نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۲، نیمسال دوم ۱۳۸۹ ، ص. ۱۷۴-۱۷۰
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 24, No. 2, Fall- Winter 2010-2011, P. 170-174
ISSN: 2008 - 4730

بررسی اثر غلظت های متفاوت تیدیازورون و کینتین بر باززایی و پرآوری ژربرا (*Gerbera jamesonii*) رقم رداکسپلوژن

زینب غیور کریمیانی[1*]- عبدالرضا باقری[2]- مریم جعفرخانی کرمانی[3]- غلامحسین داوری نژاد[4]

تاریخ دریافت:۸۸/۶/۱۱
تاریخ پذیرش:۸۹/۱۰/۷

چکیده

بدلیل اهمیت گیاه ژربرا در تولیدات گیاهان زینتی و نیاز روز افزون به ازدیاد ارقام و خصوصیات جدید وارداتی، در این تحقیق ریزازدیادی آن مورد بررسی قرار گرفت تا میزان مناسب استفاده از غلظت هورمون تیدیازورون برای باززایی و همچنین غلظت مناسبی از هورمون کینتین در مرحله پرآوری تعیین گردد. برای باززایی شاخساره از رقم رداکسپلوژن، ریزنمونه های کاپیتولا، در محیط کشت MS حاوی غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر تیدیازورون کشت شدند و درصد باززایی از ۳۰ روز بعد از کشت تا روز ۷۵ هر ۱۵ روز یک بار محاسبه گردید. در مرحله پرآوری اثر غلظت های ۴، ۶ و ۸ میلی گرم در لیتر کینتین در محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت، صفات وزن تر و تعداد برگ هر شاخساره در دو مرحله هر یک به فاصله ۲۲ روز ارزیابی شدند. در مرحله ریشه زایی شاخساره ها در محیط کشت فاقد هورمون قرار گرفتند. بیشترین باززایی در غلظت های ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر تیدیازورون به میزان ۳۹ درصد، ۶۰ روز پس از کشت حاصل شد. در پرآوری و در مرحله اول اندازه گیری، افزایش وزن ریزنمونه در تیمار ۶ میلی گرم در لیتر کینتین بیشتر بود و در مرحله دوم، بیشترین افزایش وزن در تیمار ۴ میلی گرم در لیتر کینتین ثبت گردید، همچنین در هر دو مرحله، بیشترین تعداد برگ درتیمار ۶ میلی گرم در لیتر کینتین بدست آمد. همچنین ۸۷ درصد گیاهچه ها پس از یک ماه در محیط کشت ریشه زایی فاقد هورمون، ریشه دار شدند.

واژه های کلیدی: ژربرا، کشت بافت، تیدیازورون، کینتین

مقدمه

امروزه ژربرا *Gerbera jamesonii* سطح تولید بالایی را به خود اختصاص داده است و یکی از مهمترین گیاهان زینتی جهان به شمار می رود. این گیاه، به دو صورت شاخه بریده و گلدانی به بازار عرضه می گردد. سرعت ازدیاد این گیاه در روش های معمول تکثیر رویشی (قلمه زنی) پایین است، در نتیجه هزینه کلانی به تولید کننده تحمیل می کند، ضمن اینکه میزان پایین تولید گیاهان مرغوب، پاسخگوی نیاز تولید کننده گان گل های شاخه بریده نمی باشد. بطور متوسط میزان ازدیاد این گیاه در حدود هشت تا ده گیاه در سال است که البته می توان با اسپری کردن هورمون سیتوکینین[5] تعداد آن را تا سه برابر افزایش داد (۹). با این وجود نیاز به جایگزین کردن گیاهان مادری پس از یک سال گلدهی با گیاهان جوان به دلیل شیوع بیماری های ناشی از قارچ فایتوفترا نیز موجب محدودیت در استفاده از این روش می شود. روش ازدیاد جنسی نیز بدلیل گران بودن بذور ژربرا و جوانه زنی حساس و نیاز گیاه حاصل از کشت بذر به زمان طولانی ۱۴ تا ۱۸ هفته از هنگام کشت بذر تا گلدهی کاربرد زیادی ندارد. همچنین اهمیت بدست آوردن گیاهان عاری از ویروس و نیاز بازار به داشتن گیاهان یکنواخت از جمله مواردی است که سبب گسترش استفاده از روش کشت بافت در گیاه ژربرا گردیده است (۱۱).

از ریزنمونه های مختلف نظیر برگ (۱۷)، نوک شاخساره (۱۲)، کاپیتولا یا کلاپرک نابالغ (۲) و دمبرگ (۸) بسته به امکانات و هدف

۱-دانشجوی سابق کارشناسی ارشد،گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول: (Email:ghayoor@zier.uni-hannover.de
۲- استاد گروه بیوتکنولوژی وبه نژادی گیاهان زراعی ،دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- پژوهشگر و عضو هیات علمی، بخش تحقیقات کشت بافت و انتقال ژن، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
۴-دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

5- Cytokinin

محقق استفاده شده است. در مرحله پرآوری، از جدا کردن و کشت جوانه های باززایی شده در محیط کشت حاوی سیتوکنین صورت گرفته و بسته به میزان مورد نیاز، تعداد واکشت ها افزایش یافته و تعداد بیشتری گیاه بدست می آید. معمولا با افزایش غلظت سیتوکنین در محیط کشت، پرآوری افزایش می یابد. اگرچه گزارش هایی در ارتباط با کاهش میزان پرآوری با افزایش غلظت سیتوکنین وجود دارد (۵)، در اکثر ارقام ژربرا، میزان شاخه زایی از واکشت سوم و در واکشت های چهارم و پنجم و یا در ارقامی نیز تا واکشت ششم به حداکثر خود می رسد. کشت ها در بسیاری از ارقام پس از واکشت های متوالی رو به نابودی می روند و شاخه زایی رو به کاهش رفته و شیشه ای شدن مشاهده می شود. حتی می توان گفت تغییرات قابل مشاهده در صفات در تمام ارقام بوضوح نمایان می شود. البته نتایج برخی محققان نشان می دهد که با کاهش مقدار هورمون کینتین تا حدود چهار میلی گرم در لیتر در محیط کشت واکشت چهارم و۲ تا ۳ میلی گرم در لیتر قابلیت پرآوری نمونه ها را برای مدت طولانی تری فراهم می کند بطوری که این امکان را می دهد که در واکشت هفتم بتوان مرحله پرآوری را در حد مطلوب نگه داشت. اما از واکشت نهم تعداد زیادی برگ های بدفرم و غیرطبیعی و با نقطه های قهوه ای، شکل می گیرند. چنین علایمی در کشت بافت در برخی گیاهان نظیر میخک و گلابی نیز گزارش شده است (۲۰). دلیل بوجود آمدن این می تواند مشکل ناشی از تجمع سیتوکنین و برخی مواد معدنی در گیاه است (۱).

تحقیقات نشان داده اندازه شاخه تأثیر بسزایی بر روی ریشه زایی دارد (۱۰). تأثیر نور بر ریشه زایی شاخه ها متفاوت بوده و در مواردی، نور بیشتر از ۱۰۰۰ لوکس موجب افزایش ریشه زایی شده است. در مواردی نیز نور کمتر از ۸۰۰ لوکس ریشه زایی مؤثر را موجب شده است (۱۶). گرچه هورمون ها تأثیرات متفاوتی بر روی ریشه زایی داشته اند ولی در بسیاری از موارد شاخه های باززایی شده در محیط کشت پایه MS بدون هورمون قرار گرفته اند و ریشه زایی مطلوبی صورت گرفته است (۱۴). در تحقیق حاضر نیز با توجه به دلایل ذکر شده در لزوم بهینه سازی کشت بافت گیاه ژربرا با توجه به ورود نمونه کشت بافتی این گیاه از خارج از کشور، همچنین اهمیت و نیاز ازدیاد مقرون به صرفه آن در داخل سعی بر یافتن بهترین روش و غلظت مناسب هورمونی برای باززایی، پرآوری و ریشه زایی این گیاه شده است.

مواد و روش ها

گیاهان مادری در مرحلهٔ چهاربرگی و رقم رداکسپلوژن[1] از نمایندهٔ شرکت فلوریست[2] هلند خریداری شد. برای باززایی شاخه از ریزنمونه کاپیتولا، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار هورمونی با صد تکرار در نظر گرفته شد و از محیط کشت MS (۱۳) جامد شده با آگار۰/۷ درصد تهیه شده از شرکت سیگما و ساکارز به میزان ۳۰ گرم در لیتر، حاوی غلظت های ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر تیدیازورون[3] استفاده گردید. در تمام محیط کشت ها اسیدیته برابر با ۵/۷ تنظیم شد.

ریزنمونه ها از کاپیتولای (طبق گل) با قطر ۱-۰/۵ سانتی متر توسط اسکالپل تهیه شد و نیم ساعت با آب ولرم صابونی و چند قطره توئین ۲۰، قرار داده شده و سپس به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه در آب جاری آبشویی شد، دمگل کاپیتولا جدا گردید و کاپیتولا به مدت ۱۲۰ ثانیه در اتانول ۷۰٪ قرار گرفت. پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲٪ قرار گرفته و شستشو داده شدند. سپس نوک کاسبرگ ها جدا گردیدند و هر کاپیتولا در امتداد قطر به دو قسمت تقسیم شد و در محیط کشت قرار داده شد. پس از کشت شیشه ها به مدت یک ماه به محیط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل و پس از یک ماه نمونه ها به محیط رشد با فتوپریود ۱۶/۸(شب/ روز) و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل گردیدند.

برای مرحله پرآوری، گیاهچه های باززایی شده چهاربرگی در محیط کشت های حاوی ۴، ۶ و ۸ میلی گرم در لیتر کینتین قرار گرفتند. برای تعیین محیط کشت مطلوب در ابتدای کشت، وزن نمونه ها در محیط استریل و زیر هود با دقت یک هزارم گرم اندازه گیری گردید، سپس به محیط کشت منتقل شدند. وزن تر و تعداد برگ هر گیاهچه باززایی شده برای تعیین بهترین محیط کشت پرآوری در دو مرحله هر یک به فاصله ۲۲ روز اندازه گیری شد.

برای ریشه زایی، گیاهچه ها در محیط کشت MS فاقد هورمون قرار گرفتند و پس از دو هفته درصد ریشه زایی یادداشت برداری شد. برای سازگار کردن گیاهان بدست آمده با محیط گلخانه، گیاهان دارای ریشه‌های قوی و کافی از محیط کشت خارج شده و پس از شستشوی کامل ریشه و پاک کردن اطراف آن از آگار و محیط کشت، گیاهچه ها با دقت درون گلدان های کوچک حاوی کوکوپیت استریل کشت گردیدند و برای جلوگیری از، از دست رفتن رطوبت گیاهان تا سازگاری کامل گیاه، لیوان های شفاف بر روی آنها به صورت وارونه قرار گرفت.

پس از دو هفته هر روز به مدت دو ساعت لیوان ها از روی گلدان ها برداشته شدند. پس از آن، بسته به مقاومت گیاه به رطوبت هوا لیوان ها کاملاً برداشته شدند. تغذیهٔ گیاهان با استفاده از کریستالون پی جی میکس[4] انجام گرفت و برای جلوگیری از پوسیدگی طوقه گیاه آبیاری از زیر گلدان ها صورت می‌گرفت. پس از یک ماه و نیم گیاهان به گلدان بزرگ تر حاوی کوکوپیت منتقل گردیدند. شرایط

1- Red Explosion
2- Florist
3- Thidiazuron
4- Kristalon P.G. mix

نوری در تمام مراحل فتوپریود ۱۶/۸(شب/ روز) بود.

این آزمایش بر پایه طرح های کاملا تصادفی انجام شد و نتایج با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه آماری قرارگرفت و برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه دانکن ($P<0/1$) استفاده شد و ترسیم نمودار با نرم افزار EXCEL انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج بررسی باززایی کاپیتولا در فاصله زمانی ۳۰ روز پس از کشت، بیشترین باززایی در غلظت های ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر به میزان ۳۹ درصد در روز ۶۰ مشاهده گردید. در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر تیدیازورون هیچگونه باززایی رخ نداد. شایان توجه است که با گذشت زمان تا ۷۵ روز افزایشی در درصد گیاهچه های باززایی شده، مشاهده نشد. مقایسه درصد باززایی در غلظت های ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر، نشان می دهد با وجود یکسان بودن درصد نهایی باززایی، سرعت حصول به حداکثر باززایی در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر بیشتر است، به گونه ای که در طی ۳۰ و ۴۵ روز بترتیب ۳۰ و ۳۷ درصد باززایی مشاهده گردید. اما در غلظت ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر در روزهای ۳۰ و ۴۵ بترتیب ۱۷ و ۲۹ درصد باززایی بدست آمد (نمودار ۱).

نتایج سایر محققان نشان می دهد که غلظت بالای هورمون تیدیازورون موجب افزایش باززایی از ریزنمونه در گیاه ژربرا می گردد (۱۸). لازم به ذکر است مکانیسم فعالیت این هورمون هنوز ناشناخته است اما دو فرضیه در مورد آن وجود دارد، اول اینکه این هورمون می تواند با تحریک مستقیم بافت، موجب شاخه زایی گردد و دیگر اینکه موجب تحریک سیتوکنین های درون زا گردیده و شاخه زایی را تسریع کند (۶).

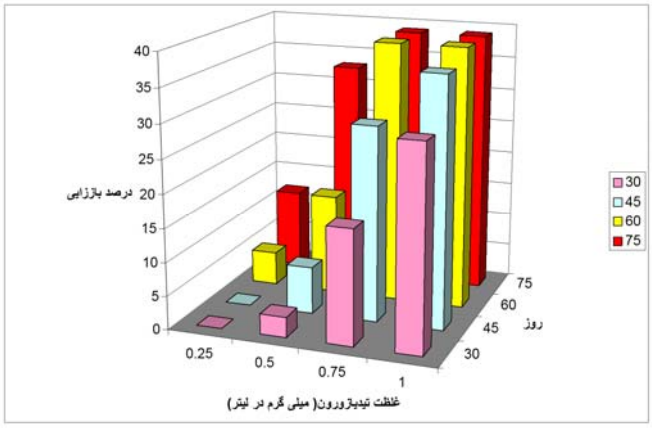
نتایج پرآوری در مرحله اول اندازه گیری نشان داد افزایش وزن گیاهچه در تیمار ۶ میلی گرم در لیتر کینتین بیشتر بوده و کمترین افزایش را گیاهچه های کشت شده در محیط کشت حاوی ۸ میلی گرم در لیتر کینتین داشتند، اما بین تیمارها اختلاف معنی داری در سطح ۱، ۵ و حتی ۱۰ درصد در افزایش وزن وجود نداشت. در دوره دوم، بیشترین افزایش وزن مربوط به تیمار ۴ میلی گرم در لیتر کینتین بوده و کمترین افزایش وزن در تیمار ۸ میلی گرم در لیتر کینتین مشاهده شد (نمودار ۲).

شمارش تعداد برگ گیاهچه ها در دوره اول نشان داد، تیمار ۶ میلی گرم در لیتر کینتین با میانگین۱۷ برگ در گیاهچه، بیشترین تعداد برگ را دارا بوده و اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۱۰ درصد با دو تیمار دیگر نشان داد. شایان ذکر است بیشترین تعداد برگ در دوره دوم نیز با میانگین ۲۵ برگ در گیاهچه، در تیمار ۶ میلی گرم در لیتر کینتین مشاهده شد اما اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان نداد (نمودار ۳).

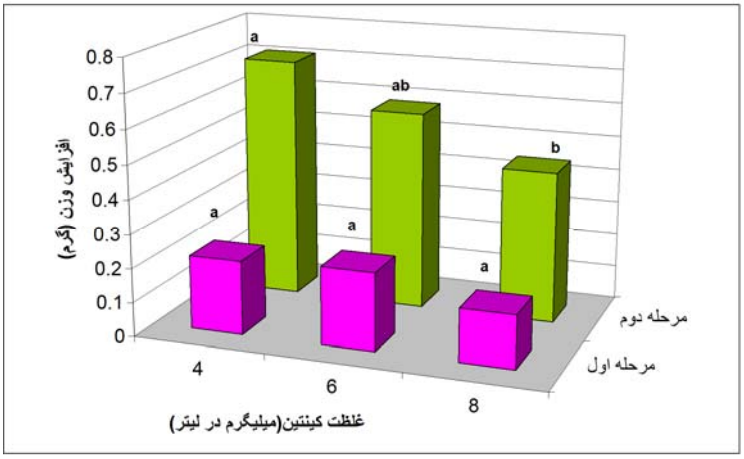
نتایج بدست آمده در این مرحله مشابه با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین بود (۸ و ۲۰).

بر اساس نتایج ریشه زایی گیاهچه های کشت شده در محیط کشت فاقد هورمون، پس از یک ماه از ریشه های مطلوبی برخوردار شدند در این محیط کشت ۸۷ درصد گیاهچه ها ریشه دار شدند. ریشه زایی گیاهچه های ژربرا در محیط کشت فاقد هورمون توسط محققان دیگری (۴، ۱۴، ۱۵ و ۱۹) نیز گزارش شده است. تحقیق حاضر نشان می دهد غلظت های ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر تیدیازورون در باززایی تاثیر چندانی نداشته و استفاده از غلظت های بالاتر و بهینه سازی این مقادیر در باززایی توصیه می شود. در این آزمایش غلظت های ۰/۷۵ و ۱ میلی گرم در لیتر تیدیازورون موجب باززایی قابل قبولی در ریزنمونه های گیاه ژربرا گردیدند. با توجه به تفاوت مدت زمان ذکر شده برای تولید اولین شاخساره ها از ریزنمونه در این دو تیمار هورمونی، غلظت ۱ میلی گرم در لیتر تیدیازورون توصیه می گردد، ضمن اینکه با در نظر گرفتن مزیت کمتر استفاده کردن از هورمون تیدیازورون بدلیل ثبات طولانی مدت این هورمون در بافت بایستی مد نظر باشد. همچنین برای پرآوری مناسب، برخی از محققین غلظت های بالاتری از سیتوکنین ها را برای افزایش تعداد شاخساره پیشنهاد داده اند، اما تحقیق حاضر نشان داد غلظت بالاتر کینتین که در این آزمایش ۸ میلی گرم در لیتر تعریف شده است، موجب افزایش پرآوری نگردید و کاهش رشد گیاهچه را موجب شد. در پایان شایان ذکر است یافتن مناسب ترین غلظت هورمونی برای مراحل باززایی و پرآوری مستلزم در نظر گرفتن مزایا و معایب استفاده از غلظت های هورمونی بالا است، زیرا اگرچه در مواردی غلظت های بالای هورمونی کمک به تسریع باززایی یا افزایش شاخه زایی میکند اما در مواردی موجب شیشه ای شدن و ایجاد گیاهان بد شکل میگردد، بنابراین همواره محقق بایستی عواملی چون، صرفه اقتصادی و سلامت گیاه تولید شده را نیز در نظر بگیرد.

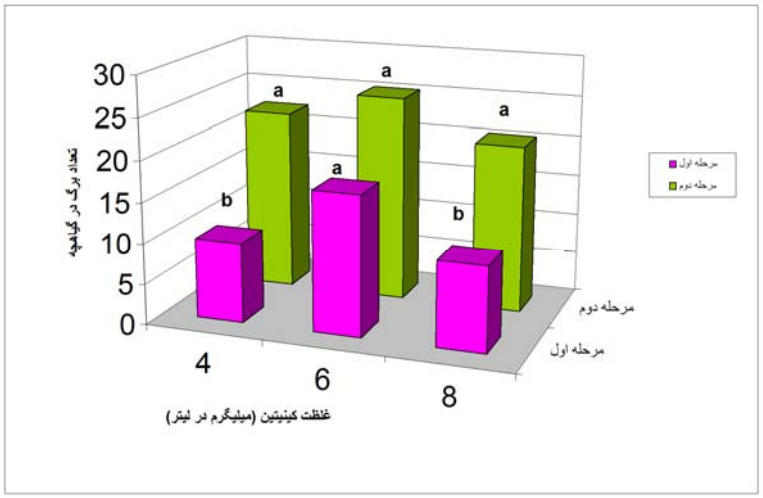
در تحقیق حاضر سعی بر یافتن تعادل هورمونی برای باززایی، پرآوری و ریشه زایی مناسب گیاه ژربرا گردید و میتوان گفت تا حدود زیادی شرایط رشد و نمو این گیاه در محیط در شیشه بهینه سازی گردید. لازم به ذکر است تحقیقات گسترده تری در سایر ارقام ژربرا کمک زیادی به تولیدکنندگان این گیاه زینتی ارزشمند خواهد کرد.



نمودار ۱- مقایسه اثر غلظت های تیدیازورون بر درصد باززایی از کاپیتولای ژربرا



نمودار ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت های کینتین بر افزایش وزن گیاهچه های باززایی شده در دو بازه زمانی ۲۲ روزه



نمودار۳- مقایسه میانگین اثر غلظت های کینتین بر تعداد برگ گیاهچه های باززایی شده در دو بازه زمانی ۲۲ روزه

منابع

1- Bouza L., Jacques M., Mazière Y., and Arnaud Y. 1992. In vitro propagation of *Prunus tenella* Bach. cv. 'Firehill': Control of vitrification; increase of the multiplication rate and growth by chilling. Sci. Hort. 52:145–15.
2- Chu C.Y., and Huang M.C. 1983. In vitro formation of Gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) Plantlets through excited scape culture. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 52:45-50.
3- Cod L.E. 1979. The story of the Barbeton daisy *Gerbera jamesonii*. Veld and Flore. pp:114-115.
4- Constantinovici D., and Sandu C. 1995. Study on the regenerative capacity of different Gerbera explant effective in vitro multiplication. Cercetari Agronomic in moldave 28(3-4):149-158.
5- Corchete M.P., Fenning T., Gartcand L.S., and Valle T. 1997. Micropropagation of Ulmus species (Elms). High-Tech and Micropropagation 39: 381–392.
6- Huetteman A., and Preece J. 1993. Thidiazuron a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant cell, tissue and organ culture 37:105-119.
7- Huan J. 1987. The micropropagation of Gerbera. Acta Hort. 14(2): 125-128.
8- Jerzy M., and Lubomski H. 1991. Adventitious shoot formation on ex vitro derived leaf explants of *Gerbera jamesonii* . Sci. Hortic. 47:115-124.
9- Kaminek M., Vanek T., Lalendova Kulasova A., and Pilar J. 1987. The effect of two cytokinins on production of stem cutting by stock plants of *Euphorbia pulcherrina* Wild and *Gerbera jamesonii* Hook. Sci Hortic. 33:281-289.
10- Laliberte S., Cheretien L., and Vieth J. 1985. In vitro plantlet production from young capitulum explants of *Gerbera jamesonii.* Hort. Sci. 20:137-139.
11- Maia E., Beck D., Poupet A., and Betttachini B. 1983. In vitro vegetative propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus. C.R. Acad. Sci. 296:885-887.
12- Murashige T., Serpa M., and Jones J.B. 1974. Clonal multiplication of Gerbera through tissue culture. Hortscience 9:175-180.
13- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 15(3): 473-497.
14- Olivera V.Z., Maria Gutierrez A., Jorge Gutierrez A., and Maria Andrade. 2000. Cultivativo *in vitro* de Gerbera *(Gerbera jamesonii)* y su aclimatacion en invernadero. Bioagro12(3):75-80.
15- Parthasarathy U.A., and Nagaraju V. 1995. Morphogenetic response of Gerbera shoot to benzyl aminopurin. Annals of plant physiol. 9 (1):10-12.
16- Pierik R.M.L., Jansen J.L.M., Maasdam A., and Binnendijk C.M. 1975. Optimalization of Gerbera plantlet production from excised capitulum explants. Sci. Hortic. 3:351-357.
17- Pierik R.L.M., and Segers T.A. 1973. In vitro culture of midrib explant of Gerbera: adventitious root formation and callus induction. Z. Pflanzenphysiol. 69:204-212.
18- Reynoird J.P. 1996. Controle de la regeneration a partir d explants foliaures de Gerbera. These de doctorat 174p.
19- Topoonyanont N., and Dillen W. 1988. Capitilum explants as start for micropropagation of Gerbera: Cell technique and ability rijks universitiet gent. 53(1): 169-173.
20- Vardja R., and Vardja T. 2001. The effect of cytokinin type and concentration and number of subcultures on the multiplication rate of some decorative plants. Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol. 50(1):22-32.