Archive of SID

محیط‌کشت بهینه برای رشد درون شیشه‌ای گل‌آذین انگور

Optimized Culture Medium for *In Vitro* Growth of Grapevine Inflorescence

اعظم صدیقی[۱]، منصور غلامی[۲*]، حسن ساری‌خانی[۳] و عبدالکریم چهرگانی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۰۵

چکیده

رشد گل آذین و تولید میوه در محیط درون شیشه‌ای می‌تواند ابزار ارزشمندی در اختیار پژوهشگران برای بررسی دقیق مراحل مختلف فرایندهای فیزیولوژیکی مربوط به تکوین اندام‌های زایشی و مراحل حساس در این دوره قرار دهد. در این پژوهش گل‌آذین در حال رشد از دو رقم انگور شامل، بیدانه سفید و روبی سیدلس از شاخه‌های جوان و در حال رشد طبیعی بهاره جدا شدند. برای کشت درون شیشه‌ای گل‌آذین‌ها از محیط‌کشت پایه MS با نصف غلظت استفاده شد. پس از کشت، رشد و نمو گل‌آذین‌ها تا تشکیل میوه و سپس رسیدن حبه‌ها ادامه داشت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتور رقم در دو سطح، جیبرلین در دو سطح (صفر و ۲/۸۹ میکرومولار)، بنزیل آمینوپورین در سه سطح (صفر، غلظت‌های ۲/۵ و ۴ میکرومولار) و هورمون ایندول بوتیریک اسید در سه سطح (صفر، غلظت‌های ۲/۵ و ۹ /۴ میکرومولار) با سه تکرار در هر تیمار انجام شد. نوع هورمون و غلظت آن در موفقیت رشد گل-آذین‌های کشت شده مؤثر بود، به‌طوری‌که در تیمار ایندول بوتیریک اسید با غلظت ۴/۹ و بنزیل آمینوپورین با غلظت ۴ میکرومولار و بدون حضور جیبرلین، گل‌آذین کشت شده رشد کرد و گل‌ها باز شدند و نهایتاً تولید میوه کردند (محیط‌کشت ۱۵ و ۱۷). در اینجا نقش هورمون اکسین و سیتوکینین به‌عنوان هورمون‌های کلیدی در باز شدن و تولید میوه در انگور مشخص درحالی‌که نقش جیبرلین ناچیز بود. در مقایسه بین ارقام، ریز نمونه‌های رقم بیدانه سفید نسبت به روبی سیدلس از لحاظ ماندگاری و طول دوره رشد، سازگاری بهتری را به شرایط درون شیشه‌ای نشان دادند. در تیمار شاهد بدون هورمون گل‌های روی گل‌آذین قهوه‌ای و بعضاً شیشه‌ای شده و از رشد باز ایستادند.

واژه‌های کلیدی: رقم بیدانه سفید، رقم روبی سیدلس، ایندول بوتیریک اسید، تکوین اندام‌های زایشی

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران
۴. استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران
*: نویسنده مسئول Email: mgholami@basu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گل‌آذین انگور روی شاخه‌های یک‌ساله تشکیل می‌شود که پس از گرده‌افشانی و تلقیح حبه‌ها به‌وجود می‌آیند. گل‌آذین انگور خوشه مرکب است که روی محور اصلی خوشه، شاخه‌های فرعی به‌طور نامرتب ظاهر شده و هرکدام به چندین گل منتهی می‌شوند. در انتهای هر دمگل یک گل وجود دارد. اغلب ارقام انگور دارای گل‌های هرمافرودیت بوده و خودگرده‌افشان هستند، اما در شرایط طبیعی دگرگرده افشانی هم ممکن است اتفاق افتد (بیسیس[1] و همکاران، 2000).

کشت پریموردیای گل و یا جوانه گل تعدادی از گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای، با اهداف مختلف انجام شده است. پاسخ گیاهان مختلف به تیمارهای هورمونی و شرایط محیط‌کشت متفاوت است. گزارش شده است که در جوانه‌های گل تنباکو کشت شده در شرایط درون شیشه‌ای، کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها به‌طور طبیعی تشکیل شدند اما در غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین، آغازش اندام‌های گل مختل شده است (*مچاگهن*[2]، 1982). در یک بررسی نقش تنظیم‌کننده‌های رشد در تکوین گل‌های دو رقم انگور شاردونی و پینونوا خارج شده از پریمودیای گل‌آذین جوانه خواب، در شرایط درون شیشه‌ای مطالعه گردید و مشخص شد که کاربرد بنزیل آمینوپورین (BAP) باعث رشد محور شاخه گل و کاسبرگ‌ها گردید. اسید جیبرلیک (GA_3) در تولید آنلاگن و تمایز آنها به سمت کاسبرگ و گلبرگ تأثیر بارزی داشت، درحالی‌که مادگی و پرچم‌ها هم تشکیل شدند، اما فاقد هر گونه فعالیت زایشی بودند. در مقابل ایندول بوتیریک اسید (IBA) نقشی در فرآیند مورفوژنتیک گل‌های انگور نداشت (*یاهایوم*[3] و همکاران، 1998).

اثرات مثبت سیتوکینین در محیط درون شیشه‌ای در توسعه گل در گیاه *Cleome iberide* هم مشاهده شده است. درحالی‌که جوانه گل به‌خوبی در یک محیط‌کشت معمولی رشد می‌کند، رشد مادگی ضعیف است (*دی‌جانگ و برانسما*[4]، 1974). محققین به این نتیجه رسیده‌اند زآتین و بنزیل آمینوپورین باعث رشد و توسعه مادگی می‌شوند و از دیگر سیتوکینین‌ها مؤثرتر هستند. در حضور زآتین، نفتالین استیک اسید (NAA) در غلظت پایین باعث تحریک اما در غلظت بالا مانع رشد مادگی و کاسبرگ می‌شود. همچنین به نظر می‌رسد اثرات ایندول بوتیریک اسید و ۲،۴- دی‌کلرو فنوکسی‌استیک اسید (۲،۴-D) شبیه NAA باشد. مخلوطی از دو اسید جیبرلیک (GA_7, GA_3) باعث رشد کاسبرگ شده اما اسید جیبرلیک GA_3 غیر مؤثر بوده است درحالی‌که هر دو تیمار فوق مانع رشد مادگی شده و منتهی به سقط آن می‌شوند. محققین پیشنهاد می‌کنند که در *Cleome* رشد و توسعه مادگی نیاز به زآتین دارد و اسید جیبرلیک مانع از آن‌ها می‌شود و سیتوکینین به تنهایی یا با مقدار کم اکسین برای توسعه گل‌ها ضروری هستند (*دی‌جانگ و برانسما*، 1974). محیط‌کشت و ترکیب عناصر غذایی از مهم‌ترین فاکتورها در رشد گل آذین به شمار می‌روند. گزارش شده است که رشد بهینه جوانه بگونیا در شرایط درون شیشه‌ای، زمانی حاصل می‌شود که از دو منبع ازته نیترات و آمونیوم به‌صورت توأم استفاده شود و کاربرد جداگانه هر یک از این منابع ازته موجب رشد ضعیف جوانه می‌شود (*برگف و برانسما*[5]، 1979). نمو جوانه گل گوجه‌فرنگی در محیط حاوی حداکثر ۳٪ ساکارز اتفاق می‌افتد اما تکامل اندام‌های آن در ۴٪ ساکارز به‌دست می‌آید. بدین معنی که نمو جوانه‌ها به غلظت‌های کم قند واکنش نشان می‌دهند اما تکامل اندام‌های زایشی و باروری آن‌ها با غلظت کربوهیدرات‌ها ارتباط مستقیم دارد (*راستاجی و ساوهنی*[6]، 1987). از آن‌جا که رشد گل‌آذین و تشکیل میوه انگور در شرایط درون شیشه‌ای تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است این پژوهش با هدف تعیین ترکیبات هورمونی بهینه برای رشد گل‌آذین انگور و بررسی فاکتورهای مؤثر در استقرار و ادامه رشد گل‌آذین جدا شده از خوشه اصلی، تا مرحله رسیدن میوه‌های تشکیل شده در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

شرایط و تیمارهای مورد نیاز برای رشد گل‌آذین انگور

گل‌آذین انگور در زمان قبل از گرده‌افشانی (تقریباً ۸ روز) در فصل بهار از بوته‌های ارقام بیدانه سفید و روبی سیدلس نزدیک گلخانه تحقیقاتی علوم باغبانی دانشکده کشاورزی از تاک‌های ۵ ساله رقم بیدانه سفید و ۱۰ ساله رقم روبی سیدلس جدا و در محیط آزمایشگاه به اندازه‌های کوچک حداقل دارای ۱۰ گل در خوشه‌چه تقسیم شدند. ریز نمونه‌ها با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده و پس از آبکشی کشت شدند. گل‌آذین انگور دارای رشد نامحدود بوده و گل‌های پایینی خوشه زودتر از گل‌های انتهایی باز می‌شوند بنابراین انتخاب گل‌آذین‌ها همه در یک مرحله رشدی بودند و کلاهک فشرده بر روی گل‌آذین قرار داشت. محیط‌های کشت حاوی نصف غلظت محیط *موراشیک و اسکوک*[7] (MS) به‌علاوه

1. Bessis
2. Mchughen
3. Yahyaouim
4. De Jong and Bruinsma
5. Berghoef and Bruinsma
6. Rastogi and Sawhney
7. Murashig and Schok

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت متفاوتی از تنظیم‌کننده‌های رشد بودند (جدول ۱). آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با فاکتور نوع رقم در دو سطح (بیدانه سفید و روبی سیدلس)، بنزیل آمینوپورین در سه سطح (صفر، ۲/۵ و ۴ میکرومولار) و ایندول بوتیریک اسید در سه سطح (صفر، ۲/۵ و ۴/۹ میکرومولار) و اسید جیبرلیک در دو سطح (صفر و ۲/۸۹ میکرو مولار) انجام شد. در هر تیمار سه تکرار و هر تکرار شامل سه شیشه کشت و در هر شیشه دو تا سه خوشه‌چه کشت شد. شیشه‌های کشت شده در اتاقک رشد با شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور حدود ۷۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه قرار گرفتند.

جدول ۱: ترکیب هورمون‌های مورد استفاده در ۱۸ محیط‌کشت حاوی نصف غلظت MS برای کشت گل‌آذین

Table 1: The combinations of hormons used in 18 culture media containing half MS concentration for inflorecens culture

سطح۱ (IBA با غلظت صفر) Level 1 (IBA, 0 µM concentration)	سطح۲ (IBA با غلظت ۲/۵ میکرومولار) Level 2 (IBA 2.5 µM concentration)	سطح۳ (IBA با غلظت۴/۹ میکرومولار) Level 3 (IBA 4.9 µM concentration)
(۱) C1G1 محیط/ Medium	(۷) C1G1 محیط/ Medium	(۱۳) C1G1 محیط/ Medium
(۲) C1G2 محیط/ Medium	(۸) C1G2 محیط/ Medium	(۱۴) C1G2 محیط/ Medium
(۳) C2G1 محیط/ Medium	(۹) C2G1 محیط/ Medium	(۱۵) C2G1 محیط/ Medium
(۴) C2G2 محیط/ Medium	(۱۰) C2G2 محیط/ Medium	(۱۶) C2G2 محیط/ Medium
(۵) C3G1 محیط/ Medium	(۱۱) C3G1 محیط/ Medium	(۱۷) C3G1 محیط/ Medium
(۶) C3G2 محیط/ Medium	(۱۲) C3C2 محیط/ Medium	(۱۸ Medium) C3G2 محیط/

C1، C2، C3 به‌ترتیب BAP با غلظت ۰، ۲/۵ و ۴ میکرومولار و G2 و G1 به‌ترتیب GA با غلظت ۲/۸۹ و ۰ میکرومولار

C1, C2 and C3: BAP with concentration of 0, 2.5 and 4 micromolar and G1 and G2: GA concentrations of 0 and 2.89 micromilar, respectively

تعیین درصد فاکتورهای کمی

برای تعیین درصد باز شدن گل‌ها، تعداد گل‌های باز شده در هر خوشه گل و در هر شیشه شمارش شد و برای تعیین درصد تشکیل میوه از رابطه تعداد حبه/ تعداد گل ×۱۰۰ استفاده گردید. میزان تشکیل کالوس و نمونه‌های گل قهوه‌ای شده شمارش و پس از نرمال‌سازی به‌صورت درصد بیان شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه شده و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ی دانکن در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند.

نتایج

بررسی مشاهدات

در سطوح مختلف IBA، اگر چه بین غلظت‌های GA و BAP اختلافی مشاهده نشد اما نمونه‌های کشت شده از نظر رشد گل و افزایش طول دمگل، طول دوره باز شدن گل، ریزش گل، نکروزه شدن، تشکیل کالوس و نهایتاً تشکیل میوه با هم تفاوت‌های مشخصی را نشان دادند. بررسی نتایج مربوط به تغییر غلظت IBA در محیط‌های کشت نشان داد که سطح دوم IBA (غلظت ۲/۵ میکرومولار) نسبت به سطح اول (غلظت صفر میکرومولار) آن با افزایش درصد باز شدن گل‌ها و نیز تشکیل میوه و کاهش نکروزه شدن ریزنمونه‌ها، اثر بهتری در بقاء نمونه‌ها و ادامه رشد آنها داشت. در عدم‌حضور IBA، تکامل گل به کندی و ناقص انجام شد، یعنی گل‌ها به حالت بسته باقی ماندند و یا با تأخیر باز شدند و تولید میوه در آن‌ها به‌ندرت صورت گرفت. در برخی نمونه‌ها در یک بازه زمانی طولانی تعداد بسیار اندک میوه به‌صورت رشد تخمدان مشاهده شد، به‌طوری‌که در محیط (۱)، به‌دلیل عدم وجود هورمون، گل‌آذین‌های کشت شده، در اثر تولید مواد فنولی، از ادامه رشد باز ماندند و گل‌ها موفق به باز شدن نبودند و میوه هم تشکیل نشد یا باز شدن گل‌ها به‌ندرت و تشکیل میوه کمی هم در برخی تکرارها دیده شد. در مجموع در محیط (۲) نیز همین نتایج مشاهده شد. نقش عوامل هورمونی ازجمله IBA در کنار دیگر هورمون‌ها مانند BAP اهمیت داشت. اگرچه بین بعضی از محیط‌ها در سطح دوم (غلظت ۲/۵ میکرومولار) با سطح اول (غلظت صفر میکرومولار) تفاوتی مشاهده نشد که می‌تواند به علت عدم‌حضور BAP در محیط (۷) و (۸) باشد.

نتایج به‌دست آمده از مشاهدات عینی در این آزمایش نشان داد که گل‌آذین‌های هر دو رقم انگور توانستند در محیط‌کشت ۱/۲MS مستقر شده و به رشد خود ادامه دهند. ترکیبات هورمونی استفاده شده در محیط‌کشت و غلظت آن‌ها نقش

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین‌کننده‌ای در ادامه رشد گل‌آذین کشت شده داشتند. رشد گل‌ها در محیط درون شیشه‌ای تا تبدیل شدن به میوه طی مراحل ۱ (کلاهک فشرده به گل)، ۲ (افزایش طول دمگل)، ۳ (ریزش کلاهک)، ۴ (متورم شدن تخمدان) و ۵ (تشکیل حبه) مشاهده شد (شکل۱). در نتیجه تأثیر تیمارهای به‌کار رفته در محیط‌کشت مورد استفاده، تفاوت‌هایی به‌صورت افزایش طول دمگل و متورم شدن کلاهک قبل از باز شدن (شکل ۲a)، گل-های باز نشده با تکامل ناقص (شکل ۲e)، گل‌های باز شده (شکل ۲b)، گل‌ها در تیمار شاهد (مواد فنولی در این گل‌ها تولید شد شکل ۲d-۲) و تشکیل میوه (شکل ۲c) رؤیت گردید. در غلظت‌های اول و دوم اکسین ریزش گل و کلاهک اتفاق افتاد ولی در غلظت سوم (غلظت ۴/۹ میکرومولار) ریزش کلاهک بیشتر و ریزش گل کمتری مشاهده شد (شکلc ۱). رقم روبی در محیط‌های ۳، ۵ ،۷، ۸ ریزش گل بیشتری نشان داد.

سطح سوم (غلظت ۴/۹ میکرومولار) از غلظت IBA از لحاظ طول دوره باز شدن گل نسبت به دو سطح دیگر (غلظت‌های۰ و ۲/۵ میکرومولار) اثر بهتری داشت (شکل ۳)، به‌طوری‌که در محیط‌های (۱۵) و (۱۷) در هر دو رقم رشد تخمدان‌ها تا تولید میوه ادامه یافت و در این رابطه دوره باز شدن بعد از ۱۰ روز و تشکیل میوه بعد از دو ماه صورت گرفت. برش میوه‌ها نیز نشان داد که گرده‌افشانی در گل‌ها انجام شده و میوه‌ها دارای بقایاء بذر بودند و این در میوه‌ی بالغ به‌صورت پوسته مشاهده شد (شکل‌های۴ تا ۷). در اینجا نقش اکسین و سیتوکینین به‌عنوان هورمون‌های کلیدی در باز شدن و تولید میوه در انگور مشخص و نقش اسید جیبرلیک ناچیز بود. افزایش اسید جیبرلیک به محیط‌کشت اثر چندانی در رشد گل‌ها و تشکیل میوه در هیچیک از تیمارها نداشت، به‌طوری‌که بین غلظت‌های صفر و ۲/۸۹ میکرومولار GA در محیط‌های مختلف تفاوتی مشاهده نشد (شکل ۲e).

در بین سطوح به کار رفته از اکسین، سطح سوم (غلظت ۴/۹ میکرومولار) اکسین تولید کالوس بالاتری نسبت به دو سطح دیگر داشت و در رقم روبی کالوس به رنگ قرمز دیده شد. در محیط‌کشت (۱۳) مقدار نسبتاً زیادی کالوس تولید و ریشه خارج شد، که نشان داد اکسین در سطح بالا (غلظت ۴/۹ میکرومولار) یا همراه با سیتوکینین (غلظت ۴ میکرومولار) در تولید کالوس نقش دارد اما اسید جیبرلیک اهمیت ناچیزی در تولید کالوس داشت، به‌طوری‌که در محیط‌های (۱۵) و (۱۷) در زیر میوه‌های رشد کرده کالوس دیده شد (شکل ۸).

قهوه‌ای شدن ریز نمونه‌ها اغلب موجب توقف رشد گل‌ها شد. رقم و نوع ترکیبات هورمونی محیط‌کشت در قهوه‌ای شدن گل‌ها نقش داشتند، به‌طوری‌که رقم بیدانه سفید نسبت به رقم روبی سیدلس گل‌های نکروزه بیشتری به‌خصوص در غلظت پایین اکسین داشتند. برخی گل‌آذین‌هایی که در تیمارهای هورمونی قهوه‌ای شده بودند پس از سه هفته دوباره سبزشدند و در آن‌ها برگشت به سمت تولید گل‌های سبز و گاهی تولید میوه روی محیط‌های (۱۰) و (۱۲) وجود داشت. در تیمار شاهد گل‌ها به سمت قهوه‌ای شدن گرایش داشتند و در این محیط تولید مواد فنولی مشاهده شد (شکل ۹).

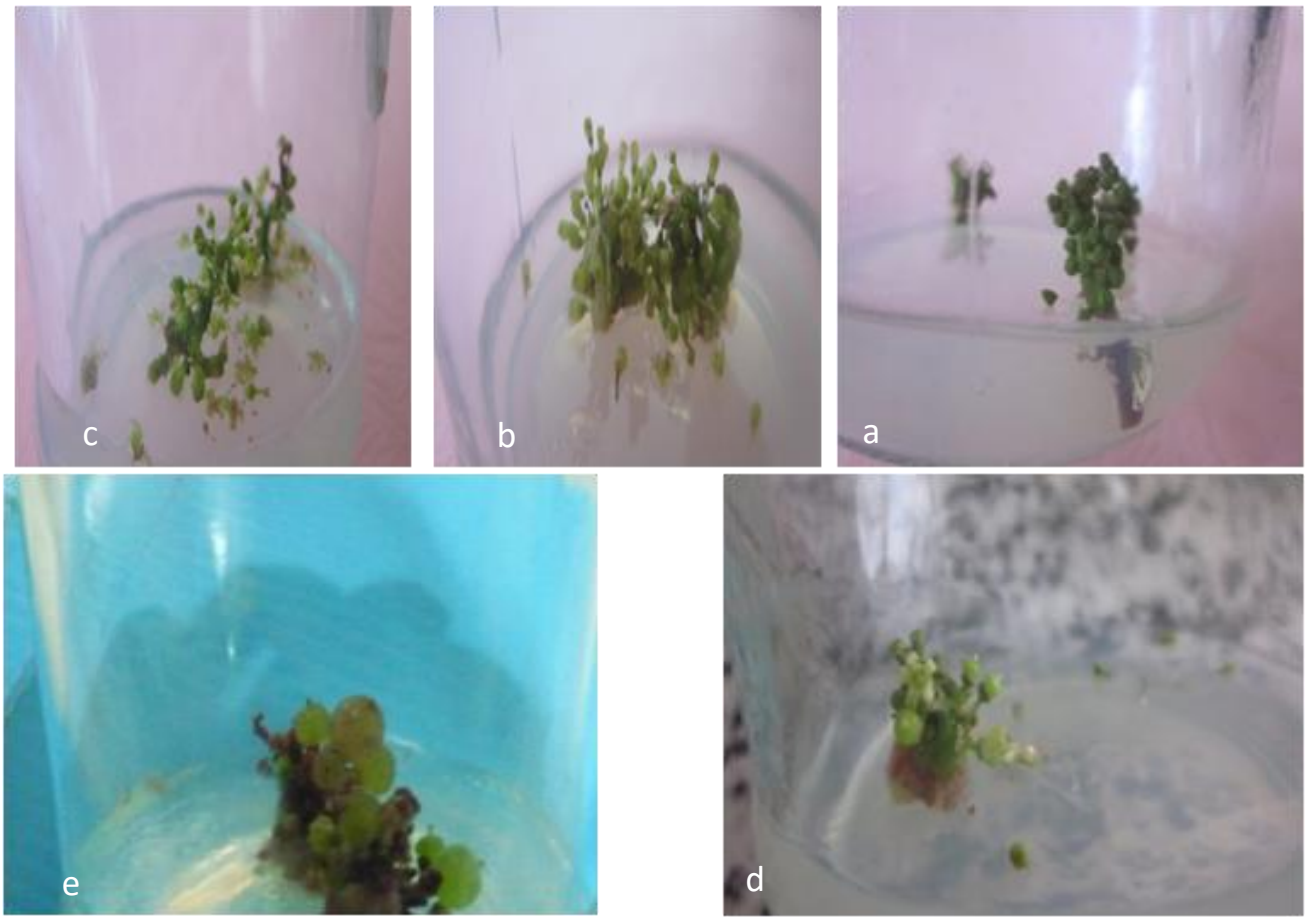
نتایج آماری فاکتورهای کمی

غیر از مشاهدات عینی از لحاظ آماری بین دو رقم روی ۱۸ محیط‌کشت از نظر درصد باز شدن گل، تشکیل میوه، قهوه‌ای شدن بافت و تشکیل کالوس تفاوت‌های ملاحظه شد (شکل-های۱۰ تا ۱۳). رقم بیدانه سفید نسبت به روبی سیدلس در کلیه تیمارها واکنش بهتری نشان داد و درصد میوه‌های تشکیل شده در رقم بیدانه سفید بیشتر از رقم روبی بود. در همه سطوح هورمونی تشکیل میوه با دوره طولانی‌تر و تعداد کمتر دیده شد (شکل ۱۱). محیط‌های حاوی غلظت ۴/۹ میکرومولار IBA نسبت به دو سطح تأثیر بهتری روی رشد گل‌آذین نشان دادند، به‌طوری‌که محیط‌کشت ۱۵ (غلظت BAP, ۲/۵ و IBA, ۴/۹ میکرومولار) و محیط‌کشت ۱۷ (غلظت BAP, ۴ و IBA,۴/۹ میکرومولار) درصد باز شدن گل و تشکیل میوه بیشتر و میزان نکروزه شدن کمتر بود. بیشترین میزان نکروزه شدن در محیط‌های اول اکسین (غلظت صفر میکرومولار) یعنی فاقد هورمون اکسین و کمترین آن در غلظت بالای اکسین (غلظت ۴/۹ میکرومولار) مشاهده شد (شکل ۱۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سطوح اکسین اثر خوبی را در کشت گل-آذین نشان دادند، اما برخی محیط‌ها با طول دوره باز شدن طولانی و تولید میوه کمتر اختلاف معنی‌داری نسبت به هم نشان دادند که این اختلاف بین محیط‌های صفر و ۲/۵ میکرومولار IBA وجود داشت به‌طوری‌که سطح دوم اثر بهتری نسبت به سطح اول نشان داد (شکل‌های۱۰ تا ۱۳). میزان تولید کالوس در بالاترین غلظت اکسین (سطح سوم، غلظت ۴/۹ میکرومولار) بررسی شد. چون دو سطح دیگر یا فاقد تولید کالوس بودند و یا میزان کالوس در آن‌ها به قدری کم بود که قابل ارزیابی نبودند. میزان تشکیل کالوس در محیط‌های حاوی سطح سوم اکسین (غلظت ۴/۹ میکرومولار) محیط‌های ۱۳ تا

www.SID.ir

Archive of SID

۱۸ مشاهده شد و رقم روبی سیدلس نسبت به بیدانه سفید
تشکیل کالوس بیشتری را نشان داد (شکل ۱۳).

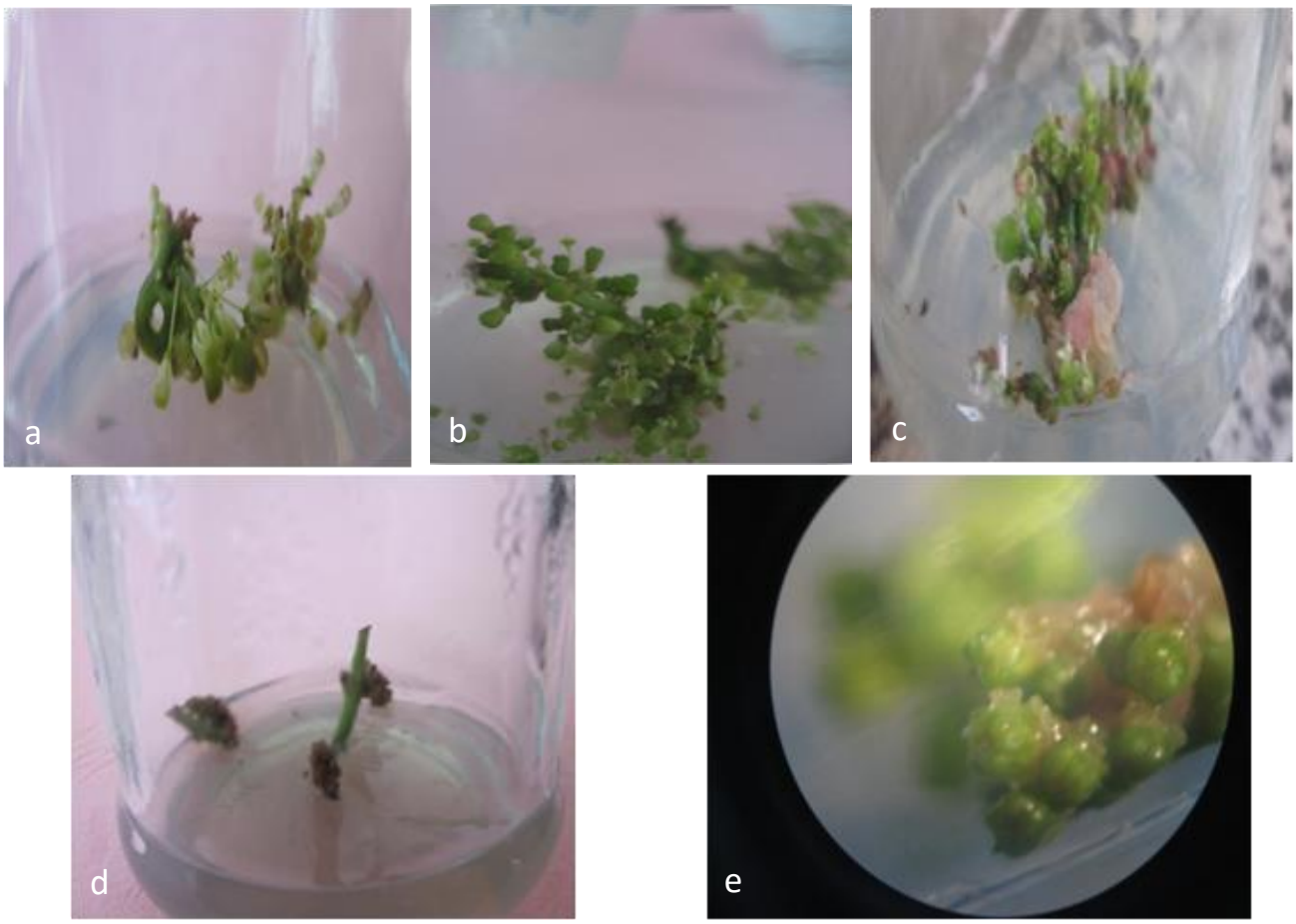


شکل ۱: مراحل رشد گل در شرایط درون شیشه‌ای تا تولید میوه در رقم بیدانه سفید: (a):گل‌های فشرده و باز نشده در ابتدای کشت، (b): افزایش طول دمگل ۲ هفته بعد از کشت، (c): ریزش کلاهک یک هفته بعد از مرحله قبل، (d): متورم شدن تخمدان و تشکیل حبه ۵ هفته پس از کشت، (e): رشد حبه‌ها ۸ هفته پس از کشت.

Fig. 1: Different stages of flowers growth *in vitro* upto fruit set in Bidaneh sefid cv (a):compact and closed flowers at the beginning of culture, (b): elongation of petiols 2 weeke after culture, (c): abscision of caps one week after stage b, (d): growth of ovary and development to the berries 5 weeks after culture, (e): growth of berries 8 weeks after cuture

www.SID.ir

Archive of SID

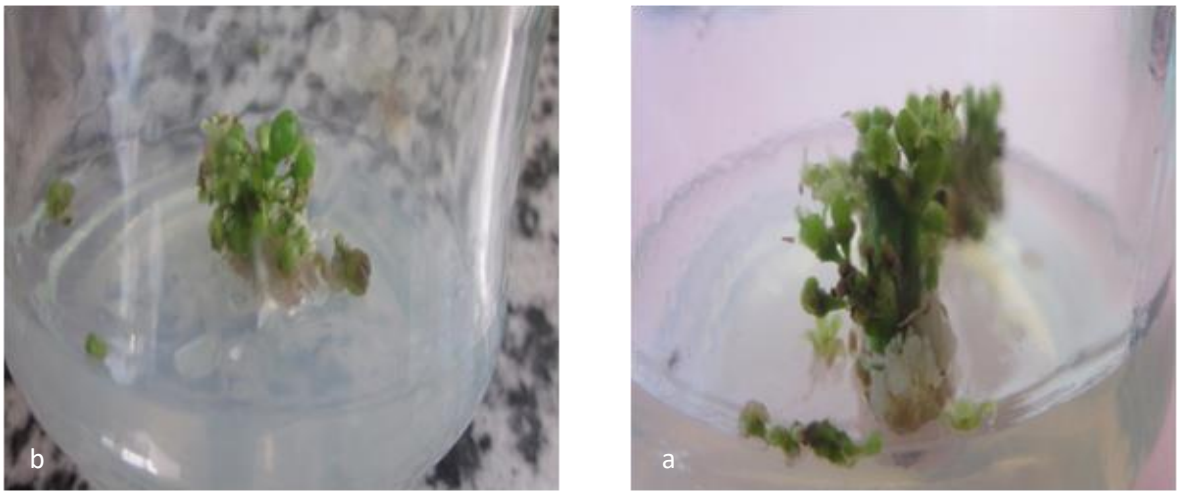


شکل ۲: برخی ویژگی‌های قابل توجه در تیمارهای مختلف: (a): افزایش طول دمگل و متورم شدن کلاهک قبل از باز شدن در رقم روبی سیدلس روی محیط۱۴، (b):گل‌های باز شده روی محیط ۱۶، (c): تشکیل میوه روی محیط ۱۷، (d):گل‌ها در تیمار شاهد، در این گل‌ها مواد فنولی تولید شد، (e):گل‌های باز نشده با تکامل ناقص روی محیط ۷

Fig. 2: Some noticeable characteristics in different treatments: (a):petiol elongation and swelling of caps before opening in Rubby seedless on the medium 14, (b): opened flowers on medium 16, (c): fruits set on the medium 17, (d): flowers of control treatment, phenolic compounds produced in these flowers, (e): unopened flowers with uncomplete development on the medium 7

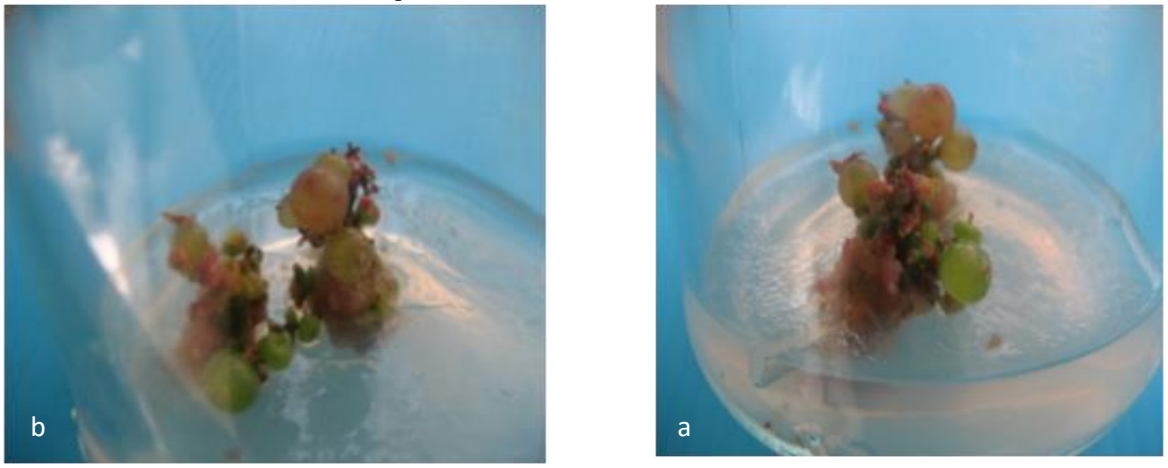
www.SID.ir

Archive of SID



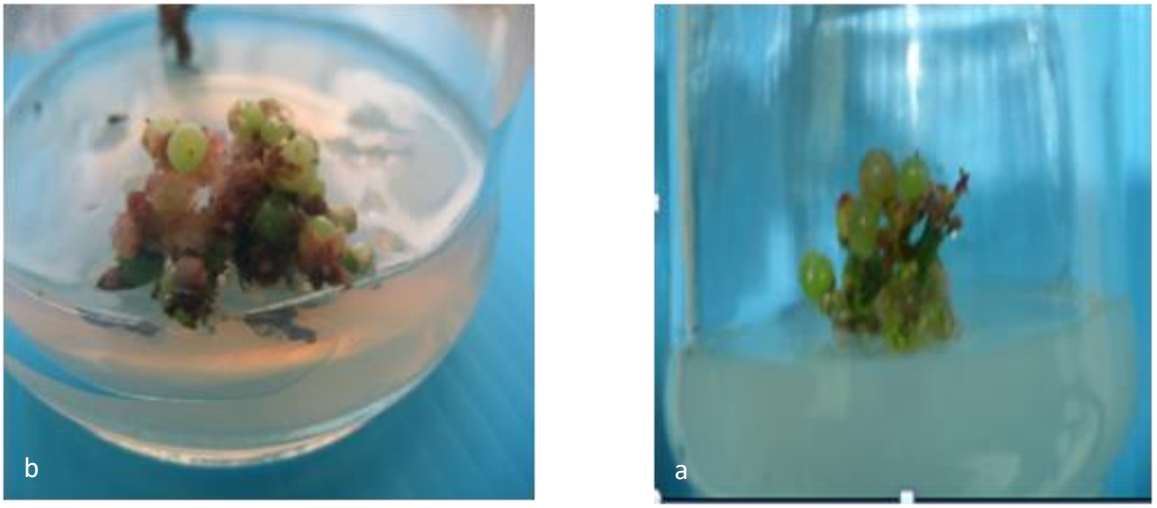
شکل ۳: (a): گل‌های باز شده رقم بیدانه سفید روی محیط ۱۷، (b): گل‌های باز شده رقم بیدانه سفید با تولید کالوس در قاعده در محیط ۱۵

Fig. 3: (a): Opened flowers of Bidaneh Sefid cultivar on medium 17, (b): Opened flowers of Bidaneh Sefid cultivar with callus produced at the base on medium 15



شکل ۴: (a): تشکیل حبه در رقم روبی سیدلس روی محیط ۱۵ و (b): روی محیط ۱۷

Fig. 4: (a): Berry set in Rubby Seedless cultivar on medium 15 and (b): on medium 17

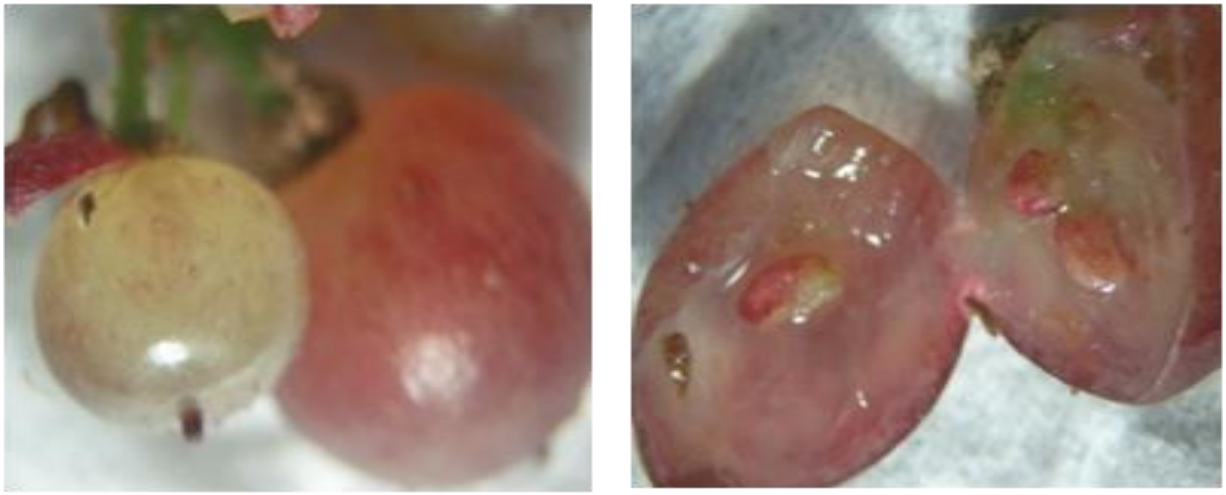


شکل ۵: (a): تولید میوه در رقم بیدانه سفید روی محیط ۱۵ و (b): روی محیط ۱۷

Fig. 5: (a): Berry set in Bidaneh Sefid cultivar on medium 15 and (b): on medium 17

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۶: میوه‌های رقم روبی سیدلس تولید شده روی محیط ۱۵

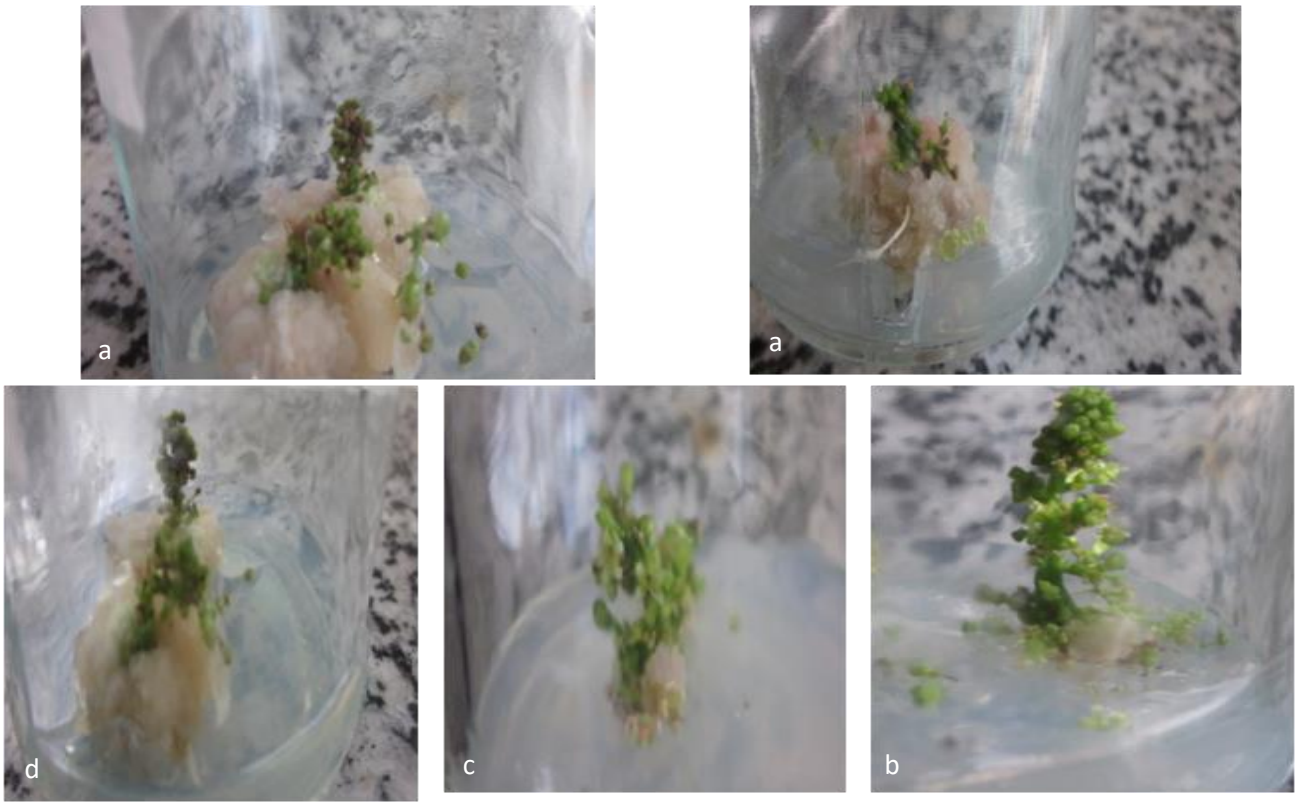
Fig. 6: Rubby Seedless cultivar fruits produced on the medium 15

شکل ۷: میوه‌های رقم بیدانه سفید تولید شده روی محیط ۱۵

Fig. 7: Bidaneh Sefid cultivar fruits produced on the medium 15

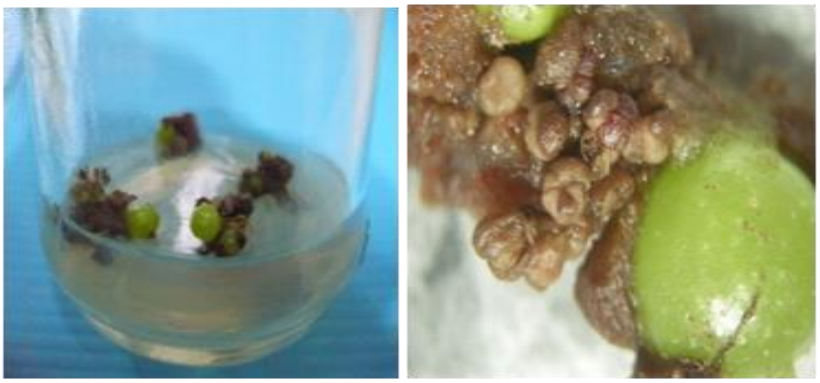
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۸: (a) کالوس تولید شده در انتهای گل رقم روبی سیدلس روی محیط ۱۳، (b): نمونه‌هایی از تولید کالوس در رقم بیدانه سفید روی محیط ۱۳، (c): روی محیط ۱۵، (d): رقم روبی سیدلس روی محیط ۱۶

Fig. 8: (a):Callus produced at the base of Rubby Seedless cultivar flowers on the medium 13, (b): Sampls of callus production for Bidaneh Sefid cultivar on the medium 13, (c): on the medium 15, (d):Rubby Seedless cultivar on the medium 16

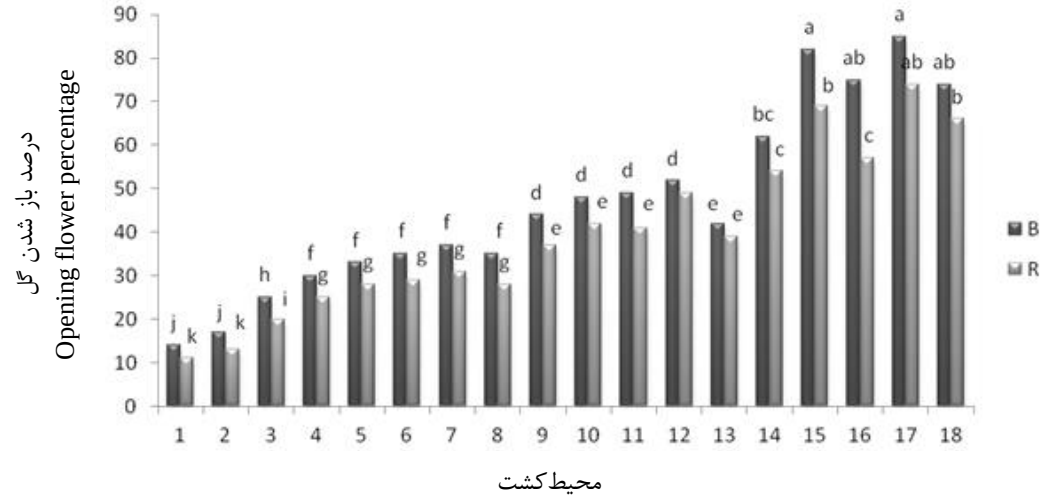


شکل ۹: نمونه‌ای از قهوه‌ای شدن گل‌های تلقیح نشده همراه با میوه های حاصل از گل‌های تلقیح شده در رقم روبی سیدلس روی محیط ۱۰

Fig. 9: Samples of browning of unfertilized flowers together with fruits from fertilized flowers of Rubby Seedless cultivar on the medium 10

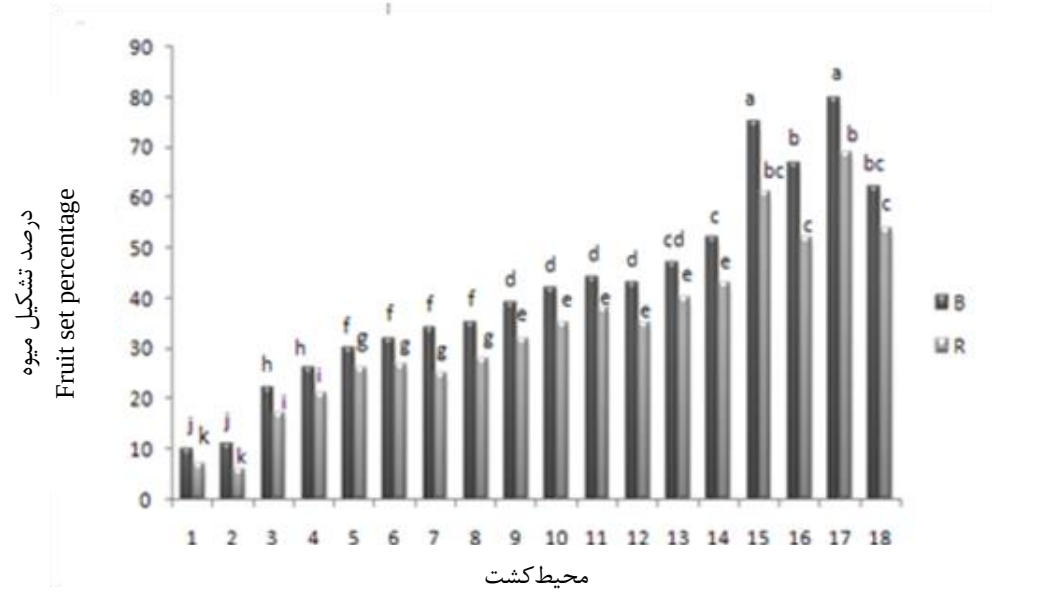
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۰: اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان باز شدن گل در دو رقم روبی سیدلس و بیدانه سفید ۲ هفته بعد از کشت (B رقم بیدانه سفید، R رقم روبی سیدلس). حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد است.

Fig. 10: The effect of growth regulators on the rate of flower opening in Rubby Seedless and Bidaneh Sefid cultivars 2 weeks after culture (B: Bidaneh Sefid and R: Rubby Seedless). The same letters indicate no significant differences based on the Duncan's test at 1% level

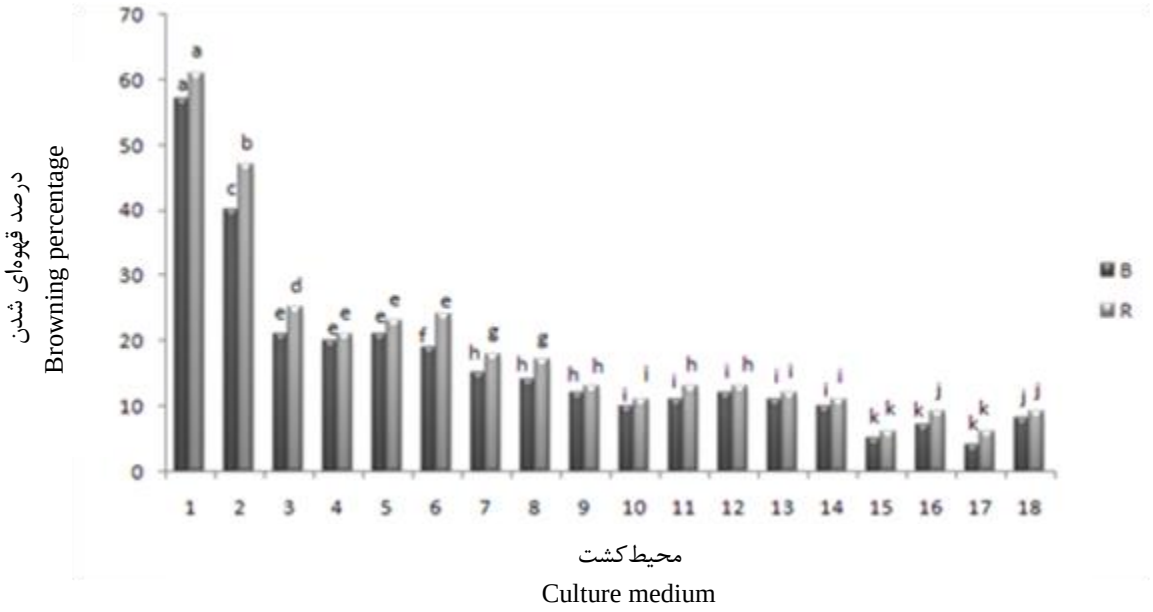


شکل ۱۱: اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان تشکیل میوه در دو رقم روبی سیدلس و بیدانه سفید ۸ هفته پس از کشت (B رقم بیدانه سفید، R رقم روبی سیدلس). حروف مشترک معرف عدم‌تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد است.

Fig. 11: The effect of growth regulators on the rate of flower opening in Rubby Seedless and Bidaneh Sefid cultivars 8 weeks after culture (B: Bidaneh Sefid and R: Rubby Seedless). The same letters indicate no significant differences based on the Duncan's test at 1% level

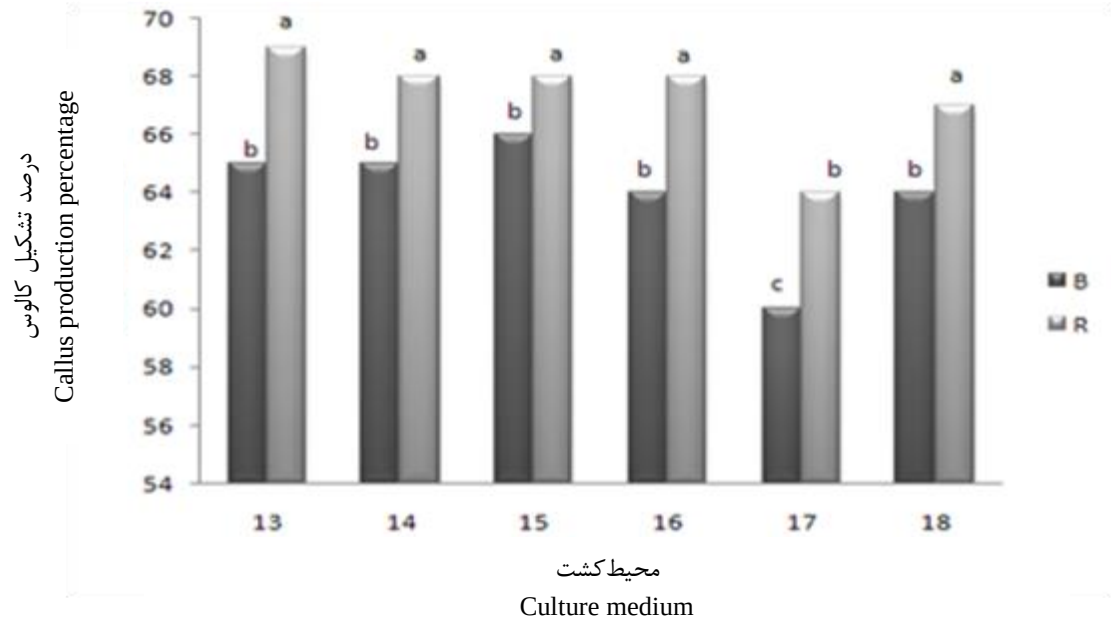
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۲: اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌ها در دو رقم روبی سیدلس و بیدانه سفید ۱ هفته پس از کشت (B رقم بیدانه سفید، R رقم روبی سیدلس). حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد است.

Fig. 12: The effect of growth regulators on the rate of tissu browning in Rubby Seedless and Bidaneh Sefid samples 1 week after culture (B: Bidaneh Sefid and R: Rubby Seedless). The same letters indicate no significant differences based on the Duncan's test at 1% level



شکل ۱۳: اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میزان تشکیل کالوس در دو رقم روبی سیدلس و بیدانه سفید ۳ هفته پس از کشت. (B رقم بیدانه سفید، R رقم روبی سیدلس). حروف مشترک معرف عدم تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد است.

Fig. 13: The effect of growth regulators on the rate of callus productin in Rubby Seedless and Bidaneh Sefid cultivars 3 weeks after culture (B: Bidaneh Sefid and R: Rubby Seedless). The same letters indicate no significant differences based on the Duncan's test at 1% level

بحث

فرایند فیزیولوژیکی تشکیل گل و تولید میوه که به عملکرد منتهی می‌شود همواره مورد توجه محققین مختلف بوده است. گلدهی در نتیجه اثر متقابل هورمون‌ها و مواد غذایی در پاسخ به شرایط محیطی، تنش‌ها یا عوامل ژنتیکی کنترل می‌شود. تمام گل‌هایی که باز می‌شوند در نهایت به میوه تبدیل

www.SID.ir

Archive of SID

نمی‌شوند و فقط درصدی از آنها توانایی تشکیل میوه را دارند. در این تحقیق بر آن شدیم که ترکیبات هورمونی را که روی کشت گل‌آذین انگور در شرایط درون شیشه‌ای تأثیر دارند و آن را تا رسیدن به مرحله تشکیل میوه هدایت می‌کنند به مرحله آزمایش بگذاریم. تاکنون در زمینه رشد گل‌آذین اطلاعاتی در دسترس نبود لذا در قالب تیمارهای مختلف هورمونی و محیط کشت پایه MS (قند، ویتامین، عناصر میکرو و ماکرو) مواد مورد نیاز برای رشد گل‌آذین فراهم شد. با وجود مواد غذایی پایه مشابه، ریزنمونه‌ها عکس‌العمل یکسانی نشان نداند که اهمیت تعادل هورمونی را در رشد گل تا مرحله تشکیل میوه نشان می‌دهد. علاوه‌بر شرایط هورمونی، فراهم کردن عوامل محیطی برای رشد گل‌آذین نیز لازم است. تیمارهای هورمونی از نظر تکامل گل‌ها، طول دوره باز شدن و تشکیل میوه و فرایند نکروزه شدن به‌عنوان یک تنش از نظر آماری و مشاهدات عینی اختلافاتی را نشان دادند. براساس گزارشات، اکسین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و با افزایش بر از قهوه‌ای شدن گل و محیط جلوگیری می‌کند. اهمیت تیمارهای هورمونی در کاهش نکروزه شدن نسبت به محیط شاهد مشخص گردید. تخریب غشاء سلولی باعث فعال‌شدن آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و در نتیجه قهوه‌ای شدن می‌گردد (*اسچیک و تویونن*[1]، 2002). از طرف دیگر فنول‌ها در مقادیر زیاد به‌عنوان مواد اکسید شونده عمل نموده و باعث ایجاد رنگ قهوه‌ای درگیاه می‌شوند به‌طوری‌که در نمونه‌های شاهد دیده شد (*روبارد*[2] و همکاران، 1999). اکسین در غلظت بالا تشکیل کالوس را افزایش داد که به‌راحتی در سطح سوم (غلظت ۴/۹ میکرومولار) قابل مشاهده بود.

شرایط مناسب برای رشد گل‌آذین و باز شدن آن شامل، دما، رطوبت، مواد غذایی، مواد هورمونی و کنترل ژنتیکی است. فاکتورهای محیطی و ژنتیکی از مهم‌ترین فرایندها در تکامل و باز شدن گل‌ها هستند (*کلر*[3]، 2010). زمانی‌که شرایط محیطی در بهار فراهم می‌شود مریستم گل‌ها به کاسبرگ، گلبرگ، پرچم و مادگی متمایز می‌شود (*سرینیواسان و مالینز*[4]، 1981). تغییرات محیطی در تعادل هورمون‌ها و فرایندهای فتوسنتزی گل ها مؤثرند (*مالینز*[5] و همکاران، 1992). با توجه به این‌که بحث هورمون‌های IBA، BAP، GA و مخلوطی از غلظت‌های مختلف آنهاست، لذا باید نقش هورمون‌ها روی رشد و نمو گل آذین در شرایط درون شیشه‌ای متمرکز شود. اما تحقیق کمی برای رشد گل‌آذین در کشت درون شیشه‌ای انجام شده است و بیشتر روی گل انگیزی انگور در شرایط بیرونی بوده، لذا مدارک کافی برای بررسی این فرایند فیزیولوژیک در شرایط درون شیشه‌ای در دست نیست. از آن‌جا که دما، رطوبت، مواد غذایی، مواد هورمونی برای رشد گل‌آذین هم در شرایط درون و برون شیشه‌ای مهم هستند لذا اهمیت هرکدام از آن‌ها را بیان می‌کنیم.

دما و رطوبت از عوامل اصلی مؤثر در باز شدن گل هستند. دمای بین ۲۵ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد و کمبود رطوبت باعث کوتاه‌شدن طول دوره گلدهی می‌شود به‌ویژه آزاد شدن دانه گرده و تغییرات در بساک ملزم تغییرات رطوبتی می‌باشد (*فرند*[6] و همکاران، 2001). دمای ۱۶ و ۱۷ درجه و دمای گرم‌تر ۲۰ و ۳۰ درجه دمای مطلوب برای شروع گلدهی است (*کازما*[7] و همکاران، 2003؛ *می*[8]، 2004). دمای بالا و رطوبت پایین کمتر از ۴۵ درصد برای شکوفایی طبیعی مضر است. همچنین تحت رطوبت بالا کلاهک نمی‌تواند باز شود و اغلب چسبیده به مادگی و گرده‌افشانی ضعیف است (*می و کلی‌یر*[9]، 1973). در شرایط خشک کلاله خشک شده و دانه‌های گرده نمی‌توانند به آن بچسبند. دمای مطلوب جوانه‌زنی دانه گرده ۲۷ و ۲۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد که در این شرایط دانه‌های گرده پس از ۳۰ دقیقه شروع به جوانه‌زنی می‌کنند (*مالینز* و همکاران، 1992؛ *لاویز*[10] و همکاران، 2000)، شرایط تنظیم شده برای رشد گل-آذین در اتاقک کشت، مطابق با کارهای محققین فوق‌الذکر صورت گرفت و نتایج به‌دست آمده نیز با نتایج گزارش شده توسط این محققین مطابقت دارد.

محیط *موراشیک* و *اسکوک* (MS) حاوی عناصر ماکرو، میکرو آهن و ویتامین‌ها می‌باشد که یک محیط مغذی برای رشد گل‌ها فراهم می‌سازد. زمانی‌که شاخه‌ها هرس می‌شوند میزان کربوهیدرات در شاخه‌های یک‌ساله بالا رفته و درصد تشکیل میوه را افزایش می‌دهد (*می و کلی‌یر*، 1973). کربوهیدرات در روی شاخه به‌وسیله برگ‌ها تأمین می‌شود ولی در محیط‌کشت به‌وسیله گل‌ها و محیط حاوی ساکارز فراهم می‌شود (*هالی*[11] و همکاران، 1962). کاهش کربوهیدرات در

1. Schick and Toivonen
2. Robard
3. Keller
4. Srinivasan and Mullins
5. Mullins
6. Friend
7. Kozma
8. May
9. May and Cellier
10. Loveys
11. Hale

www.SID.ir

Archive of SID

زمان باز شدن گل و مدت کمی بعد از آن اثر منفی روی باز شدن گل‌ها دارند (*کبلت*[1]، 1969).

از آنجا که در شرایط طبیعی رقابت در مواد غذایی به ویژه کربوهیدرات در بخش رویشی و زایشی وجود دارد (*وازکنسیلس و کاستاگنل*[2]،2000)، در شرایط درون شیشه فقط به طرف گل ها می‌رود و لذا تمایز گل‌ها راحت‌تر صورت می‌گیرد. میزان قند در زمان گلدهی ۷۰٪، تمام گل ۸۵٪ و زمان لقاح به ۶۰٪ کاهش می‌یابد. توزیع قند در گل‌آذین و اجزای گل و در بین ارقام مختلف متفاوت است و این مقدار با گل‌آذین در مرحله حساس یعنی تقسیم میوز در سلول‌های جنسی در تعارض می-باشد. انتقال نشاسته از اندام‌های دائمی نیاز اندام‌های جوان به ویژه در این‌جا گل‌ها در مرحله زایشی یا تقسیم میوز سلول‌های جنسی یا تخمک در انگور را فراهم می‌سازد، که در این‌جا ارتباط بین منبع و مقصد به‌صورت افزایش فتوسنتز برگ‌ها و کاهش نشاسته اندام‌های دائمی و تقسیم سلول‌های میوز سلول‌های جنسی می‌باشد. در دوره باز شدن گل‌ها، تکامل اجزاء زایشی و تکوین سلول‌های جنسی هر گونه توقف یا کاهش نسبی قند می‌تواند منجر به سقط گل‌ها شود (*کارمو وسکنسلوز*[3]، 2009) این گزارشات اهمیت ترکیبات محیط‌کشت به‌ویژه کربوهیدرات را تأیید می‌کنند.

از لحاظ اینکه کشت گل‌آذین در محیط MS صورت گرفته است پس تغذیه به‌طور مستقیم روی باروری مؤثر است نیتروژن روی تولید محصول شناخته شده است و کاهش نیتروژن تولید محصول را کاهش می‌دهد (*بالدوین*[4]، 1964). مشاهده شده که نفوذ لوله گرده به درون تخمدان زمانی میسر است که تیمار نیتروژن انجام و یا نیتروژن کافی وجود داشته باشد (*اکاموتو*[5] و همکاران، 2001). نیتروژن تعداد بذر در میوه و باروری را افزایش می‌دهد. در بررسی روی ارقام انگور ایرانی توسط *امیری و فلاحی*[6] (2007) انجام شده که تشکیل میوه بعد از کاربرد نیتروژن یا ترکیب با پتاسیم و منیزیم افزایش می‌یابد. مولیبدن در تغذیه نیتروژن مهم بوده و در رشد لوله گرده و نفوذ تخمک و باروری اهمیت دارد (*لانگ باتوم*[7] و همکاران، 2004). تجمع فسفر به اندازه کافی در پریموردیای گل یا در درون گل‌ها با افزایش باروری و جلوگیری از ریزش گل‌ها دخالت می‌کند. جذب فسفر در روی درخت به آسانی صورت می‌گیرد و در نوک شاخه‌ها و جوانه‌های بارده افزایش می‌یابد و مقدار آن در گل‌ها افزایش می‌یابد (*راه*[8] و همکاران، 1971). پتاسیم در تشکیل گل و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم قندها شرکت می‌کند (*بویارد*[9]، 1968). سطح مطلوب فسفر، نیتروژن و پتاسیم روی تولید سیتوکینین در گیاه و فرایند تکامل اندام‌های زایشی همراه است (*سرینیواسان و مالینز*، 1981). عناصر میکرو به میزان کمی در گیاه نیاز می‌باشند اما نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژی در گیاهان دارند. این عناصر نقش خود را روی رشد رویشی و زایشی نشان می‌دهند. در فاز زایشی در جوانه‌زنی دانه گرده، رشد لوله گرده و نمو اندام‌های زایشی و فرایندهای متابولیک (فتوسنتز، متابولیسم پروتئین‌ها و کربوهیدرات، فعالیت آنزیم‌ها، در ساختار اسیدهای آمینه و عمل آن‌ها و نیز ویتامین‌ها و تعادل در نسبت عناصر غذایی ماکرو) نقش دارند (*امران و گورمانی*[10]، 2011). رشد گل‌آذین در محیط حاوی عناصر غذایی با گزارشات پژوهشگران مبنی بر اهمیت این ترکیبات مطابقت دارند.

ریزش گل ممکن است به تعداد زیاد گل‌ها در گل‌آذین و همچنین با منابع غذایی یا هورمونی یا نوع رقم مرتبط باشد. تعداد گل‌ها در خوشه گل بسیار مهم است اگرچه گل‌ها فتوسنتز می‌کنند ولی نسبت به نوک شاخه‌های در حال رشد سینک ضعیفی هستند. با این وجود فتوسنتز برگ‌ها به‌عنوان عامل اصلی فتوآسیمیلات‌ها برای توسعه گل و جلوگیری از ریزش آن‌ها مهم است. کاهش ذخیره منابع غذایی به‌ویژه ساکارز بعد از باز شدن گل‌ها از عوامل اصلی ریزش گل‌ها می‌باشد. تنش آبی هم از عوامل ثانویه در ریزش گل می‌باشد (*لبن*[11] و همکاران، 2005) لذا تعادل منابع غذایی و هورمونی در رشد گل‌آذین اهمیت داشت. به‌طوری‌که همه محیط‌ها در رشد گل آذین یکسان واکنش ندادند. در سیب موقعیت قرار گرفتن گل‌ها بر روی شاخه برای رشد و جلوگیری از ریزش و تولید عملکرد مناسب ثابت شده است (*فری*[12] و همکاران، 2001). تعادل مواد غذایی و هورمونی و عدم رقابت بین گل‌ها در سیب با نتایج آزمایش ما مطابقت داشت.

میزان اکسین و عنصر بر، در افزایش حرکت قندها به سوی گل‌ها اثر دارند و کاهش اکسین می‌تواند منجر به افزایش آنتی-اکسیدان‌ها و تولید مواد فنولی و قهوه‌ای شدن بافت‌ها گردد. اسید جیبرلیک در تبدیل آنلاگن دخالت و تعادل بین آن و

1. Koblet
2. Vasconcelos and Castagnoli
3. CarmoVasconcelos
4. Baldwin
5. Okamoto
6. Amiri and Fallaahi
7. Long bottom
8. Rao
9. Bouard
10. Imran and Gurmani
11. Lebon
12. Feree

www.SID.ir

Archive of SID

سیتوکینین در توسعه گلدهی نقش دارد (*بوس*[1] و همکاران، 2001). یعنی اسید جیبرلیک برای آغازش محور آنلاگن و ارتقاءدهنده گلدهی می‌باشد. سیتوکینین بسیاری از جنبه‌های تولید مثلی را در انگور کنترل می‌کند و به همراه اکسین در بسیاری از فرایندهای تقسیم سلولی و فعالیت آنزیم‌ها برای نمو اندام‌های زایشی دخالت می‌کند (*لامبورد*[2] و همکاران، 2006؛ کیبر[3]، 2006). نقش هورمون‌های گیاهی در رسیدن میوه انگور مشخص نیست. فعالیت اسید جیبرلیک و سیتوکینین در اوایل رشد میوه بالاست. کاهش غلظت اکسین و افزایش غلظت اسید آبسایزیک با آغازش رسیدن میوه ارتباط دارد. اگرچه اسید جیبرلیک در میوه‌های بیدانه اثر بهتری دارد اما در شرایط درون شیشه میوه‌ها بدون هورمون اسید جیبرلیک تشکیل شدند. شاید به‌دلیل اینکه این میوه‌ها در مراحل اولیه دارای بذر بودند و به‌راحتی هورمون اسید جیبرلیک برای رشد و بقاء خود تولید می‌کردند (*مالینز* و همکاران، 1992). اگرچه نقش هورمون‌ها در طول دوره باز شدن گل مشخص نشده است اما تعادل بین آن‌ها برای رشد گل‌آذین و نهایتاً تشکیل میوه ضروری است چنانچه در آزمایش ما گزارش شد. تمام تغییرات در رشد زایشی و باز شدن گل‌ها، تحت کنترل ژن‌های است که به‌درستی شناخته نشده است. اما با استفاده از موتانت‌های گیاه انگور و بیان برخی از ژن‌ها در مراحل به‌خصوصی از رشد و نمو مخصوصاً گل و میوه به این نتیجه رسیدند که کنترل ژنتیکی ارتباط مستقیمی با فاکتورهای محیطی و تغذیه‌ای دارد و با کنترل آن‌ها می‌توان بیان ژن‌های مربوط به عملکرد و رشد بهتر را بالا برد (*کارمونا*[4] و همکاران، 2008). در این‌جا نقش ترکیبات تغذیه‌ای و فاکتورهای محیطی برای رشد بهینه تأیید می‌شود.

1. Boss
2. Lombard
3. Kiber
4. Carmona

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

Amiri, M. E. and Fallahi, E. 2007. Influence of mineral nutrients on growth, yield, berry quality, and petiole mineral nutrient concentrations of table grapes. Journal of Plant Nutrition, 30: 463-470.

Baldwin, J. G. 1966. The effect of some cultural practices on nitrogen and fruitfulness in Sultana vine. American Journal of Enology and Viticulture, 17: 58-62.

Bessis, R., Charpentier, N., Hilt, C. and Fourioux, J. C. 2000. Grapevine fruit set: physiology of abscission zone. Australian Journal of Grape and Wine Research, 6: 125-130.

Berghoef, J. and Bruinsma, J. 1979. Flower development of Begonia franconis Liebm. II. Effects of nutrition and growth regulating substances on the growth of floral buds *in vitro*. Plant Physiology, 93: 345-357.

Boss, P. K., Vivier, M., Matsumoto, S., Dry, I. B. and Thomas, M. R. 2001. A CDNA from grapevine (*Vitis vinifera* L.), which shows homology to Agamous and Shatteproof, is not only expressed in flowers but also throughout berry development. Plant Molecular Biology, 45: 541-553.

Bouard, J. 1968. The influence of the carbohydrate and nutrient element content of the canes of the vine on the production of grapes. Potash Revenue, 29: 1-7.

CarmoVasconcelos, M., Greven, M., Chris, S., Winefield, M., Trought, C. T. and Raw, V. 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: A Review. American Journal of Enology and Viticulture, 60: 4-9.

Carmona, M. J., Martınez-Zapater, J. J. M. and Thomas, M. R. 2008. A molecular genetic perspective of reproductive development in grapevine. Journal of Experimental Botany, 59: 2579-2596.

De Jong, A. W. and Bruinsma, J. 1974. Pistil development in Cleome flowers. III. Effects of growth-regulating substances on flower buds of *Clome iberidella* Welw. ex Oliv. grown *in vitro*. Zeitschrift fűr Pflanzenphysiolie, 73: 142-151.

Feree, D. C., Bishop, B. L., Schupp, J. R., Tustin, D. S. and Cashmore, W. M. 2001. Influence of flower type, position in the cluster and spur characteristics on fruit set and growth of apple cultivars. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 76: 1-8.

Friend, A. P., Creasy, G. L., Trought, M. C. T. and Lang, A. 2003. Use of tagging to trace cap fall and development of individual *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir flowers. American Journal of Enology and Viticulture, 54: 313-317.

Hale, C. R. and Weaver, R. J. 1962. The effect of developmental stage on direction of translocation of photosynthate in *V*itis *vinifera*. Hilgardia, 33: 89-141.

Imran, M. and Gurmani, Z. A. 2011. Role of macro and micro nutrients in the plant growth and development. Science, Technology and Development, 30: 30-37.

Keller, M. 2010. Managing grapevines to optimize fruit development in a challenging environment: a climate primer for viticulturists. Australian Journal of Grape and Wine Research, 16: 56-69.

Kieber, J. 2006. Cytokinins Regulators of cell division. In: Plant Physiology. Taiz, L. and Zeiger, E. (eds.), pp. 543-569. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Koblet, W. 1969. Translocation of photosynthate in vine shoots and influence of leaf area on quantity and quality of the grapes. Wein-Wiss, 24: 277-319.

Kozma, P. 2003. Exploration of flower types in grapes. In Floral Biology, Pollination and Fertilisation in Temperate Zone Fruit Species and Grape. pp: 75-226

Lebon, G., Brun, O., Mangé, C. and Clement, C. 2005. Photosynthesis of the grapevine (*Vitis vinifera*) inflorescence. Tree Physiology, 25:633-639.

Lombard, P. J., Cook, N. C. and Bellstedt, D. U. 2006. Endogenous cytokinin levels of table grape vines during spring budburst as influenced by hydrogen cyanamide application and pruning. Horticultural Science, 109: 92-96.

Longbottom, M., Dry, P. and Sedgley, M. 2004. Foliar application of molybdenum pre-flowering: Effects on yield of Merlot. Australian Grape Grower, 491: 36-39.

Loveys, B. R., Dry, P. R., Stoll, M. and McCarthy, M. G. 2000. Using plant physiology to improve the water use efficiency of horticulture crops. Acta Horticultural, 537: 187-197.

May, P. 2004. Flowering and Fruitset in Grapevines. Lythrum Press, Adelaide.

May, P. and Cellier, K. M. 1973. The fruitfulness of grape buds. II. The variability in bud fruitfulness in ten cultivars over four seasons. Annals Amelior Plant, 23: 13-26.

Mchughen, A. 1982. Induction organ generation *in vitro*: sepal-petal structures from tobacco buds. Canadian Journal Botany, 60: 845-849.

Mullins, M. G., Bouquet, A. and Williams, L. E. 1992. Biology of the Grapevine. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp: 239.

Okamoto, G., Tada, H., Suyama, A., Hayashi, Y. and Hirano, K. 2001. Effect of shoot vigor on the development of transmitting tissue and pollen tube growth in pistils of tetraploid grape, cv. Pione. Vitis, 40: 105-110.

Rastogi, R. and Sawhney, VK. 1987. The role of plant growth regulators, sucuros and pH in development of floral buds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) culture *in vitro*. Journal Plant Physiology, 128: 285-295.

Rao, V., Venkatachalam, S., Natarajan, C. and Srinivasan, C. 1971. Uptake and movement of phosphorus (32P) in grapes. Vitis, 10: 103-106.

Robard, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P. and Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruit. Journal Food Chemistry, 66: 401-436.

www.SID.ir

Archive of SID

Schick, J. L. and Toivonen, P. M. A. 2002. Reflective traps at harvest reduce stem browning and improving fruit quality of cherries during subsequent storage. Postharvest Biology and Technology, 25: 117-121.

Srinivasan, C. and Mullins, M. G. 1981. Physiology of flowering in the grapevine. Review, American Journal of Enology and Viticulture, 32: 47-63.

Vasconcelos, M. C. and Castagnoli, S. 2000. Leaf canopy structure and vine performance. American Journal of Enology and Viticulture, 51: 390-396.

Yahyaouim, T., Barbier, M. and Bessis, R.1998. *In vitro* morphogenesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) inflorescence primordial, cvs Piont Noir and Chardonnay. Australian Journal of Grape and Wine Research, 4: 111-120.

www.SID.ir

Archive of SID

Optimized Culture Medium for *In Vitro* Growth of Grapevine Inflorescence

Seddighi[1], A., Gholami[2*], M., Sarikhani[3], H. and Chehregani[4], A.

Abstract

In vitro inflorescence development and fruit production can provide a valuable tool for researchers investigating the precise physiological stages of these processes. In this study, inflorescences clusters from Bidaneh Sefid and Seedless grapes were cut off the young shoots growing on canes at spring. Half strength MS medium was used for *in vitro* cultivation of flowers. After cultivation of each individual inflorescence branches, they continued to development until berry ripening of fruits grown from these explants *in vitro*. The experiments were set as a factorial using completely randomized design with gibberellin in two levels; (0 and 2.89 µM), benzylaminopurin in three levels; (0, 2.5 and 4 µM) and auxin (indole butyric acid) in three levels; of (0, 2.5 and 4.9 µM) with three replicates for each treatment. Hormone type and concentration were impressive in successful growth of cultivated inflorescences. The cultivated inflorescences started growing, the flowers opened and eventually set fruits in media with 4.9 µM auxin and 4 µM cytokinin treatments. Auxin and cytokinin showed important roles as key hormones involved in flowers opening and fruit set in grapes, while gibberellin was non-significant. Bidaneh Sefid as a Seedless cultivar showed long term survival *in vitro* and more stable, during growth period of explants compared to Seedless in acclimation to *in vitro* conditions. Control with no hormone treatment caused browning of flowers on the inflorescences in the medium and in some cases elucidation of browning in blooming flowers and stopped growth and eventually the flowers died.

Keywords: Bidaneh sefid, Seedless, Indole butyric acid, Evolution of reproductive organs

1, 2 and 3. PhD Student, Professor and Associate Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

4. Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

*: Corresponding author Email: mgholami@basu.ac.ir

www.SID.ir