

## بررسی اثر برخی آنتی اکسیدان‌ها بر استقرار و رشد ریزنمونه‌های دو ژنوتیپ از گردوب ایرانی (Juglans regia L.) در شرایط درون شیشه‌ای

محمد باقر یاری (۱)، منصور غلامی (۲)، محمود اثنی عشری (۲) و امید کرمی (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعالی سینا، ۲- دانشیاران گروه باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه

بوعالی سینا، ۳- مرتبی گروه بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعالی سینا

### چکیده

ترکیبات فنولی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده در ریز ازدیادی گردو است. برای کنترل آنها از ترکیبات آنتی اکسیدانی استفاده می‌گردد. در این تحقیق، اثر چهار آنتی اکسیدان بر روی ریزنمونه‌های دو ژنوتیپ Z60 و Z63 گردو از کلکسیون ایستگاه تحقیقات گردوب توسی‌کان بررسی شد. این تحقیق به صورت دو آزمایش فاکتوریل مجزا، برای هر ژنوتیپ و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. اسید اسکوربیک، اسید سیتریک، اسید آمینه سیستئین و پلی وینیل پیرولیدین به عنوان فاکتور اول و غلطت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر فاکتور دوم در هر تیمار بودند. محیط کشت ریزنمونه‌ها DKW با ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA بود. در ژنوتیپ Z63 نتایج پس از شش هفته نشان داد که پلی وینیل پیرولیدین در کاهش تعداد ریزنمونه‌های قهوه‌ای شده، وزن تر و قطر کالوس تولید شده نسبت به سایر تیمار اثر معنی داری داشته است. در ژنوتیپ Z60 اسید آمینه سیستئین اثر معنی داری در کاهش تعداد ریز نمونه‌های قهوه‌ای شده و وزن تر کالوس داشت. اما اثر آن روی قطر کالوس معنی دار نبود. اثر پلی وینیل پیرولیدین در قطر کالوس‌های تولید شده تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشت. از نظر صفات مورد بررسی بین سایر تیمارها و غلطت‌های به کاربرده شده، در هر دو ژنوتیپ اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.

### مقدمه

تکثیر درون شیشه‌ای یکی از مهمترین روش‌های ریز ازدیادی است که مرحله استقرار و رشد نمونه‌ها در آن اهمیت زیادی دارد. بافت‌های مورد استفاده برای کشت بافت گردو غنی از مواد پلی فنلی می‌باشد که اکسیداسیون آنها موجب صدمه دیدن و تیرگی بافت شده و استقرار ریز نمونه را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. برای غلبه بر این مشکل از روش‌های گوناگونی استفاده شده که از مهمترین آنها استفاده از آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. لوپز و همکاران (۲۰۰۱) اثر اسید آمینه سیستئین، وکلودوت و همکاران (۱۹۹۲) اثر پلی وینیل پیرولیدین را به عنوان آنتی اکسیدان در ریز نمونه‌های گردو Juglans regia بررسی کردند. هدف از این تحقیق بررسی چهار نوع آنتی اکسیدان بر استقرار و رشد ریز نمونه‌های دو ژنوتیپ گردوب ایرانی است. مواد و روش: ریزنمونه‌ها از ژنوتیپ‌های Z60 و Z63 در خرداد ماه، از کلکسیون ایستگاه تحقیقات گردوب توسی‌کان جمع آوری و پس از ضدغونی سطحی با الکل ۷۰٪ و سپس با هیپوکلرید سدیم ۱/۵٪ با آب قطر شستشو شدند. ریزنمونه‌های با قطر ۰/۵ تا ۰/۸ سانتی متر و طول ۰/۵ تا ۲ سانتی متر و حاوی جوانه، بر روی محیط کشت پایه DKW دارای ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA کشت گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. تیمارها شامل چهار نوع آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک، اسید سیتریک، اسید آمینه سیستئین و پلی وینیل پیرولیدین به عنوان فاکتور اول و دو غلطت ۲۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر از هریک به عنوان فاکتور دوم اعمال گردید.

### نتایج و بحث

در ژنوتیپ Z63 نتایج پس از شش هفته نشان داد که پلی وینیل پیرولیدین در کاهش درصد و تعداد قهقهه‌ای شدن ریزنمونه‌ها، وزن تر و قطر کالوس تولید شده نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشته است. اما بین تیمارهای اسید اسکوربیک، اسید سیتریک، اسید آمینه سیستئین از نظر این صفات اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. در ژنوتیپ Z60 نتایج پس از شش هفته نشان داد که اسید آمینه سیستئین اثر معنی‌داری در کاهش درصد و تعداد قهقهه‌ای شدن ریزنمونه‌های تولید شده و وزن تر کالوس داشت. اما روی قطر کالوس معنی‌دار نبود. پلی وینیل پیرولیدین در قطر کالوس‌های تولید شده نسبت به تیمارهای اسید اسکوربیک، اسید سیتریک، اسید آمینه سیستئین تفاوت معنی‌داری داشت. که با یافته‌های لوپز (۲۰۰۱) مطابقت داشت.

### منابع

- Claudot, A.C.Druel, A&Jay-Allemand, Ch.(1992).“tissue distribution of phenolic compound in annual shoot from adult and rejuvenated hybrid walnut tree”.Plant Physiol Biochem.30:565-572  
 Lopez, J.M.(2001). “field behavior of self rooted walnut tree of different cultivar produced by tissue culture and planted in Murica(Spain)”.Acta Hort.544:543-546

### **The effect of some antioxidant agents on establishment and growth of two Persian walnut (*Juglans regia L.*) genotypes explant in in vitro condition Yari1,**

M.B. Gholami<sup>1</sup>, M. Esnaashari<sup>1</sup>, M. and Karami<sup>2</sup>, O. 1 Post graduate student, Associated professor department of horticulture sciences, faculty of agriculture, Bu-Ali Sina university, respectively 2 Department of biotechnology, faculty of agriculture, Bu-Ali Sina university

#### **Abstract**

Phenolic compounds are the most restrictive agents in walnut micropropagation. In this research the effect of four different antioxidants on the explants of two walnut genotypes (Z60 and Z63) was investigated. The culture media was DKW supplemented with 0.2 mg/l IBA. Two separate factorial experiments were conducted using completely randomized design with three replicates of Ascorbic acid, Cystein amino acid and Poly vinyl pirolydin with two concentrations for each (20 and 40 mg/l). The results showed that after six weeks, Poly vinyl pirolydin significantly decreased the number of browned explants, fresh weight and diameter of Z63 genotype callus compared to other treatments. Cystein had significant effect on decreasing number of browned explants and fresh weight of Z60 genotype callus tissue but no significant effect on callus diameter. Poly vinyl pirolydin had significant effect on diameter of produced callus compared with other treatments. The genotypes and other treatments had no differences regarding investigated characteristics. Key words: antioxidant, walnut, in vitro culture