0.65) d	3.39 (±0.31) c

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

گزارش شده است که تیمار گیاهچه‌های خیار با اسید سالیسیلیک سبب بهبود رشد و بقاء آن‌ها در شرایط تنش دمای پایین شده است (Lee & Hong, 2002) که با نتایج آزمایش کنونی هم‌خوانی دارد. با توجه به نتایج، بین زمان‌های محلول‌پاشی در مرحله رنگ‌گیری حبه‌ها با زمان‌های برداشت، یک ماه پس از برداشت و مجموع سه زمان، از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود داشت. این تفاوت ممکن است به این دلیل باشد که رنگ‌گیری حبه ها در مردادماه رخ داده است و در این زمان، گیاه در شرایط طبیعی بسر برده و نیازی به فعال‌سازی ژن‌های مقاومت به سرما نبوده است و کاربرد اسید سالیسیلیک اثرگذاری کمتری نسبت به محلول‌پاشی در زمان‌های دیرتر داشته و هرچه گیاه به زمان خزان نزدیک‌تر شده است، پاسخ بیشتری به کاربرد اسید سالیسیلیک نشان داده است. در این رابطه، گزارشی مشاهده نشده است و هنوز اطلاعاتی در این مورد وجود ندارد و نیاز به بررسی‌های بیشتر می‌باشد. Araqi *et al.* (2011) نیز بیان کردند که رشد مجدد قلمه‌های انگور در دمای ۱۶- درجه سانتی‌گراد نسبت به ۲۵- درجه سانتی‌گراد، بسته به رقم و زمان قلمه‌گیری ۲۰ تا ۳۰ درصد و دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد ۶۰ تا ۸۵ درصد کاهش نشان داد. همچنین در دمای ۲۲- درجه سانتی‌گراد نمونه‌های تهیه‌شده از رقم یاقوتی در اواخر زمستان، دارای کمترین مقدار رشد مجدد و حدود ۱۲ درصد بودند. این در حالی بود که بیشترین مقدار رشد مجدد مربوط به رقم کشمشی قرمز در اواسط زمستان بود. بنابراین با توجه به اثر رقم و زمان قلمه‌گیری، رشد مجدد قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در اواسط و اواخر زمستان متفاوت می‌باشد که البته این نتایج در آزمایش حاضر نیز مشهود بود و قلمه‌های جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه که تحت تنش یخزدگی بودند، کمتر تحت تأثیر تنش قرار گرفتند و نسبت به قلمه‌های تهیه‌شده در اسفندماه صدمه کمتری دیده و قدرت بازیابی بیشتری نشان دادند، که ممکن است به این دلیل باشد که جوانه‌ها در اواسط زمستان در رکود کامل به سر می‌برند و دارای مکانیسم‌های مقاومت به سرما بوده و آسیب کمتری می‌بینند، در حالی که در اواخر زمستان وارد مرحله پس‌خوگیری شده و نسبت به سرما حساس‌تر بوده و در نتیجه تحت تنش، دچار صدمه بیشتری می‌شوند.

شاخص‌های فیزیولوژیکی سال اول

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۹) نشان داد تیمار اسید سالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی از نظر آماری اثر معنی‌داری بر درصد نشت یونی، درصد نشت فنولیک و میزان مالون‌دی‌آلدهید پس از اعمال تنش سرمادهی مصنوعی در نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۴ داشتند

نتایج جدول ۱۰ نشان می‌دهد که درصد نشت یونی و میزان مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های جوانه تهیه شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ تحت اثر متقابل اسید سالیسیلیک و زمان کاربرد آن قرار گرفتند. همچنین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و دما بر میزان نشت یونی نمونه‌های دی‌ماه ۱۳۹۴ و غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های دی و اسفندماه ۱۳۹۴ معنی‌دار شده است. با توجه به نتایج، با کاهش دما، میزان صدمه به غشا افزایش یافت و درصد نشت یون‌ها و غلظت مالون‌دی‌آلدهید روند صعودی داشت و با کاربرد اسیدسالیسیلیک مقدار دو صفت مذکور روند نزولی نشان دادند. بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدهید در تیمار ۲۱- درجه سانتی گراد و عدم کاربرد اسید سالیسیلیک (۰/۸۶ نانومول بر گرم وزن تازه) و کمترین میزان آن در تیمار ۴+ درجه سانتی گراد و غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۰/۲۲ نانومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد. کاربرد اسید سالیسیلیک در زمان رنگ‌گیری حبه‌ها در میزان نشت یونی و مالون‌دی‌آلدهید اثرگذاری کمتری داشت و در این زمان نسبت به محلول‌پاشی در زمان‌های برداشت، یک‌ماه پس از برداشت و مجموع سه زمان، درصد نشت یونی و میزان مالون‌دی‌آلدهید بیشتری در نمونه‌های جوانه تهیه شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ مشاهده شد. همانطور که در نتایج جدول ۱۱ نشان داده شده است، درصد نشت فنولیک در نمونه‌های جوانه تهیه شده در اسفندماه ۱۳۹۴ تحت اثر زمان‌های مختلف محلول‌پاشی قرار گرفت و کمترین میزان آن در زمان یک ماه پس از برداشت (۵۴/۵ درصد) و مجموع هر سه زمان (۵۵/۳ درصد) مشاهده شد که با محلول‌پاشی در مرحله رنگ‌گیری حبه‌ها (۵۹/۳ درصد)

تفاوت معنی‌دار نشان داد. نتایج جدول ۱۲ نشان می‌دهد که کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک اثرگذار بود و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار آن منجر به کاهش میزان نشت یونی در نمونه‌های اسفندماه ۱۳۹۴ (۳۵/۴ درصد) و غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث کاهش درصد نشت فنولیک در نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ (به‌ترتیب برابر ۲۳/۸ و ۵۱/۶ درصد) در مقایسه با عدم کاربرد آن گردید. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۱۳) گویای این مطلب است که درصد نشت فنولیک تحت اثر دماهای منفی روند افزایشی داشتند و بیشترین میزان نشت فنولیک در تیمار ۲۱- درجه سانتی گراد در نمونه‌های بافت جوانه تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴ (به‌ترتیب برابر ۳۱/۶ و ۷۲/۶ درصد) مشاهده شد.

شاخص‌های فیزیولوژیکی سال دوم

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱۴) نشان داد تیمار اسید سالیسیلیک و سرما اثر معنی‌داری بر درصد نشت یونی، درصد نشت فنولیک و میزان مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵ داشتند.

جدول ۹. تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک و غلظت مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تحت تنش سرما (۴، ۱۵، ۱۸-و ۲۱-درجه سانتی‌گراد)، تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴

Table 9. Variance analysis effect of salicylic acid and time of spraying on EC, PCL and MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) under cold stress (4, -15, -18, -21 °C) collected in January and March, 2015

Source of variation	df	(MS)					
		EL		PCL		MDA	
		January	March	January	March	January	March
Replication	2	29.77 ^{ns}	819.71 ^{ns}	0.06 ^{ns}	21.60 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.006 ^{ns}
Dose	2	1103.73**	1469.37*	601.33**	1610.83**	6.12**	0.844**
Time***	3	58.74 ^{ns}	389.90 ^{ns}	22.79 ^{ns}	163.34*	0.50*	0.011 ^{ns}
Dose × Time	6	115.12**	316.01 ^{ns}	41.43 ^{ns}	34.06 ^{ns}	0.25*	0.003 ^{ns}
Temp	3	4298.60**	1099.77 ^{ns}	754.42**	5628.89**	13.08**	1.175**
Dose × Temp	6	100.69**	778.70 ^{ns}	41.57 ^{ns}	48.87 ^{ns}	0.28**	0.029**
Time × Temp	9	17.39 ^{ns}	489.25 ^{ns}	8.63 ^{ns}	32.28 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.003 ^{ns}
Dose × Time × Temp	18	16.64 ^{ns}	479.55 ^{ns}	6.50 ^{ns}	10.57 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.001 ^{ns}
Error	72	29.33	503.95	22.27	41.51	0.05	0.007

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

EL: نشت یونی، PCL: نشت فنولی، MDA: مالون دی آلدهید

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.
***: Time of spraying SA
EL: Electrolyte leakage, PCL:Phenolic leakage, MDA :Malone dialdehyde

جدول ۱۰. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و دما بر درصد نشت یونی و غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ (الف) و اسفندماه ۱۳۹۴ (ب)

Table 10. Mean comparison interaction effect of salicylic acid, time of spraying and temperature on EC and MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January, 2015 (A) and March, 2015 (B)

SA * Temperature (mM * °C)	Means (± SE)		
	EC (%)	MAD (nM/gFW)	MAD (nM/gFW)
	January 2015	January 2015	March 2015
0 * 4	34.99 (±0.39) e	1.63 (±0.04) e	0.36 (±0.010) d
0 * -15	46.44 (±0.73) cd	2.39 (±0.02) c	0.61 (±0.012) b
0 * -18	54.18 (±0.40) b	2.96 (±0.03) b	0.78 (±0.013) ab
0 * -21	66.62 (±1.30) a	3.39 (±0.03) a	0.86 (±0.011) a
0.5 * 4	28.14 (±2.03) f	1.29 (±0.07) f	0.28 (±0.025) e
0.5 * -15	40.93 (±2.03) d	2.03 (±0.06) d	0.39 (±0.030) d
0.5 * -18	47.26 (±1.91) cd	2.34 (±0.08) c	0.51 (±0.024) c
0.5 * -21	54.99 (±1.59) b	2.44 (±0.08) c	0.69 (±0.031) b
1 * 4	30.60 (±2.05) ef	1.21 (±0.14) f	0.22 (±0.010) e
1 * -15	41.50 (±1.77) d	1.86 (±0.10) d	0.35 (±0.030) d
1 * -18	45.15 (±2.11) cd	2.24 (±0.06) c	0.43 (±0.021) cd
1 * -21	50.02 (±1.43) c	2.42 (±0.11) c	0.59 (±0.036) c

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

EL: نشت یونی، MDA: مالون دی آلدهید

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.
EL: Electrolyte leakage, MDA: Malone dialdehyde

ادامه جدول ۱۰. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و دما بر درصد نشت یونی و غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ (الف) و اسفندماه ۱۳۹۴ (ب)

Continued table 10. Mean comparison interaction effect of salicylic acid, time of spraying and temperature on EC and MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January, 2015 (A) and March, 2015 (B)

SA (mM)* Time of spraying	Means (± SE)	
	EC (%)	MAD (nM/gFW)
	January 2015	January 2015
0 * veraision	48.77 (±2.90) ab	2.60 (±0.18) a
0 * harvest	50.55 (±4.11) a	2.61 (±0.18) a
0 * One month after harvest	51.91 (±3.26) a	2.60 (±0.23) a
0 * three Times	51.11 (±3.81) a	2.57 (±0.20) a
0.5 * veraision	44.86 (±2.81) b	2.20 (±0.14) b
0.5 * harvest	43.31 (±3.86) b	2.03 (±0.15) bc
0.5 * One month after harvest	38.70 (±3.29) c	1.84 (±0.13) c
0.5 * three Times	44.46 (±3.69) b	2.05 (±0.15) bc
1 * veraision	47.06 (±2.81) ab	2.27 (±0.17) b
1 * harvest	40.93 (±2.28) bc	1.88 (±0.15) c
1 * One month after harvest	41.23 (±3.10) bc	1.93 (±0.18) bc
1 * three Times	38.05 (±2.38) c	1.66 (±0.14) c

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

EL: Electrolyte leakage, MDA: Malone dialdehyde EL: نشت یونی، PCL، MDA: مالون دی آلدهید.

جدول ۱۱. مقایسه میانگین اثر زمان محلول پاشی بر درصد نشت فنولیک نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در اسفندماه ۱۳۹۴

Table 11. Mean comparison effect of time of spraying on PCL (%) of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in March, 2015

Time of spraying	Means (± SE)
	PCL (%)
	March 2015
Veraision	59.36 (±2.22)a
Harvest	56.90 (±2.40)ab
One month after harvest	54.52 (±2.11)b
Three Times	55.35 (±2.13)b

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

PCL: Phenolic leakage PCL: نشت فنولی

جدول ۱۲. مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۴

Table 12. Means of effects of Salicylic acid on EC and PCL of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2015

SA (mM)	Means (± SE)		
	EC (%)	PCL (%)	
	March 2015	January 2015	March 2015
0	46.23 (±1.36) a	30.37 (±0.81) a	62.93 (±1.87) a
0.5	35.47 (±1.07) b	24.78 (±0.96) b	55.02 (±1.93) b
1	38.59 (±2.32) ab	23.81 (±0.82) b	51.64 (±1.60) c

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

EL: Electrolyte leakage, PCL: Phenolic leakage EL: نشت یونی، PCL: نشت فنولی

جدول ۱۳. مقایسه میانگین اثر دما بر درصد نشت فنولیک نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴

Table 13. Mean comparison effect of temperature on PCL of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January 2015

Temperature (°C)	Means (± SE)	
	PCL (%)	
	January 2015	March 2015
4	20.86 (±1.02) d	44.74 (±0.93) d
-15	24.84 (±0.77) c	48.79 (±1.01) c
-18	27.96 (±0.70) b	60.03 (±1.45) b
-21	31.62 (±1.02) a	72.60 (±1.65) a

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

PCL: Phenolic leakage PCL: نشت فنولی

جدول ۱۴. تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و سرما بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک و غلظت مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 14. Variance analysis of effect of salicylic acid and cold on EC, PCL and MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

Source	df	EL		PCL		MDA	
		January	March	January	March	January	March
Replication	2	9.46 ^{ns}	57.68 ^{ns}	11.27 ^{ns}	90.61 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.011 ^{ns}
Dose	2	275.52**	147.79**	509.12**	234.80**	0.373**	0.012 ^{ns}
Temp***	3	852.04**	324.38**	166.56*	216.27**	4.316**	0.015*
Dose × Temp	6	15.19 ^{ns}	22.04 ^{ns}	30.30 ^{ns}	26.61 ^{ns}	0.040**	0.002 ^{ns}
Error	22	17.59	18.92	51.58	15.44	0.007	0.004

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

EL: نشت یونی، PCL: نشت فنولی، MDA: مالون دی آلدهید

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.
***: Time of spraying SA
EL: Electrolyte leakage, PCL: Phenolic leakage, MDA: Malone dialdehyde

براساس نتایج جدول ۱۵، میزان مالون‌دی‌آلدهید در بافت جوانه تهیه‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۵ تحت اثر متقابل دما و اسید سالیسیلیک قرار گرفت. با کاهش دما میزان این صفت روند صعودی داشت و کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید گردید. به‌طوری در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد و غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۱/۷ نانومول بر گرم وزن تازه) میزان مالون‌دی‌آلدهید کمتری در مقایسه با تیمار ۲۱- درجه سانتی گراد و غلظت ۰/۵ میلی‌مولار (۲/۲ نانومول بر گرم وزن تازه) و همچنین عدم کاربرد اسید سالیسیلیک (۲/۳ نانومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد.

نتایج جدول ۱۶ نشان می‌دهد کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک اثرگذار بود و کمترین میزان نشت یونی (نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۴۱/۶ و ۴۴/۱ درصد) و درصد نشت فنولیک (نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۳۹/۲ و ۴۵/۹ درصد) در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده گردید. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۱۷) گویای این مطلب است که درصد نشت یونی و نشت فنولیک و همچنین غلظت مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ تحت اثر دماهای منفی، روند افزایشی داشتند، به‌طوری‌که در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد بیشترین درصد نشت یونی (نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۵۶/۱ و ۵۴/۵ درصد)، درصد نشت فنولیک (نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۴۹/۹ و ۵۷/۳ درصد) و غلظت مالون‌دی‌آلدهید (نمونه‌های اسفندماه ۱۳۹۵ برابر ۰/۵۷ نانومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد.

نشت الکترولیتی یاخته‌ها که در اثر تخریب غشای یاخته‌ای و مختل شدن انتقال مواد در آن اتفاق می‌افتد، در اثر تیمار یخزدگی افزایش می یابد (Bittenbender & Howell, 1974) و همواره به عنوان یکی از بهترین شاخص‌های میزان زیوایی و بقای بافت‌های زنده گیاهی در اثر تنش‌های محیطی مطرح است (Barka & Audran, 1977).

همان‌گونه که در نتایج پژوهش کنونی مشاهده شد تیمار یخزدگی باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در نمونه‌های بافت جوانه انگور تحت آزمایش گردید و در نتیجه منجر به افزایش درصد نشت یونی، نشت فنولیک و میزان مالون‌دی‌آلدهید شد که با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد. ارزیابی مقاومت به سرما به‌وسیله اندازه‌گیری نشت الکترولیتی در بسیاری از گونه‌های چوبی نظیر زیتون (Gomezdel Campo & Barranco, 2005)، انگور (Ershadi & Taheri, 2013) و بادام (Yousefi, 2008) گزارش شده است. Lawes *et al.* (1995) ضمن بررسی اثر دمای یخزدگی بر جوانه و قلمه ساقه کیوی، بیان کردند که در بسیاری از رقم‌های کیوی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد میزان نشت الکترولیتی و قهوه‌ای شدن پوست به بیشترین مقدار خود رسید.

جدول ۱۵. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و دما بر میزان مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های بافت جوانه انگوررقم شاهانی، دی‌ماه ۱۳۹۵

Table 15. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and temperature on MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January 2016

SA * Temperature (mM * °C)	Means (± SE)
	MAD (nM/gfw)
	January 2016
0 * 4	0.52 (±0.025) f
0 * -17	1.10 (±0.050) d
0 * -19	1.51 (±0.049) c
0 * -21	2.33 (±0.035) a
0.5 * 4	0.49 (±0.013) f
0.5 * -17	0.90 (±0.048) de
0.5 * -19	1.33 (±0.063) cd
0.5 * -21	2.26 (±0.188) a
1.5 * 4	0.47 (±0.051) f
1.5 * -17	0.73 (±0.019) e
1.5 * -19	1.09 (±0.055) d
1.5 * -21	1.78 (±0.085) b

* ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند. * Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

MDA: مالون دی آلدهید MDA: Malone dialdehyde

جدول ۱۶. مقایسه میانگین اثر اسید سالیسیلیک بر درصد نشت یونی و نشت فنولیک نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 16. Mean comparison effect of salicylic acid on EC and PCL of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

SA (mM)	Means (± SE)			
	EC (%)		PCL (%)	
	January 2016	March 2016	January 2016	March 2016
0	51.25 (±3.2) a	50.58 (±2.8) a	52.24 (±2.3) a	54.62 (±2.1) a
0.5	46.42 (±2.7) b	45.01 (±1.7) b	45.26 (±2.2) b	51.55 (±1.8) a
1.5	41.67 (±2.2) c	44.10 (±1.2) b	39.23 (±1.9) b	45.90 (±1.9) b

* ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند. * Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

EL: نشت یونی، PCL: نشت فنولی EL: Electrolyte leakage, PCL: Phenolic leakage

جدول ۱۷. مقایسه میانگین اثر دما بر درصد نشت یونی، نشت فنولیک و غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌های جوانه جمع آوری شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 17. Means comparison effect of temperature on EC, PCL and MAD of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

Temperature (°C)	Means (± SE)				
	EC (%)		PCL (%)		MAD (nM/gfw)
	January 2016	March 2016	January 2016	March 2016	March 2016
4	35.35 (±1.2) c	40.13 (±0.6) c	40.97 (±2.8) b	45.75 (±1.3) c	0.49 (±0.013) b
-17	41.42 (±1.6) b	44.97 (±0.7) b	42.93 (±1.9) ab	48.77 (±1.7) bc	0.50 (±0.015) ab
-19	52.85 (±2.3) a	46.58 (±2.3) b	48.51 (±3.5) a	50.93 (±2.7) b	0.57 (±0.036) a
-21	56.17 (±2.1) a	54.57 (±2.6) a	49.90 (±2.9) a	57.32 (±2.6) a	0.57 (±0.020) a

* ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند. * Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

EL: نشت یونی، PCL: نشت فنولی، MDA: مالون دی آلدهید EL: Electrolyte leakage, PCL: Phenolic leakage, MDA: Malone dialdehyde

یکی دیگر از اثرات تنش سرما و پراکسیداسیون چربی‌های غشا، تولید مالون‌دی‌آلدهید می‌باشد (Kampos *et al.*, 2003). با تغییر در ساختار غشا و پروتئین‌ها و افزایش مواد محلول سمی، نفوذ پذیری و انعطاف پذیری غشا افزایش یافته و خروج یون‌ها از غشا و در نتیجه ایجاد خسارت به گیاهان تسریع می‌شود (Bowers, 1994). Karimi *et al.* (2014) طی بررسی دمای یخزدگی بر غلظت مالون‌دی‌آلدهید در شش رقم انگور، گزارش نمودند که پراکسیداسیون غشا در همه رقم‌ها همراه با کاهش دما از آبان تا دی روند افزایشی داشت و در دی‌ماه همزمان با کاهش شدید دمای محیط به حداکثر خود رسید. در اسفند با افزایش دما، تولید مالون‌دی‌آلدهید روند کاهشی داشت و در اواخر فروردین به کمترین حد ممکن رسید. روند تغییرات فصلی تولید مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان چوبی خزان دار بررسی نشده است (Karimi *et al.*, 2014)، ولی در مرکبات نتایج مشابهی گزارش شده است (Santini *et al.*, 2013). آزمون نشت فنولیک

یکی از مناسب‌ترین فرآیندهای آزمایشی جهت ارزیابی انسجام ساختار غشاء سلولی جوانه‌ها می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایش حاضر در مورد افزایش درصد نشت فنولیک توسط تیمار یخ زدگی مصنوعی با نتایج Viti *et al.* (2010) همخوانی داشت، به‌طوری که ایشان به‌منظور ارزیابی رقم‌های زردآلو در دمای ۴- درجه سانتی‌گراد از نظر میزان تحمل به یخبندان، درصد نشت فنولیک آن‌ها را در مرحله رکود جوانه و در مراحل فنولوژیکی قبل از شکوفایی گل بررسی نمودند و بیان کردند که میزان آن در جوانه‌های زردآلو در زمان رکود معنی‌دار نبود و آسیبی به جوانه‌های زایشی وارد نکرد، ولی در اوایل بهار با پیشرفت مراحل نموی و در زمان تورم جوانه‌ها، دارای تفاوت معنی‌دار بوده و این صفت افزایش نشان داد و رقم‌ها را از نظر حساسیت به یخبندان به سه گروه حساس، متحمل و بسیار متحمل تقسیم بندی نمود. نتایج پژوهش حاضر نشان داد کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به کاهش صدمه تنش یخزدگی به غشای سلولی گردید و در نتیجه درصد نشت یونی، نشت فنولیک و میزان مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌های بافت جوانه تهیه‌شده کاهش نشان داد. به‌نظر می‌رسد اسید سالیسیلیک با فعال کردن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باعث کاهش مقادیر مالون‌دی‌آلدهید حاصل از تخریب غشا می‌گردد (Babalar *et al.*, 2007). گزارش شده است که محلول‌پاشی قلمه‌های انگور با اسید سالیسیلیک میزان نشت الکترولیتی و مواد واکنشی با تیوبیتوریک اسید[1] را تحت شرایط تنش دمای پایین کاهش می‌دهد و به‌طور نسبی فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی اکسیدان مثل آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و مونودهیدروآسکوربات[2] را تحت شرایط تنش سبب می‌شود (Wang & Li, 2006). Guo *et al.* (2007) نیز بیان نمودند کاربرد خارجی ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک روی جوانه‌های گل زردآلو باعث کاهش نشت یونی و محتوای مالون‌دی‌آلدهید در شرایط تنش یخزدگی شد. Nekunam *et al.* (2014) گزارش کردند غلظت‌های یک و سه میلی‌مولار اسید سالیسیلیک باعث کاهش معنی‌دار نشت یونی، نشت مواد فنولی و آسیب ظاهری جوانه‌ها در رقم‌های زردآلو شده است و بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، اسید سالیسیلیک با غلظت سه میلی‌مولار تأثیر بیشتری در کاهش این صفات داشت. نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های ذکرشده مطابقت دارد.

شاخص‌های بیوشیمیایی سال اول

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱۸)، اثر تیمار اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و سرما بر میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ از نظر آماری معنی‌دار بود.

همان‌طورکه در جدول ۲۰ نشان داده شده، میزان کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ تحت اثر متقابل اسید سالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی قرار گرفت، به‌طوری‌که بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک در زمان‌های برداشت (۳۷/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تازه)، یک ماه پس از برداشت (۳۸/۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و مجموع هر سه زمان (۳۷/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) وجود داشت که البته در همین غلظت با زمان رنگ‌گیری حبه‌ها (۳۱/۵ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) تفاوت معنی‌داری نشان داد، ولی در کل نسبت به تیمار شاهد (۱۹ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) تفاوت معنی‌دار داشتند. اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک، زمان محلول‌پاشی و سرما بر میزان پرولین نمونه‌های دی‌ماه معنی‌دار بود. کاهش دما منجر به افزایش میزان پرولین شد و کاربرد اسید سالیسیلیک نیز منجر به تشدید این اثر گردید، به‌طوری که بیشترین میزان پرولین در تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، در دمای ۲۱- درجه سانتی‌گراد و زمان‌های برداشت (۵۰۶/۲ میکرومول بر گرم وزن تازه) و مجموع سه زمان (۵۱۹/۱ میکرومول بر گرم وزن تازه) وجود داشت (شکل ۲). بر اساس مقایسه میانگین (جدول ۱۹) تیمار اسید سالیسیلیک و دماهای مختلف بر میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های جوانه تهیه شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ اثرگذار بود، به‌طوری‌که در دماهای

1. TBA
2. MDHA

منفی میزان صفت مذکور افزایش نشان داد و تیمار اسید سالیسیلیک نیز منجر به افزایش میزان ترکیبات فنولی گردید، به‌طوری‌که بیشترین میزان ترکیبات فنولی در تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و دماهای ۱۸- درجه سانتی‌گراد (۳۸/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و ۲۱- درجه سانتی گراد (۳۸/۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) در مقایسه با تیمار ۴+ درجه سانتی‌گراد و عدم کاربرد این هورمون (۲۶/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) مشاهده شد. نتایج جدول ۱۹ نشان‌دهنده اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و دماهای مختلف بر میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های جوانه انگور تهیه‌شده در اسفندماه ۱۳۹۴ می‌باشد که بر این اساس، کاهش دما اثر افزایشی بر میزان ویژگی‌های مذکور داشت و کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت یک میلی‌مولار نیز منجر به افزایش روند صعودی میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول گردید. بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول در نمونه‌های اسفندماه در تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و دمای ۲۱- درجه سانتی گراد (۶/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و بیشترین میزان پرولین در نمونه‌های اسفندماه نیز در تیمار یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و دماهای ۱۸- درجه سانتی‌گراد (۴۱/۹ میکرومول بر گرم وزن تازه) و ۲۱- درجه سانتی‌گراد (۴۵/۱ میکرومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد. میزان ترکیبات فنولی در نمونه‌های جوانه تهیه‌شده در اسفندماه تحت اثر زمان محلول‌پاشی قرار گرفت و میزان آن در زمان‌های برداشت (۲۲/۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه)، یک‌ماه پس از برداشت (۲۲/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و مجموع سه زمان (۲۲/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) در مقایسه با مرحله رنگ‌گیری حبه‌ها (۲۱/۵ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) تفاوت معنی‌دار نشان داد. نتایج جدول ۲۲ نشان داد غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک منجر به افزایش ترکیبات فنولی (۲۵/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) نمونه‌های بافت جوانه تهیه‌شده در اسفندماه ۱۳۹۴در مقایسه با شاهد (۱۸/۹ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) شد. همانطور که در جدول مقایسه میانگین (جدول ۲۳) نشان داده شده است، تیمار ۲۱- درجه سانتی گراد منجر به افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های بافت جوانه تهیه شده در دی‌ماه ۱۳۹۴ (۳۳/۲ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و مقدار ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه تهیه شده در اسفندماه ۱۳۹۴ (۲۵/۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) گردید.

شاخص‌های بیوشیمیایی سال دوم

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲۴) نشان می‌دهد که تیمار اسید سالیسیلیک و سرما بر میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ از نظر آماری اثر معنی‌داری داشتند.

جدول ۱۸. تجزیه واریانس اثر اسیدسالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تحت تنش سرما (۴، ۱۵-، ۱۸- و ۲۱- درجه سانتی‌گراد)، ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۴

Table 18. Variance analysis of effect of salicylic acid and time of spraying on soluble carbohydrates, proline and phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) under cold stress (4, -15, -18, -21 °C) collected in January and March, 2015

Source of variation	df	(MS)					
		Solution carbohydrate		Proline		Phenolic compounds	
		January	March	January	March	January	March
Replication	2	17.46 ^{ns}	0.27 ^{ns}	2444.35 ^{ns}	5.55 ^{ns}	24.50 ^{ns}	3.81 ^{ns}
Dose	2	3554.35**	52.84**	55968.73**	2021.48**	216.01**	511.76**
Time***	3	128.02**	1.46 ^{ns}	12469.91**	50.32 ^{ns}	32.28 ^{ns}	14.26**
Dose × Time	6	44.34**	0.23 ^{ns}	9677.43**	2.16 ^{ns}	60.51 ^{ns}	1.38 ^{ns}
Temp	3	406.75**	96.17**	446609.23**	2871.28**	647.89**	257.52**
Dose × Temp	6	13.34 ^{ns}	2.86**	7186.61**	92.24**	37.99*	2.37 ^{ns}
Time × Temp	9	5.26 ^{ns}	0.22 ^{ns}	3130.04**	8.97 ^{ns}	9.52 ^{ns}	0.88 ^{ns}
Dose × Time × Temp	18	13.30 ^{ns}	0.12 ^{ns}	3114.56**	8.50 ^{ns}	22.29 ^{ns}	0.60 ^{ns}
Error	72	7.84	0.26	705.45	16.98	14.89	2.14

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

***: Time of spraying SA

جدول ۱۹. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و دما بر میزان پرولین، کربوهیدرات های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، دی‌ماه و اسفندماه ۱۳۹۴

Table 19. Mean comparison interaction effect of salicylic acid and temperature on proline, soluble carbohydrates and phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2015

SA * Temperature (mM * °C)	Means (± SE)		
	Phenolic compounds (mg/gFW)	Solution carbohydrate (mg/gFW)	Proline (µM/gFW)
	January 2015	March 2015	March 2015
0 * 4	26.33 (±0.72) c	0.65 (±0.01) g	15.18 (±0.38) e
0 * -15	28.74 (±0.75) bc	2.27 (±0.04) e	20.26 (±0.34) d
0 * -18	31.66 (±0.60) b	2.60 (±0.04) e	27.83 (±0.47) c
0 * -21	35.34 (±1.16) ab	3.36 (±0.08) d	28.02 (±0.54) c
0.5 * 4	26.36 (±0.72) c	1.31 (±0.12) f	18.57 (±1.27) de
0.5 * -15	34.15 (±1.34) ab	3.67 (±0.11) d	26.82 (±2.43) c
0.5 * -18	33.74 (±0.89) b	3.76 (±0.15) d	39.04 (±1.27) ab
0.5 * -21	35.26 (±1.79) ab	5.42 (±0.26) b	39.83 (±1.63) ab
1 * 4	27.09 (±0.98) c	1.59 (±0.14) f	21.40 (±0.66) d
1 * -15	35.03 (±1.21) ab	4.39 (±0.26) c	35.41 (±0.62) b
1 * -18	38.64 (±1.97) a	4.54 (±0.17) c	41.97 (±0.90) a
1 * -21	38.26 (±2.12) a	6.66 (±0.17) a	45.11 (±1.37) a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۲۰. مقایسه میانگین اثر متقابل اسیدسالیسیلیک و زمان محلول‌پاشی بر کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی جمع‌آوری‌شده در دی‌ماه ۱۳۹۴

Table 20. Mean comparison interaction effect of salicylic acid on soluble carbohydrates of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January, 2015

SA (mM)* Time of spraying	Means (± SE)
	Solution carbohydrate (mg/gFW)
	January 2015
0 * veraision	19.00 (±0.48) e
0 * harvest	19.09 (±0.52) e
0 * One month after harvest	18.40 (±0.52) e
0 * three Times	21.84 (±1.07) d
0.5 * veraision	30.05 (±1.55) c
0.5 * harvest	29.79 (±1.69) c
0.5 * One month after harvest	34.60 (±1.01) b
0.5 * three Times	34.10 (±1.06) b
1 * veraision	31.59 (±1.04) c
1 * harvest	37.11 (±1.21) a
1 * One month after harvest	38.23 (±1.44) a
1 * three Times	37.31 (±1.89) a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

جدول ۲۱. مقایسه میانگین اثر زمان محلول پاشی بر ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی اسفندماه ۱۳۹۴

Table 21. Mean comparison effect of time of spraying on phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in March, 2015

Time of spraying	Means (± SE)
	Phenolic compounds (mg/gFW)
	March 2015
Veraision	21.51 (±0.59)b
Harvest	22.29 (±0.63)a
One month after harvest	22.87 (±0.68)a
Three Times	22.80 (±0.63)a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

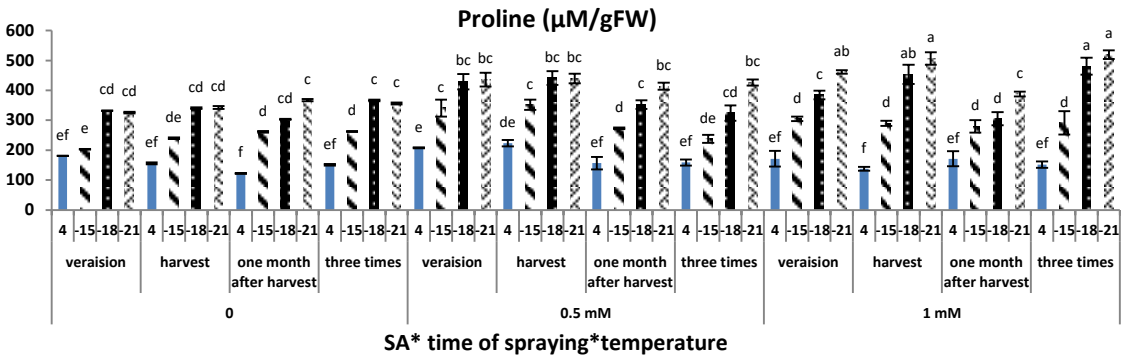
جدول ۲۲. مقایسه میانگین اثر اسیدسالیسیلیک بر میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تحت تنش سرما، جمع‌آوری شده در اسفندماه ۱۳۹۴

Table 22. Mean comparison effect of salicylic acid on phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) under cold stress collected in March, 2015

SA (mM)	Means (± SE)
	Phenolic compounds (mg/gFW)
	March 2015
0	18.96 (±0.31) c
0.5	22.67 (±0.41) b
1	25.47 (±0.45) a

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک، زمان محلول پاشی و دما بر میزان پرولین نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی تهیه‌شده در دی ماه ۱۳۹۴. شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

Figure 2. Mean comparison interaction effect of salicylic acid, time of spraying and temperature on proline of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) in January, 2015. The top indicator of each column represents the standard error (± SE).

جدول ۲۳. مقایسه میانگین اثر دما بر میزان کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، جمع‌آوری‌شده در دی و اسفندماه ۱۳۹۴

Table 23. Mean comparison effect of temperature on phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2015

Temperature (°C)	Means (± SE)	
	Solution carbohydrate (mg/gFW)	Phenolic compounds (mg/gFW)
	January 2015	March 2015
4	25.91 (±1.24) c	19.17 (±0.39) c
-15	27.10 (±1.25) c	22.06 (±0.51) b
-18	30.80 (±1.35) b	22.53 (±0.58) b
-21	33.22 (±1.44) a	25.70 (±0.53) a

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level.

*: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

جدول ۲۴. تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک و دما بر میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند سال ۱۳۹۵

Table 24. Variance analysis of effects of Salicylic acid and temperature on soluble carbohydrates, proline and phenolic compounds of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

Source of variation	df	(MS)					
		Proline		Solution carbohydrate		Phenolic compounds	
		January	March	January	March	January	March
Replication	2	160.58 ^{ns}	9.43 ^{ns}	0.75 ^{ns}	0.49 ^{ns}	153.06 ^{ns}	136.73 ^{ns}
Dose	2	12670.98**	594.27**	207.86**	6.35**	508.46*	453.17**
Temp***	3	7647.11**	2642.46**	159.31**	66.50**	1787.77**	1187.80**
Dose × Temp	6	50.18 ^{ns}	95.18*	6.39**	2.48 ^{ns}	35.45 ^{ns}	29.09 ^{ns}
Error	22	142.64	30.67	0.41	1.21	99.62	65.97

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

***: زمان محلول‌پاشی اسیدسالیسیلیک

*, **, ns: Significantly differences at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.
***: Time of spraying SA

با توجه به نتایج جدول ۲۵، اثر متقابل اسید سالیسیلیک و دماهای مختلف بر میزان کربوهیدرات‌های محلول و پرولین نمونه‌های جوانه تهیه شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ معنی‌دار بود. با کاهش دما میزان صفات مذکور افزایش نشان داد و کاربرد اسید سالیسیلیک نیز با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار منجر به افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول و پرولین گردید. بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های دی‌ماه، در تیمار ۲۱- درجه سانتی‌گراد و غلظت ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک (۲۹/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) وجود داشت. بیشترین میزان پرولین نمونه‌های اسفندماه نیز در تیمار ۱/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱۸- درجه سانتی‌گراد (۱۳۸/۸ میکرومول بر گرم وزن تازه) و ۲۱- درجه سانتی‌گراد (۱۳۷/۹ میکرومول بر گرم وزن تازه) در مقایسه با عدم کاربرد اسید سالیسیلیک و دمای ۴ درجه سانتی گراد (۷۸/۵ میکرومول بر گرم وزن تازه) مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین (جدول۲۶) حاکی از آن است که کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵

میلی‌مولار بر میزان پرولین (نمونه‌های دی‌ماه ۱۳۹۵ برابر ۱۹۰/۸ میکرومول بر گرم وزن تازه)، کربوهیدرات‌های محلول (نمونه‌های اسفندماه ۱۳۹۵ برابر ۱۰/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و ترکیبات فنولی (نمونه‌های جوانه تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵ به‌ترتیب برابر ۱۰۵/۳ و ۹۹/۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) اثر افزایشی داشت. نتایج جدول ۲۷ نشان می‌دهد که کاهش دما منجر به افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی نمونه‌های بافت جوانه انگور گردید. بر این اساس، بیشترین میزان پرولین (نمونه‌های دی‌ماه برابر ۱۸۹/۵ میکرومول بر گرم وزن تازه)، کربوهیدرات‌های محلول (نمونه‌های اسفندماه برابر ۱۲/۷ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و ترکیبات فنولی (نمونه‌های ماه‌های دی و اسفند به‌ترتیب برابر ۱۱۳/۱ و ۱۰۶/۸ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) در تیمار ۲۱- درجه سانتی‌گراد یافت شد.

جدول ۲۵. مقایسه میانگین اثر متقابل اسید سالیسیلیک و دما بر میزان پرولین و کربوهیدرات‌های محلول نمونه‌های بافت جوانه انگور رقم شاهانی، دی‌ماه و اسفندماه ۱۳۹۵

Table 25. Mean comparison interction effect of salicylic acid and temperature on proline and soluble carbohydrates of grapevine buds (*Vitis vinifera* cv. Shahani) collected in January and March, 2016

SA * Temperature (mM * °C)	Means (± SE)	
	Proline (µM/gFW)	Solution carbohydrate (mg/gFW)
	March 2016	January 2016
0 * 4	87.51 (±4.32) c	11.16 (±0.11) f
0 * -17	108.48 (±2.44) b	14.92 (±0.23) e
0 * -19	114.50 (±5.61) b	16.11 (±0.93) e
0 * -21	116.58 (±2.31) b	18.04 (±0.08) d
0.5 * 4	88.13 (±4.15) c	14.55 (±0.12) ef
0.5 * -17	105.78 (±4.30) bc	20.47 (±0.85) c
0.5 * -19	125.99 (±1.46) b	21.14 (±0.09) c
0.5 * -21	121.98 (±1.34) b	24.25 (±0.09) b
1.5 * 4	94.99 (±1.07) c	15.47 (±0.09) e
1.5 * -17	109.72 (±1.29) bc	24.40 (±0.25) b
1.5 * -19	138.87 (±2.63) a	24.21 (±0.09) b
1.5 * -21	137.94 (±2.13) a	29.16 (±0.14) a

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

جدول ۲۶. مقایسه میانگین اثر اسیدسالیسیلیک بر میزان کربوهیدرات های محلول، پرولین و ترکیبات فنولی جوانه‌های تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵

Table 26. Mean comparison effect of salicylic acid on soluble carbohydrates, proline and phenolic compounds of grapevine buds collected in January and March, 2016

SA (mM)	Means (± SE)			
	Proline (µM/gFW)	Solution carbohydrate (mg/gFW)	Phenolic compounds (mg/gFW)	
	January 2016	March 2016	January 2016	March 2016
0	126.12 (±6.88) c	8.38 (±0.55) c	92.68 (±4.1) b	87.40 (±3.67) b
0.5	163.27 (±8.69) b	9.47 (±0.78) b	96.53 (±4.4) b	92.53 (±3.38) b
1.5	190.88 (±8.90) a	10.12 (±0.95) a	105.37 (±4.9) a	99.64 (±4.05) a

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

جدول ۲۷. مقایسه میانگین اثر دما بر میزان کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و ترکیبات فنولی جوانه‌های تهیه‌شده در ماه‌های دی و اسفند ۱۳۹۵

Table 27. Means of effect of temperature on soluble carbohydrates, proline and phenolic compounds of grapevine buds collected in January and March, 2016

Temperature (°C)	Means (± SE)			
	Proline (µM/gFW)	Solution Carbohydrate (mg/gFW)	Phenolic compounds (mg/gFW)	
	January 2016	March 2016	January 2016	March 2016
4	121.64 (±9.50) d	7.05 (±0.27) c	79.99 (±2.5) c	78.84 (±1.4) c
-17	155.60 (±10.02) c	7.26 (±0.29) c	95.55 (±3.9) b	92.25 (±3.5) b
-19	173.54 (±10.14) b	10.19 (±0.55) b	104.10 (±4.4) ab	94.83 (±4.1) b
-21	189.58 (±10.51) a	12.79 (±0.61) a	113.12 (±3.2) a	106.85 (±2.6) a

* Columns with similar letters are not significantly different at 1% level. *: ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد ندارند.

بروز تحمل به تنش با تغییر در مواد اسمزی درون سلول همراه است. گیاهان با انباشت مواد تنظیم‌کننده اسمزی مانند کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین‌ها، مقاومت خود را به دمای پایین افزایش می‌دهند (Ashraf & Fulad, 2007). همان‌گونه که در نتایج حاصل از این پژوهش مشخص شد قلمه‌های جمع آوری شده در ماه‌های دی و اسفند هر دو سال آزمایش که تحت تنش یخ‌زدگی قرار گرفتند با کاهش دما، میزان کربوهیدرات محلول بیشتری نشان دادند که ممکن است به دلیل مکانیسم مقاومت گیاه در مقابله با سرما باشد، به‌طوری‌که Sakai & Larcher (1987) بیان کردند تجمع کربوهیدرات‌های محلول دمای یخ‌زدگی شیره سلولی را کاهش می‌دهد و سبب تاخیر در توسعه بلورهای یخ می‌شود. گزارش شده است میزان قندهای محلول در گیاهان لیمو آب شیراز تیمار شده در دماهای منفی تر، بطور معنی‌داری بیشتر بوده است (Baghbanha *et al*., 2007). نتایج آزمایش ما نشان داد کاربرد اسید سالیسیلیک افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول را تشدید کرد که احتمالا به دلیل نقش اسید سالیسیلیک در افزایش هیدرولیز کربوهیدرات‌های نامحلول و تبدیل آن‌ها به کربوهیدرات‌های محلول می باشد که این مسئله با اظهارات Kafi & Mahdavi Damghani (2002) در این رابطه مطابقت دارد. ایشان بیان کردند تیمار با اسید سالیسیلیک از طریق تحریک هیدرولیز قندهای نامحلول یا پروتئین‌ها نقش تنظیم اسمزی را برای سلول ایفا می‌کند. افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول تحت برهمکنش تیمار سرما و اسید سالیسیلیک در نهال‌های لیموآب شیراز (Baghbanha *et al*., 2007) و انگور (Ershadi & Taheri, 2013) گزارش شده است که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. Ershadi & Taheri (2013) بیان نمودند که محلول‌پاشی بوته‌های انگور با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک غلظت کربوهیدرات محلول برگ را نسبت به گیاه شاهد افزایش داد. همچنین گزارش‌های متعددی وجود دارد که گیاه در رویارویی با تنش، برای ایجاد مقاومت، سطح پرولین را افزایش می‌دهد (El-Tayeb, 2005). همانطور که در نتایج حاصل از پژوهش کنونی نشان داده شد میزان پرولین در قلمه‌های جمع آوری شده در ماه‌های دی و اسفند تحت تنش یخ‌زدگی افزایش یافت. تیمار اسید سالیسیلیک نیز به اثر افزایشی سرما افزود و نمونه‌های تیمار شده با هورمون دارای حداکثر میزان پرولین بودند. از بین نقش‌های متعدد پرولین در گیاهان که برای مقابله با تنش سرما گزارش شده است، ممکن است در آزمایش ما، نقش پرولین به عنوان تنظیم‌کننده اسمزی از اهمیت بیشتری برخوردار بوده و منجر به حفظ ساختار غشا گردیده باشد. در گیاه هوهوبا گزارش شده است که پرولین در واکنش به دماهای یخ‌زدگی افزایش یافت (Ceccardi & Ting, 1996). نتایج آزمایش ها نشان داده است کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک تحت تنش سرما، محتوای اسید آبسیزیک درون سلولی را افزایش داده و به این ترتیب منجر به تجمع پرولین در شرایط سرما و افزایش مقاومت به سرما گردید (Shakirova *et al*., 2003). افزایش میزان پرولین تحت تیمار اسید سالیسیلیک در انگور (Ershadi & Taheri, 2013) و گردو (Khorramshahi, 2012) گزارش شده است که با نتایج این پژوهش همسویی دارد. Ershadi & Taheri (2013) گزارش دادند کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و یک میلی‌مولار باعث افزایش میزان پرولین در برگ انگور رقم بی‌دانه سفید شد و از این طریق منجر به کاهش خسارت به غشای سلول‌ها گردید. در گیاهان عالی تولید زیاد گونه‌های فعال اکسیژن، صفتی ذاتی است که در شرایط تنش ایجاد می‌شود. مکانیسم پاسخگویی به تنش به‌وسیله آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و آنتی‌اکسیدان‌هایی از جمله اسید آسکوربیک و گلوتاتیون به همراه ترکیبات فنولی و کاروتنوئیدی برای از بین بردن خاصیت سمی گونه‌های اکسیژن فعال ضروری هستند (Prasad, 1996). ترکیب‌های فنولی ویژگی‌های احیایی دارند که به آن‌ها اجازه می‌دهد به‌عنوان احیاکننده، دهنده هیدروژن و فرونشاننده اکسیژن منفرد وارد عمل شوند (Henriques *et al*., 2012). همان‌طورکه در نتایج حاصل از تحقیق کنونی مشاهده شد میزان ترکیبات

فنولی در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در ماه‌های دی و اسفند آزمایش سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵تحت اثر تیمار دماهای منفی افزایش نشان داد. به‌نظر می‌رسد ترکیبات فنولی توانسته‌اند از طریق اثر بر رادیکال‌های آزاد ایجاد شده تحت تنش، منجر به حفظ غشای سلولی گردیده و تحمل به تنش سرما را افزایش داده باشند. نتایج پژوهش محققان نشان داد تجمع پروتئین‌های محلول و ترکیبات فنولی در بوته‌های انگور ضمن حفظ پایداری غشا در دمای کم، تولید مالون‌دی‌آلدهید کمتر و در نتیجه سازگاری بیشتر به دمای کم و به افزایش تحمل به یخزدگی در آن‌ها منجر می‌شود (Balasundram *et al.*, 2007; Beridze,1986; Kezeli &). به نظر می‌رسد رسوب بیشتر ترکیبات فنولی در اپیدرم شاخه و فلس‌های جوانه در رقم‌ها از پیشرفت بلورهای یخ موجود به درون بخش‌های داخلی جوانه جلوگیری می‌کند و از این طریق منجر به افزایش تحمل به سرما می‌گردد (Chalker-Scott, 1988). Karimi *et al.* (2014) گزارش کردند با افزایش سازگاری به سرما غلظت پروتئین‌های محلول و فنول کل در رقم‌های انگور بی‌دانه قرمز و خلیلی افزایش یافت که حاکی از ارتباط مثبت این ترکیبات با مقاومت به سرما در جوانه‌های در حال خواب تاک است که این گزارش مطابق با نتایج پژوهش کنونی می‌باشد. همچنین تحقیقات نشان داده است که پیش تیمار اسید سالیسیلیک به عنوان یک پروسه مقاوم سازی عمل نموده و با افزایش توان آنتی اکسیدانی سلول موجب حفاظت بیشتر غشاهای سلولی و کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و جلوگیری از اکسیداسیون پروتئین‌ها شده است (Eraslan *et al.*, 2008). افزودن اسید سالیسیلیک به محلول رشد آبکشت گیاهچه‌های ذرت با تحریک تولید عوامل آنتی اکسیدانی باعث افزایش تحمل به سرما شد (Janda *et al.*, 1999). Rezayatmand *et al.* (2013) نیز بیان کردند که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک در گیاه درمنه باعث افزایش میزان ترکیبات فنولی در بخش هوایی و ریشه گیاه نسبت به گیاهان شاهد شده است. Chan & Tian (2006) تجمع ترکیبات فنولی را به دنبال افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در انگور پس از کاربرد اسید سالیسیلیک گزارش کردند. بنابراین نتیجه گرفتند اسید سالیسیلیک نقش مهمی در بیوسنتز ترکیبات فنولی و بیان ژن‌های دفاعی گیاه دارد. در این تحقیق نیز افزایش میزان ترکیبات فنولی در اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک تحت شرایط تنش سرما در نمونه‌های بافت جوانه انگور مشاهده شد که با یافته‌های سایر پژوهشگران مطابقت دارد. با توجه به نتایج، میزان کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات فنولی تحت اثر زمان محلول‌پاشی قرار گرفتند و بیشترین اثرگذاری اسیدسالیسیلیک در زمان‌های نزدیک به خزان (یک‌ماه پس از برداشت) در مقایسه با زمان رنگ‌گیری حبه‌ها بوده است که ممکن است به دلیل فعال شدن سیستم‌های مقاومت در برابر سرما در این زمان در گیاه باشد، که البته نیاز به مطالعه و بررسی‌های فیزیولوژیکی بیشتری در این زمینه می‌باشد.

نتیجه گیری کلی

یخزدگی اثرات جبران ناپذیری به بوته‌های انگور وارد نموده و از طریق مرگ جوانه اولیه منجر به خسارت اقتصادی زیادی به باغداران می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که تنش یخزدگی منجر به ایجاد خسارت مورفولوژیکی در قلمه‌ها گردید و همچنین پراکسیداسیون غشای سلولی در نمونه‌های بافت جوانه افزایش یافت و در نتیجه آن، درصد نشت الکترولیتی و نشت فنولی و غلظت مالون‌دی‌آلدهید افزایش نشان داد. بر اساس نتایج، درصد سبزشدن نقاط رویشی اولیه و ثانویه و قدرت بازیابی قلمه‌های محلول‌پاشی شده با اسید سالیسیلیک نسبت به شاهد بیشتر بود. همچنین کاربرد اسید سالیسیلیک باعث کاهش درصد نشت یونی و نشت فنولیک و میزان مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با عدم کاربرد آن گردید. چنین به‌نظر می‌رسد قلمه‌های تحت تنش جهت مقابله با تنش سرما، میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی خود را افزایش می‌دهند که البته کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به افزایش بیشتر این مواد گردید. بنابراین می‌توان تیماراسید سالیسیلیک با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار را به

عنوان یک تیمار مناسب برای افزایش مقاومت به سرما در انگور قلمداد کرد. از نظر زمان محلول‌پاشی، بیشترین اثرگذاری اسید سالیسیلیک در زمان‌های برداشت، یک ماه پس از برداشت و مجموع سه زمان مشاهده شد که البته در برخی موارد زمان یک ماه پس از برداشت دارای بهترین نتایج بود و همچنین کاربرد در مجموع سه زمان از نظر اقتصادی به‌دلیل صرف هزینه بیشتر، مقرون به‌صرفه نمی‌باشد، بنابراین کاربرد اسید سالیسیلیک در زمان یک ماه پس از برداشت قابل توصیه می‌باشد.

سپاسگزاری

از پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به‌خاطر همکاری در اجرای این پژوهش و تامین مواد و تجهیزات مورد نیاز، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Araqi, H., Tehrani far, A., Shoor, M., Abedi, B. & Selah Varzi, Y. (2011). Effects of freezing stress on EC, proline content and its relationship with re-growthin some of the grape cultivars. *Iranian Journal of Small Fruits*, 1, 79-93. (in Farsi)
2. Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
3. Atashkar, D. & Ebadi, A.S. (1999). *The mechanism of falconry in Iranian grape varieties and assessment of the effect of boron on their fertility*. M. Sc. Thesis in Horticulture. University of Tehran. (in Farsi)
4. Babalar, M., Asghari, M., Talebi, A. R. & Khosroshahi, A. (2007). Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. *Journal of Food Chemistry*, 105, 449-453.
5. Baghbanha, M., Fotouhi Qazvini, R., Hatamzadeh, A. & Heidari, M. (2007). Effect of salicylic acid on tolerance to freezing stress in lemon seedlings of Shiraz. *Iranian Journal of Horticulture*, 3, 185-198. (in Farsi)
6. Balanian, H., Zamani, Z., Fattahi Moghadam, M. & Babalar, M. 2015. *Evaluation of some index related to freezing resistance in a number of cultivars and genotype of pomegranate*. Ph.D. thesis. University of Tehran. (in Farsi)
7. Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S. (2007). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Journal of Food Chemistry*, 99, 191-203.
8. Barka, E. A. & Audran, J. C. (1977). Response of champenoise grapevine to low temperature: change of shoot and bud proline concentration in response to low temperature and correlation with freezing tolerance. *Journal of Horticultural Science*, 72, 557-582.
9. Barranco, D., Ruiz, N. & Capo, M. G. (2005). Frost tolerance of eight olive cultivars. *Journal of Horticulture Science*, 40, 558-560.
10. Bates, I., Waldern, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Journal of Plant and Soil*, 39, 205-207.
11. Bhattacharjee, S. & Mukherjee, K. (2002). Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Journal of Seed Science and Technology*, 30, 279-291.
12. Bigras, F. J. (1997). Root cold tolerance of black spruce seedlings: viability tests in relation to survival and regrowth. *Journal of Tree Physiology*, 17, 311-318.
13. Bittenbender, H. C. & Howell, G. S. (1974). Adaptation of Spearman-Karber method for estimating the T50 of cold stressed plants. *Journal of American Horticultural Science*, 99, 187-190.
14. Borsani, O., Valpuesta, V. & Botella, M. A. (2001). Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 126, 1024-1030.
15. Bowers, M. C. (1994). *Environmental effects of cold on plants*. In: Wilkinson, R.E. (Ed.), Plant-Environment Interactions. Marcel Dekker, New York.
16. Cao, S., Hu, Z., Zheng, Y. & Lu, B. (2010). Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit. *Journal of Postharvest Biological Technology*, 58, 93-97.
17. Ceccardi, T. & Ting, I. (1996). Effect of temperature and water stresses on gas exchange, fluorescence kinetics, and solute levels of jojoba. *Journal of Industrial Crops and Products*, 5, 279-290.
18. Chalker-Scott, L. (1988). *Relationships between endogenous phenolic compounds of rhododendron tissues and organs and cold hardiness development*. Oregon State University, USA, Ph.D. dissertation.

19. Chan, Z. & Tian, S. (2006). Induction of H_2O_2 metabolizing enzyme and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry. *Journal of Postharvest Biology and Technology*, 39, 314-320.
20. Chat, J. (1995). Cold hardiness within the genus *Actinidia. Journal of Horticultural Science*, 30, 329-332.
21. Chow, H. H., Cai, Y., Hakim, I. A., Crowell, J. A., Shahi, F. & Brooks, C. A. (2003). Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Journal of Clin Cancer Rescerch*, 9, 3312-3319.
22. Coombe, B. (1995). Growth stages of the grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Journal of Grape and Wine Research.* 1, 104-110.
23. Dexter, S.T., Tottingham, W. E. & Graber, L. F. (1932). Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Journal of Plant Physiology*, 7, 63-78.
24. El-Tayeb, M. A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, 45, 215-224.
25. Ershadi, A. & Taheri, S. (2013). Effect of salicylic acid on spring frost tolerance in grapes of Bidaneh sefid. *Iranian Journal of Crops Improvement*, 2, 135-146. (in Farsi)
26. Eraslan, F., Inal, A., Pilbeam, D. J. & Gunes, A. (2008). Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. *Journal of Plant Growth Regulators*, 55, 207-219.
27. FAO, http://www.fao.org/corp/statistics/en.
28. Fennell, A. (2004*). Freezing tolerance and injury in grapevines: Adaptations and responses of woody plants to environmental stresses*. The Haworth Press.
29. Ghasemi Soloklui, A.A. Ershadi, A. & Fallahi, E. (2012). Evaluation of cold hardiness in seven Iranian commercial pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Horticulture Science*, 47, 1821-1825.
30. Gomezdel Campo, M. & Barranco, D. (2005). Field evaluation of frost tolerance in 10 olive cultivars. *Journal of Plant Genetic Research*, 3, 385-390.
31. Guo, S., Yang, Q., Yang, X., Liu, Y., Qi, J. & Bi, Y. (2007). Effects of salicylic acid on cold resistance during flowering period and fruit sitting rate in Apricot. *Science and Technology*, 4, 107-116.
32. Gusta, L. V., Trischuk, R. & Weiser, C.J. (2005). Plant cold acclimation: the role of abscisic acid. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, 308-318.
33. Guy, C. L. (2003). Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 41, 187-223.
34. Heath, L. R. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
35. Henriques, F., Guine, R. & Barroca, M. J. (2012). Chemical properties of pumpkin dried by different methods. *Journal of Food Technology and Biotechnology*, 7, 98-105.
36. Holubowicz, T. Cummins, J. N. & Forsline, P.L. (1982). Responses of *Malus* clones to programmed low-temperature stresses in late winter. *Horticultural Science*, 107, 492-496.
37. Inze, D. & Van Montagu, M. (2002). Oxidative Stress in Plants. Taylor & Francis, London.
38. Janda T., Szalai, G., Tari I. & Paldi, E. (1999). Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Journal of Planta*, 208, 175-180.
39. Kafi, M. & Mahdavi Damghani, A. S. (2002). *Resistance mechanisms of plants to environmental stresses* (translation). Ferdowsi University Press, Mashhad. (in Farsi)
40. Kang, G. Z. Wang, Z. X. & Sun, G. (2003). Participation of H_2O_2 in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings. *Journal of Acta Botanica Sinica*, 45, 567-573.
41. Karimi, R., Ershadi, A., Sna Ashari, M., Mashhadi, M. & Boojar, A. (2014). Seasonal changes in the content of soluble proteins, total phenol and malondialdehyde, and their relationship with cold resistance of some grape cultivars. *Iranian Journal of Crops Improvement*, 16, 999-1013. (In Farsi)
42. Kaviani, B., Bernad, F., Shaker, H. & Hadadchi, H. (2005). Effects of salicylic acid on the resistance of the embryonic axis of bitter olive (*Melia azedarach* L.) against cold and cold freezing. *Quarterly Pajouhesh-va-Sazandegi*, 44, 49-67. (in Farsi)
43. Kavoosi, B., Eshghi, S. & Tafazzoli, A. (2012). Response of *Vitis vinifera* L. 'Askari' to winter cold damages. *Journal of Research in Crop and Garden Plants*, 1, 37-49. (in Farsi)
44. Kezeli, T. A. & Beridze, A. G. (1986). *Structural and histochemical changes in one-year grapevine shoots in relation to frost resistance*. Fiziol. Morozoustoich.Vinograd. Lozy.
45. Khorramshahi, L. (2012). *The Effect of thiofer and salicylic acid on spring resistance to walnut trees.* Master's Thesis. Bu-Ali Sina University, Hamedan. (in Farsi)
46. Lawes, G. S., Cheong, S. T. & Alvarez, H. V. (1995). The effect of freezing temperatures on buds and stem cuttings of *Actinidia* species. *Journal of Horticultural Science*, 1, 12-16.
47. Lee, G. S. & Hong, J. H. (2002). Effect of Salicylic Acid on growth and chilling tolerance of cucumber seedlings. *Journal of Environmental Science International*, 11, 1173-1181.

48. Linden, L. (2002). *Measuring cold hardiness in woody plants*. Department of Applied Biology, Horticulture, Academic dissertation. University of Helsinki. Finland. 57 P.
49. Luo, Y. L., Su, Z. L., Bi, T. J., Cui, X. L. & Lan, Q. Y. (2014). Salicylic acid improves chilling tolerance by affecting antioxidant enzymes and osmoregulators in sacha inchi (*Plukenetia volubilis*). *Journal of Botany*, 37, 357-363.
50. Mahajan, Sh. & Narendra, T. (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.
51. Malone, S. R. & Ashworth, E. N. (1991). Freezing stress response in woody tissues observed using low-temperature scanning electron microscopy and freeze substitution techniques. *Journal of Plant Physiology*, 95, 871-881.
52. Nejatyan, M. (2012). Selection of cold tolerant clones in Iranian Bidaneh grape varieties. *Journal of Seed and Plant Improvment*, 28, 519-524. (in Farsi)
53. Nzokou, P. & Nikiema, P. (2008). The influence of three plant growth regulators on susceptibility to cold injury following warm winter spellsin Fraser fir (*Abies fraseri*) and Colorado blue spruce (*Picea pungens*). *Journal of Horticultural Science*, 43, 742-746.
54. Paul, E. R. & Gamet, S. (2008). *Anatomy of the Freeze of 2007*: Assessing Damage, Repair and Vineyard Restoration. University of Nebraska Viticulture Program. 35 pp.
55. Pietsch, G. M., Anderson, N. O. & Li, P. H. (2009). Cold tolerance and short day acclimation in perennial *Gaura coccinea* and *G. drummondii*. *Journal of Horticultural Science*, 120, 418-425.
56. Prasad, T. G. (1996). Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedling: changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities. *Journal of Plant*, 10, 1017-1026.
57. Rezayatmand, Z., Khavarinejad, R. & Asghari, Gh. (2013). The Effect of salicylic acid on some physiological and biochemical indices of *Artemisia aucheri* Boiss. under salt stress. *Journal of Plant Biology*, 16, 57-70. (in Farsi)
58. Sajjadian, H. (2011). Effect of salicylic acid on cold resistance of pistachio 'Badami' seedlings using ionic leakage. 7th Congress of Iranian Horticultural Science, Isfahan University of Technology-September 2011, 132-134. (in Farsi)
59. Sakai, A. & Larcher, W. (1987). *Frost survival of plants: responses and adaptation to freezing stress* (Vol. 62): Springer Science & Business Media.
60. Santini, J., Giannettini, J., Pailly, O., Herbette, S., Ollitrault, P., Berti, L. & Luro, F. (2013). Comparison of photosynthesis and antioxidant performance of several *Citrus* and *Fortunella* species (*Rutaceae*) under natural chilling stress. *Journal of Trees Structure and Function*, 13, 1-8.
61. Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Serrano, M. & Valero, D. (2009). Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates. *Journal of Postharvest Biology Technology*, 53, 152-154.
62. Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. & Fatkhutdinova, D. R. (2003). Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Journal of Plant Science*, 164, 317-322.
63. Shoor, M., Tehranifar, A., Nemati, S. H., Salahwarzi, Y. & Mokhtarian, A. (2009). Investigation and determination of frost resistance and freezing of three cultivars of grapes in northern Khorasan. *Journal of Environmental Stresses Agricultural Sciences*, 2, 159-169. (in Farsi)
64. Somogyi, J. & Nelson, D. (1952). A critical examination of the Nelson-Somogyi method for the determination of reduced sugar. *Journal of Analytical Biochemistry*, 15, 373-381.
65. Viti, R. & Bartolini, S. (1998). Changes in SH-containing compounds and catalase activity in apricot flower bud during the winter season. *Journal of Scientia Horticulturae*, 73, 1-9.
66. Viti, R. Bartolini, S. & Andreini, L. (2010). Flower bud frost tolerance of several Italian apricot genotypes. *Horticultural Science*, 5, 185-192.
67. Yousefi, M. (2008). The effect of freezing on electrolyte leakage of 10 almond cultivars and wild almond species in Isfahan. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 45, 1-9. (in Farsi)
68. Wang, L. J. & Li, S. H. (2006). Salicylic acid-induced heat or cold tolerance in relation to Ca^{2+} homeostasis and antioxidant systems in young grape plants. *Journal of Plant Science*, 170, 685-694.
69. Zabadal, T. J., Dami, I. E., Goffmet, M. C., Martinson, T. E. & Chien, M. L. (2007). *Winter injury to grapevines and methods of protection*. Michigan State University Extension Bulletin E2930.