

تاثیر تیمارهای هورمونی و آنتی اکسیدان بر استقرار کشت مریستم گیلاس در شرایط درون شیشه ای

شکوفه منوچهر (۱)، ذبیح الله زمانی (۲) و ناصر بوذری (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشگاه تهران، ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ۳- استادیار بخش باغبانی موسسه بذر و نهال کرج

چکیده

کشت مریستم گیلاس در شرایط درون شیشه ای با مشکل نکروزه شدن و نهایتاً از بین رفتن ریز نمونه مواجه می شود لذا در این آزمایش از دو نوع آنتی اکسیدان با دو غلظت مختلف به منظور جلوگیری از فرایند نکروزه شدن مریستم گیلاس رقم سیاه شبستر استفاده گردید که شامل ذغال فعال با دو غلظت ۰,۵ و ۲ میلی گرم در لیتر و PVP در دو سطح ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر بودند. همچنین جهت بهینه سازی مرحله استقرار مریستم، از محیط کشت پایه MS و ترکیبات هورمونی شامل BA در دو سطح ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر در ترکیب با NAA در سطح ۰/۵ میلی گرم در لیتر در حضور یا عدم حضور IBA به مقدار ۰/۵ میلی گرم در لیتر بودند. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و درصد قهوه ای شدن، درصد بقا مریستم ها، تعداد برگ و اندازه برگ ها مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه بین دو آنتی اکسیدان، ذغال فعال روی درصد بقا تاثیر بهتری داشت و PVP بر تعداد و اندازه برگ موثر بود. همچنین ترکیب هورمونی ۲ میلی گرم در لیتر BA به همراه NAA و IBA بیشترین درصد بقا و تعداد برگ را دربر داشت. میزان قهوه ای شدن در هر دو نوع آنتی اکسیدان پایین بوده، اما در مورد PVP این مقدار کمتر بود.

مقدمه

کشت مریستم از متداول ترین روش های شروع تکثیر درون شیشه ای گیاهان می باشد. از آن جا که مرحله استقرار مریستم های گیلاس به دلیل کوچک بودن نمونه ها و تولید فنل زیاد با مشکلات زیادی روبرو است لذا با تهیه یک محیط کشت مناسب و جلوگیری از فنل زیاد می توان برعمده ای از مشکلات غلبه کرد. در مورد تولید فنل برخی از آنتی اکسیدان ها مثل ذغال فعال و PVP می تواند از پخش فنل در محیط کشت جلوگیری کند (GAMBORG, 2001).

مواد و روش ها

نوک شاخساره و جوانه های جانبی حاصل از پایه های مادری گیلاس رقم سیاه شبستر به عنوان مواد گیاهی آزمایش برای کشت مریستم مورد استفاده قرار گرفتند. تیمار ضد عفونی شاخساره ها به صورت شستشوی معمولی سپس ۳۰ ثانیه در الکل ۷۰٪، ۲ دقیقه در کلرید جیوه ۰,۱٪ و سه بار آبشویی با آب مقطر استریل بود. مریستم ها در زیر استریو میکروسکوپ از جوانه ها جدا و هر ۱۰ مریستم در یک پتری دیش حاوی محیط کشت پایه MS کشت شدند. از ذغال فعال در دو سطح ۰,۵ و ۲ میلی گرم در لیتر و PVP با دو غلظت ۰,۵ و ۱ میلی گرم در لیتر به عنوان آنتی اکسیدان به همراه BA در دو سطح ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر در ترکیب با ۰,۵ میلی گرم در لیتر NAA به تنهایی و یا ۰,۵ میلی گرم در لیتر IBA بود که شامل ۴ ترکیب هورمونی می گردید. pH تمام محیط ها در حدود ۵,۷ تنظیم شد. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین ها توسط آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

در مقایسه بین دو آنتی اکسیدان، ریزنمونه هایی که در محیط کشت حاوی ذغال فعال کشت شده بودند درصد زنده بودن آنها بهتر از مریستم های کشت شده در محیط حاوی PVP بود اما از رشد کمتری برخوردار بود که مطابق با نتیجه Manganaris (2003) روی کشت مریستم شلیل بود. غلظت کمتر از هر دو آنتی اکسیدان استفاده شده نتایج بهتری روی صفات اندازه گیری شده از خود نشان دادند. همچنین در مقایسه بین تیمارهای هورمونی محیط حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BA به همراه ۰,۵ میلی گرم در لیتر از NAA بعلاوه IBA درصد بقاء بهتر و تعداد برگ بیشتری نشان داد.

منابع

- Manganaris, G.A. 2003. Elimination of PPV and PNRSV through thermotherapy and meristem-tip culture in nectarine. *Plant Cell* 22:195-200
- GAMBORG, D. 2001. The effect of Charcoal on in vitro meristem culture of stone fruit . *In Vitro Cell. Dev. Biol Plant* 39: 394-401

Effects of antioxidant and hormonal treatments on establishment of sweet cherry meristem at *in vitro* condition

Absract:

Cherry meristem culture *in vitro* is dealt with necrosis problem and final explant death; thus, in this experiment, two anti-oxidants including: activated charcoal at two concentrations of 0.5 and 2 mg/l and PVP at two levels of 0.5 and 1 mg/l were used for prevention of necrosis of 'Siah-e-Shabestar' cherry meristems. Also, for improvement of meristem establishment, MS basal medium and hormone treatments including BA at two levels of 2 and 3 mg/l plus NAA with or without IBA at 0.5 mg/l were used. The trail was done according to complete randomized design with 3 replications. Necrosis percent, regeneration percent, leaf number and size were recorded. In comparison between two anti-oxidants, activated charcoal had better effects on regeneration percent while PVP was more effective on leaf number and size. Necrosis was low in both anti-oxidants but PVP had better effects on this character. Hormonal combination of 2 mg/l BA plus NAA and IBA had the highest regeneration percent and leaf number.

Key words: Activated charcoal, PVP, meristem culture, cherry, hormone treatment