هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ١٤ تا ١٧ شهریور ماه ١٣٩٠،دانشگاه صنعتی اصفهان

تاثیر سیستم کشت فتومیکس¬تروفیک بر رشد گیاهچه¬های کشت بافتی گردوی ایرانی

امین حسن خواه (١)، کورش وحدتی (٢)، محمود لطفی (٣)، مسعود میرمعصومی (٤)، محمد اکبری (١)، علی بیابانی (٥)
١- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، ٢- دانشیار دانشگاه تهران، ٣- استاد یار دانشگاه تهران، ٤- مربی دانشگاه تهران، ٥- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شیراز

مهمترین دلیل برای تلفات بالای گیاهان درون شیشه ای در مرحله ی سازگاری، باز بودن روزنه ها، نبود لایه ی کوتیکول – (بسیار ناچیز) در برگ، پارانشیم غیر طبیعی برگ و همچنین وجود آوندهای غیر طبیعی در ساقه می باشد. برای حل این مشکل می توان سیستم کشت بافت فتواتوتروفیک و فتومیکس تروفیک را پیشنهاد کرد. این سیستم ها بر پایه ی ایجاد تهویه، افزایش غلظت CO_2 و کاهش منبع کربن استوار هستند. در این تحقیق اثر تهویه و میزان ساکارز مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور ریزنمونه های گردوی رقم هارتلی در دو نوع ظرف بدون تهویه و با تهویه ی غیر فعال (ظروفی با درهای فیلتردار) با چهار سطح ساکارز (۰، ۱۵، ۳۰ و ٤٥gr/lit)کشت شدند. بعد از ۲۵ روز تاثیر تهویه بر روی شاخص های رشدی مورد بررسی قرار گرفت. بر طبق نتایج به دست آمده شاخص های رشدی مثل وزن ریزنمونه، وزن کالوس، تعداد برگ و قطر ساقه، گیاهان کشت شده در ظروف با تهویه ی طبیعی نسبت به گیاهان رشد یافته در ظروف بدون تهویه اختلاف معنی داری داشتند. به طوری که وزن تر ریزنمونه و قطر ساقه در ظروف بدون تهویه و تعداد برگ و وزن کالوس در ظروف با تهویه بیشتر بود. تهویه تاثیری بر ارتفاع ریزنمونه نداشت. با افزایش سطح ساکارز تا gr/lit ۳۰ طول ساقه، قطر ساقه، وزن ریزنمونه و تعداد برگ افزایش یافت. بهترین و شاداب ترین گیاهچه ها در ظروف با تهویه و gr/lit ۳۰ ساکارز مشاهده شدند.

کلمات کلیدی: کشت درون شیشه¬ای، فتواتوتروفیک، تهویه، سازگاری، ساکارز

مقدمه:

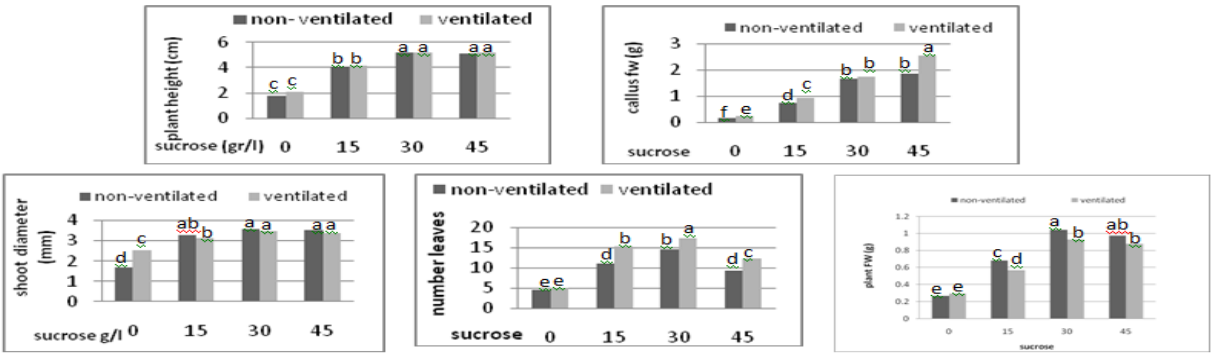
رشد سریع گیاهچه‌ها درون شیشه‌ای اغلب منجرب به بروز اختلالات غیر طبیعی مورفولوژیکی، آناتومی و فیزیولوژی می‌شود. بسیاری از محققان این اختلالات را به وجود ساکارز، رطوبت نسبی بالا، تجمع اتیلن و کاهش CO2 نسبت می‌دهند. این گیاهچه‌ها دارای کربوهیدرات بیشتری هستند که غالبا در برگ تجمع می‌یابد (Kozai and Zobayed, 2001). این ناهنجاری‌ها باعث از دست دهی سریع آب و عدم توانایی فتوسنتز کافی در مرحله سازگاری و افزایش تلفات می-شود(Wetzstein and Sommer, 1982). جلوگیری از ایجاد تنش در مرحله‌ی سازگاری با استفاده از برقراری تهویه توسط ظروفی با درب‌های شل یا با تهویه توسط فیلتر و یا با استفاده از تهویه‌ی اجباری یکی از اهداف کشت فتواتوتروفیک یا فتومیکس‌تروفیک است (Hazarika, 2006; Kozai et al., 1993). استفاده از ظروف نفوذ پذیر هوا به رشد فتومیکس-تروفیک کمک کرده و موجب کیفیت بالاتر گیاهچه‌ها و افزایش بقا در مرحله سازگاری می‌شود (Cournac et al., 1991; Zobayed et al., 2000). Ticha و همکاران (۱۹۹۸) متوجه شدند که رشد گیاهان در ظروف با تهویه طبیعی تحت شرایط فتومیکس تروفیک بهتر از فتواتوتروفیک است.

مواد و روش‌ها:

جوانه‌ی انتهایی گردوی (رقم هارتلی) با اندازه های یکسانی به عنوان ریزنمونه مورد استفاده قرار گرفت. این ریزنمونه ها در ظروف کشت حاوی ۸۰ml محیط کشت DKW همراه با ۲.۲gr/lit فیتاژل کشت شدند. تیمارهای مورد آزمون در این آزمایش چهار سطح ساکارز (۰ ، ۱۵،۳۰ و ٤٥ g/lit) و دو سطح تهویه (بدون تهویه و تهویه طبیعی) انتخاب شد. آزمون فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی برای این آزمایش استفاده شد. پس از ۲۵ روز بررسی بر روی گیاهچه‌های گردو انجام شد. صفات رشدی از جمله طول و قطر ساقه، تعداد برگ، وزن تر و وزن کالوس مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج:

نتایج تفاوت معنی‌داری بین سطوح تهویه در صفات رشدی مختلف به غیر از ارتفاع گیاهچه‌ها را نشان داد. بیشترین ارتفاع ساقه مربوط به تیمار ۳۰ و ٤٥ گرم در لیتر ساکارز در هر دو ظروف با تهویه و بدون تهویه بود و کمترین آن در تیمار بدون تهویه و بدون ساکارز مشاهده شد. .تجزیه داده‌های قطر ساقه نشان از افزایش معنی‌دار آن در ظروف بدون تهویه نسبت به ظروف با تهویه بود (به غیر از تیمار بدون ساکارز). بالاترین قطر ساقه مربوط به گیاهچه‌های رشد یافته در تیمار بدون تهویه و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بود. وزن ریزنمونه‌ها در گیاهچه‌های کشت شده در ظروف بدون تهویه بیشتر از گیاهچه‌های با تهویه (به غیر از تیمار بدون ساکارز) بود. وزن ریزنمونه ها نیز در گیاهچه‌های رشد یافته در تیمار بدون تهویه و ۳۰ گرم در لیتر بیشتر بود. تعداد برگ شمارش شده در گیاهچه‌های تهویه دار افزایش معنی‌داری داشت. بیشترین تعداد برگ در گیاهچه های رشد یافته در تیمار با تهویه و ۳۰ گرم در لیتر و کمترین تعداد آن در تیمار بدون تهویه و بدون ساکارز مشاهده شد. وزن کالوس تشکیل شده از ریزنمونه های مختلف در ظروف با تهویه بیشتر از ظروف بدون تهویه بود. وزن کالوس با افزایش سطح ساکارز افزایش معنی‌داری داشت. بیشترین وزن کالوس مربوط به تیمار با تهویه و ٤٥ گرم در لیتر ساکارز بود.



نمودار ۱ : تاثیر سطوح مختلف ساکارز و تهویه بر روی خصوصیات رشدی از جمله طول و قطر ساقه، وزن ریزنمونه، تعداد برگ و وزن کالوس

همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌کنید، شادابترین گیاهچه ها در تیمار ۳۰ و ۱۵ گرم در لیتر ساکارز و ظروف با تهویه مشاهده شد. این گیاهچه‌ها دارای برگ های بیشتر و بزرگ‌تری بودند. با این که قطر ساقه کمتری نسبت به گیاهچه‌های رشد یافته در ظروف بدون تهویه داشتند ولی چوبی شدن در ساقه آنها مشاهده شد و حالت علفی و ترد نداشتند.

شکل ۱ : گیاهچه‌ها در سطوح مختلف ساکارز (از چپ به راست ۰، ۱۵، ۳۰ و ٤۵ گرم در لیتر) در دو سطح تهویه A) بدون تهویه B) با تهویه طبیعی

بحث:

در ظروف با تهویه تعداد برگ و گره افزایش و وزن تر کاهش می‌یابد. نتایج نشان داد که گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط بدون تهویه که حاوی ۳۰ گرم در لیتر سوکروز بود به طور قابل توجهی وزن تر ساقه آن بیشتر بود. لازم به ذکر است که ارتفاع گیاهچه‌ها در ظروف با تهویه تغییر نکرده ولی تعداد برگ‌ها افزایش می‌یابد که نشان دهنده کاهش طول میانگره‌ها و افزایش تعداد گره‌ها است. همچنین کیفیت و شادابی این گیاهچه‌ها نسبت به گیاهان سابق بهبود می‌یابد. Goncalves و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که گیاهچه‌های *Herreria salsaparilha* در ظروف بسته شده با غشاء پلی‌پروپیلن میکروپورپوس گیاهان به مراتب کوتاهتر رشد کرده بودند و تعداد گره و وزن تر آنها بر خلاف وزن خشکشان کمتر بود. کاهش رطوبت نسبی و فشار بخار در ظروف کشت موجب افزایش سرعت تکثیر گیاهچه‌ها، سطح برگ بیشتر و نیز افزایش طول ساقه می‌گردد. با ایجاد تهویه، نرخ تعرق بیشتر و به دنبال آن رشد افزایش می‌یابد. ظروف کشت با تهویه نسبت به ظروف بدون تهویه زودتر آب از دست می‌دهند و در نتیجه در در ویژگی‌ها و غلظت مواد و درنتیجه میزان رشد تاثیر می-گذارد (Goncalves et al., 2007). بنابر این غلظت ساکارز مطلوب ممکن است در مقدار پایین‌تری حاصل شود. گیاهچه‌های رشد یافته در ظروف بدون تهویه به طور معنی‌داری وزن تر و قطر بیشتری نسبت به گیاهچه‌های کشت شده در ظروف باتهویه داشتند. این افزایش فزن تر و قطر به دلیل رشد سریع و جذب بیشتر آب (حالت شیشه‌ای) و در نتیجه چوبی نشدن است (Kozai et al., 2001).

منابع:

Cournac, L., Dimon, B., Carrier, P., Lohou, A., Chagvardieff, P., 1991. Growth and photosynthetic characteristic of Solanum tuberosum plantlets cultivated in vitro under different conditions of aeration, sucrose supply, and CO2 enrichment. Plant Physiol. 97, 112–117.

Goncalves, L.A., Geraldine, R.M., Picoli, E.A.T., Vendrame, W.A., de Carvalho, C.R., Otoni, W.C., 2007. In vitro propagation of Herreria salsaparilha Martius (Herreriaceae) as affected by different sealing materials and gaseous exchanges. Plant Cell Tissue Org. Cult. 92, 243–250.

Hazarika, B.N., 2006. Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants. Sci. Hortic. 108, 105–120.

Hazarika, B.N., Parthasarathy, V.A., Nagaraju, V., 2004. Influence of in vitro preconditioning of Citrus sp. microshoots with sucrose on their ex vitro establishment. Indian J. Hortic. 61, 29–31.

Grout, B.W.W., Millam, S., 1985. Photosynthetic development of micro-propagated strawberry plantlets following transplanting. Ann. Bot. 55, 129–131.

Koch, K.E., 1996. Carbohydrate modulated gene expression in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47, 509–540.

Kozai T and Zobayed S M A 2001 Acclimatization. *In* Encyclopaedia of Cell Technology, Section A. Ed. R Spier. pp 1-12.

Kozai, T., Tanaka, K., Jeong, B.R., Fujiwara, K., 1993. Effect of relative humidity in the culture vessel on the growth and shoot elongation of potato (Solanum tuberosum L.) plantlets in vitro. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 62, 413–417.
Ticha, I., Cap, F., Pacovska, D., Hofman, P., Heisel, D., Capkova, V., Schafer, C., 1998. Culture on sugar medium enhance photosynthetic capacity and high light resistance of plantlets grown in vitro. Physiol. Plant. 102, 155–162.
Zobayed, S.M.A., Afreen, F., Kubota, C., Kozai, T., 2000. Evolution of culture vessel for micropropagation: from test tube to culture room. In: Kubota, C., Chun, C. (Eds.), Transplant Production in the 21st Century. Kluwer Academic, Dordrecht, pp. 231–232.
Wetzstein, H.Y., Sommer, H.E., 1982. Leaf anatomy of tissue-cultured Liquidambar styracifua (Hamamelidaceae) during acclimatization. Am. J. Bot. 69, 1579– 1586.

Effect of photomixtrophic system in Persian walnut Plantlets Growth

Amin hassankhah[1], kurosh vahdati[2], mahmoud lotfi[3], masuod mirmasomi[4], hamid sabaghy[1], ata dejahang[1]
[1]MSc student in university of Tehran, [2]associated profession in university of Tehran, [3]assistant profession in university of Tehran

Abstract
most difficult stages of Persian walnut tissue culture occur in acclimatization and transplanting. The main cause of losses plantlets are: Inefficient leafs, weak roots, open stomata, lack of cuticle layer, leaf parenchymal abnormalities, presence of abnormal vessels and so on. To solve this problem photoautotrophic and photomixotrophic system can be proposed. These systems are based on creating ventilation, increased CO2 concentration and reduced carbon source. In this study different level of ventilation and sucrose were examined. Walnut (Hartly cultivar) explants with and without ventilation (in filtered vessel) and Four levels of sucrose (0, 15, 30 and 45 g/l) were cultured. After 25 day, effect of ventilation and sucrose on different growth characteristics was examined. The results showed that growth was greater with plants cultivated in ventilated containers, in terms of growth indices such as Fresh weight of plantlets, plantlets height, shoots diameter, leaf number and weight of callus. So that the fresh weight , shoot diameter in without ventilation vessels was higher. In contrast leaves number and callus weight was higher in ventilated vessels. Ventilation was not effective in height of Explants. With increasing levels of sucrose to gr/lit30 plantlet length, shoot diameter ,fresh weight and number of leaves increased and with increasing level of sucrose (gr/lit45) these characteristics declined. In this study 30gr/l sucrose and ventilation were the best treatment .
Keywords: tissue culture, photoautotrophic, photomixotrophic, acclimatization, sucrose.