جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بهینه سازی تکثیر نسترن *Natal Briar–Rosa canina* برای پایه‌های رز هلندی از طریق کشت بافت

کیان حضرتی[1*]، مهرآنا کوهی دهکردی[2]، ابوالحسن شاهزاده فاضلی[3]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور

۲-استادیار گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور

۳ - دانشیار بانک گیاهی مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران

چکیده

گل نسترن با نام علمی *Rosa canina*، یکی از گونه‌های وحشی رز و بومی اروپا، آسیای باختری و شمال خاوری آفریقا می‌باشد. گونه‌های بسیاری از آن در جنگل‌های شمال، منطقه ارسباران و ارتفاعات فوقانی مناطق دیگر ایران بصورت خودرو یافت می‌شود. رزها بطور سنتی بوسیله روش‌های تکثیر رویشی همچون قلمه زدن و پیوند تکثیر می‌گردند. در مطالعه حاضر به منظور یافتن راهکار جایگزین به دلیل مقدور نبودن فراهم نمودن شرایط مذکور، بجای تکثیر رز از طریق کشت بافت، تصمیم گرفته شد از تکثیر پاجوش‌های رزهای وارداتی نسترن ناتال برایار از طریق کشت بافت استفاده شود و سپس بروی نسترن کشت بافتی پیوند جوانه یا همان T اعمال شود. در این پژوهش نمونه برداری از پا جوش‌های رز هلندی وارداتی بصورت شاخه‌های ۳۰ سانتی صورت گرفته و نمونه‌ها به آزمایشگاه کشت بافت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران منتقل شدند. برگ‌ها از دمبرگ قطع و شاخه‌ها به تک گره‌های ۲ الی ۳ سانتی‌متری تقسیم شدند. با توجه به ظرفیت بالای کشت بافت گیاهی ، مراحل تکثیر، استقرار، پرآوری، ریشه زایی نسترن NatalBriar در سطح محیط کشت پایه MS،DKWوVS مورد ارزیابی قرار گرفت. قطعات ۲ سانتی‌متری ساقه پس از گندزدایی در محیط‌های کشتVS و MS قرار گرفتند.جوانه‌های رشد کرده به منظور پرآوری به محیط‌هاپایه MS،VS وDKW حاوی تنظیم کننده‌های رشدیBA (۰.۲۵ ، ۰.۵ ، ۱، ۱.۲۵میلی‌گرم بر لیتر)و NAA(۰.۵، ۰.۱، ۰.۰۵، ۰.۰۱میلی‌گرم بر لیتر)مستقر شدند. برای تحریک ریشه زایی تیمار ترکیبی IBA(۱، ۰.۵) با NAA(۰.۱)بهترین پرآوری و رشد مطلوب را محیط پایه VS با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAو۰.۵ میلی‌گرم بر لیترNAA داشت و بهترین ریشه زایی در محیط VS با ۰.۵ میلی‌گرم بر لیترIBA، بدست آمد.

کلمات کلیدی: نسترن، ناتال برایار، محیط VS ، محیط پرآوری

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گل نسترن با نام علمی *Rosa canina*، یکی از گونه‌های وحشی رز و بومی اروپا، آسیای باختری و شمال خاوری آفریقا می‌باشد. گونه‌های بسیاری از آن در جنگل‌های شمال، منطقه ارسباران و ارتفاعات فوقانی مناطق دیگر ایران بصورت خودرو یافت می‌شود. گل‌های آن ریز هستند که به رنگ‌های صورتی، سفید، قرمز و گاهی زرد یافت می‌شوند. بوی آن‌ها ملایم و مطبوع است.نسترن درختچه‌ای برگریز است که ارتفاع آن از ۱ تا ۵ متر متغیر بوده و ممکن است رشد بیشتری هم نشان دهد. گل‌های نسترن کوچک و دارای پنج گلبرگ هستند .میوه آن بیضی شکل به رنگ قرمزتیره یاروشن است که به نام سی نورودون Cynorhodon خوانده می‌شود.رزها بطور سنتی بوسیله روش‌های تکثیر رویشی همچون قلمه زدن و پیوند تکثیر می‌گردند (carelli and Echeverrigaray. 2002). بذرها معمولاً برای تکثیر گونه‌ها، ارقام جدید و برای تولید پایه‌ها استفاده می‌شوند (Horn, 1992. برجسته‌ترین خصوصیت روش‌های تکثیر درون شیشه‌ای قدرت تکثیر بسیار زیاد در فاصله زمانی اندک و تولید گیاهان عاری از بیماری می‌باشد. همچنین از آنجایی که این روش قادر به تکثیر بسیار سریع واریته‌های جدید در مدت زمان کوتاهی می‌باشد در اصلاح واریته‌های جدید رز حائز اهمیت است. امروزه در سطح دنیا تقاضا برای استفاده از رزهای تکثیر شده برای تولید گل‌های شاخه بریده بسیار افزایش یافته است (Patiet al. 2006).با این وجود کاربردهای تجاری این بررسی‌ها بسیار محدود می‌باشد زیرا نتایج بسیار متناقض و سرعت تکثیر کم در بسیاری از ارقام مهم رز بدست آمده است (Carelli and Echeverrigaray 2002).

در این پژوهش سعی شده شده با کمترین هزینه پایه رزی تولید شود که در اختیار گلخانه داران رز قرار گیرد تا به عنوان راه حلی برای فرار از این بحران مورد استفاده قرار گیرد.تا کنون اکثر پژوهش‌های صورت گرفته در حوزه تولید رزهای هلندی در داخل کشور فقط تکثیر ارقام رزهای هلندی به روش کشت بافت بوده است. این امر دارای معایب عمده‌ای می‌باشد که در زیر به چند نمونه از معایب آن اشاره می‌شود.

رزهایی که به روش کشت بافت و بدون پایه نسترن تولید می‌شوند خیلی ضعیف بوده و عمر اقتصادی تولید گل تقریباً به نصف یعنی از ۴ به ۲ سال کاهش پیدا می‌کند، عیب دیگر کیفیت پایین گل‌های شاخه بریده از لحاظ ارتفاع، بزرگی غنچه گل، ماندگاری گل و تعداد آن در واحد سطح نسبت به رزهای پیوندی بر روی نسترن می‌باشد. همچنینرزهای کشت بافتی به بیمارهای بستر کشت، EC و PH بستر کاشت مقاوم نمی‌باشند. این در حالی است که نسترن به بیماری‌های قارچی و باکتریایی مقاوم بوده و آستانه تحمل EC و PH بالایی نسبت به رزهای بدون پایه نشان می‌دهد. در نهایت یکی از معایب مهم، کاربردی و اقتصادی آن دوره نونهالی بالا نسبت به رزهایی با پایه نسترن می‌باشد. رزهای پایه نسترن از زمان پیوند تا تولید گل شاخه بریده اقتصادی ۲ ماه گزارش شده است که در رزهای کشت بافتی این زمان ۴ الی ۵ ماه طول می‌کشد.

طبق بررسی‌های انجام شده رزهای هلندی وارداتی، نمونه‌هایی پیوندی بر روی پایه نسترن می‌باشند. پیوند ذکر شده از نوع پیوند stenting بر روی پایه نسترن است که به همزمانی ریشه دار شدن قلمه نسترن و گرفتن پیوند رقم رز در طول مدت ۴ هفته اطلاق می‌گردد و برای این منظور شرایط محیطی فوق العاده خاصی اعم از رطوبت ۹۰ درصد، سیستم آبیاری تغذیه جزر و مدی، ۶۰۰۰ لوکس نور و هورمون‌های خاص مورد نیاز است. در مطالعه حاضر به منظور یافتن راهکار جایگزین به دلیل مقدور نبودن فراهم نمودن شرایط

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مذکور، بجای تکثیر رز از طریق کشت بافت، تصمیم گرفته شد از تکثیر پاجوش‌های رزهای وارداتی نسترن ناتال برایار از کشت بافت استفاده شود و سپس بروی نسترن کشت بافتی پیوند جوانه یا همان T اعمال شود.

مواد و روش

در این پژوهش نمونه برداری از پا جوش‌های رز هلندی وارداتی بصورت شاخه‌های ۳۰ سانتی صورت گرفته و نمونه‌ها به آزمایشگاه کشت بافت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران منتقل شدند. برگ‌ها از دمبرگ قطع و شاخه‌ها به تک گره‌های ۲ الی ۳ سانتی‌متری تقسیم شدند. به منظور ضد عفونی تگ گره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه زیر آب جاری قرار گرفته و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۲.۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه تیمار شدند، در نهایت با آب مقطر استریل ۳ مرتبه به مدت ۳، ۵ و ۷ دقیقه کاملاً شستشو داده شدند.

به منظور استقرار ریزنمونه‌های نسترن در دو محیط کشت پایه MS و VS (Van der salmSalmet al.1994) حاوی غلظت‌های BA ۱و NAA ۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر منتقل شدند..نمونه‌ها تحت شرایط محیطی ۶۰۰۰ لوکس نوری و ۱۸ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. یک ماه پس از کشت درصد نوساقه ها بر اساس نوساقه‌های تولید شده به کل ریزنمونه‌های کشت شده و تعداد نوساقه‌ها بر اساس مجموع تعداد نوساقه‌های تولید شده بر کل تعداد ریزنمونه‌های باززایی شده بررسی شدند بعد از یک ماه جوانه‌ها در محیط VS رشد بهتری داشتند.

نوساقه‌های رشد کرده در مرحله استقرار جهت پرآوری به ۳ محیط کشت پایه MS، VS وDKW با تیمارهای هورمونی BA (0،0.25،0.5، 1،1.25 میلی‌گرم بر لیتر) و IAA (0.01،0.05،0.1، 0.5 میلی‌گرم بر لیتر) و ترکیبات این دو هورمون منتقل شدند.

به منظور ریشه‌زایی گیاهچه های پرآوری شده در مرحله تکثیر از محیط کشت Van der Salm در ترکیب با غلظت IBA (0.5،1) با NAA(0.1) منتقل شدند که بهترین ریشه زایی را در ترکیب هورمونی IBA(0.5) داشت.

نتایج و بحث

مقایسه تیمارها در مرحله پرآوری تفاوت معنی‌داری در درصد تشکیل و تعداد نوساقه‌ها در محیط‌های کشت پایه MS، Van der salm، DKWنشان داد. غلظت هورمون BA به تنهایی و یا در ترکیب با NAA تأثیر معنی‌داری بر درصد تشکیل نوساقه‌هاو تعداد آن‌ها بروی محیط‌های استقرار داشت. افزایش غلظت BA تا ۱ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش درصد شاخه‌زایی بروی محیطVan der salm شد، اما با افزایش غلظت بیشتر این هورمون بطور معنی‌داری درصد تشکیل نوساقه‌ها کاهش یافت. بررسی‌های انجام شده در نسترن ناتال-برایار نشان داد که BA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر با ۰.۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین درصد شاخه‌زایی را داشته است.مشابه این نتایج در بررسی اثر سه اکسینNAA، IBA و IAA در ترکیب با BA بر تکثیر رز نشان داد که NAA بیشترین تأثیر را بر ریزازدیادی رز داشته است (Vijaya et al.1991).

در محیط‌های کشت پایه MS وDKW در اکثر تیمارهای هورمونی دو هفته پس از کشت زرد شدن و ریزش برگ‌ها ودر برخی موارد نکروزه شدن جوانه انتهایی مشاهده شد. اما در محیط Van der salm، حتی یک ماه پس از کشت نیز ریزش برگ و زرد شدن مشاهده نشد. در این محیطکشت بجای FeEDTA از FeEDDHA به عنوان منبع آهن استفاده شده بود و سایر عناصر و غلظت‌ها کاملاً مشابه

محیط کشت MSبود. اثر برتر FeDDHA در مقایسه با FeEDTA بر تکثیر و جلوگیری از زرد شدن و نکروزه شدن رزها قبلاً در Rosa hybrid L. گزارش شده است(Van der salm et al.1994).

بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمار هورمونی حاوی ۰.۰۳ تا ۰.۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد. مشابه این نتایج در نسترن ناتال‌برایار رقم‌های (Tropicana و Bridal، Rosa canina و Rosa damascene) گزارش شده است که بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط حاوی ۰.۰۵ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمده است(Khosh-Khui and Sink. 1982). با افزایش غلظت هردو هورمون NAA و IBA تعداد ریشه‌ها افزایش یافت.بطوری‌که بیشترین تعداد ریشه‌ها در محیط Van dersalm حاوی ۰.۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA ایجاد شد. در محیط‌های ریشه‌زایی هیچگونه کالوسی مشاهده نشد همچنین در محیط‌های ریشه‌زایی خصوصاً در تیمارهای حاوی IBA گیاهان بدست آمده سه ماه بدون واکشت کاملاً شاداب بدون زرد شدن برگ‌ها بودند.تعدادی از گیاهان سالم در مرحله سازگاری پس از چند روز بدلیل پوسیدگی از بین رفتند اما در نهایت ۷۵ درصد گیاهان زنده ماندند و به گلخانه انتقال یافتند. سازگاری موفقیت آمیز گیاهان تکثیر شده از طریق کشت بافت و انتقال آن‌ها به شرایط مزرعه مرحله بسیار حساسی از تولید تجاری رز می‌باشد. در بررسی‌های صورت گرفته سازگاری رزهای کشت بافتی بسیار سخت گزارش شده است زیرا بسیاری از آن‌ها در اثر خشک شدن سریع و یا پوسیدگی گیاهان به دلیل رطوبت بالا از بین می‌روند(Pati et al. 2006).

در این بررسی تکثیر نسترن ناتال‌برایار با استفاده از تیمارهای هورمونی BA و NAA در محیط‌های Van dersalm، MS و DKW بررسی گردید. در مجموع محیط کشت Van dersalm حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰.۱ میلی گرم NAA بیشترین تعداد نوساقه‌ها راتولید نمود بیشترین ریشه‌زایی در محیط حاوی ۰.۵ میلی‌گرم در لیتر IBA ایجاد شد.نتایج حاصل در این بررسی نشان داد که تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و نوع محیط کشت بر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی نسترن ناتال‌برایار مؤثر بوده و می‌توان به منظور تکثیر و تولید سریع، ارزان و بدون وابستگی به فصل گیاهان عاری از بیماری نسترن استفاده نمود.

بر اساس نتایج بدست آمده محیط کشت VS (Van Der Salm)، بهترین محیط کشت تعیین شد چرا که در محیط‌های کشت MS و DKW برگ‌ها زرد شده و کاملاً خزان نمودند و از طرف دیگررشد و پرآوری خوبی نداشتند. تیماری که بهترین ضریب پرآوری و رشد مناسب را نشان دادتیمار BA1 میلی‌گرم بر لیتر و NAA0.5 میلی‌گرم بر لیتر بود که نسبت به تیمارهای دیگر مناسب‌تر بود. گیاهچه‌های رشد کرده در مرحله بعدی به محیط کشت ریشه زایی با همان محیط پایه با تیمارهای (۰.۵ و۱) میلی‌گرم بر لیترBAو (۰.۵) میلی‌گرم بر لیترNAA و ترکیبات این دو منتقل شد بعد از گذشت ۲۵ روز بهترین ریشه زایی در تیمار مستقل ۰.۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA در محیط پایه VS با چهار ریشه در هر گیاهچه مشاهده گردید.

با توجه به بررسی‌های انجام شده در این طرح معلوم گردید که محیط‌های پایه MS و DKW برای رزها و نسترن مناسب نیستند و بهترین محیط، محیط پایه VS می‌باشد. برای پرآوری نسترن ناتال برایار BA بالای ۱ میلی‌گرم در لیتر نه تنها باعث افزایش پرآوری نمی‌گردد بلکه باعث توقف رشد و تغییر شکل گیاه می‌شود و ترکیب هورمون سایتوکنین با یک اکسین باعث رشد مطلوب و بهتر گیاه نسبت به سایتوکنین تنها می‌باشد. برای ریشه زایی این گیاه نیز بهترین تنظیم کننده رشدی که می‌توان استفاده کرد IBA می‌باشد.

منابع

شیرزادیان ر., لطفی ن. "ریز ازدیادی رز الیزابت به روش کشت بافت در شرایط درون شیشه ای." ۶۲-۶۷.

صالحی ح, م. خوشخوی. انگیزش و رشد پینه در ارقام رز مینیاتور (Rosa chinensisJacp. var. minima Rehd)؛

یاری, ف., ف, موسوی, ی. مستوفی, ذ. زمانی. (۲۰۱۲). بهینه سازی کشت درون شیشه ای پنج رقم گل رز شاخه بریده (Roza hybrid L.). دوفصلنامه فن آوری زیستی در کشاورزی (علمی-پژوهشی), ۲(۲), ۱۷-۲۶.

Carelli BP, Echeverrigaray S (2002) An improved system for the in vitropropagation of rose cultivars. ScientiaHorticulturae. 92: 69–74.

Hasegawa PM (1979) In vitro propagation of rose. Horticulture Science. 14: 610–612.

Horn WAH (1992) Micropropagation of rose (Rosa L.). In: Bajaj YPS (ed) Biotechnology in agriculture and forestry, vol 20, High-tech and micropropagation IV. Springer, Germany, pp 320–342.

Hsia C, KorbanSS(1996) Organogenesis and somatic embryogenesis incallus cultures of Rosa hybrida and Rosa chinensis minima. PlantCell Tissue and Organ Culture.44: 1– 6.

Ibrahim R, Debergh PC (2001) Factors controlling highefficiency adventitious bud formation and plantregeneration from in vitro leaf explants of roses (Rosahydrida L.). ScientiaHorticulture. 88: 41–57.

Jain SM, Ochatt SJ (2010) Protocols for In Vitro Propagation of Ornamental Plants, Methods in Molecular Biology. Humana Press, INC, USA.

Kavand S, Kermani MJ, Haghnazari A, Khosravi P, Azimi MR (2011) Micropropagation and medium-term conservation of Rosa Pulverulenta. ActaScientiarum. Agronomy. 33(2): 297-301.

Kim KC, Chung JD, Jee SO, Oh JY (2003b) Somatic embryogenesis from in vitro grown leaf explants of Rosa hydrida L. Journal of Plant Biotechnology. 5: 161–164.

Kim KC, Oh JY, Jee SO, Chung JD (2003a) In vitromicropropagation of Rosa hybrida L. Journal of Plant Biotechnology. 5: 115–119

Khosh-Khui M, Sink KC (1982) Rooting enhancement of Rosa hybrida for tissue culture propagation. Scientia Horticulturae.17: 371– 376.

KhosraviP, JafarkhaniKermani M, Nematzadeh GA, Bihamta MR (2007) A protocol for mass production of Rosa hybrida cv. Iceberg through in vitro propagation. Iranian Journal of Biotechnology. 5 (2): 100-104.

MA Y, Byrne DH, Chen J (1996) Propagation of rose species in vitro.In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 32:103-108.

Marcelis van Acker CAM, Scholten HJ (1995) Development of axillary budsof rose in vitro. ScientiaHorticulturae. 63: 47– 55

Noriega C, Sondahl MR (1991) Somatic embryogenesis in hybrid tea roses. Biotechnology. 9: 991–993.