تاثیر Fe-EDDHA بر روی نو ساقه زایی درون شیشه‌ای پایه رویشی GXN15 (هیبرید هلو × بادام)

محمدمهدی عرب [1]، عباس یداللهی [2*]، سید مهدی حسینی مزینانی [3]، شورش ملکی‌قوجه [1]

دانشجویان کارشناسی ارشدگروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

3- دانشیار گروه ژنتیک ملکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

1- نویسنده مسئول: Yadollah@modares.ac.ir

چکیده

صنعتی کردن باغات سنتی هلو و شلیل و بادام به منظور افزایش عملکرداین درختان در کشور امری مهم است؛ و برای دست یابی به این هدف تکثیر پایه GXN15 در حجم زیاد و مدت زمان کم از طریق کشت بافت به عنوان پایه برای هلو، شلیل و بادام امری ضروری می‌باشد.در این پژوهش به منظور افزایش نوساقه‌زایی و همچنین تولید نوساقه هایی با کیفیت بهتر FeEDTA حاضر در محیط کشت پایه MS با FeEDDHA جایگزین شده است واثرات دو نوع کلات مختلف آهن بر روی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای پایه رویشی GXN15 مورد بررسی قرار گرفته‌است. بدین منظور از 3 غلظت (100،150 و 200 میلی گرم در لیترFeEDDHA) در مقایسه با FeEDTA به عنوان شاهد در قالب طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 5 ریز نمونه استفاده گردید. تیمار $^{mg}/_{l}$ FeEDDHA200بالاترین میزان نوساقه زایی در میان سایر تیمارها نشان داد و بین سایر تیمارها تفاوت معنی داری وجودنداشت و همچنین بالاترین ارتفاع نیز در تیمار $^{mg}/_{l}$ FeEDDHA200مشاهده گردید. نتایج این مطالعه حاکی از این است که جایگزینیFeEDTA با FeEDDHA در محیط کشت به صورت معنی داری تعداد، ارتفاع و کیفیت نوساقه‌های حاصله را بهبود بخشید.

کلمات کلیدی: GXN15، نوساقه‌زایی، FeEDTA، FeEDDHA

مقدمه

آهن یکی از عناصر ریزمغذی گیاهی ضروری می‌باشد، که نقش کلیدی در واکنش‌های متابولیکی سلول‌های گیاهی مخصوصا بیوسنتز کلروفیل دارد. بنابراین کمبود آن به شدت سبب محدودیت رشد و توسعه گیاه می‌گردد. بسیاری از مسیرهای متابولیکی متکی بر آنزیم-های روکس آهن شامل زنجیره انتقال الکترون فتوسنتز و تنفس (ترکیبات پورفین از قبیل پریدوکسین و سیتوکروم)، بیوسنتز DNA (ریبونوکلئوتیدردوکتاز)، لیپیدها (لیپوکسی ژناز)، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از قبیل اکسین و اتیلن (1-آمینوسیکلوپروپان-1-کربوکسیلیک اسید اکسیداز)، سمیت زدایی گونه‌های اکسیژن فعال (کاتالاز و سوپر اکسید دسموتاز) و تثبیت نیتروژن (نیتریت و نیترات ردکتاز) نیازمند آهن می باشند(Curi et al., 2009). آهن برای فعال سازی پراکسیداز که واسطه کاتابولیسم ایندول-3- استیک اسید ضروری می‌باشد.آهن در فرم غیرآلی خودش تقریبا نامحلول و بنابراین به ندرت در ریشه‌ی گیاهان موجود می‌باشد. در محیط کشت MS (موراشینگ و استوگ 1962) آهن به فرم FeEDTA به کار برده شده است. این فرم آهن پایدار نیست و آهن آزاد شده به سرعت غیر قابل دسترس برای بافت گیاهی می‌گردد.کمبود یا تغییر PH محیط کشت منجر به کاهش در دسترس بود آن، جلوگیری از رشد شاخه‌ها و کاهش سنتز رنگدانه‌های کلروپلاست می‌گردد(Lombardi et al., 2003).به عبارت دیگر جایگزینی FeEDTA با مقدار معادل(مشابه) FeEDDHA اثرات مثبتی در ریزافزایی و کاهش کلروز گونه‌های مختلف گیاهی داشته است. قابلیت فسفاته شدن FeEDDHA در رنج وسیعی از PH به علت پتانسیل پایین اکسیداسیون از FeEDTA بالاتر است(Gomez, 2005).

جذب آهن به صورت آهسته (نسبتا به آرامی) از سطح ریزنمونه در تماس با محیط کشت صورت می‌گیرد بنابران فرم‌های پایدار، در دسترس بودن آهن برای گیاه را افزایش می‌دهند. حضور FeEDDHA در محیط کشت توانایی نوساقه‌زایی جوانه‌های جانبی همچنین آغازش شاخه‌های نابجا، ریشه‌دهی و جنین‌زایی سوماتیک را افزایش داده است. به هر حال اضافه نمودن آهن به محیط کشت به شکل FeEDDHAهیدراسیون مضاف (آبکی شده بافت‌ها) را کاهش داده و سطوح کلروفیل را افزایش می‌دهد و کیفیت نوساقه‌ها را بهبود می‌بخشد(Christense et al., 2008).

مواد و روش ها

در این آزمایش از گیاهچه‌های GXN15 که در واکشت سوم بودند استفاده گردید.ابتدا 4 نوع محیط MS مختلف شامل3 غلظت متفاوت (۱۰۰،۱۵۰ و 200 میلی گرم در لیترFeEDDHA) در مقایسه با FeEDTA به عنوان شاهد در قالب طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 5 ریز نمونه تهیه گردید. در تمامی محیط‌ها میزان شکر $30\ gr/l$ و میزان آگار $7,2\ gr/l$ استفاده شد. و pH محیط‌ها بر روی 2±5,75 تنظیم گردید و به مدت 25 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1,2 بار اتوکلاو گردیدند. پس از تهیه محیط‌ها واکشت مجدد گیاهانی که در واکشت سوم بودند انجام گردید و نوساقه ها بر روی محیط های جدید کشت گردیدند. بعد از اتمام کشت نمونه ها به داخل فیتوترون(اتاقک رشد) با شرایط دمایی 2±24 و دوره‌ی نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و همچنین شدت نور 2500 تا 3000 لوکس انتقال داده شدند. بعد از گذشت 5 هفته ازکشت صفات ارتفاع نوساقه ها، تعداد نوساقه های جدید، میزان کالوس اندازه گیری شدند.

نتایج و بحث

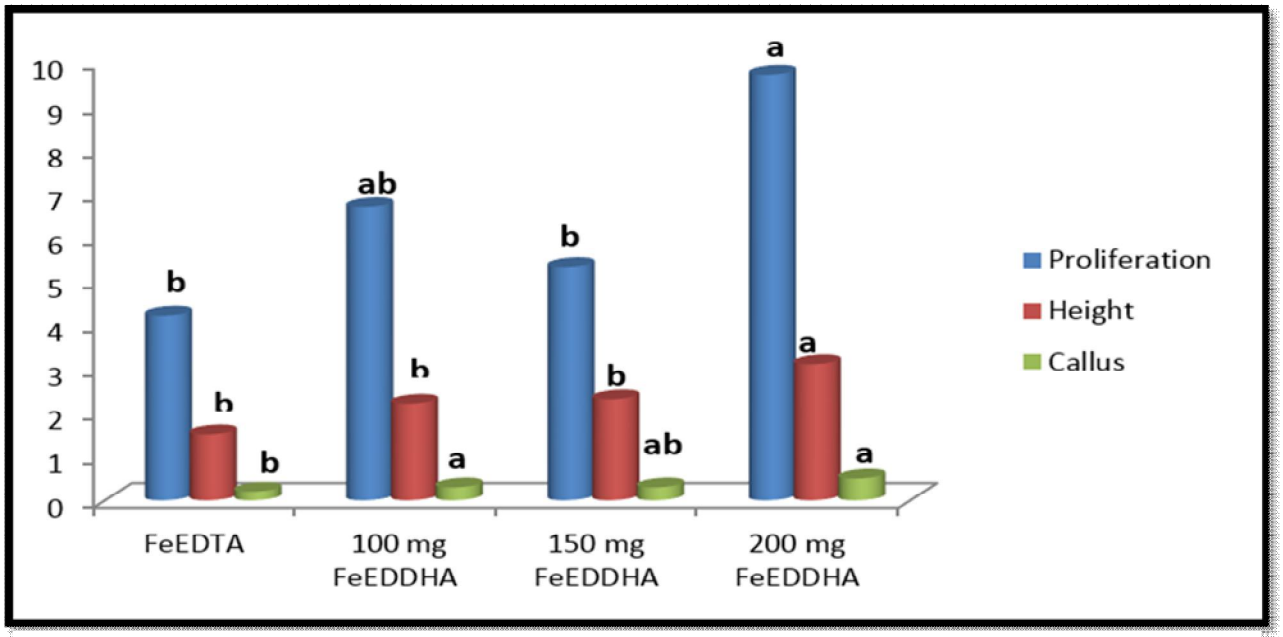
گزارشات متعددی در واکنش گونه های گیاهی مختلف به انواع مختلف کلات‌های آهن وجود دارد، و نیازهای متفاوت گیاهان به آهن ناشی از تفات های ژنتیکی و توانایی‌های مختلف استخراج آهن از کلات های مختلف می‌باشد(Christensen et al., 2008). نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد، استفاده از مقادیر متفاوت FeEDDHA در مقایسه با تیمار شاهد که شامل FeEDTA بود به طور معنی داری سبب افزایش نوساقه‌زایی و همچنین افزایش ارتفاع نوساقه‌ها گردید(نمودار1).این نتایج با یافته‌های(Trejgell et al., 2012) مغایرت داشت آنها نشان دادند، جایگزینی FeEDTA با FeEDDHA نه تنها میزان نوساقه‌زایی را در گیاه(Carlina onopordifolia Besser) افزایش نداد، بلکه سبب کاهش نوساقه زایی در این گیاه گردید. تحقیقات انجام شده نشان دادند که کلات آهن FeEDTAپایدار نیست و در pH=5,8به مقدار50. از این ماده از بین می‌ورد(Antonopoulou et al., 2007)در نتیجه به نظر می رسد که تاثیر بیشتر FeEDDHA در نوساقه‌زایی پایه رویشی GXN15 به علت پایداری بالاتر ودسترسی بیشتر و آسان تر گیاه به آن می‌باشد.

جدول 1- تجزیه واریانس اثر مقادیر مختلف FeEDDHA بر طول نوساقه ، تعداد نوساقه و میزان کالوس

		میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد نوساقه	طول نوساقه	وزن کالوس
FeEDDHA	3	**33,708	**2,456	*0,109
خطای آزمایش	20	4,64	0,231	0,020
کل	23			

** وجود اختلاف بسیار معنی دار در سطح 1 درصد

* وجود اختلاف معنی دار در سطح 5 درصد



نمودار1 تاثیر غلظت های مختلف FeEDDHA بر روی نوساقه زایی و طویل سازی نوساقه‌ها

منابع

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. andPapadaksi, I. (2007). The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on in vitro rooting of the peach rootstocks GF677 explants. ActaPhysiol. Planta, 38:23-28.

Bhojwani, S.S., Mullins, K. and Cohen, D. (1984). Intra-varietal variation for in vitro plant regeneration in the genus Trifolium. Euphytica, 33: 915-921.

Trejgell, A., Libront, I and Treyn, A. (2012). The effect of Fe-EDDHA on shoot multiplicationand in vitro rooting of Carlina onopordifolia Besser. ActaPhysiol Plant 34:2051–2055.

Christensen, B., Sriskandarajah S, Serek M, Mu ¨ller R (2008) Invitroculture of Hibiscus rosa-sinensis L.: Influence of iron, calciumand BAP on establishment and multiplication. Plant Cell TissOrg Cult 93:151–161.

Curie, C., Cassin, G., Couch D, Divol F, Higuchi K, Le Jean M., MissonJ, Schikora, A., Czernic, P. and Mari, S. (2009) Metal movement withinthe plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like. Ann Bot 103:1–11.

Go ´mez-Gallego, M., Pellico, D., Ramı ´rez-Lo ´pez, P., Manchen ˜o MJ,Romano, S and de la Torre MC, Sierra MA (2005) Understanding ofthe mode of action of FeIII-EDDHA as iron chlorosis correctorbased on its photochemical and redox behavior. ChemEur J11:5997–6005

Effect of Fe-EDDHA on in vitro proliferation of GXN15 root-stock (hybrid of almond × peach)

M.M. Arab1, A. Yadollahi2*, S.M. Hosseini-Mazinani3and S. Maleki Ghojah1

1- MSc student, Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

2-Assistant Professor, Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

3-Associate Professor, Departman of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology (NIGEB) Corresponding author: Yadollah@modares.ac.ir

Abstrac

The industrialization of traditional peach, nectarine and almond orchards is considered as a great importance in order to enhance yield; And to achieve this objective the micro-propagation of GXN15 as a vigor root stock through tissue culture in a high scale and short period of time is essential for high density peach, nectarine and almond orchards. FeEDTA presented in MS basal medium was replaced by FeEDDHA; and the effects of two types of iron chelate on in vitro GXN15 root-stock proliferation has been studied. Thus three concentrations (100, 150 and 200 mg/l FeEDDHA) as control treatment in completely randomized design with 6 replications and 5 sub-samples for each replication were used compared to FeEDTA. . FeEDDHA 200 mg/l treatment showed the highest proliferation among other treatments and the other treatments did not differ significantly And also the most height was observed in the treatment FeEDDHA 200 mg/l.The results indicate that the replacement of FeEDTA with FeEDDHA in medium has improved the number, quality and height of resulting micro-shoots significantly.

Keywords: GXN15, Proliferation, FeEDTA, FeEDDHA