کنترل آلودگی باکتریایی گل رز رقم دولسویتا در شرایط درون شیشه‌ای

صابرشکری[۱]، علیرضا بابایی[۲]، مرضیه احمدیان[۱]، محمدمهدی عرب[۱]

۱-دانشجویان کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، ۲-استادیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

نویسنده مسئول: arbabaei@modares.ac.ir

چکیده

گل رز به عنوان اولین و مهمترین گل شاخه بریده در جهان مطرح می‌باشد. یکی از روش‌های رایج در تولید انبوه این گیاه تکثیر از طریق کشت بافت می‌باشد. مهمترین عامل محدود کننده کشت بافت گل رز، آلودگی‌های باکتریایی و قارچی در مرحله استقرار می‌باشد که میزان قابل توجهی از ریزنمونه‌ها از بین می‌رود. اولین قدم برای موفقیت در کشت بافت این گیاه حذف آلودگی‌های قارچی و باکتریایی می‌باشد. نانوسیلور به عنوان یک ترکیب جدید ضد باکتری، قادر به کنترل و توقف آلودگی‌های باکتریایی می‌باشد. در این تحقیق کلوئیدهای نانوسیلور به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت با غلظت‌های (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام) در یک آزمایش و در آزمایش دیگر ریز نمونه‌ها در محلول نانوسیلور با غلظت‌های (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) در قالب طرح کاملا تصادفی غوطه‌ور شدند. این آزمایش در زمان مساوی با ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۴ واحد آزمایشی(۴ شیشه و هر شیشه حاوی دو ریزنمونه) انجام شد. نتایج نشان داد غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت به طور معنی‌داری میزان آلودگی باکتریایی را به حداقل رسانید . غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۲۰ دقیقه بعد از استریلیزاسیون سطحی بهترین تیمار غوطه‌وری برای کنترل آلودگی باکتریایی بود. غلظتهای بالاتر نانو سیلور باززایی ریزنمونه ها را آهسته تر می‌کند و در بعضی از موارد باعث ازبین رفتن نمونه‌ها می‌شود. به طور کلی نانوسیلور روی آلودگی قارچی بی تاثیر بود.

کلمات کلیدی: آلودگی باکتریایی، نانوسیلور، گل رز، کشت بافت،

مقدمه

گل رز .*Rosa spp* از خانواده Rosaceae یکی از مهمترین گل‌های بریدنی است که در حال حاضر ۴۰ درصد کل گل‌های بریدنی در ایالت متحده را به خود اختصاص داده و در کشورهای دیگر نیز اهمیت خاص خود را دارد. (کافی و قاسمی‌قهساره، ۱۳۸۹). در حقیقت رزها همیشه به عنوان ۳ گل اول شاخه‌بریده در جهان مطرح می‌باشند که به عنوان مورد علاقه‌ترین و متداول-ترین گل شناخته می‌شوند. بخشی به واسطه تنوع عادت رشدی گیاه و بخشی به علت خصوصیات متفاوت گل آنها، منبع ویتامین C و ترکیبات معطر می‌باشد (Anderson., 2006). به طور کلی گیاهان چوبی دارای باززایی کم و آلودگی باکتریایی و ترکیبات فنولی بالایی در شرایط درون شیشه ای تولید می کنند. امروزه نانوتکنولوژی کاربردهای گسترده ای در کشاورزی، شیمی و پزشکی دارد و مدت زمان زیادی است که مشخص شده نقره خاصیت باکتری‌کشی و قارچ‌کشی دارد و استفاده از آن در پزشکی معمول بوده است . ذرات نقره در غلظت‌های کم دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند. (Dodds and Robert, 1981). بعضی از بزرگترین خسارت‌های اقتصادی در ریزازدیادی تجارتی به طور مستقیم یا غیر مستقیم به وسیله آلودگی درونی یا محیطی کشت-های گیاهی ایجاد می‌شود (Rout *et al*., 2006). تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم نانو سیلور بعداز ضدعفونی سطحی سبب بدست آمدن بالاترین درصد ریزنمونه های غیر آلوده (۸۹ درصد) می‌شود (Abadi *et al*., 2008). اضافه کردن ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم بر متر مکعب نانوسیلور به محیط کشت آلودگی باکتریایی در محیط را کاهش می‌دهد (Anvari *et al*., 2012) هدف از این تحقیق دست یافتن به بهترین غلظت و زمان تیمار نانوسیلور برای کنترل آلودگی باکتریایی داخلی گل رز می‌باشد.

مواد و روش

این تحقیق در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در آبان ماه ۱۳۹۱ انجام شد. در این آزمایش از قطعات ساقه گره دار ۱/۵-۱ سانتیمتری بعنوان ریزنمونه استفاده شد. پس از جمع آوری و انتقال به آزمایشگاه ابتدا ریزنمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در آب و مایع ظرف شویی به همراه چند قطره توین ۲۰_ روی استیرر قرار داده شد. سپس ریزنمونه-ها به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری قرارداده شد. مرحله بعد قرار دادن ریزنمونه‌ها در محلول ۱ گرم بر لیتر قارچ کش بنومیل و در نهایت ریزنمونه‌ها همراه با قارچ‌کش به زیر هود انتقال داده شدند. پس از خارج کردن ریزنمونه‌ها از محلول قارچکش آنها را سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده و سپس در محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. بعد از ضدعفونی سطحی، تیمارهای نانو سیلور شامل غوطه‌وری در غلظت‌های (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) در زمان مساوی و در آزمایش دیگر نانوسیلور به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت با غلظت‌های (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ پی‌پی‌ام) در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۴ واحد آزمایشی (۴ شیشه و هرشیشه حاوی ۲ ریزنمونه) در دو آزمایش جداگانه انجام شد سپس ریزنمونه ها در محیط کشت MS با کار برد ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدآسکوربیت و ۵۰ میلی‌گرم اسید سیتریک کشت شدند.

بحث و نتایج

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که استفاده از نانوسیلور به صورت غوطه‌وری و به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت به طور معنی‌داری باعث کاهش آلودگی‌های باکتریایی داخلی در مقایسه با شاهد شد. به طوری که استفاده از غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت میزان آلودگی باکتریایی را از ۷۰ درصد به ۱۲/۵ درصد کاهش داد و درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در این تیمار میانگین ۸۱/۲۵ درصد بود. بالاترین درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها (۱۰۰ درصد) مربوط به تیمار شاهد بود اما به دلیل آلودگی بالا ریزنمونه‌های باززایی شده، از بین رفتند(جدول ۱). استفاده از غلظت ۲۰۰ پی پی‌ام نانوسیلور به مدت ۲۰ دقیقه به صورت غوطه‌وری بعد از ضدعفونی سطحی باعث کاهش آلودگی باکتریایی تا سطح ۲۵ درصد شد و ریزنمونه‌ها در این تیمار بیشترین باززایی را داشتند (جدول ۲). به طورکلی غلظت‌های بالاتر هرچند باعث کاهش بیشتر آلودگی می‌شوند اما باعث عدم زنده‌مانی و باززایی ریزنمونه‌ها می‌شوند. در این آزمایش مشخص شد که تیمار نانوسیلور به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت بهتر از تیمار غوطه‌وری می باشد. استفاده از غلظت ۲۰۰ پی‌پی‌ام نانوسیلور به صورت غوطه‌وری باعث کاهش الودگی باکترایی در کاج مطبق می‌شود (Samast *et al*., 2011). (عبدی و همکاران، ۲۰۰۸) گزارش کردند که ضدعفونی سطحی با نانوسیلور باعث کاهش آلودگی باکتریایی کاج مطبق می‌شود. نانوسیلور اثراتی روی آلودگی‌های قارچی نداشت.

تیمار ۱۰۰ پی پی ام نانوسیلور (افزودن مستقیم)

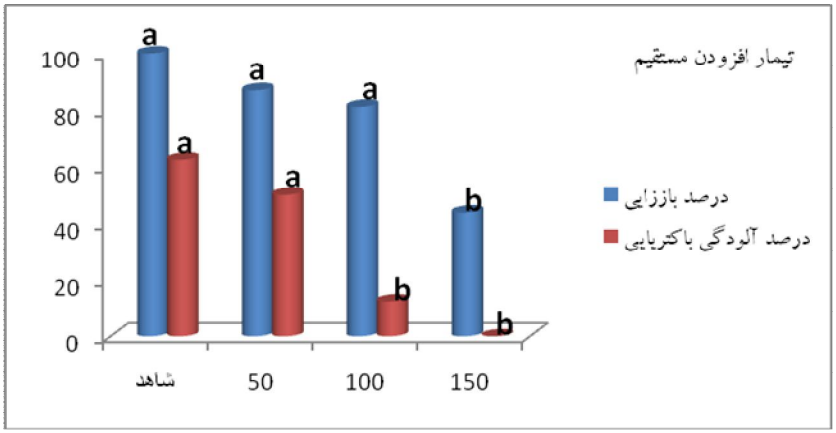
تیمار شاهد

جدول تجزیه واریانس آزمایش اثر افزودن مستقیم نانوسیلور به محیط کشت بر میزان آلودگی باکتریایی و درصد باززایی

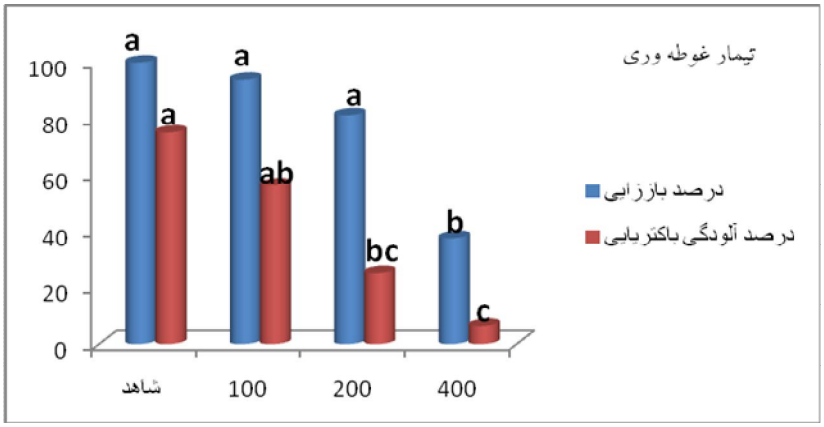
منابع تغیرات	درجه آزادی	میانگین مربعات درصد آلودگی	میانگین مربعات درصد باززایی
تیمار	۳	۳۰۵۹/۸۹۶ **	۲۳۴۳/۷۵۰ *
خطای آزمایشی	۱۲	۴۵۵/۷۲۹	۴۴۲/۷۰۸
کل	۱۵		

* معنی داری در سطح ۰۵/. و ** معنی داری در سطح ۱ درصد

جدول ۱- اثرات نانوسیلور به صورت افزودن مستقیم به محیط کشت روی درصدزنده مانی و آلودگی باکتریایی



جدول۲- اثرات نانوسیلور به صورت غوطه وری بعد از ضد عفونی سطحی روی درصدزنده مانی و آلودگی باکتریایی



منابع

قاسمی قهساره، م.، م، کافی (۱۳۸۹). گلکاری علمی وعملی، چاپ دوم. جلداول، انتشارات رضوی، ۳۱۰ ص.

Abdi, G., Salehi, H. and Khosh-Khui, M. 2008. Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (Valeriana officinalis L.) tissue culture. Acta Physiologiae Plantarum. 30: 709-714.

Anvari, S.G., Carapetian, J. and Dejampour, J. 2012. Effects of nanosilver and vancomycin in sterilization of peach× almond hybrids in the in vitro cultures. International Journal of AgriScience. 2: 457-465.

Anderson, N. O. (2006). Flower breeding and genetics: Issues, Challenges and opportunities for the 21st century, Springer Verlag

Dodds. J.H, and W.L. Roberts, 1981 Some inhibitory effectors on gentamicin on plant tissue culture. In Vitro.17:467-470.

Rout,G.R., Mohapatra, A. and Mohan, S.J.(2006) Tissue Culture of Ornamental Pot Plant:Critical Review on Present Scenario and Future Prospects. Biotechnology Advances 24:531-560.

Sarmast, M., Salehi, H. and Khosh-Khui, M. 2011. Nano silver treatment is effective in reducing bacterial contaminations of Araucaria excelsa R. Br. var. Glauca explants. Acta Biologica Hungarica. 62: 477-484.

Controlling Bacterial Contaminations of *Rosa hybrida* var, Dolsevita in *in vitro* Culture

S. Shokri,* A. R. Babaei, M. Ahmadian, M. M. Arab

Dept. of Horticultural Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran- Iran.

*Corresponding author: arbabaei@modars.ac.ir

Abstract

Rose is known as the first and the most important cut flowers all over the world. One of the common methods of mass production of this plant is propagation through tissue culture. The main limiting factor of rose tissue culture is Bacterial and fungal contaminations in the establishment phase, which makes most of explants significantly spoiled. The first step to have a successful tissue culture of Rose is eliminating of bacterial and fungal contaminations. Nano-Silver as a new bactericide material is able to control and stop the bacterial contaminations. In this experiment Nano-Silver keloeid was directly added to medium with the concentrations of (0, 50, 100 and 150 ppm) and in the other experiments explants were immersed in solutions of Nano-Silver with the concentrations of (0, 100, 200 and 400 ppm) in Completely Randomized Design (CRD). The experiments were carried out with four replications and each replication consists of four experimental units (two explants per vessel). The results showed that the concentration of 100 ppm which is directly added to the medium can reduce bacterial contaminations. Concentration of 200 ppm for 20 minutes after surface sterilization was the best treatment of immersion to control bacterial contaminations. High concentrations of Nano-Silver make regeneration of explants more and more slower and in some cases lead to destroy explants. Generally, Nano-Silver had no effects on fungal contamination.

Keywords, bacterial contaminations, nano-silver, Rose, tissue culture