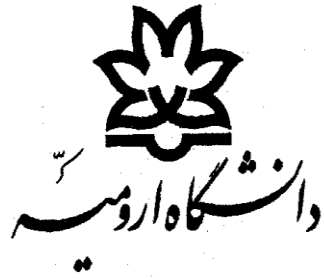


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی - میوه کاری

مطالعه درون شیشه ای خصوصیات فیزیولوژیکی و الگوی پروتئینی

کالوس سه رقم انگور در پاسخ به تنش سرما

تحقیق و نگارش

آیدا کلانترزاده

اساتید راهنما:

دکتر رسول جلیلی مرندی

دکتر بهمن حسینی

استاد مشاور:

دکتر سیامک فلاحي قره گوز

بهمن (۱۳۹۰)

تقدیم به:

دو فرشته مهربان زندگی‌ام: پدر و مادر عزیزم

و خواهران مهربان و برادر بزرگوارم

تقدیر و تشکر

با حمد و ثنا به درگاه ایزد منان، که هر چه هست از لطف و کرم بیکرانه اوست. بر خود لازم می دانم تا از راهنمایی ها و حمایت های استاد راهنمای فرزانه : آقای دکتر رسول جلیلی مرنندی که از هر گونه کمک، راهنمایی و صرف وقت برای اینجانب دریغ نورزیدند و همواره در تمامی مراحل انجام این تحقیق یاریگر من بودند، کمال تشکر و سپاس را داشته باشم. همچنین از استاد راهنمای گرامی آقای دکتر بهمن حسینی که در تمامی مراحل اجرا از راهنمایی ها و الطاف ایشان بهره مند شده ام تشکر و قدر دانی می نمایم.

از استاد مشاور جناب آقای دکتر سیامک فلاحی قره گوز کمال تشکر را دارم. از داور داخلی پای ان نامه جناب آقای دکتر علیرضا فرخزاد که با مطالعه دقیق و راهنمایی های ارزنده به غنای هر چه بهتر پایان نامه کمک نمودند و داور خارجی جناب آقای دکتر بابک عبدالهی که داوری این پایان نامه را قبول کردند کمال تشکر را دارم. جا دارد مراتب سپاس و قدر دانی خود را از آقای دکتر محمد زارع مهرجردی و آقای دکتر حامد دولتی بانه و خانم خدیجه آقایی مسئول آزمایشگاه کشت بافت بجای آورم. همچنین از زحمات دوست عزیزم خانم لیلا آقازاده اقدم که در تمام لحظات انجام پایاننامه یار و همراه من بود و دوست مهربانم خانم لیلا متقی صمیمانه تشکر می کنم. و از کلیه دوستان و همکارانی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نموده اند متشکرم.

چکیده

یکی از مهم ترین اهداف کشت بافت، اصلاح و تولید گیاهان مقاوم به سرما می باشد. آسیب سرمایی، زیان های جبران ناپذیری به گیاهان از جمله انگور وارد می کند. در این آزمایش از گره های ۳ رقم انگور بیدانه سفید، قزل اوزوم و دم روباهی، برای کشت درون شیشه ای در محیط کشت پایه MS تکمیل شده با هورمون های بنزیل آدنین (صفر و ۱ میکرومولار) در ترکیب با نفتالین استیک اسید (۵ و ۱۰ میکرومولار) و بنزیل آدنین (صفر و ۱ میکرومولار) در ترکیب با توفوردی (۵ و ۱۰ میکرومولار) استفاده شد. نصف کالوس ها به مدت ۲۴ روز، در شرایط تاریکی و در دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. سپس غلظت قندهای محلول، پرولین، پروتئین های محلول و درصد وزن خشک در کالوس های تیمار شده (سازگار شده به سرما) و شاهد (سازگار نشده به سرما) اندازه گیری شده و نیز آزمون زنده - مانی در دماهای مختلف یخ زدگی، انجام گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که غلظت ۵ میکرومولار نفتالین استیک اسید در ترکیب با غلظت ۱ میکرومولار بنزیل آدنین، موجب بیشترین القای کالوس شد. ارقام بیدانه سفید و دم - روباهی سازگار شده به سرما، بیشترین میزان قند و رقم قزل اوزوم شاهد، کمترین میزان قند را داشته و نیز رقم بیدانه سفید شاهد، بیشترین و ارقام قزل اوزوم و بیدانه سفید سازگار شده به سرما، کمترین درصد وزن خشک را به خود اختصاص دادند. در تیمار سازگار شده به سرما میزان پروتئین بیشتر از شاهد بود. میان ارقام بررسی شده، بالا - ترین میزان زنده مانی در دماهای یخ زدگی، به ارقام بیدانه سفید و دم روباهی اختصاص یافت.

واژگان کلیدی: انگور، کالوس، سازگاری به سرما، قندهای محلول، پرولین، درصد وزن خشک، پروتئین های محلول و تترازولیوم کلراید

| | |
|---|----|
| فصل اول: مقدمه و کلیات..... | ۱ |
| ۱-۱- مقدمه و هدف..... | ۱ |
| ۲-۱- تاریخچه انگور..... | ۱ |
| ۳-۱- رده بندی و مشخصات گیاه شناسی انگور..... | ۲ |
| ۴-۱- نیازهای اقلیمی انگور..... | ۲ |
| ۵-۱- میزان تولید انگور در جهان..... | ۳ |
| ۶-۱- سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد انگور در ایران..... | ۳ |
| ۷-۱- اهمیت اقتصادی انگور در ایران..... | ۴ |
| ۸-۱- ارزش غذایی انگور..... | ۵ |
| ۹-۱- هدف تحقیق..... | ۶ |
| فصل دوم: بررسی منابع..... | ۷ |
| ۱-۲- کلیات کشت بافت..... | ۷ |
| ۲-۲- انواع مختلف کشت بافت گیاهی..... | ۷ |
| ۳-۲- مطالعه کشت بافت..... | ۸ |
| ۴-۲- اکسین ها..... | ۹ |
| ۵-۲- سایتوکنین ها..... | ۹ |
| ۶-۲- محیط کشت و هورمون های گیاهی در انگور و در گیاهان دیگر..... | ۱۰ |
| ۷-۲- شرایط انکوباسیون..... | ۱۲ |
| ۸-۲- نگهداری کالوس ها..... | ۱۲ |
| ۹-۲- تنش های محیطی..... | ۱۲ |
| ۱۰-۲- انواع تنش ها..... | ۱۳ |
| ۱-۱۰-۲- تنش دمای بالا..... | ۱۳ |

| | |
|---|----|
| ۲-۱۰-۲- تنش دمای پایین..... | ۱۴ |
| ۲-۱۰-۲-۱- سرما زدگی..... | ۱۴ |
| ۲-۱۰-۲-۲- یخ زدگی..... | ۱۵ |
| ۲-۱۰-۳- شیوه‌های ایجاد خسارت سرما و یخ زدگی در سطح سلول..... | ۱۵ |
| ۲-۱۰-۴- مکانیسم مولکولی سازگاری گیاهان نسبت به سرما و مقاومت به یخ زدگی | ۱۷ |
| ۲-۱۰-۴-۱- اجتناب از یخ زدگی..... | ۱۷ |
| ۲-۱۰-۴-۲- تحمل یخ زدگی..... | ۱۸ |
| ۲-۱۰-۵- استفاده از کشت بافت برای مطالعه تحمل به سرما..... | ۱۹ |
| ۲-۱۰-۶- نقش کلسیم در سازگاری گیاهان به سرما..... | ۲۱ |
| ۲-۱۰-۷- فسفوریلاسیون پروتئین..... | ۲۱ |
| ۲-۱۰-۸- نقش ABA در سازگاری گیاهان به سرما..... | ۲۲ |
| ۲-۱۰-۹- نور و دوره نوری..... | ۲۴ |
| ۲-۱۰-۱۰- تغییرات مولکولی در فرآیند سازگاری به سرما..... | ۲۴ |
| ۲-۱۰-۱۱- تغییر در ساختار لیپیدی | ۲۴ |
| ۲-۱۰-۱۲- تغییر در بیان پروتئین‌ها..... | ۲۵ |
| ۲-۱۰-۱۳- تجمع محافظت کننده‌های اسمزی..... | ۲۷ |
| ۲-۱۰-۱۳-۱- محافظت کننده‌های اسمزی بر پایه اسید آمینه..... | ۲۷ |
| ۲-۱۰-۱۳-۲- محافظت کننده‌های اسمزی بر پایه قند..... | ۲۹ |
| ۲-۱۰-۱۴- تولید آنتی اکسیدان‌ها..... | ۲۹ |
| ۲-۱۰-۱۵- سایر عوامل مؤثر بر سازگاری به سرما..... | ۳۰ |
| ۲-۱۰-۱۶- بیان ژن‌ها در طول سازگاری به سرما..... | ۳۰ |
| ۲-۱۰-۱۷- مکانیسم مولکولی تنظیم ژن‌های سازگاری به سرما..... | ۳۱ |

| | |
|--|----|
| ۱۸-۱۰-۲- انتقال سیگنال‌ها..... | ۳۲ |
| ۱۹-۱۰-۲- اثر سرما بر کمیت و کیفیت پروتئین‌ها..... | ۳۳ |
| ۱۱-۲- افزایش زنده ماننی در اثر سازگاری به سرما | ۳۴ |
| فصل سوم: مواد و روش‌ها..... | ۳۵ |
| ۱-۳- مواد گیاهی مورد استفاده..... | ۳۶ |
| ۲-۳- شرایط اقلیمی منطقه نمونه برداری..... | ۳۶ |
| ۳-۳- کشت بافت..... | ۳۶ |
| ۱-۳-۳- ضد عفونی ریزنمونه‌ها..... | ۳۶ |
| ۲-۳-۳- محیط کشت القایی..... | ۳۶ |
| ۳-۳-۳- کشت ریز نمونه‌ها..... | ۳۸ |
| ۴-۳-۳- تیمار سازگاری به سرما..... | ۴۰ |
| ۱-۴-۳-۳- اندازه‌گیری غلظت قندهای محلول..... | ۴۰ |
| ۲-۴-۳-۳- اندازه‌گیری غلظت پرولین..... | ۴۰ |
| ۳-۴-۳-۳- اندازه‌گیری درصد وزن خشک کالوس‌ها..... | ۴۱ |
| ۴-۴-۳-۳- اندازه‌گیری غلظت پروتئین‌های محلول..... | ۴۱ |
| ۵-۳-۳- تیمار یخ زدگی..... | ۴۱ |
| ۱-۵-۳-۳- آزمون تترازولیوم کلراید (TTC)..... | ۴۲ |
| ۴-۳- تجزیه آماری داده‌ها..... | ۴۳ |
| فصل چهارم: نتایج..... | ۴۴ |
| ۱-۴- آزمایش اول: القای کالوس..... | ۴۴ |
| ۲-۴- آزمایش دوم: اندازه‌گیری غلظت قندهای محلول، غلظت پرولین، درصد وزن خشک کالوس و غلظت پروتئین - های محلول در نمونه‌های شاهد و تیمار شده..... | ۴۷ |

| | | |
|----------|---|----|
| ۴۷-۱-۲-۴ | اندازه گیری غلظت قندهای محلول..... | ۴۷ |
| ۴۷-۲-۲-۴ | اندازه گیری غلظت پرولین..... | ۴۷ |
| ۴۸-۳-۲-۴ | اندازه گیری درصد وزن خشک کالوس ها..... | ۴۸ |
| ۴۸-۴-۲-۴ | اندازه گیری غلظت پروتئین های محلول..... | ۴۸ |
| ۳-۴ | آزمایش سوم: ارزیابی میزان تحمل به یخ زدگی در تیمارهای مورد مطالعه با آزمون تترازولیوم کلراید (TTC)..... | ۵۲ |
| ۵۴ | فصل پنجم: بحث..... | ۵۴ |
| ۵۴-۱-۵ | القای کالوس..... | ۵۴ |
| ۵۵-۲-۵ | غلظت قندهای محلول در کالوس..... | ۵۵ |
| ۵۶-۳-۵ | غلظت پرولین در کالوس..... | ۵۶ |
| ۵۷-۴-۵ | درصد وزن خشک کالوس..... | ۵۷ |
| ۵۷-۵-۵ | غلظت پروتئین های محلول..... | ۵۷ |
| ۵۸-۶-۵ | میزان تحمل به یخ زدگی..... | ۵۸ |
| ۶۱-۷-۵ | نتیجه گیری کلی..... | ۶۱ |
| ۶۲-۸-۵ | پیشنهادات برای تحقیقات بعدی..... | ۶۲ |
| ۶۳ | منابع..... | ۶۳ |
| ۷۵ | ضمائم..... | ۷۵ |

- جدول ۱-۱- میزان تولید انگور در جهان..... ۳
- جدول ۱-۳- ترکیبات محیط کشت MS برای تهیه یک لیتر محیط کشت..... ۳۷
- جدول ۱-۴- جدول تجزیه واریانس تأثیر رقم و تنظیم کننده‌های رشد بر درصد القای کالوس..... ۴۵
- جدول ۲-۴- جدول تجزیه واریانس تأثیر رقم و تیمار سازگاری به سرما بر غلظت قندهای محلول، غلظت پرولین، درصد وزن خشک کالوس و غلظت پروتئین‌های محلول در کالوس ۳ رقم انگور..... ۴۹

- نمودار ۴-۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنظیم کننده‌های رشد NAA یا BA × 2,4-D (B×C) بر درصد القای کالوس ۳ رقم انگور..... ۴۶
- نمودار ۴-۲- برش دهی اثرات متقابل تنظیم کننده‌های رشد NAA یا BA × 2,4-D (B×C) بر درصد القای کالوس ۳ رقم انگور..... ۴۶
- نمودار ۴-۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و تیمار سازگاری به سرما (AxB) بر غلظت قندهای محلول کالوس ۳ رقم انگور..... ۵۰
- نمودار ۴-۴- مقایسه میانگین برش دهی اثر متقابل تیمار سازگاری به سرما و رقم بر غلظت قند های محلول کالوس ۳ رقم انگور..... ۵۰
- نمودار ۴-۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و تیمار سازگاری به سرما (AxB) بر درصد وزن خشک کالوس ۳ رقم انگور..... ۵۱
- نمودار ۴-۶- مقایسه میانگین برش دهی اثر متقابل تیمار سازگاری به سرما و رقم در درصد ماده خشک کالوس ۳ رقم انگور..... ۵۱
- نمودار ۴-۷- نمودار مقایسه میانگین تیمار سازگاری به سرما در غلظت پروتئین های محلول در کالوس ۳ رقم انگور..... ۵۲
- نمودار ۴-۸- روند تغییرات برآورد آزمون تترازولیوم کلراید از زنده مانی در کالوس های سازگار شده به سرما در طول ۲۴ روز در پاسخ به درجه حرارت های پایین..... ۵۳

شکل ۳-۱- ریز نمونه‌های گره کشت شده در محیط های کشت MS تکمیل شده با هورمون های نفتالین استیک اسید (۵ و ۱۰ میکرومولار) و بنزیل آدنین (صفر و ۱ میکرومولار)، هورمون های توفوردی (۵ و ۱۰ میکرومولار) و بنزیل آدنین (صفر و ۱ میکرومولار)..... ۳۸

شکل ۳-۲- کالوس تولید شده در واگشت سوم در محیط کشت MS تکمیل شده با هورمون های توفوردی ۵ میکرومولار و بنزیل آدنین ۱ میکرومولار..... ۳۹

شکل ۳-۳- تقسیم کالوس ها در واگشت چهارم برای رشد و تکثیر بیشتر..... ۳۹

| | |
|---|----|
| تکنیک الکتروفورز: | ۷۰ |
| الکتروفورز ژل اکریل آمید: | ۷۱ |
| الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS- PAGE): | ۷۱ |
| آماده سازی نمونه پروتئين به منظور الکتروفورز: | ۷۲ |
| ترکیبات بافر استخراج پروتئين: | ۷۳ |
| تهیه بافر استخراج پروتئين: | ۷۴ |
| ترکیبات بافر نمونه: | ۷۴ |
| تهیه بافر نمونه: | ۷۵ |
| الکتروفورز پروتئين ها: | ۷۵ |
| محلولها: | ۷۷ |
| بافر ژل جدا کننده ذخیره (تریس اسید کلریدریکی ۳ مولار با pH ۸/۸) (محلول B): | ۷۷ |
| بافر ژل متراکم کننده ذخیره (تریس اسید کلریدریکی ۰/۵ مولار با pH ۶/۸) (محلول C): | ۷۷ |
| محلول ذخیره SDS ۱۰٪ (w/v) (محلول D): | ۷۷ |
| محلول ذخیره SDS ۱۰ (w/v) (محلول D'): | ۷۸ |
| محلول پرسولفات آمونیم ۱٪ (w/v) (محلول E): | ۷۸ |
| محلول تمدد (TEMED): | ۷۸ |
| محلول ایزوبوتانول اشباع شده از آب: | ۷۸ |
| بافر تانک الکتروفورز (بافر الکترولیت) (تریس ۰/۰۲۵ مولار و گلايسين ۰/۱۹۲ مولار و SDS ۰/۱٪ با ۸/۳ | |
| pH: | ۷۹ |
| محلول رنگ آمیزی کوماسی بریلیانت بلو: | ۷۹ |
| محلول رنگبر: | ۷۹ |

| | |
|---------|---|
| ۸۰..... | طرز تهیه ژل صفحه ای عمودی..... |
| ۸۲..... | الکتروفورز پروتئین ها..... |
| ۸۴..... | رنگ آمیزی پروتئین ها و رنگ بری از ژل..... |
| ۸۴..... | روش رنگ آمیزی با کومایسی بلو..... |
| ۸۴..... | رنگ بری ژل..... |

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه و هدف

انگور یکی از مهمترین گیاهان باغی به شمار می آید که کشت آن از دیر باز متداول بوده و نقش تعیین کننده‌ای در اقتصاد کشاورزی کشورهای تولید کننده بازی می کند (Winkler et al., 1974). انگور از گیاهان مناطق معتدله گرم بوده و در مناطق سرد سیر و کوهستانی، خسارت‌های جبران ناپذیری به انگور وارد می - شود. به همین دلیل اصلاح گران دنبال راهی هستند تا ارقام مقاوم را شناسایی کرده و با انتقال ژن مقاومت و تولید گیاهان مقاوم و بکارگیری آنها در مناطق سرد سیر، این مشکل را رفع کنند. گیاهان مقاوم در برابر تنش سرما اغلب قندهای محلول، پروتئین و پرولین بیشتری نسبت به ارقام حساس دارند. در این تحقیق سعی شده القای کالوس از گره‌های انگور، با هورمون‌های مختلف انجام شود و غلظت قندهای محلول، پرولین، درصد وزن خشک کالوس و پروتئین‌های محلول قبل و بعد از تیمار سازگاری با سرما اندازه گیری شود و الگوی پروتئینی کالوس ارقام با هم مقایسه گردد و درصد زنده‌مانی در کالوس ۳ رقم انگور (بیدانه سفید، دم روباهی و قزل اوزوم) در دماهای یخ زدگی ارزیابی شود و رقم یا ارقام متحمل مشخص گردد.

۱-۲- تاریخچه انگور

انگور یکی از مهمترین میوه‌هایی است که از زمان‌های کهن پرورش داده می شود. در مناطقی که تمدن اولیه بشری موجود بوده است (مناطق بین دریای سیاه و دریای خزر) انگور به صورت وحشی در جنگل‌ها رشد کرده است. این مناطق به جهت مشخص کردن مناطق اولیه پیدایش انگور های دنیای قدیم برای گیاه شناسان قابل توجه می باشد. از مناطق اولیه پیدایش انگور در خاور نزدیک، اطراف دریای مدیترانه می باشد. در سرتاسر جهان، حدود ۵۰ هزار رقم برای انگور شناسایی شده است (تفضلی و همکاران، ۱۳۷۳). ایران از کشور-

های عمده تولید کننده انگور و کشمش در دنیا به حساب می آید. مناطق عمده تولید انگور در کشورمان شامل استان های خراسان، قزوین، همدان، آذربایجان غربی و شرقی، فارس و زنجان می باشد (جلیلی مرندی، ۱۳۸۴).

۱-۳- رده بندی و مشخصات گیاه شناسی انگور

بوته انگور به لحاظ گیاه شناسی از خانواده ویتاسه^۱ بوده که حاوی ۱۰ جنس می باشد و اغلب ارقام تجاری انگور در جنس ویتیس^۲ قرار دارند و جنس ویتیس تنها جنس مناسب از لحاظ اقتصادی و خوراکی است که دارای دو زیر جنس موسکادینا با $2n=40$ و ائوویتیس $2n=38$ می باشد (جلیلی مرندی، ۱۳۸۴) و چندین گونه مهم از جمله ویتیس وینیفرا^۳ یا انگور های اروپایی، ویتیس آمورنسیس^۴ یا انگور های آسیایی و انگور های آمریکایی مانند ویتیس ریپاریا^۵ و ویتیس لبروسکا^۶ می باشد. انگور های مورد کشت و کار در ایران از نوع انگور - های اروپایی وینیفرا می باشند (جلیلی مرندی، ۱۳۸۴؛ Hulme, 1970).

انگور درختچه ای خزاندار، بندرت همیشه سبز و بالارونده، دارای پیچک با مغز ساقه قهوه ای است که در محل بندها بوسیله دیافراگم قطع گردیده و دارای برگ های ساده، دنداندار معمولاً کنگره ای بندرت مرکب پنجه ای، گل های کامل و میوه از نوع سته می باشد (رسول زادگان، ۱۳۷۵).

از ارقام تجاری انگور که در ایران پرورش داده می شوند، شامل انگور بیدانه سفید، بیدانه قرمز، صاحبی، فخری، ریش بابا (پیکانی)، عسکری، یاقوتی قرمز، شاهانی سفید و سیاه، حسینی، لعل بیدانه، شیرازی و قزل اوزوم می باشد (جلیلی مرندی، ۱۳۸۴).

۱-۴- نیازهای اقلیمی انگور

انگور از گیاهان مناطق معتدله گرم بوده و سرما های شدید زمستان را تحمل نمی کند. پراکنش انگور در نیمه شمالی بین ۲۰-۵۲ درجه و در نیمکره جنوبی بین ۲۰-۴۰ درجه می باشد. در مناطقی که انگور پرورش داده می شود، میانگین دمای سالانه نباید از ۹ درجه سانتی گراد کمتر باشد. حداقل دما (صفر گیاهی) برای

-
- 1- Vitaceae
 - 2- Vitis
 - 3- Vitis vinifera
 - 4- V.amuransis
 - 5- V. riparia
 - 6- V. labrusca

رشد شاخه‌های انگور ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. بوته‌های انگور در طی فصل رشد حداقل به ۱۳۰۰ ساعت طول روز نیازمند می‌باشند. میزان نیاز سرمایی جوانه‌های انگور در دوره خواب نسبت به ارقام مختلف انگور ۱۰۰-۳۵۰ ساعت زیر ۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (جلیلی مرندي، ۱۳۸۴).

۱-۵- میزان تولید انگور در جهان

اروپا با ۴۹/۷ درصد و آسیا با ۲۲/۷ درصد بیشترین سهم تولید انگور دنیا را دارند و در بین کشورهای تولیدکننده، ایتالیا دارای بیشترین سهم است. در ایران استان خراسان در جایگاه اول یا دوم تولید این محصول قرار دارد (مهماندوست و همکاران، ۱۳۸۷). براساس آمار سازمان خوار و بار جهانی، ایران با تولید حدود ۱۸۷۶۸۵۰ تن در رتبه دهم دنیا جای دارد (FAO, 2009). تولید انگور در ده کشور عمده تولید کننده انگور در سطح جهان نشان داده شده است (FAO, 2009).

جدول ۱-۱- میزان تولید انگور در جهان (فائو، ۲۰۰۹)

| رتبه | کشور | تولید (تن) |
|------|--------------|------------|
| ۱ | ایتالیا | ۸۲۴۲۵۰۰ |
| ۲ | چین | ۸۰۳۹۰۹۱ |
| ۳ | ایالات متحده | ۶۴۱۱۶۶۰ |
| ۴ | فرانسه | ۶۱۰۱۶۲۰ |
| ۵ | اسپانیا | ۵۵۷۳۴۰۰ |
| ۶ | ترکیه | ۴۲۶۴۷۲۰ |
| ۷ | شیلی | ۲۵۰۰۰۰۰ |
| ۸ | آرژانتین | ۲۱۸۴۶۱۰ |
| ۹ | هند | ۱۸۸۷۰۰۰ |
| ۱۰ | ایران | ۱۸۷۶۸۵۰ |

۱-۶- سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد انگور در ایران

سطح زیر کشت تاکستان‌های کشور در سال ۱۳۸۷ با احتساب درختان پراکنده حدود ۳۰۲ هزار هکتار بوده که ۹۲/۱ درصد آن درختان بارور انگور می‌باشد و ۲۰۱ هزار هکتار معادل ۷۲/۳ درصد، سطح بارور تاکستان‌های آبی کشور است. استان فارس با سهم ۲۰/۸ درصد از سطح بارور تاکستان‌های کشور، در جایگاه

نخست قرار دارد. استان‌های خراسان رضوی، قزوین، آذربایجان غربی، زنجان، همدان و آذربایجان شرقی به ترتیب با ۱۲/۲، ۱۱/۲، ۷/۴، ۷، ۶/۱ و ۵/۹ درصد سهم در سطح بارور انگور کشور در رتبه های بعدی قرار گرفته اند. در مجموع ۷۰/۵ درصد سطح بارور انگور کشور در این هفت استان می باشد و سایر استان ها ۲۹/۵ درصد سطح بارور انگور را داشته اند. تولید انگور کشور حدود ۱/۷ میلیون تن بوده که ۹۱/۹ درصد آن از کشت آبی حاصل شده است. استان قزوین علیرغم رتبه سوم در سطح بارور با ۱۴/۵ درصد تولید انگور کشور، در جایگاه نخست تولید کنندگان این محصول قرار دارد و استان آذربایجان شرقی علیرغم رتبه هفتم در سطح بارور، از نظر تولید با سهم ۱۳/۳ درصد در جایگاه دوم تولیدکنندگان انگور قرار گرفته است. استان‌های فارس، زنجان و همدان به ترتیب با ۱۲، ۹/۷ و ۸/۵ درصد از تولید انگور کشور در مقام سوم تا پنجم قرار دارند. پنج استان مذکور جمعاً بیش از نیمی (۵۷/۹ درصد) از انگور کشور را تولید نموده اند. متوسط میزان تولید در هکتار انگور آبی کشور، ۷۹۶۰ کیلوگرم می باشد که بالاترین راندمان تولید آبی، ۳۰۶۳۵/۹ کیلوگرم در هکتار متعلق به استان کهگیلویه و بویراحمد و کمترین آن ۳۳۲۹/۲ کیلوگرم متعلق به استان خراسان شمالی می باشد. متوسط تولید یک هکتار انگور دیم کشور، ۱۸۳۲/۲ کیلوگرم بوده است که بیشترین و کمترین عملکرد دیم به ترتیب با ۱۲۱۹۵/۸ و ۳۶۴/۷ کیلوگرم تولید در هکتار به استان‌های گیلان و خراسان رضوی تعلق دارد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۷).

با توجه به آمار و ارقام مشخص می شود که در ایران توانایی تولید بالاست و باید در جهت بهبود وضعیت موجود، کارهای اصلاحی انجام شود و با استفاده از تکنیک‌های جدید به بالا بردن عملکرد در واحد سطح، بالا بردن کیفیت انگورها، شناسایی ارقام قابل کشت در مناطقی سردسیر پرداخته شود.

۷-۱- اهمیت اقتصادی انگور در ایران

ایران به علت برخورداری از شرایط جغرافیایی و اقلیمی مناسب، یکی از مهمترین مناطق کشت و پرورش انگور در جهان به شمار می آید. از تولید کل انگور ایران قسمتی به صورت تازه خوری و قسمتی جهت تهیه کشمش و تولید آب انگور و الکل مصرف می گردد.

۱-۸- ارزش غذایی انگور

انگور دارای ارزش اقتصادی بالایی می باشد. انگور غنی از ویتامین ها و مواد معدنی است. ویتامین های A، B₁، B₂ و C در انگور وجود دارند (Clark *et al.*, 1993). اسیدهای آلی موجود در انگور شامل اسید تارتاریک، اسید سیتریک، اسید مالیک و اسید فرمیک می باشد که اسید تارتاریک، اسید غالب در انگور می باشد. مواد قندی موجود در انگور شامل ساکارز، گلوکز و دکستروز می باشد.

انگور علاوه بر ارزش غذایی، خواص دارویی متعددی نیز دارد. انگور دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی می باشد که نقش مهمی در جلوگیری از بیماری های قلبی و عروقی دارند (Ariga, 2004). خاصیت قلبیایی موجود در انگور باعث قلبیایی شدن خون می شود و به علت دارا بودن آهن فراوان برای درمان کم خونی موثر است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۷).

کشور ایران با توجه به موقعیت جغرافیایی و اقلیمی با تنش های مختلفی از جمله خشکی و سرما گریبان گیر است و در تقسیم بندی اقلیمی مشخص شده است که ۶۳/۵ درصد از مساحت کشور ما دارای اقلیم سرد می باشد (خلیلی و همکاران، ۱۳۷۰). در مناطق سردسیر و از جمله آذربایجان، سرمای زمستان در برخی از سال ها به انگور خسارت جبران پذیری وارد می کند و گسترش آن را در مناطقی که سرمای شدیدی دارند، محدود می کند، لذا یکی از مشکلات عمده در این مناطق، دما های پایین در زمستان است که در برخی از سال ها به ۱۵- تا ۲۰- درجه سانتی گراد نیز می رسد (رسول زادگان، ۱۳۷۰).

روش های مرسوم اصلاح نباتات براساس انتخاب و دورگ گیری استوار بوده و مستلزم زمان، هزینه و نیروی کار زیادی می باشد و از پیشرفت کمی نیز برخوردار است. لذا مکمل نمودن آنها با روش های کشت بافت گیاهی، موجب کوتاه نمودن دوره اصلاحی، کاهش هزینه و حجم کار می شود. کشت بافت گیاهی یکی از روش های امید بخش در آزمایش های زیست شناسی است. از کشت بافت بعنوان ابزاری برای مطالعه مشکلات اساسی نه تنها در فیزیولوژیکی گیاهی، بیولوژی سلولی و ژنتیکی استفاده می شود، بلکه در کشاورزی، باغبانی و صنعت هم مورد استفاده قرار می گیرد. این روش در مقایسه با روش های اصلاحی سنتی، فواید زیادی دارد. مهم ترین آن حذف محدودیت های فصلی و انجام آزمایشات تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی می باشد که این امر موجب کوتاهی دوره اصلاحی و نیز بالا رفتن دقت آزمایشات می شود (Tabaei- Aghdaei, 1992).

۹-۱- هدف تحقیق

در این تحقیق نخستین هدف این بود که کدام ترکیب هورمونی و با چه غلظت هایی باعث تولید کالوس بهتر و بیشتر در ارقام انگور بیدانه سفید، دم روباهی و قرل اوزوم می شود. دومین هدف بررسی غلظت قندهای محلول، بیولین، درصد وزن خشک کالوس و پروتئین های محلول ۳ رقم انگور ذکر شده، قبل و بعد از تیمار سازگاری به سرما می باشد. سومین هدف بررسی این مسأله بود که آیا در کالوس های ارقام مورد مطالعه، از لحاظ الگوی پروتئینی قبل و بعد از تیمار سازگاری به سرما تفاوت وجود دارد؟ چهارمین هدف اینکه زنده مانی ۳ رقم ذکر شده پس از اعمال دماهای یخ زدگی در فریزر ترموگرادیان به چه صورت است؟