# بررسی مقاومت به خشکی چند رقم انگور در شرایط آزمایشگاهی

**موسی ارشد**

**ایران، مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مهاباد، گروه علوم باغبانی**

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۱۳

## چکیده

در این مطالعه اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و سوربیتول بر روی ارقام حسینی، قره ملیحی، دست‌ارچین، اینه‌امجیی، سیاه، ریش‌بابا، طولاگوزو و رشه انگور بررسی شد و صفات تعداد و طول ساقه، تعداد برگ، تعداد و طول ریشه، تعداد و طول ریشه‌های فرعی اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ارقام بر روی صفات طول ساقه، تعداد برگ، طول ریشه و صفت تعداد ریشه‌های فرعی و اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول بر تمامی صفات در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. نتایج نشان داد شاخص‌های رشدی در غلظت ۶۰ گرم بر لیتر کمترین رشد و در تیمار شاهد بیشترین افزایش مشاهده گردید. مقایسه میانگین داده‌ها مربوط به فاکتور ارقام نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین مقدار طول ریشه، تعداد برگ و تعداد ریشه‌های فرعی را ارقام طولاگوزو و اینه‌امجیی تولید نمودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به سوربیتول نشان داد اثر ارقام و سوربیتول بر روی تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بودند. تیمار شاهد و غلظت ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول بترتیب کمترین و بیشترین مقدار را در صفات تعداد و طول ساقه، تعداد برگ و تعداد و طول ریشه را داشتند. مقایسه میانگین داده های سوربیتول نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین طول ساقه را ارقام سیاه و اینه امجیی تولید نمودند.

**واژه‌های کلیدی:** انگور، پلی اتیلن گلیکول، خشکی، سوربیتول

نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۳۲۱۲۵۲۲ ، پست الکترونیکی: mo_arshad2002@yahoo.com

## مقدمه

انگور از مهمترین و با ارزش ترین میوه های دنیاست. سطح وسیعی از باغات میوه به این محصول با ارزش اختصاص دارد این محصول باغی مهمترین میوه گوشتی دنیا بوده به طوری که براساس گزارش خواربار کشاورزی سازمان ملل متحد (فائو) در سال ۱۳۹۵ میزان تولید آن در ایران بیش از ۳/۱۷ میلیون تن و میانگین عملکرد آن ۸ تن در هکتار بوده است (۵). در بحث کشاورزی و باغداری آب یکی از عوامل محدود کننده مهم برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد. این ماده از لحاظ اقتصادی در بسیاری از مناطق جهان به خصوص مناطق خشک و نیمه خشک به یکی از منابع بسیار مهم تبدیل شده که همواره خطرات کمبود آن گریبانگیر ملت‌ها است. اخیراً در همه بخش‌های صنعتی نیاز به آب در حال افزایش است که یکی از این بخش‌های مهم اقتصادی، صنعت باغبانی می‌باشد (۱۷). گیاهان در برابر کمبود آب سریعاً واکنش نشان می‌دهند بطوری که اولین واکنش گیاهان و بخصوص درختان در برابر تنش کم آبی کاهش رشد رویشی می‌باشد. کم آبی خصوصیات رویشی گیاهان از جمله ارتفاع، وزن تر و خشک اندام‌ها، تعداد و سطح برگ را تحت تاثیر قرار می‌دهد. سطح برگ با خشک شدن خاک کاهش می‌یابد، از طرف دیگر تغییرات سازگاری در توزیع ماده خشک ممکن است با افزایش در نسبت ریشه به شاخساره روی دهد (۶). بنابراین باید تحقیقاتی در رابطه با کاهش اثرات کم آبی و افزایش توان گیاهان برای تحمل کم آبی صورت گیرد مطالعات زیادی در مورد اثرات تنش خشکی بر روی

محصولات کشاورزی مختلف انجام گرفته است. در مورد انگور می‌توان به تحقیق پلگرینو و همکاران (۲۰۰۵) ، اشاره کرد (۱۵). وی و همکارانش صفات مرتبط با مقاومت به خشکی در انگور را مورد مطالعه قرار دادند و این صفات را در سه گروه تقسیم بندی کردند. گروه اول مربوط به صفاتی مانند پتانسیل آب برگ و هدایت روزنه ای که از اهمیت بالاتری برخوردار بودند. در گروه دوم صفاتی مانند دمای کانوپی، بازتابش نور برگ، میزان کلروفیل برگ، قطر تنه و سرعت جریان شیره پرورده را قرار دادند و در گروه سوم صفات رویشی را مورد بررسی قرار دادند.

لبونی و همکارانش (۲۰۰۶) ، اندام زایی بازوهای اصلی دو رقم انگور را همراه با تنش خشکی در شرایط گلخانه و مزرعه در شمال فرانسه مورد بررسی قرار دادند آنها ارتباط کمی برای تمام مراحل رشد با رطوبت تعیین کردند و نتیجه گرفتند که تعداد شاخه حساسیت زیادی به کاهش آب خاک دارد بطوری که نسبت ظهور برگ‌های جدید به رشد شاخه‌ها بسرعت کاهش می‌یابد نتایج وی نشان داد که کاهش شدید سطح برگ در تنش خشکی در هر دو رقم مشاهده می‌شود که به عنوان فاکتور تحمل به تنش خشکی بحساب می آید (۱۰). در مطالعه دیگر رسولی و همکاران (۲۰۱۲) ، وضعیت مقاومت ۶۹ رقم انگور روسی را نسبت به خشکی بررسی کردند و ارقام مورد بررسی خود را در چهار گروه بسیار مقاوم تا بسیار حساس تقسیم بندی کردند (۱۶). بیشتر تحقیقات صورت گرفته در زمینه کم آبی در شرایط مزرعه صورت گرفته است بر این اساس یکی از راه‌های مطالعه تنش کم آبی، مطالعه آن در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد بدین منظور برای بررسی اثرات تنش کم آبی با استفاده از تنظیم پتانسیل اسمزی در محیط کشت نیاز به موادی است که با مولکول‌های آب در محیط کشت درگیر شده و آنها را از دسترس گیاه خارج نماید و در ضمن وجود این مواد در محیط کشت فرایند بیولوژیکی گیاه را تحت تاثیر قرار ندهد بدین منظور لاجرورف و همکاران (۱۹۶۱) ،از بین ۱۳ ترکیب مختلف شیمیایی پلی اتیلن گلیکول را بدلیل حلالیت بالا و چسبندگی کم توصیه کردند (۹). پلی اتیلن گلیکول یک پلیمر قابل انعطاف و غیر سمی بوده و می تواند باعث فشار اسمزی منفی گردد. همچنین تمایلی به واکنش با مواد شیمیایی و بیولوژیکی ندارد و این خصوصیات پلی اتیلن گلیکول را به یکی از مفیدترین مولکول‌ها برای ایجاد فشار اسمزی منفی در آزمایشهای بیوشیمیایی (ویژه ایجاد تنش اسمزی) تبدیل کرده است (۱۱). تحقیقات زیادی در زمینه بکارگیری پلی اتیلن گلیکول به منظور مطالعه آزمایشگاهی روی انگور صورت گرفته است از آن جمله میتوان به بررسی دامی و همکاران (۱۹۹۷) ، کالکارنی و همکاران (۲۰۰۷) و ماکار و همکاران (۲۰۰۹) اشاره کرد (۳ و ۸ و ۱۲). تحقیقات ماکار و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که پلی اتیلن گلیکول یک پلیمر قابل انعطاف و غیر سمی بوده و می تواند باعث فشار اسمزی منفی گردد (۱۲). همچنین تمایلی به واکنش با مواد شیمیایی و بیولوژیکی ندارد و این خصوصیات پلی اتیلن گلیکول را به یکی از مفیدترین مولکولها برای ایجاد فشار اسمزی منفی در آزمایشهای بیوشیمیایی(ویژه ایجاد تنش اسمزی) تبدیل کرده است.

از جمله موادی که در باززایی اندامک ها در شرایط درون شیشه ایی استفاده می شود سوربیتول می باشد. سوربیتول به عنوان فتوآسمیلات در بسیاری از گونه های چوبی تیره‌ی رزاسه مانند پرونوس و پیروس و مالوس گزارش شده است که توسط آوند آبکش منتقل می‌شود (۱۴و۲۰و۲۱). از سوربیتول برای بررسی میزان مقاومت به خشکی نیز استفاده شده است بعنوان نمونه در آزمایشی از ساکارز، لاکتوز، سوربیتول و مانیتول به عنوان منبع کربن در ریزازدیادی انگور جهت بررسی میزان مقاومت به خشکی استفاده شد و مشاهده شد که در غلظت ۴٪ سوربیتول علائمی از قبیل اپی ناستی، کاهش نمو و توسعه ریشه و نیز قرمز شدگی برگ ها مشاهده شد (۲۱). در آزمایش دیگر از غلظت ۴۰ گرم بر لیتر سوربیتول به عنوان عامل

تنش اسمزی جهت بررسی میزان باززایی *Cynara scolymus* استفاده شد و نتایج نشان داد که سوربیتول نقش به تعویق اندازی رشد و نمو را روی این گیاه دارد و مشاهده نمودند که با گذشت زمان (از ۱ ماه به ۶ ماه) درصد گیاهچه‌هایی که روی این محیط‌ها زنده می‌مانند، کاهش می‌یابد(۱۹).

هدف از تحقیق حاضر بررسی اثرات پلی اتیلن گلیکول و سوربیتول روی ارقام مختلف انگور بمنظور تعیین اثرات خشکی در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

## مواد و روشها

**مواد گیاهی و صفات مورد مطالعه:** در این پژوهش، شاخه های یکساله ارقام محلی انگورهای حسینی، قره ملیحی، دست ارچین، اینه امجیی، سیاه، ریش بابا، طولاگوزو و رشه از باغات انگور در آذربایجان غربی بدست آمد و برای ریز ازدیادی مورد استفاده قرار گرفتند. صفاتی که مورد بررسی قرار گرفتند عبارت بود از تعداد و طول ساقه، تعداد برگ، تعداد و طول ریشه و تعداد و طول ریشه فرعی که از طریق شمارش و استفاده از خطکش مندرج بدست آمدند.

**تهیه محیط کشت:** در این تحقیق از محیط کشت MS (موراشیگ و اسکوک) استفاده شد. به منظور تهیه حجم مشخصی از محیط کشت، ابتدا مقداری آب مقطر در ارلن مایر ریخته و متناسب با حجم نهایی، محلول های پایه عناصر پرمصرف و کم‌مصرف و ویتامین ها به آن افزوده و پس از اضافه کردن ساکارز، حجم محلول به حجم نهایی مورد نظر رسانده شد. با استفاده از دستگاه pH متر و محلول ۰/۱ نرمال اسید کلریدریک و هیدروکسید پتاسیم، pH محیط کشت در ۵/۸ تنظیم شد و سپس آگار به محیط کشت اضافه شد. عمل اضافه کردن آگار به صورت تدریجی صورت گرفت تا از گلوله شدن آگار جلوگیری گردد. آگار با رسیدن دمای محلول به نزدیک نقطه جوش، کاملاً حل شد.

**ضدعفونی مواد گیاهی استقرار ریزنمونه ها و شرایط نگهداری:** بمنظور تهیه ریز نمونه از شاخساره‌های جوان و سبز رشد کرده بر روی قلمه ها که از گره دوم قطع شده بودند استفاده گردیدند. شاخساره ها که حاوی چند گره بودند در داخل بشر حاوی توری قرار داده شده و به مدت نیم ساعت همراه با چند قطره مایع ظرفشویی زیر آب جاری قرار گرفته تا خاک های سطحی شسته شوند و سپس با آب مقطر آبکشی و به داخل هود لامینار انتقال داده شدند. جهت ضد عفونی سطحی و از بین بردن آلودگی‌های میکروارگانیسمی بترتیب با استفاده از روش های ذیل استفاده شد:

بمنظور از بین بردن آلودگی های باکتریایی از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۴۵ ثانیه استفاده شد و سپس آبکشی با آب مقطر دو بار استریل انجام گرفت جهت از بین بردن آلودگی های قارچی از محلول هیپوکلریت سدیم با ۲ درصد ماده فعال و به مدت ۲۰ دقیقه استفاده گردید و در آخر با آب مقطر دوبار استریل نمونه ها شستشو داده شدند.

پس از اتمام مراحل ضدعفونی، نمونه گیاهی بر روی پتری دیش ضد عفونی شده قرار داده شده و برش با استفاده از تیغه اسکالپل صورت گرفت. در تمامی ریزنمونه ها قسمت های صدمه دیده حذف شده و ریزنمونه‌هایی به طول تقریبی ۱/۵ سانتیمتر که حاوی یک گره جوانه دار همراه با کمی دمبرگ بود تهیه و با استفاده از یک پنس استریل به محیط کشت حاوی ۲ پی پی ام بنزیل آدنین و ۱ پی پی ام نفتالین استیک اسید انتقال و با آرایش عمودی تا یک سانتیمتری در داخل محیط کشت استقرار یافتند. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، درب لوله‌های آزمایشگاهی با استفاده از پنبه استریل شده و فویل

آلومینیومی بسته شد و از پارافیلم به عنوان درزبند استفاده گردید.

رقم‌های انگور حسینی، دست ارچین، اینه امجیی، رشه، قره ملیحی، ریش بابا، طولاگوزو و سیاه با موفقیت تحت شرایط درون شیشه ای استقرار یافتند. پس از بدست آوردن ریز نمونه کافی، تحت تیمار PEG (پلی اتیلن گلیکول) و سوربیتول قرار گرفتند. تیمار PEG در غلظتهای صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ گرم در لیتر (۸) و تیمار سوربیتول در غلظت‌های صفر، ۱۵، ۳۰ و ۴۵ گرم در لیتر اعمال گردید (۲۴). پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، ظروف کشت در یک اتاقک رشد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۲±۲۲ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از انتقال ریزنمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد، کنترل روزانه بمنظور بررسی تغییرات در رشد و نمو و همچنین حذف کشت های آلوده انجام می‌گرفت.

**تجزیه و تحلیل داده ها:** برای تجزیه و تحلیل، ابتدا داده‌ها با استفاده از تبدیل جذری ($\sqrt{X+0.5}$) نرمال‌سازی شدند. سپس داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS، در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل (سه فاکتور رقم و سوربیتول یا پلی اتیلن گلیکول) و آزمون مقایسه میانگین LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و در نهایت با استفاده از برنامه Excel نمودارهای مربوط به آنها رسم گردیدند. تمامی داده های موجود در اشکال و جداول تبدیل جذری شده اند و داده های اصلی را می توان با به توان رساندن آنها و کسر ۰/۵ بدست آورد.

## نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به پلی اتیلن گلیکول نشان داد اثر ارقام بر روی صفات طول ساقه، تعداد برگ، طول ریشه و صفت تعداد ریشه های فرعی در سطح احتمال ۵٪ معنی دار و بر صفات تعداد ساقه، تعداد ریشه و طول ریشه های فرعی غیر معنی دار بود در حالی که اثر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثرات متقابل نشان داد که اثرات متقابل ارقام و پلی اتیلن گلیکول در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نبودند (جدول ۱). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها مربوط به سوربیتول که در جدول ۲ آورده شده است نشان داد اثر ارقام و اثر سوربیتول بر روی تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بودند (جدول ۲) در حالی که اثرات متقابل بین آنها معنی دار نبودند (جدول ۲). یکی از پارامترهای مهم برای سنجش میزان تنوع در بین ارقام میزان ضریب تغییرات است. بر طبق نتایج بدست آمده، ضریب تغییرات مربوط به صفات مختلف نشان دهنده وجود تنوع در بین ارقام مورد مطالعه می‌باشد که می توان از این تنوع به منظور گزینش ارقام مطلوب و مقاوم به خشکی استفاده کرد و جهت انجام آزمایشات مزرعه ایی مورد استفاده قرار داد (جدول های ۱ و ۲).

**تأثیر جداگانه غلظتهای مختلف پلی اتیلن گلیکول و ارقام بر صفات اندازه گیری شده:** نتایج بررسی غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول بر روی خصوصیات تعداد و طول ساقه نشان داد که با افزایش غلظت این ماده از میزان تعداد و طول ساقه کاسته می شود این در حالی است که میزان طول ساقه در بین غلظت‌های مختلف متفاوت بوده در حالی که در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول در صفت تعداد ساقه تفاوت معنی-داری مشاهده نگردید (شکل های ۲ و ۴). مقایسه میانگین داده ها مربوط به فاکتور ارقام نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین طول ساقه را ارقام سیاه و اینه امجیی تولید نمودند و بین طول ساقه‌های تولید شده مابین ارقام طولاگوزو و حسینی، مابین دست ارچین و ریش بابا و مابین ریش بابا و اینه امجیی تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود نداشت (شکل ۲). با توجه به شکل ۲ که اثر ارقام و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول را باهم

نشان داده است در بالاترین غلظت پلی اتیلن گلیکول، ارقام طولاگوزو، رشه، حسینی و سیاه بیشترین تعداد ساقه را داشتند. همچنین ارقام ذکر شده بزرگترین طول ساقه‌ها را تولید نمودند. از آنجا که طول و تعداد ساقه شاخصی از بیوماس یک گیاه می‌باشد، می‌توان گفت این ارقام نسبت به سایر ارقام از مقاومت نسبتا مناسبی در برابر خشکی برخوردار هستند (شکل ۲). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به تعداد برگ نشان داد که از نظر مقدار این صفت بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود داشت (شکل ۱) و با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول از تعداد برگ کاسته می‌شد بطوری که بیشترین تعداد برگ مربوط به تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار با غلظت ۶۰ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول بود (شکل ۲). با توجه به شکل ۲ در غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول، بیشترین تعداد برگ را ارقام حسینی و طولاگوزو دارند از آن جا که وجود برگ برای انجام فتوسنتز و در ادامه آن افزایش محصول تأثیر مستقیم دارند می‌توان به این نتیجه رسید که این ارقام نسبت به خشکی مقاومتر هستند با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر ارقام در صفت تعداد برگ در سطح ۵٪ معنی-دار شده است.

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول بر صفات اندازه گیری شده در ارقام مختلف

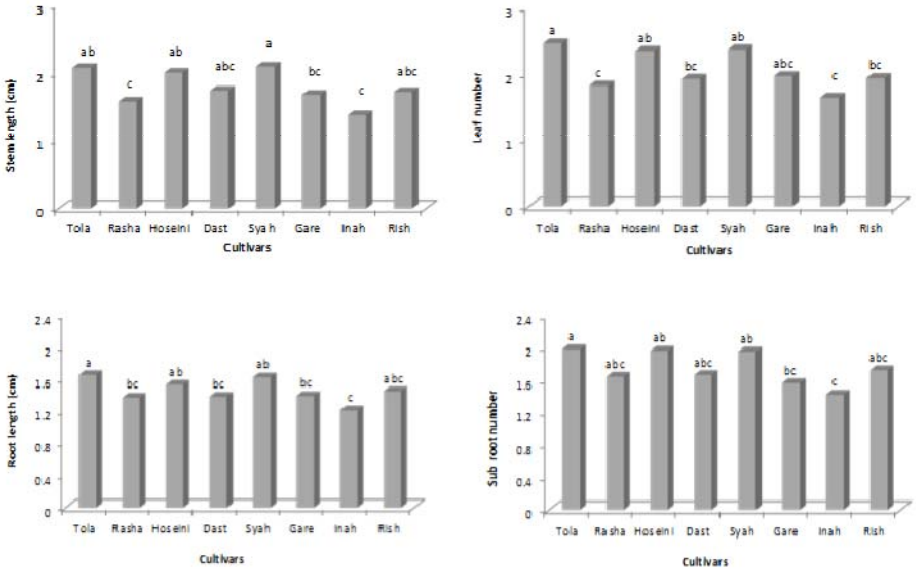
| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد ساقه | طول ساقه | تعداد برگ | تعداد ریشه | طول ریشه | تعداد ریشه فرعی | طول ریشه فرعی |
| تیمار | ۳۱ | ۰/۱۰۸* | ۲/۶۵* | ۳/۹۸* | ۰/۳۴۹* | ۱/۴۱* | ۲/۵۶* | ۰/۱۷۸* |
| فاکتور A | ۷ | ۰/۰۹۳ns | ۱/۲۷* | ۱/۶۸* | ۰/۱۸ns | ۰/۴۲۸* | ۰/۸۶* | ۰/۰۳۱ ns |
| فاکتور B | ۳ | ۰/۶۵۷* | ۲۹/۰۱* | ۳۳/۶۹* | ۲/۷۵* | ۱۲/۴۶* | ۲۲/۵* | ۱/۶۴* |
| فاکتور A × فاکتور B | ۲۱ | ۰/۰۳۴ns | ۰/۴۸ns | ۰/۵۰۲ns | ۰/۰۶۱ns | ۰/۱۶۸ns | ۰/۲۷ ns | ۰/۰۱۷ns |
| اشتباه | ۱۲۸ | ۰/۰۶۱۲ | ۰/۳۹۳ | ۰/۶۲۱ | ۰/۹۶ | ۰/۱۸ | ۰/۴۰۷ | ۰/۰۱۶ |
| ضریب تغییرات | | ۲۳/۴۳ | ۲۴/۸۷ | ۱۵/۳۸ | ۲۶/۶۷ | ۲۹/۲۵ | ۲۶/۶۷ | ۱۳/۶۳ |

* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns غیر معنی دار، فاکتور A: ارقام و فاکتور B: پلی اتیلن گلیکول

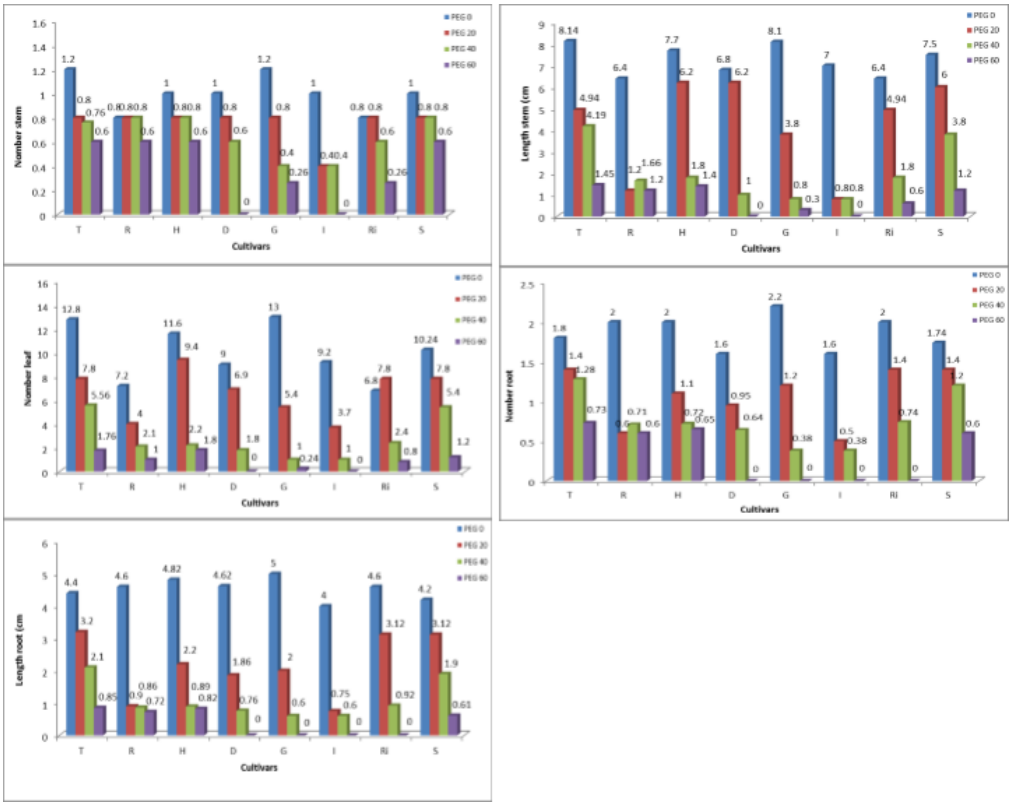
جدول ۲- جدول تجزیه واریانس تاثیر غلظتهای مختلف سوربیتول بر صفات اندازه گیری شده در ارقام مختلف

| منابع تغییر | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد ساقه | طول ساقه | تعداد برگ | تعداد ریشه | طول ریشه |
| تیمار | ۲۳ | ۰/۱۰۴* | ۱/۵۳* | ۲/۰۶* | ۰/۲۱۵* | ۰/۴۹۲* |
| فاکتور A | ۵ | ۰/۱۲۹* | ۰/۹۱* | ۱/۵۶* | ۰/۲۴۶* | ۰/۴۳۴* |
| فاکتور B | ۳ | ۰/۴۸۹* | ۹/۶۹* | ۱۲/۵۳* | ۱/۱* | ۲/۷۷* |
| فاکتور A × فاکتور B | ۱۵ | ۰/۰۱۸ns | ۰/۱۱۴ns | ۰/۱۳۴ns | ۰/۰۲ns | ۰/۰۵۵ns |
| اشتباه | ۹۶ | ۰/۰۵۸ | ۰/۲۷ | ۰/۳۹ | ۰/۰۶۸ | ۰/۱۰۶ |
| ضریب تغییرات | | ۱۷/۲۴ | ۲۸/۷۲ | ۲۱/۴۲ | ۲۵/۹۸ | ۱۹/۳۰ |

* معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns غیر معنی دار، فاکتور A: ارقام و فاکتور B: سوربیتول

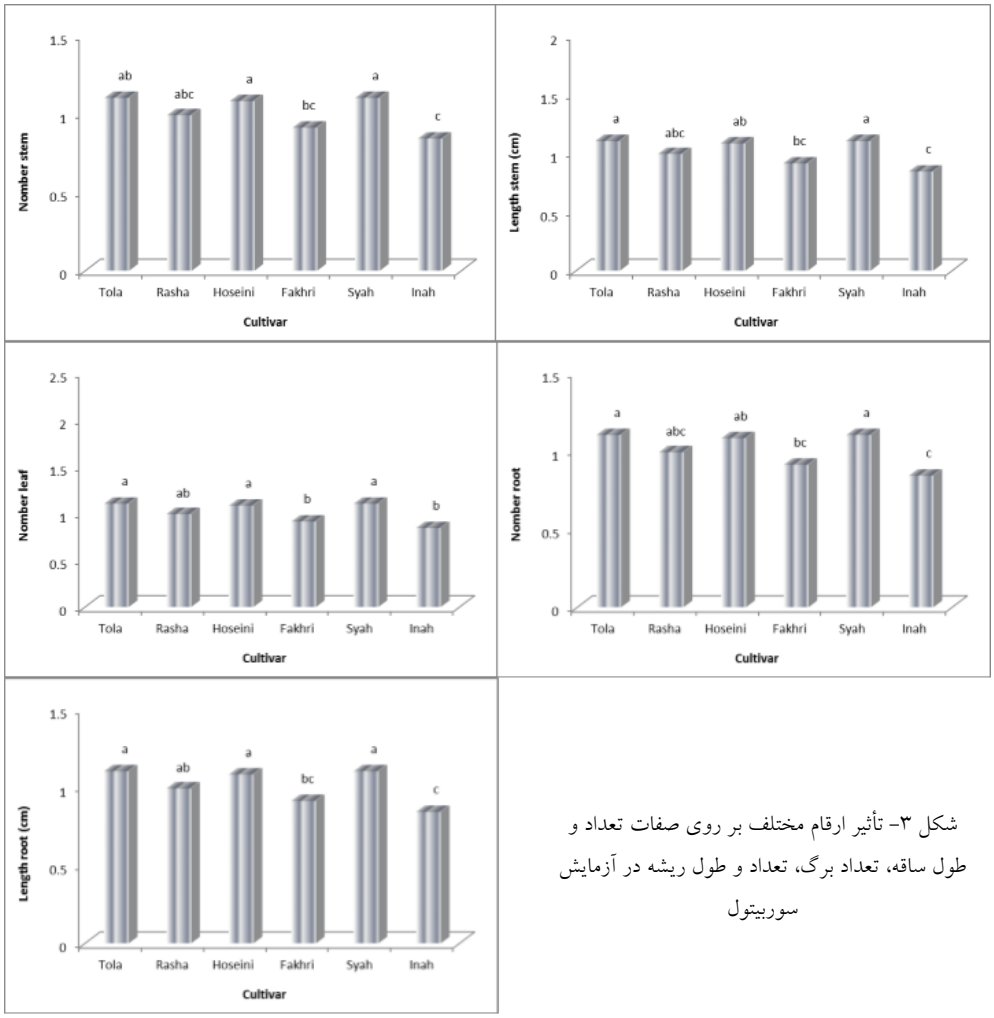



شکل ۱- تاثیر پلی اتیلن گلیکول بر فاکتورهای طول ساقه، تعداد برگ، طول ریشه و تعداد ریشه فرعی در ارقام مختلف

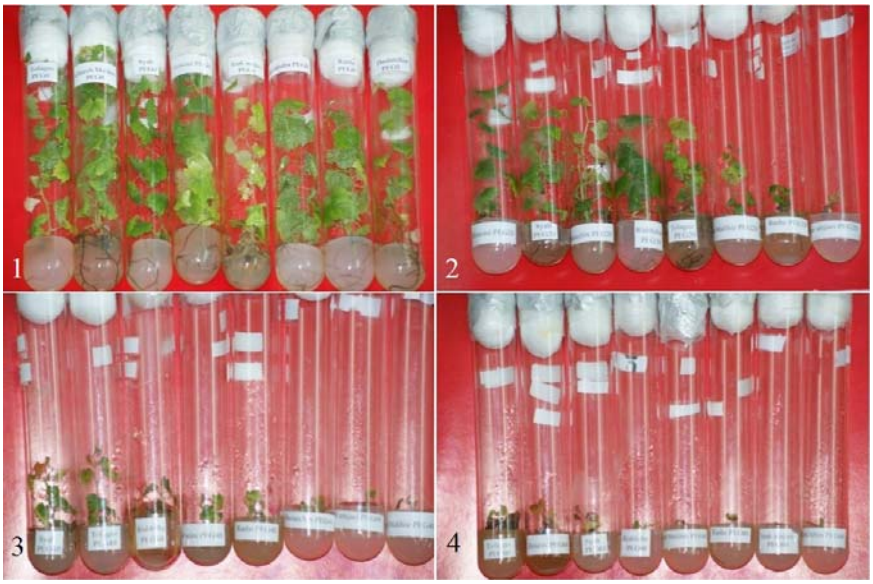



شکل ۲- تاثیر غلظتهای مختلف پلی اتیلن گلیکول بر طول ریشه در ارقام و صفات مختلف

T: طولاگوزو، R: رشه، H: حسینی، D: دست ارچین، G: قره ملیحی، I: اینه امجیی، Ri: ریش بابا، S: سیاه




شکل ۳- تأثیر ارقام مختلف بر روی صفات تعداد و طول ساقه، تعداد برگ، تعداد و طول ریشه در آزمایش سوربیتول

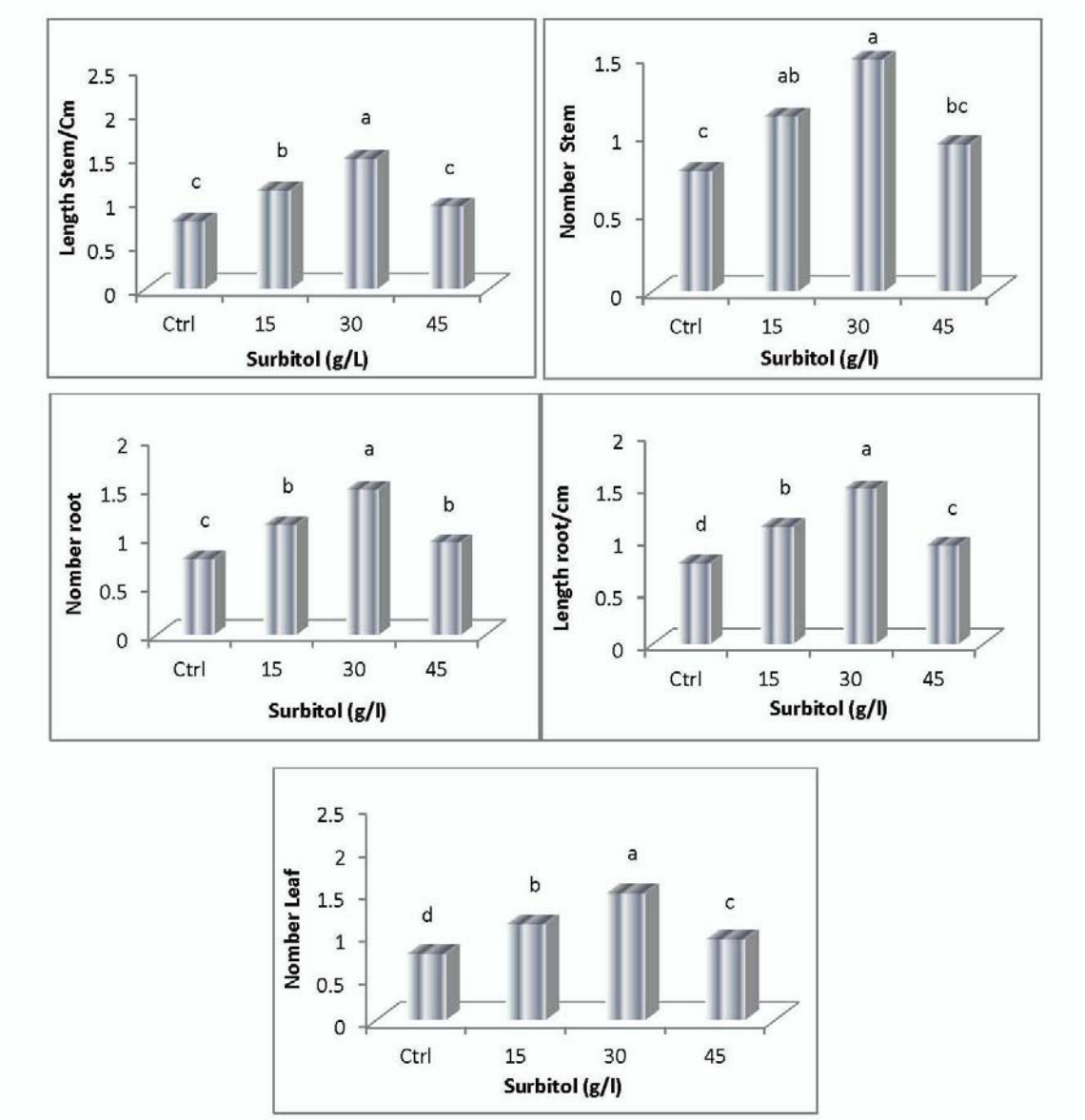



شکل ۴- رشد ارقام مختلف در محیطهای کشت حاوی پلی اتیلن گلیکول. ۱: شاهد، ۲: PEG ۲۰ گرم بر لیتر، ۳: PEG ۴۰ گرم برلیتر، ۴: PEG ۶۰ گرم بر لیتر

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین تعداد برگ را ارقام طولاگوزو و اینه امجیی با رشه تولید نمودند همچنین هیچ تفاوت معنی داری مابین ارقام سیاه و حسینی، دست ارچین و ریش بابا و نیز مابین رشه و اینه امجیی مشاهده نشد (شکل ۱). نتایج بررسی غلظت-های مختلف پلی اتیلن گلیکول بر روی خصوصیات رشد تعداد و طول ریشه نشان داد که با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول از تعداد و طول ریشه کاسته می‌شد. در مورد صفت طول ریشه بین غلظتهای مختلف تفاوت معنی‌دار مشاهده شد در حالی که در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول در صفت تعداد ریشه تفاوت معنی-داری مشاهده نگردید (شکل ۵). مقایسه میانگین داده‌های مربوط به فاکتور ارقام نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین طول ریشه را ارقام طولاگوز و اینه امجیی تولید نمودند. همچنین نتایج نشان داد که طول ریشه های تولید شده مابین ارقام سیاه و حسینی و مابین ارقام رشه، دست ارچین و اینه امجیی تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵٪ وجود نداشت (شکل ۱). با توجه به شکل ۲ که اثر ارقام و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول را با هم نشان داده است در بالاترین غلظت پلی اتیلن گلیکول، ارقام طولاگوزو، رشه، حسینی و سیاه بیشترین تعداد و طول ریشه را دارا می‌باشند. با توجه به اینکه در همه صفات مورد مطالعه در غلظت ۶۰ گرم بر لیتر، ارقام طولاگوزو، رشه، حسینی و سیاه بالاترین مقدار صفات را دارا هستند بنابراین متحمل ترین ارقام نسبت به خشکی می‌باشند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از نظر طول و تعداد ریشه‌های فرعی بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود دارد. تیمار شاهد و غلظت ۶۰ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول بترتیب بیشترین و کمترین تعداد و طول ریشه را تولید کردند. با توجه به جدول تجزیه واریانس اثر ارقام در صفت تعداد ریشه‌های فرعی در سطح ۵٪ معنی دار شده است (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین تعداد ریشه‌های فرعی را ارقام طولاگوزو و اینه امجیی تولید نمودند (شکل ۱). نتایج همچنین نشان داد که بین تعداد ریشه های فرعی تولید شده مابین ارقام سیاه و حسینی، ما بین رشه و دست ارچین و ریش بابا تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود نداشت (شکل ۱).

**تأثیر جداگانه غلظتهای مختلف سوربیتول و ارقام بر صفات اندازه گیری شده:** مقایسه میانگین داده‌های طول و تعداد ساقه نشان داد که در غلظت‌های مختلف سوربیتول تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود دارد (جدول ۲). تیمار شاهد و غلظت ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول به ترتیب کمترین و بیشترین تعداد و طول ساقه را داشتند و از نظر تعداد ساقه در بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول و همچنین شاهد و غلظت ۴۵ گرم در لیتر سوربیتول تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ مشاهده نگردید (شکل ۳). با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) که نشان داده بود که اثر ارقام در صفت طول ساقه در سطح ۵٪ معنی‌دار شده است مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین طول ساقه را ارقام سیاه و اینه امجیی تولید نمودند. نتایج همچنین نشان داد که بین طول ساقه‌های تولید شده توسط ارقام سیاه، طولاگوزو، حسینی و رشه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود نداشت همچنین بین ارقام اینه امجیی، فخری و رشه از نظر طول ساقه تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ مشاهده نگردید (شکل ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از نظر تعداد برگ بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود دارد. همچنین بترتیب بیشترین و کمترین تعداد برگ در تیمارهای غلظت ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول و شاهد مشاهده شد (شکل ۵). با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) که نشان داده بود اثر ارقام در صفت تعداد برگ در سطح ۵٪ معنی‌دار شده است مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بترتیب بیشترین و کمترین تعداد برگ را ارقام

سیاه و اینه امجیی تولید نمودند. نتایج همچنین نشان داد که بین تعداد برگ‌های تولید شده توسط ارقام سیاه، طولا گوزو، حسینی و رشه تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود نداشت. همچنین بین ارقام اینه امجیی، فخری و رشه از نظر تعداد برگ تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ مشاهده نگردید (شکل ۳).




شکل ۵ – تاثیر غلظتهای مختلف سوربیتول بر تعداد، طول ساقه، ریشه و تعداد برگ

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که از نظر طول و تعداد ریشه بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های مختلف سوربیتول تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود داشت. تیمار شاهد و غلظت ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول بترتیب کمترین و بیشترین تعداد و طول ریشه را داشتند و از نظر تعداد ریشه در بین گیاهان کشت شده در غلظت‌های ۱۵ و ۴۵ گرم در لیتر سوربیتول تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ مشاهده نگردید. از نظر طول ریشه بین تمامی غلظت‌های سوربیتول و شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود داشت (شکل ۳). با توجه به جدول تجزیه واریانس که

نشان داده بود اثر ارقام در صفت طول ریشه در سطح ۵٪ معنی دار شده است مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد و طول ریشه را ارقام سیاه و طولاگوزو و اینه امجیی تولید نمودند. نتایج همچنین نشان داد که بین طول ریشه‌های تولید شده توسط ارقام فخری و اینه امجیی و فخری و رشه تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ وجود نداشت همچنین از نظر تعداد ریشه بین ارقام اینه امجیی، فخری و رشه از نظر طول ساقه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ مشاهده نگردید (شکل ۳).

## بحث

نتایج نشان داد افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول شاخص-های رشدی را کاهش می‌دهد و این کاهش شاخص رشدی بسته به ارقام مختلف متفاوت بود که این امر متفاوت بودن مقاومت به خشکی ارقام مختلف را نشان داد بطوری که رقم اینه امجیی بعنوان یک رقم ضعیف و طولاگوزو، سیاه و حسینی ارقام مطلوبی ارزیابی شدند و بقیه ارقام در حد وسط بودند. ارقام مطلوب میتواند جهت کشت در مناطق با کمبود منابع آبی استفاده شود گرچه قبل از هرگونه توصیه جهت کشت بایستی آزمایشات مزرعه‌ایی و در شرایط طبیعی انجام گیرد. نتایج مطالعات انجام شده توسط سایر محققین، این نتایج را تأیید می‌کند برای نمونه می‌توان به مطالعه انجام شده توسط شاهین و همکاران در سال ۲۰۱۱، اشاره کرد، وی و همکارانش مطالعات فیزیولوژیکی بر روی تحمل تنش خشکی پایه‌های انگور انجام دادند آنها گیاهچه‌هایی که برروی آنها اشعه گاما تابانده شده بود را در محیط کشت دارای ۰، ۰/۵، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ باز کشت کردند نتایج نشان داد که با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول، زنده مانی گیاهچه های انگور کاهش می یابد طوری که در غلظت ۱۰ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول، گیاهچه ها بیشتر از یک هفته زنده نماندند (۱۸). از مطالعات دیگری که در رابطه با تنش خشکی در انگور انجام شده است می‌توان به مطالعه چولز و ماتز (۱۹۸۸)، اشاره کرد، چولز و ماتز از میزان رشد میانگره‌ها، برگ‌ها و پیچک‌های رقم انگور کشمشی در شرایط تنش خشکی به عنوان شاخصی برای انتخاب ارقام انگور متحمل به تنش خشکی استفاده کردند و نتیجه گرفتند که رشد میانگره‌ها، برگ‌ها و پیچک‌ها در شرایط تنش خشکی ناهماهنگ شده و حتی متوقف می‌شوند (۱۲). لبونی و همکاران (۲۰۰۶) ، اندام‌زایی بازوهای اصلی دو رقم انگور را همراه با تنش خشکی در شرایط گلخانه و مزرعه در شمال فرانسه مورد بررسی قرار دادند آنها نتیجه گرفتند که تعداد شاخه نسبت به کاهش آب خاک بسیار حساس بوده و نسبت ظهور برگ‌های جدید به رشد شاخه‌ها بسرعت کاهش یافت همچنین کاهش شدید سطح برگ در تنش خشکی در هر دو رقم مشاهده شد که به عنوان فاکتور تحمل به تنش خشکی بحساب می‌آید (۱۰). ناتور و همکاران (۱۹۹۳) اظهار نمودند که اثرات اصلی آبیاری بر عملکرد و ترکیب میوه انگور غیرمستقیم بوده و در ارتباط با تغییرات رشد رویشی، تاج گیاه و میزان محصول آن می باشد به طوریکه با کاهش میزان آبیاری میزان رشد گیاه به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. تجزیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری تعداد برگ، وزن و مقدار قند حبه‌ها نشان داد که با اعمال تنش خشکی تعداد برگ، میزان قند حبه‌ها کاهش یافته و اندازه حبه‌ها کوچکتر گردید. این نتایج در آزمایش‌های تأثیر تنش‌های خشکی بر فشار اسمزی ارقام هسلینگ و سیلوانر نیز بدست آمد. بررسی کالوس‌های بدست آمده از قطعات فوقانی ساقه نخل خرما در محیط کشت MS حاوی ده میلی گرم نفتالین استیک اسید و یک و نیم میلی گرم ایزوپنتیل آدنین بهمراه غلظت های متفاوت صفر تا سی درصد پلی اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ برای القای تنش خشکی نشان داد که با افزایش سطوح پلی اتیلن گلیکول سرعت رشد نسبی، شاخص تحمل و محتوای آب کالوس در ارقام مورد مطالعه به طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (۱). در آزمایشی دیگر بمنظور مطالعه تأثیر هورمون و محیط کشت

بر پتانسیل ریز ازدیادی پایه رویشی GF677، آن را در سه نوع محیط کشت شامل WPM، MS و DKW با دو هورمون بنزیل آمینو پورین(BAP ) و نفتالین استیک اسید(NAA ) با غلظت‌های صفر، ۵/ و یک میلی گرم در لیتر کشت داده و بالاترین میانگین تعداد ریشه و طول ریشه از محیط WPM با استفاده از غلظت ۵/ میلی گرم در لیتر NAA و بدون استفاده از هورمون BAP بدست آمد (۲).

نتایج آزمایشات نشان داد که با افزایش میزان سوربیتول از صفر به ۳۰ گرم در لیتر میزان رشد در ارقام مختلف افزایش یافته و پس از آن کاهش نشان می دهد که با نتایج حاصل از آزمایشات زیر کاملا همخوانی دارد. تاثیر مثبت سوربیتول بر رشد شاید به خاطر خاصیت کربوهیدراتی آن باشد به طوریکه در کشت بافت گیاهان، عملکرد کلروپلاست به عنوان منبع انرژی کاهش پیدا می کند و تأمین کربوهیدرات مورد نیاز از محیط کشت ادامه می‌یابد بعلاوه رشد و آغازش ریشه به انرژی بیشتری نیاز دارد که آن می‌تواند با مصرف مواد متابولیکی که هیدرات کربن هستند تأمین شود (۴و۲۳). توقیر و همکاران (۲۰۰۷) ، تأثیر دو منبع کربن (سوربیتول و ساکاروز) در شرایط درون شیشه ای بر روی باززایی شاخساره و ریشه پایه هلوی GF677 را با غلظت‌های ۱۵، ۳۰ ، ۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر مقایسه کردند (۲۴). بیشترین تعداد شاخساره باززایی شده از هر ریز نمونه و بیشترین وزن تر شاخساره و نیز بیشترین تعداد و درصد ریشه زایی در ۳۰ گرم در لیتر سوربیتول به دست آمد. آنها در نهایت نتیجه گرفتند که برای باززایی شاخساره و ریشه‌ی هلوی GF677 سوربیتول منبع بهتری نسبت به ساکاروز می‌باشد. در آزمایشی دیگر از ساکارز، لاکتوز، سوربیتول و مانیتول به عنوان منبع کربن در ریزازدیادی انگور جهت بررسی میزان مقاومت به خشکی استفاده شد و مشاهده شد که در غلظت ۴٪ سوربیتول علائمی از قبیل اپی ناستی، کاهش نمو و توسعه ریشه و نیز قرمز شدگی برگ‌ها ظهور می‌یابند (۲۲). شاوکی و همکاران (۲۰۰۷) ، در آزمایش خود از غلظت ۴۰ گرم بر لیتر سوربیتول و مانیتول به عنوان عامل تنش اسمزی جهت بررسی میزان باززایی *Cynara scolymus* L استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که سوربیتول و مانیتول رشد و نمو گیاه مذکور را به تعویق می‌اندازد آنها مشاهده نمودند که با گذشت زمان (از ۱ تا ۶ ماه) درصد گیاهچه-هایی که روی این محیط‌ها زنده می‌مانند کاهش می‌یابد (۱۹). اختلاف بین مانیتول و سوربیتول در بروز دادن این ویژگی‌ها معنی‌دار نبود و آنها تأثیر مشابهی روی این گیاه داشتند.

## نتیجه گیری

طبق نتایج بدست آمده افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول شاخص‌های رشدی را کاهش داد. کاهش شاخص‌های رشدی در واکنش به غلظت های مختلف پلی اتیلن گلیکول بسته به ارقام متفاوت بود. با اعمال تیمار پلی اتیلن گلیکول جهت ارزیابی مقاومت به خشکی، رقم اینه امجیی بعنوان یک رقم ضعیف و رقم طولاگوزو، سیاه و حسینی ارقام مطلوبتری نسبت به تحمل تنش خشکی ارزیابی گردید و بقیه ارقام در حد وسط بودند. همچنین نتایج کاربرد سوربیتول روی ارقام مختلف نشان داد که آنها به غلظت‌های مختلف واکنش متفاوتی نشان دادند. بطور کلی اکثر ارقام در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر سوربیتول رشد ایده‌آل نشان دادند.

## منابع

۱ – اکبری ح.، چقامیرزا ک. و فرشادفر ع. ۱۳۹۵. بررسی تحمل به خشکی ژنوتیپ های گندم دوروم در شرایط درون شیشه ای. مجله پژوهش های گیاهی. ۲۹ (۲): ۲۸۵-۲۷۳

۲ – بلندی ا.، حمیدی ح. و رضاقلی ع. ۱۳۹۵. تاثیر محیط کشت و هورمون بر تکثیر پایه رویشی GF677 در کشت درون شیشه ای. ۲۹ (۱): ۱۴-۱

3- Dami, I. and G. H. Haghes. 1997. Effect of PEG induced water stress on in vitro hardening of "Valiant" gape irrigation treatments on plant and soil moisture. South African Journal for Ecology and Viticulture 2(2): 83- 99

4- De Klerk, G.J.M. and A. Calamar. 2002. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 70: 207-212.

5- FAO. 2010. Faostat agricultural statistics database. Retrived from http://www.fao.org.

6- Higgs K.H., and Jones H.G. 1990. Response of apple rootstocks to irrigation in south–east England. Journal of Horticultural Science, 65: 129-141.

7- Itali, C. & A. Benzioni. 1976. Water stress and hormoneresponse in water and plant life (ed O.L. Lange, L. Kappen and E.D. Schultz) Springer Verlag, Berlin. PP 225.

8- Kulkarni, M., Deshpande, U. 2007. In Vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. African Journal of Biotechnology, Vol. 6 (6): 691-696.

9- Lagerwerff, J. V. G. Ogata and H. E. Eagle. 1961. Control of osmotic pressure of culture solutions with Polyethylen Glycol. Science, 133: 1486-1787.

10- Leboni, E., Pellegrino, A., Louarn, G., and Lecoeur, J. 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera*) Annals of Botany 98: 175-185.

11- Lemos, E.E.P. and D.A. Baker. 1998. Shoot regeneration in response to carbon source on internodal explants of Annona muricata L. Plant Growth Regulation, 25: 105-112

12- Macar, T. K., T. Ozlem and Y. Ekmekci. 2009. Effect of deficit induced by PEG and NaCl on chickpea Cicer arientinum L. cultivars and lines at early seedling stages. Gazi University Journal of Science. 22(1): 5-14.

13- Matthews, M. A and Anderson, M. M. 1989. Reproductive development in grape (*Vitis vinifera* L.): response seasonal water deficits. American Journal of Enology and Viticulture, 40: 52-60.

14 - Moing, A., F. Carbonne, M.H. Rashad and G. Jean-Pierre. 1992. Carbon fluxes in mature peach leaves. Plant Physiology. 100: 1878-1884.

15 - Pellegrino, E., Lebonw, T., Simonneau, W., and Wery, J. 2005. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 47: 97-10

16 - Rasoli V., Fadaii M., Nejatian M., Gol mohamadi M., Hoseni by K. 2012. Preliminary selection of drought tolerance Russian grape varieties based on morphological markers. Research on Agriculture and Natural Resources. 14: 80-88

17 - Selote D.S., and Khanna-Chopra R. 2004. Drought-induced spiked sterility is associated with and inefficient antioxidant defense in rice panicles. Physiologia Plantarum.121 (3): 462-471.

18 - Shahin, M., abddel Gavad. M.H. abd elzaher, F.G. Ghobrialand El shaima M El botaty. 2011. Physiological studies on drought stress tolerance of gamma irradiated grape rootstock using tissue culture. Horticultural Science and ornamental plants 3(1): 22-28.

19 - Shawky, B., Ibrahimali, U. 2007. In vitro conservation of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) germplasm. Int. J. Agri. Biol. Vol. 9(3): 404-407.

20 - Sinclair, J.W. and D.H. Byrne. 2003. Improvement of peach embryo culture through manipulation of carbohydrate source and pH. Horticultural Science. 38(4): 582-585.

21 - Stoop, J.M.H. and D.M. Pharr. 1993. Effect of different carbon sources on relative growth rate, internal carbohydrates, and mannitol 1-oxidoreductase activity in celery suspension cultures. Plant Physiology. 103: 1001-1008.

22 - Tanne, E., Spiegel-Roy, P., Shlamovitz, N. 1996. Rapid in vitro indexing of Grapevine viral diseases: the effect of stress- inducing agents on the diagnosis of leaf roll. American Physiology Science. Vol. 80(9): 972-974.

23 - Thorpe, T.A. 1982. Carbohydrate utilization and metabolism. In: Tissue Culture in Forestry. (Eds.): J.M. Bonga and D.J. Durzan. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, The Hague. pp: 325-368.

24 - Touqeer, A., N, Abbasi., I, Hafizanda, A,. 2007. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. Pakistan Journal of Botany. 39(4): 1269-1275

# Study on Drought Resistance of Several Grapevine Cultivars under *In-vitro* Conditions

**Arshad M.**

**Dept. of Horticultural sciences, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, I.R. of Iran**

## Abstract

In this study, effect of different concentrations of poly ethylene glycol and sorbitol on varieties of grape: Tola-Gozo, Syah, Inah-Amjaei, Rishbaba, Garamalihi, Hoseini, Dast-Archin and Rasha were evaluated and growth indices such as the number and length of shoot, number of leaf, the number and length of root and number and length of sub root were measured. Analysis of variance showed that effect of cultivars were significant on length of stem, numbers leaf, length of root and numbers of sub root ($P<0.05$). The effect of polyethylene glycol on all traits were significant, too. The results showed that increasing the concentration of PEG reduced the growth. So that at concentration of 60 g $l^{-1}$, the lowest growth were observed. In contrast, the largest increase in growth were observed in the control treatment. Decrease growth in medium containing PEG in the different cultivars were different which showed that the different varieties show different resistance to drought. Comparison of mean as to cultivars showed that Tola-Gozo and Inah-Amjaei produced the highest and lowest number leaf, length root and number sub root, respectively. In all traits at concentration of 60 g $l^{-1}$ of Tola-Gozo, Syah, Hoseini and Rasha cultivars have the highest amount of characters, so most tolerant to drought. The results of analysis of variance showed on sorbitol, cultivars effect and sorbitol effect on all traits were significant at the 5% level. Whereas, the interaction effects were not significant. Control and concentration of 30 grams per liter of sorbitol. The lowest and highest have in number and stem length, leaf number, and the number and length of roots, respectively. Comparison of Sorbitol data showed the highest and lowest value Syah, Inah-Amjaei is produced, respectively.

**Key words:** PEG, Drought, Grape, Sorbitol