

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

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

لیلا سعیداوی و علی سلیمانی^{۲*}

چکیده

بذرهای کپسوله موز رقم 'دووارف کاوندیش'، آز راه پوشش‌دار کردن نوک شاخصاره^۳ 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 تنگی، تعداد شاخصاره پرآوری شده به ازای هر بذر، طول شاخصاره، تعداد ریشه‌های تولید شده در هر شاخصاره، 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 تنزیدند و از بالاترین درصد تنگی، تعداد پرآوری، طول شاخصاره، 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 تنگی، کاهش رشد، قابلیت استقرار و سازگاری اولیه گیاهچه‌ها در شرایط غیر درون شیشه‌ای شد.

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

مقدمه

موز یکی از مهم‌ترین محصول‌های باگی 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 پلاسمهای 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 گله‌ی 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
۲- 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

۳- 'Dwarf Cavendish'

سازگاری بهتری از خود نشان می‌دهند (۱۲). 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، اتین گلیکول، دی‌متیل سولفوكسید (DMSO)، 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 پیش‌تیمار بذرهای گندم و کلم در محلول کلرید کلسیم، باعث بهبود کیفیت داندرون^۳ 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 بازرازایی غیرمستقیم گیاهان از راه پنهان‌زایی 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 معده‌دی موقفيت 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 تنفسی 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 باگبانی 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، کم‌صرف، ۷/۴ گرم در لیتر Na₂EDTA، ۵/۵ گرم در لیتر Fe₂SO₄ و 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. ریزشاخسارهای زیر کشت شده، در اتاق 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٪ آلتینات 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 بذرها، 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 پترو دیش‌های دارای ماده جذب کننده رطوبت (HMS)، به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند (شکل ۲).

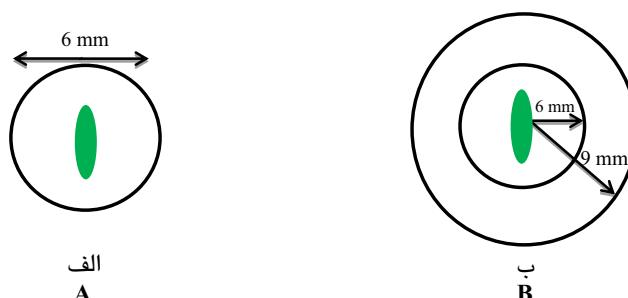


Fig. 1. Schematic figure of cross section of encapsulated seed (A): single layer (B): two layers with explants in the center.

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

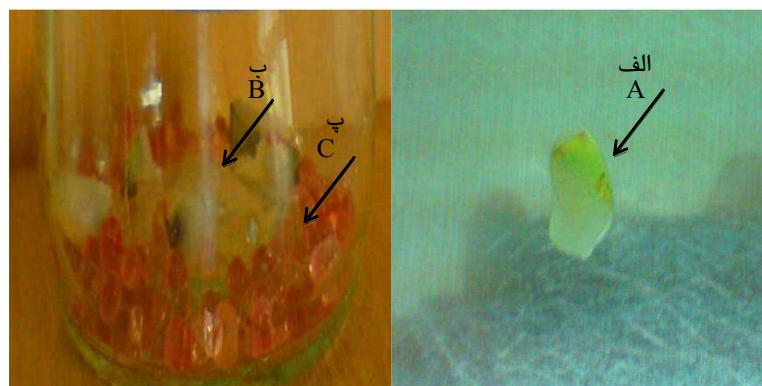


Fig. 2. Encapsulated seeds: (A) undried seeds (B) drying seeds (C) hygroscopic molecular sieve (HMS).

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

بعد از یک ماه نگهداری بذرهای کپسوله در شرایط تاریکی و دمای ۱۲ درجه سلسیوس، تنفسی و باززایی بذرهای 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 تنفسی یا به عبارتی شکاف کپسول و خروج ریزنمونه، تعداد پرآوری شاخصاره به ازای هر بذر، تعداد ریشه به ازای هر شاخه، طول ریشه و طول شاخصاره در فاصله‌های زمانی هر هفته ارزیابی شد. وزن ترکیب‌ها 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 (a₁) و دو لایه (a₂) و ترکیب بافت خوش مصنوعی (فاکتور ب) در دو سطح دارای زغال فعال (b₁) و بدون زغال فعال (b₂) 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 بذرهای 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 یافته‌اند. ارزیابی وضعیت استقرار و رشد به صورت مشاهده‌ای بود.

نتایج و بحث

اگرچه خشک نمودن^۱ بذرهای کپسوله با استفاده از HMS جزو تیمارهای آزمایشی مطالعه حاضر نبود، اما مشاهده روند تأثیر این عمل نشان داد که سرعت تنفسی بذرهای کپسوله موز با خشک کردن سریع می‌شود. به طوری که اولین تنفسی برای بذرهای 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 بذرهای کپسوله دو لایه به تقریب ۴ تا ۵ روز دیرتر از بذرهای کپسوله تک لایه بود. خشک کردن با کاهش مقدار آب بافت خوش باعث افزایش خاصیت شکنندگی کپسول و قدرت جذب آب بذرها پس از قرار گیری در محیط کشت می‌شود و سرعت تنفسی بذرها را بهبود می‌دهد (۶). خشک کردن بذرهای 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 اتفاقهای 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 الژینات سدیم و کاهش رطوبت آنها با استفاده از HMS، به مفهوم بذرهای مصنوعی خشک مصدق تعریف بالا نمی‌باشد. تنها هدف از کاهش رطوبت بذرها در آزمایش حاضر کسب یک تجربه مشاهده‌ای از تأثیر آن در رشد بعدی آنها بود.

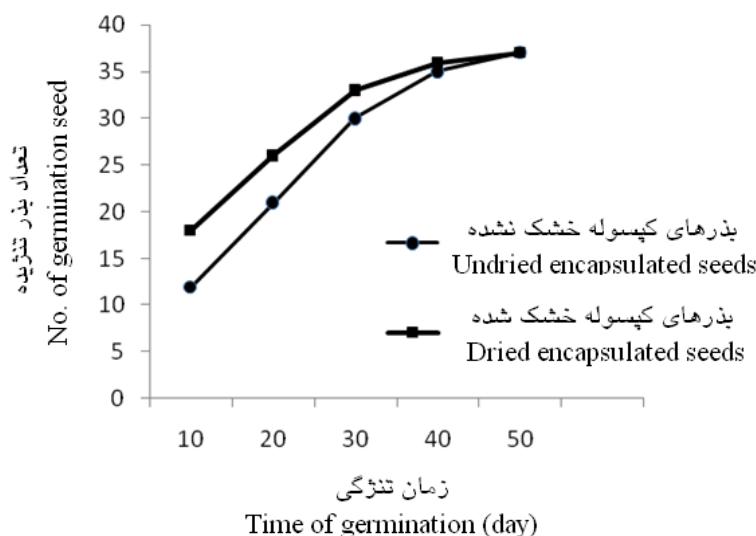


Fig. 3. Germination rate pattern of dried and undried encapsulated seeds of banana cv. ‘Dwarf Cavendish’

شکل ۳- روند سرعت تنثیگی 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 تنثیگی بذرها، تعداد پرآوری شاخصاره به ازای هر بذر، تعداد ریشه و طول ریشه در گیاهچه‌های حاصل از بذرها دو لایه بدون زغال فعال بیشتر از گیاهچه‌های حاصل از بذرها 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 بذرها 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 کپسول 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	Desiccated synseed -۱
Recalcitrant-۴	Polyoxyethylene glycol -۳

داشته است. تنها در مورد ویژگی‌های طول شاخصاره 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 ترکیدگی 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 تنزگی و بازیابی رشد بذرهای مصنوعی حاصل از کپسول تک لایه ریزنمونه‌های شاخصاره 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 بازیابی 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 بازیابی 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 تنزگی 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 رقبایی و غیررقبایی، 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 برهمنکش 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 فنی 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 شاخصاره در تیمار تک لایه با زغال فعال به دست آمد (جدول ۱). این گیاهچه‌ها به دلیل برخورداری از شرایط فتوستنتزی 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 شاخصاره 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 تابق با این موضوع مطالعه رویان‌های کپسوله حاصل از بافت پینه گیاه دارویی جگ^۱ با استفاده از هیدروژل آلتینات سدیم ۲/۵٪ نشان داد که گیاهچه‌های حاصل از بذرهای کپسوله که دارای رشد اولیه مناسب ریشه و شاخصاره بودند، قابلیت استقرار و سازگاری مناسبی در بستر کشت دارای آمیخته اتوکلاو شده از پیت ماس و خاک داشتند (۱۲).

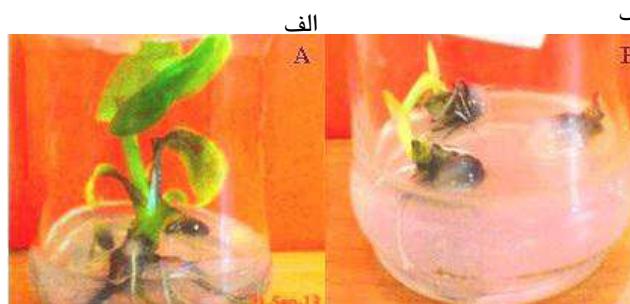


Fig. 4. Shoot length and root extension of explants obtained from capsules of banana seed after 21 days (A): single layer with activated charcoal (B): one layered without activated charcoal.

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.

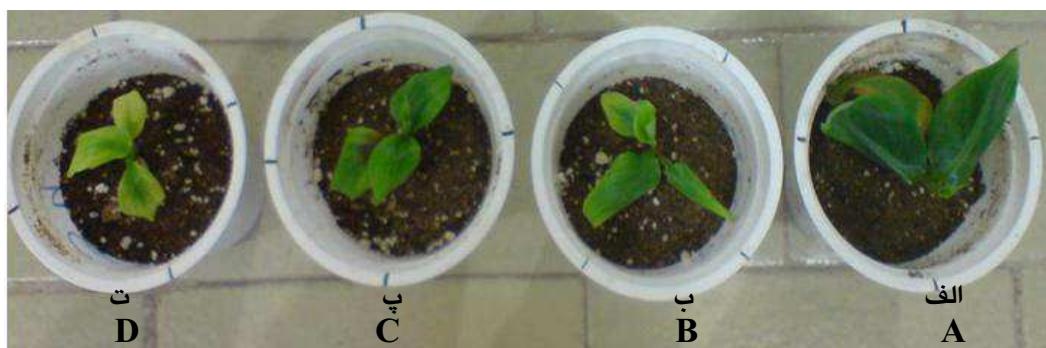


Fig. 5. Plantlets obtained from banana capsules in sand-perlite culture medium: (A) one layered with activated charcoal seed, (B) two layered with activated charcoal seed, (C) two layered without activated charcoal seed and (D) one layered without activated charcoal seed.

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.

Table 1. Effect of artificial endosperm on germination of encapsulated seed and growth of resulted plantlet in banana cv. 'Dwarf Cavendish'.

Type of endosperm	نوع بافت خورش	وزن قریچه [†] Plantlet fresh weight (gr)	طول دیشه Root length (cm)	تعداد دیشه/ گیاهچه [‡] No. of root plantlet ⁻¹	طول شاخه Shoot length (cm)	تعداد پرآوری شاخساره/ بذر No. of shoot proliferation seed ⁻¹	درصد تزریق Germination percentage (%)
Single layer without activated charcoal	تک لایه بدون زغال فعال	0.63 b†	1.78 d	2.88 d	3.81 b	1.02 d	52.25 d
Single layer with activated charcoal	تک لایه با زغال فعال	0.83 a	4.14 a	5.75 a	5.37 a	2.03 a	97.66 a
Two layers without activated charcoal	دو لایه بدون زغال فعال	0.35 c	2.83 c	3.07 c	2.15 c	1.47 c	68.33 c
Two layers with activated charcoal	دو لایه با زغال فعال	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.

[‡] میانگین‌های با حرف‌های مشترک در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون داکن ندارند.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که خشک کردن بذرهای کپسوله موجب تسريع فرایند جذب آب و تنفسگی 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 ریزنمودهای نوک شاخساره پیشنهاد می‌شود. البته در این پیشنهاد باید به این نکته توجه داشت که در مطالعه حاضر تنفسگی 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 مشاهده‌ها، 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.

منابع

- References**
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, Pulpding, 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. Stadardi, 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)