

مقایسه و معرفی نتایج مطالعات حاصل از ازدیاد درختان خرما به روش‌های رویشی و ریزازدیادیمحمد اسعدی¹، حامد حسن‌زاده خانکهدانی‌زاده³ بهمن پناهی²، بهاره دامنکشان¹

1- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان. 2- عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان. 3- پژوهشگر مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان.

چکیده

کشت بافت گیاهی که بخشی از زیست فناوری محسوب می‌شود عبارت است از تولید گیاه یا گیاهانی کامل، در محیط رشد مصنوعی بدون بیماری‌زها، از یک قسمت بسیار ریز گیاه که ریزنمونه نامیده می‌شود. کشت درون شیشه‌ای باید منجر به تولید گیاهان شبیه به اصل شود. با این وجود در بین گیاهان تولید شده امکان مشاهده گیاهان غیرشبهه به اصل وجود دارد. به منظور بررسی وضعیت ناهنجاری‌های موجود در درختان خرما، رقم برخی کشت بافتی و پاجوشی تعداد 20 اصله حاصل از کشت بافت (تیمار) و 20 اصله حاصل از پاجوش (شاهد) از نظر ناهنجاری‌های رویشی و زایشی با آزمون T مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از: کوتولگی درخت، رشد بیش از اندازه درخت، سفید شدن برگ، گوناگونی رنگ برگچه، سوختگی سیاه، بدشکلی پاجوش، پیچیده شدن گل‌آذین، درصد تشکیل میوه، درصد ریزش میوه، تعداد کل گل‌های اولیه، تعداد میوه‌های بذردار، تعداد میوه‌های بکر بار، تعداد کل میوه‌های بکر بار و درصد میوه‌های بکر بار. نتایج آزمون T اختلاف معنی داری را از لحاظ صفات مورد مطالعه نشان داد. درختان کشت بافتی تعداد گل اولیه بیشتری در مقایسه با درختان پاجوشی داشتند، اما افزایش تعداد میوه‌های بی‌بذر و در نتیجه درصد بالای بکرباری مشاهده شد. میوه‌های تشکیل یافته بذردار در درختان کشت بافتی تقریباً نصف میوه‌های تشکیل یافته بذردار در درختان پاجوشی بود. در تمامی صفات مورد بررسی، مقایسه انحراف معیار تیمار در مقابل شاهد نشان داد که انحراف معیار تیمار بالاتر است، به عبارت دیگر تغییرات بیشتری در صفات مورد اندازه‌گیری درختان کشت بافتی وجود داشت.

مقدمه

به منظور ازدیاد انبوه و سریع همگروه‌ها و همچنین ایجاد، نگهداری و توزیع همگروه‌هایی که از نظر بیماری خاصی آزمون شده‌اند امروزه از سیستم تکثیر به روش کشت بافت استفاده می‌شود. کشت بافت گیاهی عبارت از تکنیکی است برای تولید و تکثیر گیاه کامل از بخش‌هایی از سلول و یا بافت گیاه. استفاده از سیستم‌های کشت درون شیشه‌ای، امکان ارسال مواد ازدیادی به نقاط دور و نیز نگهداری و انبار کردن آنها را برای مدت طولانی فراهم می‌سازد (Hartman, 1995). ولی در کنار همه محاسن اشاره شده معایبی نیز برای این روش وجود دارد. ازدیاد درون شیشه‌ای باید منجر به تولید گیاهان شبیه به اصل شود. با این وجود در بین گیاهان تولید شده امکان مشاهده گیاهان غیرشبهه به اصل وجود دارد. این مسئله مشاهده گیاهان غیرشبهه به اصل تحت عنوان تغییرات سوماکلونال شناخته می‌شود (Kaepler et al., 2000; Al-Khalifah et al., 2011). این تغییرات منجر به ایجاد ظاهری غیرطبیعی شده که شامل تغییر در مرفولوژی و شکل ظاهری، رشد خیلی قوی، ابلق شدن برگ، پاکوتاهی، سفید شدن برگ، تولید پاجوش‌های بدشکل، ایجاد تأخیر در گلدهی، عدم تلقیح مادگی، تولید میوه بدون بذر و حساسیت زیاد در برابر بیماری می‌باشند (Almanzouri et al., 2007; Cullis, 1999; McCubbin et al., 2000; Zaid and Al-Kaabi, 2001, 2003).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی وضعیت ناهنجاری‌های موجود در نهال‌های خرما کشت بافتی و پاجوشی در سال 1387 تعداد 20 اصله از ارقام کشت بافتی برخی در باغ شرکت سهامی کشت و صنعت جیرفت واقع در علی آباد جیرفت و 20 اصله از درختان پاجوشی برخی در شهرستان آبادان از نظر ناهنجاری‌های رویشی و زایشی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از علامت گذاری درختان و رعایت اصول فنی به-زراعی بر اساس آخرین توصیه‌های تحقیقاتی نسبت به یادداشت برداری از ناهنجاری‌های احتمالی زایشی و رویشی اقدام شد و صفاتی از قبیل: کوتولگی، رشد بیش از اندازه، سفید شدن برگ، گوناگونی رنگ برگچه، سیاه سوختگی، بدشکلی پاجوش، پیچیده شدن گل-آذین، درصد میوه‌های پارتنوکارپ، درصد ریزش میوه و درصد تشکیل میوه بررسی گردید. برای ارزیابی ناهنجاری‌های زایشی، در مرحله کیمیری، 4 خوشه در چهار جهت مختلف درخت انتخاب و از هر خوشه 3 رشته به طور تصادفی جدا شده، سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و کلیه بررسی‌های مورد نظر بر روی این 12 رشته انجام شد. تعداد کل گل‌های اولیه، تعداد میوه‌های بذر دار، تعداد میوه‌های پارتنوکارپ اعم از 3 برچه‌ای، 4 برچه‌ای، 8 برچه‌ای و در نهایت تعداد کل میوه‌های پارتنوکارپ شمارش و ثبت شدند.

نتایج

ناهنجاری‌های مشاهده شده در درختان خرما شامل دو گروه است: ناهنجاری‌های رویشی که در اندام‌های رویشی گیاه مشاهده می‌شود و ناهنجاری‌های زایشی که مربوط به بخش‌های زایشی گیاه است. برخی ناهنجاری‌ها شامل ناهنجاری در تعداد پاجوش‌های اطراف گیاه و یا شکل برگچه‌ها در هر دو گروه درختان مورد مطالعه مشاهده شد اما به دلیل درصد بسیار پایین قابل اغماض هستند. برخی از انواع ناهنجاری‌ها که منجر به از بین رفتن درخت شدند و یا اینکه در میزان عملکرد نقش موثری داشتند به تفصیل بیان می‌شود.

1- ناهنجاری‌های رویشی

1-1- **کوتوله گی** در درختان خرما برخی تکثیر شده به روش کشت بافت در باغ شرکت سهامی کشت و صنعت جیرفت یک مورد کوتوله گی مشاهده شد (جدول شماره 1). گیاهان کوتوله پس از گذشت 4 تا 5 سال از زمان کاشت در مزرعه کمتر از یک متر رشد می‌کنند در حالی که گیاهان نرمال به طور متوسط بیشتر از 3 متر ارتفاع دارند. کاهش در ساختار برگ و اندازه سایه انداز، عملکرد برگ را نیز تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش فتوسنتز شده، در نتیجه رشد را به میزان زیادی کاهش می‌دهد. کوتوله گی همچنین باعث ضعف درختان خرما و کاهش تولید پاجوش می‌گردد. این حالت در گزارشات الکعبی و زید نیز در رقم برخی در ابوظبی دیده می‌شود (2007). گزارش شده است که نخل‌های پاکوتاه از سیستم ریشه‌ای طبیعی همانند نخل‌های سالم برخوردار هستند (Al-Kaabi et al., 2007).

1-2- **خمیدگی انتهایی** در این حالت برگ‌های مریستم انتهایی به حالت خوابیده قرار گرفته و به شکل افراشته و عمودی ظاهر نمی‌شوند. درصد خمیدگی انتهایی در درختان حاصل از کشت بافت در جیرفت 4/5 درصد مشاهده شد (جدول شماره 1). خمیدگی انتهایی از این جهت حائز اهمیت است که درختان دارای این نوع ناهنجاری بر اثر از بین رفتن مریستم انتهایی پس از چند سال می‌میرند.

1-3- **رشد بیش از اندازه رویشی** در این وضعیت درخت بیش از حالت طبیعی برگ تولید می‌کند و انبوهی از برگ‌ها درخت را احاطه می‌کنند. وجود درختانی با قدرت رشد رویشی زیاد همانند نمونه‌های تتراپلوئید از دیگر تغییرات سوماکلونال در نخل‌های کشت بافتی است. این درختان دارای برگ‌های کوتاه‌تر و برگچه‌های پهن‌تر از درختان طبیعی هستند. در باغ شرکت سهامی کشت و صنعت جیرفت 4/5 درصد از این نوع ناهنجاری ثبت شد (جدول شماره 1). در گزارش مک کوبین و همکاران، فراوانی نخل‌های کشت بافتی

رقم مجول با قدرت رشد رویشی زیاد در آفریقا 1/4 درصد گزارش شده است (2000)، ولی در گزارش المنظوری و همکاران این مقدار در رقم خلاص 0/07 تا 0/15 درصد و در رقم برحی 0/01 تا 0/08 درصد آمده است (2007).

2- ناهنجاری‌های زایشی

2-1- پیچیده شدن گل آذین گل آذین‌ها به شکل پیچ خورده و تعداد خوشه‌های گل کمی بر روی گل آذین قرار دارد. میوه‌ها اغلب پارتنوکارپ و عملکرد پایین است. تقریباً 36 درصد از درختان مورد بررسی دارای این نوع از ناهنجاری بودند (جدول شماره 1).

2-2- ناهم‌رسی در خوشه میوه در این خوشه‌ها برخی میوه‌ها به مرحله کامل رشد رسیده‌اند و برخی دیگر نارس و یا پارتنوکارپ هستند. این حالت در تمامی درختان مورد مطالعه دیده شد (جدول شماره).

2-3- عدم تلقیح گل‌ها و تولید میوه‌های پارتنوکارپ بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که گرده‌افشانی ناموفق سبب تشکیل میوه بسیار پایین در درختان حاصل از تکثیر به طریقه کشت بافت در برخی از ارقام خرما می‌باشد. تقریباً 100 درصد از درختان مورد مطالعه در جیرفت این نوع از ناهنجاری را نشان دادند (جدول شماره 1)، به گونه‌ای که درصد میوه‌نشینی درختان بین 6 تا 39 درصد متغیر بود. این نتایج در بررسی‌های ارقام کشت بافتی دیگر نقاط دنیا نیز به چشم می‌خورد. در سال‌های اولیه ثمردهی درصد بالایی از میوه‌های پارتنوکارپ به چشم می‌خورد. تولید این چنین میوه‌هایی باعث کاهش چشمگیری در میزان محصول می‌گردد. شاید این درختان در مقایسه با درختان حاصل از پاجوش به گرده‌افشانی سنگین‌تری نیاز دارند. احتمال قوی می‌رود که عدم تشکیل میوه در نهال‌های جوان کشت بافتی بنا به دلایل متعددی است که موجب کندی رشد لوله گرده در مراحل اولیه رشد میوه می‌گردند و احتمالاً سطوح بالای اسید آسبزیک در این دوره نیز موجب تشدید این حالت می‌گردد (Al - Waseel, 2000). در بررسی تشکیل میوه در ارقام خرما تجارتی تکثیر شده از طریق کشت بافت در بلوچستان مشخص شد که رقم زاهدی و ابومعان زرد (99-100 درصد) بیشترین و ارقام برحی، فرد ماده، رعنا طلا، ابومعان قرمز و هلالی (57 درصد) کمترین درصد تشکیل میوه را داشتند (سابکی، 1387).

2-4- چند برچه‌ای شدن مادگی در خرما سه برچه‌ای است. بعد از عمل تلقیح معمولاً یکی از برچه‌ها رشد می‌کند و به مرحله نهایی رشد می‌رسد. در مواردی که گل‌ها به هر دلیلی تلقیح نشوند هر سه گل به میوه تبدیل شده که به این حالت چند برچه‌ای شدن و یا پارتنوکاری می‌گویند و عموماً میوه‌ها در مرحله حبابوک ریزش می‌کنند و در مواردی ممکن است تا پایان مرحله برداشت هم باقی بمانند اما از وضعیت رشد و ظاهر مناسبی برخوردار نیستند. در بررسی درختان تکثیر شده به روش کشت بافت در باغ شرکت سهامی کشت و صنعت جیرفت تقریباً 100 درصد درختان دارای میوه‌های پارتنوکارپ بودند. درصد پارتنوکاری در میوه‌های درختان از 0/6 تا 54 درصد متغیر بود (جدول شماره 1). نتایج آزمون T اختلاف معنی داری را از لحاظ صفات مورد مطالعه در درختان پاجوشی و کشت بافتی نشان می‌دهد (جدول شماره 2). درختان کشت بافتی تعداد گل اولیه بیشتری نسبت به درختان پاجوشی دارند اما تعداد میوه بی‌بذر و در نتیجه درصد پارتنوکاری بالایی دارند. درصد میوه‌های بذر دار در درختان کشت بافتی تقریباً نصف درصد میوه‌های بذر دار در درختان پاجوشی است. در تمامی صفات مقایسه انحراف معیار تیمار در مقابل شاهد نشان داد که انحراف معیار تیمار بالاتر است یعنی تغییرات بیشتری در صفات مورد اندازه‌گیری درختان کشت بافتی وجود دارد. مقایسه ضرایب پراکندگی صفات مختلف در درختان کشت بافتی نشان می‌دهد که صفت تعداد میوه بی‌بذر بالاترین و صفت تعداد کل گل‌های اولیه کمترین ضریب پراکندگی داده‌ها را داشته‌اند. میانگین انحراف معیار در درختان کشت بافتی 10/64 و در شاهد 8/13 است. به طور کلی در آزمون آماری میزان انحراف معیار تیمار در مقابل شاهد بالاتر می‌باشد و از لحاظ آماری بسیار معنی دار است (0/0006). بررسی همبستگی صفات در جدول ضرایب

همبستگی (جدول 3 و 4) نشان می‌دهد که در درختان پاجوشی همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح 1% بین تعداد کل گلهای اولیه و تعداد میوه بذردار وجود دارد اما در درختان کشت بافتی این همبستگی غیر معنی‌دار است. بین تعداد میوه بی‌بذر و درصد پارتنوکاری در هر دو گروه مورد مطالعه رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح 1% وجود دارد. همچنین بین درصد پارتنوکاری و درصد میوه‌های بی-بذر به تعداد کل میوه رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد.

منابع

- 1-Al-Wasel, A. S. A. 2000. Vegetative and fruiting comparison of tissue culture – derived and conventionally propagated date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Barhee trees. College of veterinary medicine and animal resources. King Faisal University Press, Saudi Arabia.
- 2-Al-Kaabi, H.H., A. Zaid and C. Ainsworth. 2007. Plant-off-type in tissue cultured-derived date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plants. *Acta Hort* 736:267-281.
- 3-Al-Khalifah, N.S., E. Askari. 2011. Growth Abnormalities Associated with Micropropagation of Date Palm. S.M. Jain et al. (Eds.), *Date Palm Biotechnology*, 205. Springer Science+Business Media B.V.
- 4-Al-Manzouri, H.S., A. Zaid and N. Bouhouche. 2007. Morphological abnormalities in tissue cultured-derived date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *Proc. 3th. Inter. Date Palm Conference*. 329-335.
- 5-Cullis, C.A. 1999. Environmental stress – a generator of adaptive? In: H.R. Lerner (Ed.). *Plant adaptations to stress environments*. Marcel Dekker, New York. pp. 149-160.
- 6-Hajian, S. 2007. Quantity and quality comparison of off-shoot and tissue cultures Barhee date palm trees. *Acta Hort*. 736: 293-300.
- 7-Hartman, H.T.; D. E. Kester and F.T. Davis. 1995. *Plant propagation, principles and practices*. Prentice-Hall Inc. USA, 5th Ed., 647.
- 8- Kaeppler, S.M., H.F. Kappler and Y. Rhee. 2000. Genetic variation in date palms propagated from off-shoots and tissue culture. *J. Amer. Hort. Sci.* 130 (1): 46-53.
- 9-McCubbin, M.J., J. VanStaden and A. Zaid. 2000. A southern African survey conducted for off types on date palms produced using somatic embryogenesis. *Proc. Date Palm Inter. Symposium*, Windhoke, Namibia, p. 68-72.
- 10- Zaid, A. and E.J. Arias. 1999. *Date palm cultivation*. FAO Plant Production and Protection Paper. No. 156.
- 11- Zaid, A. and H.H. Al-Kaabi. 2001. Second technical report. UAE Date Palm Research and Development Project. UAE/2000/002.
- 12- Zaid, A. and H.H. Al-Kaabi. 2003. Plant-off-type in tissue culture derived date palm. *Emirates. J. of Agric. Sci.* 15(1): 25-32.

جدول شماره 1- درصد درختان دارای ناهنجاری‌های رویشی و زایشی

نوع ناهنجاری	تعداد درخت مورد بررسی	تعداد درخت دارای ناهنجاری	درصد درختان دارای ناهنجاری
کوتوله‌گی	22	1	4/5
خمیدگی انتهایی	22	1	4/5
رشد بیش از اندازه رویشی	22	1	4/5
پیچیده شدن گل آذین	22	8	36/36
عدم تلقیح گل‌ها و تولید میوه‌های پارتنوکارپ	20	20	100
چند برچه‌ای شدن	20	20	100

جدول شماره 2- انحراف معیار صفات مورد مطالعه در درختان پاجوشی و کشت بافتی رقم برحی

درختان کشت بافتی (تیمار)	درختان پاجوشی (شاهد)	انحراف معیار (S) صفات مورد مطالعه
3/75	2/69	تعداد کل گل‌های اولیه
3/02	1/72	تعداد میوه بذر دار
5/66	1/79	تعداد میوه بی‌بذر
5/61	2/04	تعداد کل میوه
4/18	2/28	تعداد گل و میوه ریزش یافته
9/54	6/80	درصد میوه نشینی
15/29	8/68	درصد پارتنوکاری
13/08	12/52	درصد ریزش
23/16	21/20	درصد میوه‌های بذر دار به تعداد کل میوه
23/16	12/20	درصد میوه‌های بی‌بذر به تعداد کل میوه
10/64	8/13	میانگین انحراف معیار

جدول شماره 3- بررسی همبستگی صفات مورد مطالعه در درختان خرما پاجوشی رقم برحی

X10	X9	X8	X7	X6	X5	X4	X3	X2	X1	
								1		X1 (تعداد کل گل‌های اولیه)
								1	*0/488	X2 (تعداد میوه بذر دار)
							1	-0/068	-0/015	X3 (تعداد میوه بی‌بذر)
						1	0/696***	0/669	0/340	X4 (تعداد کل میوه)
				1	0/107	0/305	-0/0167	0/06		X5 (تعداد گل و میوه ریزش یافته)
			1	-0/272	0/637**	-0/072	0/96**	0/247		X6 (درصد میوه نشینی)
		1	-0/082	0/312	0/674**	0/99**	-0/088	-0/072		X7 (درصد پارتنوکاری)
	1	0/327	-0/395	0/822**	-0/102	0/284	0/436	*-0/51		X8 (درصد ریزش)
1	-0/34	-0/958**	0/171	-0/36	0/608**	0/968**	0/157	0/018		X9 (درصد میوه‌های بذر دار به تعداد کل)

												(میوه)
1	-1/00**	0/34	0/958**	-0/171	0/36	0/608**	0/968**	-0/157	-0/018	X10 (درصد میوه‌های بی‌بذر به تعداد کل)		(میوه)

* معنی دار در سطح احتمال 5% ** معنی دار در سطح احتمال 1% n.s. غیر معنی دار

جدول شماره 4- بررسی همبستگی صفات مورد مطالعه در درختان خرماي تکثیر شده به روش کشت بافت رقم برحي

X10	X9	X8	X7	X6	X5	X4	X3	X2	X1	
									1	X1 (تعداد کل گل‌های اولیه)
								1	n.s/0/97	X2 (تعداد میوه بذر دار)
							1	0/284	**0/607	X3 (تعداد میوه بی‌بذر)
						1	**0/856	0/25	**0/665	X4 (تعداد کل میوه)
				1	**0/741	**0/604	-0/24	-0/007		X5 (تعداد گل و میوه ریزش یافته)
			1	-0/205	0/063	-0/453	**0/967	-0/141		X6 (درصد میوه نشینی)
		1	0/520*	**0/637	**0/788	**0/982	-0/377	0/467		X7 (درصد پارتنوکاری)
	1	**0/788	-0/115	**0/892	**0/961	-0/815**	-0/257	-0/441		X8 (درصد ریزش)
	1	0/332	-0/833	**0/88	0/178	-0/370	-0/77**	**0/77	-0/356	X9 (درصد میوه‌های بذر دار به تعداد کل میوه)
1	-1/00	-0/332	**0/833	-0/88	-0/178	0/37	**0/778	**0/77	0/356	X10 (درصد میوه‌های بی‌بذر به تعداد کل میوه)

* معنی دار در سطح احتمال 5% ** معنی دار در سطح احتمال 1% n.s. غیر معنی دار

Comparing and introducing the results of studies on propagation of palm tree by asexual and micropropagation methods

Bahareh Damankeshan¹, Bahman Panahi², Mohammad Asaadi¹, Hamed Hassanzadeh³

1- Researcher of Kerman's Agriculture and Natural Resources Research Center, Kerman, Iran

2- Member of Scientific Board of Kerman's Agriculture and Natural Resources Research Center, Kerman, Iran

3- Member of Hormozgan's Agriculture and Natural Resources Research Center, Minab, Iran

Abstract:

Plant tissue culture that is a part of biotechnology is producing complete plant or plants in artificial sterile growth medium from tiny plant tissue that is called explants. In vitro culture should result in plants just the same as its original plants, but observing abnormal or dissimilar plants possible. Stunting/dwarfism, overgrowing, leaves albinism, polychromatic leaflets, black parchedness, foot offshoot deformity, corymb (inflorescence) intortion, parthenocarp fruits are some abnormalities that have been observed in trees propagated by tissue culture. In this research, in order to study the vegetative and reproductive abnormality in palm trees, cultivar Barhi propagated by tissue culture or foot offshoots, 20 trees propagated by tissue culture in Jiroft and 20 trees propagated by foot offshoots in Abadan (control) were selected in 1387. Data was analyzed by T test, statistically. In this research, tree stunting/dwarfism, tree overgrowing, leaves albinism, polychromatic leaflets, black parchedness, foot offshoot

deformity, corymb (inflorescence) intortion, percent of fruit formation, percent of fruit falling, total number of primary flowers, number of {hssteh dar} fertilized fruits, number of parthenocarp fruits, total number of parthenocarp fruit, and percent of parthenocarp fruits were measured. Result of T-test showed significant differences between trees propagated by tissue culture and foot offshoots. Tissue cultured trees had more primary flowers than foot offshoot trees, but parthenocarpic fruits and percent of parthenocarpy were more, too. Numbers of fertilized fruits in tissue cultured trees were half of foot offshoot trees. In measured attributes, standard deviation (error) in trees propagated by tissue culture was more than trees propagated by foot offshoot that shows high variation among tissue cultured trees due to tissue culturing.