

تأثیر نانوذرات نقره بر آلودگی میکروبی و رشد درون‌شیشه‌ای جوانه‌های جانبی و انتهایی ارقام فندق

The Effect of Silver Nano-particles on Microbial Contamination and *In Vitro* Growth of Apical and Auxiliary Buds of Hazelnut Cultivars

پریسا دریانی^۱، ناصر زارع^{۲*}، اسماعیل چمنی^۳، پریسا شیخ‌زاده‌مصداق^۴ و داود جوادی‌مجد^۵

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۴/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۹/۱۹

چکیده

جوانه‌های جانبی و انتهایی شش رقم فندق در فصول مختلف تهیه شده و پس از ضدعفونی با تیمارهای متفاوت، روی محیط کشت MS جامد کشت شدند. درصد ریزنمونه‌های رشد کرده و درصد ریزنمونه‌های دارای آلودگی قارچی و باکتریایی ثبت گردید. علاوه بر این، تأثیر سطوح مختلف BAP و IBA بر استقرار و رشد ریزنمونه‌های فصول مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نانوذرات نقره نقش مؤثری در کاهش آلودگی‌های میکروبی درون‌شیشه‌ای ریزنمونه‌های فندق به همراه حداقل صدمه به بافت‌های در حال رشد دارد. در ریزنمونه‌های فصل بهار، کمترین درصد آلودگی قارچی و باکتریایی به همراه بیشترین درصد شاخه‌دهی در تیمارهای ضدعفونی هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه و غوطه‌ورسازی ریزنمونه‌ها به مدت ۳۰ یا ۴۵ دقیقه در محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۵ دقیقه به دست آمد. محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA بیشترین درصد شاخه‌دهی (۴۷/۲۲٪)، تعداد برگ (۶/۲۲) و طول ساقه (۱/۸۷ cm) را داشت که به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح BAP بود. در حالی که در ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز کمترین درصد آلودگی باکتریایی و قارچی و بیشترین درصد شاخه‌دهی با غوطه‌ورسازی ریزنمونه‌ها به مدت ۱۲۰ دقیقه در محلول ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم به دست آمد. بیشترین درصد شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی ۳ یا ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آلودگی باکتریایی و قارچی، ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای، ضدعفونی، نانوذرات نقره، *Corylus avellana*

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۲. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۳. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۵. مربی بخش اصلاح نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، گیلان

Email: zarenasser@yahoo.com

* نویسنده مسوول

مقدمه

فندق با نام علمی *Corylus avellana* گیاهی است که از دیرباز به دلیل ارزش غذایی بالا در صنایع غذایی مورد توجه بوده است. دانه‌های فندق دارای ۱۹ درصد پروتئین، ۶۰ درصد روغن، درصد بالایی از ویتامین‌های E، B و عناصر معدنی مانند فسفر است. توزیع جغرافیایی فندق مناطق وسیعی از اروپا، آفریقا، روسیه، کوه‌های قفقاز و ایران را در برمی‌گیرد. امروزه با شناخت بهتر از این گیاه کاربردهای ویژه‌ای در صنعت و پزشکی برای آن در نظر گرفته شده است، با شناسایی و جداسازی تاکسونیدهای از برگ‌ها و پوسته‌های اطراف بذر فندق از یک سو و ارزش دارویی و اقتصادی بالای این متابولیت‌ها در درمان عمومی سرطان‌ها افق تازه‌ای در تولید اقتصادی این ماده با ارزش گشوده است. علاوه بر این از این گیاه برای تهیه بیودیزل، بیوپلاستیک نیز استفاده می‌گردد تامسون و همکاران؛ هافمن و همکاران؛ هافمن و شهیدی (Thompson et al., 1996; Hoffman et al., 1998; Hoffman and Shahidi, 2009). با توجه به تقاضای در حال افزایش برای فندق، تکثیر و توزیع سریع ارقام استاندارد و جدید حاصل از برنامه‌های اصلاحی بیش از پیش ضروری است. روش‌های سنتی تکثیر فندق با استفاده از بذر، قلمه و خوابانیدن زمان‌بر بوده و از کارایی پایینی در ریزازدیادی تجاری برخوردار هستند. تکنیک ریزازدیادی درون شیشه‌ای راهکار مناسبی را برای تکثیر انبوه و توزیع سریع لاین‌ها یا ارقام برتر و جدید در سطح تجاری فراهم می‌آورد. علاوه بر این، با استفاده از این تکنیک امکان تکثیر انبوه نهال‌های یکنواخت و عاری از بیماری و توزیع آن بین کشاورزان وجود دارد نوری-ناس (Nuri-NAS, 2003). سرعت شاخه‌زایی کم و میزان بالای آلودگی میکروبی از عوامل اصلی محدودکننده موفقیت در ریزازدیادی درختان می‌باشد. اغلب به منظور به حداقل رساندن مشکلات، از بافت‌های جوان (قاعده جوانه) درختان بالغ استفاده می‌شود دیازسالا و همکاران؛ بجوانی و رزدان، کهریزی و همکاران (Diaz-Sala, et al., 1994; Bhojwani and Razdan, 1996; Kahrizi et al., 2011).

برخی از روش‌ها و مواد شیمیایی برای کنترل آلودگی در محیط درون شیشه‌ای استفاده می‌شود، ولی برخی از این‌ها بهره‌وری پایینی و برخی هم اثرات سمی زیادی روی ریزنمونه دارند. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز اثرات منفی در رشد و پاسخ ریزنمونه‌ها داشته و ممکن است در القای مقاومت در باکتری‌ها تأثیر بگذارند. به‌طور کلی استفاده از آن‌ها برای کشت بافت گیاهان پیشنهاد نمی‌شود دبای و همکاران (Dabai et al., 2007). کلرید جیوه ($AgCl_2$) به‌طور گسترده‌ای برای کنترل

آلودگی گیاهان چوبی استفاده شده است ولی این ماده بسیار سمی بوده و باید با دقت بالایی مورد استفاده قرار گیرد لیفرت و وودوارد (Leifert and Woodward, 1997). چنین مواد شیمیایی نه تنها برای ریزنمونه بیش از حد سمی هستند، ممکن است برای محیط زیست نیز مخاطره‌آمیز باشند. تحت چنین شرایطی پیدا کردن یک ماده مؤثر و ایمن برای حذف آلودگی ریزنمونه‌ها (به‌خصوص برای گیاهان چوبی) بسیار مهم است. نانوذرات نقره موادی غیرسمی هستند که از قابلیت بالایی برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها، به‌عنوان مثال، قارچ و باکتری‌ها برخوردار هستند. این قابلیت نانوذرات نقره به‌علت ذرات کوچک آزاد نقره می‌باشد. این ذرات کوچک نه تنها قادر به از بین بردن باکتری‌ها و قارچ‌ها می‌باشد، بلکه ویروس را نیز از بین می‌برند ساندی و سالوپک - ساندی؛ عبدی و همکاران (Sondi and Salopek-Sondi, 2004; Abdi et al., 2008).

دامیانو و همکاران (Damiano et al., 2005) در مطالعه‌ی روی رقم‌های مختلف فندق در ایتالیا گزارش کردند که محیط کشت DKW (Driver and Kuniyuki Walnut) و MOLT که ترکیبی از محیط DKW و WPM (Woody Plant Medium) است، به‌همراه ۱/۵ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA_3 و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA برای مرحله شاخه‌زایی مناسب می‌باشد. کوسنکو و همکاران (Kosenko et al., 2009) نیز محیط MS ۱/۲ حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید (IAA) را محیط کشت مناسبی برای استقرار فندق گزارش کردند. این تحقیق به‌منظور ارزیابی کارایی روش‌های مختلف ضدعفونی در حذف آلودگی ریزنمونه‌های جوانه انتهایی و جانبی فصول مختلف سال گیاه فندق و همچنین تأثیر غلظت‌های مختلف مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی بر استقرار و رشد این ریزنمونه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های واجد جوانه فندق در تمام فصول سال از جنگل‌های رودسر استان گیلان (رقم گرد)، مرکز تحقیقات فندق در رودسر (رقم‌های فرتیل و روند) و پارس‌آباد استان اردبیل (رقم‌های نقرت، سگرب و داویانا) تهیه و در قطعات کوچک و بسته‌بندی‌های تمیز به آزمایشگاه منتقل شدند.

مرحله استقرار و تیمارهای هورمونی

ریزنمونه‌های فصل بهار ارقام گرد، فرتیل و روند ضدعفونی شده، پس از آبیگری با کاغذ صافی روی محیط کشت NRM باجتا و همکاران (Bacchetta et al., 2008) حاوی سطوح مختلف هورمونی BAP (صفر، ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی کشت شدند. درصد ریزنمونه‌های رشد کرده (درصد شاخه‌دهی)، طول ساقه، تعداد برگ و طول میان‌گره‌ها حدود سه تا چهار هفته پس از کشت اندازه‌گیری و ثبت شد. ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز رقم داویانا روی محیط کشت MS موراشیگ و اسکوگ (Murashige and Skoog, 1962) حاوی سطوح مختلف هورمون BAP (صفر، ۳، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA منتقل شدند. ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز رقم فرتیل روی محیط کشت MS حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه سطوح مختلف BAP (صفر، ۳، ۵، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. هر دو آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت.

ریزنمونه‌های ارقام گرد و فرتیل تهیه شده در فصل زمستان، پس از ضدعفونی روی محیط کشت MS حاوی سطوح مختلف GA₃ (صفر، ۰/۱، ۰/۲، ۲ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۰۷ گرم در لیتر کازین یا دو گرم در لیتر عصاره مخمر کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. در این آزمایش‌ها، درصد ریزنمونه‌های رشد کرده (درصد شاخه‌دهی)، حدود سه تا چهار هفته پس از کشت اندازه‌گیری و ثبت شد.

در طول آزمایش، همه کشت‌ها در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی لامپ فلورسنت و ۸ ساعت تاریکی و دما ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (ver. 19) انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گرفت.

نتایج

۱. تأثیر تیمارهای مختلف ضدعفونی

ریزنمونه‌های فصل بهار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارهای ضدعفونی مورد استفاده برای ریزنمونه‌های فصل بهار از نظر درصد آلودگی باکتریایی و قارچی و همچنین درصد شاخه‌دهی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. ولی بین ارقام از نظر این صفات

ضدعفونی ریزنمونه‌های فندق در فصول مختلف سال

ابتدا سرشاخه‌ها با مایع ظرفشویی به مدت ۳۰ دقیقه شسته شده و سپس به مدت دو ساعت با آب جاری آبکشی شدند. ریزنمونه‌های جوانه جانی و انتهای به مدت یک دقیقه در محلول ۷۰٪ الکل غوطه‌ور شده و سپس از سه روش زیر برای ضدعفونی در فصول مختلف استفاده شد یو و رد؛ ساندی و سالوپک- ساندی (Yu and Reed, 1993; 2004).

الف- ریزنمونه‌های تهیه شده در فصل بهار (ارقام گرد، فرتیل و روند) به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه و ریزنمونه‌های فصول تابستان، پاییز (ارقام نقرت، فرتیل، روند و گرد) و زمستان (ارقام گرد و فرتیل) به مدت ۲۵ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ تیمار شدند.

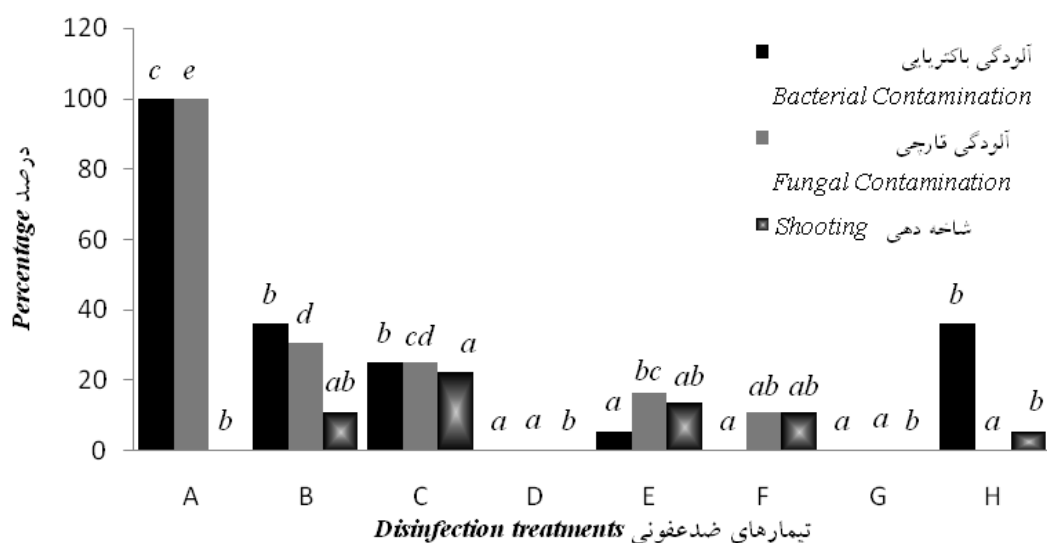
ب- ریزنمونه‌های فصل بهار با محلول کلریدجیوه ۰/۰۵٪ به مدت دو و سه دقیقه و ریزنمونه‌های فصول تابستان، پاییز و زمستان با محلول کلریدجیوه ۰/۱٪ به مدت دو و سه دقیقه ضدعفونی شدند.

ج- به منظور بررسی تأثیر نانوذرات نقره بر کنترل آلودگی باکتریایی و قارچی ریزنمونه‌های فندق، ریزنمونه‌های تابستان و پاییز پس از تیمار با اتانول ۷۰٪ به مدت پنج دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه، به مدت ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه با محلول ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره (عبدی و همکاران، ۲۰۰۸؛ رستمی و شهسوار (Rostami and Shahsavari, 2009) تیمار شدند. ریزنمونه‌های بهار ضدعفونی شده با اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت پنج دقیقه، به مدت ۳۰ و ۴۵ دقیقه با محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره تیمار شدند.

در هر سه روش در انتها ریزنمونه‌ها سه بار و هر بار به مدت پنج دقیقه با آب مقطر ضدعفونی آبکشی شدند. ریزنمونه‌های بدون ضدعفونی به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. سه هفته بعد از کشت، کشت‌ها و ریزنمونه‌ها از نظر آلودگی و رشد ریزنمونه‌ها مورد بررسی و یادداشت‌برداری قرار گرفت. با توجه به وجود آلودگی داخلی باکتریایی در برخی از ریزنمونه‌ها و ظهور آن‌ها چند روز بعد از کشت ریزنمونه‌ها، امکان کنترل این نوع آلودگی از طریق استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم و استرپتومایسین به ترتیب با غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر رد و همکاران (Reed et al., 1998) مورد بررسی قرار گرفت. بعد از یک هفته تا دو هفته رشد باکتری و همچنین ریزنمونه‌ها یادداشت گردید.

باکتریایی را به‌طور معنی‌داری نسبت به ۵ دقیقه ضدعفونی با هیپوکلریت ۲/۵٪ کاهش داده ولی تأثیر معنی‌داری در رشد (شاخه‌دهی) ریزنمونه‌ها نداشت. علاوه بر این، افزایش مدت تیمار با هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به ۱۵ دقیقه، اگرچه باعث حذف کامل آلودگی قارچی و باکتریایی شده، منجر به از بین رفتن کامل ریزنمونه‌ها نیز شده است به‌طوری‌که در این تیمار هیچ یک از ریزنمونه‌ها قادر به رشد نبودند. همچنین، اگرچه تیمارهای ضدعفونی کلریدجیوه باعث کنترل آلودگی‌های میکروبی شدند، ولی باعث از بین رفتن ریزنمونه‌ها نیز شدند (شکل ۱).

اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اثر متقابل رقم × تیمار ضدعفونی نیز برای هیچ کدام از صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود. کمترین آلودگی قارچی و باکتریایی به‌همراه بیشترین درصد شاخه‌دهی در تیمار ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۱۰ دقیقه و تیمار هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۵ به‌علاوه تیمار با محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به مدت ۳۰ یا ۴۵ دقیقه به‌دست آمد. درحالی‌که در تیمار شاهد ۱۰۰ درصد ریزنمونه‌ها در اثر آلودگی قارچی و باکتریایی از بین رفتند (شکل ۱). تیمار ریزنمونه‌ها با محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به مدت ۳۰ یا ۴۵ دقیقه پس از ۵ دقیقه ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪، درصد آلودگی قارچی و



شکل ۱: میانگین درصد آلودگی باکتریایی، قارچی و شاخه‌دهی جوانه‌های فصل بهار فندق در تیمارهای مختلف ضدعفونی، A: بدون ضدعفونی، B، C و D: ضدعفونی با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به‌ترتیب به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه؛ E و F: ضدعفونی با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت ۵ به‌علاوه تیمار با محلول ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به مدت ۳۰ یا ۴۵ دقیقه، G و H: کلریدجیوه ۰/۰۵ درصد به مدت ۲ و ۳ دقیقه

Fig. 1: Mean of percentage of bacterial and fungal contamination and shooting of hazelnut buds excised during spring in different disinfection treatments, A: without disinfection, B, C and D: disinfected with 70% ethanol and sodium hypochlorite 2/5% for 5, 10 and 15 minutes, respectively; E and F: disinfected with 70% ethanol and sodium hypochlorite 2/5% for 5 minutes and silver nanoparticles solution (100 mg/l) for 30 or 45 minutes, respectively; G and H: mercuric chloride 0/05% for 2 or 3 minutes, respectively

هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به‌تنهایی قادر به کنترل آلودگی باکتریایی و قارچی و در نتیجه فراهم‌کردن شرایط رشد ریزنمونه‌ها نبود. به‌طوری‌که متوسط درصد آلودگی باکتریایی و قارچی به‌ترتیب ۸۳/۳۳ و ۵۵/۳۳ و درصد شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها ۵/۳۳ بود. درحالی‌که درصد آلودگی باکتریایی و قارچی در تیمار ریزنمونه‌ها با محلول ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره، به‌ویژه در مدت زمان ۱۲۰ دقیقه، به‌طور

ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز

براساس نتایج حاصل، درصد آلودگی باکتریایی و قارچی و درصد شاخه‌دهی ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر ارقام و تیمارهای ضدعفونی قرار گرفت. علاوه بر این، اثر متقابل رقم × تیمار ضدعفونی نیز برای درصد آلودگی باکتریایی و شاخه‌دهی معنی‌دار بود. همان‌طوری‌که در شکل ۲ ملاحظه می‌گردد برخلاف ریزنمونه‌های فصل بهار، ضدعفونی ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز با استفاده از

معنی‌داری کاهش یافته و درصد شاخه‌دهی (رشد) ریزنمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (شکل ۲).

جدول ۱: میانگین درصد آلودگی باکتریایی، قارچی و شاخه‌دهی جوانه‌های فصل تابستان و پاییز فندق در تیمارهای مختلف ضدعفونی

Table 1: Mean of percentage of bacterial and fungal contamination and shooting of hazelnut buds excised during summer and autumn in different disinfection treatments

شاخه‌دهی Shooting	درصد آلودگی قارچی Fungal contamination	درصد آلودگی باکتریایی Bacterial contamination	رقم Cultivar	تیمار ضدعفونی Disinfection treatment	شاخه‌دهی Shooting	درصد آلودگی قارچی Fungal contamination	درصد آلودگی باکتریایی Bacterial contamination	رقم Cultiva	تیمار ضدعفونی Disinfection treatment
0 ^c	100 ^a	100 ^c	گرد (Gard)	A	0 ^d	100 ^e	100 ^d	نقرت (Neghret)	A
0 ^c	83.33 ^a	100 ^c	گرد (Gard)	B	21.66 ^c	40 ^{cd}	83.33 ^c	نقرت (Neghret)	B
0 ^c	40 ^{bc}	0 ^a	گرد (Gard)	C	4 ^d	20.33 ^b	0 ^a	نقرت (Neghret)	C
5.5 ^b	25.16 ^c	0 ^a	گرد (Gard)	D	0 ^d	0 ^a	1.25 ^a	نقرت (Neghret)	D
0 ^c	50 ^b	75 ^b	گرد (Gard)	E	31.66 ^b	53.33 ^d	8.33 ^a	نقرت (Neghret)	E
0 ^c	58.33 ^{ab}	100 ^c	گرد (Gard)	F	66.66 ^a	16.66 ^b	16.66 ^b	نقرت (Neghret)	F
0 ^c	50 ^b	100 ^c	گرد (Gard)	G	25 ^c	16.66 ^b	19.44 ^b	نقرت (Neghret)	G
8.33 ^a	25 ^c	100 ^c	گرد (Gard)	H	25 ^c	33.33 ^c	0 ^a	نقرت (Neghret)	H
0 ^b	100 ^c	100 ^d	روند (Rond)	A	0 ^c	100 ^d	100 ^d	فرتیل (Fertile)	A
0 ^b	50 ^b	85 ^c	روند (Rond)	B	0 ^c	50 ^c	7 ^c	فرتیل (Fertile)	B
5.63 ^a	17.62 ^a	0 ^a	روند (Rond)	C	2.79 ^c	26.60 ^b	0 ^a	فرتیل (Fertile)	C
0 ^b	37 ^{ab}	0 ^a	روند (Rond)	D	0 ^c	22.15 ^b	0 ^a	فرتیل (Fertile)	D
0 ^b	58.33 ^b	25 ^b	روند (Rond)	E	44 ^b	44 ^{bc}	30.33 ^b	فرتیل (Fertile)	E
0.33 ^b	50 ^b	33.33 ^b	روند (Rond)	F	44 ^b	44 ^{bc}	11 ^{ab}	فرتیل (Fertile)	F
0 ^b	50 ^b	8.33 ^a	روند (Rond)	G	44 ^b	22 ^b	0 ^a	فرتیل (Fertile)	G
0 ^b	16.66 ^a	0 ^a	روند (Rond)	H	66 ^a	0 ^a	0 ^a	فرتیل (Fertile)	H

حروف یکسان در هر صفت بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است

A: بدون ضدعفونی، B: ضدعفونی با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت ۲/۵٪، C و D: کلرید جیوه ۰/۰۱ درصد به ترتیب به مدت ۲ و ۳ دقیقه، E و F: ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب در دو زمان ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، G و H: ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب در زمان‌های ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه

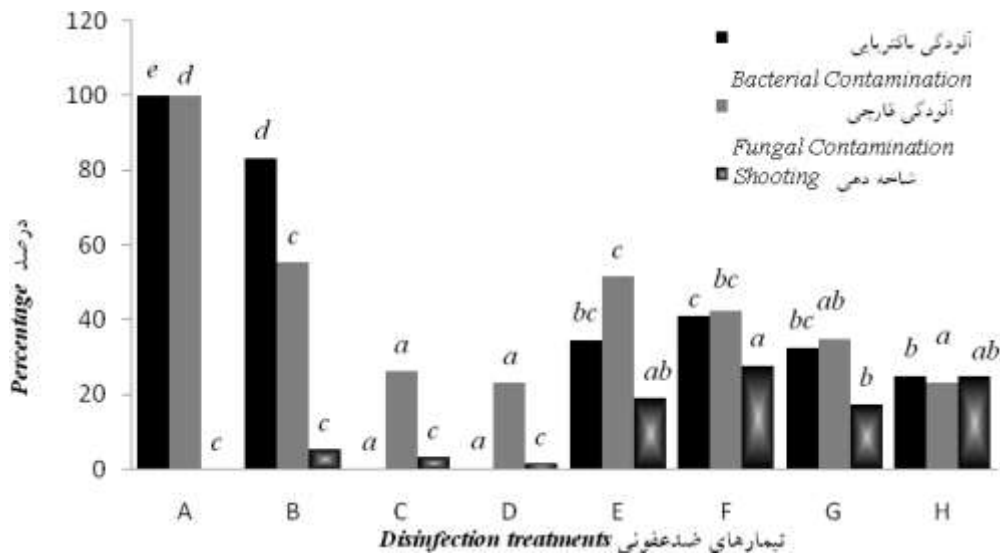
Values followed by different letters in each trait are significantly different at $P \leq 0.05$.

A: without disinfection, B: disinfected with 70% ethanol and sodium hypochlorite 2/5%; C and D: mercuric chloride 0/01% solution for 2 or 3 minutes; E and F: silver nanoparticle solution (100mg/l) for 60 and 120 minutes; G and H: silver nanoparticle solution (150mg/l) for 60 and 120 minutes

کلرید جیوه و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره به مدت ۱۲۰ دقیقه، درصد ریزنمونه‌های رشد کرده بسیار پایین بود (جدول ۱).

برای کنترل آلودگی گیاهچه‌های درون شیشه‌ای که آلودگی باکتریایی داشتند از آنتی‌بیوتیک‌های سفوتاکسیم و استرپتومایسین به ترتیب با غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. نتایج نشان داد که این آنتی‌بیوتیک‌ها سبب کاهش ۵۰ درصدی آلودگی باکتریایی شده (رشد باکتری در ۵۰٪ ریزنمونه‌ها مهار شده است)، اما از طرفی موجب محدود شدن رشد ریزنمونه‌ها و گیاهچه‌ها و همچنین تغییر رنگ آن‌ها نیز گردیدند و به همین خاطر در ادامه آزمایش از این تیمارها استفاده نشد.

در رقم فرتیل تیمار نانوذرات نقره با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت زمان ۱۲۰ دقیقه میزان آلودگی باکتریایی و قارچی را به‌طور کامل برطرف کرده و ۶۶ درصد ریزنمونه‌ها رشد کرده و تولید شاخه نمودند. در حالی که با این تیمار ضدعفونی در رقم نقرت، علیرغم کاهش درصد آلودگی باکتریایی و قارچی، درصد ریزنمونه‌های رشد کرده به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. در این رقم حداکثر درصد شاخه‌دهی (۶۶٪) با تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات نقره به مدت ۱۲۰ دقیقه به‌دست آمد که به‌طور معنی‌داری بیشتر از درصد شاخه‌دهی این رقم در سایر تیمارها بود. در رقم روند علیرغم کاهش معنی‌دار و قابل ملاحظه درصد آلودگی باکتریایی و قارچی ریزنمونه‌ها به‌ویژه با تیمارهای ضدعفونی



شکل ۲: میانگین درصد آلودگی باکتریایی، قارچی و شاخه‌دهی جوانه‌های فصل تابستان و پاییز فندق در تیمارهای مختلف ضدعفونی؛ A: بدون ضدعفونی، B: ضدعفونی با الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۰.۲۵٪، C و D: کلرید جیوه ۰.۰۱ درصد به ترتیب به مدت ۲ و ۳ دقیقه، E و F: ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب در دو زمان ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه، G و H: ۱۵۰ میلی گرم در لیتر نانوذرات نقره به ترتیب در زمان‌های ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه

Fig. 2: Mean of percentage of bacterial and fungal contamination and shooting of hazelnut buds excised during summer and autumn in different disinfection treatments; A: without disinfection; B: disinfected with 70% ethanol and sodium hypochlorite 2.5%; C and D: mercuric chloride 0.01% for 2 or 3 minutes; E and F: silver nanoparticle solution (100 mg/l) for 60 and 120 minutes, G and H: silver nanoparticle solution (150 mg/l) for 60 and 120 minutes

با تیمار حاوی یک میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA نداشته و به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. با این حال، طول ساقه و میان‌گره شده این رقم در محیط حاوی یک میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA به طور معنی داری بیشتر از محیط فاقد BAP بود. به عبارت دیگر، در رقم روند، محیط کشت حاوی یک میلی گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA شاخه‌های مناسب‌تری را برای مرحله تکثیر فراهم می‌آورد (جدول ۲). در ارقام دیگر (گرد و فرتیل) هیچ‌گونه رشد ریزنمونه و شاخه‌دهی در محیط کشت فاقد BAP دیده نشد. درصد شاخه‌دهی رقم گرد در دو محیط کشت حاوی یک یا دو میلی گرم بر لیتر به همراه ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA تفاوت معنی داری با هم نداشته و به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. با این حال، تعداد برگ، طول ساقه و میان‌گره در محیط حاوی یک میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA به طور معنی داری بیشتر از محیط کشت حاوی دو میلی گرم بر لیتر BAP و سایر سطوح آن به دست آمد. در رقم فرتیل نیز محیط کشت حاوی یک میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA بهترین تیمار برای رشد ریزنمونه‌ها بود. به طوری که درصد شاخه‌دهی و تعداد برگ حاصل از این محیط کشت به طور

۲. تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر رشد ریزنمونه‌ها

ریزنمونه‌های فصل بهار

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین سطوح مختلف BAP از نظر درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ، طول ساقه و میان‌گره (cm) اختلاف معنی داری وجود دارد. در حالی که بین ارقام مورد استفاده اختلاف معنی داری از نظر این صفات وجود نداشت. علاوه بر این، اثر متقابل رقم × تیمار نیز در مورد همه صفات معنی دار به دست آمد.

در بین سطوح مختلف BAP مورد بررسی، غلظت یک میلی گرم بر لیتر BAP بیشترین درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ، طول ساقه و طول میان‌گره به ترتیب ۴۷/۲۲٪، ۶/۲۲، ۱/۸۷ cm و ۰/۳۵ cm را داشت که به طور معنی داری بیشتر از سطوح دیگر BAP بود. با افزایش غلظت BAP درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ، طول ساقه و طول میان‌گره به طور معنی داری کاهش یافته و ریزنمونه‌های رشد کرده حالت کپه‌ای به خود گرفتند. به طوری که، از نظر صفات مورد بررسی غلظت‌های دو میلی گرم بر لیتر BAP و بالاتر از آن تفاوت معنی داری با تیمار فاقد BAP (شاهد) نداشتند (جدول ۲، شکل ۳-۳A).

در رقم روند، درصد شاخه‌دهی و تعداد برگ تیمار فاقد BAP و حاوی ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA تفاوت معنی داری

فناوری زیستی در کشاورزی / جلد چهاردهم / شماره اول / تابستان ۹۴

دو میلی گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA نداشت (جدول ۲).

معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بوده ولی از نظر صفات طول ساقه و طول میان گره تفاوت معنی داری با محیط کشت حاوی

جدول ۲: تأثیر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA بر رشد ریزنمونه‌های جوانه جانبی و انتهایی فصل بهار فندق

Table 2: Effect of different concentrations of BAP in combination with 0/01 mg/l IBA on growth of apical and auxiliary bud explants of hazelnut excised during spring

طول میان‌گره (cm) Internodes length	طول ساقه (cm) Stem length	تعداد برگ Number of leaves	شاخه‌دهی (%) Shooting (%)	رقم Cultivar	(mg l ⁻¹) BAP	طول میان‌گره (cm) Internodes length	طول ساقه (cm) Stem length	تعداد برگ Number of leaves	شاخه‌دهی (%) Shooting (%)	رقم Cultivar	BAP (mg l ⁻¹)
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^d	گرد (Gard)	3	0.13 ^b	1.1 ^b	6.66 ^a	41.66 ^a	روند (Rond)	0
0.13 ^b	0.76 ^b	3.66 ^{ab}	25 ^b	گرد (Gard)	5	0.4 ^a	1.2 ^a	7 ^a	50 ^a	روند (Rond)	1
0.1 ^b	0.5 ^{bc}	2.66 ^b	16.66 ^c	گرد (Gard)	8	0 ^c	0 ^c	0 ^b	0 ^b	روند (Rond)	2
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	فرتیل (Fertile)	0	0 ^c	0 ^c	0 ^b	0 ^b	روند (Rond)	3
0.3 ^a	1.96 ^{ab}	6.33 ^a	41.66 ^a	فرتیل (Fertile)	1	0 ^c	0 ^c	0 ^b	0 ^b	روند (Rond)	5
0.36 ^a	2.43 ^a	5 ^b	25 ^b	فرتیل (Fertile)	2	0 ^c	0 ^c	0 ^b	0 ^b	روند (Rond)	8
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	فرتیل (Fertile)	3	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^d	گرد (Gard)	0
0.2 ^b	1.6 ^b	7 ^a	25 ^b	فرتیل (Fertile)	5	0.4 ^a	1.53 ^a	5.33 ^a	50 ^a	گرد (Gard)	1
0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c	فرتیل (Fertile)	8	0.1 ^b	0.33 ^c	2 ^b	50 ^a	گرد (Gard)	2

حروف یکسان در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است

Values followed by different letters in each trait are significantly different at $P \leq 0.05$

GA₃ ریزنمونه‌ها هیچ‌گونه رشد و شاخه‌دهی نشان ندادند. برخی از ریزنمونه‌های کشت شده در تیمارهای حاوی ۲ میلی گرم در لیتر GA₃ به تنهایی یا به همراه ۰/۰۳، ۰/۰۵ و ۰/۰۷ گرم در لیتر کازئین یا ۲ گرم در لیتر عصاره مخمر رشد کرده و شاخه تولید کردند (شکل ۶). محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم در لیتر GA₃ به همراه ۰/۰۳ گرم در لیتر کازئین بیشترین درصد (۲۲ درصد) رشد جوانه‌ها را نشان داد که به‌طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل‌های D-۳ و ۶). لازم به ذکر است که درصد رشد و شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها در ارقام مختلف متفاوت بود. به‌طوری‌که در اغلب تیمارها درصد شاخه‌دهی رقم روند بیشتر از رقم گرد بود. برای مثال، تیمار حاوی دو میلی گرم در لیتر GA₃ به همراه ۰/۰۳ گرم در لیتر کازئین بیشترین درصد رشد ریزنمونه‌ها (۶۶ درصد) را در رقم روند نشان داد.

بحث

آلودگی مواد گیاهی (ریزنمونه) در کنار قابلیت کم ریخت‌زایی از محدودیت‌های عمده ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای فندق هستند. به‌طوری‌که گزارش شده که حدود ۹۵ درصد ریزنمونه‌های جمع‌آوری شده از طبیعت احتمال آلودگی دارند دیاز-سالا و همکاران؛ رد و همکاران، ۱۹۹۰؛ دامیان و همکاران، ۲۰۰۵ Diaz-Sala et al., 1990). از طرف دیگر، به‌نظر می‌رسد که

ریزنمونه‌های فصل تابستان و پاییز

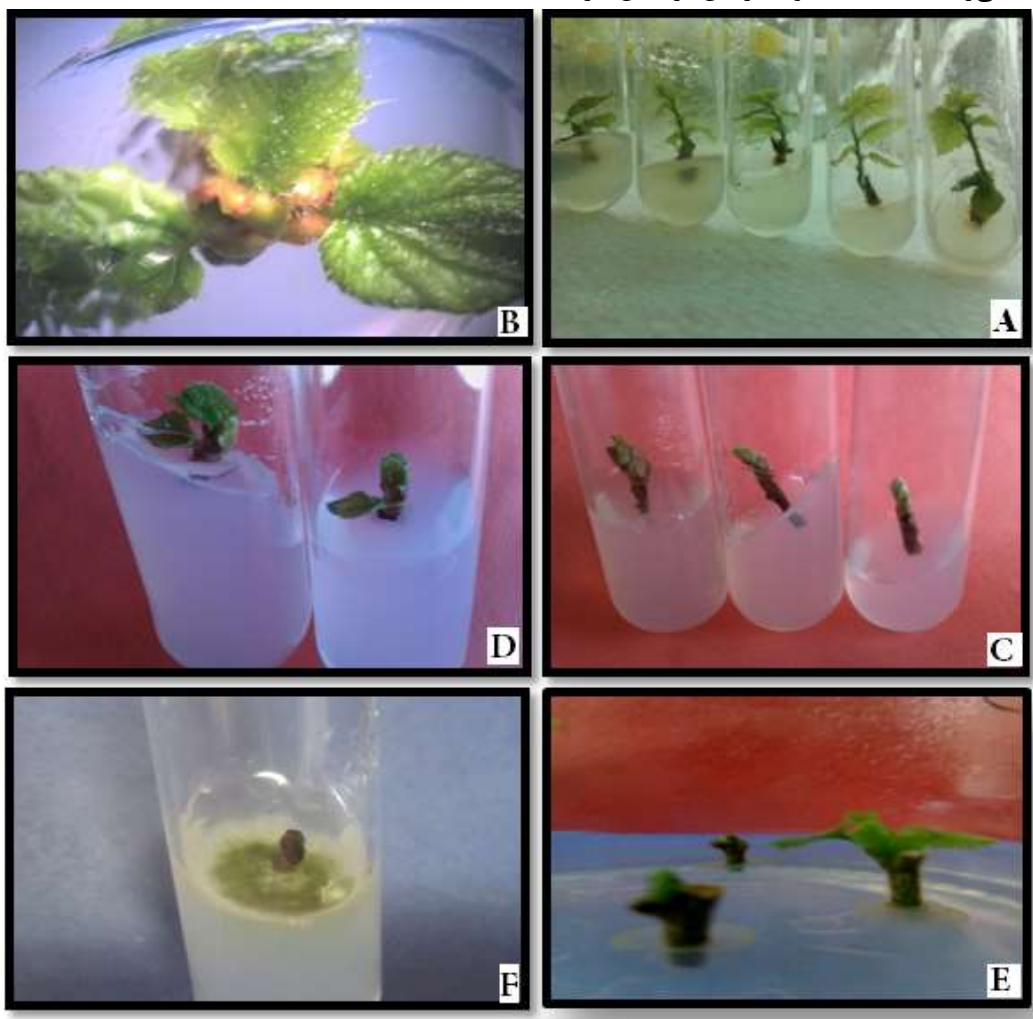
نتایج حاصل نشان داد که در رقم داویانا، بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اختلاف معنی داری از نظر درصد شاخه‌دهی وجود دارد. ریزنمونه‌های رقم داویانا کشت شده روی محیط کشت‌های فاقد تنظیم‌کننده رشد گیاهی و حاوی فقط IBA هیچ‌گونه رشد و شاخه‌دهی نشان ندادند. درحالی‌که، درصد شاخه‌دهی در محیط کشت‌های حاوی سه میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱، ۰/۰۵ یا ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA به‌طور معنی داری بیشتر از سایر محیط‌های کشت بود. در غلظت ۸ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰، ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۲ IBA درصد شاخه‌دهی به ترتیب ۵۰، ۵۰، ۵۰ و ۳۰ بود که از نظر آماری مشابه هم بوده و به‌طور معنی داری بیشتر از محیط‌های کشت فاقد BAP و حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر BAP است. با افزایش غلظت BAP به ۱۰ میلی گرم در لیتر، درصد شاخه‌زایی به‌طور چشم‌گیری کاهش یافته و به صفر درصد رسید (شکل ۴).

ریزنمونه‌های فصل زمستان

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین تیمارهای مختلف هورمونی و ارقام مختلف از نظر درصد جوانه‌های رشد کرده اختلاف معنی داری وجود دارد. در محیط شاهد (MS فاقد هورمون) و محیط‌های حاوی فقط ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر

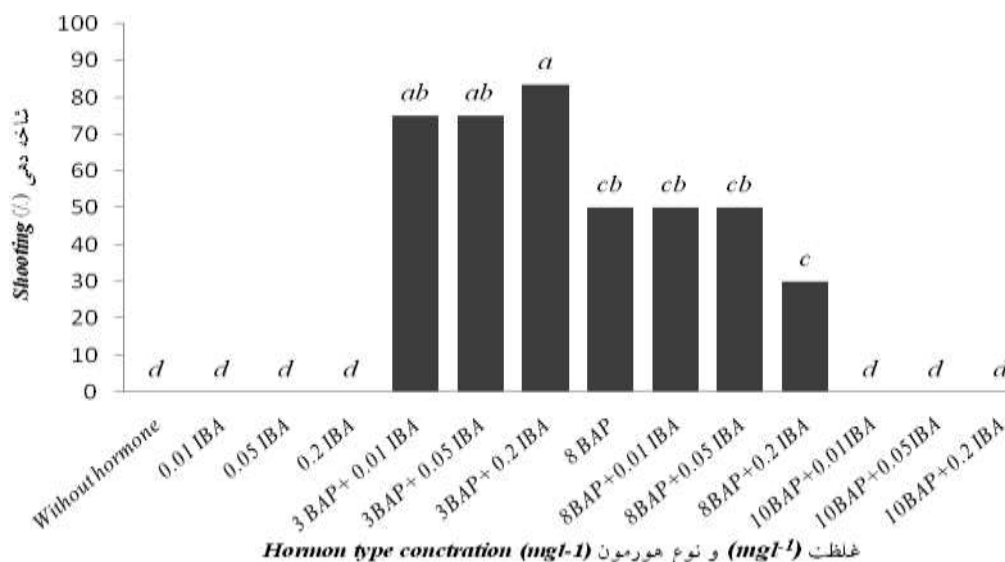
ریزنمونه‌های فصل بهار هیپوکلیت سدیم مناسب‌تر از نانوذرات نقره و کلرید جیوه (که خاصیت ضد عفونی‌کنندگی قوی دارد) بود. تیمارهای ضد عفونی با کلرید جیوه بیشترین تاثیر را برای رفع آلودگی باکتریایی و قارچی داشته ولی به علت سمیت بالا، درصد زنده‌مانی و شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها در این تیمارها بسیار پایین بوده و با تیمار شاهد (بدون ضد عفونی) اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل‌های ۱ و ۲).

جوانه‌ها و به‌ویژه جوانه‌های در حال رشد حساس به مواد ضد عفونی‌کننده بوده و علائم نکروز نشان می‌دهند (باچتا و همکاران، ۲۰۰۸). در این تحقیق نتایج ضد عفونی با تیمارهای مختلف در فصل بهار نشان داد که تیمارهای مختلف رابطه مستقیم با بافت ریزنمونه‌ها دارد. به عبارت دیگر با توجه به این‌که ریزنمونه‌های فصل بهار تازه و نرم بوده و از آلودگی کمتری نسبت به فصل‌های دیگر برخوردار هستند، باید از تیمار ضد عفونی ضعیف و غلظت‌های پایین‌تری که کمتر به سلول‌های ریزنمونه آسیب می‌رساند، استفاده شود. در این آزمایش، برای



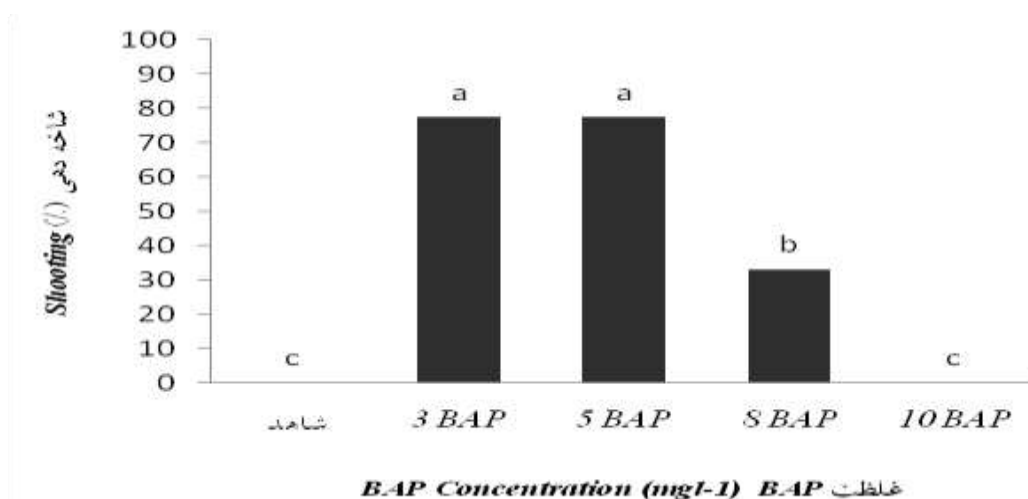
شکل ۳: رشد درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های جوانه‌های انتهایی و جانبی فندق؛ A) ریزنمونه‌های فصل بهار کشت شده در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA؛ B و C) ریزنمونه‌های فصل تابستان رقم فرتیل کشت شده در محیط کشت MS حاوی سه میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA؛ D) ریزنمونه‌های فصل زمستان کشت شده در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر GA_3 به همراه ۰/۰۳ گرم در لیتر کازئین؛ E و F) به ترتیب آلودگی باکتریایی و قارچی در ریزنمونه‌های رقم گرد

Fig. 3: *In vitro* Growth of apical and auxiliary buds of hazelnuts, A) explants excised during spring and cultivated on MS medium containing 1mg/l BAP and 0.01 mg/ l IBA; B and C) explants of Fertyl cv. excised during spring and cultured on MS medium containing 3 mg/l BAP and 0.01 mg/ l IBA; D) explants excised during winter and cultured on MS medium containing 2 mg/l GA_3 and 0.03 g/l Casein hydrolysate; E and F) bacterial and fungal contamination of Gard cv. explants



شکل ۴: تأثیر غلظت‌های مختلف IBA و BAP بر درصد شاخه‌دهی درون‌شیشه‌ای ریزنمونه‌های جوانه انتهایی و جانبی فصل تابستان و پاییز رقم داویانا فندق

Fig. 4: The effect of different concentrations of BAP and IBA on *in vitro* shooting of apical and auxiliary bud explants of Davina cv. of hazelnut excised during summer and autumn



شکل ۵: تأثیر غلظت‌های مختلف BAP بر درصد شاخه‌دهی درون‌شیشه‌ای جوانه‌های انتهایی و جانبی فصول تابستان و پاییز رقم فرتیل فندق

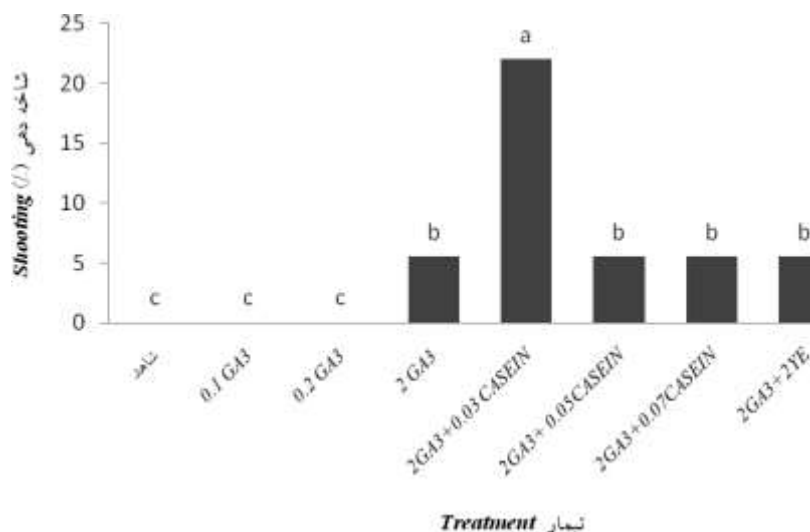
Fig. 5: The effect of different concentrations of BAP on *in vitro* shooting of apical and auxiliary bud explants of Fertyl cv. of hazelnut excised during summer and autumn

ریزنمونه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای، بسته به رقم از تیمارهای ضدعفونی متفاوتی باید استفاده کرد. کلریدجیوه از خاصیت ضدعفونی‌کنندگی قوی برخوردار است (لیفرت و وودوارد، 1997). بنابراین در ارقامی مانند رقم گرد (از ارقام بومی در شمال کشور) که در این مطالعه آلودگی ریزنمونه‌های آن توسط حتی غلظت‌های بالای هیپوکلریت‌سدیم برطرف نشد، استفاده از کلریدجیوه می‌تواند موثر باشد. ولی رقم نقرت در تیمارهای ضدعفونی ملایم‌تر از توان رشدی بیشتر و در تیمارهای ضدعفونی شدید از رشد کمتری برخوردار بود (جدول ۱).

به‌طورکلی در ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز، ارقام فرتیل و نقرت در اغلب تیمارهای ضدعفونی نسبت ارقام روند و گرد از درصد آلودگی باکتریایی و قارچی کمتر و درصد شاخه‌دهی بالایی برخوردار بودند. با این حال پاسخ ارقام به تیمارهای ضدعفونی متفاوت بود که این امر نشانگر اثر متقابل بین رقم و تیمار ضدعفونی است. به‌عبارت دیگر، واکنش همه ارقام به تیمارهای ضدعفونی یکسان نبود. این امر نشان می‌دهد که برای به‌دست آوردن ریزنمونه‌هایی با حداقل آلودگی، حداکثر زنده‌مانی و پتانسیل رشد و در نتیجه استقرار مطلوب

باکتریایی و قارچی بسته به رقم مورد استفاده متفاوت خواهد بود (جدول ۱).

بنابراین، در ریزنمونه‌های فصول تابستان و پاییز، تیمار بهینه برای حصول حداکثر شاخه‌دهی به همراه حداقل آلودگی



شکل ۶: تأثیر تیمارهای مختلف بر درصد شاخه‌دهی درون شیشه‌ای جوانه‌های انتهایی و جانبی فصل زمستان فندق

YE: عصاره مخمر؛ GA₃: اسید جیبرلیک (بر حسب میلی‌گرم بر لیتر)؛ CA: کازئین هیدرولایسیت (بر حسب گرم بر لیتر)

Fig. 6: The effect of different treatments on *in vitro* shooting of apical and auxiliary bud explants of hazelnut excised during winter. YE: yeast extract (g/l); GA₃: Gibberellic acid (mg/l); CA: Casein Hydrolysate (mg/l)

همکاران (2008) اثرات نانوذرات نقره را بر کنترل آلودگی داخلی سنبل الطیب (*Valeriana officinalis* L.) بررسی کرده و بهترین نتایج را پس از ضدعفونی سطحی ریزنمونه سنبل الطیب در ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات نقره به مدت ۶۰ دقیقه به دست آوردند. فرو بردن ریزنمونه زیتون در نانوذرات نقره پس از ضدعفونی سطحی نیز نشان داده که نانوذرات نقره در کنترل آلودگی‌های باکتریایی و قارچی بسیار مؤثر است. با این حال، این روش به دلیل صدمات شدید، غیرقابل اجرا برای ریزنمونه زیتون گزارش شده است (رستمی و شهسوار، 2009).

اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها مهم‌ترین عواملی هستند که تقسیم، رشد و همچنین ریخت‌زایی سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های گیاهی هم در کشت درون شیشه‌ای و در گیاه کامل تنظیم نموده و به ویژه در انتقال مرحله G1 به S و G2 به M در چرخه تقسیم سلولی ضروری هستند. اکسین‌ها با تحریک اسیدی شدن دیواره سلولی منجر به افزایش انبساط‌پذیری (extensibility) آن می‌شوند. از طرف دیگر، اکسین باعث القاء رونویسی mRNAهای رمزکننده پروتئین‌های مرتبط با رشد سلولی می‌شوند. سایتوکینین‌ها نیز از طریق تنظیم تولید پروتئین‌های درگیر در رشته‌های دوک، به طور مستقیم چرخه سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند/استانز و اینز؛ ریچارد و

اگرچه غلظت نانوذرات نقره و مدت زمان تیمار مؤثر برای ریزنمونه‌های فصول مختلف متفاوت بود. با این حال، هم در فصل بهار و هم در فصول تابستان و پاییز، حداقل آلودگی قارچی و باکتریایی به همراه حداکثر رشد ریزنمونه‌های کشت شده در تیمار هیپوکلیت‌سدیم به علاوه تیمار با محلول نانوذرات نقره به دست آمد (شکل‌های ۱ و ۲). یون‌های نقره و ترکیباتی بر پایه نقره از قابلیت بالایی برای از بین بردن میکروارگانیسم‌ها، به عنوان مثال، قارچ و باکتری‌ها برخوردار بوده و اثرات کشندگی آن در ۱۶ گونه مختلف باکتریایی به اثبات رسیده است. با این حال، موقع استفاده از نانوذرات نقره سطح تماس با میکروب به مقدار زیادی افزایش یافته و در نتیجه اثرات ضد میکروبی آن هم تقویت می‌شود. اگرچه نحوه عمل نانوذرات نقره روی میکروب‌ها به خوبی مشخص نشده، ولی فرضیه‌هایی مبنی بر لیز شدن سلول و همچنین مهار رشد میکروب‌ها توسط نانوذرات نقره پیشنهاد شده است ساندی و سالوپک-ساندی، 2004؛ پراب‌هو و پولوز (Prabhu and Poulouze, 2012). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز نشان داد که نانوذرات نقره می‌تواند در کاهش آلودگی‌های میکروبی درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های فندق به همراه حداقل صدمه به بافت‌های در حال رشد نقش مؤثری داشته باشد. عبدی و

فناوری زیستی در کشاورزی / جلد چهاردهم / شماره اول / تابستان ۹۴

میلی گرم در لیتر IBA بیشترین درصد شاخه‌دهی (۷۷/۳۳ درصد) را نشان دادند. در حالی که ریزنمونه‌های بهار این رقم در محیط‌های کشت حاوی ۳ یا ۵ میلی گرم بر لیتر BAP از درصد شاخه‌دهی کمتری برخوردار بودند (جدول ۲ و شکل ۵). در محیط کشت فاقد BAP هیچ کدام از ریزنمونه‌های کشت شده رشد نکردند (شکل ۵). این تفاوت در پاسخ جوانه‌های فصول مختلف سال را می‌توان به شرایط فیزیولوژیکی متفاوت ریزنمونه‌ها و همچنین میزان هورمون‌های داخلی بافت‌ها و اندام‌های گیاه در دوره‌های مختلف رشدی نسبت داد. به طوری که، بررسی هورمون‌های داخلی در دوره‌های مختلف سال نشان داده که بافت‌های در حال رشد فندق دارای سطوح بالایی از IBA (ایندول-۳-استیک‌اسید) و زاتین و N^6 -[2-IP-adenine] هستند. میزان این هورمون‌های داخلی می‌تواند رشد و ریخت‌زایی درون‌شیشه‌ای اندام‌ها و بافت‌ها را تحت تأثیر قرار دهد / دویس / اندرس و همکاران؛ باچتا و همکاران، ۲۰۰۸ (Davies, 1995; Anders *et al.*, 2002).

همکاران؛ سیلوریا و همکاران (Stals and Inze, 2001; Richard *et al.*, 2002; Silveria *et al.*, 2004).

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد در فصل بهار غلظت پایین BAP به همراه ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA شرایط رشدی مناسبی را برای رشد ریزنمونه‌های جوانه جانبی و انتهای فندق فراهم می‌نماید. با این حال، معنی‌دار بودن اثر متقابل رقم و BAP بیانگر این امر می‌باشد که پاسخ رشدی ریزنمونه‌های ارقام مختلف فندق به سطوح مختلف BAP متفاوت است. به طوری که در رقم روند، با افزایش غلظت BAP به ۲، ۳، ۵ و ۸ میلی گرم در لیتر هیچ گونه رشدی در ریزنمونه‌ها مشاهده نشد. ولی در ارقام گرد و فرتیل رشد و شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها در سطوح ۲ و ۸ میلی گرم در لیتر BAP نیز اتفاق افتاد. برخلاف رقم روند، ریزنمونه‌های ارقام گرد و فرتیل در محیط کشت فاقد BAP رشد نکردند (جدول ۲). در ریزنمونه‌های فصول پاییز و تابستان رقم فرتیل محیط کشت‌های حاوی ۳ یا ۵ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۶-۷ متن انگلیسی مراجعه شود.