

## فاکتورهای موثر بر بهبود جوانه زنی و تبدیل به گیاهک جنین های سوماتیکی گردوی ایرانی (*Juglans regia*)

حسن بهرامی سیرمندی و کورش وحدتی

گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران

رویوان های خوب نمو یافته از محیط کشت بلوغ یک لاین رویان زا مشق شده از لپه های نابالغ ژنوتیپ *G79 (Juglans regia L.)* برای مطالعات جوانه زنی و تبدیل به گیاهک انتخاب شدند. جنین های سوماتیکی در معرض پیش تیمارهای سرما، روش های مختلف خشک کردن و ترکیبی از این دو پیش تیمار، قرار گرفتند. در محیط های جوانه زنی، جنین های سوماتیکی به صورت رشد ساقه تنها، رشد ریشه تنها و یا رشد هر دو ساقه و ریشه، جوانه زدند. بدون پیش تیمار، ۲۶٪ جنین های سوماتیکی دارای ریشه و ساقه، در حالی که ۵۴٪ از رویان هایی که پیش تیمار سرما دریافت کردند، به گیاهک تبدیل شدند. در تیمار خشک کردن به صورت سریع، آهسته و طولانی به ترتیب ۲۷٪، ۳۷٪ و ۵۷٪ از جنین های سوماتیکی جوانه زده دارای هم ریشه و هم ساقه بودند. تیمار نگهداری در سرما در ترکیب با خشک کردن طولانی سبب بالا بردن درصد جوانه زنی جنین های سوماتیکی تا ۷۳٪ شد. بعد از گذشت ۳ هفته در محیط کشت جوانه زنی، جنین های سوماتیکی جوانه زده در پیش تیمار سرما توأم با خشک کردن، به ۶ محیط کشت رشد و نمو گیاهک انتقال داده شدند. بهترین تیمار برای رشد و نمو گیاهک های دارای ساقه و ریشه محیط کشت نصف  $DKW + 0.05$  سوکروز + ۰.۱٪ زغال فعال بود.

واژه های کلیدی: گردو، جنین زایی سوماتیکی، پیش تیمار خشک کردن، زغال فعال

### مواد و روش ها

#### لاین رویان بدنی

یک لاین رویان بدنی ثانویه، مشتق شده از لپه های نابالغ جنین جنسی ژنوتیپ *G79* گردوی ایرانی (*Juglans regia L.*) در این مطالعه استفاده شد (وحدتی و همکاران، ۲۰۰۶).

#### بلوغ رویانهای بدنی

رویانهای بدنی در مرحله کروی شکل انتخاب و سپس بر روی محیط کشت بلوغ، به مدت یک ماه با هفته ای یکبار واکشت بر روی محیط مشابه درتاریکی و دمای  $25^{\circ}C$  قرار داده می شدند. رویانهای بدنی خوب نمو یافته از محیط کشت بلوغ برای جوانه زنی و تبدیل به گیاهک انتخاب می شدند. محیط کشت بلوغ شامل عناصر غذایی کم مصرف و پر مصرف محیط کشت *DKW* که به آن ۲ میلی گرم برلیتر *ABA* (بوسیله فیلتر استریل شده) و ۳۰ گرم سوکروز و ۰.۳٪ ژلرایت اضافه شد.

پیش تیمارها برای افزایش جوانه زنی

پیش تیمارهای سرما (نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت یکماه)، پیش تیمارهای خشک کردن به سه صورت سریع، آهسته و کامل و پیش تیمار سرما توأم با خشک کردن کامل به رویانهای بالغ داده شد.

#### محیط کشت جوانه زنی

بعد از پیش تیمارها، رویانهای بدنی بر روی محیط کشت DKW تکمیل شده با ۰/۵ میلی گرم برلیتربنزیل آمینو پورین (BAP)، ۰/۵ میلی گرم برلیترکایتین (Kin)، ۲ میلی گرم برلیتر اسید جیبرلیک (GA<sub>3</sub>)، ۳۰ گرم برلیتر سوکروز قرار داده می شوند.

#### رشد و نمو گیاهکها

بعد از گذشت ۳ هفته در محیط کشت جوانه زنی، رویانهای بدنی جوانه زده از پیش تیمار جوانه زنی سرما توأم با خشک کردن انتخاب و به ۶ محیط کشت مختلف برای بررسی اثر زغال فعال، غلظت مختلف عناصر غذایی محیط کشت و سوکروز انتقال داده شدند.

#### آنالیز آماری

این آزمایش دو بار تکرار شد. داده ها براساس طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS9 آنالیز شد. مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. سطح معنی داری  $P \leq 0.05$  در نظر گرفته شد.

#### نتایج و بحث

بدون پیش تیمار، ۲۶٪ جنینهای سوماتیکی دارای ریشه و ساقه، در حالی که رویانهای که پیش تیمار سرما دریافت کردند، ۵۴٪ از آنها به گیاهک تبدیل شدند. در تیمار خشک کردن به صورت سریع، آهسته و طولانی به ترتیب ۲۷٪، ۳۷٪ و ۵۷٪ از جنینهای سوماتیکی جوانه زده دارای هم ریشه و هم ساقه بودند. تیمار نگهداری در سرما در ترکیب با خشک کردن طولانی سبب بالا بردن درصد جوانه زنی جنینهای سوماتیکی تا ۷۳٪ شد. بعد از گذشت ۳ هفته در محیط کشت جوانه زنی، جنینهای سوماتیکی جوانه زده از بهترین تیمار جوانه زنی به ۶ محیط کشت رشد و نمو گیاهک انتقال داده شدند. رشد گیاهکها بعد از ۴ هفته بوسیله اندازه گیری ارتفاع ساقه، طول ریشه و تعداد برگ ارزیابی شد. زغال فعال و کاهش غلظت عناصر پرمصرف و کم مصرف محیط کشت DKW و همچنین غلظت سوکروز اثر معنی داری بر روی رشد طولی ساقه نداشتند. زغال فعال و کاهش غلظت سوکروز و عناصر غذایی محیط کشت، اثر چشمگیری بر روی رشد ریشه داشت و بدین ترتیب بالاترین طول ریشه در محیط کشت رشد و نمو نصف عناصر پرمصرف و کم مصرف محیط کشت پایه DKW + ۱/۲ + ۰/۵٪ سوکروز + ۱٪ زغال فعال مشاهده شد. اختلاف معنی داری در بین محیطهای استفاده شده برای رشد و نمو گیاهکها برای تعداد برگها بر روی ساقه مشاهده نشد بجز برای محیط کشت دارای DKW + ۱/۲ + ۰/۵٪ سوکروز + ۱٪ زغال فعال. در این محیط برگها از نظر مورفولوژی بزرگ تر و دارای دمبرگ کوتاهتری نسبت سایر محیطهای دیگر بودند.

گری (۱۹۸۷) سودمندی تیمارهای خشک کردن برای جوانه زنی و تبدیل به گیاهک رویانهای بدنی در انگور را ثابت کرد. بر طبق گزارشات گری (۱۹۸۷) آبگیری نقشی در شکستن خواب رویان، احتمالاً در مکانیسمهای تنظیمی که رشد بعد از جوانه زنی از رویانهای بالغ را کنترل می کند، بازی می کند. در گردو، بعد از یک دوره تیمار نگهداری در سرما

گیاه کامل از رویانهای بدنی *Juglans regia* باززایی شد (تولکه و مگ گراناها، ۱۹۸۵). مطالعه ما نیز نشان داد که جوانه زنی رویانهای بدنی *Juglans regia* زمانی که فقط یک دوره تیمار نگهداری در سرما دریافت می کنند، افزایش می یابد. نتایج مشابه نیز در *Juglans nigra x Juglans regia* (دنگ و کرنو، ۱۹۹۲) و *Juglans regia* (لی و همکاران، ۱۹۸۸) گزارش شده است. مک گراناها و همکاران (۱۹۸۷) گزارش دادند که رشد ریشه رویانهای جوانه زده گردو بعد از انتقال به یک محیط وایت با سوکروز کاهش یافته و زغال فعال اضافه شده، بهبود می یابد. این گزارش با نتایج ما که گیاهکها بر روی محیط کشت پایه DKW  $1/2 + 1/5$  سوکروز + ۱٪ زغال فعال ریشه های طولتری نشان می دهند، هماهنگ است.

## منابع

- Deng M D and Cornu D (1992) Maturation and germination of walnut somatic embryos. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 28: 195–202
- Gray D J (1987) Quiescence in monocotyledonous and dicotyledonous somatic embryos induced by dehydration. *HortSci.* 22: 810–814
- Tulecke W and McGranahan G H (1985) Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledons of walnut, *Juglans regia* L. *Plant Sci.* 40: 57–63
- Vahdati K and Bayat Sh, Ebrahimzadeh H, Jariteh M and Mirmasoumi M (2008) Effect of exogenous ABA on somatic embryo maturation and germination in Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 93:163–171

### Influenced factors on germination and conversion to plantlet somatic embryos of Persian Walnut (*Juglans regia*)

Hassan Bahrami Sirmandi, Kouros Vahdati

Department of Horticultural Sciences, College of Abooraihan, University of Tehran, Tehran

#### Abstract

In this study, factors affecting on germination and conversion to plantlet somatic embryos evaluated. In germinating dishes, somatic embryos germinated into only shoots, only roots, or both shoots and roots. Without any pretreatment, 26% somatic embryos germinated, while those treated with cold-pretreatment germinated at 54% with both shoots and roots. Treated with desiccation, either with fast, slow and full desiccation, somatic embryos germinated at 27%, 37% and 57% with both shoots and roots, respectively. Treatment with 2 month cold storage in combination with full desiccation resulted in higher of somatic embryos germinating, 73% of which showed both shoots and roots. Plantlet obtained from this treatment, transferred to plantlet development media. Plantlet development was improved by using lower medium salts and sucrose concentrations. The addition of activated charcoal enhanced root development.

**Key Word:** Walnut, Somatic embryo, Pre-treatment, Germination, Conversion