واکنش مثبت ریزنمونه‌های گیاه اطلسی به غنی‌سازی محیط کشت با کود آلی هیومکس

مهدی بصیری[۱]، مهدی علیزاده[۲*]، اسماعیل سیفی[۲]، سیدجواد موسوی زاده[۲]
[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
[۲*] عضو هیئت‌علمی، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
*نویسنده مسئول: mahdializadeh@gau.ac.ir

چکیده

مواد هیومیکی محصول نهایی تجزیه هر ماده آلی در شرایط ویژه و توسط میکروارگانیسم‌های خاص می باشند. کودهای آلی اغلب دارای اثرات محرک رشد گیاهی بوده و اثرات مثبت آن‌ها در بهبود رشد گیاهان به اثبات رسیده است.. پژوهش حاضر، در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. در این پژوهش گیاه اطلسی به‌عنوان گیاه مدل استفاده شد و گیاهچه‌های درون شیشه‌ای آن در محیط‌های غنی‌شده با ۲۵۰ یا ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کود آلی هیومکس بازکشت شده و میزان رشد و برخی صفات مورفوفیزیولوژیکی هر نمونه ارزیابی و ثبت گردید. نتایج نشان داد که نمونه‌های اطلسی واکنش مثبتی به محیط حاوی کود آلی هیومکس نشان دادند به‌طوری‌که میزان شاخه‌زایی، تعداد برگ و سطح برگ گیاهچه‌ها نسبت به شاهد در تمامی محیط‌های حاوی کود آلی بهبود یافت. در یک جمع‌بندی کلی افزودن ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کود آلی هیومکس به محیط کشت استاندارد اطلسی، علاوه بر بهبود شاخه زایی و تعداد برگ، بهترین کیفیت را از لحاظ ارزیابی مشاهده‌ای و میزان سبزینگی دارا بود و به‌عنوان یک تیمار مؤثر قابل‌مطالعه در سایر گیاهان می‌باشد. با وجود مشاهده اثرات مثبت افزودن کود آلی هیومکس به محیط کشت، توصیه آن‌ها به‌عنوان یک ترکیب ثابت در محیط کشت نیاز به مطالعات تکمیلی بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: **کود آلی هیومکس، کشت بافت، اطلسی، محیط کشت**

مقدمه

مواد تشکیل دهنده محیط‌های کشت بافت و ریزافزایی گیاهی را می‌توان به چند دسته عناصر پرمصرف، کم‌مصرف، ترکیب‌ها آلی (هیدرات‌های کربن، ویتامین‌ها، میواینوزیتول، اسیدهای آمینه، مکمل‌های آلی)، تنظیم‌کننده‌های رشد و مواد دیگر تقسیم‌بندی کرد (Alizadeh, 2011). هریک از ترکیب‌های تشکیل دهنده محیط کشت دارای آثار فیزیولوژیکی و متابولیسمی خاص برای ریزنمونه است. در برخی از گونه‌های گیاهی علاوه بر ترکیب‌های ضروری محیط کشت، ممکن است از افزودنی‌های دیگری نیز استفاده شود که مرسوم‌ترین آن‌ها شیره نارگیل، عصاره گوجه‌فرنگی، پوره موز و مواد دیگر می باشد(khoshkhui, 2001). در پژوهشی، از نشاسته کاساوا برای جایگزینی آگار و کشت درون شیشه‌ای سیب‌زمینی استفاده کردند، مقدار گره‌ها و قدرت رشد گیاه در محیط کشت ژله‌ای با نشاسته کاساوا نسبت به آگار بسیار بالا بود درحالی‌که در درصد بقای گیاهان تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. استفاده از نشاسته کاساوا هزینه محیط کشت را تا ۵۷٪ کاهش داد (بادونی و همکاران، ۲۰۱۱). در آزمایش دیگری واکنش دو گونه از سیب‌زمینی شیرین به یک محیط کشت کم‌هزینه ارزیابی شد. در این محیط کشت که ترکیب مواد غذایی آن از کودهای محلی تهیه شده بود استفاده از منابع مغذی جایگزین به‌طور معنی‌داری باعث کاهش هزینه‌های کشت بافت سیب‌زمینی شیرین شد (اوگیرو و همکاران، ۲۰۱۱). ترابی گیگلو و همکاران (۱۳۸۴) از عصاره شش نوع ورمی‌کمپوست، به‌عنوان محیط پایه در کشت میخک استفاده کردند و نتایج بدست آمده نشان داد که عصاره‌های ورمی کمپوست پتانسیل بسیار بالایی برای استفاده از این زمینه دارند. در همه محیط‌های با پایه ورمی کمپوست، کم‌وبیش باززایی و رشد مشاهده گردید و بهترین نتیجه از محیط حاوی عصاره ورمی‌کمپوست باگاس نیشکر بود. بررسی امکان استفاده از کودهای آلی مختلف، در صورت ایجاد واکنش رشدی مطلوب، می‌تواند در آینده ترکیب‌های جدید و ارزان‌قیمتی را برای غنی‌سازی محیط کشت بافت گیاهی معرفی نماید. ازاین‌رو، تأثیر غنی‌سازی محیط کشت بافت با کود آلی

هیومکس، که طبق ادعای شرکت سازنده دارای اثرات محرک رشد و باززایی گیاهی می‌باشد در یک گیاه مدل (اطلسی) مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر، در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. گیاهان خانواده سولاناسه (Solanaceae) معمولاً رشد مطلوبی در شرایط درون شیشه‌ای دارند به همین دلیل از گیاه اطلسی (*Petunia hybrida*) به‌عنوان گیاه مدل استفاده شد. ابتدا بذرهای گیاه اطلسی در محیط کشت ½ MSفاقد تنظیم‌کننده رشد کشت شدند تا مواد گیاهی سترون حاصل شود. (به‌منظور ضدعفونی سطحی بذرها از وایتکس ۲۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه و اتانول ۷۰٪ به مدت ۴۵ ثانیه استفاده شد). یک ماه پس از رشد، ریزنمونه‌های دوبندی از گیاهچه‌های درون شیشه‌ای تهیه شد و چندین نوبت متوالی روی محیط کشت MS+BA(1) + IBA (0.25) mg/l بازکشت شد تا تعداد زیادی گیاهچه سترون برای انجام آزمایش اصلی حاصل شد. به‌منظور ارزیابی اثرات کود آلی اضافه شده به محیط کشت، ریزنمونه‌های دوبندی از کشت‌های سترون که در مرحله قبل آماده شده بودند، تهیه و روی محیط‌های کشت MS یا ½ MS حاوی غلظت‌های ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر کود آلی هیومکس (ساخت شرکت آماگرو[1] کشور جمهوری چک) بازکشت شدند (جدول ۱).

جدول ۱. تیمارهای مورد استفاده در ارزیابی واکنش نمونه‌های گیاه اطلسی به کود آلی هیومکس.

تیمار	محیط پایه	تنظیم‌کننده رشد (mg/l)	کود آلی هیومکس (mg/l)
شاهد	MS	BA(1), IBA (0.25)	-
۱	MS	BA(1), IBA (0.25)	۵۰۰
۲	MS	BA(1), IBA (0.25)	۲۵۰
۳	½ MS	BA(1), IBA (0.25)	۵۰۰
۴	½ MS	BA(1), IBA (0.25)	۲۵۰

نمونه‌ها به مدت چهار هفته در شرایط بهینه اتاق رشد قرار گرفته تا پرآوری نمایند. سپس صفاتی نظیر وضعیت ظاهری رشد نمونه‌ها (ارزیابی مشاهده‌ای)، تعداد شاخه و برگ، میزان سبزینگی نمونه‌ها اندازه‌گیری و ثبت گردید. داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تکرار تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱و۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد.

نتایج و بحث

به‌طورکلی به مواد بدست آمده از فضولات حیوانی، ضایعات گیاهی و زباله‌ها کود آلی گفته می‌شود. کود آلی یا کمپوست از فعالیت میکروارگانیسم‌های خاص و تخمیر ضایعات کشاورزی و کود دامی و زباله‌های شهری تولید می‌شود. این کود بدون ایجاد کوچک‌ترین زیانی برای خاک و محیط‌زیست می‌تواند سبب افزایش حاصلخیزی خاک گردد. کود آلی علاوه بر شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک، با افزایش عملکرد باکتری‌های مفید موجود در خاک سبب تولید هوموس یا اسید هیومیک در خاک می‌شود. در سال‌های اخیر فرم‌های بسیار خالص کودهای حاوی هیومیک اسید وارد بازار شده که غالباً تحریک‌کننده رشد گیاه هستند.

در مطالعات کشت بافت و ریزافزایی گیاهی، اجزای محیط کشت نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان رشد، پرآوری و باززایی درون‌شیشه‌ای نمونه‌های گیاهی دارد. افزودن برخی ترکیب‌های آلی(غنی‌سازی محیط کشت) موجب رشد و ریخت‌زایی بهتر برخی نمونه‌های گیاهی می‌شود. در پژوهش حاضر، افزودن کود آلی هیومکس به محیط کشت گیاه اطلسی، تغییرات مثبتی را

[1]. amagro (www.amagro.com, Czech Republic).

نشان داد که برخی از آن‌ها قابل توجه است. تجزیه واریانس برخی از داده‌های مربوط به صفات رشدی گیاه اطلسی پس از غنی‌سازی محیط کشت با کود آلی هیومکس در جداول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف کود هیومکس بر صفات درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های گیاه اطلسی

منابع تغییرات	df	تعداد برگ	تعداد شاخه فرعی	سطح برگ	کیفیت ظاهری	میزان سبزینگی
تکرار	۵	۱۱۴۶/۹۳ ns	۱۲۸/۸۰ ns	۰/۳۰ ns	۰/۱۵*	۶۴/۲۴**
تیمار	۴	۲۸۶۴/۹۲*	۱۰۳۲/۲۸**	۰/۹۳ ns	۲/۲۲**	۱۰۴۰/۳۰*
خطای کل	۲۹	۱۵/۰۳	۲۵/۳	۰/۹۷	۰/۲۶	۵۵/۰۴
ضریب تغییرات		۲۰/۳۵	۱۴/۴۷	۲۶/۶۲	۱۳/۷۰	۲۰/۳۲

**، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱٪ ، ۵٪ و عدم تفاوت معنی‌دار می‌باشد

با توجه به جدول ۱ تأثیر غلظت‌های مختلف هیومکس در سطح احتمال ۵٪ بر فاکتور تعداد برگ و میزان سبزینگی و در سطح احتمال ۱٪ بر فاکتورهای تعداد شاخه فرعی و کیفیت ظاهری معنی‌دار بوده است. نتایج مقایسه میانگین جدول۳ نشان داد که هرچند در مورد برخی از صفات روند ثابتی مشاهده نشده است ولی در مجموع افزودن کود آلی صفات رشدی گیاه اطلسی را بهبود بخشیده است. تیمار چهار بیشترین تأثیر را در افزایش تعداد برگ داشته است و کمترین تعداد برگ نیز مربوط به تیمار ۱ بوده است. بیشترین تعداد شاخه فرعی مربوط به تیمار چهار و سپس تیمار دو و کمترین تعداد مربوط به تیمار سه بوده است. اما از لحاظ تعداد شاخه فرعی بین تیمار یک و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. همچنین بین تیمارهای مختلف هیومکس و شاهد تفاوت معنی‌داری از لحاظ سطح برگ وجود نداشت. بر اساس نتایج، بهترین کیفیت ظاهری نیز مربوط به تیمار یک و کمترین کیفیت مربوط به تیمار چهار بوده است. همچنین نمونه‌های تحت تیمارهای یک و سه بهترین میزان کیفیت سبزینگی را دارا بودند و بین سایر تیمارها از این لحاظ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. این نتایج حاکی از آن است که گیاهچه‌های درون شیشه‌ای اطلسی از ترکیبات آلی موجود در کود آلی هیومکس برای فرآیند رشد و نمو استفاده کرده است و سرعت این فرآیندها به دلایل ذکر شده در بالا افزایش پیدا کرده است.

جدول ۲. مقایسه میانگین کاربرد کود آلی هیومکس بر برخی صفات رشدی گیاه اطلسی (*Petunia hybrida*).

تیمار	تعداد برگ	شاخه فرعی	سطح برگ Cm^2	کیفیت ظاهری	میزان سبزینگی
شاهد	۹۵/۸۳ab	۲۷/۸۳bc	۳/۳۳a	۳/۹۲b	۲/۰b
۱	۶۹/۶۷b	۳۱/۵۰bc	۴/۰۰a	۴/۵۸a	۵/۰a
۲	۱۰۴/۵۰ab	۴۲/۶۷ab	۳/۹۲a	۳/۷۵b	۲/۵b
۳	۷۸/۳۳ab	۲۲/۰۰c	۳/۲۵a	۳/۵۰b	۴/۰a
۴	۱۲۵/۰۰a	۵۵/۰۰a	۴/۰۱a	۲/۹۲c	۳/۰b

شکل ۱. تصویری از رشد گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای اطلسی، ۴ هفته پس از واکشت روی محیط کشت‌های منتخب (به ترتیب از راست به چپ تیمار شاهد و تیمارهای ۱ تا ۴ نشان داده شده است).

اثرات مثبت مشاهده شده در این پژوهش با آنچه قبلاً توسط برخی پژوهشگران گزارش شده است همخوانی دارد. مثلاً افزودنی‌های آلی به محیط کشت گیاهان ارکید سبب افزایش تعداد برگ و شاخه آن‌ها شد (Akter*et al*., 2007) و یا در نمونه های نخل خرما (Al-khateeb, 2008) اندازه جنین رویشی در اثر کاربرد این گونه مواد بزرگ‌تر گزارش شده است. تأثیر غنی‌سازی محیط کشت بافت گیاه انگور با صمغ بادام نیز قبلاً گزارش شده (Khorsha, 2014) که اثرات مثبت گزارش شده، با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. در مجموع این پژوهش نشان داد که افزودن کود آلی هیومکس به محیط کشت اثرات مثبتی دارد که پیشنهاد می‌گردد به‌منظور بهینه‌سازی یک محیط کشت پایدار، افزودن آن به محیط کشت سایر گیاهان، از جمله گیاهان باارزش باغبانی که برخی از آن‌ها رشد درون شیشه‌ای مطلوبی ندارند انجام شده و اثرات آن ارزیابی شود.

منابع

ترابی، م. و مسیحا، س. ۱۳۸۴. استفاده از عصاره ورمی کمپوست‌های مختلف به‌عنوان محیط پایه در کشت درون شیشه‌ای انتهای شاخساره میخک. چهارمین کنگره باغبانی.

Akter, S., Nasiruddin, K.M., Khaldun, A.B.M., 2007. Organogenesis of *Dendrobium*orchid using traditional media and organic extracts.Journal of Agriculture and Rural Developement. 5(1&2): 30-35.

Alizadeh, M. 2011. A user manual on plant tissue culture and micropropagation.Nowrozi Publications, Gorgan, Golestan, Iran. (In Persian)

Badoni, A. and chauhan, J. s. 2011. Some ofcheaper Alternatives to Ms Media for in vitro culture of potato.Libyan Agriculture Research Center Journal International12. 4: 161167

Ogero, K.O., Gitonga, N.M. Mwangi, M., Ombori, O. and Ngugi, M. 2011. Response of two swetpopato varieties regenerated on low cost tissue culture medium. In African Crop Science Conference Proceedings. 10: 411415

Al-khateeb, A.A. 2008. Comparison effects of sucrose and date palm syrup on somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). American Journal of Biotechnology and Biochemisty. 4(1):19–23.

Khorsha, S., 2014. Feasibilty of application of apricot gum in grapevine tissue culture and micropropagation media.MSc thesis, College of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural resources, Gorgan, Iran.

The Positive Response of Petunia Explants to Media Enriched with Humax® Organic Fertilizer

Mahdi Basiri[1], Mahdi Alizadeh[2]*, Esmaeil Seifi[2], Seyyed Javad Mosavizadeh[2]
[1] MSc student of Horticulture, Gorgan University of Agricultural sciences & Natural Resources.
[2*]Academic members, Horticulture Department, Gorgan University of Agricultural sciences & Natural Resources.
*Corresponding Author: mahdializadeh@gau.ac.ir

Abstract

The humic materials are produced as a result of final decomposition of any organic matter under particular conditions as well as special microorganisms. Organic fertilizers have usually the stimulating growth properties and their positive effects in plant growth improvement have been previously confirmed. The present research work was undertaken in plant tissue culture laboratory, Horticulture department, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources. In the present study, the petunia was utilized as model plant and its sterile explants were inoculated on media fortified with either 250 or 500 mg/l of Humax® organic fertilizer. Then, growth rate and some morphophysiological parameters were measured. The results revealed that petunia samples showed positive response to media supplemented with organic fertilizer as the shooting, number of leaves and leaf area were improved in all fertilizer treatments as compared to control. In overall conclusion, addition of 500 mg/l Humax fertilizer to the standardized petunia media culture may improve shooting and leaf numbers and led to the highest qualitative performance and greenish stature. So, it can be considered as an effective treatment and may be evaluated in some other plants. Though observation of positive effects of Humax-enriched media in the present study, recommendation for application of such ingredients as a constant part of media culture needs to further complementary experiments.

***Keywords*: Humax organic fertilizer, tissue culture, medium, Petunia.**