مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی شرایط کشت درون شیشه‌ای و بررسی اثر تنش شوری در انگور رقم اسکارلت

سمیه حبیبی‌سقالکساری[۱]، محمد محسن‌زاده‌گلفزانی[۲]*، حبیب ا... سمیع‌زاده‌لاهیجی[۳] و مجتبی رسولی‌الموتی[۴]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۲۵- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۲)

چکیده

انگور به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین محصولات باغی جهان شناخته می‌شود. با این حال به‌علت مقاومت اندک آن نسبت به تنش شوری، چالش‌های فراوانی در زمینه تولید آن وجود دارد. یکی از ارقام اصلاح شده انگور، رقم اسکارلت سلطنتی می‌باشد. به منظور مطالعه اثر تیمارهای هورمونی و محیط کشت بر پرآوری رقم اسکارلت، سه غلظت هورمونBAP به‌ترتیب ۰، ۴/۴۴ و ۸/۸۸ میکرومولار و سه غلظت هورمون NAA به‌ترتیب ۰، ۲/۶۸ و ۵/۳۷ میکرومولار در محیط‌های کشت MS وDKW، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملا تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان از برتری تیمار محیط کشت MS حاوی ۴/۴۴ میکرومولار BAP به‌همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA، نسبت به سایر تیمارها با ۶۷/۷۷ درصد پرآوری بود. همچنین به‌منظور بهینه‌سازی محیط کشت ریشه‌زایی، سه غلظت هورمون ۰، ۲/۴۶ و ۴/۹۲ میکرومولار IBA و سه غلظت هورمون IAA به ترتیب ۰، ۲/۸۶ و ۵/۷۱ میکرومولار در محیط‌های کشت MS وDKW به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه آماری کاملا تصادفی اعمال شدند. بررسی صفات ریشه‌زایی نیز نشان از برتری تیمار محیط کشت DKW حاوی ۴/۹۲ میکرومولار هورمون IBA با ۸۱ درصد ریشه‌زایی بود. پس از بهینه‌سازی محیط کشت، تیمارهای شوری شامل ۴ غلظت ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ NaCl mM در قالب طرح کاملا تصادفی اعمال شد. نتایج مربوط به صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نشان از مقاومت گیاه نسبت به سطح تنش mM ۵۰ بود. با این حال رقم اسکارلت قادر به تحمل سطوح ۱۰۰ و mM۲۰۰ نبوده و نسبت به این سطوح حساس می‌باشد.

کلمات کلیدی: پرآوری، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، محیط کشت پایه

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۲- دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۳- استاد بیوتکنولوژی گیاهی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی-دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۴- مرکز خدمات تخصصی کشت بافت و تکثیر درختان میوه و گیاهان زینتی، سازمان جهاد دانشگاهی تهران، تهران، ایران.

* پست الکترونیک: mohsenzadeh.mohamad@guilan.ac.ir

مقدمه

انگور با اسم علمی *Vitits vinifera* از مهمترین محصولات باغی جهان است که به علت تولید فراورده‌های متنوع از آن، ارزش اقتصادی بسیار فراوانی دارد (استوارت و روب[1]، ۲۰۱۳). تولید جهانی انگور در سال ۲۰۱۹ تقریبا ۷۷ میلیون تن بوده است که کشور ایران با تولید ۱ میلیون و ۹۴۵ هزار تن، رتبه دوازدهم را در بین کشورهای برتر تولیدکننده به خود اختصاص داده است (فائو[2]، ۲۰۱۹). در ایران نیز استان فارس با دارا بودن بیش از ششصد هزار تاکستان رتبه اول در تولید انگور را دارد (محمدخانی[3]، ۲۰۱۸). در میان ارقام انگور، رقم اسکارلت سلطنتی یا رویال[4] در موسسه تحقیقات کشاورزی کالیفرنیا اصلاح و به بازار عرضه شد. اسکارلت رقمی است بی‌دانه به رنگ سرخ تیره که گوشت داخل حبه به رنگ زرد متمایل به سبز بوده و در اواخر مرداد و اوایل شهریور میوه آن می‌رسد (دیت[5] و همکاران، ۲۰۱۹). شروع باردهی این گیاه از سال دوم تا سوم بوده و حبه‌های آن شیرین و ترد است. اندازه خوشه نیز نسبتا بزرگ، مخروطی و متراکم می‌باشد. میوه آن غنی از ویتامین‌های A و B، آنتی‌اکسیدانت‌ها و پلی‌فنل‌ها می‌باشد (دیت و همکاران، ۲۰۱۹).

امروزه به کشت سلول، بافت و یا اندام‌های گیاهی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی، کشت بافت گیاهی می‌گویند (شارما[6] و همکاران، ۲۰۲۱). از این تکنیک در جهت تولید گسترده و تجاری گیاهان استفاده می‌شود. از جمله مزایای این روش می‌توان به سرعت رشد بالا، یکسان بودن گیاهان بازرا شده با گیاه مادری، تولید گیاهان فاقد ویروس و بیماری، حفظ تنوع ژنتیکی و گیاهان در معرض انقراض، اشاره کرد (چندران[7] و همکاران، ۲۰۲۰). امروزه با توجه به ارزش اقتصادی بالای انگور و عملکرد بیشتر کشت بافت نسبت به روش‌های مرسوم، استفاده از فناوری کشت بافت گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (آلولد و رادلر[8]، ۱۹۶۲). بررسی برکت[9] و همکاران (۲۰۱۹) بر روی تأثیر هورمون NAA و BAP بر پایه‌های انگور رقم‌های فریدم، هارمونی و پولسن نشان داد که تیمارهای هورمونی تأثیرگذار برای هر ژنوتیپ متفاوت بوده و ژنوتیپ‌های مختلف پاسخ‌های متفاوتی را نشان می‌دهند. در مطالعه برکت و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده شد که بیشترین درصد ریشه‌زایی (۷۵ درصد) مربوط به پایه پولسن انگور است که با تیمار mg/L IBA۲ ایجاد شده بود.

تنش‌ها مهمترین عامل محدودکننده رشد گیاهان شناخته می‌شوند که به دو گروه تنش‌های زیستی و غیرزیستی تقسیم‌بندی می‌شوند (مانس و تستر[10]، ۲۰۰۸). از مهمترین تنش‌های غیرزیستی می‌توان به تنش شوری اشاره کرد. در واقع به تجمع یون‌های سدیم، کلر و سولفات در اطراف ریزوسفر که منجر به کاهش و ایجاد اختلال در فرایند رشد گیاه تا ۵۰ درصد می‌شود تنش شوری می‌گویند (زورب[11] و همکاران، ۲۰۱۹). امروزه ۱۱۲۵ میلیون هکتار زمین معادل شش و نیم درصد از اراضی کل جهان تحت تأثیر تنش شوری و سدیمی می‌باشد (کامران[12] و همکاران، ۲۰۱۹). طبق پیش‌بینی‌ها این میزان تنش به علت استفاده نامناسب و عدم مدیریت صحیح منابع خاکی و آبی در آینده افزایش می‌یابد (مانس و گلیهام[13]، ۲۰۱۵). تنش شوری به دو طریق به گیاهان آسیب وارد می‌کند در مرحله اول به علت تجمع یونی در اطراف ریزوسفر، جذب آب توسط گیاه به مشکل بر می‌خورد و متعاقبا منجر به بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز و کاهش تورژسانس سلولی می‌شود. در مرحله دوم جذب یون‌های سدیم منجر به برهم خوردن تعادل یونی پتاسیم به سدیم در سلول شده و این امر منجر به غیرفعال شدن بخش عمده‌ای از آنزیم‌ها و پروتئین‌ها می‌شود که نتیجتا تعادل متابولیتی سلول را از بین می‌برد (نشاط[14] و همکاران، ۲۰۲۲). از سوی دیگر تمامی موارد فوق منجر به تنش‌های اکسیداتیو نیز می‌شود که آنها نیز به نوبه خود به دیگر ماکرومولکول‌ها نظیر غشا، پروتئین‌ها و نوکلوئیک اسیدها، تأثیر می‌گذارند (چادهری[15] و همکاران، ۲۰۲۰).

هدف این پژوهش در ابتدا بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری و ریشه‌زایی کشت بافت رقم انگور اسکارلت بود تا بتوان با

1. Stuart and Robb
2. FAO
3. MohammadKhani
4. Scarlete Royal
5. Deyett
6. Sharma
7. Chandran
8. Alleweldt and Radler
9. Barakat
10. Munns and Tester
11. Zorb
12. Kamran
13. Munns and Gilliham
14. Neshat
15. Choudhary

دست‌یابی به یک محیط کشت مناسب در جهت تکثیر اقتصادی آن استفاده کرد. در مرحله دوم پژوهش اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی رقم انگور اسکارلت رویال مورد ارزیابی قرار گرفت تا از میزان مقاومت و حساسیت این گیاه به تنش شوری اطلاعات کامل بدست آید.

مواد و روش‌ها

تهیه مواد گیاهی، ضدعفونی و کشت اولیه

در این پژوهش انگور رقم اسکارلت سلطنتی از گلخانه‌ای در شهرستان نقده خریداری و تهیه شد. نمونه‌برداری اولیه در بهار سال ۱۴۰۰ از سرشاخه‌های نیمه‌علفی گیاه انجام شد. نمونه‌های اولیه به‌مدت نیم ساعت با آب روان شستشو داده شد و پس از آن به‌مدت ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد قرار گرفت و پس از آن به محلول دو و نیم درصدی هیپوکلریت-سدیم (وایتکس) حاوی چند قطره توئین ۲۰ انتقال داده شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه در این محلول شتسشو داده شد. پس از استریل کردن، نمونه‌ها چندین مرحله با آب مقطر اتوکلاو شده، شستشو داده شدند و در نهایت سرشاخه‌های دو سانتی‌متری در محیط کشت MS کامل حاوی ۰/۸ درصد آگار و سه درصد ساکارز با pH=5.7 قرار گرفت و سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در آزمایشگاه کشت بافت سازمان جهاد دانشگاهی تهران قرار گرفته و رشد کردند (محمدخانی و همکاران، ۲۰۱۸).

پس از رشد درون شیشه‌ای گیاه به منظور بهینه‌سازی محیط پرآوری انگور رقم اسکارلت، گیاهان کشت شده در مرحله قبل در تیمارهای محیط کشت MS و DKW شامل سه غلظت هورمون BAP (۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب شامل ۰، ۴/۴۴ و ۸/۸۸ میکرومولار) و سه غلظت هورمون NAA (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب ۰، ۲/۶۸ و ۵/۳۷ میکرومولار) قرار گرفت. پس از گذشت سه ماه صفات تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد میانگره، فاصله بین گره، تعداد برگ و درصد پرآوری بررسی و اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد گیاهان پرآوری شده پس از رشد و سه الی چهار سانتی‌متری شدن از ناحیه طوقه برش خورده و در محیط کشت DKW و MS حاوی سه غلظت هورمون IBA (۰، ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم به ترتیب ۰، ۲/۴۶ و ۴/۹۲ میکرومولار) و سه غلظت از هورمون IAA (۰، ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم به‌ترتیب ۰، ۲/۸۶ و ۵/۷۱ میکرومولار) قرار گرفتند. در این مرحله نیز صفات تعداد ریشه، طول ریشه و درصد ریشه‌زایی مورد بررسی قرار گرفت (رستمی و ارشادی، ۱۳۹۸).

اعمال تنش شوری

گیاهچه‌های انگور دو الی سه سانتی‌متری را در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم BAP، نیم میلی‌گرم NAA و یک میلی‌گرم IBA که حاوی غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر NaCl بود، کشت شد (محمدخانی و همکاران، ۲۰۱۸). پس از گذشت ۴۰ روز صفات طول شاخه، طول ریشه، وزن تر، وزن خشک، تعداد برگ، تعداد و فاصله میانگره و تعداد برگ‌های زرد، اندازه‌گیری شده و سپس نمونه‌های گیاهی در ازت مایع پودرشده و برای بررسی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل میزان کلروفیل و کارتنوئید به‌روش (آرنون[1]، ۱۹۴۹)، پرولین به‌روش (بیتس[2]، ۱۹۷۳)، عناصر سدیم و پتاسیم به‌روش (نشاط و همکاران، ۲۰۲۲)، مالون‌دی‌آلدئید به‌روش (کیو[3] و همکاران، ۲۰۱۴)، فنل کل به‌روش (محمدخانی و همکاران، ۲۰۱۸)، آنزیم‌های کاتالاز به‌روش (پرایرا[4] و همکاران، ۲۰۰۲)، گایاکول پراکسیداز به‌روش (چنس و ماهی[5]، ۱۹۵۵)، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره و نگهداری شد.

تجزیه واریانس به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر مبنای مدل آماری طرح پایه کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به کمک نرم‌افزار SAS 9.4 انجام گرفت، برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 و برای نرمال‌سازی داده‌ها از Minitab 16 استفاده شد.

نتایج و بحث

بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری

تیمارهای اعمال شده در بخش بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری، شامل دو تیمار محیط کشت (MS و DKW) و نه تیمار هورمونی مختلف (تیمار با غلظت‌های مختلف BAP و

1. Arnon
2. Bates
3. Qiu
4. Peraira
5. Chance and Maehy

NAA) بود. پس از واکشت گیاهان به مدت ۳ ماه صفات فیزیولوژیکی گیاه اندازه گیری شد. نتایج پژوهش نشان از معنی‌دار بودن اثر تیمار هورمون‌های BAP و NAA بر صفت تعداد شاخه در سطح احتمال یک درصد بود. همچنین بررسی اثر متقابل تیمار هورمون‌های BAP و NAA نیز نشان از معنی‌دار بودن اثر متقابل بر صفت تعداد شاخه در سطح یک درصد، می‌باشد (جدول۱). بهترین و تأثیرگذارترین تیمار هورمونی برای صفت تعداد شاخه، تیمار هورمونی ۴/۴۴ میکرومولار BAP به‌همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA و برتری محیط کشت MS بود (جدول۲). نتایج آماری نشان از معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارهای محیط کشت و ترکیب هورمونی بر صفت طول شاخه در سطح یک درصد می‌باشد (جدول۱). بهترین و تاثیرگذارترین تیمار هورمونی برای صفت طول شاخه، تیمار هورمونی ۵/۳۷ میکرومولار NAA به همراه ۴/۴۴ میکرومولار BAP در محیط کشت DKW بود (جدول۲).

صفت تعداد گره بر هر گیاه در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تیمارهای هورمونی و محیط کشت بود، بررسی‌ها نشان داد که بهترین تیمار برای افزایش تعداد گره در رقم اسکارلت، تیمار ۴/۴۴ میکرومولار BAP به همراه ۵/۳۷ میکرومولار NAA در محیط کشت MS می‌باشد (جدول۲). مشاهدات و داده‌های آماری نشان از معنی‌دار شدن تأثیر نوع محیط کشت و ترکیب هورمونی و اثرات متقابل محیط کشت و ترکیبات مختلف هورمونی بر صفت فاصله میانگره‌ها بود (جدول۱). بهترین و تأثیرگذارترین تیمار هورمونی برای صفت فاصله میانگره‌ها، تیمار هورمونی ۵/۳۷ میکرومولار NAA در محیط کشت DKW بود (جدول۲).

برای صفت تعداد برگ، تأثیر تیمار محیط کشت و تیمار هورمون‌های مختلف در سطح یک درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل هورمون‌ها و محیط کشت بر صفت تعداد برگ در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول۱). بهترین و تأثیرگذارترین تیمار هورمونی برای صفت تعداد برگ، تیمار ۴/۴۴ میکرومولار BAP به همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA در محیط کشت MS می‌باشد (جدول۲). نتایج آماری نشان از معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارهای محیط کشت و ترکیبات هورمونی بر صفت درصد شاخه‌زایی در سطح یک درصد می‌باشد (جدول۱). نتایج آماری مربوط به تیمار محیط کشت نشان داد که بهترین محیط کشت برای صفت درصد شاخه‌زایی، محیط کشت MS می‌باشد. بهترین تیمار هورمونی نیز تیمار ۴/۴۴ میکرومولار BAP به همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA بوده است (جدول۲). با این حال به علت ارزان‌تر بودن، تیمار هورمونی ۴/۴۴ میکرومولار BAP به‌همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA در محیط کشت MS به‌عنوان بهترین تیمار انتخاب شد (جدول۲). بررسی صفت درصد شاخه‌زایی نشان داد که این تیمار با ۷۷/۶۷ درصد پرآوری به‌عنوان بهترین محیط کشت بهینه‌سازی به منظور پرآوری رقم اسکارلت انگور شناخته شد. در این پژوهش تیمارهای محیط کشت MS و DKW تأثیر معنی‌داری بر درصد شاخه‌زایی گیاه داشته و محیط کشت MS توانست پاسخ بهتری را نسبت به DKW بدهد. علت این امر می‌تواند ناشی از غلظت بیشتر نیترات‌آمونیوم در محیط کشت MS نسبت به DKW و همچنین وجود نیترات پتاسیم در محیط کشت MS باشد. از آنجا که نیترات نقش بسیار مهمی در رشد و توسعه رویشی گیاه دارد، می‌توان نتیجه گرفت که بهبود عملکرد بهتر MS ناشی از این ترکیب

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس بهینه‌سازی محیط کشت شاخه‌زایی انگور رقم اسکارلت

SOV	df	تعداد شاخه	طول شاخه	تعداد گره	فاصله میانگره (cm)	تعداد برگ	درصد شاخه زایی
محیط کشت	۱	۰/۱۷ ns	۰/۰۰۰۷ ns	۴۲/۶۷ **	۰/۱۹ **	۳۸۹/۳۵ **	۶۶۸/۵۲ **
هورمون NAA	۲	۶/۲۲ **	۱/۱۸ **	۱۴/۶۸ **	۰/۰۰۶۷ **	۴۸۰/۱۷ **	۱۷۷۴/۷ **
هورمون BAP	۲	۱۵/۱۷ **	۱/۰۷ **	۶/۴۶ *	۰/۰۱۲ **	۷۲۲/۸۹ **	۱۸۷۳۲/۰۷ **
NAA * محیط کشت	۲	۰/۶۷ ns	۰/۰۹ ns	۱/۷۲ ns	۰/۰۰۷ **	۴۲/۷۹ **	۴۴۰/۰۷ **
BAP * محیط کشت	۲	۰/۵ ns	۰/۲۱ ns	۱۱/۱۷ **	۰/۰۰۱ ns	۱۹۶/۰۷ **	۶۸۹/۸۵ **
BAP*NAA	۴	۲/۳۹ **	۱/۴۴ **	۱۹/۰۷ **	۰/۰۰۹ **	۱۰۵/۳ **	۱۲۱۵/۷۴ **
NAA*BAP * محیط کشت	۴	۰/۱۷ ns	۱/۵۴ **	۷/۰۵ **	۰/۰۰۶ **	۸۸/۶ **	۲۶۸/۴۱ **
خطای آزمایش	۳۶	۰/۳۱	۰/۱۴	۱/۳۷	۰/۰۰۰۵	۴/۵	۲۳/۱۵
درصد ضریب تغییرات		۲۷/۲۹	۱۱/۱۵	۱۲/۱۵	۶/۴۲	۱۲/۱۹	۱۲/۹۹

*، ** و ns به‌ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

می‌باشد (منصوریار و همکاران، ۱۳۹۶). نتایج این مطالعه با نتایج رستمی و ارشادی (۱۳۹۸) بر روی باززایی جنین‌های سوماتیکی شش رقم انگور، همسو بود. در آن پژوهش نشان داده شد که بهترین تیمار هورمونی برای شش رقم متفاوت انگور، تیمار حاوی ۰/۵ میکرومولار BAP می‌باشد. بررسی برکت و همکاران (۲۰۱۹) بر روی تأثیر هورمون NAA و BAP بر پایه‌های انگور رقم‌های فریدم، هارمونی و پولسن نشان داد که تیمارهای هورمونی تأثیرگذار برای هر ژنوتیپ متفاوت بوده و ژنوتیپ‌های مختلف تأثیرهای مختلفی را نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال نشان داده شد که پایه فریدوم در ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و پایه هارمونی در ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم NAA و ۰/۵ میلی‌گرم BAP و پایه پولئسن در ترکیب هورمونی ۰/۷۵ میلی‌گرم NAA بیشترین پرآوری را داشته‌اند. مطالعات آنها همچنین نشان داد که محیط کشت $\frac{1}{2}$ MS در مقایسه با محیط کشت WPM و MS کامل، بهترین محیط کشت برای رشد این پایه‌های انگور می‌باشد. BAP به‌عنوان یک سایتوکنین در تحریک، رشد و نمو و تکثیر سلولی نقش دارد و اضافه کردن آن به محیط کشت سبب بازایی می‌شود (بوهیدار[1] و همکاران، ۲۰۰۸). علت این امر نقش اساسی این هورمون در کاهش اثر غالبیت انتهایی بوده که منجر به تحریک تشکیل شاخساره‌های جانبی می‌شود (گوپتا و کانجا[2]، ۲۰۲۱). پاسخ‌های متفاوت تیمارهای مختلف ناشی از غلظت‌های مختلف هورمون‌های درونی و بیرونی گیاهچه است که در صورت به تعادل رسیدن بهترین پاسخ رو واکنش را خواهد داد (بونر[3]، ۱۹۳۶). از این رو نوع ریزنمونه، ژنوتیپ و عملکرد تکنسین در واکشت گیاهان، می‌تواند تعادل هورمون‌های درونی و بیرونی گیاهچه را مورد تأثیر قرار داده و در باززایی آن نقش مهمی ایفا کند (گسپر[4] و همکاران، ۲۰۰۳).

بهینه‌سازی محیط کشت ریشه‌زایی

پس از تعیین محیط کشت پرآوری، گیاهان از ناحیه طوقه برش خورده و بر محیط کشت حاوی تیمارهای محیط کشت و هورمون قرار گرفتند. صفات بعد از گذشت یک ماه اندازه‌گیری شدند. نتایج آماری نسبت به صفت تعداد ریشه جوانه‌زده نشان از معنی‌دار بودن اثر تیمار هورمون‌های BAP و NAA بر صفت تعداد ریشه در سطح احتمال یک درصد بود. همچنین بررسی اثر متقابل تیمار هورمون‌های BAP و NAA نیز نشان از معنی‌دار بودن اثر متقابل بر صفت تعداد ریشه در سطح یک درصد، می‌باشد (جدول۳). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بهترین تیمار هورمونی، تیمار حاوی ۴/۹۲ میکرومولار IBA و برتری محیط کشت DKW می‌باشد (جدول۴).

صفت بعدی تیمار طول ریشه‌های جوانه‌زده بود که بررسی آماری این صفات نیز نشان از معنی‌دار بودن تیمار محیط کشت و ترکیبات مختلف هورمونی و همچنین اثر متقابل آنها در سطح یک درصد بود (جدول۳) و بهترین تیمار هورمونی که در سطح یک درصد معنی‌دار شده است، تیمار ۴/۹۲ میکرومولار IBA و محیط کشت DKW می‌باشد (جدول۴).

با این حال به‌منظور تعیین بهترین نوع محیط کشت از صفت درصد ریشه‌زایی استفاده شد. معنی‌دار شدن اثر تیمار هورمونی بر این صفت در سطح یک درصد و همچنین معنی‌دار شدن تیمار محیط کشت منجر به انتخاب محیط کشت حاوی ۴/۹۲ میکرومولار IBA با ۸۱ درصد ریشه‌زایی و محیط کشت DKW به‌عنوان بهترین نوع تیمار هورمونی و محیط کشت در ریشه‌زایی رقم اسکارلت شد (جدول۳ و ۴). بررسی‌ها نشان از عدم تأثیرگذاری محیط کشت بر نرخ ریشه‌زایی گیاه انگور بود. این نتایج با نتایج فلاح‌پور و همکاران (۱۳۹۸) همسو بود. در مطالعه آنها نشان داده شد که تیمار محیط کشت WPM و MS تفاوت معنی‌داری در ریشه‌دار کردن ریزنمونه‌های پایه گیلاس CAB-6P نداشته است. از دلایل عدم تأثیر معنی‌دار دو محیط کشت MS و DKW می‌توان به غلظت تقریبا یکسان نیترات آمونیوم در آنها اشاره کرد. بررسی‌ها نشان داده است که کاهش غلظت نیترات‌آمونیوم می‌تواند منجر به تحریک ریشه‌دهی در گیاهان شود (بویوک‌دمیرچی[5]، ۲۰۰۸).

در مطالعه حاضر بیشترین میزان درصد ریشه‌دهی و همچنین تعداد ریشه، ناشی از تیمار ۴/۹۲ میکرومولار IBA بود. نتایج این تحقیق با پژوهش‌های منصری‌لامریوی[6] و همکاران، (۲۰۱۱)؛ کارآمد[7] و همکاران، (۲۰۱۴) یکسان بود. برخلاف IBA استفاده از IAA به‌طور معنی‌داری منجر

1. Bohidar
2. Gupta and Khanuja
3. Bonner
4. Gaspar
5. Buyukdemirci
6. Mansseri-Lamrioui
7. Karamad

جدول ۲- میانگین صفات اندازه گیری شده به منظور بهینه‌سازی محیط کشت شاخه‌زایی در انگور رقم اسکارلت

محیط کشت	NAA میکرومولار	BAP میکرومولار	تعداد شاخه	طول شاخه (cm)	تعداد گره	فاصله میانگره (cm)	تعداد برگ	درصد شاخه زایی
MS	۰	۰	۰/۶۷ d	۳/۷۵ a-c	۱۰/۳a-d	۰/۳۵b	۱۰gh	۰c
MS	۰	۴/۴۴	۲/۶۷ a-d	۳/۲۵a-c	۱۱a-d	۰/۳۴b	۲۵ b-d	۶۰/۶۷ab
MS	۰	۸/۸۸	۲ a-d	۲/۶۳c	۷cd	۰/۳۸b	۷/۳۳ h	۵۰bc
MS	۲/۶۸	۰	۰/۶۷ d	۲/۷۵c	۱۰ a-d	۰/۳۷b	۱۰/۶۷gh	۰c
MS	۲/۶۸	۴/۴۴	۴ a	۳/۲۵a-c	۹/۶۷a-d	۰/۳۴b	۳۶/۳ a	۷۷/۶۷b
MS	۲/۶۸	۸/۸۸	۳ a-d	۴/۳ab	۱۲ab	۰/۳b	۳۵ ab	۶۶ab
MS	۵/۳۷	۰	۱/۳ b-d	۲/۸a-c	۱۰ a-d	۰/۳۸b	۱۶ eg	۰c
MS	۵/۳۷	۴/۴۴	۲ a-d	۴/۳ab	۱۴a	۰/۳۲b	۲۷/۳a-c	۵۰bc
MS	۵/۳۷	۸/۸۸	۲/۶۷ a-d	۳/۶۵ a-c	۱۰/۶a-d	۰/۳۵b	۱۳gh	۶۰a-c
DKW	۰	۰	۱ cd	۲/۶c	۷ cd	۰/۳۷b	۷/۶۷gh	۰c
DKW	۰	۴/۴۴	۱/۶۷ a-d	۲/۸bc	۷ cd	۰/۳۷b	۱۳ fh	۵۵/۳bc
DKW	۰	۸/۸۸	۱/۶۷ a-d	۳/۸۵a-c	۹/۳ b-d	۰/۳۴b	۱۴ eh	۵۰bc
DKW	۲/۶۸	۰	۱/۳۳ b-d	۳/۶۵a-c	۱۰/۳ a-d	۰/۳۵b	۱۲/۳۳gh	۰c
DKW	۲/۶۸	۴/۴۴	۴ ab	۲/۹۵bc	۷/ ۳b-d	۰/۴ab	۲۱cf	۶۹ a-c
DKW	۲/۶۸	۸/۸۸	۳/۳ a-c	۳/۷ a-c	۱۰/۳ a-d	۰/۳۶b	۲۲/۶۷cd	۷۲ab
DKW	۵/۳۷	۰	۱ cd	۳/۳ a-c	۶ d	۰/۵۵a	۷h	۰c
DKW	۵/۳۷	۴/۴۴	۱/۶۷ a-d	۴/۳۳ a	۱۱/۳a-c	۰/۳۴b	۱۶/۳dg	۰c
DKW	۵/۳۷	۸/۸۸	۲/۳۳ a-d	۳/۵۷ a-c	۱۰a-d	۰/۴a	۱۸/۳۳cf	۵۵/۳a-c

میانگین های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس بهینه‌سازی محیط کشت ریشه‌زایی در انگور رقم اسکارلت

SOV	df	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	درصد ریشه زایی
محیط کشت	۱	۲/۶۷ **	۱/۲۴ **	۹۳۱/۸۴ *
هورمون IAA	۲	۵/۵۶ **	۱۲/۴۴ **	۳۷۷ **
هورمون IBA	۲	۹/۵۶ **	۲۰/۵۹ **	۴۷۸۰/۳ **
IAA * محیط کشت	۲	۰/۸۹ ns	۱/۰۷ **	۵۸۹/۹۴ *
IBA * محیط کشت	۲	۱/۵۶*	۱/۲۳ **	۹۰۸/۵ **
IAA*IBA	۴	۱۲/۴۴ **	۹/۰۸ **	۳۵۰۴/۷ **
IAA*IBA * محیط کشت	۴	۰/۶۱ ns	۱/۲ **	۸۷۰/۰۴ **
خطای آزمایش	۳۶	۰/۳۹	۰/۱۵	۱۶۱/۵۷
درصد ضریب تغییرات (درصد)		۲۳/۳۸	۱۰/۷۳	۲۷/۷۸

*، ** و ns به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

به کاهش تعداد ریشه شد که علت آن می‌تواند ناشی از کم اثر شدن و تجزیه تدریجی هورمون IAA به مرور زمان در مجاورت با نور باشد. با این حال بیشترین میزان طول ریشه مربوط به تیمار ۲/۸۵ میکرومولار IAA بود که این مورد می‌تواند ناشی از خاصیت بهتر هورمون IAA در تحریک به رشد طولی و همچنین رشد ریشه‌های موئین گیاهان باشد (جسکانی[1] و همکاران، ۲۰۰۸). در مطالعه جسکانی و همکاران، (۲۰۰۸) بهترین تیمار هورمونی به‌منظور ریشه‌دهی با ۸۰ درصد ریشه‌دهی تیمار ۱۰ میکرومولار IBA است. در حالی که مطالعه برکت و همکاران (۲۰۱۹)

1. Jascani

جدول ۴- میانگین صفات اندازه‌گیری شده به‌منظور بهینه‌سازی محیط کشت ریشه‌زایی در انگور رقم اسکارلت

محیط کشت	IAA میکرومولار	IBA میکرومولار	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	درصد شاخه زایی
MS	۰	۰	۰/۳۳ f	۰/۵ c	۰ b
MS	۰	۲/۴۶	۱/۶۷ c-f	۲/۹۷ b	۵۰ a
MS	۰	۴/۹۲	۴/۶۷ ab	۵/۰۵ a	۷۸ a
MS	۲/۸۶	۰	۴ a-d	۵/۵ a	۵۸ a
MS	۲/۸۶	۲/۴۶	۳/۳۳ a-f	۴/۴۵ a	۶۹ a
MS	۲/۸۶	۴/۹۲	۲/۳۳ b-f	۴/۸۷ a	۵۵ a
MS	۵/۷۱	۰	۱/۳۳ ef	۳/۷ ab	۰ b
MS	۵/۷۱	۲/۴۶	۱ ef	۲/۶ b	۰ b
MS	۵/۷۱	۴/۹۲	۳/۳۳ a-f	۴/۲ a	۶۳/۶۷ a
DKW	۰	۰	۱/۳۳ ef	۰/۹ c	۰ b
DKW	۰	۲/۴۶	۲/۶۷ a-f	۲/۵ b	۵۸ a
DKW	۰	۴/۹۲	۵/۳۳ a	۵/۵۵ a	۸۱ a
DKW	۲/۸۶	۰	۳/۳۳ a-f	۴/۴۵ a	۶۹ a
DKW	۲/۸۶	۲/۴۶	۴ a-d	۳/۱۵ b	۵۸ a
DKW	۲/۸۶	۴/۹۲	۲/۳۳ b-f	۴/۷۵ a	۵۵/۳۳ a
DKW	۵/۷۱	۰	۱/۶۷ d-f	۱/۹۵ bc	۵۰ a
DKW	۵/۷۱	۲/۴۶	۲/۶۷ a-f	۳/۳ b	۳۸/۸۹ a
DKW	۵/۷۱	۴/۹۲	۲/۶۷ a-f	۴/۵۵ a	۳۸/۸۹ a

میانگین های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

نشان داده شد که بیشترین درصد ریشه زایی با ۷۵ درصد، مربوط به پایه پولسن است که با تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA ایجاد شده بود.

نتایج حاصل از اعمال تنش شوری

اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی

اندازه‌گیری صفات در سه تکرار تکنیکی و چهار تکرار بیولوژیکی نشان از معنی‌دار بودن تأثیر تنش شوری بر اغلب صفات در سطح یک درصد بود. بررسی صفت تعداد شاخه نشان داد که تنش شوری تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر رشد و توسعه شاخه‌ها داشته است. تعداد شاخه‌ها و طول شاخه‌ها در سطح صفر میلی‌مولار به‌ترتیب ۴/۷۵ و ۴/۹ عدد بوده است که این میزان در سطح تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در لیتر به‌ترتیب تنها ۰/۷۵ و ۰/۸ می‌باشد. بررسی صفت تعداد ریشه نشان از معنی‌دار بودن تأثیر تیمار در سطح یک درصد بوده و بیشترین میزان ریشه در سطح تنش ۰ و ۵۰ میکرومولار و کمترین میزان ریشه مربوط به تنش ۲۰۰ میکرومولار می‌باشد. بررسی میانگین صفت تعداد برگ نشان داد که بیشترین میزان برگ (۷۵ عدد) در سطح تنش صفر میلی‌مولار بوده و کمترین میزان برگ (۲ عدد) در سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار شکل گرفته است. همچنین بررسی درصد برگ‌های خراب و زرده شده گیاه نیز نشان از معنی‌دار بودن اثر تنش شوری می‌باشد. بررسی میانگین صفات درصد برگ‌های زرد نیز نشان داده شد که کمترین برگ خراب مربوط به تنش سطح صفر میلی‌مولار بوده در حالی که این عدد برای تنش ۲۰۰ میلی‌مولار، ۶۶ درصد می‌باشد (جدول۵ و ۶، شکل۱).

شوری خاک منجر به کاهش فتوسنتز می‌شود (نشاط و همکاران، ۲۰۲۲). تجمع نمک‌ها در اطراف ریزوسفر منجر به کاهش جذب آب از طریق کاهش پتانسیل جذب آب موجود در خاک می‌شود (کورآسیا[1] و همکاران، ۲۰۲۱). از

1. Chourasia

جدول۵- نتایج تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی تحت تنش شوری انگور رقم اسکارلت.

SOV	df	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ساقه (g)	وزن تر ساقه (g)	طول ریشه (cm)	طول شاخه (cm)	تعداد ریشه	تعداد شاخه	وزن خشک ریشه (g)
		میانگین مربعات							
تیمار	۳	۰/۰۹**	۰/۰۰۲**	۰/۱۲۳^{ns}	۷۲/۲۳۱**	۱۰/۱۰۹**	۴/۶۶۶**	۷۰۲/۶**	۰/۰۰۱۸**
خطای آزمایش	۱۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲	۲/۹۸۶	۰/۲۱۸	۰/۵۵۰	۰/۲۲۵	۰/۰۰۰۰۹
ضریب تغییرات		۳۰/۷۶	۳۳/۹۹	۲۰/۷۵	۲۲/۲۹	۱۴/۳۱	۲۹/۶۶	۱۴/۷۸	۳۰/۸۴

*، ** و ^{ns} به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

SOV	df	درصد برگ خراب	تعداد برگ زرد	تعداد برگ کل	فاصله میان گره‌ها (cm)	تعداد میانگره
			میانگین مربعات			
تیمار	۳	۲۷۱۸/۰۷۱**	۲۸/۳۰۹**	** ۳۳۰۴/۴۸۱	۰/۰۱۳۲^{ns}	۹۷/۳۰۹^{ns}
خطای آزمایش	۱۰	۶۹/۹۵	۲/۴۵	۲۸/۷۷	۰/۱۸۷	۱/۵
ضریب تغییرات		۲۶/۲۵	۲۸/۰۹	۱۴/۷۵	۴۳/۹۹	۱۳/۵

*، ** و ns به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

سوی دیگر گیاهان برای مقابله با اثرات مضر تنش و حفظ بقا، مجبور به صرف انرژی بیشتر می‌شود (هاسگاوا[1] و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین برهم خوردن تعادل یونی سدیم و پتاسیم در داخل سلول، منجر به سمیت و برهم خوردن چرخه متابولیت سلول می‌شود (آشرف و هریس[2]، ۲۰۰۴). مجموع این عوامل در کاهش رشد گیاه، کوچکتر شدن کانوپی و به‌طور کلی ضعیف‌تر شدن گیاهان را به‌دنبال دارد (یانسی[3] و همکاران، ۱۹۸۲).

در مطالعه‌ای در مورد اثر تنش شوری بر ارقام کاووس، سلطانی و موشکول انگور تحت شرایط درون شیشه‌ای نشان داده شد که تیمارهای شوری در صفات تعداد شاخه، وزن شاخه و طول شاخه اثر معنی‌داری داشته و حاکی از کاهش مقدار این صفات نسبت به تیمار شاهد، تحت تنش شوری بوده است (سیوریتیپه و اریس[4]، ۱۹۹۹). در مطالعه‌ای دیگر بر روی اثر تنش شوری بر دو رقم انگور بیدانه‌قرمز و قزل اوزوم توسط جلیلی‌مرندی و همکاران (۱۳۸۸) نشان داده شد که صفات تعداد برگ در هر بوته، سطح برگ، وزن تر و خشک ساقه و برگ، طول ساقه و ریشه در مواجه با تنش شوری روند کاهشی داشته و به لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد. همچنین در مطالعه اثر تنش شوری بر بادرنجبویه توسط گرگینی‌شبانکاره و همکاران (۱۳۹۴) نشان داده شد که صفات، ارتفاع گیاه، تعداد شاخه، طول ریشه، وزن خشک و تر ساقه و ریشه، درصد ماده خشک، همگی وابسته به تیمار شوری بوده و نشان از اثر معنی دار تنش شوری بر رشد فنوتیپی گیاه دارد.

بررسی سطح کلروفیل a، b و کلروفیل کل، نشان از معنی‌دار شدن این رنگدانه‌ها در مواجه با تنش شوری در سطح یک درصد می‌باشد. بیشترین میزان سطح کلروفیل a با ۳۱۲/۵۶ میکروگرم به ازای هر گرم ماده خشک، مربوط به سطح صفر تنش شوری بوده و کمترین میزان با ۷۳/۴۴ میکروگرم به ازای هر گرم ماده خشک مربوط به تنش ۲۰۰ میکرومولار شوری می‌باشد. به‌ترتیب این اعداد برای کلروفیل b و کلروفیل کل ۲۶۱/۹۳ و ۵۷۲/۳۴ بوده است در حالی که در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، این رقم به ۴۶/۳۱ و ۱۱۹/۴ کاهش یافته است (جدول۷، شکل۲).

بررسی سطح کارتنوئیدها نیز نتایج مشابهی به‌دنبال داشت. نتایج معنی‌دار در سطح یک درصد نشان از اثر منفی تنش شوری بر میزان کارتنوئیدها می‌باشد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان سطح کارتنوئیدها با ۶۴۹/۶ میکروگرم به ازای هر گرم ماده خشک، مربوط به سطح تنش صفر بوده و کمترین میزان کارتنوئیدها با ۳۰۵/۱ میکروگرم به ازای هر گرم ماده خشک مربوط به سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار

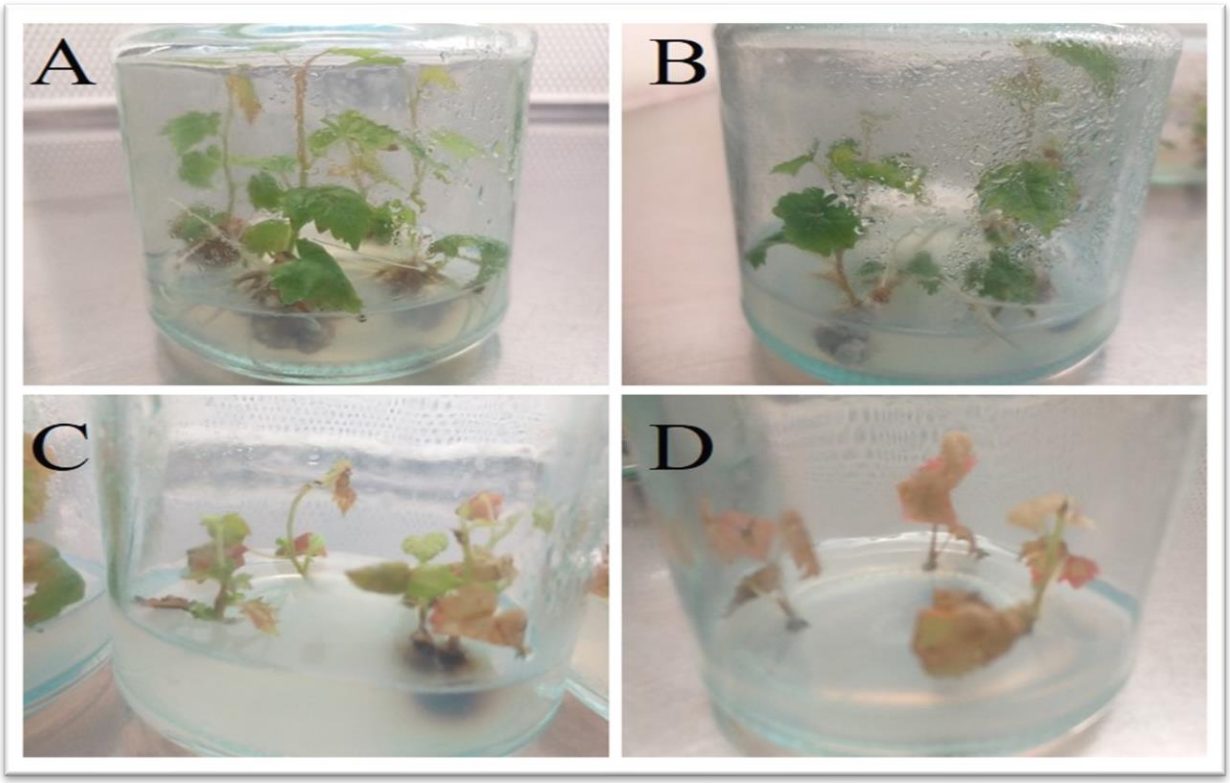
1. Hasegawa
2. Ashraf and Harris
3. Yancey
4. SİVRİTEPE and ERİŞ

جدول۶- میانگین صفات اندازه گیری شده پس از اعمال تنش شوری در انگور رقم اسکارلت

NaCl (mM)	وزن خشک ساقه (g)	وزن تر ساقه (g)	طول ریشه (cm)	طول شاخه (cm)	تعداد ریشه	تعداد شاخه
۰	۰/۰۶۶ a	۰/۴۷ a	۱۱/۴۵ a	۴/۹ a	۳/۵ a	۴/۷۵ a
۵۰	۰/۰۳۵ b	۰/۲۴ b	۱۰/۳۲ a	۳/۷ b	۳ a	۳/۲۵ b
۱۰۰	۰/۰۱۵ bc	۰/۱۳ c	۵/۱ b	۲/۴ c	۲ ab	۲/۷۵ b
۲۰۰	۰/۰۰۳ c	۰/۰۲۴ d	۰/۵۵ c	۰/۸ d	۱ b	۰/۷۵ c

NaCl (mM)	درصد برگ خراب	تعداد برگ	فاصله بین گره (cm)	تعداد میانگره	وزن خشک ریشه (g)	وزن تر ریشه (g)
۰	۶/۲۵ a	۷۵ a	۰/۳۳ a	۱۴/۵ a	۰/۰۵۴ a	۰/۳۸ a
۵۰	۲۵/۷ b	۳۴ b	۰/۲۹ a	۱۰/۲۵ b	۰/۰۱۶ a	۰/۳ a
۱۰۰	۳۸ c	۱۷ c	۰/۳۸ a	۶/۷۵ c	۰/۰۴ b	۰/۱۱ b
۲۰۰	۶۰/۶۶ d	۲ d	۰/۲۷ a	۱/۲۵ d	۰/۰۰۲ b	۰/۰۸ b

براساس آزمون دانکن حروف الفبای مختلف نشان از معنی‌دار بودن صفات و حروف یکسان نشان از عدم معنی‌دار بودن صفات در بین سطوح در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

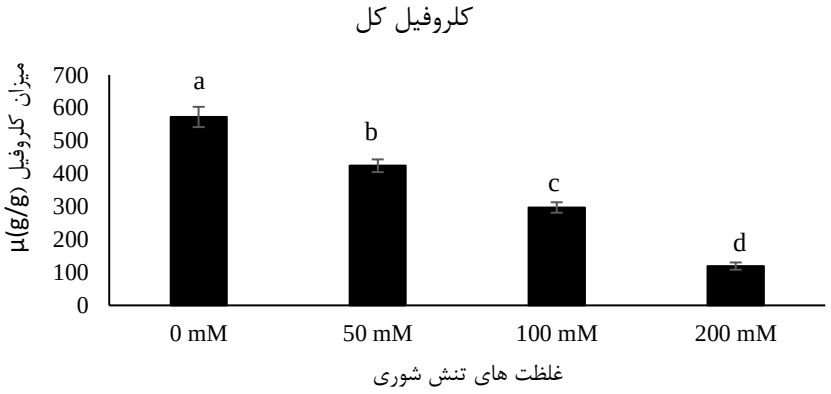


شکل۱- سطوح مختلف تیمار شوری در انگور رقم اسکارلت. A) سطح تنش ۰ میلی‌مولار B) سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار C) سطح تنش ۱۰۰ میلی‌مولار D) سطح تنش ۲۰۰ میلی‌مولار

می‌باشد. نتایج نشان از افزایش معنی‌دار سطح کارتنوئید در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار تنش شوری می‌باشد (جدول۷، شکل۳). علت این مهم می‌تواند برهم خوردن تعادل متابولیت‌ها درون سلولی و پلاستیدی و کاهش بیان کلیه ژن‌ها باشد که سنتز ترکیباتی نظیر کارتنوئیدها را در مواجه با تنش شوری کاهش می‌دهد (شاه[1] و همکاران، ۲۰۱۷). معمولا گیاهان در مواجه با تنش‌ها، دچار انباشت رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند که این مهم در کلروپلاست‌ها رخ می‌دهد (داس و رویچادهری[2]، ۲۰۱۴). یکی از مهمترین نقاط عطف در سنتز کارتنوئیدها دو آنزیم

1. Shah

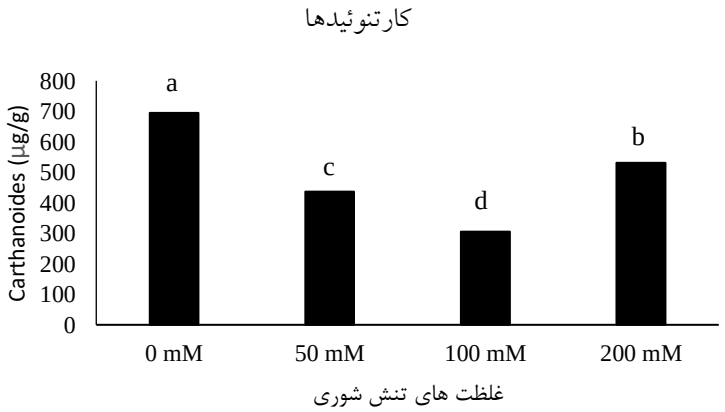
2. Das and Roychoudhury



شکل۲- سطح کلروفیل کل تحت تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

DXR و DXS مربوط به مسیر MEP می‌باشند که این دو آنزیم در میزان غلظت کارتنوئیدها نقش بسیار کلیدی ایفا می‌کنند (سیمپسون[1] و همکاران، ۲۰۱۶). در مطالعه کریمی و همکاران (۱۳۹۱) نشان داده شد که با افزایش سطح تنش شوری از ۲۵ میلی‌مولار به ۱۰۰ میلی‌مولار، میزان کلروفیل کل و کارتنوئیدها کاهش می‌یابد و این موضوع در ارقام قزل‌اوزوم و دیزماری انگور به مراتب نسبت به دیگر ارقام بیشتر بوده است. کریمی کاهش میزان کلروفیل را ناشی از تغییر متابولسیم نیتروژن در رابطه با ساخت اسید آمینه پرولین که در تنظیم فشار اسمزی موثر است می‌داند. همچنین مطالعه (سیوریتیپه و اریس، ۱۹۹۹) بر روی انگورهای رقم سلطانی و کاووس نشان داده شده که گیاهان تنش شوری دیده در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA با کاهش سطح کلروفیل و کارتنوئید به شکل معنی‌داری مواجه بوده‌اند. این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش نشاط و همکاران (۲۰۲۲) برروی گیاه کلزا مطابقت دارد. در مطالعه آنها نیز نشان داده شد که افزایش سطح شوری باعث کاهش میزان کلروفیل و کارتنوئیدها می‌شود.

بررسی میزان یون‌های سدیم و پتاسیم به‌ترتیب نشان از افزایش و کاهش این یون‌ها در سطح سلولی در مواجه با تنش شوری بوده است. نتایج آماری نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تنش شوری در سطح احتمال ۱ درصد بر نسبت پتاسیم به سدیم بود. بیشترین میزان پتاسیم به سدیم در سطح صفر میلی مولار تنش شوری بوده و کمترین میزان آن مربوط به سطح ۲۰۰ میلی‌مولار تنش شوری می‌باشد (جدول۷، شکل۴).



شکل۳- سطح کارتنوئیدها تحت تنش شوری در انگور رقم اسکارلت، میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

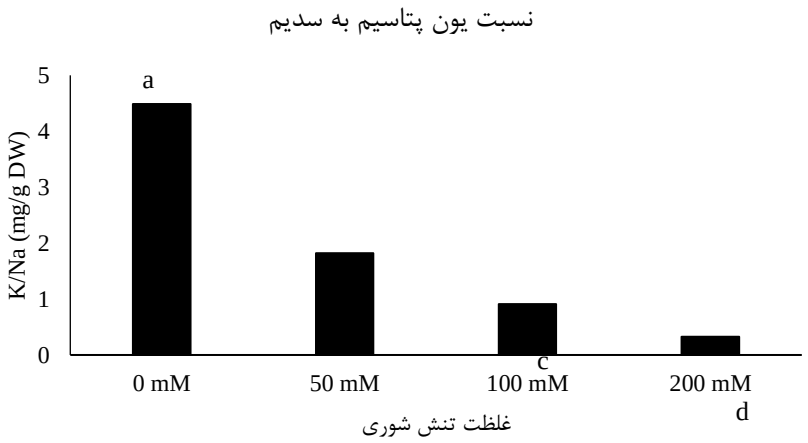
1. Simpson

علت آن نیز افزایش جذب سدیم توسط گیاه در مواجه با تنش شوری بوده است که متعاقبا منجر به برهم خوردن بالانس سلولی و افزایش هرچه بیشتر سدیم نسبت به پتاسیم در سلول می‌شود.

مطالعات نشان داده است که افزایش سدیم می‌تواند بر یون‌های مفیدی نظیر پتاسیم و کلسیم اثر منفی داشته باشد. با افزایش سطوح تنش شوری در دو واریته انگور قزل اوزوم و حسینی، میزان یون پتاسیم و نیترات با افزایش سطح تنش کاهش یافته در حالی که میزان یون‌های سدیم و کلر افزایش یافته است. این اتفاق ممکن است به جهت در معرض قرار گرفتن NaCl در سلول‌های گیاهی رخ داده باشد. این افزایش سطح سدیم و کاهش پتاسیم در شرایط تنش شوری همچنین در مطالعه کریمی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی واریته‌های قزل‌اوزوم، دیزماری، قره‌شیره و تبرزه دیده شده است. در مطالعه طحانیان و همکاران (۱۳۹۵) بر توزیع عناصر سدیم و کلر در ژنوتیپ‌ها و ارقام‌های انگور شاهرودی، سبز انگور، سفید فخری، دیوانه کاشمر، SH068 و G-T01 نشان داده شد که یون سدیم در همه ژنوتیپ‌ها در شاخساره و ریشه گیاه تجمع بیشتری یافته و به‌دنبال آن یون پتاسیم کاهش فراوانی یافته است. همچنین نتایج فوق با نتایج مظفری[1] و همکارن (۲۰۱۸) بر روی واریته انگور خوشناو مطابقت دارد.

اسید آمینه پرولین می‌تواند به عنوان یک محافظت‌کننده اسمزی در پایداری ساختار سلولی و حتی از بین بردن ROSها کمک کننده باشد (مرادی‌حیدرآباد و همکاران، ۱۴۰۰). همچنین به‌عنوان یک منبع قوی از کربن و نیتروژن شناخته می‌شود. از این رو گیاه به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی با افزایش سطح پرولین به مقابله با خسارات ناشی از تنش می‌پردازند (حیات[2] و همکاران، ۲۰۱۲). بررسی میزان پرولین نشان از معنی‌دار شدن افزایش سطح آن در سطح یک درصد است. بیشترین میزان پرولین در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرمولار تنش شوری بوده است که البته بین این دو سطح تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد با این حال تفاوت معنی‌داری با سطوح صفر و ۵۰ میکرومولار وجود داشت (جدول۷، شکل۵). مطالعه جلیلی‌مرندی و همکاران (۱۳۸۸) و کریمی و همکاران (۱۳۹۱) نشان از افزایش سطح پرولین در مواجه با تنش شوری در ارقام مختلف انگور می‌باشد. همچنین مطالعات بسیاری بر دیگر گیاهان حاکی از افزایش سطح پرولین گیاه در مواجه با تنش شوری (نشاط و همکاران، ۲۰۲۲؛ نامنی و همکاران، ۱۴۰۰) می‌باشد. با این حال در مطالعه اشرف[3] (۱۹۸۹) نشان داده شد که میان اثر تنش شوری و میزان پرولین در گیاه ماش سیاه (*Vigna mungo*) همبستگی منفی وجود داشته است.

رادیکال‌های آزاد اکسیژن منجر به پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (لی[4] و همکاران، ۲۰۱۷). مالون‌دی‌آلدئید ترکیب



شکل۴- نسبت یون پتاسیم به سدیم در تیمارهای مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

1. Mozafari
2. Hayat
3. Ashraf
4. Li

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی تحت تنش شوری در انگور رقم اسکارلت.

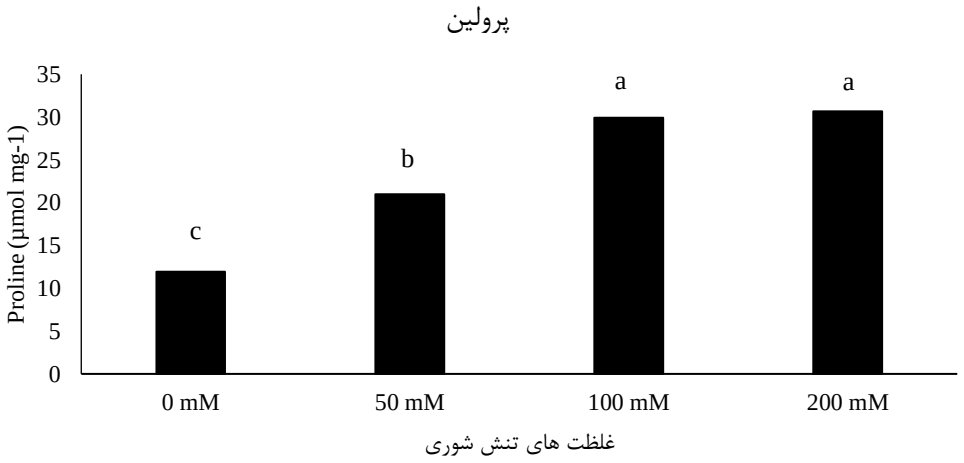
SOV	df	فنل کل	مالون‌دی‌آلدئید	کارتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a
		میانگین مربعات					
تیمار	۳	۱۳۵۵۴/۸۷۴**	۶/۴۳۳**	۱۰۶۹۳۹/۸۹۶ **	۱۰۶۰۹۰/۸۶۸**	۲۲۵۴۲/۸۴۲**	۳۳۸۴۶/۵۶۲**
خطای آزمایش	۱۰	۵۸/۱۷۷	۰/۱۱۰	۲۲۸۴/۲۳۱	۴۸۴/۱۴۰	۵۱۱/۸۶۰	۳۱۲/۹۰۴
ضریب تغییرات (درصد)		۸/۴۲	۸/۷۳	۹/۸۲	۵/۶۸	۱۱/۷۶	۹/۰۴

*، ** و ns به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

SOV	df	کاتالاز ($\mu lH_2O_2$۱۶)	کاتالاز ($\mu l\ H_2O_2$۱۳)	کاتالاز ($\mu l\ H_2O_2$۱۰)	پتاسیم	سدیم	پتاسیم به سدیم	گایاکول پراکسیداز	پرولین	پروتئین کل
		میانگین مربعات								
تیمار	۳	۵۱۸۰/۸۳۳**	۲۱۹۸/۵۷۸**	۲۲۶۱/۱۵۹**	۱۲۴۷/۲۸۰**	۵۵۳/۱۶۰**	۱۱/۷۹۰**	۰/۰۱۰۳**	۲۶۹/۱۵۵**	۰/۳۲۸۰**
خطای آزمایش	۱۰	۱۱۶/۶۵۰	۵۴/۹۴۷	۶۷/۲۵۰	۱۱/۲۷۵	۵/۲۲۳	۰/۰۸۲	۰/۰۰۰۱	۲/۴۳۲	۰/۰۰۱۶
ضریب تغییرات		۱۴/۸۶	۱۳/۰۵	۱۲/۸۴	۸/۴۳	۸/۵۵	۱۳/۶۴	۸/۴۶	۶/۹۸	۴/۶۶

*، ** و ns به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی‌دار را نشان می‌دهند.

نهایی در فرایند پراکسیداسیون غشای سلولی می‌باشد. از این رو این ترکیب به‌عنوان یک نشانگر، می‌تواند میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی را نشان دهد (کونگ[1] و همکاران، ۲۰۱۶). نتایج آنالیز داده‌ها در سطح یک درصد نشان از معنی‌دار بودن آن می‌باشد. بررسی‌ها نشان داد که با افزایش سطح تنش از صفر به ۲۰۰ میکرومولار، میزان مالون‌دی‌آلدئید نیز به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (جدول۷، شکل۶). این مهم نشان‌دهنده تحت فشار بودن و پاره شدن غشای سلولی در سطوح تنش بالا می‌باشد. در انگور مطالعه مظفری و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که افزایش سطح MDA در رقم انگور خوش‌ناو در تیمار تنشی ۱۰۰ میلی‌مولار رخ داده است. نتایج این پژوهش با نتایج کریمی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی بررسی اثر سطح تنش شوری بر انگور رقم قزل‌اوزوم مطابقت دارد. در آن مطالعه نشان داده شد که به‌طور کلی تیمار شوری با افزایش سطح MDA رابطه معنی‌داری داشته و تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl منجر به بیشترین افزایش سطح MDA در گیاه شده است. همچنین افزایش سطحMDA در گزارشات بسیاری



شکل۵- میزان پرولین تحت تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

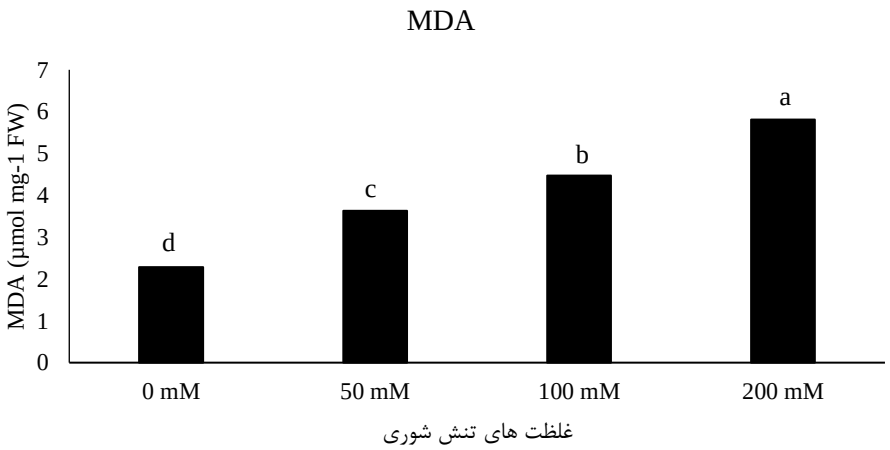
1. Kong

مشاهده شده است (فرهنگی‌آبریز و ترابیان[1]، ۲۰۱۷؛ لی و همکاران، ۲۰۲۰؛ لی و همکاران، ۲۰۱۷).

فنل به‌عنوان یکی از متابولیت‌های ثانویه که بزرگترین گروه ترکیبات شیمیایی گیاه را تشکیل می‌دهد، می‌تواند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان بسیار قوی و از بین برنده ROSها عمل کند (هانن[2] و همکاران، ۲۰۰۸). افزایش سطح فنل می‌تواند نشان‌دهنده مقابله گیاه با تنش باشد (دای و مایمپر[3]، ۲۰۱۰). نتایج در سطح یک درصد معنی‌دار بوده و نشان داد که بیشترین میزان فنل کل مربوط به تیمار ۵۰ میکرومولار بوده و روند آن در تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار کاهش بوده است. کمترین میزان فنل نیز در تیمار صفر میکرومولار مشاهده شد که علت آن می‌تواند عدم فعال شدن سیستم دفاعی گیاه در مواجه با تنش شوری باشد، زیرا تیمار صفر میکرومولار تحت تنش واقع نشده است (جدول۵، شکل۷). با این حال گیاه به محض احساس تنش شوری از طریق افزایش سطح فنل کل به مقابله با اثرات مخرب آن پرداخته است. علت کاهش میزان فنل کل با افزایش سطح تنش از ۵۰ به ۲۰۰ میلی‌مولار را می‌توان نسبت سلول‌های زنده به مرده دانست (بایدر[4] و همکاران، ۲۰۰۴). بدین مفهوم که با زنده‌مانی بیشتر سلول‌ها تحت تنش ۵۰ میلی‌مولار، میزان فنل کل بیشتری نسبت به تنش ۲۰۰ میلی‌مولار سنتز و تولید شده است. در مطالعه محمدخانی و همکاران (۲۰۱۸) نشان داده شد که با افزایش سطح تنش شوری در رقم‌های انگور قزل‌اوزوم و شیرازی، ترکیبات فنلی به‌طور چشمگیری در ۲۴ ساعت اول افزایش یافته و سپس با گذر زمان و رسیدن به ۱۴ روز سطح ترکیبات فنلی تقریبا نصف می‌شود. از سوی دیگر مطالعه کریمی و همکاران (۱۳۹۱) بر روی دو رقم انگور سلطانی و ریش‌بابا نشان داد که بیشترین میزان سطح فنل کل گیاه مربوط به تیمار تنشی ۱۰۰ میلی‌مولار بوده است. همچنین در مطالعه هانن و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان داده شد که با افزایش سطح تنش شوری از میزان سطح ترکیبات فنلی گیاه کنگرفرنگی کاسته می‌شود.

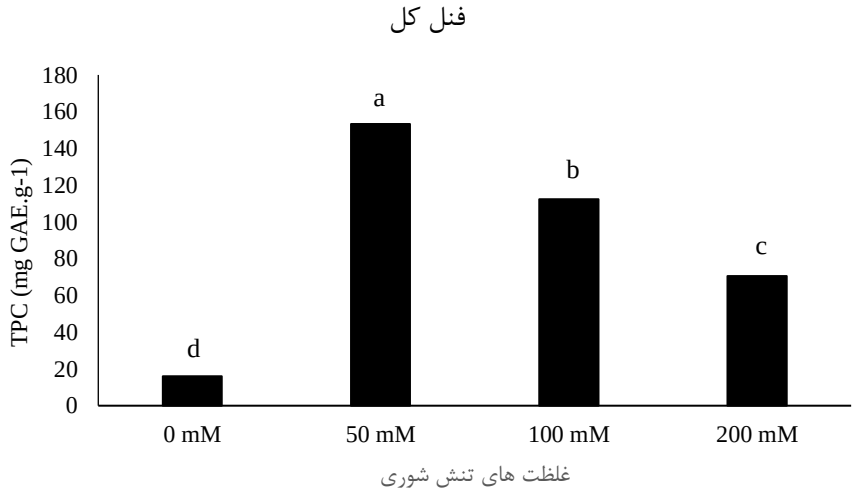
به‌طور کلی گیاهان از طریق روش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی به مقابله با تنش‌های اکسیداتیو می‌پردازند (داس و رویچادهری، ۲۰۱۴). از جمله روش‌های آنزیمی می‌توان به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اشاره کرد و از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم در غیرفعال کردن ROSها کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز هستند (گیل و توتجا[5]، ۲۰۱۰). بررسی سطح پروتئین کل در مواجه با تنش شوری در سطح یک درصد معنی‌دار شد که این مورد نشان از افزایش سطح پروتئین کل گیاه در مقابل تنش شوری می‌باشد. علت آن می‌تواند ناشی از فعالیت و سنتز هرچه بیشتر آنزیم‌های آنتی اکسیدانت برای مقابله با ROSها باشد.

بیشترین میزان پروتئین مربوط به تیمار ۱۰۰ میکرومولار بوده و کمترین آن مربوط به تیمار صفر میکرومولار است.

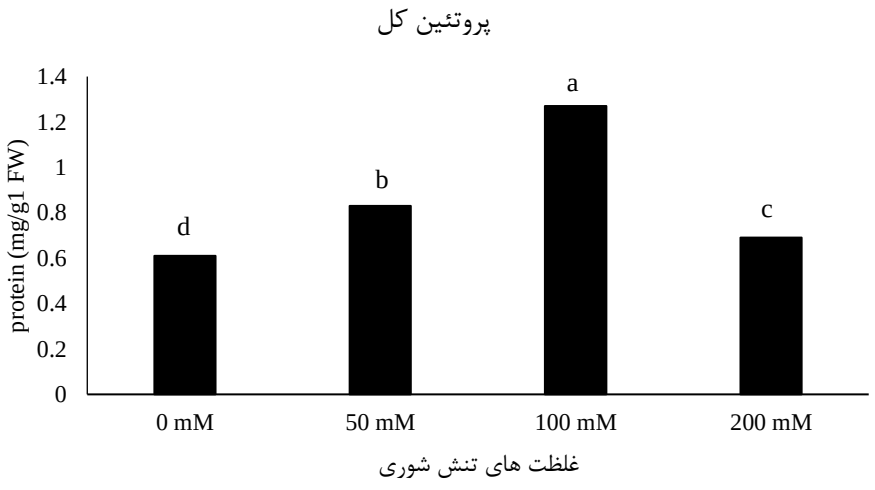


شکل۶- سطح MDA در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

1. Farhangi Abriz and Torabian
2. Hanen
3. Dai and Mumper
4. Baydar
5. Gill and Tuteja



شکل۷- سطح فنل کل در تنش‌ها مختلف شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



شکل۸- سطح پروتئین کل در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

نتایج نشان داد که گیاه به محض مواجه با سطح ۵۰ میکرومولار تنش شوری، سطح پروتئین کل را افزایش داده و این روند تا تیمار ۱۰۰ میکرومولار مثبت و افزایشی بوده است. با این حال با افزایش سطح تنش به ۲۰۰ میکرومولار، سطح پروتئین کل گیاه به‌طور چشمگیری کاهش یافته است که علت آن می‌تواند سطح بسیار بالای ROSها باشد که با احیا و تخریب ساختار پروتئین‌ها، سطح پروتئین کل گیاه را کاهش داده است (جدول۷، شکل۸). نتایج مربوط به مالون‌دی‌آلدئید نیز تصدیق کننده این علت می‌باشد. در مطالعه مظفری و همکاران (۲۰۱۸) بر روی رقم انگور خوش‌ناو نشان داده شد که افزایش سطح تنش منجر به کاهش پروتئین کل گیاهی می‌شود و این رقم در سطح تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار بیشترین مقدار بود. آنزیم کاتالاز با از بین بردن H_2O_2 نقش مهمی را در مقابله با تنش‌ها ایفا می‌کند (چنگ[1] و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج در سطح یک درصد معنی‌دار بود و نشان داد که بیشترین میزان آنزیم کاتالاز در مواجه با سطح تنش ۲۰۰ میکرومولار حضور داشته و کمترین آن سطح تنش صفر میکرومولار

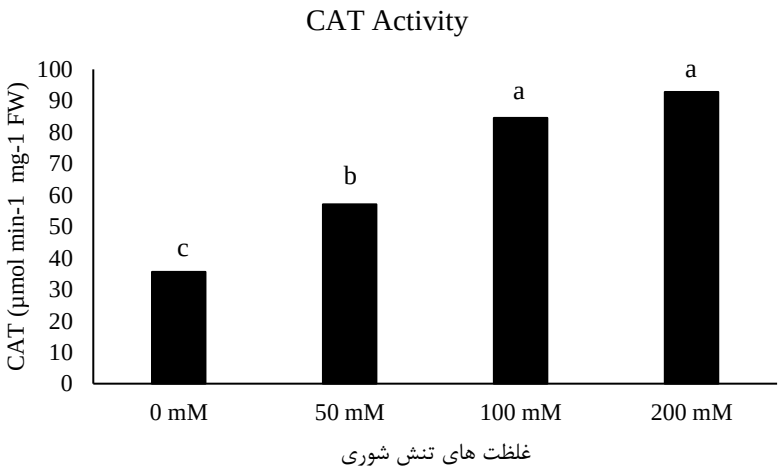
1. Chang

می‌باشد، همچنین بررسی تیمارهای آزمایشی ۱۰، ۱۳ و ۱۶ میکرولیتر H_2O_2 در حین قرائت آنزیم کاتالاز، نشان از عدم معنی‌دار بودن و تأثیر این تیمار بر سطح کاتالاز می‌باشد (جدول۷، شکل۹، ۱۰ و ۱۱).

آنزیم گایاکول‌پراکسیداز از دیگر آنزیم‌های مهمی است که توسط گیاه به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده می‌شود (محسن‌زاده‌گلفزانی و همکاران، ۱۳۹۶). پروتئین گایاکول‌پراکسیداز به‌عنوان سوبسترا از ترکیبات فنلی مختلفی استفاده می‌کند که مهمترین آنها گایاکول می‌باشد (ژانگ[1] و همکاران، ۲۰۱۹). مکانیسم مولکولی آن بدین شکل است که آنزیم از مولکول گایاکول یک الکترون گرفته و به رادیکال‌های آزاد اکسیژن اضافه می‌کند تا از خصوصیات سمی آنها جلوگیری به عمل آورد و از این طریق آنها را خنثی کند (کنگ[2] و همکاران، ۲۰۰۴). بررسی آماری در سطح یک درصد نشان داد که تیمارهای ۵۰ ، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار تنش شوری تفاوت معنی‌دار وجود نداشت با این حال این تیمارها با سطح صفر میکرومولار تفاوت معنی‌داری داشتند که این نشان‌دهنده استفاده گیاه از این مکانیسم در جهت خنثی کردن اثرات تنش‌های اکسیداتیو می‌باشد (جدول ۷، شکل۱۲). در مطالعه محسن‌زاده‌گلفزانی و همکاران (۱۳۹۶) بر روی دو ژنوتیپ کلزا و اعمال تنش اسمزی بر آن نشان داده شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در ۴، ۸ و ۱۲ ساعت پس از اعمال تنش افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری کلی

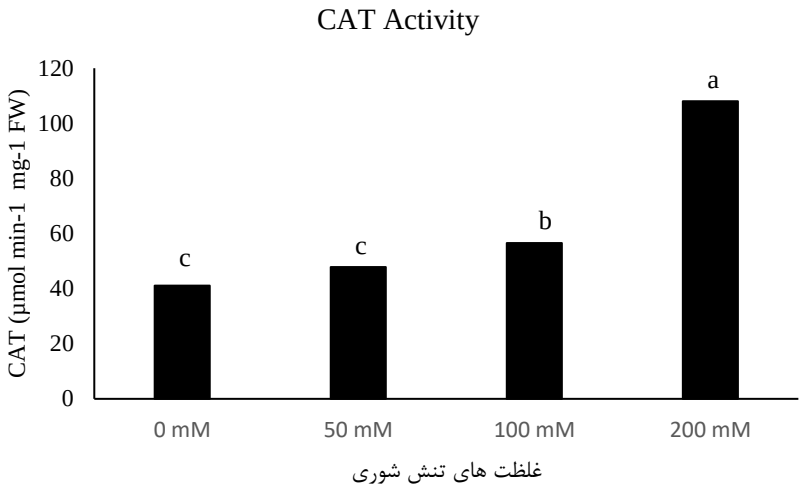
در این پژوهش نشان داده شد که به‌منظور پرآوری رقم اسکارلت انگور، محیط کشت MS حاوی ۴/۴۴ میکرومولار BAP به همراه ۲/۶۸ میکرومولار NAA با ۷۷/۶۷ درصد پرآوری، بیشترین میزان پرآوری را در میان سایر تیمارها، برای رقم اسکارلت به همراه داشته و بهترین محیط کشت برای ریشه‌زایی نیز محیط کشت DKW حاوی ۴/۹۲ میکرومولار IBA با ۸۱ درصد ریشه‌زایی می‌باشد. در فاز دوم مطالعات نیز بررسی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در پاسخ به تنش شوری، نشان داد که رقم انگور اسکارلت با استفاده از مکانیسم‌های متنوعی نظیر افزایش سطح پروتئین کل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و همچنین افزایش سطح پرولین و فنل کل به تنش ۵۰ میلی‌مولار NaCl متحمل بوده اما این مکانیسم‌ها قادر به پاسخگویی نسبت به اثرات مخرب تنش ۲۰۰ و ۱۰۰ میکرومولار NaCl نبوده و از این رو انگور اسکارلت نسبت به این دو سطح تنش حساس می‌باشد.



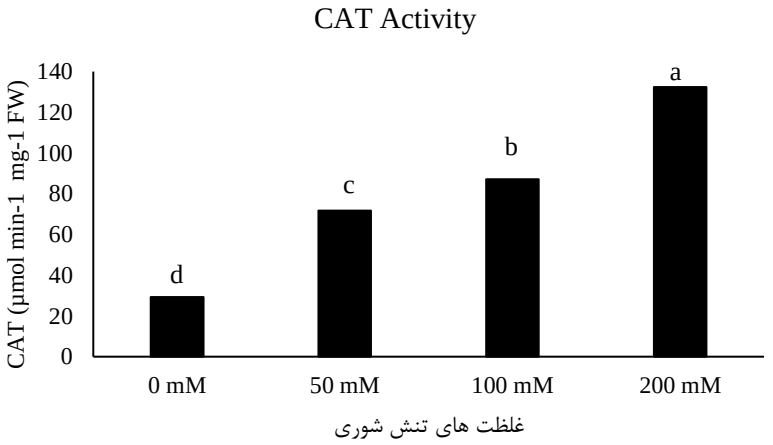
شکل۹- سطح آنزیم کاتالاز در غلظت ۱۰ µlH_2O_2 در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

1. Zhang

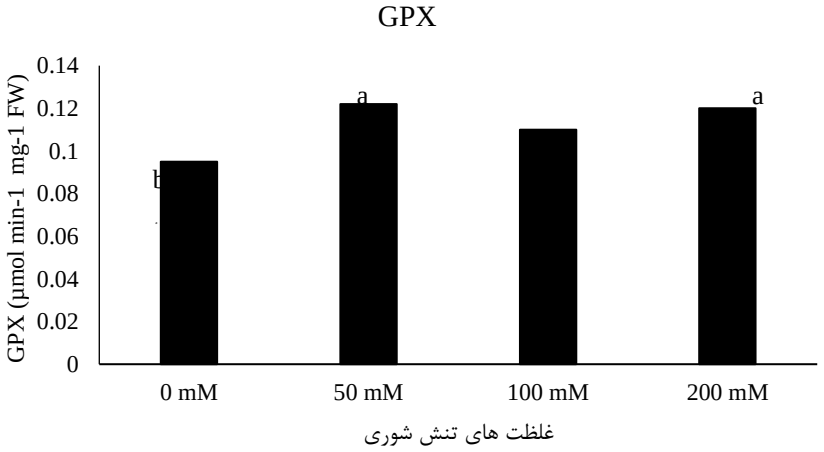
2. Kang



شکل۱۰- سطح آنزیم کاتالاز در غلظت μlH_2O_2 ۱۳ در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



شکل۱۱- سطح آنزیم کاتالاز در غلظت μlH_2O_2 ۱۶ در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.



شکل۱۲- سطح آنزیم گایاکول‌پراکسیداز در غلظت‌های مختلف تنش شوری در انگور رقم اسکارلت. میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

منابع

جلیلی‌مرندی، ر.، جلیل‌دوستعلی، پ. و حسنی، ع. ۱۳۸۸. بررسی تحمل دو پایه سیب به غلظت‌های مختلف کلرورسدیم در شرایط درون شیشه‌ای. علوم باغبانی ایران،۴۰(۲): ۲۹-۳۶.

رستمی، ر. و ارشادی، ا. ۱۳۹۸. بهینه‌سازی باززایی گیاهان حاصل از جنین‌زایی سوماتیکی در شش رقم انگور (*Vitis vinifera* L.). علوم باغبانی ایران،۵۰(۴): ۹۳۵-۹۴۵.

طحانیان، ح.، عبادی، ع.، شهبازی، م. و لسانی، ح.، ۱۳۹۵. بررسی توزیع عناصر (پتاسیم، سدیم و کلر) در برخی ژنوتیپ‌های انگور (*Vitis vinifera*) در شرایط شوری. علوم باغبانی ایران, ۴۷(۱):۱-۹.

فلاح‌پور، م.، میری، س.م. و بوذری، ن. ۱۳۹۸. اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازدیادی پایه نیمه‌پاکوتاه کننده گیلاس CAB-6P. علوم باغبانی ایران، ۵۰(۱): ۱۸۷-۱۹۶.

کریمی، ه.، عباسپور، ن. و محمودزاده، ح. ۱۳۹۱. اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی چهار رقم انگور در تاکستان‌های ارومیه، نشریه به‌زراعی نهال و بذر، ۲۸(۱): ۱۱۳-۱۱۹.

گرگینی‌شبانکاره، ح.، فاخری، ب. و محمدپوروشوایی، ر. ۱۳۹۴. تأثیر سطوح مختلف تنش‌های شوری و خشکی بر شاخص‌های رشدی و اسانس بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.). علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۶(۴): ۶۶۸-۶۷۳.

محسن‌زاده‌گلفزانی، م.، سمیع‌زاده‌لاهیجی، ح. و حسنی‌کومله، ح. ۱۳۹۶. ارزیابی فعالیت آنزیم گایکول‌پراکسیداز در ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط تنش و بدون تنش اسمزی. علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۸(۱): ۷۱-۸۰.

مرادی‌حیدرآباد، ص. و ارشادی، ا.۱۴۰۰. ارزیابی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هفت رقم تجاری انگور به تنش سرما طی فصل رشد. علوم باغبانی ایران، ۵۲(۱): ۲۱۳-۲۲۴.

منصوریار، م.، عبداللهی، ح.، عرفانی‌مقدم، ج.، میرعبدالباقی، م. و سلامی، ع.ر. ۱۳۹۶. اثر نمک‌های نیترات‌آمونیوم و کلرورکلسیم در پرآوری و بهبود کیفیت شاخساره‌های درون شیشه پایه‌های پررشد گلابی. مجله به‌زراعی نهال و بذر، ۳۳(۲): ۲۴۹-۲۶۶.

نامنی، ع.، عباسی، ع. و سبک‌دست‌نودهی، م. ۱۴۰۰. پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان توتون تراریخت *AtEXPA1* به تنش خشکی. تنش‌های محیطی در علوم زراعی, ۱۴(۱): ۱-۱۲.

Alleweldt, G. and Radler, F. 1962. Interrelationship between photoperiodic behavior of grapes and growth of plant tissue cultures. Plant physiology, 37(3): 376.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology, 24(1): 1.

Ashraf, M.P.J.C. and Harris, P.J., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant science, 166(1): 3-16.

Baydar, N.G., Özkan, G. and Sağdiç, O. 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. Food control, 15(5): 335-339.

Ashraf, M. 1989. The effect of NaCl on water relations, chlorophyll, and protein and proline contents of two cultivars of blackgram (*Vigna mungo* L.). Plant and Soil, 119(2): 205-210.

Barakat, A.A., Hussein, B.A., Awad, N.A. and Soliman, M.H. 2019. Evaluation of the two rootstocks (SO4 and Freedom) for the salt stress in vitro conditions. Plant Archives, 19(2): 500-507.

Bates, L.S., Waldren, R.P.A. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39(1): 205-207.

Bohidar, S., Thirunavoukkarasu, M., and Rao, T.V. 2008. Effect of Plant Growth Regulators on in vitro micropropagation of “Garden Rue” (*Ruta graveolens* L.). International Journal of Integrative Biology, 3(1): 36-43.

Bonner, J. 1936. Plant tissue cultures from a hormone point of view. Proceedings of the National Academy of Sciences, 22(6): 426-430.

Buyukdemirci, H. 2005, June. The effects of medium ingredients on shoot propagation and rooting of cherry rootstocks in vitro. In V International Cherry Symposium 795: 419-422.

Chance, B., and Maehly, A. C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 2: 764-775.

Chandran, H., Meena, M., Barupal, T. and Sharma, K. 2020. Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. Biotechnology reports, 26: e00450.

Chang, C.C., Slesak, I., Jordá, L., Sotnikov, A., Melzer, M., Miszalski, Z., Mullineaux, P.M., Parker, J.E., Karpinska, B. and Karpinski, S. 2009. Arabidopsis chloroplastic glutathione peroxidases play a role in cross talk between photooxidative stress and immune responses. Plant Physiology, 150(2): 670-683.

Choudhary, A., Kumar, A. and Kaur, N. 2020. ROS and oxidative burst: Roots in plant development. Plant Diversity, 42(1): 33-43.

Chourasia, K.N., Lal, M.K., Tiwari, R.K., Dev, D., Kardile, H.B., Patil, V.U., Kumar, A., Vanishree, G., Kumar, D., Bhardwaj, V. and Meena, J.K., 2021. Salinity stress in potato: Understanding physiological, biochemical and molecular responses. Life, 11(6), p.545.

Dai, J. and Mumper, R.J. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15(10): 7313-7352.

Das, K., and Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. Frontiers in environmental science, 2: 53-60.

Deyett, E. and Rolshausen, P.E. 2019. Temporal dynamics of the sap microbiome of grapevine under high Pierce's disease pressure. Frontiers in Plant Science, 10: 1246.

Farhangi-Abriz, S. and Torabian, S. 2017. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. Ecotoxicology and environmental safety, 137: 64-70.

FAO. 2019. http,//www.fao.org/faostat/en/#data/QCL.

Gaspar, T.H., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Crèvecoeur, M., Penel, C.L., Greppin, H. and Dommes, J. 2003. Changing concepts in plant hormone action. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 39(2): 85-106.

Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant physiology and biochemistry, 48(12): 909-930.

Gupta, S.K. and Khanuja, S.P.S. 2001. In vitro micropropagation of Lippia. Current science, 81(2): 121-130.

Hanen, F., Ksouri, R., Megdiche, W., Trabelsi, N., Boulaaba, M. and Abdelly, C. 2008. Effect of salinity on growth, leaf-phenolic content and antioxidant scavenging activity in *Cynara cardunculus* L. Biosaline agriculture and high salinity tolerance, 53(2): 335-343.

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual review of plant biology, 51(1): 463-499.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J. and Ahmad, A. 2012. Role of proline under changing environments: a review. Plant signaling & behavior, 7(11): 1456-1466.

Jaskani, M.J., Abbas, H., Khan, M.M., Qasim, M. and Khan, I.A. 2008. Effect of growth hormones on micropropagation of Vitis vinifera L. cv. Perlette. Pakistan Journal of Botany, 40(1): 105.

Kamran, M., Parveen, A., Ahmar, S., Malik, Z., Hussain, S., Chattha, M.S., Saleem, M.H., Adil, M., Heidari, P. and Chen, J.T. 2019. An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation. International journal of molecular sciences, 21(1): 148.

Kang, S.G., Jeong, H.K. and Suh, H.S. 2004. Characterization of a new member of the glutathione peroxidase gene family in Oryza sativa. Molecules and cells, 17(1): 23-28.

Karamad, Z., Ganji Moghadam, E. and Bolandi, A. 2014. Effects of culture media and growth regulators on micropropagation of Gisela 6 rootstock. Journal of crops improvement, 16(2): 339-351.

Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J. and Feng, H. 2016. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. Scientific reports, 6(1): 1-8.

Li, H., Lei, P., Pang, X., Li, S., Xu, H., Xu, Z. and Feng, X. 2017. Enhanced tolerance to salt stress in canola (*Brassica napus* L.) seedlings inoculated with the halotolerant Enterobacter cloacae HSNJ4. Applied Soil Ecology, 119: 26-34.

Li, X., Sun, P., Zhang, Y., Jin, C. and Guan, C. 2020. A novel PGPR strain Kocuria rhizophila Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. Environmental and Experimental Botany, 174: 104023.

Mansseri-Lamrioui, A., Louerguioui, A., Bonaly, J., Yakoub-Bougdal, S., Allili, N. and Gana-Kebbouche, S. 2011. Proliferation and rooting of wild cherry: The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. African Journal of Biotechnology, 10(43): 8613-8624.

Mohammadkhani, N. 2018. Effects of salinity on phenolic compounds in tolerant and sensitive grapes. Poljoprivreda i Sumarstvo, 64(2): 73-86.

Mozafari, A.A., Ghadakchi asl, A. and Ghaderi, N. 2018. Grape response to salinity stress and role of iron nanoparticle and potassium silicate to mitigate salt induced damage under in vitro conditions. Physiology and molecular biology of plants, 24(1): 25-35.

Munns, R. and Gilliham, M. 2015. Salinity tolerance of crops–what is the cost?. New phytologist, 208(3): 668-673.

Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.

Neshat, M., Abbasi, A., Hosseinzadeh, A., Sarikhani, M.R., Dadashi Chavan, D. and Rasoulnia, A. 2022. Plant growth promoting bacteria (PGPR) induce antioxidant tolerance against salinity stress through biochemical and physiological mechanisms. Physiology and Molecular Biology of Plants, 28(2): 347-361.

Pereira, G.J.G., Molina, S.M.G., Lea, P.J. and Azevedo, R.A.D., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in Crotalaria juncea. Plant and soil, 239(1): 123-132.

Qiu, H., Zhang, L., Liu, C., He, L., Wang, A., Liu, H.L. and Zhu, J.B. 2014. Cloning and characterization of a novel dehydrin gene, SiDhn2, from Saussurea involucrata Kar. et Kir. Plant molecular biology, 84(6): 707-718.

Shah, S.H., Houborg, R. and McCabe, M.F. 2017. Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Agronomy, 7(3): 61.

Sharma, P., Tripathi, S., Purchase, D. and Chandra, R. 2021. Integrating phytoremediation into treatment of pulp and paper industry wastewater: field observations of native plants for the detoxification of metals and their potential as part of a multidisciplinary strategy. Journal of Environmental Chemical Engineering, 9(4): 105547.

Simpson, K., Quiroz, L.F., Rodriguez-Concepcion, M. and Stange, C.R. 2016. Differential contribution of the first two enzymes of the MEP pathway to the supply of metabolic precursors for carotenoid and chlorophyll biosynthesis in carrot (*Daucus carota*). Frontiers in Plant Science, 7: 214365.

Sivritepe, N. and Eris, A. 1999. Determination of Salt Tolerance in Some GrapevineCultivars (*Vitis vinifera* L.) Under in vitro Conditions. Turkish Journal of Biology, 23(4) :473-486.

Stuart, J.A. and Robb, E.L., 2013. Bioactive polyphenols from wine grapes (Vol. 457). New York, NY, USA: Springer.

Yancey, P.H., Clark, M.E., Hand, S.C., Bowlus, R.D. and Somero, G.N. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. Science, 217(4566): 1214-1222.

Zhang, L., Wu, M., Teng, Y., Jia, S., Yu, D., Wei, T., Chen, C. and Song, W. 2019. Overexpression of the glutathione peroxidase 5 (RcGPX5) gene from Rhodiola crenulata increases drought tolerance in Salvia miltiorrhiza. Frontiers in Plant Science, 9: 429992.

Zörb, C., Geilfus, C.M. and Dietz, K.J. 2019. Salinity and crop yield. Plant biology, 21: 31-38.