

## پاسخ ریزنمونه‌های انگور رقم بی‌دانه سلطانی به محیط‌های کشت مختلف

رحیم حداد\*، قاسمعلی گروسی و مریم قنادنیا<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۲/۲۹)

### چکیده

برای بررسی اثر ترکیب‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین (IBA, NAA) و سایتوکینین (BAP, TDZ)، نمک‌های پایه (MS, WPM, NN) و جامد کننده (Gelrite, Plant Agar) روی رشد و نمو ریزنمونه در گیاه انگور رقم بی‌دانه سلطانی، آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. ویژگی‌های تعداد شاخساره تشکیل شده و طول آنها به عنوان دو ویژگی اصلی بررسی گردیدند. نتایج تجزیه واریانس برای پرآوری شاخه، تفاوت معنی‌داری را در سطح ۱٪ برای تیمارهای نمک‌های پایه و تنظیم‌کننده رشد نشان داد. بیشترین طول شاخساره تولید شده پس از ۱۸ روز کشت ریزنمونه‌ها، ناشی از اثر نمک پایه MS و تنظیم‌کننده‌های رشد BAP (۲/۲ mg/l) و IBA (۰/۵ mg/l) بود. جامد کننده Gelrite اثر بهتری در رشد طبیعی شاخساره نسبت به Plant Agar از خود نشان داد. ترکیب نمک و تنظیم‌کننده رشد بر اساس شاخه‌های تولید شده، می‌تواند مبنای تکثیر انگور بی‌دانه در شرایط درون شیشه‌ای (*in vitro*) قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: انگور بی‌دانه، شاخه رویی، نمک پایه، تنظیم‌کننده رشد، جامد کننده

### مقدمه

و صنعت است. در روش‌های نوین برای تکثیر و بهنژادی ارقام انگور، از کشت بافت استفاده می‌گردد. روش‌های مختلف کشت بافت و تثبیت چرخه پایدار زندگی این گیاه در آزمایشگاه، مقدمات لازم برای بهنژادی را فراهم می‌سازد. در بررسی‌های اخیر انجام شده در خصوص کشت مریستم ارقام مختلف انگور، نتایج قابل توجهی به دست آمده است. در سال ۱۹۹۸ در فرانسه (۱۷) برای بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر اندام‌زایی، از نواحی مریستمی جوانه‌های در حال استراحت طی ماه‌های آبان الی اردیبهشت استفاده شد. در این بررسی از GA3، BAP و IBA به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر استفاده گردید. پس از کشت به مدت ۶ تا ۷ هفته، پنبه شکل گرفته و

انگور یکی از محصولات باغی مهم و مورد توجه جهانیان بوده و کشورهای زیادی به کشت آن مشغول هستند. ایران با تولید کل ۲۸۰۰،۰۰۰ تن در سطحی معادل ۲۷۵،۰۰۰ هکتار و میانگین تولید ۱۰،۱۸۱ کیلوگرم (۴) جزو ۷ کشور برتر دنیا محسوب می‌گردد (۲). این گیاه یکی از قدیمی‌ترین محصولات باغی، مورد استفاده بشر بوده و از ارزش غذایی و دارویی بسیار بالایی برخوردار است. هم‌چنین در صنایع تبدیلی اهمیت داشته و جنبه‌های مصرفی مختلفی از فرآورده‌های آن در صنعت قابل ذکر است. در ایران نیز ارقام مختلفی از این گیاه کشت گردیده و موجب اشتغال‌زایی ویژه‌ای در زمینه کشاورزی

۱. به ترتیب استادیاران و کارشناس ارشد زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: raheemhaddad@yahoo.co.uk

نمک‌های پایه MS، MS/2 و WPM در پرآوری و بهینه‌سازی غلظت آنها بر دو رقم انگور بی دانه سفید (بی دانه) و شاهرودی (دانه دار) مورد بررسی قرار گرفت (۱). در نتیجه کار، تنظیم کننده رشد BA با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر در رقم بی دانه سفید و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA در رقم شاهرودی در محیط کشت MS بهترین نتایج را در مرحله پرآوری نشان دادند. با توجه به مجموعه نتایج چند دهه اخیر، اقدام اساسی برای انتقال ژن به درون سلول این نبات، پس از همسانه‌سازی ژن مورد نظر، استفاده از سیستم‌های کشت بافت تثبیت شده می‌باشد. در طرح حاضر، ضمن توجه به نتایج سایر بررسی‌های انجام شده، اثر نمک‌های معدنی، تنظیم کننده‌های رشد مختلف و جامد کننده‌ها بر ریزنمونه‌های انگور بی دانه برای رشد جوانه و پرآوری شاخه و اثر این عوامل بر رشد و نمو ریزنمونه‌های مورد بررسی نشان داده شده و در پایان محیط مناسب برای ریزفزایی رقم مورد بررسی معرفی گردیده است.

### مواد و روش‌ها

در این بررسی از انگور رقم "بی دانه سلطانی" (Bidaneh Soltani) تهیه شده از مجموعه ذخائر انگور بی دانه سازمان جهاد کشاورزی استان قزوین استفاده شد. در بررسی‌های مقدماتی، اثر دو جامد کننده محیط کشت به نام‌های Gelrite (Gelrite Gellan Gum, G1910, SIGMA) و Plant Agar (P1001, Duchefa) مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثر تیمارها (۳ نمک، MS، Murashige and Skoog؛ Woody Plant Medium: WPM، Nitch and Nitch؛ ۳ تنظیم کننده رشد ترکیبی NAA با BAP (۸)، IBA با BAP (۱۷)، و TDZ تنها (جدول ۱)، یک آزمایش فاکتوریل ۳ × ۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی تدوین گردید. برای هر تیمار آزمایش، تعداد ۱۲ ریزنمونه حامل گره در داخل شیشه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری (هر شیشه ۲ ریزنمونه) نگه‌داری شدند. یادداشت‌برداری ویژگی‌ها از ۶ ریزنمونه (۶ تکرار، به تصادف

شاخه‌زایی نمود. نتیجه مهم این بررسی، رشد بهتر ریزنمونه‌های شاخه‌های آبان ماه بوده است. در مطالعه‌ای دیگر برای تشکیل ساقه از جوانه‌های جانبی سه رقم انگور (Early Superior, Flame و King Ruby) استفاده شد (۱۵). در بین ترکیب‌های محیط کشت مورد بررسی، بهترین ترکیب نمک MS به همراه ۰/۲ میلی‌گرم BA، ۳۰ گرم ساکاروز و ۷ گرم در لیتر آگار برای رقم Flame بود. نوشاخساره‌ها برای بررسی اثر تنش شوری مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند. در سال ۱۹۹۹ برای کنترل مواد فنولی حاصل از کشت بافت، از ریزنمونه میانگه انگور استفاده گردید (۳). پینه تولید شده در محیط کشت MS محتوی غلظت‌های مختلف بور ( $H_3BO_3$ ) به میزان ۰-۶۰۰ میلی‌مولار و آلومینیوم ( $AlCl_3$ ) به میزان ۰-۸۵ میلی‌مولار رشد داده شد. با افزایش غلظت بور، مقدار برخی مواد فنولی کاهش و در مقابل با افزایش آلومینیوم، افزایش یافت. در بررسی دیگری (۹) از جوانه‌های جانبی سه رقم زراعی انگور (Cultivar) ۳ ماهه که در گلخانه رویانده شده بودند، به عنوان ریزنمونه استفاده گردید. گره‌ها به طول ۱-۵/۰ سانتی‌متر حامل جوانه جانبی، استفاده شدند. آزمایش‌های پایه شامل ۳ آزمایش مختلف جداگانه بود که طی آن اثر نمک‌ها، تنظیم کننده‌های رشد و برخی عناصر بررسی گردید. هر جوانه جانبی در محیط کشت نمک‌های NN، حاوی تنظیم کننده‌های رشد BAP و NAA، ویتامین و برخی نمک‌های دیگر معدنی قرار گرفت. در این بررسی ترکیب دو نمک فسفات سدیم و پانتوتنات کلسیم موجب تولید خوشه‌ای شاخساره گردید. ساقه‌های طویل شده را پس از ریشه‌زایی به گلخانه منتقل کردند.

در ایران تکثیر انگور اصولاً از طریق قلمه و یا روش‌های دیگری مانند انواع پیوند، خوابانیدن و به ندرت توسط بذر (برای امور اصلاحی و ژنتیکی) صورت می‌گیرد. علاوه بر روش‌های فوق تولید این گیاه به روش‌های جدید (ریز ازدیادی) با اهداف مختلف در حال گسترش است. در یکی از این بررسی‌ها اثر تنظیم کننده‌های رشد IBA، BA و  $GA_3$

جدول ۱. ترکیب‌های مختلف نمک‌ها، تنظیم‌کننده رشد و مواد مورد استفاده در شاخه رویی

نام ترکیب‌ها	محیط‌های کشت انگیزش شاخساره‌زایی				
	SIM-I	SIM-II	SIM-III	SEM	RIM
نمک‌های MS	×۱			۱/۲	۱/۲
نمک‌های WPM		×۱			
نمک‌های NN			×۱		
Sucrose (g/l)	۲۰	۲۰	۲۰	۱۵	۱۵
Calcium Pantothenate (mg/l)	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸	۲/۳۸
PVP-10T (g/l)	۱	۱	۱	۱	۱
Ascorbate (mg/l)	۱/۷۶	۱/۷۶	۱/۷۶	۱/۷۶	۱/۷۶
Biotin (mg/l)	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
Riboflavin (mg/l)	۳/۷۶	۳/۷۶	۳/۷۶	۳/۷۶	۳/۷۶
Cysteine (mg/l)	۱۶/۱۸	۱۶/۱۸	۱۶/۱۸	۱۶/۱۸	۱۶/۱۸
Monobasic sodium phosphate (mg/l)	۱۶۸	۱۶۸	۱۶۸	۱۶۸	۱۶۸
Gelrite (g/l)	۲/۲۵	۲/۲۵	۲/۲۵	۲/۲۵	۲/۲۵
pH	۵/۷	۵/۷	۵/۷	۵/۷	۵/۷
NAA (mg/l)					۰/۴
تیمارهای تنظیم‌کننده رشد					
۱- (BN): BAP (۱/۲۶ mg/l) + NAA (۰/۰۹ mg/l)	*	*	*		
۲- (BI): BAP (۲/۲ mg/l) + IBA (۰/۵ mg/l)	*	*	*		
۳- TDZ (۰/۰۵ mg/l)	*	*	*		

علامت \* نشان دهنده استفاده از ترکیب تنظیم‌کننده رشد مربوطه به عنوان تیمار در رشد شاخساره همراه با استفاده از تنها یکی از نمک‌ها می‌باشد. (SIM: Shoot Induction Medium یا محیط کشت انگیزش شاخساره، SEM: Shoot Elongation Medium یا محیط کشت طولی شدن شاخساره؛ RIM: Root Induction Medium یا محیط کشت انگیزش ریشه).

فصل بهار نیز از ریزنمونه‌های محیطی استفاده گردید. برای گندزدایی ریزنمونه‌های بهاره، ساقه‌های گیاهی ابتدا به مدت ۱ ساعت در آب روان قرار داده شدند. پس از آن به ترتیب و جداگانه توسط قارچ کش ریدومیل (۵ g/l) به مدت ۷ دقیقه، سدیم هیپوکلرایت ۱٪ حاوی توئین ۸۰ (۱ قطره در هر ۱ میلی‌لیتر سدیم هیپوکلرایت) به مدت ۱۰ دقیقه و کلرور جیوه ۰/۱٪ به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شده و پس از ۳ بار آب‌کشی به قطع‌های با طول ۱ سانتی‌متر تقسیم و به محیط‌های کشت منتقل گردیدند. ترکیب محیط‌ها کشت ضمن استفاده از نتایج و توصیه برخی تحقیقات (۸، ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲) در جدول ۱ نشان

از یکی از ۲ ریزنمونه ۶ شیشه) صورت گرفت. از آنجا که زمان شروع طرح مصادف با اوایل پاییز بود، برای تهیه ریزنمونه‌های مورد نیاز آزمایش، پس از چند آزمایش ابتدایی، به جوانه‌ها شوک سرما داده و پس از جوانه‌زنی، از جوانه و برگ آنها به عنوان ریزنمونه استفاده گردید. برای این کار، شاخساره‌های ۲ ساله چوبی حاوی سه گره را ابتدا به مدت ۱۵ روز در دمای ۴°C قرار داده و پس از ۴۸ ساعت حمام آب‌گرم ۳۵°C و گند زدایی با قارچ کش ریدومیل (۵ g/l)، در آمیخته‌ای از ماسه و خاک برگ به نسبت مساوی، در آزمایشگاه با دمای ۲۷°C کشت داده شد (۱۴). در تداوم اجرای برخی آزمایش‌ها در

گردیده (۱۵)، به نظر می‌رسد بررسی دقیق‌تر جامد کننده Gelrite با غلظت‌های مختلف مفید باشد. مطالعات اولیه و مشاهده‌ای با استفاده از محیط کشت پایه (جدول ۲، محیط کشت SIM-I و تنظیم کننده رشد BN) نشان داد که رشد نوک شاخساره‌های (Shoot tips) ساقه سبز انگور با جوانه‌های جانبی (Auxillary buds) آن در محیط کشت متفاوت است. نوک شاخساره‌ها با وجود داشتن ناحیه مریستم فعال، استقامت لازم برای استقرار در محیط کشت شاخه‌رویی را نداشتند. تمام نوک شاخساره‌های مورد استفاده در آزمایش اولیه از بین رفتند. درحالی که جوانه‌های جانبی با فاصله تقریبی دست کم ۲۰ سانتی‌متر از نوک ساقه برای رشد در محیط کشت مناسب تشخیص داده شدند. چنین شاخساره‌هایی با ضخامت دست کم ۰/۴ سانتی‌متر از خود بهتر عکس‌العمل نشان می‌دهند (تصویر ۱ - الف).

پس از به دست آمدن نتایج یاد شده، رشد شاخه در ترکیب‌های مختلف محیط کشت آزمایش شد (جدول ۱). در این ترکیب‌ها، پانتوتنات کلسیم و فسفات سدیم برای افزایش شاخه‌زایی (۸)، PVP برای جذب مواد فنلی و اسکوربیت به عنوان ضد اکسنده برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد (۹)، بیوتین برای کمک به سوخت و ساز سلول (۵ و ۱۱)، ریبوفلاوین برای تسریع رشد بافت (۶ و ۱۱)، سیستین برای پاکسازی عناصر سنگین و ترمیم سلول (۷ و ۱۰) به کار برده شدند. برای انجام آزمایش، به استثنای ترکیب WPM/BN، برای سایر تیمارها ابتدا ۱۲ عدد ریزنمونه کشت داده شد (جدول ۲). از بین ریزنمونه‌های یاد شده جوانه جانبی، دست کم ۷۵٪ آن‌ها فعال شده و باززایی شاخساره کردند (تصویر ۱ - ب). تعداد ۶ عدد از ریزنمونه‌ها به طور تصادفی گزیده شده و طول شاخساره‌های رشد کرده اندازه‌گیری و ثبت و به عنوان ۶ تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (جدول ۲). مجموعه جوانه‌های به دست آمده شکل طبیعی و شادابی داشتند. محدوده طول شاخساره‌های تولید شده در مدت زمان ۱۸ روز پس از استقرار در محیط کشت ۱۴/۷-۳/۲ سانتی‌متر برای ۶ عدد

داده شده است، به طوری که در کلیه آزمایش‌ها به غیر از نمک‌های پایه و تنظیم کننده‌های رشد، ترکیب ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه یکسان بود. برای تهیه محیط‌ها کشت مورد نیاز، پس از اضافه کردن مواد مختلف، pH آنها در ۵/۷ تنظیم و پس از اضافه نمودن جامد کننده، در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ دقیقه گندزدایی و پس از خنک شدن تا دمای تقریبی  $50^{\circ}\text{C}$ ، تنظیم کننده‌های رشد با فیلتر سر سرنگی  $0.2\ \mu\text{m}$  به محیط کشت اضافه گشته و مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارها در اتاق رشد در شرایط روشنایی و تاریکی متناوب، به ترتیب به مدت ۱۶ و ۸ ساعت در دمای ۲۵ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰٪ پرورش یافتند. ویژگی طول شاخساره‌های تولید شده به عنوان ویژگی اصلی این بخش از آزمایش ثبت گردید. شاخساره‌های به دست آمده را به مدت ۴-۳ روز به محیط کشت ریشه‌زایی RIM (Root Induction Medium) منتقل نموده و سپس برای طول شدن شاخه به مدت ۲۰-۱۰ روز به محیط رشد طولی شاخساره SEM (Shoot Elongation Medium) منتقل شدند. ساقه‌های ریشه دار شده، به ترکیب مناسب خاک شامل یک چهارم خاک برگ، یک چهارم خاک مزرعه و یک دوم ماسه در داخل گلدان منتقل گردیدند. برای تقویت گیاهان از کود مایع ترکیبی آماده استفاده گردید. علاوه بر بررسی‌های مشاهده‌ای، نتایج به دست آمده از آزمایش فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها به تفکیک هر عامل و به روش دانکن صورت گرفت.

## نتایج و بحث

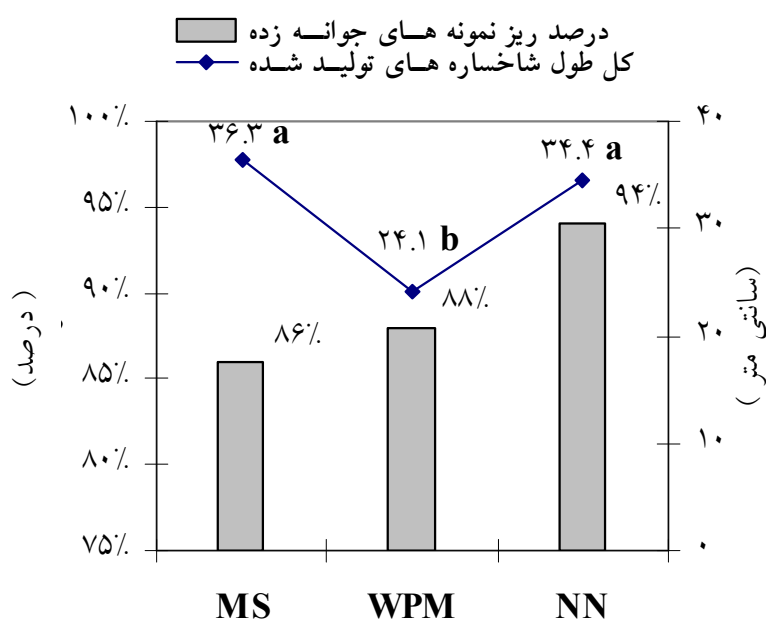
در بررسی مشاهده‌ای جامد کننده‌های محیط کشت، نتیجه آزمایش رشد بهتر ریزنمونه‌های گره در محیط Gelrite بود. در غلظت پایین این جامدکننده گیاهان حالت شیشه‌ای داشتند، لذا غلظت آن به ۰/۲۲۵٪ افزایش داده شد. این نتیجه در گزارش پژوهشگر دیگری نیز به چشم می‌خورد (۱۶) که افزایش غلظت جامد کننده Gelrite را تا ۰/۲۶٪ مناسب تشخیص داده است. اگر چه در برخی پژوهش‌ها میزان ۷ گرم در لیتر آگار نیز توصیه

جدول ۲. تأثیر نمک و ترکیب تنظیم‌کننده رشد بر روی طول شاخساره تولید شده

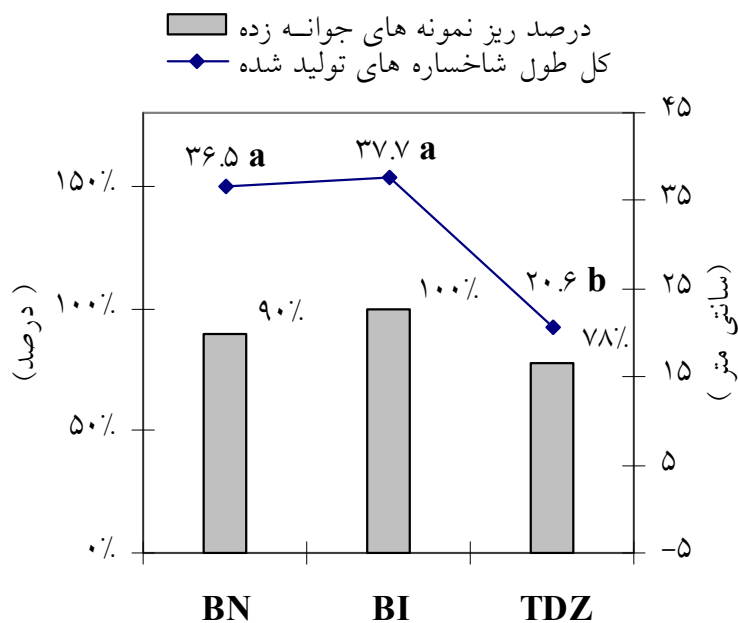
نوع محیط کشت	ترکیب تنظیم‌کننده رشد	تعداد ریزنمونه مورد بررسی	تعداد ریزنمونه جوانه زده	تعداد ریزنمونه مورد بررسی برای مجموع طول شاخساره تولید شده	مجموع طول شاخساره تولید شده (سانتی‌متر)
MS	BN	۱۲	۱۲	۶	۱۳/۵
	BI	۱۲	۱۲	۶	۱۴/۷
	TDZ	۱۲	۷	۶	۸/۱
WPM	BN	۹	۸	۶	۹/۸
	BI	۱۲	۱۲	۶	۱۱/۱
	TDZ	۱۲	۹	۶	۳/۲
NN	BN	۱۲	۱۰	۶	۱۳/۲
	BI	۱۲	۱۲	۶	۱۱/۹
	TDZ	۱۲	۱۲	۶	۹/۳

ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد BI (جدول ۱) به عنوان مناسب‌ترین ترکیب انگیزش شاخساره تشخیص داده شد. در بررسی‌های جانبی مشخص شد که پس از قطع اولین شاخساره برای انتقال به محیط ریشه‌زایی (جدول ۱، ستون RIM)، مریستم‌های نهفته فعال شده و باعث شاخساره‌زایی فرعی می‌گردند (تصویر ۱ - ج) که در برخی گزارش‌ها نیز اشاره شده است (۱۳). طولانی شدن زمان استقرار ریزنمونه در محیط کشت این پدیده را تشدید می‌نماید (تصویر ۱-د). شاخساره‌های به دست آمده به محیط کشت ریشه‌زایی RIM (جدول ۱) و سپس محیط کشت رشد شاخه SEM (تصویر ۱-ه) منتقل شدند. این شاخساره‌ها پس از ریشه دار شدن به داخل گلدان (تصویر ۱-و) و پس از آماده‌سازی به گلخانه انتقال یافتند. در این آزمایش ترکیبی از نمک‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد پیشنهادی سایر پژوهشگران استفاده گردید. در یک جمع‌بندی کلی و نظر به نتایج به دست آمده، احتمالاً به علت اختلاف رقم، ترکیبی از نتایج پیشنهادی پژوهشگران مختلف، در این بررسی به دست آمده است. مجموعه نتایج به دست آمده نشان دهنده موفقیت آزمایش‌های انجام شده برای تولید گیاه کامل انگور بی‌دانه از ریزنمونه‌های دارای نواحی مریستمی بوده است. همزمان با تحقیق حاضر، پژوهشی مشابه روی رقم بی‌دانه سفید و شاهرودی انگور در یکی از مراکز علمی کشور در دست اجرا

ریزنمونه و یا ۲/۴۵-۰/۵۳ سانتی‌متر برای یک ریزنمونه بوده است. نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل برای طول شاخساره نشان داد که بین سطوح مختلف نمک و نیز تنظیم‌کننده رشد تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد. اگرچه بین این دو عامل بر همکنش در این آزمایش دیده نشد. مقایسه میانگین به تفکیک هر عامل و به روش دانکن، گروه‌بندی متفاوتی را نشان داد (شکل ۱ و ۲). در بررسی اثر نمک بر باززایی شاخساره، نمک MS موجب تولید شاخساره مجموعاً به طول ۳۶/۳ سانتی‌متر در ۸۶٪ از ریزنمونه‌ها و نمک NN موجب تولید مجموعاً ۳۴/۴ سانتی‌متر شاخساره در ۹۴٪ از ریزنمونه‌ها گردیده است (شکل ۱). از سوی دیگر در بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد، ترکیب دو تنظیم‌کننده BAP و IBA موجب تولید مجموع ۳۷/۷ سانتی‌متر شاخساره و جوانه‌زنی ۱۰۰٪ ریزنمونه‌ها شده است (شکل ۲). در مجموعه بررسی‌های یاد شده، به ویژه در بررسی اثرات نمک‌ها، نمک پایه MS موجب رشد طبیعی بیشتر در جوانه‌ها شد. از سوی دیگر، از آنجایی که رشد سریع‌تر جوانه‌ها برای انتقال به محیط ریشه‌زایی مطلوب می‌باشد، اختلاف بارزی بین مجموعه شاخساره‌های رشد کرده در محیط MS و NN در شکل ۱ دیده نشد. ولی چون مصرف نمک‌های MS اقتصادی‌تر از نمک‌های NN می‌باشد، بنابراین، نمک‌های پایه MS به همراه



شکل ۱. اثر نمک‌های پایه بر روی شاخه‌روی ریزنمونه‌ها به تفکیک درصد ریزنمونه‌های جوانه زده و مجموع طول شاخساره‌های تولید شده به سانتی‌متر. نمک‌های دارای حروف لاتین یکسان، در یک دسته آماری قرار می‌گیرند.



شکل ۲. خلاصه نتایج حاصل از آزمایش شاخه‌روی برای نشان دادن اثر ترکیبی تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف (انتهای جدول شماره ۱) روی رشد شاخه از ریزنمونه‌ها به تفکیک درصد ریزنمونه‌های جوانه زده و مجموع طول شاخه‌های تولید شده به سانتی‌متر. تنظیم‌کننده‌های رشد دارای حروف لاتین یکسان، در یک دسته آماری قرار می‌گیرند.



تصویر ۱. مطالعه اثر تنظیم‌کننده‌های رشد و نمک بر رشد شاخه: الف - ریزنمونه جوانه زده با قطر مناسب ساقه. ب - نمونه‌ای از شاخه‌رویی در محیط نمک MS با تنظیم‌کننده رشد BI. ج - رشد شاخساره در یکی از آزمایش‌ها در نمک WPM دو هفته پس از کشت. د - پرآوری در یکی از آزمایش‌ها در نمک WPM به مدت ۴۹ روز پس از کشت. ه - نمونه‌ای از شاخساره بدست آمده در محیط SEM برای طولیل شدن ساقه و رشد ریشه. و - پس از رشد کافی ریشه، شاخساره به خاک منتقل شده است.

## سپاسگزاری

بودجه اجرای این طرح از محل اعتبارات تحقیقات کاربردی کارگروه پژوهش و فن آوری با حمایت سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان قزوین، ضمن حمایت حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، تأمین گردیده است که بدین‌وسیله از مساعدت آنان تشکر می‌گردد.

بوده است (۱). ترکیب نتایج پژوهش یاد شده با نتایج حاصل از تحقیق حاضر ضمن توجه به نتایج دیگر محققین (۸، ۱۳ و ۱۶)، راهگشای بیشتر پژوهش‌های مرتبط با کشت بافت، برای پاسخ‌گویی به برخی موانع رشد و تولید این گیاه خواهد بود. با توجه به نیاز بازار جهانی و امر صادرات کشور، تدوین برنامه‌های اصلاحی در خصوص انجام برخی تغییرهای کمی و کیفی این گیاه، مانند درشتی دانه و میزان قند آن، با تکیه بر روش‌های کشت بافت و بیولوژی مولکولی ضروری به نظر می‌رسد.

## منابع مورد استفاده

۱. کلاته جاری، س. ۱۳۸۲. بررسی واکنش دو رقم انگور بی‌دانه سفید و شاهرودی به شرایط کشت درون شیشه‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
2. Castellucci, F. 2006. World Statistics. news.reseau-concept.net/images/oiv\_uk/Client/Commentaire\_diapo\_presentation\_stat\_Logrono\_2006\_EN.pdf
3. Feucht, W., D. Treutter, E. Bengsch and J. Polster. 1999. Effects of water soluble boron and aluminum compounds on the synthesis of flavonols in grape vine callus. Zeitschrift fur Naturforschung - Section C. J. Biosci. 54: 942-945.
4. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx/PageID=567>.
5. <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter/vitamins/biotin/>.
6. [http://www.mayoclinic.com/health/vitamin-B2/NS\\_patient-riboflavin](http://www.mayoclinic.com/health/vitamin-B2/NS_patient-riboflavin).
7. <http://www.whfoods.com/genpage.php/tname=nutrient&dbid=54>.
8. Jackson, P. A. P., C. I. R. Galinha, C. S. Pereira, A. Fortunato, N. C. Soares, S. B. Q. Amâncio and C. P. Pinto Ricardo. 2001. Rapid deposition of extension during the elicitation of grapevine callus cultures is specifically catalyzed by a 40-Kilodalton peroxidase. Plant Physiol. 127: 1065-1076.
9. Mhatre, M., C. K. Salunkhe and P. S. Rao. 2000. Micropropagation of *Vitis vinifera* L. towards an improved protocol. Sci. Hort. 84: 357-363.
10. Neves, C., M. C. Sá and S. Amâncio. 1998. Histochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by tissue printing as a precocious marker of rhizogenesis in grapevine. Plant Physiol. Biochem. 36: 817-824.
11. Neves, C., H. Santos, L. Vilas-Boas and S. Amâncio. 2002. Involvement of free and conjugated polyamines and free amino acids in the adventitious rooting of micropropagated cork oak and grapevine shoots. Plant Physiol. Biochem. 40: 1071-1080.
12. Sgarbi, E., R. B. Fornasiero, A. P. Lins and P. M. Bonatti. 2003. Phenol metabolism is differentially affected by ozone in two cell lines from grape (*Vitis vinifera* L.) leaf. Plant Sci. 165: 951-957.
13. Thomas, P. and J. W. Schiefelbein. 2001. Combined *in vitro* and *in vivo* propagation for rapid multiplication of grapevine cv. Arka Neelamani. Hort Science 36: 1107-1110.
14. Thomas, P. 1999. Relationship between tissue growth, CO<sub>2</sub> level and tendril formation during *in vitro* culture of grape (*Vitis vinifera* L.). Vitis 38: 25-29.
15. Wafaa, H. W., A. E. El-Hammady, M. T. El-Saidi and M. F. M. Shahin. 1999. *In vitro* propagation and evaluation for salt stress tolerance in some grape cultivars. Arab Universities J. Agric. Sci. 7: 179-190.
16. Wang, Q., R. Gafny, N. Sahar, I. Sela, M. Mawassi, E. Tanne and A. Perl. 2002. Cryopreservation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) embryogenic cell suspensions by encapsulation-dehydration and subsequent plant regeneration. Plant Sci. 162: 551-558.
17. Yahyaoui, T., M. Barbier and R. Bessis. 1998. *In vitro* morphogenesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) inflorescence primordia, cvs Pinot Noir and Chardonnay. Aust. J. Grape and Wine Res. 4: 111-120.