بهبود جوانه‌زنی بذور فندق (*Corylus avellana* L.) با استفاده از شرایط درون‌شیشه‌ای

Improvement of Seed Germination of Hazelnut (*Corylus avellana* L.) by Using *In Vitro* Conditions

ساراالسادات راه‌پیما[۱]، احمد معینی[۲*] و مختار جلالی جواران[۳]

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۴/۳۰

چکیده

فندق یکی از مهم‌ترین محصولات خشکباری جهان است و ایران مقام هشتم را در تولید جهانی این محصول دارد. تولید گیاه فندق از طریق بذر جهت برنامه‌های اصلاحی، معمولاً به‌دلیل پوسته چوبی و خواب بذر به‌ندرت صورت می‌گیرد. کشت درون‌شیشه‌ای بذور می‌تواند روش مناسبی جهت تکثیر فندق در مدت زمان کوتاه و نیز تولید پایه‌های بذری اصلاح شده باشد. برای این منظور، در این پژوهش اثر نور (تاریکی و تاریکی- روشنایی)، پیش‌تیمار (سرما و اسیدجیبرلیک)، حالت کشت بذر (بذر کامل و بذر نیمه)، و نوع محیط‌کشت (MS, $\frac{1}{2}$ MS, WPM, RMS)، روی صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ارتفاع نوساقه بررسی شدند. نتایج نشان داد که جوانه‌زنی بذور فندق تنها در تاریکی صورت گرفته و اعمال پیش‌تیمار سرمایی، در دمای $7^{\circ}C$- به‌مدت یک هفته و سپس کشت بذر نیمه در محیط‌کشت $\frac{1}{2}$MS، بیشترین میزان جوانه‌زنی بذر را داشت، درحالی‌که بیشترین طول ریشه (۱۰/۸ cm) از طریق کشت بذر کامل در محیط‌کشت MS بدون پیش تیمارهای سرمایی و اسیدجیبرلیک حاصل شد. بلندترین ارتفاع نوساقه (۶/۹ cm) نیز از طریق کشت بذر کامل در محیط‌کشت RMS بدون پیش تیمار به‌دست آمد. در این پژوهش همچنین، جوانه‌زنی در شرایط درون‌شیشه‌ای با شرایط کشت در گلدان مقایسه شد و نتایج نشان داد که شرایط درون‌شیشه‌ای با ۵۶/۶٪ جوانه‌زنی، نسبت به شرایط برون‌شیشه‌ای با ۳/۳۳٪ جوانه‌زنی، به‌طور بسیار معنی‌داری موجب بهبود جوانه‌زنی فندق شده است.

واژه‌های کلیدی: فندق، *Corylus avellana* L.، جوانه‌زنی بذر، پیش‌تیمار، محیط‌کشت

۱. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
*: نویسنده مسوول Email: moieni_a@modares.ac.ir

مقدمه

فندق، *Corylus avellana* L.، یکی از مهم‌ترین محصولات خشکباری است و از نظر تولید جهانی در مقام دوم بعد از بادام قرار دارد. طبق آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۱۲، تولید جهانی فندق ۹۱۴،۴۴۷ تن و میزان تولید داخلی آن ۲۱،۴۴۰ تن بود. در این میان ترکیه ۷۷٪ از این تولید را به خود اختصاص داده است و ایتالیا در مقام دوم، ایالات متحده، چین و اسپانیا به‌ترتیب در مقام‌های سوم تا پنجم قرار دارند (*فاوو*، 2012). ایران از نظر وسعت سطح زیرکشت در رتبه پنجم و از نظر تولید در رتبه هشتم قرار دارد. سطح زیر کشت فندق در ایران براساس آمارنامه سال ۱۳۹۱ وزارت جهاد کشاورزی حدود ۲۳۵۳۵ هکتار می‌باشد که از آن حدود ۳۸۷۳ هکتار آن غیربارور و ۱۹۶۶۱هکتار بارور می‌باشد و استان گیلان با ۱۶،۱۴۳ هکتار در رتبه نخست قرار دارد و میزان تولید آن در حدود ۲۲۵۸۹ تن تخمین زده شده است (*بی‌نام*، ۱۳۹۰). مناطق عمده‌ی کشت فندق در ایران به حاشیه دریای خزر و نواحی کوهستانی و استان‌های گیلان، اردبیل، مازندران، قزوین، زنجان و قم محدود می‌شود. بیشتر فندق‌هایی که در ایران کشت‌وکار می‌شوند از تیپ‌های بومی می‌باشد (غلامی دشتی، ۱۳۹۰).

فندق گیاهی است از خانواده *Betulaceae*، شامل ۱۸ گونه مختلف که به‌طور وسیع در مناطق معتدل دنیا پخش شده‌اند (*تامسون* و همکاران (Thompson *et al.*, 1996). فندق‌های ایران از گونه *Corylus avellana* L. می‌باشند. ارقام مورد کشت در ایران شامل فرتیل دو کوتارد، نقرت، سقورب، روند و ارقام بومی گرد اشکورات، گرجه، پشمینه، شصتک، گردویی و رسمی می‌باشد.

ازدیاد فندق معمولاً آن از طریق خوابانیدن به‌دست می‌آید که خوابانیدن به طریق کنده‌ای از سایر روش‌ها معمول‌تر است. قلمه زدن نیز در شرایط ویژه‌ای انجام می‌شود، اما از آن‌جا که در فندق هم مانند بسیاری از گیاهان چوبی ریشه‌دار کردن قلمه‌ها مشکل بوده این روش را با محدودیت مواجه ساخته است هارتمن و کستر (Hartman and Kester, 1975)، که برای رفع این مشکل تحقیقات مختلفی در استفاده از تیمارهای هورمونی و استفاده از باکتری *Agrobacterium rhizogenes* جهت ریشه‌دار کردن قلمه‌ها انجام شده است (*باسیل* و همکاران؛ *سانچز* و همکاران (Bassil *et al.*, 1991; Sánchez-Olate *et al.*, 2009). تکثیر به طریق پیوند زدن به‌دلیل این‌که در اکثر موارد پل کالوزی موفقی بین پایه و پیوند به‌وجود نمی‌آید به‌سختی انجام می‌شود. ازدیاد درون‌شیشه‌ای فندق هم انجام شده است که به‌دلایل مشکلات مراحل استقرار ریزنمونه‌ها و ریشه‌دار کردن مشکل بوده است. با این حال تلاش‌هایی جهت بهبود شرایط درون‌شیشه‌ای کشت فندق انجام شده است (*پرز* و همکاران؛ *یو* و *رید*؛ *باسیل* و همکاران، 1991؛ *دامیانو* و همکاران؛ *قائم مقامی* و همکاران؛ *قائم مقامی* و همکاران، 2001 (Pérez *et al.*, 1985; Yu and Reed, 1995; Damiano *et al.*, 2004; Ghaemmaghami *et al.*, 2010).

بررسی‌ها نشان می‌دهند که پایه‌های بذری در بعضی از ارقام مانند داویانا و مروی قوی‌تر و یکنواخت‌تر هستند و به‌خاطر سیستم ریشه‌ای قوی درختان پیوندی بسیار سازگاری را ایجاد می‌کنند (*برگونیو* و همکاران، ۱۳۷۷). همچنین تکثیر این گیاه از طریق بذر، مانند سایر گیاهان، می‌تواند در راستای اصلاح فندق و انتخاب‌های درون‌شیشه‌ای و تولید گیاه از ذخایر ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد. بذور فندق، پوسته چوبی سخت، دوره خواب و جوانه‌زنی نامنظمی دارد که با طول دوره انبارداری افزایش می‌یابد (*آریاس* و همکاران Arias *et al.*, 1976) که استفاده از آن را برای تکثیر این گیاه با محدودیت مواجه کرده است. برای غلبه بر این مشکل از نگهداری بذور در ۴°C و یا تیمار بذور توسط اسیدجیبرلیک استفاده شده است (*تامسون* و همکاران، 1996). امروزه می‌توان از پتانسیل کشت بافت گیاهی جهت جوانه‌زنی بذور استفاده کرد و برای این منظور لازم است که عوامل مختلفی بررسی شوند. لذا در این تحقیق اثر عوامل موثر بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای بذر فندق بررسی و با جوانه‌زنی در شرایط کشت مستقیم بذور در گلدان مقایسه شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت دو آزمایش مجزا انجام شد. در آزمایش اول اثر محیط‌کشت، پیش‌تیمار و حالت کشت بذر به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار در شرایط درون‌شیشه‌ای بررسی شد و در آزمایش دوم، جوانه‌زنی فندق به روش کشت مستقیم در گلدان (برون‌شیشه‌ای) بررسی و با جوانه‌زنی در شرایط درون‌شیشه‌ای مقایسه گردید. ریزنمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش، بذور تازه فندق (رقم گرد اشکورات) بودند که از باغات شمال کشور (منطقه اشکورات رودسر)، و در شهریور ماه ۱۳۹۱، جمع‌آوری شدند.

آزمایش اول: کشت بذور در شرایط درون‌شیشه‌ای

بذور در ظروف شیشه‌ای (به قطر ۱۰ و ارتفاع ۱۶سانتی‌متر) حاوی ۷۵ میلی‌لیتر محیط‌کشت شدند. هر تکرار برای هر تیمار حاوی ۶ بذر بود. جهت کشت ابتدا پوسته چوبی بذور حذف و

سپس آن‌ها با آب حاوی چند قطره مایع ظرفشویی شسته شدند و در مرحله بعد به‌ترتیب در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۵٪ (W/V) به‌مدت ۲۰ دقیقه، آب مقطر استریل ۵ دقیقه، الکل ۷۰٪ به‌مدت ۲۰ ثانیه، آب مقطر استریل ۵ دقیقه و مجدداً در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۵٪ (W/V) به‌مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند و نهایتاً ۳ مرتبه آبکشی با آب مقطر استریل انجام شد. فاکتورهای مورد مطالعه در این آزمایش به شرح ذیل بودند: ترکیب محیط‌کشت در ۴ سطح MS *موراشیگ* و *اسکوگ* (Murashige and Skoog, 1962)، WPM *لوید* و *مک‌کن* (Lloyd and McCown, 1981)، $\frac{1}{2}$MS و MS تغییر یافته با نمک آهن Fe-EDDHA ($50 mg.l^{-1}$) به جای ترکیب کلاسیک آهن (RMS)، پیش‌تیمار (دمایی و شیمیایی) در ۳ سطح (بدون پیش‌تیمار، سرما و اسیدجیبرلیک)، اثر نور بر جوانه‌زنی در ۲ سطح (تاریکی و تاریکی- روشنایی به‌مدت ۱۰ روز) و حالت کشت بذر در ۲ سطح (بذر کامل و بذر نیمه (شامل جنین و یک لپه). جهت تهیه محیط‌های کشت، مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت‌های Sigma و Merck تهیه شد. به‌منظور اعمال پیش‌تیمار سرمایی، بذور به‌مدت یک هفته در ۷ºC- و تاریکی و در پیش‌تیمار اسیدجبرلیک ۵۰۰ ppm GA_3 بذور به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول GA_3 در دمای ۲۵ºC و تاریکی نگهداری و سپس کشت شدند.

بعد از گذشت ۱۰ روز و پس از جوانه‌زنی بذور، تمام کشت‌ها در اتاق رشد کنترل شده (با دمای ۲۵ºC و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی) قرار داده شدند. پس از یک ماه از زمان کشت، صفات درصد جوانه‌زنی، طول بلندترین ریشه و ارتفاع نوساقه یادداشت‌برداری و داده ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و به روش فاکتوزیل و آزمون مقایسه میانگین دانکن آنالیز گردیدند. دو هفته بعد از یادداشت‌برداری صفات، گیاهچه‌ها به گلدان‌های حاوی پرلیت و کوکوپیت (۱:۱) جهت سازگار کردن منتقل شدند.

آزمایش دوم: کشت بذور در گلدان (شرایط برون‌شیشه‌ای)

در این آزمایش، ۶ بذر در هر گلدان حاوی پرلیت و کوکوپیت (۱:۱) به دو شکل، شامل بذور با پوسته چوبی و بدون پوسته در ۵ تکرار کشت و در گلخانه با دمای ۲۵ºC نگهداری شدند. گلدان‌ها در طول دو ماه کشت، هر روز آبیاری شدند و در نهایت درصد جوانه‌زنی محاسبه و با جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای در محیط‌کشت $\frac{1}{2}$MS بدون پیش‌تیمار سرمایی، مقایسه شد.

نتایج

جوانه‌زنی بذور کشت شده فندق در شرایط درون‌شیشه‌ای حدوداً بعد از یک هفته آغاز شد و در بعضی موارد تا هفته سوم ادامه یافت، این درحالی است که بذور کشت شده در گلدان به‌مدت زمانی بیش از دو ماه جهت جوانه‌زنی نیاز داشتند. در بذوری که جهت جوانه‌زدن تحت تیمار تاریکی-روشنایی قرار گرفته بودند، هیچ‌گونه جوانه‌زنی مشاهده نشد، بنابراین فقط بذور تحت تیمار تاریکی آنالیز شدند. نتایج آزمون Kolmogorov-Smirnov، نرمال بودن خطاهای آزمایشی صفات درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ارتفاع نوساقه را نشان داد. بنابراین محاسبات آماری متعارف برای آنالیز داده‌ها انجام شد.

آزمایش اول: بررسی جوانه‌زنی و باززایی گیاه فندق در شرایط درون شیشه‌ای

مطابق نتایج آنالیز واریانس (جدول ۱)، اثر اصلی ترکیب محیط‌کشت در برای صفات ارتفاع نوساقه، طول ریشه و درصد جوانه‌زنی و اثر پیش‌تیمار در برای صفات درصد جوانه‌زنی و طول ریشه، معنی‌دار بودند. حالت کشت بذر به تنهایی اثر معنی‌داری بر روی صفات مورد مطالعه نداشت. همچنین اثرات متقابل ترکیب محیط‌کشت و حالت کشت بذر بر روی صفات درصد جوانه‌زنی و طول ریشه معنی‌دار شد. اثرات متقابل محیط‌کشت با پیش‌تیمار، محیط‌کشت با حالت بذر، پیش‌تیمار با حالت کشت بذر و نیز اثر متقابل هر ۳ تیمار بر روی صفت طول ریشه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بودند. مراحل مختلف جوانه‌زنی بذر فندق در شرایط درون‌شیشه‌ای در شکل (۱) نشان داده شده است. به‌دلیل معنی‌دار بودن اثر ترکیب محیط‌کشت و نیز اثر متقابل ترکیب محیط‌کشت و حالت کشت بذر مقایسه میانگین ترکیبات تیماری انجام شد.

مقایسه میانگین این تیمارها نشان داد که محیط‌های کشت MS، $\frac{1}{2}$MS و WPM برای جوانه‌زنی بذر فندق مناسب بودند. به‌طوری‌که بیشترین میزان جوانه‌زنی (۵۶/۶۶٪) توسط اثر متقابل کشت بذور نیمه در محیط‌کشت $\frac{1}{2}$ MS به‌دست آمد، درحالی‌که کمترین میزان جوانه‌زنی (۳۱/۱۱ ٪) توسط اثر متقابل کشت بذور نیمه در محیط‌کشت RMS مشاهده شد (جدول ۲). بدین جهت، استفاده از محیط‌کشت $\frac{1}{2}$ MS به‌خاطر کاهش غلظت ترکیبات آن، نسبت به محیط‌کشت کامل از نظر اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد. همچنین اثر پیش‌تیمار بر روی صفت درصد جوانه‌زنی بذور فندق در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود و از بین تیمارهای اعمال شده، پیش‌تیمار سرمایی باعث افزایش میزان جوانه‌زنی گردید (جدول ۳). بیشترین طول ریشه

۱۰/۸ سانتی‌متر نیز از طریق کشت بذور کامل در محیط‌کشت MS بدون پیش‌تیمار و بلندترین ارتفاع نوساقه ۶/۹ سانتی‌متر توسط کشت بذور کامل در محیط‌کشت RMS بدون پیش‌تیمار به‌دست آمد (جدول ۴).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثرات تیمارهای محیط‌کشت، پیش‌تیمار و حالت کشت بذر روی صفات مورد مطالعه در کشت درون‌شیشه‌ای بذور فندق (*Corylus avellana* L.)

Table 1: Analysis of variance of the effects of medium, pretreatment and seed form on measured traits, In*in Vitro* culture of hazelnut seeds (*Corylus avellana*)

منبع تغییرات Sourceof variation (S.O.V)	درجه آزادی df.	میانگین مربعات Means of Squares (MS)		
		٪ جوانه‌زنی % Germination	طول ریشه Root length (cm)	ارتفاع ساقه Shoot height (cm)
محیط‌کشت Medium (A)	3	1870.370*	12.090*	16.134*
پیش‌تیمار Pretreatment (B)	2	5849.537**	31.731**	0.563ns
حالت بذر Seed form (C)	1	1870.370ns	7.545ns	1.632ns
(A) × (B)	6	923.611ns	18.831**	1.012ns
(A) × (C)	3	391.204**	27.999**	0.50ns
(B) × (C)	2	2833.333ns	25.155**	3.532ns
(A) × (B) × (C)	6	706.019ns	17.940**	4.675*
% C.V.		5.98	4.43	2.84

* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٪۵ * Significant at 0.05 probability level

** اختلاف بسیار معنی‌دار در سطح احتمال ٪۱ ** Significant at 0.01 probability level

ns اختلاف غیرمعنی‌دار ns Non-significant

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل محیط‌کشت و حالت کشت بذر روی صفت درصد جوانه‌زنی و طول ریشه در گیاه فندق (*Corylus avellana* L.)

Table 2: Mean comparison for the effects of medium and seed form on percentage of hazelnut (*Corylus avellana*)seed germination and root length

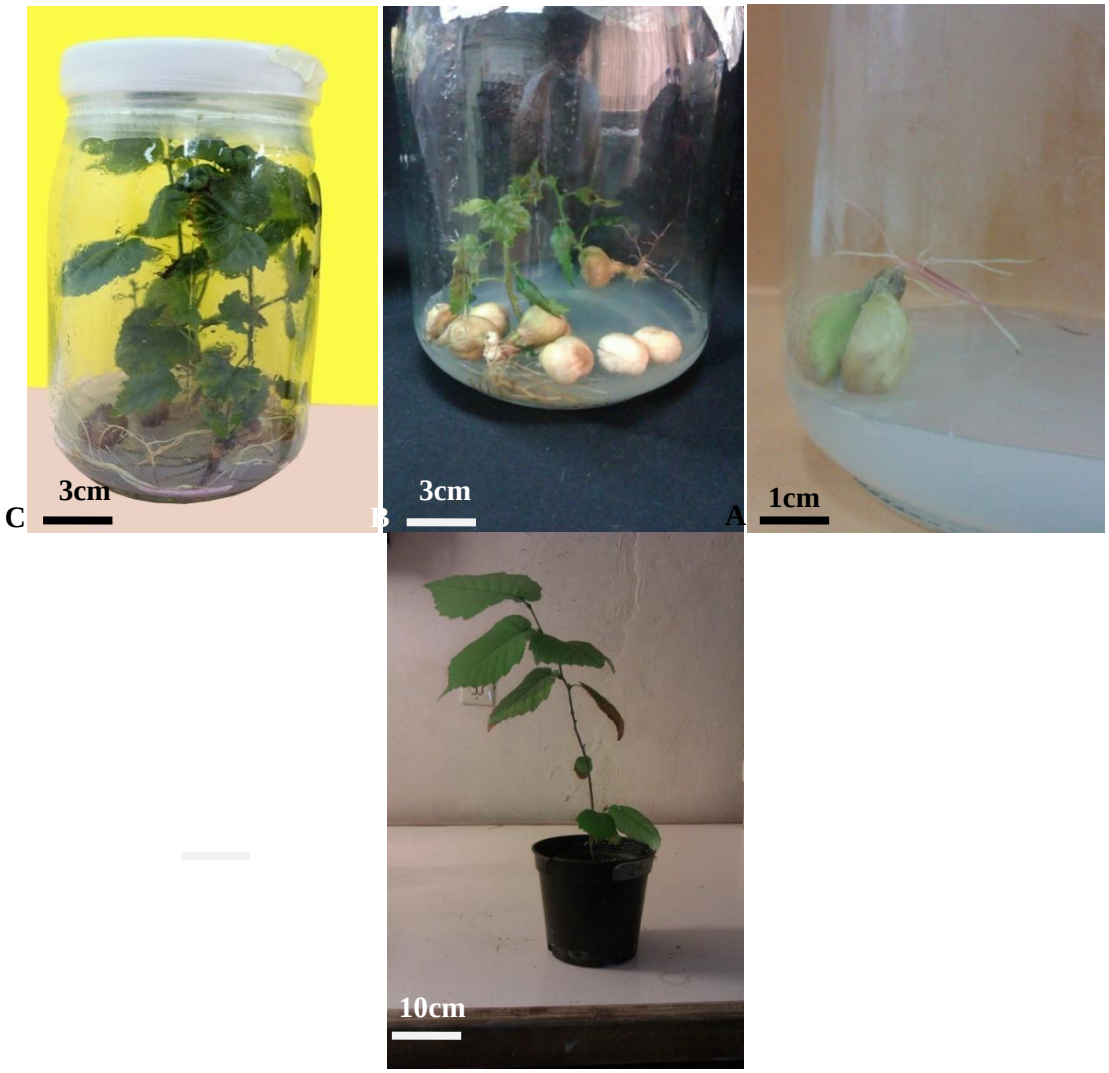
محیط‌کشت Medium	حالت بذر Seed form	درصد جوانه‌زنی % Germination	طول ریشه Root length (cm)
MS	Complete	44.44ab	4.57a
〃	Half	51.11a	3.28ab
$\frac{1}{2}$ MS	Complete	44.44ab	2b
〃	Half	56.66a	3.23ab
RMS	Complete	41.11ab	2.67b
〃	Half	31.11b	3.66ab
WPM	Complete	54.44a	2.97ab
〃	Half	54.44a	2.15b

در هر ستون میانگین‌ها با حرف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ٪۱ دارند

Means followed by different in letters in the same column are significantly different at P=0/01

آزمایش دوم: بررسی جوانه‌زنی فندق درشرایط برون‌شیشه‌ای

جوانه‌زنی بذور فندق در گلدان بعد از گذشت ۶ هفته آغاز شد و پس از ۲ ماه یادداشت‌برداری انجام شد (شکل ۲). جوانه‌زنی در شرایط معمولی در مقایسه با شرایط درون‌شیشه‌ای بسیار آهسته بود. درصد جوانه‌زنی در بذور با پوسته چوبی ٪۵ و در بذور بدون پوسته چوبی، ٪۳/۳ بود (جدول ۵)، که در مقایسه با جوانه‌زنی در شرایط درون‌شیشه‌ای (٪۵۶/۶)، به‌طور بسیار معنی‌داری کمتر بود.



شکل ۱: مراحل جوانه‌زنی بذور فندق در شرایط درون‌شیشه‌ای. A): جوانه‌زنی بعد از ۱۰ روز در تاریکی. B و C): گیاهچه رشد کرده به ترتیب دو و شش هفته بعد از انتقال به شرایط روشنایی. D): نهال سه ماهه فندق به‌دست آمده از شرایط درون‌شیشه‌ای

Fig. 1: The germination stages of hazelnut seeds in *In Vitro* condition. A): Germination after 10 days in darkness. B & C): The plantlets after 2 and 6 weeks in photoperiod condition. D): 3 month old hazelnut plant obtained from *in vitro* culture

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر پیش تیمار روی صفت درصد جوانه زنی بذور فندق در شرایط درون شیشه‌ای

Table 3: Mean comparison for the effect of pretreatment on percentage of hazelnut (*Corylus avellana* L.) seed germination in *In Vitro* condition

پیش‌تیمار Pretreatment	درصد جوانه‌زنی % Germination
Control	51.11[b]
GA3	33.33[c]
Cold	56.66[a]

در هر ستون میانگین‌ها با حرف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ دارند

Means followed by different in letters in the same column are significantly different at P=0/01

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل ترکیب محیط‌کشت، پیش‌تیمار و حالت کشت بذر روی صفات طول ریشه و ارتفاع نوساقه گیاهچه‌های فندق در شرایط درون‌شیشه‌ای

Table 4: Mean comparison for the effects of medium, pretreatment and seed form on root length and shoot height of hazelnut (*Corylus avellana*) in *In Vitro* condition

محیط‌کشت Medium	پیش‌تیمار Pretreatment	حالت بذر Seed form	طول ریشه Root length (cm)	ارتفاع ساقه Shoot height (cm)
MS	Control	Complete	10.8^{a}	3.94^{bcde}
〃	〃	Half	1.36^{bc}	5.56^{ab}
〃	GA_3	Complete	1.56^{bc}	5.34^{ab}
〃	〃	Half	1.72^{bc}	4.08^{bcde}
〃	Cold	Complete	3.94^{bc}	4.82^{bcde}
〃	〃	Half	4.18^{b}	5.22^{abc}
$\frac{1}{2}$ MS	Control	Complete	1.5^{bc}	3.9^{bcde}
〃	〃	Half	1.72^{bc}	3.15^{de}
〃	GA_3	Complete	2.78^{bc}	3.02^{e}
〃	〃	Half	3.78^{bc}	2.9^{e}
〃	Cold	Complete	1.58^{bc}	3.26^{cde}
〃	〃	Half	4.32^{b}	4.3^{bcde}
RMS	Control	Complete	2.88^{bc}	6.9^{a}
〃	〃	Half	3.1^{bc}	4.02^{bcde}
〃	GA_3	Complete	2.04^{bc}	5.04^{abcd}
〃	〃	Half	2.32^{bc}	5.24
〃	Cold	Complete	4.34^{b}	5.18^{abc}
〃	〃	Half	4.3^{b}	4.14^{bcde}
WPM	Control	Complete	4.12^{b}	4.24^{bcde}
〃	〃	Half	3.46^{bc}	4.9^{bcde}
〃	GA_3	Complete	1.34^{bc}	4.82^{bcde}
〃	〃	Half	0.74^{c}	4.36^{bcde}
〃	Cold	Complete	2.94^{bc}	4.68^{bcde}
〃	〃	Half	2.76^{bc}	4.36^{bcde}

در هر ستون میانگین‌ها با حرف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ دارند

Means followed by different in letters in the same column Shetabboshehri are significantly different at P=0/01

شکل ۲: نرخ بسیار پایین جوانه‌زنی بذور فندق در شرایط برون‌شیشه‌ای

Fig. 2: The low numbers of seed germination of hazelnut in *In Vivo* condition

جدول ۵: مقایسه میانگین کشت برون‌شیشه‌ای و درون‌شیشه‌ای روی صفت درصد جوانه‌زنی در گیاه فندق
Table 5: Mean comparison of I*n Vitro* and I*n Vivo* culture of hazelnut (*Corylus avellana* L.) on percentage of seed germination

تیمار Treatment	درصد جوانه‌زنی % Germination
کشت برون‌شیشه‌ای بذر با پوسته چوبی *In vivo* culture of seeds with seed coat	5^{b}
کشت برون‌شیشه‌ای بذر بدون پوسته چوبی *In vivo* culture of seeds without seed coat	3.33^{b}
کشت درون‌شیشه‌ای بذر کامل *In vitro* culture of complete seeds	56.66^{a}

در هر ستون میانگین ها با حرف متفاوت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ دارند.
Means followed by different in letters in the same column Shetabboshehri are significantly different at P=0/01

بحث

نتایج تحقیقات در زمینه جوانه‌زنی بذور گیاهان مختلف نشان داده است که جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای در مقایسه با شرایط برون‌شیشه‌ای روند سریع‌تری داشته و از درصد جوانه‌زنی بالاتری نیز برخوردار است *جرجی* و *نیسن* (George and Nissen, 1987)، *باتاکاریا* و *کوسپی* (Bhattacharya and Khuspe, 2001)، *پادیلا* و *انسینا* (Padilla and Encina, 2003)، که با نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت دارد. بنابراین در گیاهانی که تکثیر آن‌ها از طریق بذر، در شرایط برون شیشه‌ای، به‌سختی انجام می‌شود، استفاده از شرایط درون‌شیشه‌ای می‌تواند روش مناسبی برای افزایش درصد جوانه‌زنی و تسریع سرعت آن محسوب شود.

دما، نور، خیساندن بذور، GA_3، حذف پوسته بذر و نصف کردن بذور، عواملی هستند که بر روی جوانه‌زنی بذور گیاهان مختلف در شرایط درون‌شیشه‌ای و برون‌شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفته‌اند *آگراوال* و *رام*؛ *باتاکاریا* و *کوسپی* (2001)؛ *پادیلا* و *انسینا* (2003)؛ *هارتینی* و *جولانگ*؛ *جوریزا* و همکاران؛ *کومار* و همکاران (Agrawal and Ram, 1995; Hartinie and Jualang, 2007; Güleryüza *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2011). پیش‌تیمار سرمایی بذور، روش مؤثری برای کاهش دوره خواب در بسیاری از گونه‌ها به‌خصوص گونه‌های مناطق معتدله می‌باشد *باسکین* و *باسکین* (Baskin and Baskin, 1998, 2004).مطالعات نشان داده است که سرما و همچنین نور از طریق فعال کردن بیوسنتز اسیدجیبرلیک از جمله در گیاه فندق، باعث تحریک جوانه‌زنی می‌شوند *رز* و *بردبیر*؛ *پنفیلد* و همکاران (Ross and Bradbeer, 1968; Penfield *et al.*, 2005). در واقع عواملی مانند سرما باعث افزایش رونویسی ژن‌های GA_3 اکسیداز می‌شوند، که آنزیم نهایی مسیر بیوسنتز اسیدجیبرلیک را کنترل می‌کنند *اگاوا* و همکاران؛ *یاماچی* و همکاران (Ogawa *et al.*, 2003; Yamauchi *et al.*, 2004). همچنین نتایج به‌دست آمده از سایر تحقیقات نشان داده که در گیاه ژن‌های مانند PIL5 و SPT وجود دارند که محصول آن‌ها مانع جوانه‌زنی بذور می‌شود و سرما با سرکوب کردن بیان این ژن‌ها، باعث رونویسی ژن‌های بیوسنتزکننده اسیدجیبرلیک و در نهایت جوانه‌زنی بذور می‌شود *تاسیانتیس* (Tsiantis, 2005). بررسی تولید جیبرلین‌ها بر اثر سرما، در لپه‌ها و محور جنینی بذور فندق، نشان داده است که بیوسنتز جیبرلین‌ها بیشتر در محور جنینی صورت می‌گیرد *جارویس* و *ویلسون* (Jarvis and Wilson, 1977)، بنابراین جوانه‌زنی در بذور نیمه نیز می‌تواند بدون مشکل انجام شود، که با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر جوانه‌زنی نسبتاً خوب بذور نیمه مطابقت دارد.

در پژوهش حاضر پیش‌تیمار اسیدجیبرلیک (GA_3) با غلظت و شرایط به‌کار برده شده اثر مثبتی روی جوانه‌زنی بذور فندق نداشت. اگرچه از اسیدجیبرلیک برای شکستن خواب بذور و نیز افزایش جوانه‌زنی بذور فاقد دوره خواب در گونه‌های مختلف گیاهی استفاده شده است *تول- جابز* و همکاران؛ *دیسانیاک* و همکاران (Toll-Jubes *et al.*, 1975; Dissanayake *et al.*, 2010) در بعضی از موارد نیز GA_3 تأثیر مثبتی روی جوانه‌زنی نداشته است *کنورسا* و همکاران (Conversa *et al.*, 2010). هم چنان‌که در مطالعه‌ای که در ارتباط با تولید جیبرلین‌ها در بذور فندق صورت گرفته است، مشخص شده جیبرلین A_1 موجب شکستن خواب بذر شده و نسبت به جیبرلین A_3 تاثیر بیشتری در سرعت جوانه‌زنی و همچنین رشد محور جنینی داشته است (*جارویس* و *ویلسون*، 1977).

مطالعاتی روی جوانه‌زنی بذور نصف شده در گیاهان مختلف انجام شده که با افزایش درصد جوانه‌زنی همراه بوده است *ماین* و همکاران؛ *تزوکا* و همکاران (Mian *et al.*, 1995; Tezuka *et al.*, 2012)، اما نتایج آزمایش حاضر نشان داد که اگرچه نصف

کردن بذور فندق نیز می‌تواند جوانه‌زنی را افزایش دهد، اما اثر منفی در رشد ریشه و نوساقه دارد. تحقیقات گوناگونی در زمینه ریزازدیادی گیاهان مختلف، تأثیر مثبت استفاده از Fe-EDDHA را به‌عنوان منبع آهن، بر رشد گیاه گزارش کرده‌اند (*ون‌درسالم* و همکاران؛ *کیکوتی* و همکاران؛ Van der Salm *et al.*, 1994; Ciccotti *et al.*, 2008)، همچنان‌که در ریزازدیادی فندق نیز استفاده از Fe-EDDHA به‌جای Fe-EDTA موجب بهبود پرآوری نوساقه فندق و افزایش تعداد گره‌ها و کاهش زردی برگ‌ها شده است (*یو و رید*، 1995؛ *والتر* Walter, 2011).

پژوهش حاضر برای اولین مرتبه جوانه‌زنی فندق را در شرایط درون‌شیشه‌ای بررسی کرد و نشان داد که جوانه‌زنی بذور فندق در تاریکی صورت گرفته و شرایط درون‌شیشه‌ای نسبت به شرایط برون‌شیشه‌ای موجب افزایش درصد جوانه‌زنی بذور و تسریع آن می‌گردد. همچنین بررسی تعدادی از عوامل نشان داد که پیش‌تیمار سرمایی درصد جوانه‌زنی بذور فندق را افزایش می‌دهد، ضمن اینکه ترکیب محیط‌کشت در رشد و توسعه گیاهچه‌های فندق نیز حائز اهمیت است. بنابراین از پتانسیل کشت درون‌شیشه‌ای می‌توان جهت تسریع تولید پایه‌های بذری جهت برنامه‌های اصلاحی و نیز انجام سلکسیون‌های زود هنگام درون‌شیشه‌ای و نیز تکثیر این گیاه استفاده نمود.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۲۰-۲۱ متن انگلیسی مراجعه شود.