

اثرات کیتوسان در پرآوری درون‌شیشه‌ای انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم

قزل‌اوزوم

صابر صادق‌پور*^۱ و لطفعلی ناصری^۲

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

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

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲)

چکیده

انگور رقم قزل‌اوزوم از ارقام بازارپسند و پراهمیت بوده و دارای میوه‌های قرمز ترد و آبدار می‌باشد. در ازدیاد درون‌شیشه‌ای گیاهان چوبی از جمله انگور مرحله پرآوری از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. بنابراین سعی بر آن است که با روش‌های مختلفی بتوان این مرحله را با موفقیت انجام داده و تسریع نمود. در پژوهش حاضر اثرات غلظت‌های مختلف کیتوسان با وزن مولکولی پایین در پرآوری انگور رقم قزل‌اوزوم مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) و غلظت‌های مختلف کیتوسان (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با پنج تکرار استفاده شد. نتایج نشان داد که استفاده از کیتوسان بر پرآوری درون‌شیشه‌ای انگور رقم قزل‌اوزوم اثر معنی‌داری داشت، به طوری که افزودن کیتوسان به محیط کشت باعث افزایش پرآوری شاخساره‌ها شد. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان نسبت به سایر غلظت‌های مورد استفاده نتایج بهتری نشان داد و باعث افزایش تعداد شاخساره‌های جانبی، طول شاخساره، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک توده گیاهی و میزان کلروفیل در گیاهک‌های تولیدی شد. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، با توجه به ویژگی‌های مطلوب کیتوسان، می‌توان از آن به عنوان یک ماده محرک رشد برای افزایش پرآوری درون‌شیشه‌ای در این رقم انگور استفاده نمود.

کلمات کلیدی: انگور (*Vitis vinifera* L.)، پرآوری، رقم قزل‌اوزوم، کشت درون‌شیشه‌ای، کیتوسان

مقدمه

کلی، ازدیاد درون‌شیشه‌ای گیاهان چوبی مشکل‌تر از گیاهان علفی می‌باشد. با توجه به این که مرحله پرآوری یکی از مراحل اصلی ریزازدیادی بوده و سرعت رشد، فاکتور مهمی در پرآوری است، بنابراین سعی بر آن است که با روش‌های مختلفی بتوان این مرحله را با موفقیت انجام داد و آن را تسریع نمود (سیلوسترونی^۴، ۱۹۸۱؛ وجودی و همکاران^۵، ۲۰۰۵). کاربرد سیتوکینین‌ها عموماً یکی از راهکارهای ضروری برای پرآوری شاخه در کشت بافت گیاهان، پذیرفته شده است. برخی موارد استفاده از این تنظیم‌کننده‌های رشد، علاوه بر این که موجب افزایش هزینه در تولید تجاری می‌شود، همچنین باعث به وجود آمدن مشکلات فیزیولوژیکی از جمله شیشه‌ای شدن یا ویتریفیکاسیون (Vitrification)، جارویی شدن گیاهچه‌ها و تولید کالوس‌های ناخواسته می‌شود. بنابراین جایگزینی روشی برای القاء پرآوری شاخه با کاربرد غلظت پایین‌تر تنظیم‌کننده‌های رشد بسیار سودمند می‌باشد (بانیلان و کرکاس^۶، ۲۰۰۷ و ایبانز و همکاران^۷، ۲۰۰۵).

کیتوسان یک ماده ارزان، قابل تجزیه در طبیعت، غیرسمی و تحریک‌کننده رشد گیاه به شمار می‌آید که یک کیتین داستیل^۸ شده (گروه استیل از کیتین

انگور به لحاظ سطح زیر کشت و ارزش اقتصادی بالا یکی از محصولات باغی مهم دنیا به شمار می‌رود ارزش این محصول به لحاظ تولید فرآورده‌های متنوع، بسیار بالا بوده و از این لحاظ نقش بسیار مهمی را در اقتصاد کشورهای تولیدکننده آن ایفا می‌کند (جلیلی مرندی^۱، ۲۰۰۳). طبق گزارشات سازمان خواربار جهانی، میزان تولید جهانی انگور در سال ۲۰۱۲، ۶۷ میلیون تن بوده است که کشور ایران با تولید ۲ میلیون تن از نظر تولید این محصول در دنیا جایگاه مهمی داشته و در بین ده کشور برتر تولیدکننده انگور، رتبه نهم را به خود اختصاص داده است (فائو^۲، ۲۰۱۳). در ایران نیز استان آذربایجان غربی از نظر تولید انگور، جایگاه ویژه‌ای را در بین استان‌ها به خود اختصاص داده است. رقم قزل‌اوزوم یک رقم بازارپسند بومی این استان است که دارای میوه‌های ترد و آبدار با سفتی زیاد و خاصیت انبارمانی زیاد بوده و یکی از میوه‌های شب‌عید می‌باشد (جلیلی مرندی، ۲۰۰۳). تکثیر انگور بیشتر به وسیله روش‌های سنتی از جمله قلمه، خواباندن و پیوند صورت می‌گیرد. اولین گزارش درباره کشت درون‌شیشه‌ای انگور توسط مورل^۳ (۱۹۴۴) صورت گرفت و از آن زمان تاکنون مطالعات زیادی روی ارقام مختلف انگور انجام شده است. به طور

4. Silvestroni
5. Vojodi *et al.*
6. Banilas *et al.*
7. Ibanez *et al.*
8. Deacetylated derivative of chitin

1. Jalili-Marandi
2. FAO
3. Morel .

روی کشت بافت اندام‌های گیاهی گل ارکیده گزارش شده که کیتوسان عامل تحرک کننده رشد و افزایش پرآوری است (کومه و همکاران^۶، ۲۰۰۲) و مقادیر با وزن مولکولی کم آن، بر باززایی درون‌شیشه‌ای بافت مریستم جوانه‌های جانبی ارکیده تأثیر مثبت داشته است (نگ و همکاران، ۲۰۰۶). در سایر مطالعات نیز حبیبی دستجردی^۷ (۲۰۰۸)، آیتبارکا و همکاران در انگور (۲۰۰۴)، چیبو و شیبایاما در کلم و توت‌فرنگی^۸ (۲۰۰۱)، کیوپینگ و ونشوی^۹ در عناب هندی (۲۰۰۷) و ونیچپونج پان و همکاران^{۱۰} در ژربرا (۲۰۰۱) نشان دادند که کیتوسان در غلظت‌های پایین می‌تواند به عنوان یک ماده غیرسمی و ارزان در تحریک رشد گیاهان مورد استفاده قرار گیرد.

با توجه به پژوهش‌های انجام گرفته در مورد اثرات مثبت کیتوسان در باززایی درون‌شیشه‌ای برخی گیاهان، در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای با هدف بهینه‌سازی پرآوری در این رقم انگور جهت دستیابی به یک روش تکثیر سریع و با کارایی بالا و تعیین غلظت مناسب این ماده، مورد بررسی قرار گرفت.

حذف شده) می‌باشد و از پوست سخت پوستانی مانند خرچنگ‌ها و میگوها به دست می‌آید (فریپونس^۱، ۱۹۹۱). یکی از عوامل مهم در میزان تأثیر این ماده در کنترل بیماری‌های قارچی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن و پرآوری و رشد گیاهچه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای، به غلظت و وزن مولکولی آن بستگی دارد (چاین و همکاران^۲، ۲۰۰۷؛ نگ و همکاران^۳، ۲۰۰۶ و پارک و همکاران^۴، ۲۰۰۲). آیتبارکا و همکاران^۵ (۲۰۰۴) گزارش کردند که کاربرد کیتوسان در کشت درون‌شیشه‌ای انگور رقم چاردونی (Chardonnay)، باعث تحریک رشد و نمو این رقم شده و از گیاهچه‌های آن علیه بوتریتیس سینرا (*Botrytis cinerea*) حفاظت می‌کند. در این پژوهش اشاره شده است که وجود ۱/۷۵ درصد کیتوزل (محلول کیتوسان فرموله شده) در محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) برای رشد گیاهچه‌های این رقم انگور، غلظت بهینه‌ای بود که باعث رشد بهتر گیاهچه‌های آن شد. همچنین در این شرایط، وزن خشک ریشه و شاخساره، طول ساقه‌ها و تعداد گره‌ها نیز افزایش پیدا کرد. همچنین در گیاهچه‌های تیمار شده با این ماده، فتوسنتز و پارامترهای مربوطه تحریک شد. در حالی که غلظت‌های بالای ۲/۵ درصد از این ماده، برای گیاهچه‌ها سمی بود. در پژوهش‌های صورت گرفته بر

6. Kume *et al.*
7. Habibidastjerdi
8. Chibu *et al.*
9. Qiuping *et al.*
10. Wanichpongpan *et al.*

1. Freepons
2. Chein *et al.*
3. Nge *et al.*
4. Park *et al.*
5. Ait-Barka *et al.*

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و آماده‌سازی آن‌ها

در این پژوهش که در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه انجام گرفت، تک‌گره شاخه‌های حاصل از پایه‌های مادری انگور رقم قزل‌اوزوم واقع در کلکسیون انگور گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به عنوان ماده گیاهی مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور، ریزنمونه‌ها حدود یک ساعت با آب جاری و سپس سه نوبت با مایع شوینده تجاری (ریکا) شسته شدند. این ریزنمونه‌ها در زیر هود لامینار به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد غوطه‌ور شده، سپس با آب مقطر دوبار استریل شسته شدند. در خاتمه، ریزنمونه‌ها به مدت ۷ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد (W/V) غوطه‌ور گردیدند و سه دفعه با آب مقطر استریل، شستشو داده شدند.

محیط کشت مورد استفاده و شرایط کشت

ریزنمونه‌های آماده شده در محیط کشت نصف غلظت موراشیگ و اسکوگ (MS/2) (موراشیگ و اسکوگ^۱، ۱۹۶۲) و بدون هورمون برای تولید شاخساره استقرار یافتند و پس از گذشت ۳۰ روز از استقرار آن‌ها، شاخساره‌های تولید شده که طول یک الی دو سانتی‌متر داشتند، در محیط کشت MS/2 تکمیل شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آمینوپورین

(BAP) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک - اسید (IBA) و غلظت‌های مختلف کیتوسان (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در لیتر) واکنش شدند. کیتوسان مورد استفاده در این آزمایش دارای وزن مولکولی پایینی بود (کیتوسان عرضه شده در فروشگاه‌های مواد شیمیایی بدون درج وزن مولکولی آن به دو نوع کیتوسان با وزن مولکولی پایین و کیتوسان با وزن مولکولی بالا تقسیم می‌شود) که از شرکت سیگما^۲ تهیه شد. محیط‌های کشت آماده شده در فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۱ دقیقه در اتوکلاو استریل شدند. سپس نمونه‌های کشت شده، در اتاق رشد با شرایط فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۴۰ الی ۵۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه قرار گرفتند و پس از گذشت ۴۰ روز صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

صفات اندازه‌گیری شده

صفات اندازه‌گیری شده شامل تعداد شاخساره، طول و قطر شاخساره، طول میانگره، تعداد برگ، سطح برگ، شاخص کلروفیل و وزن خشک توده گیاهی بود. بدین منظور تعداد شاخساره و تعداد برگ تشکیل شده شمارش و یادداشت گردید. طول شاخساره، طول میانگره و قطر شاخساره با دستگاه کولیس دیجیتال بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شدند. سطح برگ توسط

2. Sigma-Aldrich Co.

1. Murashige and Skoog

دارای این عارضه با ظاهر آبکی، شفاف و اغلب با ساقه و برگ‌های باد کرده مشاهده می‌شوند. بنابراین احتمال موفقیت در استفاده از گیاهچه‌های شیشه‌ای شده برای فرآیند تکثیر، کم است. به نظر می‌رسد که ارتباط مستقیم بین افزایش سطوح سیتوکنین و شیشه‌ای شدن به علت تقسیمات سریع سلولی و جذب بیش از حد آب است (گاسپیر و همکاران^۱، ۱۹۹۵). در این پژوهش در هیچ یک از تیمارهای حاوی کیتوسان، عارضه شیشه‌ای شدن مشاهده نشد.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کیتوسان تعداد شاخساره‌ها افزایش یافت، به طوری که بیشترین تعداد شاخساره در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (به تعداد ۹ شاخساره توسعه‌یافته) به دست آمد و پس از آن غلظت ۸۰ میلی‌گرم در لیتر دارای تعداد شاخساره بیشتری (۶/۸ شاخساره) نسبت به سایر تیمارها بود. کمترین تعداد شاخساره نیز در تیمار شاهد مشاهده شد (۴/۶ شاخساره). طبق این نتایج، در تیمارهای فاقد کیتوسان کمترین تعداد شاخساره به دست آمد (شکل ۱).

بیشترین طول شاخساره نیز در گیاهک‌های تولید شده از تیمار حاوی ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (۲/۹ میلی‌متر) به دست آمد. بین سایر تیمارهای مورد استفاده نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲).

دستگاه سطح‌سنج (Area Meter, AM 200, England) اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌مترمربع بیان شد. شاخص کلروفیل نیز توسط دستگاه کلروفیل‌متر (Konica Minolta 502, Japan) بر حسب شاخص (Single-Photon Avalanche Diode) SPAD اندازه‌گیری شد. وزن خشک توده گیاهی نیز بعد از قرار گرفتن گیاهک‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آن به مدت ۷۲ ساعت، توسط ترازوی حساس اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۵ تکرار و هر تکرار شامل یک ظرف شیشه‌ای با دو ریزنمونه گیاهی انجام گرفت. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (ver: 9.1) انجام گرفت. بدین منظور برای مقایسه‌های میانگین از آزمون چنددامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۱٪ استفاده شد و جهت رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

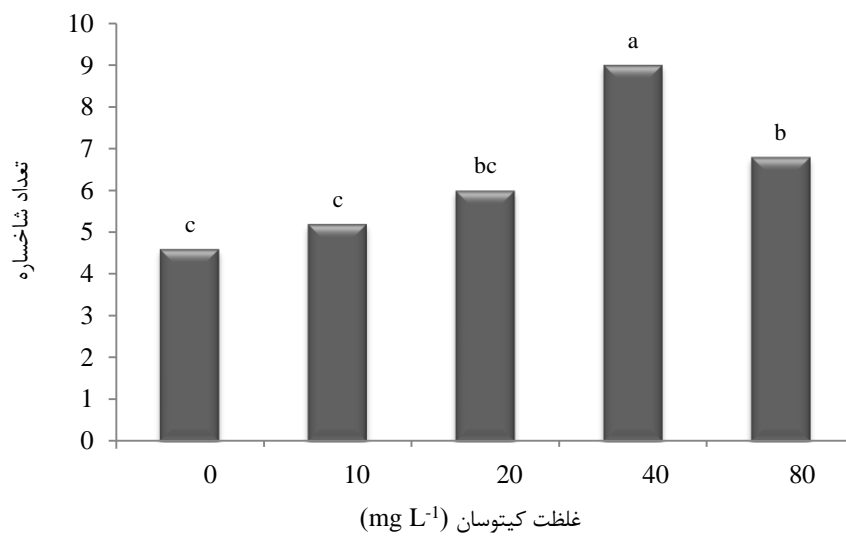
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که کیتوسان اثر معنی‌داری روی خصوصیات مورد مطالعه داشت و تفاوت معنی‌داری در بین غلظت‌های مورد استفاده مشاهده شد ($P \leq 0.01$). با توجه به اینکه شیشه‌ای شدن یکی از مسایل نامطلوب و معمول در ریزافزایی است، که گیاهچه‌های

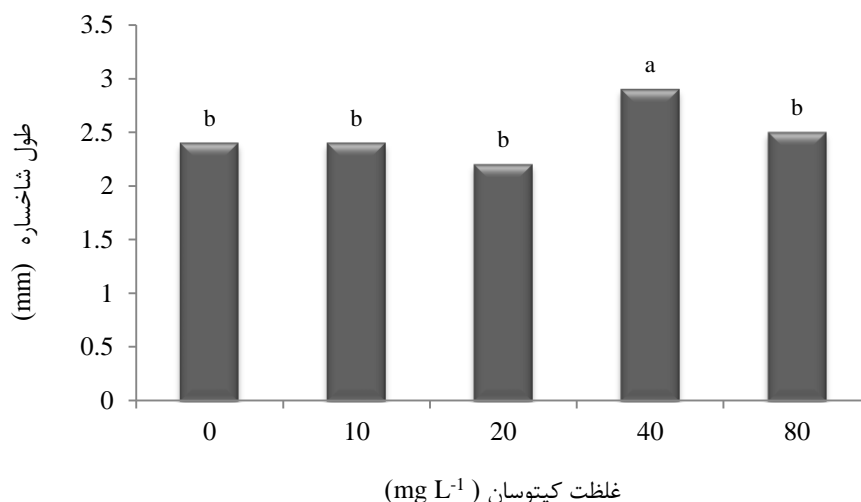
1. Gaspar et al.



شکل ۱- انگور رقم قزل اوزم در محیط کشت نصف غلظت موراشیگ و اسکوگ حاوی ۴۰ میلی گرم کیتوسان



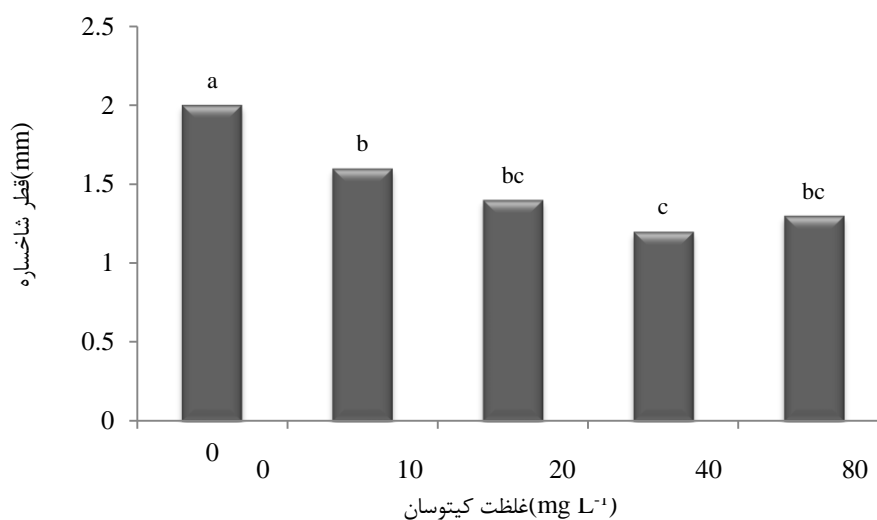
نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد شاخساره تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند



نمودار ۲- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر طول شاخساره تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

به دست آمد (نمودار ۳). با توجه به اینکه تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان دارای تعداد شاخساره بیشتری بود، لذا گیاهک‌های این تیمار دارای شاخساره‌های با قطر نازکتر بود.

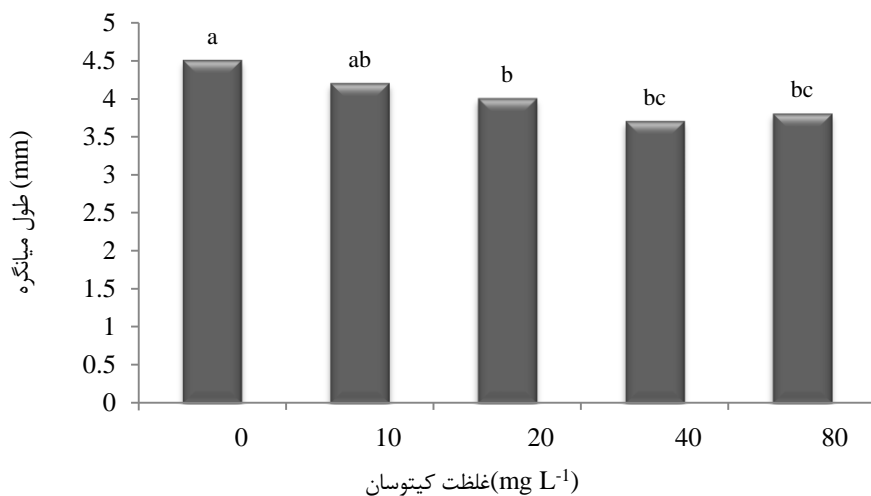
همچنین قطر شاخساره‌های به دست آمده نیز در غلظت‌های مختلف کیتوسان کمتر از ریزنمونه‌های فاقد کیتوسان بود، به طوری که بیشترین قطر شاخساره از تیمار شاهد (۲ میلی‌متر) و کمترین آن از غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (۱/۳ میلی‌متر)



نمودار ۳- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر قطر شاخساره تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

نشد و کمترین طول میان‌گره از غلظت ۸۰ (۳/۸) و ۴۰ (۳/۷) میلی‌گرم در لیتر کیتوسان مشاهده گردید (نمودار ۴). با توجه به اینکه تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان دارای تعداد شاخساره‌های بیشتر با قطر نازکتر بودند، لذا گیاهک‌های این تیمار دارای میان‌گره‌های با طول کمتری بودند.

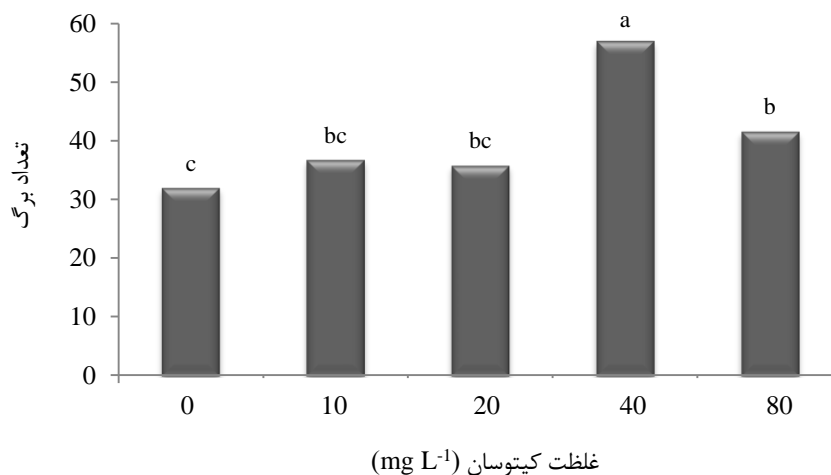
بر اساس نتایج به دست آمده، طول میان‌گره‌های به وجود آمده نیز در غلظت‌های مختلف کیتوسان کمتر از ریزنمونه‌های فاقد کیتوسان بود، به طوری که بیشترین طول میان‌گره از تیمار شاهد (۴/۵ میلی‌متر) به دست آمد. اگر چه تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان دیده



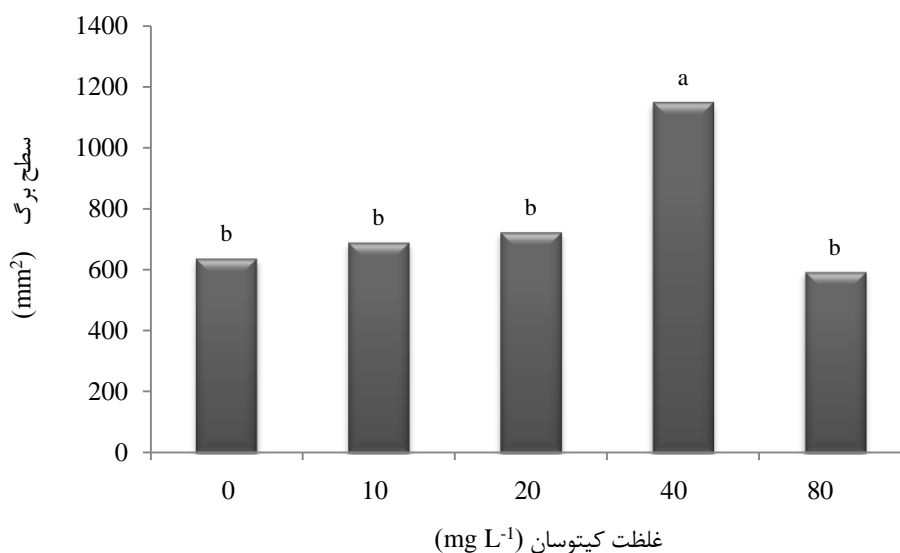
نمودار ۴- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر طول میان‌گره تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

میلی‌گرم در لیتر کیتوسان دارای تعداد برگ بیشتری (۴۱/۶) نسبت به سایر تیمارها بود. چنان که در نمودار ۵ و ۶ مشاهده می‌شود، بیشترین تعداد برگ و سطح برگ نیز از تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (۱۱۵۰ میلی‌مترمربع) به دست آمد و بین سایر غلظت‌های مورد استفاده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

تعداد برگ گیاهک‌ها نیز در غلظت‌های مختلف کیتوسان متفاوت بود. بیشترین تعداد برگ از غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (۵۷) و کمترین آن در تیمار عاری از کیتوسان (۳۲) مشاهده شد، به طوری که ریزنمونه‌های غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان، دارای برگ‌های خوب، توسعه یافته و دارای رنگ سبز نرمال بودند. پس از آن نیز، تیمار حاوی ۸۰



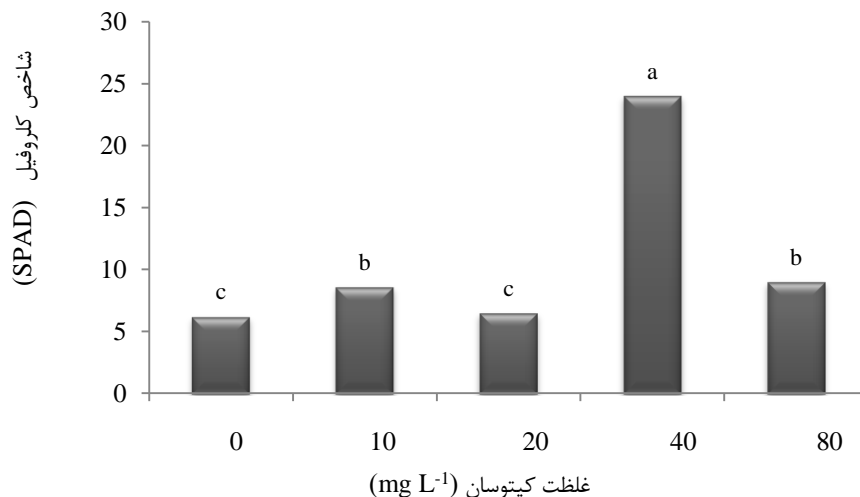
نمودار ۵- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر تعداد برگ تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند



نمودار ۶ اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر سطح برگ تولید شده در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

کلروفیل از غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (SPAD ۲۴) و کمترین آن از تیمار شاهد (SPAD ۶/۲) و غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان (SPAD ۶/۵) به دست آمد.

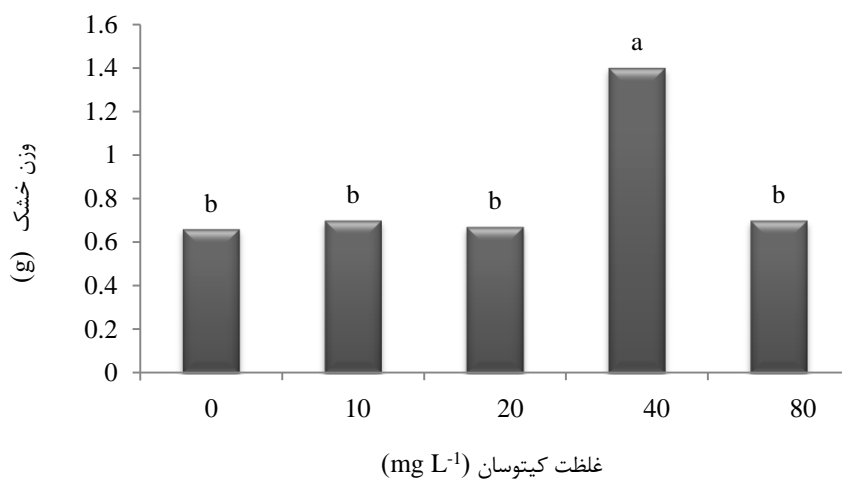
اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر شاخص کلروفیل برگ‌ها در نمودار ۷ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در غلظت‌های مختلف کیتوسان بر شاخص کلروفیل برگ‌ها به وجود آمد، به طوری که بیشترین شاخص



نمودار ۷- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر شاخص کلروفیل در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

کیتوسان (۱/۴ گرم) به دست آمد. بین سایر تیمارها نیز تفاوت معنی‌داری از نظر این صفت مشاهده نشد (نمودار ۸).

وزن خشک گیاهک‌ها نیز در غلظت‌های مختلف کیتوسان متفاوت بود. بیشترین وزن خشک توده گیاهی از تیمار حاوی کیتوسان ۴۰ میلی‌گرم در لیتر



نمودار ۸- اثر غلظت‌های مختلف کیتوسان بر وزن خشک در ریزنمونه‌های انگور رقم قزل اوزوم ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ندارند

تعداد شاخساره‌های جانبی تشکیل شده، طول شاخساره، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک توده گیاهی و میزان کلروفیل در گیاهک‌های تولید شده

طبق این نتایج، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان نسبت به سایر غلظت‌های مورد استفاده و شاهد نتایج بهتری نشان داد، چرا که باعث افزایش

سیب M₂₆ شد که نشان‌دهنده اثرات مثبت کیتوسان روی تعداد برگ و طول شاخساره‌های تولید شده در گیاهک‌های انگور رقم قزل‌اوزوم می‌باشد. بیشترین سطح برگ و شاخص کلروفیل نیز از غلظت ۴۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان به دست آمد و بین سایر غلظت‌های کیتوسان اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. طبق اظهار کیوپینگ و ونشوی (۲۰۰۷) و جلیلی مرنندی و همکاران، (۲۰۱۰) کیتوسان موجب پایداری کلروفیل می‌گردد. زیرا احتمال دارد سبب تحریک بیان برخی ژن‌ها که در مسیر سنتز کلروفیل نقش دارند، شود. با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان گفت که کلروفیل زیاد و تولید برگ‌های بزرگتر و توسعه‌یافته با رنگ مطلوب، ناشی از تحریک بیان ژن‌هایی است که در این مسیرها دخالت دارند. بیشترین وزن خشک توده گیاهی نیز از تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان به دست آمد و بین سایر تیمارهای حاوی کیتوسان و تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج به دست آمده از پژوهش نگ و همکاران، (۲۰۰۶) همخوانی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از کیتوسان به طور معنی‌داری بر پرآوری درون‌شیشه‌ای انگور رقم قزل‌اوزوم اثر گذاشت، به طوری که افزودن کیتوسان دارای وزن مولکولی پایین به محیط کشت

شد. موارد فوق اثر مثبت کیتوسان را در پرآوری نشان می‌دهد که با نتایج پژوهش‌های آیتبارکا و همکاران در انگور، (۲۰۰۴) چیبو و شیبایاما در گیاهان مختلف مانند کلم و توت‌فرنگی، (۲۰۰۱) نگ و همکاران در ارکیده‌ها، (۲۰۰۶) کیوپینگ و ونشوی در عناب هندی، (۲۰۰۷) و ونیچپونج پان و همکاران در ژربرا، (۲۰۰۱) مطابقت دارد، که نشان دادند کیتوسان در غلظت‌های پایین می‌تواند به عنوان یک ماده غیرسمی و ارزان در تحریک رشد گیاهان مورد استفاده قرار گیرد. نگ و همکاران، (۲۰۰۶) گزارش کردند که کیتوسان با وزن مولکولی پایین، سبب افزایش پرآوری در کشت بافت ارکیده‌ها شد و استفاده از کیتوسان با وزن مولکولی بالا، اثر بازدارندگی در پرآوری و توسعه گیاهچه‌ها داشت. در پژوهش آن‌ها تأثیر کیتوسان با وزن مولکولی پایین (۱ کیلودالتون) در رشد و توسعه مریستم جوانه‌های جانبی ارکیده چهار برابر بیشتر از کیتوسان با وزن مولکولی بالا (۱۰۰ کیلودالتون) بود. به نظر می‌رسد عکس‌العمل گونه‌های مختلف گیاهی نسبت به کیتوسان و وزن مولکولی مورد استفاده آن متفاوت می‌باشد.

طبق نتایج پژوهش حاضر، بیشترین طول شاخساره و تعداد برگ از غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان به دست آمد. حبیبی، (۲۰۰۸) نیز گزارش کرد که استفاده از کیتوسان به غلظت ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش طول شاخساره‌های پایه رویشی

باعث افزایش پرآوری شاخساره‌ها گردید. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان برای پرآوری شاخساره در انگور قزل‌اوزوم نسبت به سایر تیمارها مناسب‌تر می‌باشد. زیرا در ترکیب فوق، تعداد شاخساره‌های تشکیل شده، طول شاخساره، تعداد برگ، سطح برگ، وزن خشک توده گیاهی و شاخص کلروفیل بیشتر بود. در عین حال می‌توان گفت که ارقام مختلف عکس‌العمل مشابه در

مقابل غلظت و وزن مولکولی متفاوت کیتوسان نشان نمی‌دهند. از این رو باید غلظت‌های مختلف کیتوسان روی سایر ارقام انگور به طور جداگانه بررسی شوند تا شناخت جامعی بر اساس مطالعات انجام گرفته در پرآوری ارقام انگور در ایران به دست آید. همچنین امکان استفاده از نانوذرات کیتوسان و مقایسه آن با نوع معمولی در کشت بافت نیز توصیه می‌شود.

منابع

- Ait-Barka, E., Eullaffroy, P., Clement, C. and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. Plant Cell Reports, 22: 608-614.
- Banilas, G. and Korkas, E. 2007. Rapid micropropagation of grapevine cv. Agiorgitiko through lateral bud development. Journal of Science and Technology, 42: 31-38.
- Chibu H. and Shibayama, H. 2001. Effects of chitosan applications on the growth of several crops. pp. 235-239, In: T. Uragami et al. (ed.), Chitin and chitosan in life science. Yamaguchi Press, Japan.
- Chien, P.J., Sheu, F., Huang, W.T. and Su, M.S. 2007. Effect of molecular weight of chitosan on their antioxidative activities in apple juice. Food Chemistry, 102: 1192-1198.
- FAO. 2014. Grapes production in 2012 mostly based on FAOSTAT. Available online at <http://www.faostat.fao.org>. Accessed 22 Jun December 2015.
- Freepons, D. 1991. Chitosan, does it have a place in agriculture? Proceedings of the plant growth regulation. Society of America, USA.
- Gaspar T., Kevers, C., Franck, T., Bisbis, B., Billard, J.P., Huault, C., Dily, L.F., Petit-Paly, G., Rideau, M., Penel, C., Crevecoeur, M. and Greppin, H. 1995. Paradoxical results in the analysis of hyperhidric tissues considered as being under stress: questions for a debate. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 21: 80-97.
- Habibidastjerdi, Z. 2008. Evaluation of the interactions of kitosan, gibberellic acid and benzyladenine on *in vitro* proliferation of apple rootstock M₂₆. Msc thesis. Urmia University. Urmia, Iran. (In Farsi)
- Ibanez, A., Valero, M. and Morte, A. 2005. Establishment and *in vitro* clonal propagation of the Spanish autochthonous table grapevine cultivar Napoleon: an improved system where proliferating cultures alternate with rooting ones. Anales de Biologia, 27: 211-220.
- Jalili-Marandi, R. 2003. Small Fruits. Academic Center for Education Culture and Research of West Azarbaijan Urmia. (In Farsi).
- Jalili-Marandi, R., Naseri, L., Mohseni-Azar, M., Haji-Taghilou, R. and Marhamati, M. 2010. Evaluation of the interaction of benzyladenine and kitosan on *in vitro* proliferation of strawberry 'Silva' cultivar. Biotechnology in Agriculture, 10: 27-34. (In Farsi).
- Kume T., Nagasawa, N. and Yoshii, F. 2002. Utilization of carbohydrates by radiation processing. Radiation Physics and Chemistry, 63: 625-627.

- Morel, G. 1944. Le developement de Mildiou sur des tissus de vigne cultives *in vitro*. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de IAcademie des Sciences, 218: 50-52.
- Murashige, J. and Skoog, F. 1962. Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Phyologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nge K.L., New, N., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. *Plant Science*, 170:1185-1190.
- Qiuping, Z. and Wenshui, X. 2007. Effect of 1-methylcyclopropene and/or chitosan coating treatments on storage life and quality maintenance of Indian jujube fruit. *LWT - Food Science and Technology*, 40: 404-411.
- Park, S.Y., Marsh, K.S. and Rhim, J.W. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science* 67: 194-197.
- Silvestroni, O. 1981. Prime esperienze sulla micropropagazione della vite europea. *Vignevini*, 8: 31-37
- Vojodi L., Khosroshahli, M., Grigorian, V., Dadpour, M. and Motalbiazar, A. 2005. Investigation on the effect of GA3 on dwarf apple 'Gami Almasi' meristem culture. *Journal of Horticulture Science and Technology*, 5: 117-128.
- Wanichpongpan, P., Suriyachan, K. and Chandkrachang, S. 2001. Effects of chitosan on the growth of Gerbera flower plant (*Gerbera jamesonii*). pp. 198-201, In T. Uragami et al. (ed.), *Chitin and chitosan in life science*. Yamaguchi, Japan.

Effect of chitosan on *in vitro* proliferation of Ghezel ouzum grape (*Vitis vinifera* L.) cultivar

Saber sadeghpour^{1*} and Lotfali Naseri²

1. Former M.Sc. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia
2. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

(Received: Dec. 31, 2016 - Accepted: May. 23, 2016)

Abstract

Ghezel Ouzum is a commercially important cultivar with red crispy and juicy berries. In *In vitro* Micropropagation of woody plants such as grape, the proliferation stage has a high importance. Hence with different methods it has been attempted to achieve a successful way to increase the propagation rate. In this research the effect of low molecular weight chitosan on proliferation of Ghezel Ouzum grape was studied. For this purpose, the MS medium containing benzyl amino purine 0.5 mg L⁻¹ (BAP) and 0.01 mg L⁻¹ Indole butyric acid (IBA) and various concentrations of chitosan (0, 10, 20, 40, and 80 mg L⁻¹) were used in a completely randomized design with five replicates. The results showed that the effect of chitosan on *in vitro* proliferation of Ghezel Ouzum grape cultivar was significant, so that the addition of chitosan to the culture medium increased the proliferation rate of shoots. According to the results, chitosan concentration of 40 mg L⁻¹ showed better results compared with the other concentrations and control and increased the number of lateral shoots, shoot length, leaf number, leaf area, dry weight of plant biomass, and chlorophyll content in produced plants. Based on these results, given the favorable properties of chitosan, it can be used as a growth stimulator for increasing *in vitro* proliferation of this grape cultivar.

Key words: Chitosan, Ghezel Ouzum cultivar, Grape (*Vitis vinifera* L.), *In vitro* culture, Proliferation

* Corresponding author:

E-mail: sabersadeghpour@yahoo.com