

اثرهای ترکیب و ضخامت داندرون بر تنژگی و قابلیت استقرار بذر کپسوله موز^۱

Effects of Endosperm Composition and Thickness on Encapsulated Seed Germination and Plantlet Sustainability in Banana

لیلا سعیدآوی و علی سلیمانی^{۲*}

چکیده

بذرهای کپسوله موز رقم 'دووارف کاوندیش'^۳ از راه پوشش‌دار کردن نوک شاخساره^۴ رشد یافته در محیط درون شیشه، توسط داندرون (آندوسپرم) مصنوعی حاصل شدند. در این پژوهش، تأثیر نوع (تک لایه یا دو لایه) و ترکیب (دارای زغال فعال یا بدون زغال فعال) داندرون مصنوعی بر ویژگی‌های درصد تنژگی، تعداد شاخساره پراوری شده به ازای هر بذر، طول شاخساره، تعداد ریشه‌های تولید شده در هر شاخساره، طول ریشه و وزن تر گیاهچه‌های حاصل بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار در سال ۱۳۹۱ اجرا شد. نتیجه‌های به دست آمده نشان داد، بذرهای کپسوله تک لایه که دارای زغال فعال بودند، زودتر تنژیدند و از بالاترین درصد تنژگی، تعداد پراوری، طول شاخساره، تعداد ریشه، طول ریشه و وزن تر گیاهچه برخوردار بودند. گیاهچه‌های حاصل از این بذرها پس از انتقال به محیط بیرون استقرار مناسبی از خود نشان دادند. استفاده از داندرون تک لایه (بدون زغال فعال) باعث تأخیر در تنژگی، کاهش رشد، قابلیت استقرار و سازگاری اولیه گیاهچه‌ها در شرایط غیر درون شیشه‌ایی شد.

واژه‌های کلیدی: داندرون مصنوعی، زغال فعال، گیاهچه، محیط کشت، موز.

مقدمه

موز یکی از مهم‌ترین محصولات باغی است که در بیش از ۱۰۰ کشور جهان به ویژه بخش‌های گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت و کار می‌شود و از عمده‌ترین میوه‌های مصرفی در سبد کالای هر خانواده به شمار می‌آید. موزهای خوراکی بیشتر نازا هستند و از راه بکرزایی میوه‌های بدون بذر تولید می‌کنند. بنابراین امکان افزایش جنسی این گیاه از راه بذر ممکن نیست (۵). افزایش موز به روش‌های سنتی و از راه پاجوش صورت می‌گیرد و بیشتر گیاهانی که برای افزایش انتخاب می‌شوند، توسط کشاورزان گزینش شده‌اند. تداوم چنین برنامه‌ای موجب انتقال آلودگی‌های پایه مادری به گیاهان افزایش یافته می‌شود و در دراز مدت احتمال نابودی ژرم پلاسماهای اندک موجود نیز بالا می‌رود (۱۳). استفاده از فناوری کشت بافت، امکان تولید تعداد بیشتری از گیاهان بدون آلودگی را در زمان و فضای محدود میسر می‌سازد. علاوه بر این، برای تولید گیاهان جدید به ماده‌های مادری کمتری نیاز است. در این روش به دلیل رشد یکنواخت، نهال‌های حاصل پس از انتقال به زمین رشد هماهنگ و یکسانی دارند و مرحله‌های گلدهی و محصول‌دهی همزمانی خواهند داشت. همچنین می‌توان با اعمال تنش‌های غیرزیستی مدیریت شده در محیط درون شیشه، به گیاهان متحملی دست یافت که پس از انتقال به محیط بیرون

۱- تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۹

۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار علوم باغبانی، دانشگاه زنجان.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (asoleimani@znu.ac.ir)

Shoot tip -۴

'Dwarf Cavendish' -۳

سازگاری بهتری از خود نشان می‌دهند (۱۳). امروزه تکمیل صنعت تولید گیاهان از راه کشت بافت با استفاده از سیستم بذرهای کپسوله به دلیل برخورداری از مزیت‌های متعدد، جایگاه ویژه‌ای دارد. سهولت حمل و نقل ریزنمونه‌ها، امکان نگهداری بذرها در یخچال، حفظ و نگهداری بذرهای کپسوله لاین‌های دورگ و گزینش شده در ازت مایع و قابلیت استقرار بهتر ریزنمونه‌های کپسوله در شرایط مزرعه‌ای از مزیت‌های استفاده از این سیستم می‌باشد (۱۴).

بذرهای کپسوله از غوطه‌ور نمودن رویان‌های رویشی یا اندام‌های رویشی مانند نوک شاخساره یا جوانه‌های جانبی گیاه در ماده‌های هیدروژل از قبیل آلژینات پتاسیم، آلژینات سدیم، آگار، ژلرایت، پکتات سدیم، اتیلن گلیکول، دی متیل سولفوکسید (DMSO)^۱، آگار و غیره حاصل می‌شوند. در این بین استفاده از آلژینات سدیم به دلیل برخورداری از ویژگی‌های ژله‌ای مناسب، شکنندگی مناسب پوشش و خروج راحت‌تر گیاهچه‌ها و سمیت خیلی کم آن برای رویان‌ها متداول‌تر است (۴). استفاده از آلژینات سدیم گندزدایی شده به همراه پیش تیمار بذرهای گندم و کلم در محلول کلرید کلسیم، باعث بهبود کیفیت داندرون^۲ و پوشش مصنوعی ایجاد شده، شد (۱۱).

افزایش از راه بذرهای مصنوعی دارای رویان‌های رویشی در برخی از گونه‌های گیاهی از جمله موز به دلیل نازایی میسر نیست. در صورت استفاده از روش رویان‌زایی رویشی نیز احتمال وقوع تنوع رویشی به دلیل باززایی غیرمستقیم گیاهان از راه پینه‌زایی بالاست. بنابراین برای افزایش سریع این گیاهان تنها از بذرهایی استفاده می‌شود که از راه کپسوله کردن اندام رویشی از جمله نوک شاخساره یا جوانه‌های جانبی به وجود آمده‌اند (۱۴). تولید بذرهای کپسوله از راه غوطه‌وری اندام‌های رویشی برای گیاهان معدودی موفقیت آمیز بوده است (۹). امروزه برای بهبود قدرت رویشی و استقرار گیاهچه‌ها در ترکیب بافت خورش مصنوعی از زغال فعال استفاده می‌شود (۵). به عنوان مثال، ریز قلمه‌های موز، هل، توت و تمشک که با بافت خورش دارای زغال فعال کپسوله شده بودند، پس از انتقال به محیط بیرون ریشه‌های نابجای قابل توجهی تولید کردند (۲، ۳).

عامل‌های بسیاری بر قابلیت استقرار و قدرت رویشی گیاهان حاصل از بذرهای کپسوله اثر دارند (۱۰). برای مثال اضافه نمودن ترکیب‌های قارچ‌کش و آنتی بیوتیک و یا ماده‌های غذایی به ترکیب بافت خورش، استقرار و رشد بعدی شاخساره‌ها را بهبود بخشید (۵). در این پژوهش، اثر ترکیب و تعداد لایه‌های تشکیل دهنده بافت خورش مصنوعی بر تنژگی نوک شاخساره‌های کپسوله شده و قابلیت استقرار و سازگاری اولیه گیاهچه‌های موز رقم 'دووارف کاوندیش' در مرحله انتقال از درون شیشه مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

تهیه ماده‌های گیاهی

گیاهچه‌های موز رقم 'دووارف کاوندیش'، پس از تهیه از مؤسسه خصوصی کشت بافت و بیوتکنولوژی حسامی (کرج - ایران)، به آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه زنجان منتقل شدند و به منظور پرآوری در اندازه‌های تقریبی ۳-۵ سانتی‌متر به صورت گندزدایی شده در داخل ظرف‌های کشت مربایی در محیط نیمه جامد MS (۸) تغییر یافته کشت شدند. محیط کشت شامل عنصرهای غذایی پرمصرف، کم‌مصرف، ۷/۴ گرم در لیتر Na₂EDTA، ۵/۵۷ گرم در لیتر Fe₂SO₄، ۳٪ ساکاروز و چهار گرم در لیتر آگار بود. قبل از انجام اتوکلاو ۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین (BA) و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون ایندول استیک اسید

(IAA) و ویتامین‌های گلایسین (۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، نیکوتینیک اسید (۵ میلی‌گرم در لیتر)، پیروکسین-هیدروکلرید (۵ میلی‌گرم در لیتر) تیامین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و میواینوزیتول (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به محیط اضافه شد. pH محیط کشت روی ۵/۷ تنظیم و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شد. ریزشاخساره‌های زیر کشت شده، در اتاقک رشد با میانگین دمای روز 25 ± 1 و دمای شب 22 ± 1 درجه سلسیوس و شدت نور ۱۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه و نورگاه ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگهداری شدند.

تهیه بذر کپسوله

بذرهای کپسوله از غوطه‌ور ساختن ریزنمونه‌های حاصل از کشت نوک شاخساره به طول تقریبی چهار میلی‌متر در محلولی که بدین منظور آماده شده بود، تشکیل شدند (۵). ترکیب محلول همان ترکیب محیط کشت نیمه‌جامد MS بدون تنظیم کننده رشد گیاهی بود که قبل از اتوکلاو به آن ۴٪ آلژینات سدیم اضافه شد. سپس ریزنمونه‌های آغشته به محلول کپسوله، به وسیله سمپلر به طور جداگانه از محلول خارج و در محلول ۷۵ میلی‌مولار کلرید کلسیم به مدت ۳۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. برای زدودن باقی مانده محلول کلرید کلسیم از بذرهای نمونه‌ها سه مرتبه و هر مرتبه به مدت ۵ دقیقه در محیط کشت MS مایع، شستشو شدند. برای تهیه بذرهای کپسوله تک لایه دارای زغال فعال، در ترکیب محلول کپسوله به مقدار ۲ گرم در لیتر زغال فعال به کار برده شد. در نهایت بذرهای کپسوله تک لایه با قطر حدود ۶ میلی‌متر به دست آمد (شکل ۱-الف). برای تهیه بذرهای کپسوله دو لایه، تعدادی از بذرهای کپسوله تک لایه بدون زغال فعال و تعدادی از بذرهای کپسوله تک لایه دارای زغال فعال، دوبار در محلول کپسوله غوطه‌ور و در محلول ۷۵ میلی‌مولار کلرید کلسیم به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شدند. بدین ترتیب بذرهای کپسوله دو لایه با قطر تقریبی ۹ میلی‌متر به دست آمد (شکل ۱-ب). به منظور خشک کردن، بذرهای کپسوله حاصل تک لایه و دو لایه در پتری دیش‌های دارای ماده جذب کننده رطوبت (HMS^۱)، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند (شکل ۲).

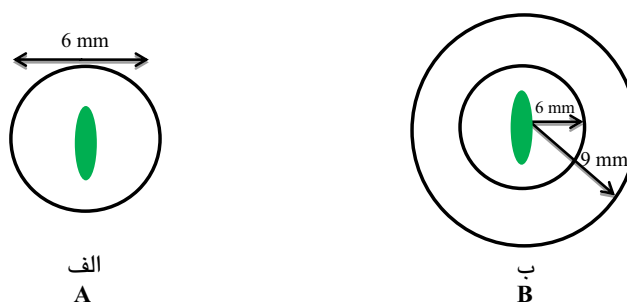


Fig. 1. Schematic figure of cross section of encapsulated seed (A): single layer (B): two layers with explants in the center.

شکل ۱- تصویر شماتیک از مقطع عرضی بذر کپسوله (الف): تک لایه (ب): دو لایه.

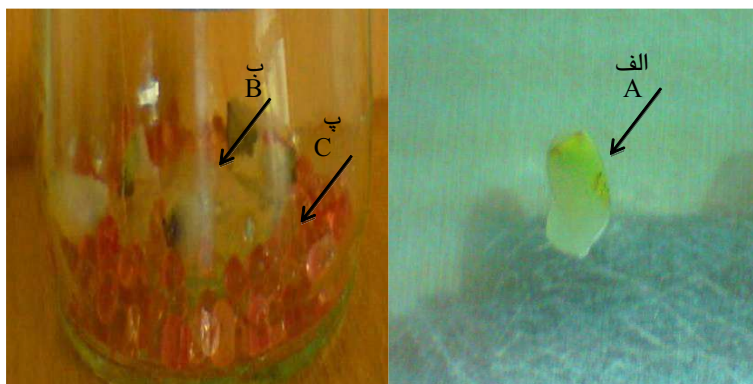


Fig. 2. Encapsulated seeds: (A) undried seeds (B) drying seeds (C) hygroscopic molecular sieve (HMS).

شکل ۲- بذره‌های کپسوله: (الف) بذره‌های خشک نشده (ب) بذره‌های در حال خشک شدن (پ) جذب کننده رطوبت HMS.

بعد از یک ماه نگهداری بذره‌های کپسوله در شرایط تاریکی و دمای ۱۲ درجه سلسیوس، تنژگی و بازایی بذره‌های کپسوله شده در محیط کشت MS نیمه جامد دارای تنظیم کننده‌های رشد به مقدار ۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA به مدت ۸ هفته ارزیابی شد. درصد تنژگی یا به عبارتی شکاف کپسول و خروج ریزنمونه، تعداد پرآوری شاخساره به ازای هر بذر، تعداد ریشه به ازای هر شاخه، طول ریشه و طول شاخساره در فاصله‌های زمانی هر هفته ارزیابی شد. وزن تر گیاهچه‌ها نیز در پایان مدت آزمایش برآورد شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با تیمار تعداد لایه (فاکتور الف) در دو سطح تک لایه (a_۱) و دو لایه (a_۲) و ترکیب بافت خورش مصنوعی (فاکتور ب) در دو سطح دارای زغال فعال (b_۱) و بدون زغال فعال (b_۲) اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹ و مقایسه میانگین نمونه‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

ارزیابی قابلیت استقرار گیاهچه‌های حاصل

به منظور ارزیابی مقدماتی قابلیت استقرار و سازگاری گیاهچه‌ها در مرحله انتقال و کشت در شرایط غیر درون شیشه‌ای، گیاهچه‌های حاصل از کشت بذره‌های کپسوله به گلدان‌هایی با نسبت حجمی ۱:۲ پیت و ماسه منتقل و به مدت یک ماه در شرایط نوری و دمایی آزمایشگاه با تأمین رطوبت نسبی حدود ۷۰٪ رشد یافتند. ارزیابی وضعیت استقرار و رشد به صورت مشاهده‌ای بود.

نتایج و بحث

اگرچه خشک نمودن^۱ بذره‌های کپسوله با استفاده از HMS جزو تیمارهای آزمایشی مطالعه حاضر نبود، اما مشاهده روند تأثیر این عمل نشان داد که سرعت تنژگی بذره‌های کپسوله موز با خشک کردن سریع می‌شود. به طوری که اولین تنژگی برای بذره‌های خشک نشده و شده، به ترتیب پس از گذشت ۶ و ۴ روز از کشت، مشاهده شد (شکل ۳). زمان شکاف خوردن کپسول و خروج ریزنمونه‌ها در بذره‌های کپسوله دو لایه به تقریب ۴ تا ۵ روز دیرتر از بذره‌های کپسوله تک لایه بود. خشک کردن با کاهش مقدار آب بافت خورش باعث افزایش خاصیت شکنندگی کپسول و قدرت جذب آب بذرها پس از قرار گیری در محیط کشت می‌شود و سرعت تنژگی بذرها را بهبود می‌دهد (۶). خشک کردن بذره‌های کپسوله بر سایر ویژگی‌های مورد بررسی، اثر قابل توجهی نداشت.

بر اساس نوع فناوری مورد استفاده، دو نوع بذر مصنوعی خشک^۱ و مرطوب^۲ وجود دارد. بذرهای مصنوعی خشک آن دسته از بذرهای مصنوعی هستند که از راه کاهش رطوبت ریزنمونه‌های کپسوله شده از جنس Polyox^۳ در اتاقک‌های رشد مخصوص حاصل می‌شود. بر عکس، تولید بذرهای مصنوعی مرطوب، در گونه‌های گیاهی سخت‌کار^۴ و حساس به خشکیدگی کاربرد دارد و در آنها از کپسول‌های جنس هیدروژل استفاده می‌شود. بر این اساس بذرهای مصنوعی ایجاد شده در آزمایش حاضر با استفاده از هیدروژل آلزینات سدیم و کاهش رطوبت آنها با استفاده از HMS، به مفهوم بذرهای مصنوعی خشک مصداق تعریف بالا نمی‌باشد. تنها هدف از کاهش رطوبت بذرها در آزمایش حاضر کسب یک تجربه مشاهده‌ای از تأثیر آن در رشد بعدی آنها بود.

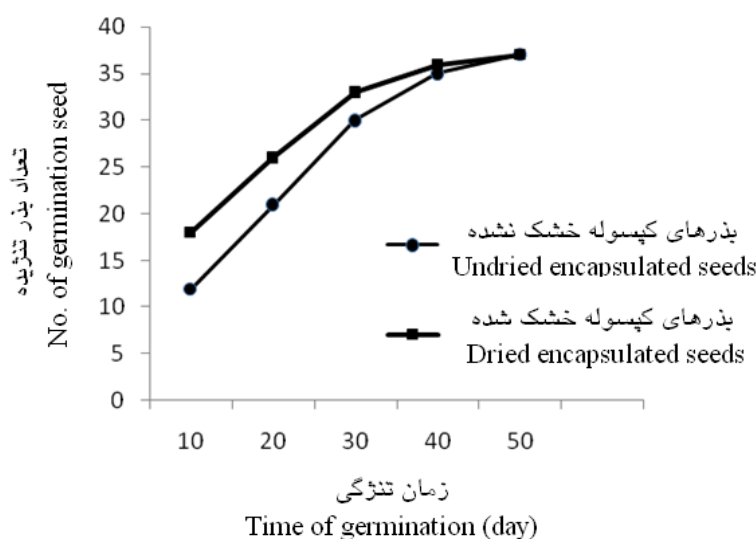


Fig. 3. Germination rate pattern of dried and undried encapsulated seeds of banana cv. 'Dwarf Cavendish'

شکل ۳- روند سرعت تنژگی بذرهای کپسوله خشک شده و خشک نشده موز رقم 'دووارف کاوندیش'.

بر اساس نتیجه‌ها، در صورت استفاده نکردن از زغال فعال در ترکیب کپسول، تیمار کپسول دو لایه تأثیر مثبت بیشتری در مقایسه با تیمار تک لایه بر بیشتر ویژگی‌های مورد بررسی داشت. به طوری که درصد تنژگی بذرها، تعداد پرآوری شاخساره به ازای هر بذر، تعداد ریشه و طول ریشه در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای دو لایه بدون زغال فعال بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تک لایه بدون زغال فعال بود (شکل ۴ و جدول ۱). مارویاما و همکاران (۷)، نشان دادند که باززایی و رشد ریزنمونه‌ها از بذرهای کپسول دو لایه در گیاه برگ بو بهتر از بذرهای تک لایه بود. به نظر می‌رسد کپسول دو لایه با ضخامت بیشتر نسبت به کپسول تک لایه، ذخیره‌های بیشتری از عنصرهای غذایی و ویتامین‌ها را در طول دوره نگهداری یک ماهه بذرهای کپسوله فراهم ساخته است. هر چند با نگهداری بذرهای کپسوله به مدت یک ماه در دمای ۱۲ درجه سلسیوس، انتظار فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رشدی زیادی از ریزنمونه‌ها نبود، اما حتی با در نظر گرفتن کمینه فعالیت‌ها به نظر می‌رسد کپسول دو لایه با ضخامت بیشتر نسبت به کپسول تک لایه، ذخیره‌های بیشتری از عنصرهای غذایی و ویتامین‌ها

Hydrate synseed -۲

Recalcitrant-۴

Desiccated synseed -۱

Polyoxyethylene glycol -۳

داشته است. تنها در مورد ویژگی‌های طول شاخساره و وزن تر گیاهچه بود که تیمار تک لایه بدون زغال فعال اثرهای مثبت بیشتری در مقایسه با تیمار دو لایه بدون زغال فعال نشان داد (جدول ۱). دلیل این موضوع ترکیبگی بهتر، خروج آسانتر و سریع‌تر ریزنمونه‌ها در تیمار کپسول تک لایه بدون در نظر گرفتن کاربرد یا بدون کاربرد زغال فعال می‌باشد. پژوهشگرها نشان دادند که تنژگی و باززایی رشد بذرهای مصنوعی حاصل از کپسول تک لایه ریزنمونه‌های شاخساره زیتون بهتر از کپسول دولایه بود (۹). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که هر چند کپسول تک لایه دارای زغال فعال در موز رقم 'هیندی' موجب باززایی و رشد مطلوب‌تر ریزنمونه‌ها در شرایط کشت درون شیشه‌ای می‌شود، با این حال کپسول دو لایه دارای زغال فعال در مقایسه با تک لایه شرایط مناسب‌تری را برای باززایی رشد ریزنمونه‌ها در شرایط کشت *Ex vitro* فراهم می‌سازد (۶). بر این اساس نوع ریزنمونه مورد استفاده برای تولید بذر مصنوعی، شرایط و زمان نگهداری بذرها قبل از کاشت، نوع و شرایط محیط کشت (*In vitro* و یا *Ex vitro*) از جمله عامل‌های تعیین کننده دقیق‌تر تعداد و ترکیب لایه‌های مورد استفاده برای تولید بذرهای کپسوله موز رقم 'دوارف کاواندیش' می‌باشد. نتیجه‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد زغال فعال در ترکیب بافت خورش مصنوعی باعث بهبود درصد تنژگی بذرهای کپسول تک لایه و دو لایه شد (جدول ۱). با این حال کاربرد زغال فعال در تیمار کپسول تک لایه اثرهای مثبت بیشتری روی تمام ویژگی‌های مورد مطالعه نشان داد (جدول ۱). ماده‌های سمی و مزاحم تولید شده بر اثر اتوکلاو محیط کشت از قبیل فورفورال^۱ و ۵-هیدروکسی متیل فورفورال^۲، بازدارنده‌های رقابتی و غیررقابتی، موجب اختلال در جذب سایر ترکیب‌های محیط کشت از قبیل ماده‌های قندی و عنصرهای غذایی هستند (۱). استفاده از زغال فعال در ترکیب بافت خورش به عنوان جاذب این گونه ماده‌های مزاحم محیط کشت، باعث افزایش سرعت جذب آب، ماده‌های قندی و عنصرهای غذایی می‌شود (۵).

بر اساس نتیجه‌های مطالعه حاضر، تیمار زغال فعال با تیمار تعداد لایه‌های کپسول برهمکنش داشت. به طوری که برخلاف اثرهای مثبت بیشتر تیمار کپسول دو لایه بدون زغال فعال نسبت به تک لایه بدون زغال فعال، استفاده از زغال فعال باعث کارآمدی بیشتر کپسول تک لایه شد (جدول ۱).

مولکول‌های اکسیژن موجود در گروه‌های کربونیل و کربوکسیل زغال فعال، به واسطه تشکیل پیوند با یون‌های کلسیم، موجب افزایش شکنندگی کپسول‌ها، افزایش تبادل‌های گازی و تنفس ریزنمونه‌ها و در نهایت جذب بهتر آب و ماده‌های غذایی می‌شوند (۷، ۹). همچنین تشکیل کمپلکس بین ساختارهای ملکولی آلزینات سدیم و زغال فعال موجب جذب ترکیب‌های فنلی موجود در محیط کشت می‌شود. بر این اساس نوسانات pH محیط در طول دوره رشد ریزنمونه‌ها کمتر و شرایط بهتری برای رشد فراهم می‌شود (۷). بیشترین طول شاخساره در تیمار تک لایه با زغال فعال به دست آمد (جدول ۱). این گیاهچه‌ها به دلیل برخورداری از شرایط فتوسنتزی و رشدی مناسب، ریشه بیشتر و بلندتری ایجاد کردند. این موضوع عامل بسیار مهمی در تضمین و تدوام رشد مناسب اندام‌های هوایی گیاه است به طوری که بیشترین طول شاخساره و وزن تر گیاهچه‌ها در این تیمار به دست آمد (جدول ۱).

ویژگی‌های متعددی از جمله قابلیت استقرار و سازگاری گیاهچه‌ها در مرحله انتقال و کشت در شرایط محیط بیرون، در انتخاب بهترین نوع و ترکیب پوشش برای تشکیل بذرهای کپسوله در گیاهان دخالت دارند (۱۰).

در مطالعه حاضر، گیاهچه‌هایی که از بذرهای تک لایه با زغال فعال حاصل شدند، به دلیل برخورداری از شرایط رشدی مطلوب‌تر اولیه و تعداد ریشه مناسب، پس از انتقال به گلدان‌های دارای پیت - ماسه نیز از قابلیت استقرار، زنده‌مانی و رشد مطلوب‌تر برخوردار بودند (شکل ۵). در تطابق با این موضوع مطالعه رویان‌های کپسوله حاصل از بافت پینه گیاه دارویی جگ^۱ با استفاده از هیدروژل آلژینات سدیم ۲/۵٪ نشان داد که گیاهچه‌های حاصل از بذرهای کپسوله که دارای رشد اولیه مناسب ریشه و شاخساره بودند، قابلیت استقرار و سازگاری مناسبی در بستر کشت دارای آمیخته اتوکلاو شده از پیت ماس و خاک داشتند (۱۲).

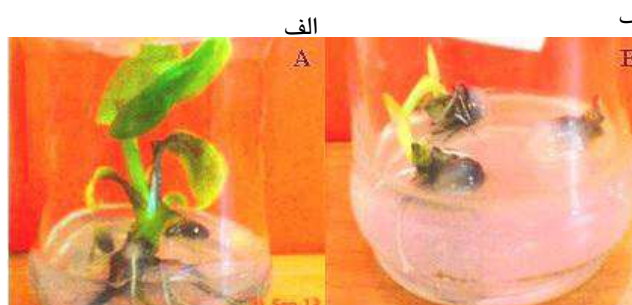


Fig. 4. Shoot length and root extension of explants obtained from capsulated seed of Banana after 21 days (A): single layer with activated charcoal (B): one layered without activated charcoal.

شکل ۴- طول گیاهچه و سیستم ریشه در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای کپسوله موز پس از بیست و یک روز (الف): بذر تک لایه دارای زغال فعال (ب): بذر تک لایه بدون زغال فعال.



Fig. 5. Plantlets obtained from banana capsulated seed in sand-perlite culture medium: (A) one layered with activated charcoal seed, (B) two layered with activated charcoal seed, (C) two layered without activated charcoal seed and (D) one layered without activated charcoal seed.

شکل ۵- گیاهچه‌های حاصل از بذرهای کپسوله موز در بستر کشت ماسه-پرلیت (الف) بذر تک لایه دارای زغال فعال (ب) بذر دو لایه دارای زغال فعال (پ) بذر دو لایه بدون زغال فعال (ت) بذر تک لایه بدون زغال فعال.

جدول ۱- اثر بافت خورش مصنوعی بر تنگی بذرهای کپسوله و رشد گیاهچه‌های موز رقم 'دوارف کاوندیش'.
Table 1. Effect of artificial endosperm on germination of encapsulated seed and growth of resulted plantlet in banana cv. 'Dwarf Cavendish'.

نوع بافت خورش Type of endosperm	وزن تر گیاهچه Plantlet fresh weight (gr)	طول ریشه Root length (cm)	تعداد ریشه / گیاهچه No. of root plantlet ^۱	طول شاخه Shoot length (cm)	تعداد پروآوری شاخساره / بذر No. of shoot proliferation seed ^۱	درصد تنگی Germination percentage (%)
تک لایه بدون زغال فعال Single layer without activated charcoal	0.63 b [†]	1.78 d	2.88 d	3.81 b	1.02 d	52.25 d
تک لایه با زغال فعال Single layer with activated charcoal	0.83 a	4.14 a	5.75 a	5.37 a	2.03 a	97.66 a
دو لایه بدون زغال فعال Two layers without activated charcoal	0.35 c	2.83 c	3.07 c	2.15 c	1.47 c	68.33 c
دو لایه با زغال فعال Two layers with activated charcoal	0.35 c	3.51 b	3.65 b	3.00 c	1.51 b	81.50 b

[†] Means with same letters in each column have no significant difference at the 5% probability level using Duncan multiple range test.
^۱ میانگین‌های با حرف‌های مشترک در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن ندارند.

نتیجه گیری

به نظر می‌رسد که خشک کردن بذرهای کپسوله موجب تسریع فرایند جذب آب و تنژگی بعدی آنها می‌شود، هر چند که تأیید و پیشنهاد قطعی این موضوع نیاز به پژوهش‌های بیشتر دارد. با توجه به مجموع ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، تیمار بافت خورش تک لایه دارای زغال فعال به عنوان مناسب‌ترین تیمار برای تولید بذرهای کپسوله موز رقم 'دووارف کاوندیش' از ریزنمونه‌های نوک شاخساره پیشنهاد می‌شود. البته در این پیشنهاد باید به این نکته توجه داشت که در مطالعه حاضر تنژگی و باززایی رشد بذرهای کپسوله در شرایط *in vitro* بوده و کاربرد مستقیم آنها در شرایط *ex vitro* نیاز به پژوهش بیشتری دارد. همچنین بر اساس مشاهدات، گیاهچه‌های حاصل از کپسول تک لایه دارای زغال فعال در صورت انتقال به بستر کشت ماسه - پرلیت به دلیل برخورداری از سیستم ریشه و شاخساره‌ای مناسب، از قابلیت استقرار اولیه و سازگاری مناسبی برخوردار است.

References

منابع

1. Capuano, G. and A. Piccioni. 1998. Effect of different treatments on the conversion of M26 apple rootstock synthetic seeds obtained from encapsulated apical and axillary micropropagated buds. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 73:299-305.
2. Frederick, J., S.J. Lien, C. Courchene, A.J. Ragauskas and K. Iisa. 2006. Co-Production of Ethanol and Cellulose Fiber from Southern Pine: A technical and Economic Assessment. Engineering, Pulping, and Environmental Conference, Atlanta, GA, USA. 6.1:1-11
3. Ganapathi, T.R., P. Suprasanna, V.A. Bapat and P.S. Rao. 1992. Propagation of banana through encapsulated shoot tips. Plant cell Rep. 1:571-575.
4. Gardi, T., E. Piccioni and A. Standardi. 1999. Effect of bead nutrient composition on growth ability of stored *vitro* derived encapsulated micro cuttings of different woody species. J. Microencapsul. 16:13-25.
5. Ghosh, B. and S. Sen. 1994. Plant regeneration from alginate encapsulated somatic embryos of *Asparagus cooperi* Baker. Plant Cell Rep. 13:381-385.
6. Hassanein, A., I.A. Ibrahim, A.N. Galal and J. Salem. 2011. Conversion of banana synseeds influenced by the bead type and seed coat. Amer. J. Plant Sci. 2:467-475.
7. Hussain, A., U. Jaiswal and V.S. Jaiswal. 2000. Synthetic seed: Prospects and limitations. Curr. Sci. India 78:1438-1444.
8. Lin, Y.B., B. Fugetsu, N. Terui and S. Tanaka. 2005. Removal of organic compounds by alginate gel beads with entrapped activated carbon. J. Hazard Mater. 120:237-241.

9. Micheli, M., A. Stardini, P. Dell'Orco and M. Mencuccini, 2002. Preliminary studies on the synthetic seed and encapsulation technologies of *vitro*-derived olive explants. Proceedings of the 4th ISA on Olive Growing. Acta Hort. 586:911-914.
10. Murashige, T. and K. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* 15:473-497.
11. Saiprasad, G.V.S. 2001. Artificial seeds and their applications. *Resonance* 6:39-47.
12. Sarmah, D.K., M. Borthakur and P.K. Borua. 2010. Artificial seed production from encapsulated PLBs regenerated from leaf base of *Vanda coerulea* Griff. EX. Lindl. An endangered orchid. *Curr. Sci. India*. 98:689-690.
13. Sarrocco, S., R. Raeta and G. Vannacci. 2004. Seeds encapsulation in calcium alginate pellets. *Seed Sci. Technol.* 32:649-661.
14. Singh, A.K. and S. Chand. 2010. Plant regeneration from alginate-encapsulated somatic embryos of *Dalbergia sissoo* Rox. *Ind. J. Biotechnol.* 2:319-324.

Effects of Endosperm Composition and Thickness on Encapsulated Seed Germination and Plantlet Sustainability in Banana

L. Saeedavi and A. Soleimani^{1*}

Encapsulated seeds of *Musa* spp. cv. 'Dwarf Cavendish' were obtained by covering the shoot tips grown *in vitro* culture with artificial endosperm. The effects of thickness (one layer and two layers) and composition (with and without activated charcoal) of artificial endosperm on the regeneration, proliferation number of plantlet per encapsulated seed, shoot length, root number and length as well as plantlet fresh weight were evaluated. This study was conducted using a factorial experiment based on completely randomized design in 2012. Result indicated that composition and thickness of artificial endosperm have significant effect on regeneration rate and growth of encapsulated shoot tips and resultant *ex vitro* sustainability of regenerated plantlets. The reasonable achievement of regeneration rate, shoot and root growth achieved from shoot tips covered by one layer artificial endosperm containing activated charcoal. Developed and strong root systems accompanied with high root number were parameters that improved the plantlets survival and preliminary sustainability. Accordingly, plantlets regenerated from capsules with one layer endosperm containing activated charcoal adapted and grew well in plastic pots filled by a mixture of sand-perlite.

Key Words: Artificial endosperm, Activated charcoal, Plantlet, Culture medium, Banana.

1. Former M.Sc. Student and Assistance Professor of Horticulture, Zanjan University, Zanjan, I.R.Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (asoleimani@znu.ac.ir)