مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۱ صفحه‌های ۱۲۹ تا ۱۴۴ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

انگیزش چندگانی و ارزیابی اثرات مورفوفیزیولوژیکی آن در انگور رقم عسکری

Polyploidy Induction and Assessing Its Morpho-Physiological effects' in 'Askari' Grapevine

زهرا عطایی، علی قرقانی*، سعید عشقی
بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (agharghani@shirazu.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۲۷

چکیده

چندگان موجودات زنده‌ای می‌باشند که بیش از دو سری کروموزوم هاپلوئید داشته و از جداشدن غیرطبیعی کروموزوم‌ها در طول تقسیم سلولی به‌دست آمده‌اند. از چندگانی به عنوان یک روش به‌نژادی برای بهبود ویژگی‌های رویشی و زایشی با افزایش مقدار ژنوم هسته در محصولات کشاورزی استفاده میشود. به منظور تعیین بهترین غلظت اوریزالین برای القای چندگانی در انگور رقم عسگری و بررسی تغییرات مورفوفیزیولوژیک ناشی از آن، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار،شامل سه غلظت صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومول اوریزالین انجام شد. اعمال تیمار اوریزالین با روش آغشته نمودن جوانه‌ها توسط گلوله پنبه‌ای در زمان تغییر رنگ جوانه‌ها و قبل از شکفتن آنها انجام شد. گیاهان چندگان با استفاده از آنالیز فلوسایتومتری و سپس شمارش کروموزومی مشخص شدند. نتایج نشان داد که غلظت ۶۰ میکرومول اوریزالین در ایجاد چندگانی مؤثرتر از ۳۰ میکرومول بود (۱۱/۶۶ درصد در برابر ۳/۶۶ درصد القای چندگانی). مقایسه گیاهان دوگان مادری و چهارگان القایی نشان داد که رشد ساقه در گیاهان دوگان بیش‌تر از چهارگان بود، در حالی که طول، عرض و سطح برگ، میزان کلروفیل و کاروتنوئید در گیاهان چهارگان بالاتر از گیاهان دوگان بود. تراکم روزنه در گیاهان چهارگان کم‌تر (۲۶/۱ در برابر ۱۵/۳۳در میلی متر مربع، به ترتیب در گیاهان دوگان و چهارگان) ولی ابعاد روزنه آنها بزرگ‌تر بود (طول روزنه در گیاهان دوگان ۲/۲۶ و چهارگان ۳/۸۲ میکرومتر و عرض روزنه در گیاهان دوگان ۱/۵۱ و چهارگان ۳/۶۷ میکرومتر بود). قندهای محلول و نشاسته برگ در گیاهان دوگان و چهارگان اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند، ولی فنول کل، در گیاهان دوگان حدود ۱۰ درصد بالاتر از چهارگان بود. بنابراین از ماده ضد میتوزی اوریزالین می‌توان برای القای چندگانی و بهبود برخی خصوصیات ریخت شناسی انگور عسکری استفاده کرد. البته برای اظهار نظر قطعی لازم است ارزیابی های تکمیلی بر بروی صفات تاک و میوه انواع چندگان انجام شود.

واژه‌های کلید : اوریزالین، تراکم روزنه، ضد میتوزی، فلوسایتومتری.

مقدمه

چندگانی به دو نوع خودچندگان و دگرچندگان تقسیم می‌شود. در خودچندگانی، کروموزوم‌ها دو برابر می‌شوند، ولی از هم جدا نشده و نتیجه آن دو برابر شدن تعداد مجموعه کروموزومی اولیه است (Kondorosi *et al.*, 2000). گیاهان دگرچندگان از

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

دورگه‌گیری بین گونه‌ای و بعد دو برابر شدن ژنوم‌های غیرهومولوگ به وجود می‌آیند و نسل حاصل دارای مجموع کروموزوم‌های کاهش نیافته هر دو والد خواهند بود (Otto & Whitton, 2000). به طور کلی چندگانی یک ناهنجاری محسوب می‌شود، با این حال چندگانی با افزایش اندازه سلول‌ها و بافت‌های گیاهی، می‌تواند سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان شود. از این‌رو انتظار می‌رود این گیاهان از نظر تولید مثلی با گیاهان دوگان تفاوت‌هایی داشته باشند (Levin *et al.*, 2002).

انگیزش چندگانی مصنوعی در گیاهان به روش‌های متفاوتی از جمله تیمار بذر (Kuang *et al.*, 2004)، ریشه (Taira *et al.*, 1991)، گیاهان و اندام‌های حاصل از کشت بافت (Gao *et al.*, 2002)، تیمار جوانه گل (Wu *et al.*, 2007) و مریستم انتهایی (Saharkhiz, 2006) انجام می‌گیرد. انتخاب بهترین روش و ماده تیمارکننده جهت انگیزش چندگانی در گیاهان بسته به گونه گیاهی متغیر است. برای تعیین سطح پلوئیدی از روش‌های مستقیم، نظیر شمارش کروموزوم‌ها و فلوسایتومتری و همچنین روش‌های غیرمستقیم، مانند مشاهده خصوصیات مورفولوژیکی نظیر تراکم و اندازه‌گیری طول و عرض سلول‌های روزنه استفاده می‌شود (Sari *et al.*, 1999). تعیین میزان کلروفیل نیز به‌عنوان ابزاری به‌منظور تشخیص سطوح پلوئیدی در گونه‌های مختلف با میزان موفقیت‌های متفاوت همراه بوده است (Mathura *et al.*, 2006).

امروزه انگیزش چندگانی با استفاده از مواد شیمیایی جهش‌زا، به‌عنوان یکی از روش‌های به نژادی گیاهان به‌منظور افزایش قابلیت تولید مورد استفاده قرار می‌گیرد (Barow *et al.*, 2003). انگیزش چندگانی مصنوعی به‌طور موفقیت‌آمیزی در برنامه‌های به‌نژادی بسیاری از گونه‌های گیاهی به‌منظور امکان تولید ارقام برتر و باکیفیت و همچنین مقاوم به تنش‌های زنده و غیرزنده انجام شده است (Rodríguez *et al.*, 2001). گیاهان چندگان نسبت به انواع دوگان، اغلب فنوتیپ جدیدی را نشان می‌دهند و از محدوده اجداد دوگان خود در ویژگی‌هایی نظیر افزایش مقاومت به خشکی، شوری، آفات، بیماری‌ها، آپومیکسی، افزایش زیست‌توده و تغییر در کیفیت و غلظت ترکیبات فعال گیاهی فراتر رفته و در نتیجه این عمل، احتمال گزینش آنها به عنوان ارقام جدید، افزایش می‌یابد. در کنار مزایای این روش، چندگانی می‌تواند معایبی از جمله طولانی شدن تقسیم سلولی، افزایش حجم هسته، افزایش شمار کروموزوم‌های تفکیک‌شده در طول میوز و عدم تعادل ژنتیکی را به همراه داشته باشد (Otto & Whitton, 2000). همچنین گزارش شده است که گیاهان چهارگان نسبت به گیاهان طبیعی دوگان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌ویژه گرما مقاوم‌تر هستند (Zhang *et al.*, 2010). گیاهان چندگان به علت سری کروموزوم‌های اضافه‌شده، دارای سلول‌های بزرگ‌تری هستند (Lavania, 2005). همچنین رشد و حجیم شدن اندام‌های مختلف گیاهی نظیر کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها، پرچم‌ها و بذور پس از انگیزش چندگانی ثابت شده است (Thao, 2003).

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* L.، متعلق به خانواده Vitaceae، یکی از مهم‌ترین محصولات باغی در دنیا و ایران به شمار می‌رود. ایران سالانه با تولید بیش از ۳ میلیون و ۴۰۰ هزار تن انگور، از سطح زیر کشت معادل ۳۰۰ هزار هکتار (۲۳۰ هزار هکتار آبی و ۷۰ هزار هکتار دیم)، برخوردار بوده و جایگاه هفتم تولید این محصول و جایگاه سوم جهان در تولید کشمش را به خود اختصاص داده است (آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، ۱۴۰۰). استان‌های فارس، قزوین، خراسان رضوی، آذربایجان غربی، همدان، آذربایجان شرقی، کردستان، خراسان شمالی، مرکزی و زنجان به ترتیب مهم‌ترین استان‌های انگورخیز کشور هستند. ارقام 'بیدانه سفید'، 'بیدانه قرمز'، 'عسکری'، 'صاحبی'، 'یاقوتی'، 'شاهرودی'، 'شاهانی'، و 'سیاه شیراز' مهم‌ترین ارقام انگور در ایران می‌باشند (Tafazoli *et al.*, 1991). ارقام تجاری انگور به خصوص ارقام ایرانی، دارای نقاط ضعفی مانند، کمیت و کیفیت پایین خوشه و حبه و حساسیت به بیماری و آفات هستند. از طرف دیگر روش‌های به نژادی متداول در انگور، به‌دلیل دوره نونهالی نسبتاً طولانی و هتروزیگوسیتی بالا، با محدودیت‌هایی مواجه است. لذا اصلاح انگور از طریق انگیزش چندگانی در چند دهه اخیر مورد توجه اصلاحگران این محصول قرار گرفته است.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

بیش‌تر جهش یافته‌های شناخته شده چهارگان انگور، به‌صورت خود به خودی به وجود آمده‌اند (Golodriga *et al.*, 1970). به نژادی انگور از طریق خودچهارگانی، اولین بار توسط Iyer (1965) ارائه شد. انگورهای خودچهارگان شده در مقایسه با ارقام دوگان دارای حبه درشت‌تر بودند. در پژوهشی انگیزش چندگانی چهار رقم انگور از طریق تیمار بذرها با کلشی‌سین گزارش شده است. نتایج نشان داده که گیاهان انگور چهارگان، در مقایسه با دوگان دارای اندازه خوشه و حبه بزرگ‌تر، دوره رویشی کم‌تر و تشکیل میوه بیش‌تر بودند. همچنین افزایش سطوح پلوئیدی باعث افزایش تجمع ترکیبات کربوهیدراتی در میوه‌ها شده است (Kuliev, 2011). در پژوهشی دیگر توسط Okamoto و همکاران (2002) دو رقم انگور چهارگان ‘با دو رقم انگور دوگان از نظر برخی ویژگی‌های زایشی با یکدیگر مقایسه شدند. بررسی آن‌ها نشان داد که رشد تخمدان و لوله گرده در ارقام چهارگان نسبت به دوگان سریع‌تر است. در پژوهشی دیگر، کاربرد کلشی‌سین در انگیزش خودچهارگانی در سه رقم انگور مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که ارقام چهارگان دارای اندازه سلول‌های روزنه‌ای بزرگ‌تر، قطر ساقه و مساحت سطح برگ بالاتر و طول ریشه کوتاه‌تر بودند. شاخه‌های ارقام چهارگان نسبت به دوگان کوتاه‌تر بودند (Motosugi *et al.*, 2002).

در پژوهشی، Rasouli (2012) نشان داد که گیاهان چهارگان انگور یاقوتی حاصل از تیمار کلشی‌سین به طور معنی‌داری دارای عملکرد میوه، طول و عرض حبه و طول و قطر خوشه بالاتری بودند و همچنین طول زمان رسیدن میوه در این گیاهان کاهش یافت. با این حال میزان اسیدیته میوه‌ها، مواد جامد محلول و محتوای اسید کل، تحت تأثیر سطوح پلوئیدی قرار نگرفت. در گزارشی تیمار کلشی‌سین ۰/۲ درصد با ۲۵ درصد چندگانی به عنوان موثرترین تیمار بر جنین‌های رویشی انگور گزارش شد. از طرفی درصد زنده‌مانی جنین‌های رویشی تحت تیمار کلشی‌سین نسبت به شاهد کاهش یافت و در ارزیابی گیاهان بقاء یافته، هیچ مورد شیمر و میکسوپلوئید در ارزیابی با روش فلوسایتومتری مشاهده نشد (Acanda *et al*, 2015). در گزارشی دیگر، کلشی‌سین در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت یک روز بهترین تیمار در جنین‌های کشت شده در شرایط درون‌شیشه‌ای (در مرحله کروی شکل)، حاصل از سلول‌های تخم نابالغ انتخاب شد که با بررسی پارامترهای تعداد کروموزوم، تعداد روزنه در واحد سطح و نیز روش فلوسایتومتری، برآورد شد که تیمارهای کلشی‌سین نسبت به شاهد باعث کاهش پتانسیل جنین‌زایی و زنده‌مانی جنین‌ها شده است (Yang *et al.*, 2006).

رقم عسکری از مهم‌ترین رقم‌های انگور در ایران، به خصوص در استان فارس است. این رقم بیش‌تر مصرف تازه خوری دارد ولی به‌صورت کشمش نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. رقم عسکری به خاطر بیدانگی، دارای اندازه حبه نسبتاً کوچکی است و به دلیل داشتن پوست نازک، از نظر حمل و نقل و ماندگاری با چالش جدی مواجه است (Tafazoli *et al.*, 1991). از طرف دیگر، تغییرات اقلیمی، تاکستان های وسیع این رقم را در مناطق گرم و خشک جنوب کشور به طور جدی مورد تهدید قرار داده است. انگیزش چندگانی می‌تواند به‌عنوان یک راهکار جهت افزایش عملکرد کمی و کیفی خوشه و حبه‌ها و همچنین افزایش سازگاری این رقم در برابر تغییرات اقلیمی ناشی از گرم شدن جهانی در نظر گرفته شود. بنابراین در این پژوهش بررسی امکان انگیزش چندگانی در انگور رقم عسکری با استفاده از اوریزالین و تعیین بهترین غلظت آن برای انگیزش چندگانی و همچنین بررسی مقدماتی واکنش‌های مورفولوژیکی و ویژگی‌های بیوشیمیایی این رقم تحت تاثیر غلظت های مختلف اوریزالین مورد توجه قرار گرفت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این آزمایش از قلمه‌های دارای ۳ جوانه رقم انگور عسکری استفاده شد که از یک باغ تجاری در بخش بیضای شهرستان سپیدان برداشت شدند. قلمه ها قبل از تیمار در بستر کاشت ماسه جهت ریشه زایی کشت شدند.

تیمارها

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار در غلظت های صفر، ۳۰ و ۶۰ میکرومول اوریزالین (تولیدی شرکت مرک، آلمان) و سه تکرار و ۲۰ قلمه در هر تکرار در محل گلخانه پژوهشی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. دمای گلخانه در طول دوره آزمایش ۳± ۲۴ و ۳± ۱۸ درجه سلسیوس، به ترتیب برای روز و شب و رطوبت آن برابر ۵±۷۰ درصد بود. اعمال تیمارهای اوریزالین با روش آغشته نمودن جوانه سوم (بالایی) توسط گلوله پنبه‌ای در زمان تغییر رنگ جوانه‌ها و قبل از شکفتن آن‌ها انجام شد. اعمال تیمارها به مدت ۴ روز و روزی ۳ مرتبه در نظر گرفته شد. انتقال قلمه‌های تیمار شده از بستر کشت ریشه زایی (ماسه) به گلدان (حاوی مخلوط خاک، خاک‌برگ و ماسه به نسبت مساوی) حدود ۵۰ روز پس از کاشت قلمه‌ها صورت گرفت. در طول دوره آزمایش گیاهان هر دو هفته یکبار با یک کود کامل حاوی ۲۰ درصد از هر یک از عناصر اصلی (نیتروژن، فسفر و پتاسیم) بعلاوه عناصر میکرو با غلظت ۳ گرم در لیتر و به صورت کود-آبیاری تغذیه شدند.

شناسایی گیاهان چندگان و تعیین سطح چندگانی

برای تعیین گیاهان چندگان و تعیین سطح چندگانی آن‌ها از روش فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی استفاده شد. سطح چندگانی گیاهان با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری تعیین شد. به این منظور، ابتدا از برگ‌های بالغ قطعاتی به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر مربع تهیه و یک میلی‌لیتر از بافر استخراج هسته (Jowkar *et al.*, 2009) روی آن‌ها ریخته شد. سپس محلول حاصله از فیلترهای دستگاه عبور داده شد و یک میکرولیتر محلول رنگ‌آمیزی هسته DAPI[1] به آن اضافه شد. پس از ۳۰ تا ۶۰ ثانیه، شمارش توسط دستگاه Ploidy analyzer Partec PAI انجام شد. به طور معمول برای هر نمونه حجم حداقل ۵۰۰۰ هسته توسط دستگاه اندازه‌گیری و پیک‌های به دست آمده به کمک نرم افزار Mode Fit تفسیر شد.

پس از تأیید نتایج فلوسایتومتری، نمونه‌های چندگان انتخاب شده جهت شمارش کروموزوم‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور مطالعه بهتر مراحل تقسیم برای ثابت نگه داشتن سلول‌ها در مرحله متافاز میتوز از پیش تیمار نمونه‌ها در محلول ۸-هیدروکسی کوئینولین استفاده شد.

ارزیابی صفات مورفولوژیکی

در مرحله بعد، گیاهان چهارگان شناسایی شده (جمعا ۹ گیاه) به همراه تعداد مساوی تعدادی از گیاهان دوگان مادری، برای ارزیابی های مورفوفیزیولوژیک مورد استفاده قرار گرفت. این گیاهان در قالب یک طرح تصادفی شامل دو تیمار (گیاهان چهارگان و دوگان) و سه تکرار و سه گیاه در هر تکرار (جمعا ۱۸ گیاه) مورد ارزیابی قرار گرفت. طول شاخه رشد کرده به وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شد. تعداد برگ شمارش و طول و عرض اولین برگ بالغ و توسعه یافته از بالا اندازه گیری شد. یک برگ کاملاً توسعه‌یافته از هر گیاه انتخاب و سطح برگ به کمک دستگاه سطح برگ سنج (سیستم آنالیز تصویر برگ، شرکت کیمیا رهاورد، تهران، ایران) اندازه‌گیری شد.

۱- Propidium iodide

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

برای مشاهده روزنه‌ها، برگ های بالغ و کاملا توسعه یافته و تا حد ممکن برگ‌های هم اندازه از قسمت میانی هر یک از گیاهان جدا شد. سپس با استفاده از تکنیک لاک ناخن، از اپیدرم سطح زیرین برگ‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت (Saharkhiz, 2006). به‌منظور اندازه‌گیری تراکم و ابعاد سلول‌های محافظ روزنه در واحد سطح از میکروسکوپ نوری و عدسی شیئی ۴۰x استفاده شد.

ارزیابی صفات فیزیولوژیکی

اندازه‌گیری میزان فنول کل با استفاده از معرف Folin Ciocalteu و استاندارد اسید گالیک انجام شد (Wojdyło *et al.*, 2007). به‌منظور عصاره‌گیری از نمونه‌ها جهت سنجش فنول کل، از متانول ۷۰ درصد به نسبت ۵ (میلی‌لیتر حلال) به ۱ (گرم نمونه خشک برگ) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری فنول ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۵۰٪ مخلوط و ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به محلول فوق اضافه شد. پس از ۳ دقیقه از اضافه کردن آب مقطر، ۱۰۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم[1] ۲۰ درصد به محلول اضافه و بعد از کمی هم زدن نمونه‌ها، به مدت یک ساعت در شرایط اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Epoch Microplate Spectrophotometer, BioTek Instruments, Inc., USA) در طول‌موج ۷۶۵ نانومترقرائت شد. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف اسید گالیک به کمک نرم افزار Excel انجام شد. جذب‌های خوانده شده از نمونه‌ها به جای y قرار داده شد و x یا همان غلظت به دست آمده، مورد محاسبه قرار گرفت. داده‌ها به صورت میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم وزن خشک (mg/100g DW) بیان شدند.

محتوای کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید با استفاده از روش دی‌متیل‌سولفوکساید[3] معرفی شده توسط Hiscox و Israelstam (۱۹۷۹) اندازه‌گیری شد. میزان قند محلول کل موجود در برگ بر اساس روش ارائه شده توسط Dubois و همکاران (۱۹۵۶) ارزیابی شد. میزان نشاسته با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد، که برای تهیه محلول استاندارد از گلوکز استفاده شد (Hedge *et al.*, 1962).

واکاوی آماری

کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ واکاوی شده و میانگین‌ها توسط آزمون LSD مقایسه و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2013 رسم شد.

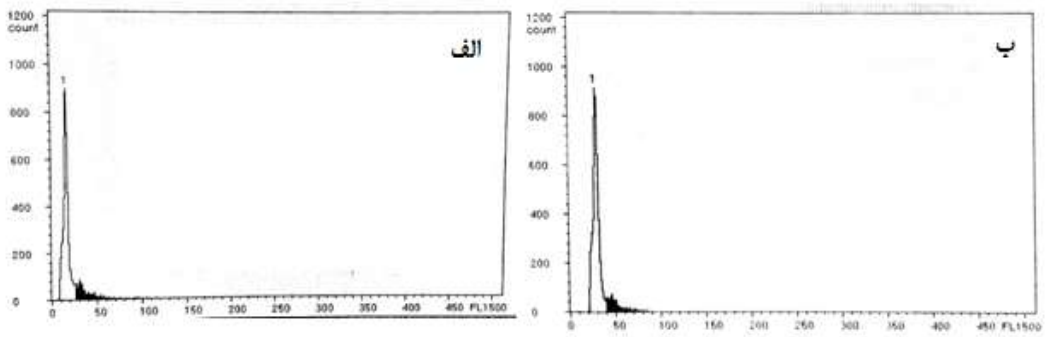
نتایج

تجزیه فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی

با توجه به نتایج حاصل ازتجزیه فلوسایتومتری، قله منحنی G1 گیاهان دوگان در این رقم ۱۰ و چهارگان ۲۰ بود (شکل ۱). تیمار گیاهان با غلظت‌های مختلف اوریزالین نشان داد که غلظت ۶۰ میکرومول نسبت به ۳۰ میکرومول مؤثرتر بود. در مجموع هفت گیاه چهارگان در تیمار ۶۰ میکرومول (میانگین ۲/۳۳ گیاه در هر تکرار و معادل ۱۱/۶۶ درصد) و دو گیاه چهارگان نیز در تیمار ۳۰ میکرومول (میانگین ۰/۶۶ گیاه در هر تکرار و معادل ۳/۳۳ درصد القای چندگانی) شناسایی شد و در تیمار شاهد (صفر میکرومول اوریزالین) هیچ نمونه چندگانی مشاهده نشد. گیاهان چهارگان در مقایسه با گیاهان دوگان دارای حجم هسته سلولی دو برابر بوده و بدین ترتیب قله منحنی مرحله G1 این گیاهان تقریباً دو برابر گیاهان دوگان بود (شکل ۱). تغییر سطح پلوئیدی در انگور رقم عسکری از دوگان ($2n = 2x = 38$) به چهارگان ($2n = 4x = 76$) به وسیله شمارش کروموزومی نیز تایید شد (شکل ۲).

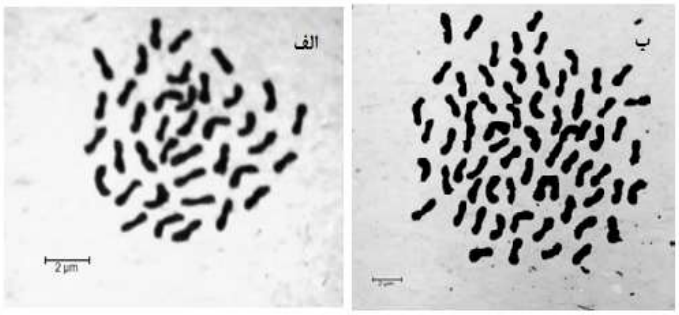
۱- Sodium carbonate ۲- Gallic acid ۳- Dimethyl sulfoxide (DMSO)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]



شکل ۱- نتایج فلوسایتومتری در گیاهان دوگان (الف) و چهارگان (ب) انگور رقم عسکری.

Fig. 1. Flowcytometry results in diploid (left) and tetraploid (right) plants of grapevine cultivar ‘Askari’.



شکل ۲- تعداد کروموزوم در گیاهان دوگان (الف: 2n = 2x = 38) و چهارگان (ب: 2n = 4x = 76) انگور رقم عسکری.

Fig. 2. Number of chromosomes in diploid (left: 2n = 2x = 38) and tetraploid (right: 2n = 4x = 76) plants of grapevine cultivar ‘Askari’.

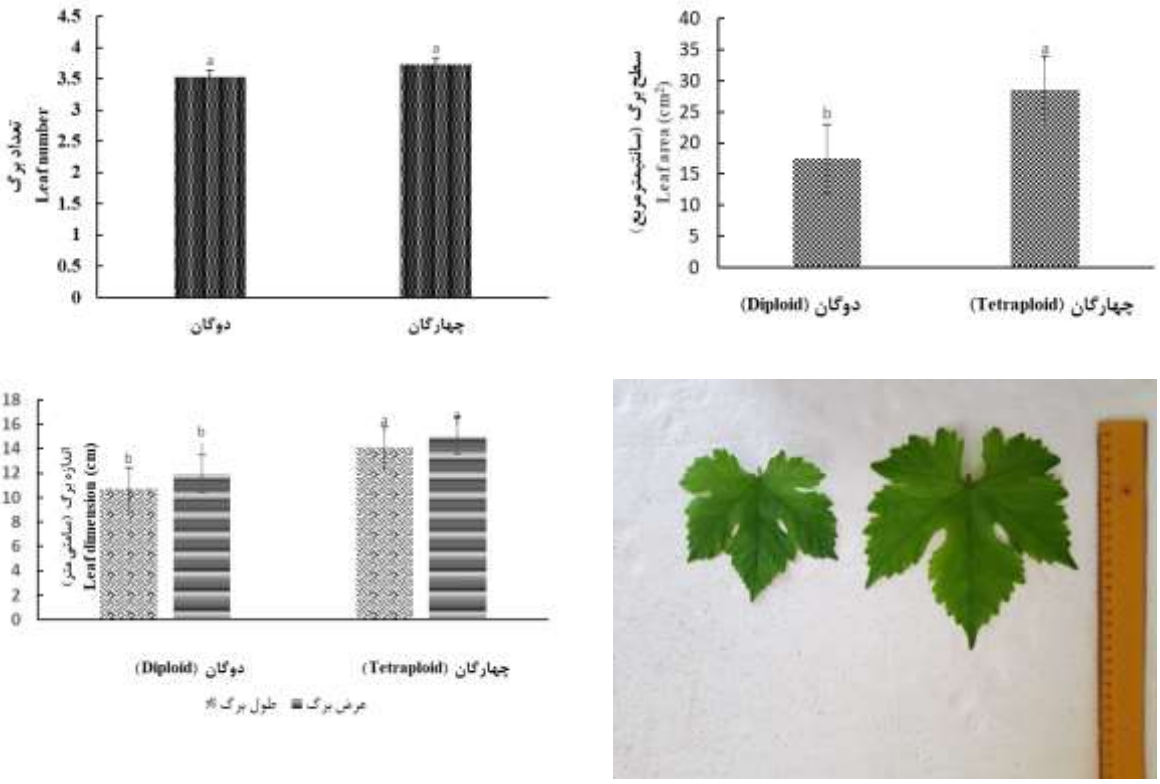
تعداد و اندازه برگ

نتایج نشان داد که تعداد برگ در گیاهان دوگان و چهارگان اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۳) ولی سطح در گیاهان چهارگان انگور رقم عسکری در مقایسه با گیاهان دوگان به طور معنی داری بیش‌تر بود (افزایش سطح برگ حدود ۶۱ درصد). طول و عرض برگ‌ها در گیاهان چهارگان هم افزایش تقریباً یک سانتی متری نسبت به گیاهان مادری را به ثبت رساند (شکل ۳).

رشد رویشی شاخه

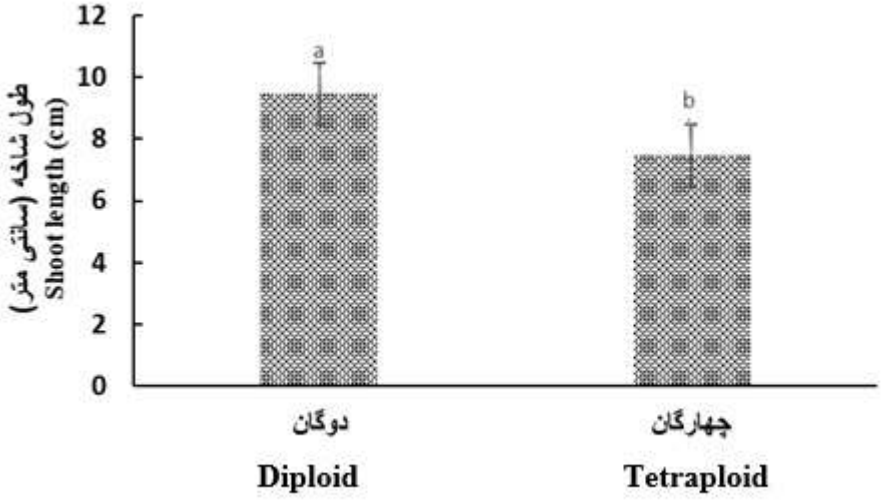
نتایج نشان داد که از نظر طول شاخه بین گیاهان دوگان و چهارگان اختلاف معنی‌داری در انگور رقم عسکری وجود داشت. بیش‌ترین طول شاخه در گیاهان دوگان (۹/۴۶ سانتی‌متر) و کم‌ترین آن (۷/۴۶ سانتی متر) در گیاهان چهارگان مشاهده شد (شکل ۴).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]



شکل ۳ – مقایسه میانگین تعداد و ابعاد برگ در گیاهان دوگان و چهارگان انگور رقم عسکری. در همه شکل‌ها سمت چپ دوگان و سمت راست چهارگان است. ستون‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، درسطح ۵ درصد آزمون LSD معنی‌دار نیستند.

Fig. 3. Mean comparison of leave's number and dimension in diploid and tetraploid grapevine cultivar 'Askari'. In all figures left and right are diploid and tetraploid plants, respectively. Means with same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$, using LDS test.



شکل ۴- مقایسه میانگین طول شاخه در گیاهان دوگان و چهارگان انگور رقم عسکری. میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند از دیدگاه آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد (آزمون LSD).

Fig. 4. Mean comparison of shoot length in diploid (left) and tetraploid (right) grapevine cultivar 'Askari'. Means with same letters are not significantly different at $P \leq 0.05$, using LDS test.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

خصوصیات روزنه

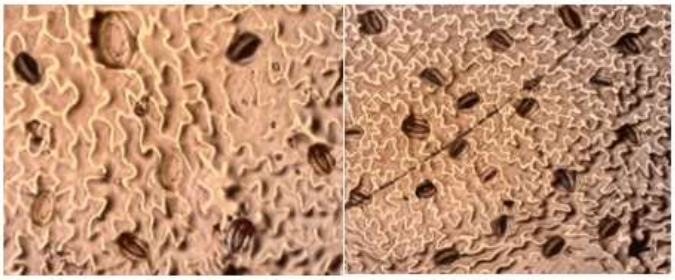
بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داد، اندازه سلول‌های روزنه (طول و عرض) در گیاهان چهارگان افزایش یافته و این گیاهان دارای روزنه‌های کشیده‌تری بودند، در حالی که گیاهان دوگان دارای روزنه‌های کوچک‌تر بودند (شکل ۳). طول روزنه در گیاهان دوگان ۲/۲۶ و چهارگان ۳/۸۲ میکرومتر و عرض روزنه در گیاهان دوگان ۱/۵۱ و چهارگان ۳/۶۷ میکرومتر بود (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین خصوصیات روزنه در گیاهان دوگان و چهارگان انگور رقم عسکری.

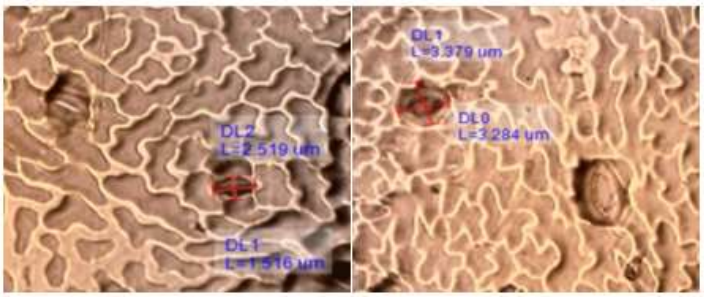
Table 1. Mean comparison of stomata characteristics in diploid and tetraploid grapevine cultivar ‘Askari’.

صفت Trait	دوگان Diploid	چهارگان Tetraploid
تراکم روزنه (mm^2) Stomata density (mm^2)	26.1a	15.33b
طول روزنه (µm) Stomata length (µm)	2.26b	3.82a
عرض روزنه (µm) Stomata width (µm)	1.51b	3.67a

Means with same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$, using LDS test.



الف) دوگان (Diploid) چهارگان (Tetraploid)



ب) دوگان (Diploid) چهارگان (Tetraploid)

شکل ۵- تغییرات تراکم (الف) و اندازه روزنه (ب) در گیاهان دوگان و چهارگان انگور رقم عسکری (طول خط مقیاس ۲۰ میکرومتر).

Fig. 5. Changes in stomata density (top) and dimension (bottom) in diploid and tetraploid plants of grapevine cultivar ‘Askari’ (length of scale bar: 20 µm).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

صفات بیوشیمیایی برگ

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، انگورهای چهارگان میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل بیش‌تری (حدود ۲/۵ برابر) نسبت به گیاهان دوگان داشتند اما افزایش سطح پلوئیدی اختلاف معنی‌داری را در میزان کاروتنوئید گیاهان چهارگان و دوگان ایجاد نکرد. نتایج همچنین نشان دادکه گیاهان دوگان میزان فنول بیش‌تری (حدود ۱۰ درصد بیش‌تر) در برگ‌های خود نسبت به برگ گیاهان چندگان داشتند، ولی اختلاف معنی داری در بین گیاهان چندگان و دوگان از نظر مقدار نشاسته و کربوهیدرات محلول در رقم عسکری مشاهده نشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی برگ در گیاهان دوگان و چهارگان انگور رقم عسکری.

Table 2. Mean comparison of leave's biochemical traits in diploid and tetraploid grapevine cultivar 'Askari'

صفت Trait	دوگان (Diploid)	چهارگان (Tetraploid)
کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Chlorophyl a (mg/g FW)	0.63b	1.72a
کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Chlorophyl b (mg/g FW)	0.36b	0.65a
کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Total chlorophyl (mg/g FW)	0.99b	2.38a
کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه) Total Carotenoid (mg/g FW)	2.24a	2.31a
فنول کل (میلی گرم برگرم وزن خشک) Total phenol (mg/g DW)	135.22a	122.33b
نشاسته (میلی گرم برگرم وزن خشک) Starch (mg/g DW)	8.37a	8.73a
کربوهیدرات محلول (میلی گرم برگرم وزن خشک) Soluble carbohydrate (mg/g DW)	3.82a	3.83a

Means with same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$ Using LDS test.

بحث

تجزیه فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی

در این پژوهش مشاهده شد که با افزایش غلظت اوریزالین میزان پلی‌پلوئیدی در انگور رقم عسکری افزایش یافت. نتایج این پژوهش با یافته‌های Lehrer و همکاران (2008) روی *Berberis thunbergii*، Tang و همکاران (2010) روی گیاه *Paulownia tomentosa*، Pliankong و همکاران (2017) روی گیاه فلفل و همچنین Talebi و همکاران (2017) روی گل مکزیکی مطابقت داشت. در پژوهشی، Pereira و همکاران (2012) بیان کردند که میزان موفقیت در القای چندگانی، به‌خصوص زمانی که کارآیی و سمیت مواد ضدمیتوزی مورد توجه است، بین گونه‌ها و ارقام متفاوت می‌باشد. ایجاد گیاهان چندگان در بسیاری از درختان میوه از جمله مرکبات (Guerra *et al.*, 2016)، ازگیل ژاپنی (Blasco *et al.*2015; Liu *et al.*, 2019)، و سیب (Hias *et al.*, 2017)، *Ribes nigrum* (Podwyszyńska & Pluta, 2019) گزارش شده‌است که با نتایج این پژوهش همسو می‌باشد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

آنالیزهای فلوسایتومتری در بسیاری از گیاهان به عنوان یک روش قابل اعتماد گزارش شده‌است و کاربرد آنالیز فلوسایتومتری به‌منظور تشخیص دوبرابر شدن کروموزوم‌ها در مطالعات متعددی گزارش شده‌است (Xing *et al.*, 2011; Nemorin *et al.*, 2013; Zeng *et al.*, 2019). مطالعات دوبرابر شدن کروموزومی در گونه *Hedychium muluense* با کاربرد اوریزالین و کلشی‌سین بیان می‌کند که آنالیزهای چندگانی با فلوسایتومتری و شمارش کروموزومی نسبت به مقایسه خصوصیات روزنه از اهمیت زیادی برخوردار بوده و قابل اطمینان‌تر می‌باشد (Shakhananokho *et al.*, 2009). به‌طور کلی گیاهان چهارگان در مقایسه با گیاهان دوگان دارای حجم هسته سلولی دوبرابر بوده و بدین ترتیب قله منحنی مرحله G1 این گیاهان تقریبا دو برابر گیاهان دوگان می‌باشد.

رشد رویشی شاخه

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که طول شاخه در گیاهان چهارگان کمی کم‌تر از گیاهان دوگان بود. کاهش طول شاخه در گیاهان چهارگان احتمالا به علت سمیت بالای مواد ضدمیتوزی بوده که تاثیر سوئی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی از جمله تولید و فعالیت هورمون‌های رشد گیاه و کاهش سرعت تقسیم سلولی دارد (Chen & Gao, 2007; Sajjad *et al.*, 2013). Schween و همکاران (2005) گزارش کردند که کاهش رشد و کم شدن تقسیم سلولی در گیاهان چندگان در نتیجه اختلال در محتوای اکسین سلول‌ها می‌باشد. به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد که گوناگونی در نتایج تغییرات مورفولوژیکی می‌تواند به‌دلیل سه فاکتور عمده باشد: پاسخ معمول به تغییر پلوئیدی، پیشینه ژنتیکی متفاوت و پاسخ به سطح پلوئیدی متفاوت که بستگی به پیشینه ژنتیکی دارد (Hias *et al.*, 2017).

طول، عرض و سطح برگ

گیاهان چهارگان رقم عسکری طول، عرض و سطح برگ بیش‌تری نسبت به گیاهان دوگان داشتند. گیاهان چهارگان به طور معمول دارای برگ‌های درشت‌تری نسبت به انواع دوگان خود هستند که دلیل آن می تواند تولید سلول‌های بزرگ‌تر به دلیل سری کروموزوم‌های اضافه‌شده باشد (Lavania, 2005). همچنین رشد و حجیم شدن اندام‌های مختلف گیاهی نظیر کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها، پرچم‌ها و بذور پس از انگیزش چندگانی ثابت شده است (Thao, 2003).

این نتایج با پژوهش های انجام شده روی انگور (Motosugi *et al.*, 2002)، هندوانه (Jaskani *et al.*, 2005) و گل مکزیکی (Talebi *et al.*, 2017) مطابقت داشت. همچنین در *Citrus junos* Sieb. ex Tanaka گزارش شده است که گیاهان چهارگان برگهایی ضخیم‌تر و بزرگ‌تری ایجاد کردند (Tan *et al.* 2015). Nasirvand و همکاران (2018) گزارش کردند که گیاه جعفری تتراپلوئید حاصل از تیمار با مواد ضدمیتوزی دارای اندازه برگ بزرگ‌تر و قطر ساقه بیش‌تری نسبت به گیاهان دوگان بودند. چنین خصوصیاتی در سایر سبزی‌های چهارگان نیز گزارش شده‌است (Aqafarini *et al.*, 2019). همچنین القای سیستم چندگانی در گیاه دارویی زنجبیل (چهارگانی) سبب ایجاد برگ‌هایی با طول، عرض و ضخامت بیش‌تر نسبت به گیاهان دوگان شده است (Zhou *et al.*, 2020).

خصوصیات روزنه

در پژوهش حاضر، القای چندگانی سبب افزایش طول و عرض روزنه و کاهش تراکم آن در انگور رقم عسکری شد که با نتایج پژوهش‌های پیشین همخوانی دارد (Rêgo *et al.*, 2011; Talebi *et al.*, 2017; Parsons *et al.*, 2019). خصوصیات روزنه و تغییرات مورفولوژیکی ممکن است مستقل از نوع مواد ضد میتوزی در القای چندگانی باشد (Zeng *et al.*, 2019, Zhou *et al.*, 2020). چهارگانی در گیاه رازک سبب تراکم کم‌تر روزنه و سلول‌های نگهبان روزنه با طول و قطر بیش‌تر شد (Mansouri & Bagheri, 2017). از طرفی، گزارش شده است که گیاهان چندگانی که اندازه روزنه بیش‌تر و تراکم کم‌تری دارند، مقاومت کم‌تری را در برابر تنش خشکی نشان می‌دهند (Carpenter & Smith, 1975). به نظر می‌رسد که افزایش اندازه روزنه‌ها و

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

کاهش تعداد آنها مرتبط با افزایش سطح ژنوم و تعداد کروموزوم باشد (Beaulieu *et al.*, 2008). از طرفی گیاهان چهارگان مرکبات (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) دارای روزنه‌های بزرگ‌تر و تراکم روزنه‌ای کم‌تر در مقایسه با گیاهان دوگان بود که با نتایج این پژوهش همسو نبود (Tan *et al.*, 2015). بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که نوع گیاه مورد مطالعه نقش مهمی در تعیین سطح پلوئیدی از طریق شاخص‌های روزنه‌ای ایفا می‌کند.

به‌طور کلی با توجه به نتایج پژوهش حاضر و مطالعات پیشین به نظر می رسد که اندازه سلول‌های نگهبان روزنه بیش‌تر از سلول‌های دیگر گیاه متاثر از عوامل ژنتیکی بوده و کم‌تر تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (Watrous & Wimber, 1988). از این رو در مطالعات مربوط به چندگانی می‌تواند به عنوان یک شاخص موثر و کارآ در تعیین سطح پلوئیدی مورد استفاده قرار گیرد (De Carvalho *et al.*, 2005; Yang *et al.*,2006). خصوصیات روزنه‌ای در القای چندگانی بدون توجه به کاربرد نوع ماده ضدمیتوزی تغییرات مشابهی دارد. این یافته‌ها بیان می‌کنند که تغییرات مورفولوژیکی ممکن است مستقل از نوع مواد ضدمیتوزی در القای چندگانی باشد و سطح چندگانی ممکن است به‌عنوان یک عامل اصلی موثر در تنوع خصوصیات مورفولوژیکی در نظر گرفته شود (Zeng *et al.*, 2019).

صفات بیو شیمیایی برگ

نتایج این تحقیق نشان داد، گیاهان انگور چهارگان رقم عسکری، میزان کلروفیلa، b و کل بیش‌تری نسبت به گیاهان دوگان داشتند که با پژوهش انجام شده روی *Populus* توسط Zeng *et al.*(2019) همخوانی دارد. پژوهش‌های پیشین نشان داده که گیاهان با سطح پلوئیدی بالاتر، برگهایی با میزان کلروفیل بیش‌تر و رنگ تیره‌تری نسبت به گیاهان با سطح پلوئیدی کم‌تر دارند (Ntuli & Zobolo 2008; Murti *et al.*, 2012). افزایش کلروفیل ناشی از افزایش تعداد کلروپلاست در سلول‌های نگهبان می‌باشد (Bagheri & Mansoiri, 2015). همچنین از آنجایی که رنگدانه‌ها در طول موج آبی و قرمز جذب می‌شوند، تیره‌تر بودن رنگ سبز گیاهان چهارگان می‌تواند به دلیل بالا بودن غلظت رنگدانه‌ها باشد (Hias *et al.*, 2017). Shao و همکاران (2003) گزارش کردند که درختان انار تتراپلوئید دارای برگ‌هایی تیره بوده که نشان‌دهنده میزان کلروفیل بیش‌تر در برگ‌ها می‌باشد. دوبرابر شدن کروموزوم سبب تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دردرختان عناب شد. گیاهان چهارگان دارای برگ‌های تیره‌تر و ضخیم‌تر در مقایسه با گیاهان دیپلوئید بودند که نشان دهنده تولید کلروفیل بیش‌تر در برگ‌ها می‌باشد (Cui *et al.*, 2017).

مقایسه میزان فنول، قند و نشاسته در گیاهان دوگان و چندگان نشان داد که چهارگانی سبب افزایش تولید برخی متابولیت‌های ثانویه مثل فنول کل شد ولی نتوانست میزان کربوهیدرات محلول و نشاسته را در انگور عسکری تغییر دهد. این نتیجه در راستای نتایج سایر پژوهشگران می باشد که بیان داشته‌اند القای چندگانی علی‌رغم تاثیر بر سنتز برخی متابولیت‌های ثانویه، روند مشخص و پایداری در مورد همه متابولیت ها ندارد (Zahumenická *et al.*, 2018).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج امکان ایجاد گیاهان چندگان انگور با تیمار اوریزالین وجود دارد و غلظت ۶۰ میکرومول این ماده در ایجاد چندگانی مؤثرتر از غلظت ۳۰ میکرومول آن بود. مقایسه گیاهان دوگان مادری و چهارگان القایی نشان داد که رشد رویشی گیاهان دوگان بیش‌تر از چهارگان بود، ولی ابعاد برگ در گیاهان چهارگان بزرگتر از گیاهان دوگان بود. تراکم روزنه در گیاهان چهارگان کمتر ولی اندازه آن بزرگ‌تر بود. بررسی خصوصیات بیوشیمیایی برگ نیز نشان داد که فنول کل در گیاهان دوگان بالاتر از چهارگان بود، ولی محتوای کلروفیل و کارتنوئید در گیاهان چهارگان بیش‌تر بود. بنابراین کاربرد ماده ضدمیتوزی اوریزالین سبب القای چندگانی و ارزیابی‌های مقدماتی بیانگر بهبود برخی خصوصیات ریخت شناسی انگور رقم عسکری شده

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

است، هرچند برای اظهار نظر قطعی لازم است ارزیابی های تکمیلی بر روی صفات تاک و میوه انواع چندگان به دست آمده در آینده انجام شود.

منابع References

Barow, M., & Meister, A. (2003). Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. *Plant, Cell & Environment*, *26*(4), 571-584.

Beaulieu, J. M., Leitch, I. J., Patel, S., Pendharkar, A., & Knight, C. A. (2008). Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. *New Phytologist*, *179*(4), 975-986.

Blasco, M., Badenes, M. L., & del Mar Naval, M. (2015). Colchicine-induced polyploidy in loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *120*(2), 453-461.

Carpenter, S. B., & Smith, N. D. (1975). Stomatal distribution and size in southern Appalachian hardwoods. *Canadian Journal of Botany*, *53*(11), 1153-1156.

Chen, L. L., & Gao, S. L. (2007). In vitro tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in Astragalus membranaceus. *Scientia Horticulturae*, *112*(3), 339-344.

Cui, Y., Hou, L., Li, X., Huang, F., Pang, X., & Li, Y. (2017). In vitro induction of tetraploid Ziziphus jujuba Mill. var. spinosa plants from leaf explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *131*(1), 175-182.

De Carvalho, J. F. R. P., de Carvalho, C. R. D. P., & Otoni, W. C. (2005). In vitro induction of polyploidy in annatto (Bixa orellana). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *80*(1), 69-75.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colometric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3), 350-356.

Eissenstat, D. M., & Yanai, R. D. (1997). The ecology of root lifespan. *Advances in Ecological Research*, *27*, 1-60.

Gao, S. L., Chen, B. J., & Zhu, D. N. (2002). *In Vitro* production and identification of autotetraploids of *Scutellaria baicalensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *70*(3), 289-293.

Golodriga, P. Y., Korobets, P. V., & Topale, S. G. (1970). Spontaneous tetraploid mutants of grape. *Tsitol. Genet*, *4*(1), 24-30.

Guerra, D., Schifino-Wittmann, M. T., Schwarz, S. F., Weiler, R. L., Dahmer, N., & Souza, P. V. D. D. (2016). Tetraploidization in citrus rootstocks: effect of genetic constitution and environment in chromosome duplication. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *16*(1), 35-41.

Hedge, J. E., Hofreiter, B. T., & Whistler, R. L. (1962). Carbohydrate chemistry. *Academic Press, New York*, 17.

Hias, N., Leus, L., Davey, M. W., Vanderzande, S., Van Huylenbroeck, J., & Keulemans, J. (2017). Effect of polyploidization on morphology in two apple (Malus× domestica) genotypes. *Horticultural Science*, *44*(2), 55-63.

Hiscox, J. T., & Israelstam, G. F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany*, *57*(12), 1332-1334.

Iyer, C. P. A., & Randhawa, G. S. (1965). Increasing colchicine effectiveness in woody plants with special reference to fruit crops. *Euphytica*, *14*(3), 293-295.

Jaskani, M. J., Kwon, S. W., & Kim, D. H. (2005). Comparative study on vegetative, reproductive and qualitative traits of seven diploid and tetraploid watermelon lines. *Euphytica*, *145*(3), 259-268.

Jowkar, A., Kermani, M. J., Kafi, M., Mardi, M., Hoseini, Z. S., & Koobaz, P. (2009). Cytogenetic and flow Cytometry analysis of Iranian Rosa spp. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, *3*(1), 71-74.

Kondorosi, E., Roudier, F., & Gendreau, E. (2000). Plant cell-size control: growing by ploidy. *Current Opinion in Plant Biology*, *3*(6), 488-492.

Kuang, Q., Liang, G., Guo, Q., & Li, X. (2004). Polyploid induction of {\sl *Arctium lappa*} by colchicine. *Plant Physiology Communications*, *40*(2), 157-168.

Kuliev, V. M. (2011). Induced autotetraploid grape mutants. *Cytology and Genetics*, *45*(3), 35-42.

Lavania, U. C. (2005). Genomic and ploidy manipulation for enhanced production of phyto-pharmaceuticals. *Plant Genetic Resources*, *3*(2), 170-177.

Lehrer, J. M., Brand, M. H., & Lubell, J. D. (2008). Induction of tetraploidy in meristematically active seeds of Japanese barberry (*Berberis thunbergii* var. atropurpurea) through exposure to colchicine and oryzalin. *Scientia Horticulturae*, *119*(1), 67-71.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

Levin, D. A. (2002). *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford University Press.

Mathura, S., Fossey, A., & Beck, S. L. (2006). Comparative study of chlorophyll content in diploid and tetraploid black wattle (*Acacia mearnsii*). *Forestry*, *79*(4), 381-388.

Liu, M., Wang, P., Wei, X., Liu, Q., Li, X., Liang, G., & Guo, Q. (2019). Effects of Triploidization of Loquat [*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.] on Flavonoids and Phenolics and Antioxidant Activities in Leaves and Flower Buds. *HortScience*, *54*(8), 1310-1318.

Mansouri, H., & Bagheri, M. (2017). Induction of Polyploidy and Its Effect on Cannabis sativa L. In *Cannabis sativa L.-Botany and Biotechnology*, (pp. 365-383). Springer, Cham.

Ministry of agriculture statistics. (2021). Vol. 3. Horticultural crops. www.amar.org.ir.

Motosugi, H., Okudo, K., Kataoka, D., & Naruo, T. (2002). Comparison of growth characteristics between diploid and colchicine-induced tetraploid grape rootstocks. *Journal of The Japanese Society for Horticultural Science*, *71*(3), 335-341.

Murti, R. H., Kim, H. Y., & Yeoung, Y. R. (2012). Morphological and anatomical characters of ploidy mutants of strawberry. *International Journal of Agriculture and Biology*, *14*(2).

Nasirvand, S., Zakaria, R. A., Zare, N., & Esmaeilpoor, B. (2018). Polyploidy induction in parsley (Petroselinum crispum L.) by colchicine treatment. *Cytologia*, *83*(4), 393-396.

Némorin, A., David, J., Maledon, E., Nudol, E., Dalon, J., & Arnau, G. (2013). Microsatellite and flow cytometry analysis to help understand the origin of Dioscorea alata polyploids. *Annals of Botany*, *112*(5), 811-819.

Ntuli, N. R., & Zobolo, A. M. (2008). Effect of water stress on growth of colchicine induced polyploid Coccinia palmata and Lagenaria sphaerica plants. *African Journal of Biotechnology*, *7*(20).

Okamoto, G., Hayashi, Y., & Hirano, K. (2002). Morphological studies on the development of transmitting tissues in diploid and tetraploid grape pistils. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, *71*(1), 8-12.

Otto, S. P., & Whitton, J. (2000). Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, *34*(1), 401-437.

Taira, T., Shao, Z. Z., Hamawaki, H., & Larter, E. N. (1991). The effect of colchicine as a chromosome doubling agent for wheat-rye hybrids as influenced by pH, method of application, and post-treatment environment. *Plant Breeding*, *106*(4), 329-333.

Parsons, J. L., Martin, S. L., James, T., Golenia, G., Boudko, E. A., & Hepworth, S. R. (2019). Polyploidization for the genetic improvement of Cannabis sativa. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 476.

Pereira, R. C., Davide, L. C., Techio, V. H., & Timbó, A. L. O. (2012). Duplicação cromossômica de gramíneas forrageiras: uma alternativa para programas de melhoramento genético. *Ciência Rural*, *42*(7), 1278-1285.

Pliankong, P., Suksa–Ard, P., & Wannakrairoj, S. (2017). Effects of Colchicine and Oryzalin on Polyploidy Induction and Production of Capsaicin in Capsicum frutescens L. Pawnpirun. *Thai Journal of Agricultural Science*, *50*(2), 108-120.

Podwyszyńska, M., & Pluta, S. (2019). In vitro tetraploid induction of the blackcurrant (Ribes nigrum L.) and preliminary phenotypic observations. *Zemdirbyste-Agriculture*, *106*(2), 151-158.

Rasouli, V., Nejatian, M. A., Golmohammadi, M., Fadaei Aghdam, M. V., & Sotoodeh, R. (2012). Evaluating the effect of colchicine dosage and time of application for tetraploidy induction in Yaghoti grape (*Vitis vinifera* Var. Yagoti). *Agricultural and Natural Resources Journal*, *14*, 60-70.

Rêgo, M. D., Rêgo, E. R., Bruckner, C. H., Finger, F. L., & Otoni, W. C. (2011). In vitro induction of autotetraploids from diploid yellow passion fruit mediated by colchicine and oryzalin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *107*(3), 451-459.

Rodríguez, E. M., Parra, M. T., Rufas, J. S., & Suja, J. A. (2001). Colchicine promotes a change in chromosome structure without loss of sister chromatid cohesion in prometaphase I-arrested bivalents. *Chromosoma*, *110*(7), 478-486.

Sajjad, Y. A. S. A. R., Jaskani, M. J., Mehmood, A., Ahmad, I., & Abbas, H. A. I. D. E. R. (2013). Effect of colchicine on in vitro polyploidy induction in African marigold (*Tagetes erecta*). *Pakistanian Journal of Botany*, *45*(3), 1255-1258.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

Sakhanokho, H. F., Rajasekaran, K., Kelley, R. Y., & Islam-Faridi, N. (2009). Induced polyploidy in diploid ornamental ginger (*Hedychium muluense* RM Smith) using colchicine and oryzalin. *HortScience*, *44*(7), 1809-1814.

Saharkhiz, M. J. (2006). Effects of some environmental factors and ploidy level on morphological and physiological characteristics of feverfew (*Tanacetum parthenium*). PhD thesis, Tarbiat Modarres University, 173 p.

Sari, N., Abak, K., & Pitrat, M. (1999). Comparison of ploidy level screening methods in watermelon: *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. and Nakai. *Scientia Horticulturae*, *82*(3-4), 265-277.

Schween, G., Egener, T., Fritzowsky, D., Granado, J., Guitton, M. C., Hartmann, N., ... & Reski, R. (2005). Large-scale analysis of 73 329 Physcomitrella plants transformed with different gene disruption libraries: production parameters and mutant phenotypes. *Plant Biology*, *7*(3), 228-237

Shao, J., Chen, C., & Deng, X. (2003). In vitro induction of tetraploid in pomegranate (Punica granatum). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *75*(3), 241-246.

Tafazzoli, E., Hekmati, J., & Firouzeh, P. (1991). Grape. Shiraz University press. Second edition, 343 p.

Talebi, S. F., Saharkhiz, M. J., Kermani, M. J., Sharafi, Y., & Raouf Fard, F. (2017). Effect of different antimitotic agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). *Caryologia*, *70*(2), 184-193.

Tan, F. Q., Tu, H., Liang, W. J., Long, J. M., Wu, X. M., Zhang, H. Y., & Guo, W. W. (2015). Comparative metabolic and transcriptional analysis of a doubled diploid and its diploid citrus rootstock (*C. junos* cv. *Ziyang xiangcheng*) suggests its potential value for stress resistance improvement. *BMC Plant Biology*, *15*(1), 1-14.

Tang, Z. Q., Chen, D. L., Song, Z. J., He, Y. C., & Cai, D. T. (2010). In vitro induction and identification of tetraploid plants of Paulownia tomentosa. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *102*(2), 213-220

Thao, N. T. P., Ureshino, K., Miyajima, I., Ozaki, Y., & Okubo, H. (2003). Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *72*(1), 19-25.

Watrous, S. B., & Wimber, D. E. (1988). Artificial induction of polyploidy in Paphiopedilum. *Lindleyana*, *3*(4), 177-183.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, *105*(3), 940-949.

Wu, H., Zheng, S., He, Y., Yan, G., Bi, Y., & Zhu, Y. (2007). Diploid female gametes induced by colchicine in *Oriental lilies*. *Scientia Horticulturae*, *114*(1), 50-53.

Xing, S. H., Guo, X. B., Wang, Q., Pan, Q. F., Tian, Y. S., Liu, P., ... & Tang, K. X. (2011). Induction and flow cytometry identification of tetraploids from seed-derived explants through colchicine treatments in Catharanthus roseus (L.) G. Don. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2011*.

Yang, D., Li, W., Li, S., Yang, X., Wu, J., & Cao, Z. (2007). *In Vitro* embryo rescue culture of F1 progenies from crosses between diploid and tetraploid grape varieties. *Plant Growth Regulation*, *51*(1), 63-71.

Yang, X. M., Cao, Z. Y., An, L. Z., Wang, Y. M., & Fang, X. W. (2006). In vitro tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Euphytica*, *152*(2), 217-224.

Zahumenická, P., Fernández, E., Šedivá, J., Žiarovská, J., Ros-Santaella, J. L., Martínez-Fernández, D., ... & Milella, L. (2018). Morphological, physiological and genomic comparisons between diploids and induced tetraploids in Anemone sylvestris L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *132*(2), 317-327.

Zhang, X. Y., Hu, C. G., & Yao, J. L. (2010). Tetraploidization of diploid *Dioscorea* results in activation of the antioxidant defense system and increased heat tolerance. *Journal of Plant Physiology*, *167*(2), 88-94.

Zeng, Q., Liu, Z., Du, K., & Kang, X. (2019). Oryzalin-induced chromosome doubling in triploid Populus and its effect on plant morphology and anatomy. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *138*(3), 571-581.

Zhou, J., Guo, F., Fu, J., Xiao, Y., & Wu, J. (2020). In vitro polyploid induction using colchicine for Zingiber officinale roscoe cv. 'Fengtou'ginger. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *142*(1), 87-94.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (1): 1-24 (2024)
Research article

Polyploidy Induction and Assessing Its Morpho-Physiological effects' in 'Askari' Grapevine

Zahra Ataei, Ali Gharaghani*, Saeid Eshghi
Department of Horticultural Science, School of agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
*Corresponding Author, Email: (agharghani@shirazu.ac.ir)

Polyploidy is a condition in which organisms possess more than two sets of haploid chromosomes, resulting from abnormal chromosome separation during cell division. It can be used as a breeding technique to optimize vegetative and reproductive parameters in crops by changing the total nuclear genome content. To determine the optimal concentration of oryzalin for polyploidy induction in the grapevine cultivar 'Askari', as well as to assess its impact on the morpho-physiological parameters, this research was carried out in a completely randomized design. The experiment comprised three treatment groups, including 0, 30, and 60 µmol of oryzalin. The oryzalin treatments were applied by gently dabbing the buds with a cotton swab at the bud color change stage, just before to the bud break. The results of the research indicated that a concentration of 60 µmol of oryzalin was more efficient for polyploidy induction than the 30 µmol (11.66% compared to 3.66%, respectively). A comparison of the original diploid plants and the induced tetraploids revealed that the diploid plants exhibited enhanced shoot growth in contrast to the tetraploids. Conversely, the tetraploid plants demonstrated advantages in terms of stomatal density (26.1 per mm^2 compared to 15.33 per mm^2), leaf length (3.82 µm compared to 2.26 µm), and leaf width (3.67 µm compared to 1.51 µm). Additionally, tetraploid plants had higher chlorophyll content than their diploid counterparts. There was no difference in the accumulation of soluble sugars and starch in the leaves of diploid and tetraploid plants, while diploid plants demonstrated higher quantity of total phenols. In summary, the use of the anti-mitotic agent oryzalin could be used as an efficient method for inducing polyploidy in the grapevine cultivar 'Askari'. Although polyploidy can improve certain leaf traits and it may also decrease grapevine growth rate. This research provides preliminary insights into the effects of oryzalin-induced polyploidy on morpho-physiological traits of grapevine cultivar 'Askari'; however, further investigation is required to fully understand the implications of this method.

Keywords: Oryzalin, Stomata density, Anti-mitotic, Flow cytometry.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]