حفاظت انجمادی بذر گیاه کاسنی(*Cichorium Intybus* L.) به روش Vitrification

محسن منصوری*[1]. خدیجه مرزبانی[2] . فاطمه مردانپور[3]

۱، ۲و ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشگاه آ زاد اسلامی واحد کرمانشاه

* نویسنده مسئول : محسن منصوری mhsnmansouri@gmail.com

چکیده

کاسنی یک گیاه دارویی است که دارای خواص زیادی زیادی بوده و عمدتا به وسیله بذر تکثیر می شود . تکنیک حفاظت انجمادی یک روش سودمند برای نگهداری بذور این گیاه می باشد. شیشه ایی شدن یک روش ساده و سریع برای حفاظت انجمادی است که از تشکیل کریستال های یخ در حین انجماد جلوگیری می کند . این آزمایش در سه تکرار با دو فاکتور محلول های آبگیری در ۴ سطح (محلول های S_1 , S_2 , S_3 , PVS2) و زمان های آبگیری از بذور قبل از فرایند انجماد (۴ – ۹۰ – ۱۳۵ – ۱۸۰ و ۲۲۵ دقیقه) برروی بذر گیاه کاسنی درطرح فاکتوریل درقالب مربع کامل تصادفی (RCBD) انجام شد. در این آزمایش شاخص های کمی درصد جوانه زنی (درصد زنده ماندن GP) ، سرعت جوانه زنی(RG) ، متوسط جوانه زنی روزانه (MDG) و متوسط زمان لازم برای جوانه زنی بذور (MTG) محاسبه شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که نوع محلول و زمان آبگیری در فرایند شیشه ایی شدن و حفاظت انجمادی گیاه کاسنی در شاخص های مورد ارزیابی موثر می باشد . براساس نتایج مقایسات میانگین بیشترین GP ,RG , MDG و MTG در محلول S2 مشاهده گردید و قرار گرفتن بذور به مدت ۹۰ – ۱۸۰ دقیقه سبب افزایش این شاخص ها گردید . محلول آبگیری S2 همراه با زمان های ۱۳۵و ۹۰ دقیقه ایی آبگیری بیشترین تاثیر را در درصد و سرعت جوانه زنی ، متوسط جوانه زنی روزانه دارد.

واژگان کلیدی: کاسنی ، حفاظت انجمادی ، شیشه ای شدن ، محلول های آبگیری

حفاظت انجمادی تکنیکی موفق و موثر جهت نگهداری ژرم پلاسم گیاهی است در این تکنیک مواد گیاهی (جوانه ها ، مریستم ، سلول ها ، جنین های سوماتیکی و زایگوتی) در نیتروژن مایع در دمای ۱۹۶- درجه سانتی گراد قرار داده می شود . افت سریع دما و انجماد در این تکنیک سبب متوقف شدن تقسیم سلول و دیگر فعالیت های متابولیکی در بافت های گیاهی می شود .(Lambardi و Panis. 2005) نگهداری و ذخیره مواد گیاهی در این تکنیک به گونه ایی انجام می شود که قابلیت زنده ماندن مواد گیاهی پس از خروج از نیتروژن مایع حفظ شود (Towill , 199) . این تکنیک یک روش سودمند و کم هزینه برای نگهداری بذورو اندام های گیاهی می باشد . هدف از این مطالعه تعیین محلول و زمان آبگیری مناسب جهت حفاظت انجمادی بذور گیاه دارویی کاسنی به روش شیشه ایی شدن می باشد .

مواد و روش ها :

این آزمایش در سه تکرار با دو فاکتور محلول های مختلف آبگیری در ٤ سطح (محلول های S_1 , S_2 , S_3 , PVS2) و زمان های مختلف آبگیری از بذور قبل از فرایند انجماد (٤ – ٩٠ – ١٣٥ – ١٨٠ و ٢٢٥ دقیقه) برروی گیاه کاسنی درطرح فاکتوریل درقالب مربع کامل تصادفی (RCBD) انجام شد . محلول های آبگیری شامل محلول S_1 که حاوی ٢٥٪ وزنی حجمی گلیسرول به علاوه ١٥٪ مول ساکارز ، محلول S_2 که حاوی ٢٥٪ وزنی حجمی گلیسرول و ٧٥٪ مول ساکارز و محلول S_3 که شامل ٢٥٪ وزنی حجمی گلیسرول همراه با ٢٥٪ از مول ساکارز و محلول PVS2 (plant vitrification solution2) که شامل ٣٠٪ وزنی حجمی گلیسرول همراه با ١٥٪وزنی حجمی پلی اتیلن گلایکول ، ١٥٪ دی متیل سولفوکسایدهمراه با ٠.٤ مول ساکارز در محیط پایه MS می باشد . در این آزمایش شاخص های کمی درصد جوانه زنی (درصد زنده ماندن GP) ، سرعت جوانه زنی(RG) ، متوسط جوانه زنی روزانه (MDG) و متوسط زمان لازم برای جوانه زنی بذور (MTG) بر اساس فرمول های زیر محاسبه گردید . تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده ها به روش دانکن با استفاده از نرم افزار های MSTATC , SPSS انجام گردید.

$$GP = \frac{\Sigma g}{\Sigma n}$$

در این رابطه ∑gتعداد بذور حوانه زده،و∑n تعداد کل بذرها است.(scottو همکاران ١٩٨٤)

$$RS = \frac{\Sigma(nd)}{\Sigma d}$$

∑nd مجموع تعداد بذور جوانه زده در هر روز شمارش،و∑d تعداد روز تا آن شمارش است.

$$MTG = \frac{\Sigma(nd)}{\Sigma n}$$

در این رابطه: n ،تعداد بذور جوانه‌زده در طی d روز،d تعداد روزها از ابتدا جوانه زنی و∑n کل تعداد بذور جوانه‌زده می‌باشد.(١٩٦٢و Maguire)

$$\mathrm{MDG} = \frac{\mathrm{FGP}}{\mathrm{d}}$$

در این رابطه FGP درصد جوانه‌زنی نهایی (قوه نامیه) و d تعداد روز تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی (طول دورهٔ آزمایش) می‌باشد.(موراشیگ و اسکوک، ١٩٦٢)

نتایج و بحث :

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی داری بین محلول های مختلفی که برای آبگیری از بذور استفاده شد در تمامی شاخص های مورد ارزیابی وجود دارد و نیز بین زمان های مختلف آبگیری از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود دارد . بنابراین با توجه به نتایج Towill , penny cooke (٢٠٠٠) و جدول ١ می توان بیان کرد که نوع محلول آبگیری و زمان آبگیری در فرایند شیشه ایی شدن و حفاظت انجمادی موثر می باشد . با توجه به معنی دار بودن اثر محلول ها و زمان های مختلف آبگیری در شاخص های MDG , RG, GP و MTG می توان بیان کرد که نوع محلول ها و زمان های مختلف آبگیری از بذور قبل از فرایند انجماد در شاخص های مذکور موثر می باشند .

جدول ١ –تجزیه واریانس شاخص ها بر اساس فاکتورها

میانگین

منابع تغییرات	مربعات			
	درصد جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	متوسط روز برای جوانه زنی	متوسط زمان لازم برای جوانه زنی
محلول های آبگیری	۱۱۰۶/ ۸٤**	۳۸/۳۳۷**	۷/٦۸٦**	۰/۹۸۷**
زمان های آبگیری	٤٦٥/۷۳۳**	۲۳/۱۰۰**	۳/۲۲٤**	۲/۷۳٤**
اثر متقابل محلول با زمان های آبگیری	۲۳٤/٦۲۲*	۸/٦٤٤*	۱/٦۲۹*	۰/۹٤٤ns
خطا	۱۱۷/٦۰۰	٦/۰٦۱	۰/۸۱۷	۰/۷۰۲
ضریب تغییرات	۲۱/۹۲٪	۲۸/۰٤٪	۲۱/۹۲٪	۱٦/۸۸٪

* و ** : به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

بعد از انجام مقایسات میانگین به روش دانکن مشخص گردید بین محلول های مختلف آبگیری در شاخص های GR , GP , MDG و MTG اختلاف معنی داری وجود دارد به گونه ایی که بیشترین درصد جوانه زنی ، سرعت جوانه زنی ، متوسط جوانه زنی روزانه و متوسط زمان لازم برای جوانه زنی در محلول S2 که حاوی ۲۵٪ وزنی حجمی گلیسرول ۰/۷۵ مول ساکارز در محیط پایه MS و کمترین GP , GR , MDG , MTG مربوط به محلول های S1,S3 می باشد . براساس نتایج فوق محلول آبگیری S2 نسبت به سایر محلول ها مناسب تر می باشد این محلول به دلیل وجود مقدار بالای ساکارز (۷۵٪ مول) نسبت به سایر محلول ها دارای قدرت آبگیری بالاتری می باشد . اما در محلول های S1 , S3 که به ترتیب حاوی ۱۵/ ۰ و ۰/۲۵ ساکارز می باشند . در این محلول ها قدرت آبگیری کمتر بوده همین امر سبب کاهش درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی در این محلول ها نسبت به محلول های دیگر می شود . کمترین GP , GR , MDG زمانی مشاهده گردید که بذور۴۵ دقیقه درمحلول های آبگیری قرار گرفته اند . قرار گیری بذور در محلول ها به مدت ۹۰ تا ۱۸۰ دقیقه جهت فرایند آبگیری سبب افزایش GP , GR , MDG در بذور کاسنی گردید. پس از انجام مقایسات میانگین مشاهده گردید که محلول آبگیری S2 همراه با زمان های ۱۳۵و ۹۰ دقیقه ایی آبگیری بیشترین تاثیر را در درصد و سرعت جوانه زنی ، متوسط جوانه زنی روزانه دارد . محلول S3 که حاوی ۲۵٪ وزنی حجمی گلیسرول و ۲۵٪ ساکارز می باشد همراه با ابگیری و بذور به مدت ٤۵ دقیقه نسبت کمترین درصد جوانه زنی MDG , GR , GP گردید . بنابراین جهت حفاظت انجمادی بذور گیاه کاسنی به روش شیشه ایی شدن محلول S2 که حاوی ۲۵٪ وزنی حجمی گلیسرول و ۷۵٪مول ساکارز در محیط پایه می باشد همراه با آبگیری از بذور به مدت ۱۳۵و ۹۰ دقیقه مناسب تر از سایر محلول ها و زمان ها می باشد .

منابع

Langis R, Schnable B, Earle ED, Steponkus PL (1989) Cryopreservation of *Brassica campestris* L. cell suspensions by vitrification. *Cryo-Letters* 10, 421-8.

Maguire, J. D. 1962. Seed of germination – aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour .*Crop Science*., 2: 176-177

Cryopreservation of *Cichorium Intybus* L. seeds by vitrification

M. Mansouri[1*], K. Marzbani[2], F. Mardanpoo[3]

1, 2, 3_ Islamic Azad University, Kermanshah, Iran

*Corresponding author. E-mail: mhsnmansouri@gmail.com

Abstract

Cichorium Intybus L. is a medicinal plant that it has high medical effects, generally this plant reproduction with seed. Cryopreservation is an effective method for the preservation of this plant. Vitrification is a simple and fast method for cryopreservation that this method prevents from the crystallization during freezing. The experimental layout was a factorial exprement with two factors that was involved dehydration of solution with 4 levels (S_1, S_2, S_3 and PVS_2) and dehydration of times from seed before freezing with 5 levels (45, 90, 135, 180 and 225 min). Factorial experiment was based on randomized complete blocks design with three replications. In this experiment 4 indexes were evaluated that were consisted germination percentage(GP), rate germination(RG), medial of time germination(MTG) and medial of day germination(MDG). The result of analysis of variance showed that kind of dehydration solution and times were effective in vitrification and cryopreservation processes in evaluated indexes at *Cichorium Intybus* L. According to the result of comparison of means the highest of GP, RG, MTG and MDG was observed in S_2 solution and when the seeds were inserted duration 90-180 min in the dehydration solution, there was caused to increasing of these indexes. S_2 solution with 90 and 135 min had highest effect in GP, RG and MDG.

Key words: ***Cichorium Intybus* L., cryopreservation, vitrification, dehydration solution**