

بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف آهن بر میزان کلروفیل و طول شاخساره انگور در محیط درون شیشه‌ای

مرضیه بیات¹، مهدی علیزاده²، کامبیز مشایخی²

1- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی باغبانی (میوه کاری). 2- عضو هیئت علمی گروه باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

چکیده

کمبود آهن در بسیاری از نقاط دنیا و ایران در درختان میوه مختلف گزارش شده است. از جمله مزایای مطالعه نقش آهن در شرایط درون شیشه این است که چون در این روش عوامل محیطی به طور کامل قابل کنترل است، تاثیر این عوامل بر نتیجه حاصله، بسیار ناچیز بوده و نتایج دقیقتر و قابل اطمینانی بدست خواهد آمد. پژوهش حاضر بر روی گیاه انگور در محیط درون شیشه انجام شد و تاثیر 5 غلظت مختلف آهن (استاندارد، 0، 0.5، 2، 10 برابر غلظت آهن در محیط استاندارد) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت 10 برابر آهن به دلیل سمیت شدید، هم در مرحله استقرار و هم در مرحله ریشه زایی باعث خشک شدن تمامی ریزنمونه های مورد استفاده در فاصله چند روز پس از کشت گردید. ارزیابی نتایج 30 روز پس از انجام کشت صورت گرفت. در تیمارهایی که غلظت آهن آنها از حد استاندارد کمتر بود علائم کمبود آهن نمایان شد. این علائم با زرد شدن حاشیه و نوک برگهای جوان شروع و بتدریج تمام صفحه برگ را پوشاند و در مرحله شدیدتر رنگ زرد تبدیل به سفید گردید. در تیمار دو برابر آهن که غلظت آن بیشتر از حد استاندارد بود، مسمومیت آهن بوجود آمد که باعث کوتاه شدن فاصله میانگره، کوچک شدن برگ و به طور کلی کاهش اندازه گیاه گردید. تاثیر غلظت های آهن بر سایر جنبه های ریزازدیادی انگور هم اکنون در آزمایشگاه مربوطه ادامه دارد.

واژه های کلیدی: ریزازدیادی، آهن، عناصر کم مصرف، انگور

مقدمه

انگور یا مو با نام علمی *Vitis* یکی از گیاهان دولپه بوده که مهمترین گونه آن *vinifera* است. این گیاه از خانواده *Vitaceae* یا آمپلیداسه می باشد. تکنیک ریزازدیادی به عنوان ابزاری کارآمد در تکثیر انبوه بسیاری از درختان میوه، گیاهان زینتی و جنگلی مورد استفاده قرار گرفته است (علیزاده، 1390).

یکی از عناصر کم مصرفی که در محیط کشت گیاهی استفاده می شود آهن می باشد. آهن کوفاکتور آنزیمی است که اغلب به صورت کلات (مانند $Fe Na_2 EDTA$) تهیه می شود تا به طور کامل قابل حل و در محیط کشت با pH قلیایی نیز در دسترس باشد (طباطبایی و امیدی، 1390). آهن در ساخت کلروفیل نیز به کار می رود بنابراین علائم کمبود آن به صورت کلروز بین رگبرگ بروز می کند. وقتی نشانه های کلرز بروز کند، جوانه های میوه توسعه کمی پیدا می کنند و عملکرد و کیفیت میوه کاهش می یابد (Tagliavini, 2001).

کشت بافت گیاهی به عنوان یک تکنیک پایه در مطالعات مهندسی ژنتیک و بیو تکنولوژی گیاهی مطرح بوده و بیشتر این تکنیکها بدون یک روش استاندارد کشت بافت گیاهی قابل اجرا و استفاده نیستند. ریزازدیادی که خود یکی از جنبه های کشت بافت گیاهی است عبارت است از ازدیاد یک گونه گیاهی در محیط درون شیشه ای با استفاده از قسمت ریزی از گیاه که ریز نمونه نامیده می شود (علیزاده، 1390).

غلظت آهن در محیط کشت MS، 36،70 میلی گرم بر لیتر است. که احتمالاً تغییر آن در مراحل ریزازدیادی یک گونه خاص گیاهی نیز تاثیر گذار خواهد بود. در این زمینه تاثیر آهن $Fe EDTHA$ روی ریشه دهی رقم GF677 (هیبرید بادام و هلو) در شرایط درون شیشه بررسی شده که نتایج نشان داده است با افزایش غلظت آهن از صفر تا 0،20 (mM) تعداد ریشه افزایش یافته

است (Molassiotis et al., 2003). همچنین در گیاه شمعدانی تاثیر غلظتهای مختلف آهن، نشان داد که سمیت آهن باعث کوچک شدن اندازه برگ و بطور کلی اندازه گیاه می شود (Fisher and Agro, 2001).

مواد و روشها

پژوهش حاضر در انگور رقم ریش بابا و در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در سال 1391 انجام گردید. جهت انجام مراحل ریزازدیادی از پروتوکول ویژه ریزازدیادی انگور که قبلا توسط علیزاده و همکاران (2010) بهینه و گزارش شده، استفاده شد. درر پروتوکول مذکور، محیط کشت پایه MS وریز نمونه تک گره ساقه مورد استفاده قرار گرفته که در این پژوهش نیز عینا استفاده شد، با این تفاوت که علاوه بر غلظت استاندارد آهن (36,70 میلی گرم در لیتر)، غلظتهای مختلف آهن (صفر، 0,5، 2، و 10 برابر غلظت استاندارد آهن) در حین تهیه محیط کشت افزوده شدند و نتایج حاصله در مراحل ریزازدیادی و به فاصله 30 روز پس از کشت مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و طرح کاملا تصادفی با 4 تیمار و 4 تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

آهن به عنوان یک عنصر کم مصرف در تمامی محیط های کشت بافت وجود دارد. عدم استفاده و یا اشتباه کاربران کشت بافت گیاهی به هنگام افزودن آهن به محیط کشت ممکن است منجر به بروز کلرز و رشد غیرطبیعی گیاهیچه های درون شیشه ای شود. در پژوهش حاضر ابتدا پروتوکول ریزازدیادی انگور که قبلا توسط علیزاده و همکاران (2010) گزارش شده استفاده شد و نتایج نشان داد که انگور رقم ریش بابا واکنش مطلوبی به محیط های پیشنهادی نشان می دهد و امکان تکثیر انبوه آن در شرایط درون شیشه ای وجود دارد. پس از گذشت 30 روز از اعمال تیمارها، نمونه هایی که پرآوری داشتند بصورت تصادفی از محیط کشت خارج و تاثیر غلظتهای مختلف آهن بر میزان سنتز کلروفیل آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز داده ها نشان داد که غلظت آهن بر میزان سنتز کلروفیل تاثیر معنی دار داشته است.

جدول 1. مقایسه میانگین تاثیر غلظتهای مختلف آهن بر میزان سنتز کلر فیل و طول شاخساره گیاهیچه های درون شیشه ای انگور رقم ریش بابا

طول شاخساره	میزان کلرفیل (mg.g- FW)	غلظت آهن (mg.l-)
		(mm)
	0.3742 bc	0
		36.66a
	0.3495c	18.3
		31.92 ab
	0.7180a	36.7
		35.00a
b	0.6754ab	73.4
		21.73

اعداد دارای حروف مشترک در ستون مربوط به کلرفیل در سطح 0,01 و در ستون مربوط به شاخساره در سطح 0,05 اختلاف معنی داری ندارند.

چنانچه گیاهان در شرایط کنترل شده رشد کنند (برای مثال در محلولهای غذایی)، هنگامی که میزان آهن (به صورت کلات) از میزان مطلوب کمتر باشد، همبستگی مثبت نزدیکی میان میزان کل آهن برگ ها و میزان کلرفیل وجود دارد (هورست مارشتر، 1380) این موضوع با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. وجود بیش از حد آهن در محیط کشت نیز سبب کمبود روی می شود. EDTA آزاد در محیط کشت با عنصر روی ترکیب و سبب کمبود آن می شود. (بدر الدین و طباطبایی، 1390). احتمالاً علت کاهش میزان کلرفیل در غلظت 73/4 به همین دلیل باشد. علاوه بر این مقایسه میانگین ها نشان داد که طول شاخساره تحت تاثیر غلظت آهن قرار می گیرد. کمترین طول شاخساره در غلظت 73/4 ایجاد شد، که به دلیل سمیت ایجاد شده در این غلظت می باشد که این نتایج با نتایج Fisher and Agro, (2001) مطابقت دارد. همچنین این نتایج با نتایج آزمایشی که Nenova (2006) بر روی نخود فرنگی انجام داد مطابقت دارد. شکل 1 طول شاخساره و رنگ عمومی گیاهچه ها را در غلظت های مختلف آهن نشان میدهد.

شکل 1. تاثیر غلظت های مختلف آهن (mg.l⁻¹) بر میزان طول شاخساره و رنگ گیاهچه های درون شیشه ای انگور رقم ریش بابا)



Fe=0

Fe= 18,3

Fe=36,7

Fe=73,4

منابع

- سیفی، محمد رضا (1389). انگور (کاشت، داشت و برداشت)، انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی سید طباطبایی، بدر الدین ابراهیم؛ امیدی، منصور (1390). کشت بافت و سلول گیاهی، انتشارات دانشگاه تهران
- علیزاده، مهدی (1390). راهنمای کاربران کشت بافت گیاهی و ریز ازدیادی، انتشارات نوروزی، گرگان
- مارشتر، هورست؛ (1996-1929). تغذیه معدنی گیاهان عالی، انتشارات دانشگاه شیراز
- Alizadeh, M., S.K. Singh and V. B. Patel. 2010. Comparative performance of in vitro multiplication in four grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes. *International J. of Plant Production*. 4(1): 57-66.
- Fisher, P. R ;Argo, W.R.(2001).A nutritional program for geranium and other crops prone to iron and manganese toxicity at low media pH.22:1-13
- Molassiotis,A.N.,Dimassi,K.,Therios,I.,Diamantidis,G.(2003/4),Fe EDDHA promotes rooting of rootstock GF-677 explant in vitro.*Biologia Plantarum* .47(1):141-144.
- Nenova,v.(2006).Effect of iron supply on growth and photosystem II efficiency of pea plants,plant physiology,special issue 81-90

Tagliavini, M.; Rombola, A. D. (2001). Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystem. European Journal of Agronomy 15(2001)71-79

The effect of various Iron levels on chlorophyll and shoot length of grapevine plantlets under in vitro conditions

M. Bayat *, M. Alizadeh and K. Mashayekhi

1. MSc Student of Horticulture, 2. Academic members, Gorgan university of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

Abstract

Iron deficiency has been reported in various fruit crops all over the world. The study of Iron levels on plant growth under in vitro conditions is more advantageous due to low interference of environmental factors, so more accurate and reliable results may be obtained. The present research work was undertaken on grapevine plants under in vitro conditions and the influence of five different Iron concentrations (0, 1/2, 2 and 10 times of standard level) was examined. Due to extreme toxicity of 10 times the concentration of iron, all the inoculated explants were died during culture establishment as well as rooting stages, within a few days after inoculation. The data were collected 30 days after inoculation. Iron deficiency was detected in all samples cultured on media supplemented with iron concentration of less than standard. The symptoms were observed as yellow margins of the young leaves that were further developed to the whole leaf blade. The full leaf was turned white in advanced stages. When the applied iron level was increased to 2 times of standard, iron toxicity was enhanced and led to shortening of internodes, small sized leaves and a general reduction in the size of the microplantlet. The effect of iron micronutrient on other micropropagation aspects of the grapevine is under study in our tissue culture lab.

Keywords: Micropropagation, Iron, Micronutrients, Grapevine