بررسی محیط‌های کشت مختلف برای پرآوری درون شیشه‌ای انگور رقم بیدانه قرمز

احسان نوروزعلی پور تپه [۱*]، لطفعلی ناصری [۲]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه. ۲- دانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.
* نویسنده مسئول: (e.norozi88@yahoo.com)

چکیده

انگور بیدانه قرمز یکی از ارقام مهم و با کیفت در ایران می‌باشد. همچنین ریزازدیادی انگور امکان تکثیر سریع آن را فراهم کرده و محیط‌های کشت مختلف می‌توانند در ریزازدیادی انگور و تکثیر آن تاثیرات متفاوتی داشته باشند، باتوجه به اهمیت مرحله پرآوری در کشت بافت، در این پژوهش اثر محیط‌های کشت مختلف مورد بررسی قرار گرفت. تا بتوان بهترین محیط کشت را برای پرآوری انگور شناسایی کرد. بنابراین آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار (Knoudson-C, MS, B5, N&N, WPM) در۶ تکرار انجام گرفت. براساس نتایج بدست آمده بیش‌ترین تعداد شاخه، تعداد برگ و کلروفیل در محیط کشت B5 بدست آمد. اگر چه اختلاف معنی داری با محیط MS در تعداد برگ وجود نداشت. بیش‌ترین طول شاخساره از محیط‌های کشت WPM وMS بدست آمد. اما بیش‌ترین قطر شاخساره از محیط‌های N&N ، MS و WPM بدست آمدکه اختلاف معنی‌داری با محیط‌های B5 وKnoudson-C داشتند. بر اساس نتایج بدست آمده محیط‌های B5 وMS در رشد و نمو انگور رقم بیدانه قرمز نسبت به سایر محیط‌ها معنی دار بودند. بنابراین می توان نتیجه گرفت که به ترتیب از محیط‌های کشت B5 و MS برای پرآوری انگوربیدانه قرمز می‌توان استفاده کرد.

کلمات کلیدی: انگور، بیدانه قرمز، محیط‌های کشت، ریزازدیادی

مقدمه

انگور *(Vitis vinifera L.)* یکی از محصولات مهم باغبانی است که هم به لحاظ سطح زیر کشت و هم ارزش اقتصادی بالا مورد کشت وکار واقع می‌شود (Galletta and Himerlic., 1989). ارزش انگور به لحاظ تولید فراورده‌های متنوع بسیار بالا است و از این لحاظ نقش بسیار مهمی را در اقتصاد کشورهای تولید کننده آن ایفا می‌کند (Fao., 2003). درطی یک تحقیق، کلاته جاری و همکاران (۱۳۸۵) در روی رقم انگور بیدانه سفید و شاهرودی که شامل اثر زمان نمونه‌گیری طی فصل تابستان، نوع محیط کشت (WPM, MS, 1.2MS) و نوع ریزنمونه روی صفاتی مانند تعداد وطول شاخساره، وضعیت برگ واندازه کالوس بود. نتایج نشان داد. مناسب‌ترین زمان نمونه‌گیری شهریورماه بوده و بهترین محیط کشت MS می‌باشد و مطلوبترین ریزنمونه‌ها شامل قسمت‌های میانی و پایینی شاخساره در هردورقم می‌باشد. در تحقیقی از انتهای شاخه برای تکثیرانگور *Vitis thunbergii* استفاده شد و ریزنمونه‌ها را در سه محیط کشت متفاوت WPM ,N&N, و MS کشت شدکه سرعت تکثیردر محیط کشت WPM نسبت به سایر محیط‌هایکشت بیشتربوده، همچنین غلظت کلروفیل در محیط کشت N&N بیشتر بود (Lu., 2005). مطالعات در حال حاضر نشان داده توسعه پروتکل برای تکثیر درون شیشه‌ای پایه های انگور Degrisset که مقاومت بالای به خشکی و شوری داشته با چهار نوع محیط کشت .WPM, B5, MS MS با۱/۲ نیترات به کار برده شد و برای تکثیر از گره استفاده شد که از سرعت رشد بالای در محیط کشت MS با ۱/۲ نیترات برخوردار بود (Mukherjee et al., 2009). رشد و تمایز مریستم‌ها در محیط کشت تحت کنترل هورمونی است و حضور هورمون جهت استقرار ریزنمونه‌ها و رشد مطلوب بعدی آن ضروری است (Novak and Juvona., 1982). ترکیبات هورمونی مختلف چون سایتوکنین‌ها به تنهایی یا همراه با اکسین با غلظت‌های مختلف جهت استقرار مریستم مورد استفاده قرار گرفته است (Cholvadova et

.(al., 1989 انواع محیط‌های کشت چون محیط کامل MS یا رقیق شده آن با غلظت نصف نمک‌های ماکرو و WPM اصلاح شده در ریزازدیادی مو استفاده شده است (Thies, K., and C. Graves. 1992) /۵B۲, MS. MSی به خشکی وشوری داشته که چهارنوع محیط کشته ای پایه های انگور ت های موثر جهت کنترل بیماری در تاکستان های جدیدالاح

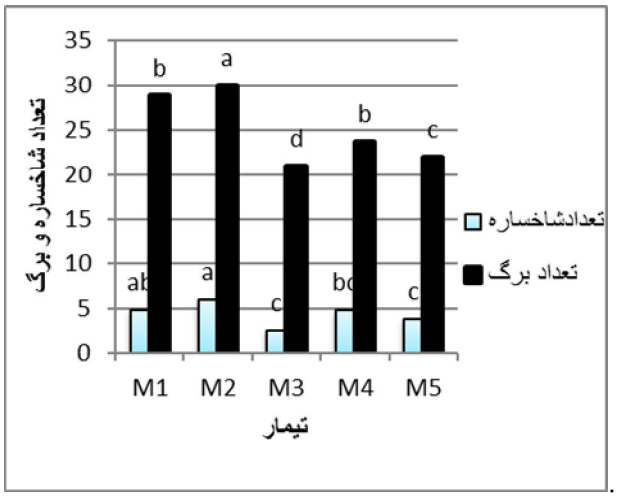
مواد و روش ها

دراین پژوهش که در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه ارومیه انجام گرفته واز نمونه‌های گره انگور رقم بیدانه قرمز برای کشت 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 شستشوداده شدند. این ریزنمونه‌ها در زیر هود لامینار بمدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد غوطه ور شده و یکبار با آب مقطر دوبار استریل، شسته شدند و سپس ریزنمونه‌ها به مدت ۲/۵ دقیقه در کلرید جیوه ۰/۱درصد غوطه ور شده و سپس با سه بار با آب مقطر دوبار استریل ، شسته شدند و در خاتمه، ریزنمونه‌ها بمدت ۶ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ (W/V)درصد غوطه ور گردیده و سه بار با آب مقطر دوبار استریل، شستشو داده شدند. .محیط‌های‌کشت آماده شده در فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۱ دقیقه داخل اتوکلاو استریل گردیدند. سپس ریزنمونه‌ها به داخل فلاسک شیشه‌ای حاوی محیط کشت انتقال داده شده و در اتاق رشد قرار گرفتند . این ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت مختلف تکمیل شده با BAP ۴/۴ میکرومولار و IBA۴۹/. میکرومولار کشت گردیدند. . شرایط اتاق رشد شامل فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۴ درجه سانتیگراد و شدت نور ۲۰۰۰ الی ۳۰۰۰ لوکس بود. پس از ۲۱ روز از کشت ریزنمونه‌ها، صفات مورد نظر اندازه‌گیری و یاداشت گردیدند. صفات اندازه‌گیری شامل، تعداد شاخساره، طول شاخساره، قطر شاخساره، کلروفیل و تعداد برگ بود. تعداد شاخساره و تعداد برگ شمارش و یاداشت گردیدند. طول شاخساره و قطر شاخساره با دستگاه کولیس دیجیتالی بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. میزان کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل متر مدل Konica Minolta 502 بر حسب شاخص SPAD اندازه گیری شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در۶ تکرار انجام گرفت. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS با مدل۹/۱ انجام گرفت . برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن استفاده گردید.

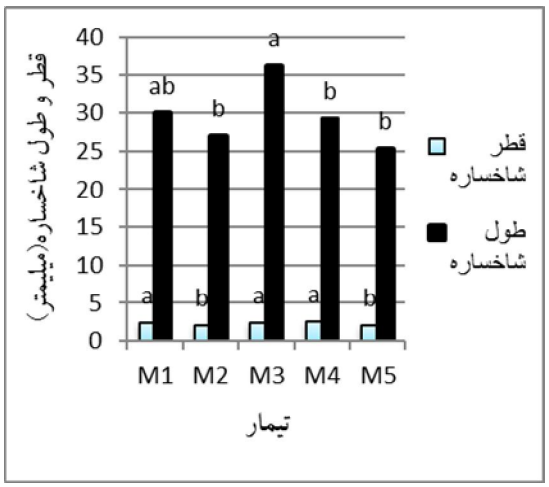
نتایج و بحث

بررسی‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین محیط B5 باسایر محیط‌های کشت از لحاظ تاثیر بر بیشتر صفات اندازه‌گیری شده وجود داشت. چنان که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تعداد شاخساره و تعداد برگ در محیط کشت B5 نسبت به سایر محیط‌های کشت بیش‌تر بود. براساس نتایج شکل ۲ بیش‌ترین قطر شاخساره در محیط کشت N&N بدست آمده، اگر چه نتیجه بدست آمده اختلاف معنی داری با محیط‌های کشت MS و WPM وجود نداشت. ولی نسبت به B5 و Knoudson-C معنی‌دار بود. بیش ترین طول شاخساره از محیط کشت WPM بدست آمده ، که نسبت به سایر محیط‌های کشت به جز MS معنی‌دار بود(شکل۲). بر اساس نتایج شکل ۳ بیش ترین شاخص کلروفیل در محیط کشت B5 مشاهده گردیده که نسبت به سایر محیط‌ها به جز MS معنی‌دار بوده ، اما نسبت به محیط MS تفاوت معنی‌داری نشان نداد. با توجه به اهمیت مرحله پرآوری کشت بافت محیط کشت B5 برای پرآوری انگور رقم بیدانه قرمز نتایج معنی داری را نشان داد. در این بررسی از بین پنج محیط کشت مورد آزمایش محیط B5 بهترین نتایج را حاصل کرد و بیش ترین اثر را بر صفات مختلف اندازه گیری باعث شد. بیشترین تعداد شاخه ، برگ و شاخص کلروفیل در محیط B5 بدست آمد.که این

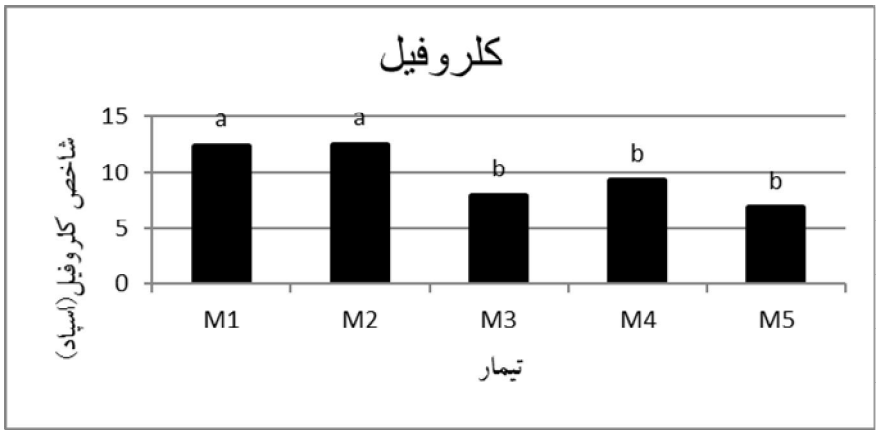
به احتمال زیاد می‌توان مربوط به وجود نیترات پتاسیم و سولفات آمونیوم بیشتر نسبت به سایر محیط‌ها در محیط B5 باشد. همچنین بیش ترین قطر شاخه در محیط N&N که شاید مربوط به زیادی سولفات روی و سولفات منگنز نسبت به سایر محیط‌ها باشد. و بیش ترین طول شاخه در محیط WPM مشاهده گردید. لی (۲۰۰۵) نتیجه گرفت که محیط WMP باعث پرآوری شاخه و افزایش طول شاخساره شد ومحیط MS میزان ریشه زایی را افزایش داد ولی محتوای کلروفیل برگها در محیط N&N افزایش یافت. نتایج سایر پژوهش گران نیزموارد فوق را تائید می کند. کلاته جاری (۱۳۸۵) اظهارنمود که علت پاسخ دهی بهتر ریزنمونه های در رقم شاهرودی وبیدانه سفید به محیط MS در مقایسه با WPM با غلظت های هورمونی برابر، نسبت زیاد عناصرغذایی و نیتروژن محیط MS است.



شکل۱. مقایسه میانگین اثرات نوع محیط کشت برروی تعداد برگ وشاخساره



شکل۲. مقایسه میانگین اثرات نوع محیط کشت برروی قطر و طول و شاخساره



شکل۳. مقایسه میانگین اثرات نوع محیط کشت برروی شاخص کلروفیل

M1 محیط موراشیگ اسکوگ(MS): M2:محیط بی۵ (B5) ، M3: محیط گیاهان چوبی(WPM) ، M4: محیط نیچ و نیچ (N&N) و M5: محیط نودسون سی(Knoudson-C)

منابع

۱.کلاته جاری،س. (۱۳۸۳). بررسی واکنش دو رقم انگور بی دانه سفید و شاهرودی به شرایط کشت درون شیشه ای . مجله علوم کشاورزی ایران، شماره ۲: ۲۱۵-۲۰۵.

2. Cholvadova, B. 1989; Cultivating of meristem culyure of grapevine (Vitis vinifera L.). Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitatis Comenianae Physiologia Plantrum (24):31-44.
3. FAO. 2003. Http: //faostat.fao.org/faostat.
4. Galletta, G. J. and D. J. Himerlic, 1989; Small fruit crop Management. Prentice Hall. New Jersey.
5. Lu, M.C. (2005). Micropropagation of Vitis thunnbergii Sieb. Et Zac., amedicinal herb, throuth high_ferquecy shoot tip culture. Scenti Horticulture, 107:64-69.
6. Mukheriee, p., Husain, N., Misra. S.c. and Roa, V.S. (2000). Micropropagation of Vitis vinifera L. Towards an improved protocol. Scientia Horticulture, 84: 357-363.
7. Novak, F. J., and Z. Juvona. 1982; Clonal propagation of grapevine through in vitro axillary bud culture. Scientia Horticulture. 18: 231-240.
8. Thies, K., and C. Graves. 1992. Meristem micropropagation protocol for Vitis rotundifolia michx. HortScience 27(5): 449. CAB abstracts.

Investigation Different medium for In vitro proliferation of grape varieties, Bidaneh Ghermez.

Ehsan norouzalipour tape*[1], Lotfali naseri[1]
Dept. of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Urmia University, Orumieh, Iran
*Author email: (e.norozi88@yahoo.com)

Abstract
Bidaneh Ghermez grape is one of the most important cultivars and with quality in Iran. Also micropropagation of grape can provide rapid proliferation and Different medium culture can have different effects on the proliferation and micro propagation of grape, According to the stage of proliferation on the tissue culture, this study the effect of the different media investigated, can be the best medium for proliferation was detected. Thus experiment with completely randomized design with five treatments (Knoudson-C, MS, B5, N & N and WPM) on the 6 replication were performed. According to the results, the highest number of branches, number of leaves and chlorophyll index, obtain on the B5 medium. Although there was no significant difference in the number of leaves on the MS. The maximum of the shoots were obtained MS and WPM media. However, the maximum diameters shoots of the medium N & N, MS and WPM were obtained that were significantly different with medium B5 and Knoudson-C. The results showed B5 and MS media based on the development of seedless red grapes varieties were significantly different than other medium. Thus, it can be concluded that the B5 and MS medium for the proliferation of Bidaneh Ghermez can be used.
Keywords: Grape, Bidaneh Ghermez, Medium culture, Micro propagation.