Archive of SID



# ریزازدیادی بلوبری رقم بلوگلد (Vaccinium corymbosom L. cv. Bluegold): اثر محیط کشت‌های مختلف بر پرآوری درون شیشه‌ای

مهدی بخشی پور[1*]، رمضان بخشی پور[2]

1 و *- نویسنده مسئول و کارشناس ارشد آزمایشگاه، مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور.M.bakhshipour.e@gmail.com

2- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

این تحقیق به‌منظور تعیین محیط کشت مناسب جهت رشد و پرآوری گیاهچه‌های بلوبری در شرایط درون‌شیشه‌ای در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور انجام شد. در این آزمایش از سه محیط کشت MS, WPM و AN به همراه تنظیم‌کننده رشد زاتین در چهار غلظت (1/5، 1، 0/5، 0) میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. پس از 8 هفته صفات طول شاخساره، تعداد شاخساره، وزن تر و وزن خشک شاخساره‌ها یادداشت برداری شدند. نتایج تحقیق نشان داد محیط کشت AN + 1.5mg Zeatin با 12/5 گیاهچه، محیط کشت مناسب‌تری نسبت به محیط کشت‌هایMS و WPM برای کشت بلوبری در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: بلوبری، پرآوری، کشت‌درون شیشه‌ای، زاتین، واکسینیوم

**مقدمه**

بلوبری‌ها متعلق به خانواده اریکاسه و جنس واکسینیوم هستند. که در نواحی سرد نیمکره شمالی و در کوه های نیمکره جنوبی رشد می-کنند. از گونه‌های مهم جنس واکسینیوم که میوه خوراکی تولید می‌کنند می‌توان بیل‌یری، کران‌بری، کاوبری، لینگان‌بری و بلوبری را نام برد. بلوبری‌های اهلی را به سه دسته مهم پاکوتاه (V. angustafilium)، پابلند ( V. corymbosum) و چشم خرگوشی(V. ashei) تقسیم می‌کنند(صداقت حور، 1391).

بلوبری‌ها یکی از معروف‌ترین ریزمیوه‌ها هستند که می‌توانند در خاک‌های با مواد آلی کم رشد کنند. ارتفاع بوته‌ها تقریبا به سه متر می‌رسد. گل‌های این گیاه به‌صورت استکانی، سفید تا صورتی رنگ می‌باشد. این گیاهان خودگرده‌افشان هستند ولی در صورت دگرگرده‌افشانی، علاوه بر افزایش عملکرد، میوه‌های درشت‌تر با تعداد بذر کمتری تولید می‌کنند(گائو و دراپر، 2010). میوه‌ها حاوی درصد بالایی از ویتامین، آنتوسیانین و آنتی‌اکسیدان‌های فعال ضد سرطان هستند. (دجوردجینا روزیچ و همکاران، 2012).

بلوبری‌ها عموماً از طریق کشت‌درون‌شیشه‌ای ازدیاد می‌شوند (هارتمن و همکاران، 1997). برای تکثیر سریع رقم‌های مرغوب اصلاح-شده از کشت‌درون‌شیشه‌ای استفاده می‌شود (پارلیما و همکاران، 1974؛ تواویو، 1976). ریزازدیادی یکی از روش‌های آسان و کم هزینه‌ای می‌باشد که با استفاده از آن می‌توان در زمانی کوتاه تعداد زیادی گیاهچه از کلون‌ها و یا گونه‌های که در معرض خطر انقراض قرار دارند، تولید کرد. از دیگر مزایای استفاده از این تکنیک، عدم وابستگی به فصل رشد و تولید گیاهچه‌های مشابه و عاری از بیماری را می‌توان نام برد (جورج و همکاران، 2008).

لیویو آدریان وسکان و همکاران (2012) برای تهیه پروتکل ریزازدیادی بلوبری پابلند اثر zeatin و BAP , 2ip در محیط‌کشت پایه WPM را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بهترین پرآوری را 1 میلی‌گرم در لیتر زاتین به همراه 5 میلی‌گرم 2ip دارد.



www.SID.ir

Archive of SID



آلنا گاجدوساوا و همکاران (2006) در بررسی ریزازدیادی 5 رقم بلوبری پابلند گزارش دادند محیط‌کشت اندرسون AN ( Anderson's rhododendron) با 0/5 میلی‌گرم زاتین بهترین پرآوری را دارد.

باتوجه به اهمیت زیاد بلوبری از نظر ارزش غذایی و دارویی این مطالعه با هدف دست‌یابی به پروتوکلی برای ازدیاددرون شیشه‌ای در حداقل زمان و کمترین هزینه مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

گیاه بلوبری رقم بلوگلد از خارج از کشور تهیه و به گلخانه پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور منتقل شد. این گیاه در گلخانه به مدت 3 ماه نگه‌داری و تغذیه و پس از رشد جوانه‌های جانبی جدید، از این جوانه‌ها ریزنمونه تهیه شد. نمونه‌ها ابتدا به مدت 30 دقیقه در زیر آب جاری شستشو داده شدند. عملیات ضدعفونی سطحی با الکل 70% به مدت 25 الی 30 ثانیه و پس از آن به مدت 15 دقیقه در محلول 1/5 درصد هیپوکلراید سدیم قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها با آب استریل در زیر ایرفلو شستشو داده شدند.

در این آزمایش نمونه‌های گندزدایی شده در شیشه‌های شفاف (90×70 میلی‌متر) حاوی محیط‌های پایه کشت شد که این محیط‌ها حاوی مقادیر 3 درصد ساکارز و % 0/7آگار (مرک، آلمان) می‌باشد. pH محیط به میزان5/1±1 تنظیم گردید. پس از کشت، ریزنمونه‌ها به اتاق رشد با دمای24±1 و دوره‌ی نوری 16 ساعت روشنایی با شدت نور 1500 لوکس و 8 ساعت تاریکی منتقل شدند.

به‌منظور تعیین بهترین محیط‌کشت پایه و تعیین غلظت بهینه‌ی Zeatin، ریزنمونه‌ها از جوانه‌های جانبی (به طول تقریبی 1/5 سانتی‌متر) از گیاه مادری تهیه و کشت شدند. این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور محیط‌کشت پایه با سه محیط‌کشت ( MS, AN, WPM) و تنظیم‌کننده رشد Zeatin در چهار سطح (0، 0/5، 1 و 1/5 میلی‌گرم در لیتر) بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد.

## نتایج و بحث

در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود، اثرات ساده محیط‌کشت‌ها و زاتین بر ریزنمونه‌ها در پارامترهای تعداد شاخساره، طول شاخساره، وزن تر و وزن خشک در سطح 1 درصد معنی‌دار است و اثرات متقابل محیط‌کشت و زاتین به‌جز در طول شاخساره در سایر پارامترها در سطح 1 درصد معنی‌دار است.

جدول تجزیه واریانس پرآوری بلوبری در محیط‌های کشت مختلف تحت تاثیر زآتین

| منابع تغییرات | درجه آزادی | طول شاخساره | تعداد شاخساره | وزن تر شاخساره | وزن خشک شاخساره |
|---|---|---|---|---|---|
| محیط‌کشت | 2 | 5/63** | 2116/08** | 17/79** | 2/18** |
| زآتین | 3 | 5/57** | 1023/00** | 8/57** | 0/92** |
| اثر متقابل | 6 | 0/12 ns | 186/97** | 1/01 ** | 0/13 ** |
| خطای آزمایش | 24 | 0/07 | 3/91 | 0/04 | 0/03 |
| ضریب تغییرات | ---- | 8/24 | 8/79 | 7/92 | 16/09 |

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال 1 درصد، 5 درصد و عدم معنی‌داری



www.SID.ir

Archive of SID



نمودارهای مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای سه محیط‌کشت پایه به همراه غلظت‌های مختلف زاتین را نشان می‌دهند. در این آزمایش بیشترین تعداد شاخساره پرآوری شده در تیمار محیط‌کشت AN در ترکیب با 1/5 میلی‌گرم در لیتر زاتین با میانگین 12/5 شاخساره در هر ریزنمونه حاصل گردید. تیمار1 و 0/5 میلی‌گرم در لیتر زاتین در ترکیب با محیط‌کشت AN نیز اختلاف معنی‌داری در سطح 1 درصد با شاهد ایجاد کرد. همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر زاتین در ترکیب با محیط‌کشت AN با میانگین 7 سانتی‌متر بیشترین ارتفاع شاخساره را با اختلاف معنی‌دار در سطح 1 درصد نسبت با شاهد ایجاد کرد. در اثرهای متقابل تیمارها نسبت به شاهد غیر از طول شاخساره تفاوت معنی‌دار درسطح 1 درصد مشاهده گردید. از نتایج استنباط می‌گردد که محیط‌کشت AN در ترکیب با غلظت پایین زاتین بیشترین تأثیر مثبت را در ارتفاع ریزنمونه‌ها داشته‌اند.

تیمار 1/5 میلی‌گرم برلیتر زاتین در ترکیب با محیط‌کشت AN با میانگین 3/8 گرم بیشترین وزن تر را داشت که با شاهد در سطح 1 درصد تفاوت معنی‌دار داشت. وزن تر شاخساره‌ها در سطح 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر برلیتر زاتین در ترکیب با محیط‌کشت AN نیز تفاوت معنی‌دار در سطح 1 در صد با شاهد ایجاد کرد.

در بررسی جداگانه فاکتور تنظیم‌کننده رشد نشان داد که رشد ریزنمونه‌ها در این آزمایش‌ها به طور مستقیم تحت تأثیر غلظت‌های زاتین قرار داشتند. به گونه‌ای که در محیط‌کشت پایه AN به همراه افزایش غلظت زاتین تفاوت معنی‌داری در صفات مورد نظر ایجاد کرد. با در نظر گرفتن نقش شناخته شده اکسین‌ها و سایتوکنین‌ها و نتایج کاربرد تیمارهای هورمونی که از طریق تأثیر گذاری بر تنظیم‌کننده-های رشد درونی نقش خود را ایفا می‌کنند(گاسپر، 2003).

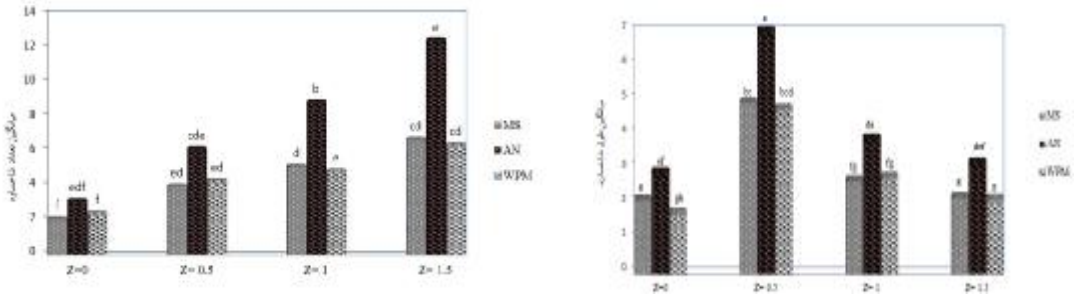
میانگین تعداد شاخساره در هر ریزنمونه یکی از فاکتورهای اصلی در پرآوری می‌باشد. که در پرآوری گونه‌هایی که کاربرد تجاری دارند بسیار بر آن تأکید می‌گردد. در این آزمایش‌ها بررسی میانگین تعداد شاخساره‌ای که از ریزنمونه تولید گردیده مورد ارزیابی قرار گرفت و حاکی از تأثیر نوع محیط و غلظت تنظیم‌کننده رشد به کار رفته می‌باشد به گونه‌ای که ترکیب محیط‌کشت AN و غلظت 1/5 میلی‌گرم در لیتر زاتین به کارگرفته شده بیشترین تأثیرگذاری را داشت. با این تفاسیر سایتوکنین‌ها را عامل اصلی تقسیم سلولی می‌دانند که با تأثیر بر جوانه انتهایی و غلبه بر اکسین باعث از بین رفتن چیرگی انتهایی می‌شوند و با تجمع در جوانه‌های جانبی باعث رشد جوانه جانبی می‌شوند (تایز و زایگر، 2002).



www.SID.ir

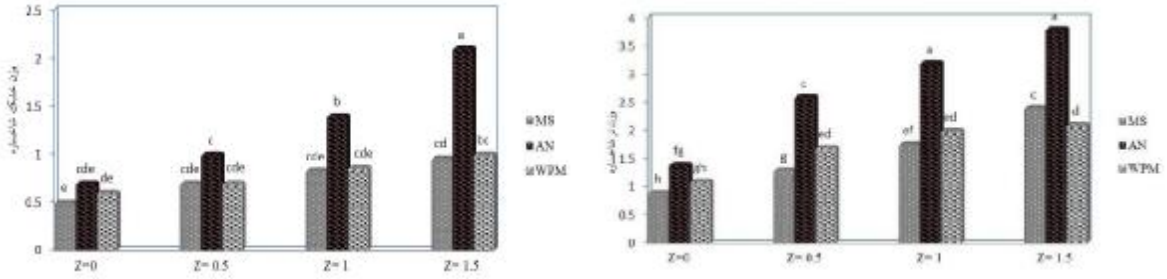
Archive of SID





مقایسه میانگین اثر محیط‌کشت AN, MS, WPM و غلظت‌های زاتین برطول و تعداد شاخساره بلوبری

میانگین‌ها در هرستون که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح 1% تفاوت معنی‌دار ندارند



مقایسه میانگین اثر محیط‌کشت AN, MS, WPM و غلظت‌های زاتین برطول و تعداد شاخساره بلوبری

میانگین‌ها در هرستون که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند بر مبنای آزمون LSD در سطح 1% تفاوت معنی‌دار ندارند

با در نظر گرفتن نقش سایتوکنین‌ها در رشد طولی ساقه و تعادل مناسب بین نسبت اکسین به سایتوکنین می‌توان نتیجه گرفت که غلظت-های متوسط و کم از سایتوکنین‌ها و اکسین مهمترین عامل القای رشد طولی شاخساره هستند (جورج و همکاران، 2008). میانگین ارتفاع شاخساره بستگی به غلظت‌های مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشد دارد. به گونه‌ای که در غلظت‌های بالا پرآوری افزایش یافته و از میانگین ارتفاع شاخساره کاسته شد. اکسین‌ها مسئول اصلی افزایش طول سلول و در نتیجه افزایش طول بخش‌های هوایی گیاه هستند (عطری، 1375). یکی از اثرهای بارز و شناخته شده غلظت‌های بالای سایتوکنین‌ها در محیط‌کشت کاهش طول شاخساره است (کوملو، 1989). کاهش ارتفاع شاخساره به دلیل تأثیر سایتوکنین‌ها بر افزایش تعداد جوانه‌های نابجا می‌باشد. درحالی‌که در محیط بدون سایتوکنین شاخساره‌ها به‌صورت تکی و یا با تعداد کمی شاخساره جانبی شروع به رشد می‌کنند (ابوقود و همکاران، 2010). سایتوکنین-ها علاوه بر نقش بارز خود به‌عنوان محرک تقسیم سلولی به طریقی متفاوت از اکسین‌ها در رشد سلولی موثرند و احتمالاً وجود سایتوکنین‌ها برای افزایش طول کلیه سلول‌های گیاهی الزامی است (عطری، 1375).

با نگاهی به نتایج وزن‌تر ریزنمونه‌ها مشاهده می‌شود که تیمارهایی که بیشترین تعداد شاخساره را تولید کرده‌اند بیشترین وزن تر را نیز دارند. افزایش اندازه و طول سلول‌ها شامل چندین برابر شدن حجم واکوئل و گسترش دیواره‌های سلول است. با ادامه طویل شدن سلول‌ها رسوب سلولز بر روی دیواره‌ها ادامه یافته و دیواره‌های اسکلتی کامل می‌شوند. در سلول‌های بالغ گیاهی آب و نیز ماده خشک موجود بر دیواره‌ها زیاد است که عمده وزن سلول‌ها مربوط به سلولز موجود در دیواره‌های آنهاست (لسانی و مجتهدی، 1379). وزن تر اندام‌ها و بافت‌ها در حقیقت شامل وزن خشک و مقدار آبی است که در بافت‌های مختلف وجود دارد. طی مراحل تقسیم سلولی افزایش اندازه سلول‌ها موجب جذب آب می‌شود که این رشد افزایش وزن خشک را نیز به دنبال دارد. در بافت‌های بالغ، عمده وزن



www.SID.ir

Archive of SID



خشک مربوط به موادسلولزی و لیگنینی رسوب داده شده روی دیواره سلولی است (مطلوبی، 1383). در این آزمایش تیماری که بالاترین وزن تر را داشت، بیشترین وزن خشک را نیز دارا بود. این همبستگی به علت فراهم بودن منابع کافی غذایی برای رشد، تقسیم سلولی و بیوسنتز مواد است که باعث شده ماده خشک نیز افزایش یابد. در بافت‌های بالغ عمده وزن خشک مربوط به مواد سلولزی و لیگنینی رسوب داده شده روی دیواره سلولی است (لسانی و مجتهدی، 1379). براساس گزارش‌های متعدد وجود سایتوکنین، افزایش تقسیمات سلولی را به دنبال دارد. طی این فرایند بالا رفتن وزن خشک به دلیل افزایش مواد پروتئینی، چربی‌ها و سایر مواد جامد امری محتمل تلقی می‌گردد. (حسندخت و ابراهیمی، 1385).

## نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت بسیار زیاد بلوبری در دوحیطه کاربردی غذایی، دارویی و وجود شرایط طبیعی و اقلیمی مناسب برای کشت و تولید این گیاه در استان‌های شمالی کشور، تولید این گیاه ضروری و دارای اهمیت است. این گیاه در کشور تولید نمی‌شود وتعداد گیاهان والد برای تولید این گیاهچه به روش‌های سنتی اقتصادی نیست. بنابراین نیاز است از ابزارهای به روز نظیر کشت درون شیشه‌ای جهت تکثیر این گیاه با ارزش استفاده شود. در این راستا با انجام آزمایش‌هایی برای کشت درون شیشه‌ای این گیاه مورد آزمون قرار گرفت که بهترین نتایج به‌دست آمده مربوط به محیط کشت AN به همراه 1/5 میلی‌گرم در لیتر زاتین است.

## منابع


حسندخت م. ر. و ر. ابراهیمی، 1385. مبانی کشت بافت گیاهی. انتشارات مرز دانش. خوراکی. 31 ص.

صداقت حور، ش.، 1391. درختان ودرختچه‌های دارویی و معطر. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. 118-120 ص

عطری م.، 1375. ارگانوژنز (اندام‌زایی) و مورفوژنز (ریخت‌زایی) گیاهی (جلد دوم) .جهاد دانشگاهی ارومیه 469 ص.

لسانی ح. و م. مجتهدی، 1379. مبانی فیزیولوژی گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران.

مطلوبی م.، 1383. تولید و پرورش میخک‌های بریدنی. انتشارات دفتر امور گل و گیاهان زینتی، دارویی و قارچ‌های خوراکی. 31 ص.

Abu-Qaoud, H., A. Abu-Rayya, and S. Yaish. 2010. In vitro regeneration and somaclonal variation of Petunia hybrid. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 18: 71-81.

Adrian Vescan, L., et al. 2012. Efficient micro propagation protocol for high bush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) cv. 'Elliot'Romanian Biotechnological Letter.

Comloh, M., N. Gogala, and R. Ruzic. 1989. The micropropagation of Nephrolepis exalata, Bioloski – Vestnik, 37: 23-33.

Djurdjina, R., V. Tatjana, L. Gabriela, C. Radosav, and G. Alena. 2012. Micropropagatiun in vitro of highbush blueberry (Vaccinium corymbosom L.).

Gajdošová, A., et al. 2006. Microclonal propagation of Vaccinium sp. and Rubus sp. and detection ofgenetic variability in culture in vitro. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research.

Gao, G. and E. Draper. 2010. Growing blueberries in the home garden. The Ohio State University Factsheet. HYG-1422-10.117

Gaspar, T., C. Kevers, O. Faivre-Rampant, M. Cre`vecoeur, C. Penel, H. Greppin, and J. Dommes. 2003. Changing concepts in plant hormo ne action. In Vitro Cell. Development Biology Plant. In Vitro Cell, 39: 85-105.

George, E. F., M. A. Hall, and G.-J. De Klerk. 2008. The components of plant tissue culture media I: macro-and micro-nutrients. Plant propagation by tissue culture. Springer. pp. 65-113.

Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies, and R. L. Geneve. 1997. Plant propagation: Principles, and practices. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

Parliman, B., M. Toivio, and C. Stushnoff. 1974. Propagation procedures for new half-highblueberry hybrid. Proceedings 3rd North American Blueberry Research & ExtensionWorkers' Conference Michigan Agricultural Experiment Station Report.




www.SID.ir

Archive of SID



Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. 3rd edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
Toivio, M. 1976. Propagation of blueberries and azaleas from lead-bud cuttings. M. S. Thesis, University of Minnesota.

**Micropropagation of blueberry (Vaccinium corymbosom L.) cv. Bluegold: The effects of different media on in vitro proliferation**

**Abstract**
In order to determine the proper medium to grow and proliferation of blueberry explants under the in vitro condition an experiment based on factorial experiment in completely randomized design with three repetitions in the institute of agriculture biotechnology in the north of country was conducted. In this experiment three growth medium WPM, MS and AN in combination with plant growth regulator zeatin in 4 concentrations (0, 0.5, 1, 1.5 mg/l) were applied. After 8 weeks traits include shoot length, shoot number, fresh weight and dry weight of shoots recorded. The result of this study indicated WPM medium + 1.5 mg/l zeatin with 12.5 shoot in each explant is better medium to propagate of blueberry under in vitro condition in compare with MS and NA medium.
**Key words:** Blueberry, Proliferation, In vitro culture, Zeatin, Vaccinium



www.SID.ir