مقایسه میزان زنده‌مانی ارقام مختلف گلابی در شرایط گرمادرمانی

نوشین کاظمی *[۱]، فریبرز زارع نهندی[۲]، علی‌اکبر حبشی[۳]، محمدرضا دادپور[۴]
[۱] دانشجوی دکتری، دانشگاه تبریز، تبریز
[۲] دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
[۳ و ۴] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تبریز، تبریز
نویسنده مسئول: n.kazemi@tabrizu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش اثر دوره‌های زمانی مختلف گرمادرمانی شامل صفر به‌عنوان شاهد، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز، بر میزان زنده‌مانی و رشد گیاهچه‌های کشت بافتی هفت رقم گلابی: ابته فتل (*Abate Fetal*)، بیروتی (*Beiruti*)، درگزی (*Dargazi*)، کوشیا (*Coscia*)، لوئیزبون(*Louise Bonne*) ، ملینا (*Mellina*) و اسپادونا (*Spadona*)، در پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران مطالعه شد. تیمار گرمادرمانی در محیطی با ۱۶ ساعت روشنایی و ۲۰۰۰ لوکس نور و دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. نتایج نشان داد با افزایش تعداد روزهای گرمادرمانی میزان زنده‌مانی گیاهچه‌های گلابی در تمام ارقام کاهش یافته است به‌طوری‌که پس از ۲۱ روز گرمادرمانی اغلب نمونه‌ها از بین رفتند. بیشترین تعداد ریز شاخه سالم و زنده در رقم ابته‌فتل و طی دوره‌ی هفت‌روزه‌ی گرمادرمانی (۲/۹۳ ریز شاخه/ریزنمونه) به دست آمد. به‌طورکلی میزان رشد و زنده‌مانی شاخه‌های جدید به‌طور معنی‌داری (۱٪ > *P*) تحت تأثیر نوع رقم و طول دوره‌ی گرما درمانی و اثر متقابل این دو فاکتور بوده است.

***کلمات کلیدی:* گلابی، گرمادرمانی، زنده‌مانی ریزنمونه‌ها**

مقدمه

استفاده از فرایند گرمادرمانی یکی از راهکارهای مناسب در حذف ویروس‌های گیاهی است (Mink *et al*. 1998). دمای بالا با جلوگیری از ساخت و تکثیر RNA ویروس می‌تواند انتشار ویروس به مریستم انتهایی را کاهش دهد (Paprstein *et al*. 2008; Wang *et al*. 2008; Tan *et al*. 2010; Valero *et al*. 2003) و به‌طورکلی طول دوره‌ی گرمادرمانی فاکتور مؤثر دیگری در حذف ویروس از گیاه است (Tan *et al*. 2010; Hu *et al*. 2012Wang *et al*. 2006a, 2006b; Dziedzic, 2008;). و این در حالی است که گرمادرمانی طولانی‌مدت می‌تواند اثرات نامطلوبی بر رشد و زنده‌مانی گیاه سیب (Paprstein *et al*. 2008) و دیگر گیاهان (Spiegel *et al*. 1995; Paprstein *et al*. 2008; Tan *et al*. 2010; Hu *et al*. 2012) داشته باشد. در بسیاری از منابع استفاده از دمای ۳۶ تا ۳۸ درجه برای مدت ۲۱ تا ۳۵ روز به‌عنوان یک روش کارا در حذف ویروس معرفی شده است (Knapp *et al*. 1995; Mink *et al*. 1998; Verma *et al*. 2005). ازآنجاکه میزان مقاوت و زنده‌مانی ارقام مختلف گلابی به طول دوره گرمادرمانی متفاوت است در این پژوهش میزان زنده‌مانی و رشد هفت رقم گلابی: ابته فتل، بیروتی، درگزی، کوشیا، لوئیزبون، ملینا و اسپادونا در طی دوره‌های مختلف گرمادرمانی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بر روی گیاهچه‌های کشت بافتی از هفت رقم گلابی (تهیه شده از ایستگاه تحقیقاتی کمالشهر) شامل: ابته فتل (*Abate Fetal*)، بیروتی (*Beiruti*)، درگزی (*Dargazi*)، کوشیا (*Coscia*)، لوئیزبون(*Louise Bonne*) ، ملینا (*Mellina*) و اسپادونا (*Spadona*) در پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران صورت قرار گرفت. ده روز پس از کشت گیاهچه‌های ارقام مذکور در محیط کشت مناسب جهت تکثیر (محیط پایه QL به همراه BAP 1mg/l، 30g/l ساکاروز، 6/8 g/l آگار) و رشد نمونه‌ها در شرایط محیطی با میزان نور ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای محیط ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد، شیشه‌های حاوی ریزنمونه، در چهار رژیم زمانی گرمادرمانی قرار گرفتند. به این منظور گیاهچه‌ها برای مدت ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای

۱±۳۸ درجه قرار گرفتند. لازم به ذکر است که گرمادرمانی در محیطی با شرایط نوری مناسب (۱۶ ساعت روشنایی و ۲۰۰۰ لوکس نور) انجام گرفت، تا نمونه‌ها فرصت تولید و رشد شاخه‌های جدید در دمای ۳۸ درجه را داشته باشند. با توجه به اینکه تعداد زیادی از نمونه‌ها در این مرحله متحمل به گرما نبودند، لذا جهت دستیابی به شاخه‌های سالم و رشد یافته در دمای ۳۸ درجه، برای هر رقم مورد مطالعه ۳۰ تکرار در نظر گرفته شد. هر تکرار شامل ۵ ریز نمونه‌ی کشت شده در ظروف کشت بود. به عبارتی در هر رقم ۱۵۰ واحد آزمایشی تحت رژیم دمایی ۳۸ درجه قرار گرفت. میزان تولید ریزشاخه سالم و زنده، در پایان دوره‌های گرمادرمانی در هر رقم مورد بررسی قرار گرفت.این آزمایش به‌صورت آزمون فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۱ درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. نمودار مربوطه توسط نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۰رسم گردید.

نتایج و بحث

گیاهچه‌های ارقام مورد مطالعه مقاومت‌های متفاوتی نسبت به دوره‌های گرمادرمانی نشان دادند. تعداد بسیار اندکی ریزشاخه از ریزنمونه‌های ارقام درگزی، بیروتی، ملینا و اسپادونا پس از گذشت ۲۱ روز از شروع گرمادرمانی (۳۸ درجه سانتی‌گراد) سالم باقی ماندند و قابلیت جدا کردن مریستم را داشتند. تمامی ریز نمونه‌های ارقام ابته‌فتل، کوشیا و لوئیزبون پس از ۲۱ روز قرار گرفتن در شرایط گرما درمانی از بین رفتند و هیچ مریستم زنده‌ای در این تیمار از آن‌ها حاصل نشد.

نتایج نشان داد که رشد و زنده‌مانی شاخه‌های جدید و تازه تولیدشده طی دوره‌های گرمادرمانی، به‌طور معنی‌داری (۱٪ $P <$) تحت تأثیر نوع رقم و طول دوره‌ی گرما درمانی و اثر متقابل این دو فاکتور بوده است (جدول۱).

جدول ۱- منابع تغییرات میزان رشد و زنده‌مانی ریزشاخه‌های تولیدشده از گرما درمانی تحت تأثیر نوع رقم و طول دوره‌ی گرمادرمانی

منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد شاخه
اثر رقم	۶	۶/۲۳۵۵**
اثر تعداد روزهای گرمادرمانی	۳	۱۰۵/۲۲۴۰**
اثر متقابل رقم و تعداد روزهای گرما درمانی	۱۸	۶/۰۰**
اشتباه	۵۶	۴/۰۰
کل	۸۳	۱۲۶/۱۱۳۴

** معنی‌داری در سطح ۱ درصد می‌باشد.

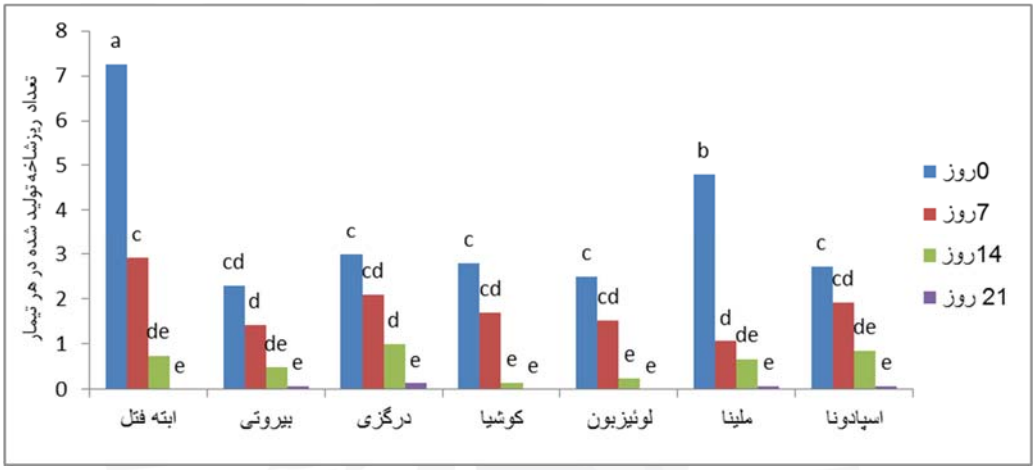
مقایسه میانگین نتایج نشان داد که بیشترین تعداد ریز شاخه سالم و زنده در رقم ابته‌فتل و طی دوره‌ی هفت‌روزه‌ی گرمادرمانی (۲/۹۳) به دست آمد. کمترین میانگین تعداد ریزشاخه سالم و زنده نیز در ارقام کوشیا و ابته‌فتل و لوئیزبون، طی دوره‌ی ۲۱ روزه‌ی گرمادرمانی (۰) مشاهده شد، به‌عبارت‌دیگر تمامی ریزنمونه‌های این ارقام در تیمار ۲۱ روز گرمادرمانی از بین رفتند.

بررسی اثر مستقل نوع رقم بر تعداد ریزشاخه‌ی سالم تولیدشده نشان داد که بیشترین تعداد ریز شاخه (۱/۲۲۷) در رقم ابته‌فتل به دست آمد و کمترین تعداد مربوط به رقم‌های کوشیا (۰/۶۳۸) و ملینا (۰/۶۰۲) بود.

بررسی اثر مستقل تعداد روزهای گرمادرمانی بر میانگین تعداد ریزشاخه سالم تولیدشده در هر ریزنمونه نشان داد که هرچه ریزنمونه‌ها مدت طولانی‌تری در دمای ۳۸ قرار بگیرند، تعداد شاخه بیشتری از دست می‌دهند، به‌طوری‌که پایین‌ترین میانگین تولید ریزشاخه سالم در ۲۱ روز گرمادرمانی (۰/۰۵۳) و مناسب‌ترین آن در دوره‌ی هفت‌روزه (۱/۹۶) مشاهده شد (شکل ۱).

همان‌طور که از نتایج برمی‌آید، میزان رشد و زنده‌مانی ارقام گلابی مورد بررسی در این پژوهش، طی دوره‌های گرمادرمانی، به نوع رقم و طول دوره‌ی گرمادرمانی و اثرات متقابل این فاکتورها بستگی داشت. اما به‌طورکلی با افزایش طول دوره گرمادرمانی، میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها کاهش یافت، به‌طوری‌که پس از ۲۱ روز گرمادرمانی، اغلب ریزنمونه‌ها از دست رفتند. نتایج حاصل در این زمینه مشابه نتایج آزمایشات (Guojun Hu. *et al.*, 2015) بود که عنوان کرده بودند تقریباً تمام

ریزنمونه‌های قرار گرفته در تیمار گرمادرمانی ۳۸ درجه، پس از ۲۰ روز از بین رفتند. در پژوهشی (wang *et al*., 2006 a) آمده است، میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌های گلابی، پس از گذشت ۳۵ روز گرمادرمانی در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۶۴ درصد بود. این اختلاف در نتایج حاصله، می‌تواند به دلیل تفاوت در میزان مقاومت ارقام مختلف گلابی به دمای بالا، و همچنین تفاوت در میزان دمای به کارگرفته شده جهت تیمار گرمادرمانی باشد. در یک پژوهش (Tan *et al*., 2010) در ارتباط با میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌های گلابی Fengshui ، پس از ۱۵ روز گرمادرمانی، تعدادی از گیاهچه‌ها مردند، در ادامه آزمایش میزان از دست رفتن ریزنمونه‌ها با افزایش دوره‌ی گرما درمانی به‌شدت افزایش یافت. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش و بسیاری از پژوهش‌ها رابطه‌ای منفی بین طول دوره گرمادرمانی و میزان زنده‌مانی گیاهچه‌ها تأیید شده است (Paprstein *et al*. 2008; Spiegel *et al*. 1995; Tan *et al*. 2010; Hu *et al*. 2012).



شکل ۱- میزان تولید ریزشاخه سالم و زنده، در پایان دوره‌های گرمادرمانی در ارقام مورد بررسی

نکته مهم و قابل ذکر از نتایج این آزمایش این است که تعدادی ریزنمونه از ارقام مورد آزمایش، در پایان دوره گرمادرمانی و حتی در دوره‌های طولانی‌تر (بیش از یک ماه) زنده ماندند. اما این زنده‌مانی به معنای کارایی و مناسب بودن ریزشاخه‌ها، جهت مریستم برداری نبود، زیرا در عین سبز و زنده بودن ریزشاخه تحت تیمار قرار گرفته، ناحیه مریستمی آن از بین رفته بود. بنابراین درصد زنده‌مانی ریزشاخه‌ها پس از گرمادرمانی به معنی سلامت ناحیه مریستمی نبوده است و همین امر منجر به افزایش تعداد تکرارهای آزمایش گرمادرمانی شده است.

منابع

Dziedzic, E. 2008. Elimination of Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV) from plum ‘Earliblue’ shoots through thermotherapy in vitro. Journal of Fruit Ornam Plant Res, 16, 101-109.

Hu, G.J., Hong, N., Wang, L.P., Hu, H.J. and Wang, G.P. 2012. Efficacy of virus elimination from in vitro cultured sand pear (*Pyrus pyrifolia*) by chemotherapy combined with thermotherapy. Crop Prot, 37:20–25.

Hu, G.-J., Zhang, Z.-P., Dong, Y.-F., Fan, X.-D., Ren, F. and Zhu, H.-J. 2014. Efficiency of virus elimination from potted apple plants by thermotherapy coupled with shoot-tip grafting. Aust. Plant Pathol, 44, 167–173.

Katinger, H. and Laimer da Clmara Machado, M. 1995. New aspects of virus elimination in fruit trees. Acta Hortic, 386:409–418.

Knapp, E., Hanzer, V., Weiss, H., da Caˆmara Machado, A., da Clmara Machado, A., Weiss, B., Wang, Q., Verma, N., Ram, R. and Zaidi, A.A. 2005. In vitro production of Prunus necrotic ringspot virus-free begonias through chemo- and thermotherapy. Scientia Hortic, 103:239–247.

Mink, G.I., Wample, R. and Howell, W.E. 1998. Heat treatment of perennial plants to eliminate phytoplasmas, viruses, and viroids while maintaining plant survival. In: Hadidi A, Khetarpal RK, Koganezawa H (eds) Plant Virus Disease Control. APS Press, St. Paul, MN, USA, pp 332–345.

Paprstein, F., Sedlak, J., Polak, J., Svobodova, L., Hassan, M. and Bryxiova, M. 2008. Results of invitro thermotherapy of apple cultivars. Plant Cell Tissue Organ Cult. 94: 347–352.

Spiegel, S., Stein, A. and Tam, Y. 1995. In vitro thermotherapy of Rosaceous fruit trees. Acta Hortic, 386:419–420.

Tan, R.R., Wang, L.P., Hong, N. and Wang, G.P. 2010. Enhanced efficiency of virus eradication following thermotherapy of shoot-tip cultures of pear. Plant Cell Tissue Organ Cult, 101: 229-235.

Thakure, A. and Dalal RPS, N. 2008. Micropropagation of pear (*Pyrus spp*.). A review. Agric Rev, 29(4): 260-270.

Valero, M., Ibanez, A. and Morte, A. 2003. Effects of high vine yard temperatures on the Grape vine leaf roll associated virus elimination from *Vitis vinifera* L. cv. Napoleon tissue cultures. Sci Hortic, 97: 289–296.

Wang, Q. C., Cuellar, W. J., Rajamaki, M., Hirata, Y. and Valkonen, J.P.T. 2008. Combined thermotherapy and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, sub cellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. Mol. PlantPathol, 8: 1–14.

Wang, L.P., Wang, G.P., Hong, N., Tan, R.R., Deng, X.Y. and Zhang, H. 2006a. Effect of thermotherapy on elimination of Apple stem grooving virus and Apple chlorotic leaf spot virus for in vitro-cultured pear shoot tips. Hort Science, 41:729–732.

Wang, L.P., Wang, G.P., Tan, R.R. and Hong, N. 2006b. Detection of three latent viruses in pear by hybridization with biotinylated Cdna probes. Phytopathologica, 36:488–493.

Yeo, D.Y. and Reed, B.M. 1995. Micropropagation of three *Pyrus* rootstocks. HortScience, 30: 620–623.

Comparing the Survival of Different Cultivars of Pears in Thermotherapy Treatments

Nooshin Kazemi [1 *], Fariborz Zaree Nahandi [2], Ali Akbar Habashi [3] Mohammad Reza Dadpour [4]

[1, 2, 4] Dept. of Horticultural Sciences University of Tabriz, Tabriz
[3] Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Karaj
**Corresponding Author: n.kazemi@tabrizu.ac.ir*

Abstract

The effect of different periods of thermotherapy (0, 7, 14 and 21 days) on the survival and growth of seven varieties of pear: Abate Fetel, Beiruti, Dargazi, Coscia, Louise Bonne, Mellina and Spadona were studied in agricultural Biotechnology Research institute of Iran. Thermotherapy treatments were done in 16 hours of 2000 lux light and 38˚c. The most number of alive healthy shoots was obtained in the Abate Fetal and seven day of thermotherapy (2/93 shoots / explant). The results showed that increase in the number of thermotherapy days reduced the survival rate of explants. So that after 21 days of thermotherapy most of explants were destroyed.

Keywords: Pear, thermotherapy, Explants survival