

تأثیر نانوسیلور در کاهش آلودگی باکتریایی درونی و زنده مانی ریزنمونه های گردو ایرانی در شرایط درون شیشه ای

سمیه غارتی (۲۰۱)، رضا ضرغامی (۱)، محمد اسماعیل امیری (۲)، کوروش وحدتی (۳)، علیمردان رستمی (۱)

۱-پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ۲- دانشگاه زنجان، ۳- پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

مهمترین گونه گردو، گردوی ایرانی (*Juglans regia L.*) است. این گونه در بسیاری از کشورها کشت می گردد و دارای اهمیت اقتصادی بسیار زیادی است. روش تکثیر این گونه از طریق بذر و پیوند می باشد و در سالهای اخیر تکثیر از طریق کشت بافت توسعه بیشتری یافته است. مسئله اصلی که با تولید درون شیشه ای مواد بالغ گردو در ارتباط است آلودگیهای قارچی و باکتریایی داخلی است که در مرحله استقرار تک گره های کشت شد وجود دارد. نانوسیلور بیشترین خاصیت ضد میکروبی را در بین نانو ذرات از خود نشان داده است، به طوری که امروزه مورد توجه محققین بسیاری قرار گرفته است. بر این اساس استفاده از نانوسیلور در چهار غلظت (۱۲۵ و ۱۰۰؛ ۷۵؛ ۰) و چهار تکرار در زمان مساوی به صورت غوطه وری تک گره ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در بین غلظت های متفاوت نانوسیلور از نظر کنترل آلودگی باکتریایی داخلی و زنده مانی جوانه های گردو بهترین غلظت ۷۵ ppm بود که در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری با دیگر تیمارها داشت ولی از نظر کنترل آلودگی قارچی اختلاف معنی داری بین غلظت های نانوسیلور و شاهد وجود نداشت.

کلمات کلیدی: نانوسیلور، آلودگی قارچی، آلودگی باکتریایی، زنده مانی جوانه ها، تک گره های گردو

مقدمه:

گردو (*Juglans regia L.*) از خانواده *Juglandaceae* از محصولات فصل معتدل است. که به عنوان یکی از مهمترین خشکبار، با تولید سالانه ۲۲۳۶۲۳۱ تن از ۸۳۴۸۷۴ هکتار می باشد، ایران با ۶۵۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت چهارمین تولید کننده گردو در جهان می باشد (فائو، ۲۰۰۹). کشت بافت یکی از روش های ازدیاد این گونه از گردو است که در سالهای اخیر به سرعت توسعه یافته است. پیشرفت هایی در زمینه ریزازدیادی گردو با استفاده از جوانه تنها و کشت سرشاخه ها بدست آمده است (وحدتی و همکاران، ۲۰۰۴). مسئله اصلی که با تولید درون شیشه ای مواد بالغ گردو در ارتباط است آلودگی باکتریایی درونی است (لسلی و مک گراناها، ۱۹۹۲). بعضی از بزرگترین خسارت های اقتصادی در ریزازدیادی تجارتي به طور مستقیم یا غیر مستقیم به وسیله آلودگی درونی یا محیطی کشت های گیاهی ایجاد می شود (روت، موپاترا و موهان، ۲۰۰۶). هدف از این مطالعه دست یافتن به غلظت مناسبی از نانوسیلور جهت کنترل آلودگیهای کشت بافتی، بخصوص آلودگی باکتریایی درونی است، درعین حال میزان زنده مانی جوانه های کشت شده بالا باشد.

مواد و روش ها:

شاخه های سال جاری به طول ۴۰-۳۰ سانتی متر از نهال های ۳ ساله در طول فصل رشد پس از جمع آوری از نهالستان گردو بخش تحقیقات باغبانی به آزمایشگاه جهت جدا نمودن تک گره ها به طول ۲-۱ سانتی متر انتقال یافتند. ریز نمونه های جدا شده در زیر هود لامینار ابتدا به مدت ۳۰ ثانیه در محلول الکل ۷۰٪ ضد عفونی سطحی شدند، سپس شستشوی ریزنمونه ها ۳ بار با آب مقطر استریل هر بار به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. در مرحله دوم ضد عفونی ریزنمونه ها در محلول ۱/۵٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۵ دقیقه صورت گرفت. در مرحله سوم ضد عفونی با محلول نانوسیلور در غلظت های (۱۲۵ ppm) و (۷۵، ۱۰۰، ۰) در ۴ تکرار به مدت ۳۰ ثانیه غوطه ور شدند. سپس ریزنمونه ها به دو روش قبلی با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. ریزنمونه ها به مدت ۱ هفته در محیط DKW بدون هورمون استقرار یافتند، سپس در محیط DKW با ۱ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر IBA واکشت شدند. بعد از ۲ هفته ریز نمونه های مذکور مورد بررسی قرار

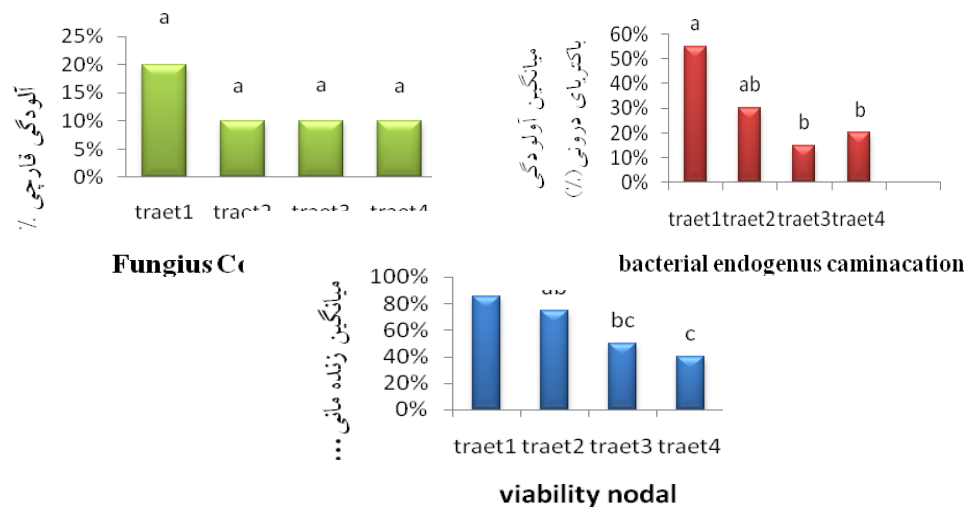
گرفت و درصد آلودگی و میزان زنده مانی ثبت گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار غلظت نانوسیلور در ۴ تکرار انجام شد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین دانکن انجام شد.

نتایج و بحث:

با توجه به داده هایی که در (جدول ۱) نشان داده شده است، در بین تیمار های متفاوت نانوسیلور از نظر کنترل آلودگی قارچی اختلاف معنی داری وجود ندارد. با وجود این که اختلاف معنی داری در کنترل آلودگی قارچی وجود ندارد ولی استفاده از نانوسیلور درصد آلودگی قارچی کمتری نسبت به شاهد نشان می دهد. تیمار با ۱۰۰ PPM با ۸۵٪ درصد کنترل آلودگی باکتریایی درونی اختلاف معنی داری با دیگر غلظت های نانوسیلور داشت. در واقع، استفاده از نانوسیلور بعد از ضد عفونی سطحی تاثیر قابل قبولی روی کنترل آلودگی باکتریایی بدون اثر مضر روی ویژگیهای رشد در ریزازدیادی والریانا داشته است (عبدی و همکاران: ۲۰۰۸). ولی درصد زنده مانی جوانه ها در این تیمار پایین بود. این امر به دلیل حساس بودن جوانه های گردو به مواد ضد عفونی کننده می باشد. پس مطابق (جدول ۱) می توان تیمار ۳ که غلظت نانوسیلور آن ۷۵ PPM است، بیشترین میزان زنده مانی جوانه های کشت شده گردو و سطح قابل قبولی از کنترل آلودگی باکتریایی را نشان داد، به عنوان بهترین تیمار معرفی نمود.

میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	آلودگی قارچی	آلودگی باکتریایی درونی	زنده مانی جوانه ها
تیمار نانوسیلور	۳	۰/۶	۴/۴۷۱ *	۴/۲۴۰ *
اشتباه آزمایشی		۰/۰۱۷	۰/۰۲۸	۰/۰۴۲

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد



منابع:

1. Abdi, GH., 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 Physiology Plant 30:709–714
2. Leslie, C. and McGranahan, G. (1992) Micro propagation of Persian Walnut (*Juglans regia* L.) In Bajaj, Y.P.S.(Ed), Biotechnology in Agriculture and Forestry 18. High Technology and Micro propagation II. Springer- Verlag, Berlin Heidelberg:137–150.

3. 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.
4. Vahdati, K., Leslie, C., Zamani, Z. and Mc Granahan, G. (2004) Rooting and acclimatization of *in vitro*-grown shoots from mature trees of three Persian walnut cultivars. *Hortscience* (abstract) 39(2).

Effect of Nano silver in Reduce Endogenous Bacterial Contamination and Viability Cultured Segment node of Persian Walnut in *in vitro* Condition.

Somayeh Gharati¹, Reza Zarghami^{2*}, Mohamadesmail Amiri², Koorosh vahdati³, Ali mardan Rostami¹

1- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, 2- Zanzan University, 3- College of Abooraihan, University Tehran.

Abstract

Persian Walnut (*Juglans regia* L.), is the most importance species in the world, This species cultivates in many countries and it has an economic importance. The propagation of this species is through seed and grafting and the tissue culture has developed in recent years. The major problem associated with *in vitro* introduction of walnut mature material is endogenous bacterial and fungous contaminations, this problem has been observed in the segment node in the stage of establishment culture in the media. Nano silver have shown the most antimicrobial effect, As it is currently considered by multitude of researchers. In this study, the explants were dipped in four concentration nano silver solution (0, 75, 100 and 125 ppm) in complete random design. This experiment was carried out in 4 replicates. The optimal condition for decreasing the indigenous bacterial contamination and viability of walnut segment nodes was 75 ppm and it was demonstrated the significant difference with other treatments but there are no remarkable difference in fungous contamination among different nano silver concentrations.

Keywords: Nano silver, Fungous Contamination, Bacterial Contamination, Viability segment node