تاثیر کیتوسان در پرآوری درون شیشه ای انگور رقم قزل اوزوم

صابر صادق‌پور [1*]، لطفعلی ناصری [2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه. ۲- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.

* نویسنده مسئول: (sabersadeghpour@yahoo.com)

چکیده

ریزازدیادی‌انگورامکان‌تکثیرسریع‌آنرا فراهم می‌کند تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی درتوسعه کشت انگور و دستیابی به روشهایی با راندمان بالا برای تکثیرسریع وباززایی گیاه موثرند. باتوجه به اهمیت مرحله پرآوری ریزازدیادی، دراین پژوهش اثرات غلظت‌های مختلف کیتوسان با وزن مولکولی پایین مورد بررسی قرارگرفت. محیط کشت نصف غلظت موراشیک و اسکوک (½MS[1]) باپنج غلظت کیتوسان (صفر، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی گرم) درقالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار مورد استفاده قرارگرفت. صفات مورد ارزیابی شامل تعدادشاخساره ها، قطر شاخساره ها، طول شاخساره ها، تعداد برگ و وزن ترشاخساره بود. براساس نتایج بدست‌آمده بین غلظت‌های مختلف کیتوسان از لحاظ تاثیر بر صفات مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین تعداد شاخساره، طول شاخساره، تعداد برگ و وزن تر شاخساره در غلظت ۴۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان دیده شد. بیش‌ترین قطر شاخساره در محیط کشت عاری از کیتوسان مشاهده گردید. هم چنین کمترین تعداد شاخساره و تعداد برگ در محیط کشت عاری از کیتوسان و غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر کیتوسان به دست آمد. براساس نتایج، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان در پرآوری رقم قزل اوزوم انگور معنی‌دار بود. و با توجه به ویژگی‌های مطلوب کیتوسان (ارزان، غیر سمی، قابل تجزیه در طبیعت) می‌توان از آن به عنوان یک ماده محرک رشد برای افزایش پرآوری درون شیشه‌ای در آزمایشات کشت بافت استفاده نمود.

واژه های کلیدی: انگور، پرآوری، کیتوسان، قزل اوزوم، درون شیشه ای

مقدمه

انگور رقم قزل اوزوم یک رقم بازارپسند بومی استان آذربایجان غربی است ودارای میوه‌های ترد وآبدار با سفتی زیاد و دارای خاصیت انبارمانی زیاد و یکی از میوه‌های شب عید است. تکثیر انگور بیشتر بوسیله ی روش‌های سنتی از جمله قلمه، خوابانیدن و پیوند صورت می‌گیرد. اولین گزارش درباره ی کشت درون شیشه‌ای انگور توسط مورل (Morel., 1941) صورت گرفت و ازآن زمان تاکنون مطالعات زیادی روی ارقام مختلف انگور انجام شده است. به طور کلی ازدیاد درون شیشه‌ای گیاهان چوبی مشکل‌تر از گیاهان علفی می‌باشد و با توجه به این که مرحله‌ی پرآوری یکی از مراحل اصلی ریزازدیادی است وسرعت رشد فاکتور مهمی در پرآوری است، بنابراین سعی بر آن است که با روش‌های مختلفی بتوان این مرحله را با موفقیت انجام داده وتسریع نمود.

(Silvestroni., 1981).(Vojodi et al. 2005). کیتوسان یک ماده ارزان، قابل تجزیه در طبیعت، غیرسمی و تحریک‌کننده رشد گیاه به شمار می‌آید.کیتوسان‌کینتین داستیله شده و از پوسته سخت پوستانی مانند خرچنک ها ومیگوها به دست می‌آید(Freepons., 1991). یکی ازعوامل مهم در میزان تاثیرکیتوسان ازلحاظ کنترل بیماری های قارچی، فعالیت‌های آنتی اکسیدانی، پرآوری و رشدگیاهچه ها درشرایط درون شیشه‌ای، غلظت و وزن مولکولی آن می‌باشد(Park et al.2002)،(Nge et al.2006).(Chien et al. 2007). کیتوسان در کشت بافت انگور سبب تحریک رشد و نمو ریزنمونه‌ها گردیده و با غلظت ۱/۷۵ درصد سبب افزایش وزن خشک ریشه، شاخساره ها

[1] Murashige and Skoogs

وطویل شدن ساقه گردیده است اما در غلظت بالاتراز ۲/۵ درصداثرمنفی داشته است(Ait Baraka et al.2004). گزارش شده است که کیتوسان تحریک کننده رشد و عامل افزایش پرآوری در کشت بافت ارکیده‌ها می‌باشد. وتاثیر مثبت کیتوسان باوزن مولکولی کم، بربازززایی درون شیشه‌ای بافت مریستم جوانه‌های جانبی ارکیده گزارش گردیده است(Kume et al.2002) و نگ و همکاران(۲۰۰۶). باتوجه به پژوهش‌های انجام گرفته در مورد اثرات مثبت کیتوسان و بنزیل آدنین در باززایی برخی گیاهان درشرایط درون شیشه‌ای، در این پژوهش غلظت‌های مختلف کیتوسان درمحیط کشت MS½حاوی۲/۲ میکرولیتر BAP و ۰/۴۹ میکرولیترIBA برای پرآوری درون شیشه ای رقم انگور قزل اوزوم مورد بررسی قرار گرفته است.

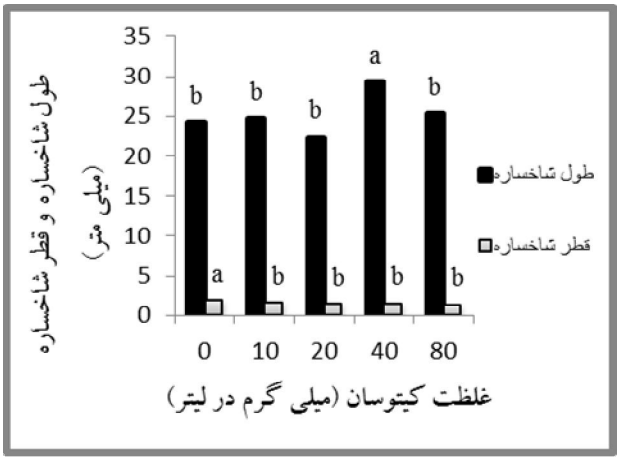
مواد و روش‌ها

دراین پژوهش که در آزمایشگاه‌کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه انجام گرفت و ازریزنمونه‌های گره انگور رقم قزل اوزوم برای پرآوری در شرایط درون شیشه‌ای استفاده گردید. برای این منظور ریزنمونه‌های تهیه شده حدود یک ساعت با آب جاری و سپس سه نوبت با مایع شوینده تجاری شسته شدند و بمدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد غوطه ور شده و با آب مقطر دوبار استریل، شسته شدند در خاتمه، ریزنمونه‌ها بمدت ۷ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ (W/V) درصد غوطه ور گردیده و سه بار با آب مقطر دوبار استریل، شستشو داده شدند. این ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS½ برای تولید شاخساره کشت گردیدند و بعد از ۳۰ روز شاخساره‌های تولید شده که طول ۱الی ۲ سانتی متر داشتند به محیط کشتMS½ تکمیل شده با BAP ۲/۲ میکرولیتر و IBA ۰/۴۹ میکرولیتر و غلظت‌های مختلف کیتوسان واکشت گردید. کیتوسان مورد استفاده در این آزمایش دارای وزن مولکولی پایینی بود واز شرکت Sigma-Aldrich تهیه گردید. محیط‌های کشت آماده شده در فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۱ دقیقه داخل اتوکلاو استریل گردیدند. سپس ریزنمونه‌ها به داخل ظروف حاوی محیط کشت انتقال داده شده و در اتاق رشد قرار گرفتند. پس از ۴۰ روز بعد از کشت ریزنمونه‌ها، صفات مورد نظر اندازه گیری و یاداشت گردیدند. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در ۵ تکرار انجام گرفت. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS با مدل ۹,۱ انجام گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن استفاده گردید.

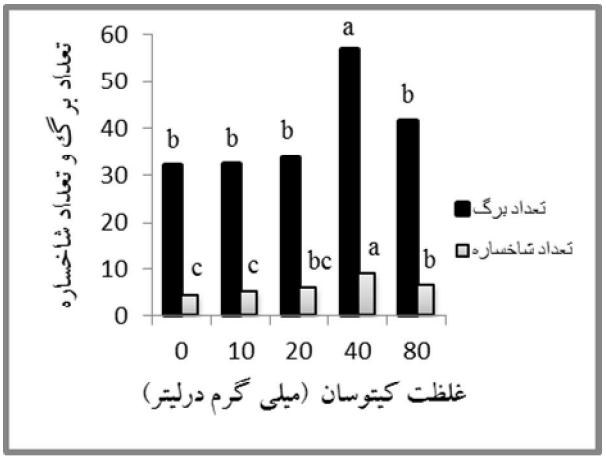
نتایج و بحث

بررسی ها نشان دادکه بین‌غلظت‌های مختلف کیتوسان، از لحاظ تاثیر بر صفات اندازه گیری شده اختلاف معنی‌دار وجود داشت به جز قطر شاخساره که در محیط کشت عاری از کیتوسان معنی‌دار بود. چنان‌که در شکل ۱ مشاهده می‌شود بیش‌ترین تعداد شاخساره و تعداد برگ در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیترکیتوسان نسبت به سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد. براساس نتایج شکل ۲ قطر شاخساره های به وجود آمده در غلظت‌های مختلف کیتوسان کمتر از محیط عاری از کیتوسان بود. به عبارت دیگردر محیط عاری از کیتوسان بیش ترین قطر شاخساره مشاهده گردید. و بر اساس نتایج بیش‌ترین طول شاخساره در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کیتوسان بدست آمد. و اختلاف معنی داری نسبت به سایر غلظت‌ها نشان داد. نتایج سایر پژوهش‌گران نیز موارد فوق را تائید می‌کند ایت و همکاران (۲۰۰۴) و نگ و همکاران (۲۰۰۶). بیش‌ترین وزن تر شاخساره در ریزنمونه‌های که در کیتوسان۴۰ میلی گرم در لیتر کشت شده بودند مشاهده گردید(شکل ۳). با افزایش غلظت کیتوسان وزن تر شاخساره گیاهی و قطر شاخساره کاهش یافت و کم ترین وزن تر و قطر شاخساره در غلظت ۸۰ میلی‌گرم درلیترکیتوسان بود. هم چنین براساس گزارش ایت و همکاران (۲۰۰۴) غلظت ۱/۷۵ درصد کیتوسان فرموله شده

(کیتوژل) موجب افزایش طول شاخساره‌ها وفتوسنتزگردیده اما با افزایش غلظت، تاثیر کیتوسان بر روی گیاهچه های انگور منفی بود. و نیزطبق گزارش نگ و همکاران (۲۰۰۶) کیتوسان با وزن مولکولی پایین سبب افزایش پرآوری در کشت بافت ارکیده گردیده که بانتایج این پژوهش هماهنگ می‌باشد. باتوجه به اهمیت مرحله پرآوری کشت بافت غلظت ۴۰ میلی‌گرم درلیترکیتوسان درپرآوری انگور رقم قزل اوزوم نتایج معنی‌داری نشان داد. شیشه‌ای شدن که یکی از مشکلات معمول در ریزازدیادی می باشد و در اثر این پدیده ریزنمونه‌ها آبکی گردیده و شفاف می‌شوند. در این آزمایش درهیچ یک از تیمارهای حاوی کیتوسان عارضه شیشه‌ای شدن مشاهده نگردید.



شکل۲: اثرغلظت‌های مختلف کیتوسان برطول وقطرشاخساره



شکل ۱: اثرغلظت‌های مختلف کیتوسان برتعدادبرگ وشاخساره

شکل ۳:اثرغلظت های مختلف کیتوسان بر وزن ترشاخساره

ستون های دارای حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱٪ با آزمون دانکن ندارد.

منابع مورد استفاده

۱. جلیلی مرندی، ر.، ناصری، ل.، محسنی آذر، م.، حاجی‌تقی‌لو، ر.، مرحمتی، م. (۱۳۹۰). بررسی اثر متقابل بنزیل آدنین و کیتوسان در پرآوی درون شیشه ای توت فرنگی رقم سلوا. فن آوری زیستی در کشاورزی، جلد دهم، شماره ۱ .۶۱ ص :۳۴-۲۷.

۲. حسین خلیلی، س. ۱۳۹۰. ریز ازدیادی انگور رقم قزل اوزوم.پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه. ۸۴ ص.

3. Ait Barka, E., Eullaffroy, P., Clement, C., and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects Vitis vinifera L. against Botrytis cinerea. Plant Cell Report, 22: 608-614.

4. Chien, P. J., Sheu, F. , Huang, W. T. and Su , M. S. 2007. Effect of molecular weight of chitosans on their antioxidative activities in apple juice . Food Chemistry 102 :1192–1198.

5. Freepons, D. 1991. Chitosan, does it have a place in agriculture? Proceeding of Plant Growthe Regulation Society of America, p. 11-19.
6. Kume, T., Nagasawa, N. and Yoshii, F. 2002. Utilization of carbohydrates by radiation processing. Radiation Physics and Chemistry, 63 :625-627.
7. Nge, K. L., New, N. Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F. 2006. Chitosan as a growth stimultor in orchid tissue culture. Plant Science, 170:1185-1190.
8. Morel, G. 1944. Le development de Mildiou sur des tissus de vigne cultives in vitro. C .R. Hebd Seances Académie des sciences. 218: 50-52.
9. Park , S. Y. , Marsh , K. S. and Rhim , J. W. 2002. Characteristics of different molecularweight chitosan films affected by the type of organic solvents. Journal of Food Science, 67(1): 194- 197.
10. Silvestroni O. 1981. Prime esperienze sulla micropropaga-zione della vite europea. Vignevini 8: 31-37.
Skiada, F., Grigoriadou, K. & Eleftheriou, E. P. 2010. Micropropagation of Vitis vinifera L. cv. Malagouzia and Xinomavro. Central European Journal of Biology. 5: 839-852.
11. Vojodi, L., Khosroshahli, M., Grigorian, V., Dadpour, M. & Motalbiazar, A. 2005. Investigation on the effect of GA3 on dwarf apple "Gami Almasi" meristem culture. Journal of Horticulture Science and Thecnology. 5: 117-128.

Effects of chitosan on in vitro proliferation of grape Ghezel Ouzum cultivar

S. Sadeghpour[1]*, L. Naseri[1]
1. Dept. of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Urmia University, Orumieh, Iran
*Corresponding author: Saber Sadeghpour@yahoo.com

Abstract
Micropropagation of grape provides possibility of its fast multiplication growth regulators can be effective on development of grape growth and the gain methods high efficiency fast multiplication and to plant regeneration. To attention to the importance of proliferation stage of micropropagation, in this research an investigation carried out on effects of different concentrations of low weight molecular chitosan. The half concentration Murashige and Skoog (½MS) medium and chitosan in five concentration (0, 10, 20, 40 and 80 mg/l) in a completely randomized design with five replication was used. Evaluated characteristics included number of shoots, diameter of shoots, length of shoots, number of leaves and wet weight shoots. Based on the obtained results there was significant different between concentration chitosan from the point of effect on examined characteristics. The highest number of shoots, length of shoots, number of leaves and wet weight shoots were obtained in concentration of 40 mg/l chitosan. The highest diameter of shoots was observed in no chitosan. Also the lowest number of shoots and number of leaves were obtained in no chitosan and concentration of 10 mg/l chitosan. According to the results, concentration 40 mg/l chitosan was significant effective in proliferation Ghezel Ouzum Grape. To attention to the optimal characteristics of chitosan (competitive, no toxicity, biodegradable nature) it can be used as the one growth stimulant material for in vitro application to increase of proliferation.
Keywords: Grape, ProliferationChitosan, Ghezel Ouzum, In vitro