



ارزیابی مقدماتی تحمل به تنش شوری در برخی از ارقام بومی و پایه‌های هیبرید انگور در شرایط درون شیشه‌ای

Preliminary Evaluation of Salinity Stress Tolerance in Some Grapevine Native Cultivars and Hybrid Rootstocks under *in Vitro* Conditions

مژگان فرجاد^۱، اشرف نانکلی^۲، حمید عبداللهی^{۳*}، محمود خسروشاهلی^۴، علی رضائی^{۵*}
و ولی الله رسولی^۶

- ۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
- ۲- مربی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- ۳- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- ۴- استاد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
- ۵- دانشجوی دکتری، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
- ۶- استادیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۵

چکیده

فرجاد، م.، نانکلی، ا.، عبداللهی، ح.، خسروشاهلی، م.، رضایی، ع. و رسولی، و. ۱۴۰۲. ارزیابی مقدماتی تحمل به تنش شوری در برخی از ارقام بومی و پایه‌های هیبرید انگور در شرایط درون شیشه‌ای. نهال و بذر ۳۹: ۲۰۱-۱۷۵.

با توجه به گستره کشت انگور در مناطق خشک دنیا، تنش شوری یکی از تنش‌های محیطی مهم در رابطه با کشت این محصول است که تولید آن را در ایران نیز محدود می‌کند. بنابراین، این پژوهش با هدف ارزیابی مقدماتی و مقایسه واکنش سه رقم محلی انگور بیدانه سفید، بیدانه قرمز، شاهرودی و سه پایه هیبرید H4، H6 و Kober5BB در پاسخ به تنش شوری به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در شرایط درون شیشه‌ای در پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، کرج، در سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶ انجام شد. ارزیابی اثر شوری (کلور سدیم) به منظور تعیین متحمل‌ترین رقم یا پایه در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح شوری بر ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر کلیه صفات رویشی از جمله رشد طولی شاخه‌های درون شیشه، تعداد برگ به ازای شاخه‌چه و توسعه برگ معنی‌دار بود. اغلب این خصوصیات در سطح تنش ملایم نمک، تا ۲۵ میلی‌مولار، افزایش و در غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار که غلظت‌های تعیین‌کننده برای بافت‌های گیاهی برای تحمل به تنش شوری می‌باشند، کاهش نشان داد. بر اساس این خصوصیات، پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی دارای برتری نسبی بودند که ارزیابی میزان کلروفیل کل برگ و حفظ آن تا حدود دو و ۰/۵ میلی‌گرم به ازای هر گرم برگ، به ترتیب در پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی، مویید خصوصیات رشدی مورد ارزیابی بود. ارزیابی میزان پروتئین کل و پرولین کل برگ نشان داد که میزان پروتئین کل در همه ارقام و پایه‌ها با افزایش شدت تنش شوری روند صعودی داشت. لیکن میزان پرولین کل، ارتباط مناسبی با تحمل بالاتر پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی به تنش شوری کلور سدیم در غلظت ۷۵ میلی‌مولار نشان داد.

واژه‌های کلیدی: انگور، کلور سدیم، میزان پروتئین کل، میزان پرولین کل، کشت بافت.

مقدمه

شوری به عنوان یکی از تنش‌های مهم غیرزیستی، رشد و تولید محصولات کشاورزی را از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و ایجاد تنش اسمزی، سمیت یونی و ایجاد عدم تعادل تغذیه‌ای در بسیاری از مناطق جهان تحت تاثیر قرار داده و از عملکرد آن‌ها می‌کاهد (Mahajan and Tuteja, 2005; Zhu et al., 2000). آمارها نشان می‌دهد که حدود ۱/۱۳ میلیارد هکتار در سراسر جهان تحت تاثیر تنش شوری-قلیایی است که حدود ۲۰ درصد از کل سطح زیر کشت جهانی را شامل می‌شود (Morton et al., 2019).

تنش شوری از نمک‌های خنثی مانند کلرور سدیم و Na_2SO_4 ناشی می‌شود که منجر به تنش اسمزی و عدم تعادل یونی در گیاهان شده و در نتیجه بر روند متابولیسم گیاه تأثیر منفی می‌گذارد. تنش قلیایی ناشی از NaHCO_3 و Na_2CO_3 دارای pH بالاتری نسبت به تنش شوری است که در نتیجه گیاهان نه تنها با تنش اسمزی یکسان و سمیت یونی ناشی از تنش شوری مواجه می‌شوند، بلکه با تنش pH بالا نیز مواجه خواهند بود. بنابراین تنش قلیایی شکل متنوع‌تری از تنش است و در مقایسه با تنش شوری برای گیاهان مضرتر می‌باشد (Lu et al., 2022; Chaves et al., 2009).

انگور به عنوان یکی از محصولات باغی با ارزش اقتصادی بالا در دنیا شناخته شده است (Bazgeer et al., 2022) و دامنه پراکنش اکولوژیکی آن بسیار وسیع بوده و بین

عرض‌های جغرافیایی ۱۶ تا ۵۱ درجه کشت و این محصول در مناطقی که محدودیت‌های آب و هوایی از جمله سرمای زیاد، گرمای شدید و رطوبت زیاد مانع از توسعه آن نباشد، رشد می‌کند. براساس اطلاعات منتشر شده از سوی سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (Food and Agriculture of the United Nation = FAO) میزان تولید انگور در سال ۲۰۲۰ برابر ۷۸ میلیون تن بود. در ایران سطح زیر کشت و میزان تولید انگور به ترتیب حدود ۲۳۰ هزار هکتار و ۲/۵ میلیون تن است و به این ترتیب مقام دهم دنیا در تولید این محصول را به خود اختصاص داده است (FAO, 2020).

ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه خشک قرار گرفته است و حدود ۱۴/۱ درصد از اراضی کشور را خاک‌های شور و یا شور-قلیا تشکیل می‌دهد و همه ساله به علل مختلف از جمله مدیریت ضعیف سامانه‌های آبیاری، عدم بارندگی کافی و آبیاری زمین‌ها با آب‌های شور که میزان نمک آن‌ها بیش از ۷۵۰ میکروموس بر سانتی‌متر است، اراضی شور در حال افزایش است (Anonymous, 2019). در ایران عمده کشت انگور در مناطق خشک یا نیمه خشک است و در این مناطق، شوری و قلیایی شدن خاک به دلیل بارندگی کم و تبخیر زیاد یک نگرانی محسوب می‌شود. اگرچه ارقام مختلف انگور دامنه تحمل نسبتاً بالایی را به محیط‌های شور-قلیایی دارند، اما در خاک تحت تأثیر محیط شور و قلیایی، ریشه‌های انگور اغلب

دقیق تنظیم شده باشد. به این منظور، در اثر شوری کاهش رشد رویشی با تغییر متابولیسم پروتئین‌ها همراه است (Kozłowski, 1997). به علت رقابت یون کلر (Cl^-) و یون نیترات (NO_3^-) در جذب، میزان تجمع نیترژن کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، به علت سنتز ترکیبات اسمزی نظیر پرولین و گلیسین-بتائین که نیترژن نقش مهمی در ساختمان آن‌ها دارد، محتوای نیترژن گیاه نیز کم می‌شود (Heydari, 2002; Homaei, 2001). به همین دلیل است که در زمان تنش اسمزی ناشی از شوری، گیاه دچار کمبود آب می‌شود و کل انرژی حیاتی خود را نمی‌تواند صرف غلبه بر فشار اسمزی محلول خاک کند. در نتیجه به ناچار تنها بخشی از آب موجود در خاک را جذب کرده و با در اختیار داشتن بخش دیگر انرژی حیاتی، فعالیت‌های متابولیکی خود را سامان می‌دهد. در نتیجه راندمان گیاه کاهش یافته و در نهایت از مقدار محصول آن کاسته می‌شود (Song *et al.*, 2006).

استفاده از گزینش در شرایط درون شیشه‌ای، یک روش ارزیابی مقدماتی و اولیه در تعیین تحمل به شوری گیاهان است. از این رو، اعمال تیمارهای سطوح مختلف شوری در شرایط آزمایشگاهی به عنوان یک روش سریع برای شناسایی و گزینش اولیه ارقام و پایه‌های انگور به شوری می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. برای حل این مشکل، شناسایی و معرفی ارقام با ویژگی تنظیم فشار اسمزی بالاتر و استفاده از آن‌ها در توسعه مناطق کشت و برنامه‌های به‌نژادی به منظور

مقدار زیادی نمک تجمع می‌کنند و به همین دلیل شادابی ریشه نیز به دلیل بالا بودن نمک کاهش می‌یابد. همچنین pH قلیایی به طور جدی رشد و نمو طبیعی انگور را تحت تاثیر قرار می‌دهد و در نتیجه باعث کاهش عملکرد و تغییر کیفیت محصول می‌شود. بنابراین، شوری و قلیایی شدن خاک عامل کلیدی محدود کننده رشد و عملکرد انگور در این مناطق محسوب می‌شود (Wang *et al.*, 2021).

معمولاً گیاهان برای پاسخ به تنش شوری از سازکارهای متنوعی نظیر: عدم انتقال یون‌های سدیم و کلر به بافت‌های فوقانی و تجمع آنها در ریشه، استفاده از سازکارهای بیوشیمایی مانند استفاده از آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی، افزایش سطح فنول کل و اسید آمینه پرولین برای مواجهه با تنش شوری استفاده می‌کنند (Reisch *et al.*, 2012). انگور به از نظر فیزیولوژیکی یک گیاه نیمه مقاوم به شوری است و تجمع مقادیر سمی کلر (Cl^-) در برگ‌ها دلیل اصلی بروز علائم شوری می‌باشد (Munns and Tester, 2008)، که این واکنش علاوه بر کاهش محصول، کیفیت میوه و فرآورده‌های حاصل از آن را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد.

گزارش‌ها نشان می‌دهد که وجود سطوح متوسط نمک (کمتر از ۵۰ میلی‌مولار کلرور سدیم) سبب تسریع در رسیدن میوه می‌شود (Walker *et al.*, 1981). افزایش تحمل به تنش شوری در صورتی حاصل می‌شود که متابولیت‌های داخلی در کلروپلاست‌ها به طور

شامل دو پایه هیبرید ایرانی (*V. vinifera* cv. H4 × *V. riparia* cv. Gloire)، هیبرید (*V. vinifera* cv. Gharaozum × H6) (*V. Kober5BB* و پایه وارداتی *V. Kober5BB*) (*V. berlandieri* × *V. riparia*) بود. تیمارهای شوری مورد استفاده در چهار سطح نمک کلرور سدیم شامل صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار اعمال شد که به ترتیب با میزان هدایت الکتریکی (ECwi) آب ۱/۸۷، ۳/۲۴، ۶/۴۲ و ۹/۳۱ دسی زیمنس بر متر بودند که با استفاده از هدایت سنج (Jenway 4510) اندازه گیری شد.

ریز قلمه‌های انگور رقم بیدانه قرمز، پایه‌های هیبرید H4 و هیبرید H6 از ایستگاه تحقیقات انگور تاکستان، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین و دو رقم شاهرودی و بیدانه سفید و پایه *Kober 5BB* از گلخانه پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری در کرج در فصل بهار ۱۳۹۴ تهیه و جهت تکثیر از طریق ریزازدیادی به آزمایشگاه کشت بافت گیاهی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی منتقل شدند. پس از استقرار و رشد اولیه شاخه‌چه‌های درون شیشه، ارزیابی‌های بعدی در سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ انجام شد.

روش کار به این صورت بود که از محیط کشت پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) تغییر یافته همراه با ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP برای استقرار ریزنمونه‌ها استفاده شد. به علاوه این محیط حاوی ویتامین‌های محیط کشت Quoirin، عناصر ماکرو، میکرو و کلات

دست یابی به ارقام و پایه‌های جدید بسیار ضروری است. بنابراین تعیین محدوده تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها، در غلظت‌های مختلف عامل تنش شوری است (Sivritepe and Eris, 1999). در همین راستا دولتی بانه و همکاران (Dolati et al, 2014) در پژوهشی اثر غلظت‌های مختلف کلرور سدیم را بر محتوای پرولین و فعالیت آنزیم کاتالاز بر روی چهار رقم انگور مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که محتوای پرولین به عنوان یک تنظیم کننده اسمزی و فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان یکی از آنزیم‌های دفاعی در بالاترین غلظت کلرور سدیم به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین نتایج مشابهی نیز در محصولاتی نظیر پسته گزارش شده است (Jamshidi-Goharrizi et al., 2020).

این پژوهش با هدف ارزیابی مقدماتی ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی مؤثر در القای مقاومت به تنش شوری ارقام و بومی و پایه‌های هیبرید وارداتی انگور در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و تیمارهای درون شیشه

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گیاهی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی در کرج در سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶ انجام شد. ارقام و پایه‌های مورد استفاده در این پژوهش سه رقم انگور ایرانی شامل ارقام شاهرودی، بیدانه سفید و بیدانه قرمز و سه پایه

ارزیابی‌های بیوشیمیایی

برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل، ۰/۰۵ گرم برگ با استفاده از ترازوی دقیق وزن و عصاره آن طی دو مرحله با یک میلی‌لیتر استون ۹۰ درصد در هاون چینی استخراج شد. در مرحله بعد، مایع رویی به مدت ۱۵ دقیقه در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد (Inskeep and Bloom, 1985). عصاره روئی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu 2101 (PC) در طول موج ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر قرائت شد و در نهایت میزان کلروفیل کل برگ با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$(Ch_a+Ch_b)=(0.0202\times A_{645})+(0.00802\times A_{663})$$

در این رابطه A645 و A663 به ترتیب جذب نوری قرائت شده در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر بود.

برای سنجش پروتئین‌های محلول، ۰/۱ گرم از برگ‌های انتهایی وزن شده و در هاون چینی با نیتروژن مایع سائیده شد و دو میلی‌لیتر از بافر استخراج محتوی یک میلی‌مولار DTT، ۱۰ میلی‌مولار MgSO₄، ۱۰۰ میلی‌مولار Tris-HCl به هر نمونه اضافه و در داخل لوله‌های مخصوص دستگاه هموژنایزر جهت همگن نمودن نمونه‌ها ریخته شد. در مرحله بعدی، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و بعد از فیلتر شدن محلول، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند.

در گام بعدی ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول با پنج

آهن بود. علاوه بر این، هر یک از محیط‌های کشت حاوی ۳۰ گرم ساکارز، ۰/۲ گرم پکتین مرکبات، ۷/۳ گرم آگار بود. pH محیط مورد استفاده قبل از انجام اتوکلاو حدود ۵/۷ تنظیم شد و زمان ضد عفونی محیط ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد بود.

حجم محیط مورد استفاده برای هر شیشه ۲۵ میلی‌لیتر بود و دو ریزنمونه حاوی یک جوانه به طور عمودی در داخل هر شیشه کشت شد. روشنایی با استفاده از لامپ‌های فلوئورسنت با نور سفید با شدت نور بین ۲۰-۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی بود. میانگین دمای روز و شب اتاق رشد به ترتیب ۲۵±۱ و ۲۲±۱ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. واکشت اول صرفاً برای سازگاری با محیط جدید در نظر گرفته شد و ریزنمونه‌ها به مدت دو ماه در مرحله استقرار بودند، سپس به محیط پرآوری منتقل شدند. بعد از دو ماه مجدداً واکشت برای نتایج قطعی به انجام رسید. تیمار شوری در انتهای ماه ششم از شروع آزمایش و در غلظت‌های صفر (شاهد بدون تنش شوری)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار) برای هر آزمایش به محیط کشت MS تغییر یافته اضافه شد. صفات مورفولوژیک شامل طول شاخه‌چه‌های درون شیشه، تعداد برگ کامل به ازاء شاخه‌چه درون شیشه، توسعه سطح برگ، و همچنین صفات بیوشیمیایی شامل میزان کلروفیل کل، پروتئین کل و پرولین در طول دوره ۴۵ روز بعد از واکشت اندازه‌گیری شد.

فاز مجزا، قسمت رنگی جدا و میزان جذب نوری آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Shimadzu 2101 PC) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (Bates *et al.*, 1973) و سایر شرایط همانند آزمایش دوم بود.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشات به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار و حداقل پنج ریزنمونه در هر شیشه انجام شد. پس از انجام ارزیابی ها و اندازه گیری صفات مورد نظر، تجزیه آماری داده ها استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد. رسم نمودار ها با استفاده از نرم افزار Excel بود.

نتایج و بحث

خصوصیات رویشی

نتایج نشان داد که بیشترین (۸/۳۴ سانتی متر) و کمترین (۵/۱۸ سانتی متر) طول شاخه چه به ترتیب در سطوح ۲۵ و ۷۵ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۱). کمترین (۴/۷۵ سانتی متر) طول شاخه چه مربوط به رقم H4 و بیشترین (۸/۴۱ سانتی متر) آن در رقم H6 بود (جدول ۲). مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین (۹/۵ سانتی متر) طول شاخه چه درون شیشه در شرایط بدون تنش شوری در رقم بیدانه سفید، شاهرودی و پایه H6 مشاهده شد. همچنین دو پایه H4 و Kober5BB در شرایط بدون تنش از رشد کمتری در مقایسه با سایر ارقام و پایه H6 برخوردار بودند (شکل ۱).

میلی لیتر از معرف بردفورد مخلوط شد و میزان جذب محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Shimadzu 2101 PC) در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید. برای تهیه محلول استاندارد از سرم گاوی استفاده شد (Bradford, 1976). منحنی استاندارد با استفاده از ال-پروتئین تهیه و کلیه مراحل که برای نمونه های گیاهی انجام شد، برای استانداردها نیز اعمال گردید. نهایتاً میزان جذب محلول های استاندارد و نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد و محاسبه معادله رگرسیون، غلظت پروتئین در نمونه ها تعیین شد. برای اندازه گیری پروتئین، ۰/۳ گرم بافت تازه برگی را با نیتروژن مایع در داخل هاون چینی ساییده و سه میلی لیتر اسید سولفوسالیسیک به آن اضافه شد. جهت عصاره گیری از دستگاه هموژنایزر استفاده گردید. عصاره حاصله به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردید. سپس دو میلی لیتر از عصاره شفاف بالایی برداشت و با استفاده از نمونه گیر (Sampler) در داخل لوله آزمایش دیگری ریخته شد. به این لوله آزمایش دو میلی لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه گردید. در ادامه لوله های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. برای توقف واکنش محلول حاصله داخل حمام یخ گذاشته شد. سپس چهار میلی لیتر تولوئن به آن اضافه شد و ۳۰ ثانیه ورتکس شدید انجام گرفت. پس از تشکیل دو

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف شوری (کلرور سدیم) بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیائی ارقام و پایه‌های انگور در شرایط درون شیشه ای پس از گذشت شش هفته

Table 1. Mean comparison of effect of salinity (sodium chloride) levels on growth and biochemical characteristics of grapevine cultivars and rootstocks under *in vitro* conditions after six weeks

سطح شوری (میلی مولار)	طول شاخه‌چه (سانتی متر)	سطح برگ (سانتی متر مربع)	میزان کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	میزان پروتئین کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	میزان پرولین کل (میکروگرم بر گرم وزن تر)	
Salinity level (mM)	Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf Number	Leaf area (cm ²)	Total chlorophyll content (mg g ⁻¹ FW)	Total protein content (mg g ⁻¹ FW)	Total proline content (μg g ⁻¹ FW)
0	7.57ab	9.16b	6.44b	1.83a	19.83c	1.17
25	8.34a	10.21a	7.84a	1.42a	23.08b	1.12
50	6.82b	8.33c	5.91b	1.27ab	27.67a	1.21
75	5.18c	7.17d	3.54c	0.59b	26.83a	1.02

میانگین هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

جدول ۲- مقایسه میانگین خصوصیات رشدی و بیوشیمیائی ارقام و پایه‌های انگور در شرایط درون شیشه ای پس از گذشت شش هفته

Table 2. Mean comparison of growth and biochemical characteristics of grapevine cultivars and rootstocks under *in vitro* condition after six weeks

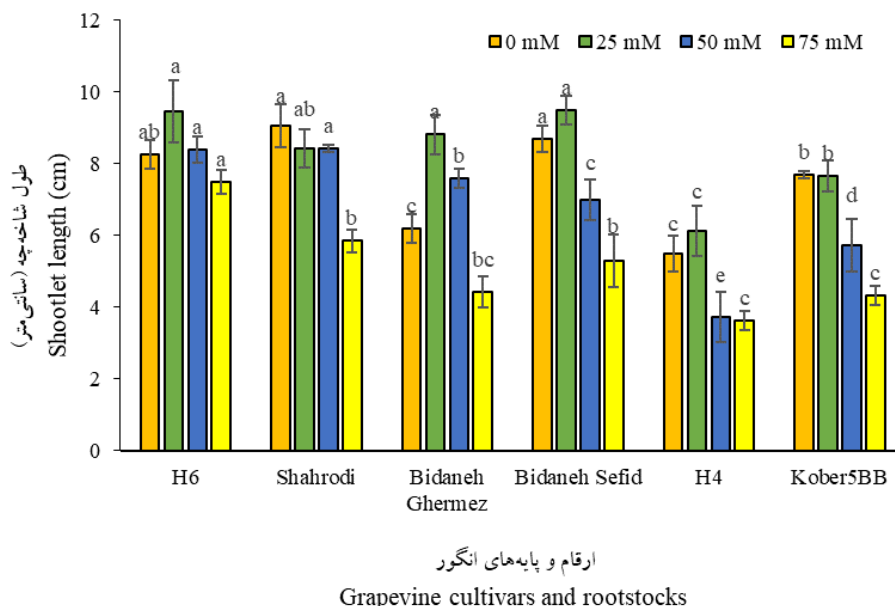
رقم/پایه Cultivar/rootstock	طول شاخه‌چه (سانتی متر) Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ (سانتی متر مربع) Leaf area (cm ²)	میزان کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر) Total chlorophyll content (mg g ⁻¹ FW)	میزان پروتئین (میلی گرم بر گرم وزن تر) Total protein content (mg g ⁻¹ FW)	میزان پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر) Total proline content (μg g ⁻¹ FW)
H6	8.41a	8.66b	5.26b	1.87a	22.63b	1.34a
Shahrodi	7.95a	9.83ab	4.70b	1.42a	22.00b	0.83b
Bidaneh Ghermez	6.77b	9.25ab	8.10a	1.09ab	23.50b	1.45a
Bidaneh Sefid	7.63a	10.57a	7.11a	1.05ab	22.75b	0.98b
H4	4.75c	7.00c	2.59c	0.73b	28.25a	1.35a
Kober5BB	6.36bc	7.00c	7.82a	1.53a	27.00a	0.83b

میانگین هایی، در هر ستون، که دارای حداقل یک حرف مشترک می باشند، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

شاخه‌چه‌های درون شیشه ارقام و پایه‌های مورد بررسی افزایش جزئی نشان دادند، به صورتی که بیشترین طول شاخه‌چه درون شیشه با میانگین ۹/۵ سانتی‌متر در رقم بیدانه سفید در تیمار ۲۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد. با افزایش شدت تنش رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه کاهش یافت و کمترین طول شاخه‌چه‌های درون شیشه با ۳/۶ سانتی‌متر در پایه هیبرید H4 و تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک مشاهده شد (شکل ۱).

با توجه به عادت رشد و پاکوتاهی پایه Kober5BB در شرایط خارج شیشه (*in Vivo*)، رشد درون شیشه با رشد عادی مواد گیاهی در شرایط باغ منطبق و از طرفی به نظر می‌رسد استفاده از دورگ‌گیری بین گونه‌های *V. vinifera* × *V. riparia* در نسل اول، سبب ایجاد پاکوتاهی قابل توجهی در نتایج می‌شود. نتایج همچنین نشان داد که با ایجاد تنش شوری ملایم در سطح ۲۵ میلی‌مولار، رشد طولی



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/پایه بر طول شاخه‌چه در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله‌های خطا روی ستون‌ها ± خطای استاندارد می‌باشند. توجه: مقایسه میانگین‌ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

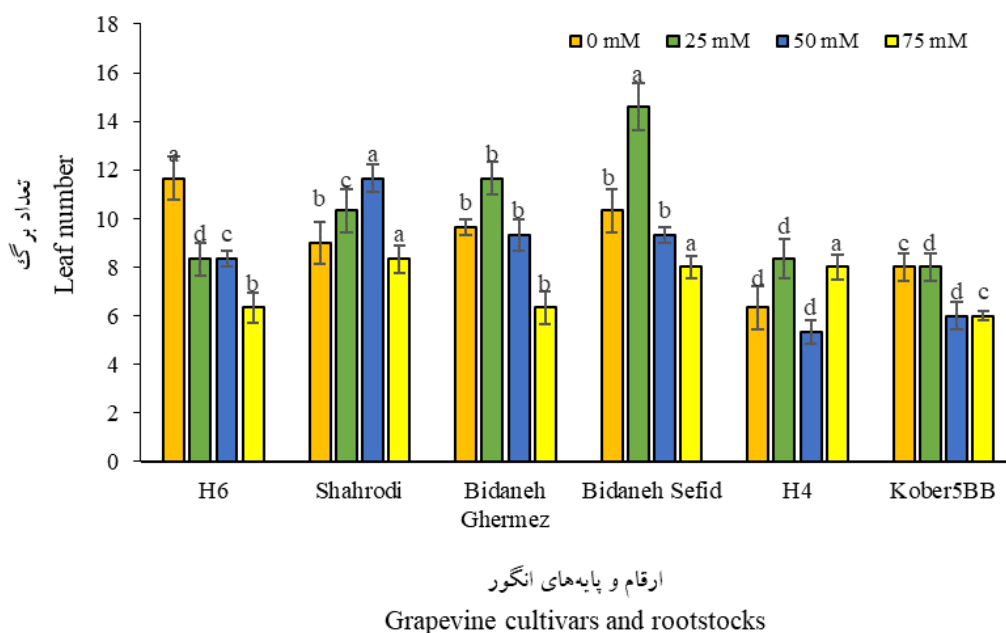
Fig. 1. Salinity × cultivar/rootstock interaction effect on the length of shootlet under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test. Error bars on columns are ± standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

شوری، تعداد برگ کامل به ازاء هر شاخه‌چه درون شیشه بین ۷ تا ۱۲ برگ به ترتیب در پایه هیبرید H4 و پایه هیبرید H6 متغیر بود. همچنین به طور مشابهی با رشد طولی شاخه‌چه درون شیشه، برای این صفت نیز با افزایش شوری در غلظت ملایم ۲۵ میلی‌مولار، در هر سه رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز و شاهرودی و پایه هیبرید H4 تعداد برگ کامل به ازای هر شاخه‌چه درون شیشه افزایش جزئی داشت و با افزایش شدت تنش شوری، تعداد برگ کامل، کاهش زیادی نشان داد.

بیشترین تعداد برگ با ۱۴/۶ برگ به ازای هر شاخه‌چه درون شیشه در رقم بیدانه سفید و سطح شوری ۲۵ میلی‌مولار و کمترین تعداد برگ با ۵/۳ برگ به ازای هر شاخه‌چه درون شیشه در پایه هیبرید H4 مشاهده شد (شکل ۲). مقایسه میانگین تعداد برگ کامل به ازای هر شاخه‌چه درون شیشه در شرایط بدون تنش و تنش شدید (۷۵ میلی‌مولار) در کلیه ارقام و پایه‌های انگور مورد بررسی نشان داد که رقم شاهرودی و پایه هیبرید H4 در مقایسه با سایر ارقام و پایه‌ها از ثبات بیشتری برای تعداد برگ برخوردار بودند. از طرفی با در نظر گرفتن رشد طولی شاخه‌چه درون شیشه، پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی از رشد طولی شاخه‌چه درون شیشه بیشتری در شرایط تنش شدید نمک برخوردار بودند (شکل ۲). بر این اساس لازم است سایر صفات مورد بررسی برای گزینش مقدماتی ارقام و پایه‌های انگور متحمل‌تر مورد توجه قرار گیرند.

در کلیه ارقام و پایه‌های مورد بررسی، رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه، از تیمار ۲۵ میلی‌مولار نمک شروع به کاهش کرد و در تیمار ۷۵ میلی‌مولار کوتاهترین طول شاخه‌چه مشاهده شد. در تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک بین ارقام بیدانه قرمز، H4 و Kober5BB از نظر رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، لیکن پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی از رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه بیشتری در این غلظت نمک برخوردار بودند. گرچه حفظ رشد طولی شاخه‌های گیاهان گلدانی و یا درون شیشه در شرایط تنش‌های غیرزنده می‌تواند به عنوان یکی از صفات مناسب برای گزینش ارقام و یا پایه‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Zohouri et al., 2020)، لیکن لازم است در کنار صفات دیگر بویژه میزان اضمحلال بافت‌های گیاهی و سبزیگی برگ، کارآئی این صفت مورد تایید نهائی قرار گیرد.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار بیشترین تاثیر منفی (۷/۱۷) را بر تعداد برگ داشت و در مقابل در سطح شوری ۲۵ میلی‌مولار بیشترین (۱۰/۲۱) تعداد برگ وجود داشت (جدول ۱). بررسی اثر ارقام و پایه‌های انگور بر تعداد برگ نشان داد که رقم بیدانه سفید دارای بیشترین (۱۰/۵۷) و ارقام H4 و Kober5BB دارای کمترین (۷) تعداد برگ بودند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد تعداد برگ در سطوح مختلف شوری صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار نمک در شرایط بدون تنش

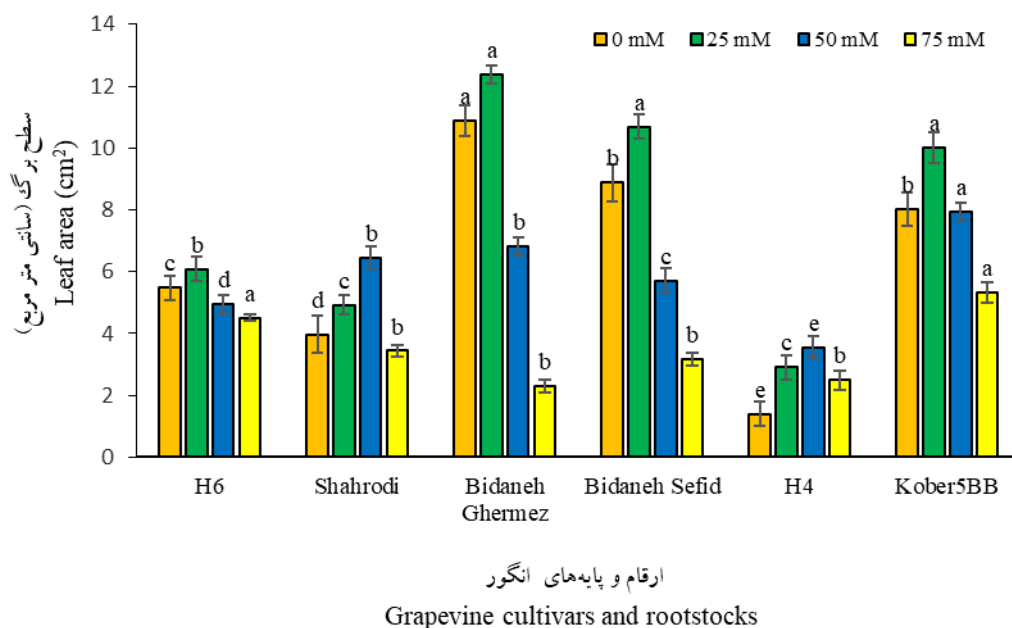


شکل ۲- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/پایه بر تعداد برگ در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون های دارای حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله های خطا روی ستون ها ± خطای استاندارد می باشند. توجه: مقایسه میانگین ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

Fig. 2. Salinity × cultivar/rootstock interaction effect on the leaf number under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan’s Multiple Range Test. Error bars on columns are ± standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

بیشترین سطح برگ (۸/۱۰ سانتی متر مربع) مربوط به رقم بیدانه قرمز و کمترین آن (۲/۵۹ سانتی متر مربع) مربوط به پایه H4 بود (جدول ۲). مقایسه میانگین ها نشان داد که در سطح شوری صفر (بدون تنش) تفاوت قابل توجهی بین توسعه سطح برگ ارقام و پایه‌ها وجود داشت (شکل ۳).

اثر سطوح شوری حاصل از نمک کلرور سدیم بر سطح برگ نشان داد که با افزایش تنش شوری سطح برگ کاهش یافت، به طوریکه بیشترین سطح برگ (۷/۸۴ سانتی متر مربع) و کمترین آن (۳/۵۴ سانتی متر مربع) به ترتیب در سطوح ۲۵ و ۷۵ میلی مولار مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین ها نشان داد که



شکل ۳- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/پایه بر سطح برگ در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون‌های دارای حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله‌های خطا روی ستون‌ها ± خطای استاندارد می باشند. توجه: مقایسه میانگین‌ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

Fig. 3. Salinity × cultivar/rootstock interaction effect on the leaf area under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test. Error bars on columns are ± standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

BAP، رقم‌های بیدانه سفید و بیدانه قرمز و پایه Kober5BB بیشترین توسعه سطح برگ را داشتند. از سوی دیگر پایه Kober5BB که در شرایط باغ، به طور معمول برگ‌های کوچکی تولید می‌کند، در حالیکه در شرایط درون شیشه ای در مقایسه با رقم شاهرودی از توسعه سطح برگ بیشتری برخوردار بود (جدول ۲).

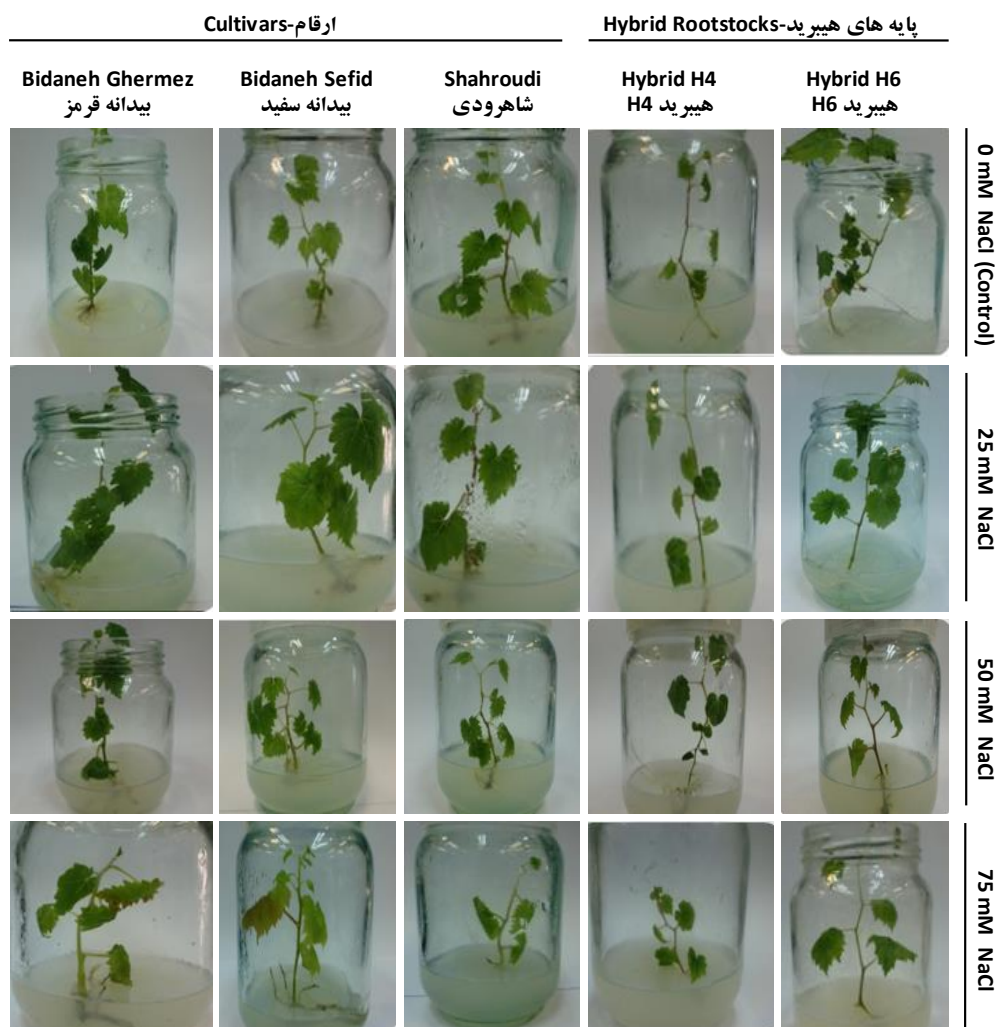
به طور طبیعی توسعه برگ در شرایط درون شیشه تابعی از میزان سازگاری رقم یا ژنوتیپ با شرایط کشت بافت و نوع و سطح تنظیم کننده‌های رشد مورد استفاده و برهمکنش آنها با هورمون‌های درونی گیاهی است (Mansouryar *et al.*, 2016). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در محیط MS تغییر یافته مورد استفاده با نیم میلی گرم در سائوکینین

بدلیل ضروری بودن یون کلر تا حد معینی و برای اینکه جبران تعداد روزنه کمتر شود سطح برگ را افزایش می دهند که یک سازکار دفاعی گیاه در برابر تنش است. یافته های پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده تسط چاوز و همکاران (Chaves *et al.*, 2009) مطابقت دارد (شکل ۴).

در پژوهش حاضر روند افزایش توسعه برگ در غلظت شوری ۲۵ میلی مولار حائز اهمیت بود. به نظر می رسد علی رغم بروز علائم سمی کلرید سدیم در برگ های پایینی و مسن، بیشترین مطلوبیت رشدی برگ های جدید در سطوح شوری ۵۰ و کمتر از ۵۰ میلی مولار کلرور سدیم نسبت به شرایط بدون تنش صفر بود. این یافته با نتایج با مونز و همکاران (Munns *et al.*, 2006) و پاریدا و داس (Parida and Das, 2005) مطابقت دارد. در غلظت های بالای شوری ویژگی های رویشی برگ کاهش می یابد و که نتایج فیزارکیس و همکاران (Fisarakis *et al.*, 2001) را تأیید می کند. فاصله ژنتیکی زیاد ژنوتیپ های ارقام محلی انگور و پایه های وارداتی می تواند در بروز این تفاوت موثر بوده باشد. همچنین نشان داده شده که در خاک های شور، ابتدا رشد رویشی گیاه و توسعه برگ ها متأثر می شوند (Mahajan and Tuteja, 2005).

در تنش شوری در سطح ۲۵ میلی مولار کلرور سدیم، در محیط درون شیشه ای، بیشترین توسعه سطح برگ به ترتیب افزایشی مربوط به هیبرید H4، رقم شاهرودی، هیبرید H6، Kober5BB، رقم بیدانه سفید و رقم بیدانه قرمز مشاهده شد (شکل ۳). در غلظت شوری ۵۰ میلی مولار کلرور سدیم تمامی ژنوتیپ ها به جز ارقام شاهرودی و بیدانه قرمز اختلاف معنی داری نشان دادند. پایه Kober5BB بیشترین توسعه سطح برگ را با ۷/۹ سانتی متر مربع و رقم بیدانه سفید، پایه های H4، H6 به ترتیب نزولی کمترین توسعه سطح برگ را دارا بودند (شکل ۳). در سطح شوری ۷۵ میلی مولار دو رقم شاهرودی، بیدانه قرمز، بیدانه سفید و پایه H4 تفاوت معنی داری با پایه Kober5BB و H6 داشتند. در این تسطح شوری برتری مطلوب با پایه Kober5BB (۵/۳۱ سانتی متر مربع) و هیبرید H6 (۴/۵۱ سانتی متر مربع) بود.

تنش اسمتیک ناشی از تنش شوری، بر میزان فتوسنتز، از طریق بسته شدن روزنه ها و محدود کردن انتشار (CO₂) داخل کلروپلاست ها، اثر می گذارد که بوسیله ریشه و هورمون های تولید شده در ریشه ایجاد می شود. دی اکسید کربن به سلول های مزوفیل منتقل می شود و در نتیجه تغییراتی در متابولیسم کربن و واکنش های فتوشیمیایی برگ ایجاد می شود. برگ های گیاه



شکل ۴- مقایسه توسعه سطح برگ و اضمحلال کلروفیل کل برگ در سطوح شوری صفر (بدون تنش)، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار نمک کلرور سدیم در محیط کشت ارقام و پایه‌های هیبرید انگور. برگ‌های توسعه یافته رقم بیدانه قرمز، افزایش توسعه سطح برگ در غلظت ۲۵ میلی‌مولار کلرور سدیم در بیشتر ارقام و پایه‌ها، توسعه سطح برگ محدود در کلیه غلظت‌های نمک در هیبرید H4، اضمحلال کلروفیل با افزایش شدت تنش شوری و تحمل بالاتر پایه هیبرید H6 بر اساس رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه و حفظ کلروفیل این پایه در سطوح بالای تنش شوری در تصویر قابل مشاهده است.

Fig. 4. Comparison of the leaf expansion and total chlorophyll degradation at different salinity levels; 0 (non-stress), 25, 50 and 50 mM sodium chloride, in the growth media of grapevine cultivars and hybrid rootstocks under *in vitro* conditions. Expanded leaves in cv. Bidaneh Ghermez, greater leaf expansion in 25 mM sodium chloride in most of cultivars and rootstocks, limited leaf expansion at all salinity levels in hybrid rootstock H4, chlorophyll degradation at high salinity levels, and finally high tolerance of hybrid rootstock H6 according to shootlets growth in *in vitro* conditions and preservation of leaf chlorophyll content at high salinity levels are visible in picture.

برگ‌های گیاه بدلیل ضروری بودن یون کلر تا حد معینی و برای اینکه جبران تعداد روزنه کمتر شود و در پاسخ به تنش ایجاد شده سطح برگ را افزایش می‌دهند (Munns *et al.*, 2006). در تیمار ۷۵ میلی‌مولار، پیچش و لوله‌ای شدن برگ‌های هیبرید H4، کوچک و نکروزه شدن برگ‌های دو رقم شاهرودی و بی دانه قرمز، زردی حاشیه برگ‌ها در هیبرید H6، بروز لکه‌های قهوه‌ای در پایه Kober5BB و خشکیدگی برگ‌ها این موضوع را تأیید کرد (شکل ۴).

خصوصیات بیوشیمیائی

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محتوای کلروفیل کل در سطوح مختلف شوری، نمک کلرور سدیم، بیشترین (۱/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۰/۵۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) میزان کلروفیل کل در سطح صفر (بدون تنش) و ۷۵ میلی‌مولار کلرور سدیم وجود داشت (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها برای محتوای کلروفیل کل نشان داد که پایه‌های هیبرید H6 و H4 به ترتیب بیشترین (۱/۸۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۰/۷۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) میزان کلروفیل کل را داشتند (جدول ۲).

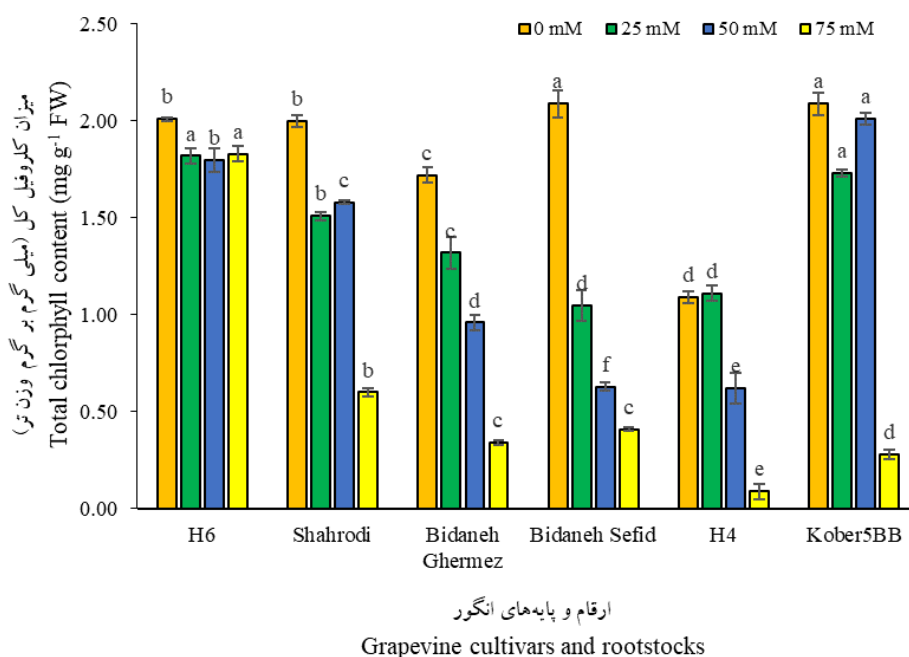
مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر سطوح تنش شوری نشان دهنده این بود که با افزایش شدت تنش شوری از میزان کلروفیل کل در ارقام و پایه‌های انگور کاسته شد. در سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار نمک در محیط کشت، به ترتیب پایه هیبرید H6، رقم شاهرودی، دو رقم

در اثر شوری، کاهش رشد رویشی با کاهش در سرعت فتوسنتز، تغییر در متابولیسم پروتئین، اسیدهای نوکلئیک و فعالیت‌های آنزیمی همراه است. به طوری که گیاه انرژی خود را صرف دفع سدیم از سلول‌های مزوفیل برگ نموده و در نتیجه رشد کاهش می‌یابد. بنابراین رشد و نمو اندک گیاهان در خاک‌های شور مربوط به بالا بودن فشار اسمزی ناشی از حضور یون‌هایی نظیر Na^+ ، Ca^{2+} ، Mg^{2+} ، K^+ و NO_3^- است که نهایتاً منجر به کاهش قابلیت استفاده آب موجود برای گیاه می‌شود. به این ترتیب با افزایش شوری و بالا رفتن فشار اسمزی هر چند هم که آب به قدر کافی در محیط ریشه وجود داشته باشد جذب آن توسط گیاه کاهش می‌یابد (Munns *et al.*, 2006).

اولین اثر محسوس شوری در شدت تنش بالای شوری را می‌توان از روی اندازه کوچکتر برگ‌ها یا طول رشد گیاهان تشخیص داد. ولی در صورتیکه شدت تنش یا حد آستانه تحمل به تنش بسته به گیاه در حدی باشد که مقاومت حاصل شود، در بعضی موارد ضخامت برگ‌ها بیشتر می‌شود و به رنگ سبز تیره در می‌آیند. در پژوهش حاضر برگ‌های بالائی رقم بی‌دانه سفید در شرایط تنش شوری ضخیم تر بود. در تیمار ۲۵ میلی‌مولار کلرور سدیم توسعه برگ‌ها بیشتر از شرایط بدون تنش بود و این موضوع با گزارش مونز و همکاران (Munns *et al.*, 2006) مطابقت دارد. وقتی که گیاه تحت تنش اسمتیک ناشی از شوری قرار می‌گیرد روزنه‌ها بسته می‌شوند و

هیبرید H6 و رقم شاهرودی منطبق است، به صورتی که در این سطح شوری، این رقم و پایه در مقایسه با شرایط بدون تنش شوری (شاهد)، کمترین کاهش را در ارقام و پایه‌های انگور نشان دادند (شکل ۱ و شکل ۳).

بی دانه سفید و بی دانه قرمز، پایه Kober5BB و در نهایت پایه هیبرید H4 بیشترین میزان کلروفیل کل برگ خود را حفظ کردند (شکل ۴ و شکل ۵). این نتایج با حفظ نسبی رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه و توسعه برگ در پایه



شکل ۵- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/پایه بر میزان کلروفیل کل در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون‌های دارای حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله‌های خطا روی ستون‌ها ± خطای استاندارد می باشند. توجه: مقایسه میانگین‌ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

Fig. 5. Salinity × cultivar/rootstock interaction effect on the total chlorophyll content under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test. Error bars on columns are ± standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

سلول گیاه می‌شود، به طوری که سنتز پورین‌ها کاهش می‌یابد و $NADP^+$ که در مسیر زنجیره انتقال

به طور کلی تنش شوری باعث ایجاد تغییرات هورمونی درونی و تغییر در فرآیندهای متابولیکی

نشده، بلکه میزان اضمحلال کلروفیل و کاهش رشد و توسعه برگ مشاهده شد که می تواند به عنوان شاخص هائی برای گزینش تحمل به شوری مورد استفاده قرار گیرد (شکل ۴).

مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش سطح شوری میزان پروتئین کل موجود در برگ افزایش یافت، به طوریکه در سطوح ۵۰ میلی مولار (۲۷/۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) و ۷۵ میلی مولار (۲۶/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) کلرور سدیم بیشترین میزان پروتئین وجود داشت و کمترین میزان پروتئین (۱۹/۸۳ میلی گرم بر گرم وزن تر) نیز در تیمار بدون تنش مشاهده شد (جدول ۱). مطالعه اثر اصلی رقم بر میزان مقایسه میانگین ها همچنین شان داد که پایه H4 دارای بیشترین (۲۸/۲۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) و رقم شاهروی دارای کمترین (۲۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) میزان پروتئین در برگ بود (جدول ۲).

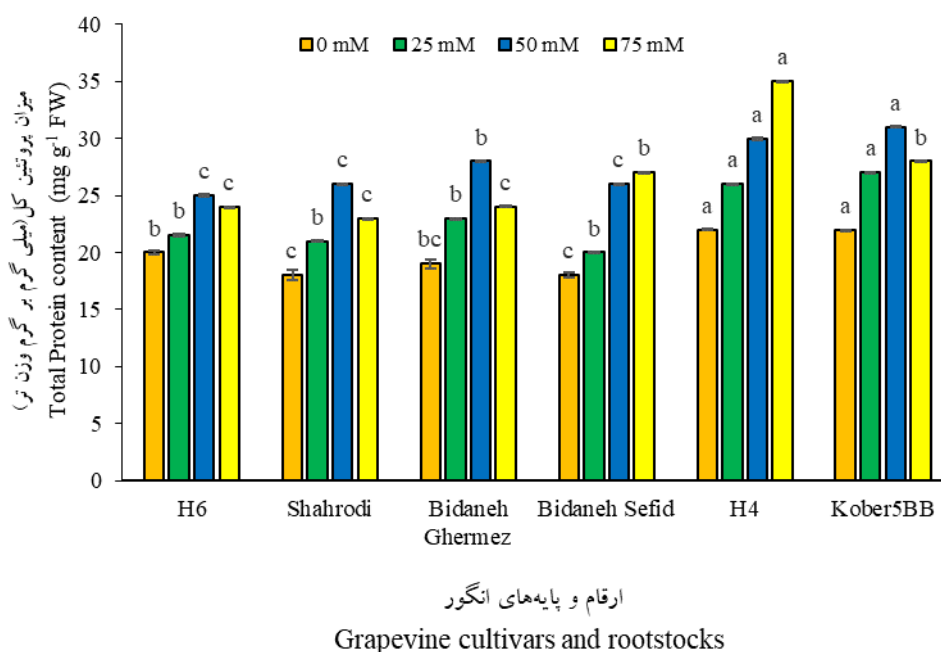
بر اساس نتایج پژوهش حاضر تغییرات میزان پروتئین نشان دهنده اثر معنی دار غلظت شوری ۷۵ میلی مولار بود، به طوری که پایه H4 در این سطح شوری روند افزایشی قابل ملاحظه ای نسبت به رقم شاهرودی، رقم بیدانه قرمز و پایه H6 داشت (شکل ۶). رقم بیدانه سفید و پایه Kober5BB با همدیگر تفاوت معنی داری نداشتند و بعد از دو هیبرید H4 و H6 قرار گرفتند. به نظر می رسد میزان پروتئین کل در نتیجه افزایش بالای میزان یون نیتروژن و به دنبال آن میزان پروتئین های دفاعی که در تنش اسمزی و یونی ناشی از شوری در ژنوتیپ های تحت شرایط تنش شوری ایجاد

الکترون کلروپلاستی تشکیل می شود، به میزان کافی تولید نمی شود. در این صورت الکترون های زنجیره انتقال الکترون کلروپلاستی به مولکول اکسیژن منتقل می شوند و گونه های فعال اکسیژن را تولید می نمایند. در نتیجه این فرآیند، نتیجه متابولیسم کربوهیدرات ها، میزان کلروفیل و فرآیند فتوسنتز کاهش می یابد (Munns et al., 2006).

مقایسه بین ارقام و پایه های انگور مشخص شد که در تیمار ۷۵ میلی مولار هیبرید H6 بیشترین میزان کلروفیل کل و هیبرید H4 کمترین میزان کلروفیل کل را داشتند و یک روند رو به کاهش را نشان دادند (شکل ۵). این نتایج از نظر کارآئی استفاده از سامانه درون شیشه به منظور غربال و گزینش مقدماتی تحمل به تنش شوری در ارقام و پایه های انگور و همچنین کارآئی کلروفیل کل به عنوان یک شاخص مناسب برای گزینش در این شرایط با نتایج علیزاده و همکاران (Alizadeh et al., 2010) مطابقت دارد. علیزاده و همکاران (Alizadeh et al., 2010) در مقایسه واکنش چهار پایه انگور Dogridge، SO4، H-144 و 3309C به تنش شوری، غلظت نمک کلرور سدیم را علاوه بر ۷۵ میلی مولار تا غلظت ۱۰۰ میلی مولار افزایش دادند. نتایج پژوهش آنها نشان داد که غلظت ۱۰۰ میلی مولار نمک کلرور سدیم بسیار مخرب و تنها پایه های بسیار مقاوم نظیر Dogridge و H-144 در این غلظت نمک زنده ماندند. در حالی که در پژوهش حاضر، افزایش غلظت نمک تا ۷۵ میلی مولار، سبب نابودی کامل هیچیک از ارقام و پایه های انگور به طور کامل

برگ به عنوان شاخصی برای ارزیابی سطح تحمل به شوری نمی‌تواند مورد استفاده قرار گیرد، چون پایه هیبرید H4 که با دارا بودن خصوصیات رشدی و میزان کلروفیل کل بیشتر تحمل کمتری، در مقایسه با پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی، به سطوح بالای تنش شوری نشان داد، در اینجا از میزان پروتئین کل بالاتری برخوردار بود (شکل ۶).

می‌شوند، بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد. یافته‌های پژوهش حاضر در خصوص افزایش میزان پروتئین کل در شرایط تنش شوری با نتایج علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al.*, 2010) مطابقت داشت. لیکن به نظر می‌رسد افزایش میزان پروتئین به ستنز بیشتر پروتئین‌های عامل تحمل به تنش شوری و افزایش پتانسل اسمزی برگ مربوط است. از سوی دیگر افزایش میزان پروتئین کل



شکل ۶- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/پایه بر میزان پروتئین کل در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون‌های دارای حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله‌های خطا روی ستون‌ها ± خطای استاندارد می‌باشند. توجه: مقایسه میانگین‌ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

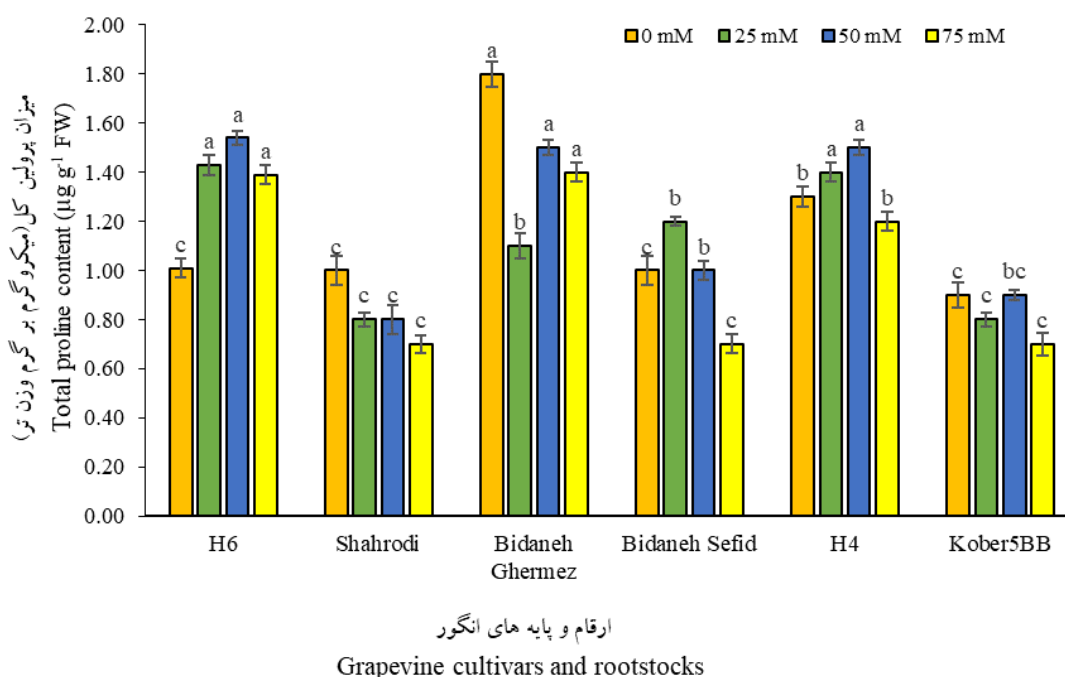
Fig. 6. Salinity × cultivar/rootstock interaction effect on the total protein content under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test. Error bars on columns are ± standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

لیکن علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al.*, 2010) نتایج مشابهی را برای پایه‌های Dogridge، SO4، H-144 و 3309C گزارش کردند.

از آنجایی که پرولین یکی از اسیدهای آمینه فعال در پدیده اسمزی می‌باشد و در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش بسزایی دارد، نکته حائز اهمیت این است که افزایش میزان پرولین آزاد در برگ‌های پایه هیبرید H6، در شرایط تنش شوری، تحمل به تنش شوری بیشتر این پایه را نسبت به سایر ارقام و پایه‌های انگور توجیه می‌کند (شکل ۷). غلظت‌های بالای شوری، که معمولاً غلظت ۵۰ میلی‌مولار به عنوان یک آستانه برای این مطالعات در نظر گرفته می‌شود، مانع از بروز کامل پتانسیل ژنتیکی گیاهان زراعی در فاز اسمتیک می‌شود (Wang *et al.*, 2011). بنابراین ارزیابی گیاهان زراعی و باغی در شرایط حضور نمک کلرور سدیم با غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میلی‌مولار می‌تواند برای تحمل به شوری تعیین کننده باشد. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده توسط وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2011) که بیانگر ارتباط مستقیم بین تغییرات میزان پرولین در سطوح شوری با زمان بود، مطابقت دارد. بر اساس نتایج وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2011) میزان پرولین آزاد در ژنوتیپ‌های انگور متحمل به شوری ۵۹/۲ درصد و در ژنوتیپ‌های حساس ۴۰/۸ درصد بود.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین سطوح تنش شوری برای میزان پرولین کل تفاوت معنی داری وجود نداشت (جدول ۱). بیشترین (۱/۲۱) میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین (۱/۰۲) میکروگرم بر گرم وزن تر) میزان پرولین کل به ترتیب در سطوح ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کمترین میزان پرولین کل (۰/۸۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) مربوط به پایه Kober5BB و رقم شاهرودی و بیشترین آن (۱/۴۵ میکروگرم بر گرم وزن تر) به رقم بیدانه قرمز اختصاص داشت (جدول ۲).

مقایسه میانگین‌ها برای میزان پرولین در ارقام و پایه‌های انگور در شرایط تنش شوری نشان دهنده این بود که ارقام و پایه‌های انگور رفتار متفاوتی در رابطه با تولید پرولین در سطوح تنش شوری داشتند (شکل ۷). به طوری که کاهش در میزان پرولین کل در تیمار ۷۵ میلی‌مولار نمک تقریباً در تمامی ارقام و پایه‌های انگور بجز پایه هیبرید H6 مشاهده شد. تنها پایه هیبرید H6 سطح پرولین کل بیشتری در سطح تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار نمک در مقایسه با سطح بدن تنش شوری (شاهد) داشت و سایر ارقام و پایه‌ها بویژه رقم بیدانه سفید، رقم بیدانه قرمز و پایه Kober5BB کاهش سطح پرولین کل بیشتری نشان دادند (شکل ۷). ارتباط سطح پرولین کل با تحمل به شوری در پایه‌های انگور در پژوهش شوری با نتایج سانگ و همکاران (Song *et al.*, 2006) مغایرت دارد،



شکل ۷- مقایسه میانگین برهمکنش شوری × رقم/ پایه بر میزان پرولین کل در شرایط درون شیشه پس از گذشت شش هفته. ستون‌های با حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی دار ندارند. میله‌های خطا روی ستون‌ها \pm خطای استاندارد می‌باشند. توجه: مقایسه میانگین‌ها برای هر سطح شوری جداگانه انجام شد.

Fig. 7. Salinity \times cultivar/rootstock interaction effect on the total proline content under *in vitro* conditions after six weeks. Columns with at least one letter in common are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test. Error bars on columns are \pm standard errors. Note: Mean comparisons for each salinity level was done separately.

کشاورزی مهم در ایران انگور است، شناسایی ارقام و پایه‌های متحمل به تنش شوری و بررسی آنها، مهمترین اقدام در جهت حفظ این محصول از تنش شوری می‌باشد.

اعمال سطوح تنش شوری در هر شش رقم و پایه انگور نشان داد که شوری خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاه را تحت تأثیر قرار

با توجه به تغییر اقلیم و در نتیجه آن افزایش دما و کاهش منابع آبی، تنش شوری یکی از مهم‌ترین چالش‌های فراروی تولید محصولات کشاورزی از جمله انگور است. بنابراین شناسایی ارقام متحمل به تنش شوری اولین گام در برنامه‌های به نژادی محصولات کشاورزی می‌باشد. با توجه به این که یکی از محصولات

۷۵ میلی مولار مد نظر قرار گرفت، می تواند به عنوان پروتکل مناسبی برای غربال و گزینش مقدماتی ارقام و پایه‌ها برای تحمل به تنش شوری مورد استفاده قرار گیرد. در این رابطه لازم است خصوصیات رشدی شامل رشد طولی شاخه‌چه‌های درون شیشه، توسعه پهنک برگ، فواصل میانگره‌ها و تعداد برگ در طول زمان پس از اعمال تیمارهای تنش شوری مورد بررسی قرار گیرد و در کنار خصوصیات بیوشیمیائی بویژه میزان اضمحلال و کاهش کلروفیل کل به عنوان شاخص‌های کاربردی برای غربال و گزینش ارقام و پایه‌های انگور متحمل به تنش شوری استفاده شوند. در پژوهش حاضر، بر اساس شاخص‌های فوق الذکر، با افزایش غلظت نمک به ۷۵ میلی مولار نه تنها اهداف پژوهش حاضر حاصل شد، بلکه مشخص شد که پایه هیبرید H6 و رقم شاهرودی تحمل بهتری به تنش شوری داشتند. بنابراین پیشنهاد می شود در آینده، یافته‌های پژوهش حاضر در آزمایشات گلدانی و باغی در شرایط خاک‌های شور نیز مورد بررسی تکمیلی و تایید قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان بدینوسیله از کارکنان آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی و همچنین مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه

می‌دهد. ارقام و پایه‌های انگور برای تحمل تنش شوری از سازکارهای متفاوتی بهره می‌گیرد. از سازکارهای مهم و اصلی برای تحمل تنش شوری در انگور می‌توان به افزایش میزان پروتئین کل و ترکیب اسمزی پرولین اشاره کرد. به نظر می‌رسد رقم شاهرودی و پایه هیبرید H6 با استفاده از سازکارهای فوق توانستند آثار سوء تنش شوری بر روی واکنش‌ها و خصوصیت رشدی و بیوشیمیایی و به دنبال آن خصوصیات فیزیولوژیکی خود را در مقایسه با سایر ارقام و پایه‌های انگور مورد بررسی به نحو مطلوب تری محافظت کنند. بررسی خصوصیات بیوشیمیایی نشان داد که تنها روند تغییرات اسموپروتکتانت پرولین در واکنش به تنش شوری اعمال شده کافی نبود، زیرا در مقایسه با شاهد (بدون تنش)، علاوه بر پایه ایرانی H6 و رقم بیدانه قرمز، رقم شاهرودی نیز رشد خوبی در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی مولار کلرور سدیم داشت. درحالی که پایه هیبرید H4 رشد خوبی نسبت به رقم شاهرودی نداشت که می‌تواند بیانگر این فرضیه باشد که پروتئین‌های دیگری در بالا بردن حد آستانه تحمل به تنش شوری ارقام و پایه‌های انگور نقش داشتند.

به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارزیابی درون شیشه ای برای ارقام و پایه‌های انگور با افزایش سطح تنش شوری (نمک کلرور سدیم) با غلظت‌های بالاتر از ۵۰ میلی مولار، که در این پژوهش غلظت

آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران که
امکانات لازم برای انجام این پژوهش را فراهم
کردند، سپاسگزاری می‌کنند.
تعارض منافع
نگارندگان اعلام می‌کنند که هیچگونه
تعارض منافی ندارند.

References

- Alizadeh, M., Singh, S.K. Patel, V.B., Bhattacharya, R.C., and Yadav, B.P. 2010.** *In vitro* responses of grape rootstocks to NaCl. *Biologia Plantarum*, 54, pp.381-385. DOI: 10.1007/s10535-010-0069-0.
- Anonymous. 2019.** National Salinity Research Center. <http://www.insrc.org>.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973.** Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060.
- Bazgeer, S., Behrouzi, M., Nouri, H., Nejatian, M.A. and Akhzari, D. 2022.** Effect of dust on growth and reproductive characteristics of grapevine (*Vitis vinifera*). *International Journal of Horticultural Science & Technology*, 9, pp.301-313. DOI: 10.22059/ijhst.2021.320693.448.
- Bradford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, pp.248-254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999.
- Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C. 2009.** Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103, pp.557-560. DOI: 10.1093/aob/mcn125.
- Doulati Baneh, H., Hassani, A. and Ghani Shaieste, F. 2014.** Effects of salinity on leaf mineral composition and salt injury symptoms of some Iranian wild grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris*) genotypes. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 48, pp.231-235. DOI: 10.20870/oeno-one.2014.48.4.1692.
- FAO. 2020.** Statistics Yearbook. World Food and Agriculture. Food and Agricultural Organization. Rome, Italy. 351 pp.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. and Stavrakas, D. 2001.** Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management*, 51, pp.13-27. DOI: 10.1016/S0378-3774(01)00115-9.
- Heydari Sharifabad, H. 2001.** Salinity and plant. Forests and Rangelands Research Institute Publication. Tehran, Iran. 200 pp. (In Persian).
- Homaei, M. 2002.** Plant responses to salinity. Publication of National Comitee of

- Irrigation and Drainage of Iran. Karaj, Iran. 97 pp. (In Persian).
- Inskip, W.P. and Bloom, P.R. 1985.** Extinction coefficients of chlorophyll a and b in n,n-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiology*, 77, pp.483-485. DOI: 10.1104/pp.77.2.483.
- Jamshidi Goharrizi, K, Amirmahani, F. and Salehi, F. 2020.** Assessment of changes in physiological and biochemical traits in four pistachio rootstocks under drought, salinity and drought + salinity stresses. *Physiologia Plantarum*, 168, pp.973-989. DOI: 10.1111/ppl.13042.
- Kozlowski, T.T. 1997.** Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology*, 17, 490. DOI: 10.1093/treephys/17.7.490.
- Lu, X., Ma, L., Zhang, C., Yan, H., Bao, J., Gong, M., Wang, W., Li, S., Ma, S. and Chen, B. 2022.** Grapevine (*Vitis vinifera*) responses to salt stress and alkali stress: transcriptional and metabolic profiling. *BMC Plant Biology*, 22, 528 DOI: 10.1186/s12870-022-03907-z.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005.** Cold, salinity and drought stresses: An Overview. *Archives of Biophysics*, 444, pp.139-158. DOI: 10.1016/j.abb.2005.10.018.
- Mansouryar, M., Erfani-Moghadam, J., Abdollahi, H. and Salami, S. A. 2016.** Optimization of *in vitro* micropropagation protocol for some vigorous rootstocks of pear. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47, pp.361-370. DOI: 10.22059/ijhs.2016.58537. (In Persian).
- Morton, M.J., Awlia, M., Al Tamimi, N., Saade, S., Pailles, Y., Negrão, S. and Tester, M. 2019.** Salt stress under the scalpel—dissecting the genetics of salt tolerance. *The Plant Journal*, 97, pp.148-163. DOI: 10.1111/tpj.14189.
- Munns, R. and Tester, M. 2008.** Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, pp.51-81. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
- Munns, R., James R. and Lauchli A. 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experiment Botany*, 57, pp.1025-1043. DOI: 10.1093/jxb/erj100.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, pp.473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- Parida, A.K. and Das, A.B. 2005.** Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, pp.324-349. DOI:

10.1016/j.ecoenv.2004.06.010.

- Reisch, B.I., Owens, C. L., and Cousins, P. S. 2012.** Grape. pp. 225–262. In: Badenes, M. L. and Byrne, D. H. (eds.), *Fruit Breeding*. Springer, USA.
- Sivritepe, N. and Eris, A. 1999.** Determination of salt tolerance in some grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) under in vitro conditions. *Turkish Journal of Biology*, 23, pp.473-485.
- Song, J., Ding, X., Feng, G. and Zhang, F. 2006.** Nutritional and osmotic roles of nitrate in a euhalophyte and axerophyte in saline condition. *New Phytologist*, 111, pp.357-366. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01748.x.
- Walker, R.R., Torokfalvy, E., Scott, N.S. and Kriedemann, P.E. 1981.** An analysis of photosynthetic response to salt treatment in *Vitis vinifera*. *Australian Journal of plant physiology*, 8, pp.359-374. DOI: 10.1071/PP9810359.
- Wang, K., Yanxiang, L., Dong, K., Dong, J., Kang, J., Yang, Q., Zhou H., and Sun. Y., 2011.** The effect of NaCl on proline metabolism in saussurea amara seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 10, pp.2886-2893. DOI: 10.5897/AJB10.2269.
- Wang, Z., Tan, W., Yang, D., Zhang, K., Zhao, L., Xie, Z., Xu, T., Zhao, Y., Wang, X., Pan, X. and Zhang, D. 2021.** Mitigation of soil salinization and alkalization by bacterium-induced inhibition of evaporation and salt crystallization. *The Science of The Total Environment*, 755, pp.142511. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142511.
- Zhu. J. K. 2000.** Genetic analysis of plant salt tolerance using Arabidopsis. *Plant Physiology* 124:941-948. DOI: 10.1104/pp.124.3.941.
- Zohouri, M., Abdollahi, H., Arji, I. and Abdossi, V. 2020.** Variations in growth and photosynthetic parameters of some clonal semi-dwarfing and vigorous seedling pear (*Pyrus* spp.) rootstocks in response to deficit irrigation. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 19, pp.105–121. DOI: 10.24326/asphc.2020.2.11.

RESEARCH ARTICLE

Preliminary Evaluation of Salinity Stress Tolerance in Some Grapevine Native Cultivars and Hybrid Rootstocks under *in Vitro* Conditions

**M. Farjad¹, A. Nankali², H. Abdollahi^{3*}, M. Khosroshahli⁴, A. Rezaei^{5*}
and V. Rasouli⁶**

1. Former M. Sc. Student, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Researcher, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
3. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
4. Professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
5. Ph. D. Student, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
6. Assistant Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

ABSTRACT

Farjad, M., Nankali, A., Abdollahi, H., Khosroshahli, M., Rezaei, A. and Rasouli, V. 2023. Preliminary evaluation of salinity stress tolerance in some grapevine native cultivars and hybrid rootstocks under *in vitro* conditions. *Seed and Plant*, 39, pp.175-201 (In Persian).

Considering the extent of grapevine cultivation in arid and semi-arid areas of the world where salinity stress is one of the important environmental stresses that limits grape production in Iran. Therefore, this research was carried out for preliminary evaluation and comparison of the reaction of three grapevine native cultivars; Bidaneh Sefid, Bidaneh Ghermez, Shahroudi and three hybrids H4, H6 and Kober5BB rootstocks in response to salinity stress in Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, in Karaj, Iran, in 2015 -2017. The experiments were conducted as factorial arrangements in completely randomized design with five replications under *in vitro* conditions. The effect of salt was evaluated to identify the most tolerant cultivar/rootstock at four concentration levels of sodium chloride (NaCl); 0 (control), 25, 50 and 75 mM. The results showed significant effect of different salt levels on grapevine cultivars/rootstocks for all vegetative traits including; length of shootlets, number of leaves shootlet⁻¹ and leaf expansion. Most of these traits increased at mild salt stress up to 25 mM. However, at 50 and 75 mM, which are decisive concentrations for tolerance of plant tissues to salinity, the traits showed

significant decreases. According to the vegetative growth characteristics, H6 hybrid rootstock and cv. Shahroudi had relative tolerance to the salinity stress that was confirmed by high preservation of their chlorophyll content, as observed about 2 mg g⁻¹ FW in H6 hybrid rootstock. The total protein and proline contents of leaves showed that the total protein content in all grapevine cultivars and rootstocks followed increasing trend with stress intensity. The proline content had an appropriate association with the higher tolerance level of H6 hybrid rootstock and cv. Shahroudi to 75 mM of sodium chloride.

Key words: Grapevine, Tissue culture, Sodium chloride, Total protein content, Total proline content.

Introduction

Salinity, as one of the abiotic stresses, affects the growth and production of agricultural crops by reducing the osmotic potential and creating osmotic stress, ion toxicity and nutritional imbalance in many regions of the world (Mahajan and Tuteja, 2005). Statistics show that about 1.13 billion hectares of crop plants are affected by salinity-alkaline stress worldwide, which includes about 20% of the total cultivated area in the world (Morton *et al.*, 2019). Grape is known as one of the horticultural crops with high economic value in the world, and its ecological scope for development is very wide. According to the Food and Agriculture Organization of United Nation (FAO), the grape production in 2020 was 78 million tons. The cultivated areas and grape production in Iran are about 230 thousand hectares and 2.5 million tons, respectively, and stands 10th in ranking ladder in the world (FAO, 2020). The majority of grapevine cultivation is in arid or semi-arid areas where soil salinity and alkalization is a matter of serious concern due mainly to low rainfall and high evaporation, though different grapevine cultivars are relatively tolerant to salinity stress environments. This research was carried out with the aim of preliminary evaluation of the morphological characteristics and biochemical attributes contributing to resistance to salt stress of local cultivars and imported and rootstocks of grapevine under *in vitro* conditions.

Materials and Methods

Cultivars and rootstocks used in this research included three Iranian local grapevine cultivars; Shahroudi, Bidaneh Sefid and Bidaneh Ghermez and three rootstocks; two Iranian hybrid rootstocks, H4 (*V. vinifera* cv. Jighjigha × *V. riparia* cv. Gloire), H6 (*V. vinifera* cv. Gharaozum × Kober5BB), and one imported rootstock, Kober5BB (*V. berlandieri* × *V. riparia*). Applied salinity treatments were at four levels of sodium chloride; 0 (control), 25, 50 and 75 mM. Modified MS culture medium (Murashige and Skoog, 1962) enriched with 0.5 mg l⁻¹ BAP was used to cultivate and establish explants.

The experiment was conducted as factorial arrangements in completely randomized design with five replications. The most important traits that were evaluated included; shoot length, number of leaves, leaf area, proline and protein contents. Analysis of variance was performed using SAS software, and Duncan's Multiple Range Test was used for mean comparisons at the 5% probability level. Graphs were made using Microsoft Excel

Results and Discussion

The tallest shootlet length was measured in the non-salinity stress conditions in cv. Bidaneh Sefid, cv. Shahroudi and H6 rootstock, respectively. Also, H4 and Kober5BB rootstocks had lower growth in non-stressed conditions compared with other cultivars and rootstocks. Mean comparison for the effect of salinity stress on morphological trait of leaf number at different levels of salinity stress; 0, 25, 50 and 75 mM, similarly showed that, in the absence of salinity stress, the number of developed leaves shootlet⁻¹ varied from 7 to 12 leaves in H4 and H6 hybrid rootstocks, respectively.

The results of mean comparison for the effects of different salinity stress levels on leaf development showed that at 0 mM salinity level (control), a significant difference was observed between leaf expansion of cultivars and rootstocks. Normally, leaf expansion under *in vitro* conditions is a function of the adaptability of genotype to tissue culture conditions as well as the type and level of growth regulators, the mode of use, and their interaction with internal plant hormones (Mansouryar *et al.*, 2016). Mean comparison showed that with increases in salinity stress levels, the total chlorophyll content decreased in all studied cultivars and rootstocks. According to the results, at 75 mM salt stress in the culture medium, H6 hybrid rootstock, cv. Shahroudi, cv. Bidaneh Sefid and cv. Bidaneh Ghermez, Kober5BB rootstock as well as H4 hybrid rootstocks have the highest total chlorophyll content.

In general, the results of this research showed that the *in vitro* evaluation on grapevine cultivars and rootstocks by increasing the level of sodium chloride (NaCl) with concentrations higher than 50 mM, which in this research 75 mM, as appropriate approach for preliminary evaluation and screening of cultivars and rootstocks for tolerance to salt stress. Therefore, it is necessary to examine several growth characteristics including; length of shootlets grown in *in vitro*, leaf expansion and number of leaves, over time after application of salt stress treatments. Biochemical characteristics, especially the rate of decay and reduction of total chlorophyll, should also be used as useful attribute for screening and selection of tolerant grapevine cultivars and rootstocks to salinity stress. Therefore, in the further researches, it is necessary to confirm these findings, in pot and orchard, conducting experiments in saline soil conditions.

References

- FAO. 2020.** Statistics Yearbook. World Food and Agriculture. Food and Agricultural Organization. Rome, Italy. 351 pp.
- Mahajan, S. and Tuteja, N. 2005.** Cold, salinity and drought stresses: An Overview. *Archives of Biophysics*, 444, pp.139-158. DOI: 10.1016/j.abb.2005.10.018.
- Mansouryar, M., Erfani-Moghadam, J., Abdollahi, H. and Salami, S. A. 2016.** Optimization of *in vitro* micropropagation protocol for some vigorous rootstocks of pear. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47, pp.361-370. DOI: 10.22059/ijhs.2016.58537. (In Persian).
- Morton, M.J., Awlia, M., Al Tamimi, N., Saade, S., Pailles, Y., Negrão, S. and Tester, M. 2019.** Salt stress under the scalpel–dissecting the genetics of salt tolerance. *The Plant Journal*, 97, pp.148-163. DOI: 10.1111/tpj.14189.

*Corresponding author: h.abdollahi@areeo.ac.ir & a.rezaei755@gmail.com Tel.: +982636702541

Received: 06 March 2023

Accepted: 15 June 2023