ریشه‌زایی درون شیشه‌ای نوئل نروژی به کمک همفرساز ریشه‌زایی کومارین

مهرناز زارعی[1*]، حسن صالحی[2]، ابوالفضل جوکار[3]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه شیراز، شیراز. ۲- استاد بخش علوم باغبانی، دانشگاه شیراز، شیراز. ۳- استادیار بخش علوم باغبانی، دانشگاه شیراز، شیراز.

*نویسنده مسئول: Zarei.mehr1391@yahoo.com

چکیده

ریزافزایی موفق بسیاری از گونه‌های سوزنی برگ به دلیل دشواری تشکیل ریشه نابه‌جا در آن‌ها دچار محدودیت شده است. در بسیاری از این گونه‌ها ریشه‌زایی با افزودن اکسین‌ها یا سایر ترکیب‌های کمکی به محیط کشت به دست خواهد آمد. در این پژوهش از کومارین برای بهبود ریشه‌زایی ریزشاخه‌های نوئل نروژی استفاده شد. بیشترین میزان ریشه‌زایی (۳۷/۴۹٪) در تیمار ۲۰ میکرومولار کومارین به همراه ۲ میکرومولار IAA مشاهده شد. تیمار کومارین ۱۰ میکرومولار به تنهایی و یا به همراه ۲ میکرومولار IAA نیز توانست ۱۲/۳۵٪ از ریزشاخه‌ها را ریشه‌دار کند. همچنین بر اساس نتایج بافت شناسی، خروج ریشه از ناحیه پینه درونی با منشاء دایره محیطیه بود.

کلمات کلیدی: ریشه زایی نابجا، کومارین، نوئل نروژی، دایره محیطیه

مقدمه

تشکیل ریشه نابه‌جا مرحله‌ای کلیدی در افزایش رویشی است. ریشه‌زایی نابه‌جا فرآیند نموی پیچیده‌ای شامل سه مرحله فیزیولوژیکی به هم وابسته و پی‌درپی می‌باشد: انگیزش، آغازش و بروز ، که هر یک از این مراحل دارای نیازهای متفاوتی است. مرحله انگیزش در بر گیرنده رویدادهای مولکولی و زیست شیمیایی و برخی تغییرهای غیر قابل مشاهده می‌باشد. مرحله آغازش به وسیله تقسیم یاخته‌ای و سازمان یافتن سرآغازه‌های ریشه و مرحله بروز با رشد درون ساقه‌ای سرآغازه ریشه و در ادامه نمایان شدن ریشه مشخص می‌شود (Li *et al.*, 2009). بسیاری از عوامل محیطی و درون‌زا مانند دما، نور، تنظیم کننده‌های رشد (به ویژه اکسین)، کربوهیدرات‌ها، نمک‌های معدنی و سایر مولکول‌ها ممکن است به عنوان یک پیام عمل کرده و منجر به انگیزش گروهی از یاخته‌ها و تنظیم تشکیل ریشه نابه‌جا شوند (Corrêa and Fett-Neto, 2004; Haissig, 1990). کاربرد دامنه گسترده‌ای از ترکیب‌های کمکی مانند پاکلوبوترازول، فسفریک اسید، کلسیم، تریاکنتانول، اولیگوساکارین‌ها و کومارین می‌تواند در بهبود ریشه‌زایی گونه‌های سخت‌کار موثر باشد (Haissig and Davis 1994; Nandi *et al.* 2002; Tantos *et al.* George 1993 ; 2001). ریشه‌زایی درون شیشه‌ای به طور مرسوم در محیط کشت نیمه جامد صورت می‌پذیرد؛ که از سودمندی‌های آن می‌توان به پخش یکنواخت اکسین و مواد غذایی و برقراری ارتباط مناسب بین ریزشاخه‌ها و محیط کشت و در نتیجه افزایش ریشه‌زایی همزمان اشاره نمود (Rancillac *et al.* 1982). هرچند در شرایط درون شیشه‌ای امکان اکسیداسیون نوری اکسین‌ها وجود دارد، اما از آسیب‌های ریزانداموارهها در امان خواهند بود (De Klerk *et al.* 1997).

مواد و روش‌ها

ریزشاخه‌ها در محیط کشت WPM دارای کومارین با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکرومولار به تنهایی و یا همزمان با کاربرد IAA ۱ و ۲ میکرومولار و یا IBA ۴/۵ و ۷/۵ میکرومولار در مقایسه با تیمار شاهد (بدون کومارین و اکسین) کشت شدند. جابه‌جایی ریزشاخه‌ها به محیط کشت نیم‌غلظت WPM بدون تنظیم کننده رشد گیاهی پس از گذشت ۲ هفته صورت گرفت. در

آزمایشی دیگر برای بررسی بافت شناسی ناحیه خروج ریشه انتهای ساقه‌ها پس از آب‌گیری با الکل‌ها با درجه‌های بالارو و قالب‌گیری در پارافین، به کمک دستگاه میکروتوم با ضخامت ۱۲ میکرون برش‌گیری شدند. همچنین برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها روش سافرانین و فست‌گرین مورد استفاده قرار گرفت.

یادداشت برداری و واکاوی داده‌ها

داده برداری شامل درصد ریشه‌زایی ، تعداد و طول ریشه‌ها بود.آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح به طور کامل تصادفی انجام شد و برای هر تیمار ۴ تکرار و در هر تکرار ۵ ریزنمونه در نظر گرفته شد. واکاوی داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۰) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۱٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

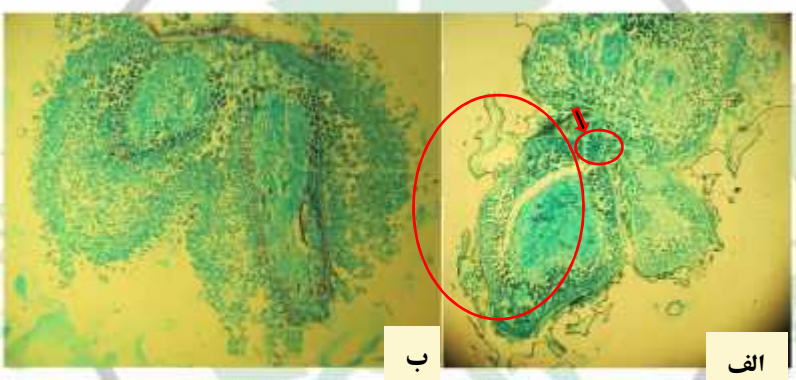
بر اساس نتایج این پژوهش تیمار کومارین به تنهایی و نیز به همراه تنظیم کننده رشد IAA منجر به ریشه‌زایی در ریزشاخه‌های نوئل نروژی شد (جدول ۱). بیشترین میزان ریشه‌زایی (۳۷/۴۹ ٪) در تیمار ۲۰ میکرومولار کومارین به همراه ۲ میکرومولار IAA مشاهده شد. تیمار کومارین ۱۰ میکرومولار به تنهایی و یا به همراه ۲ میکرومولار IAA نیز توانست ۱۲/۳۵٪ از ریزشاخه‌ها را ریشه‌دار کند. نتایج این آزمایش نشان داد که هرچند تیمارهای تنظیم کننده رشد IBA به همراه کومارین در انگیزش ریشه‌زایی موفق نبود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند)؛ اما کاربرد این ماده به همراه IAA در مقایسه با استفاده از IAA به تنهایی باعث افزایش ۲۱/۹۹ درصدی ریشه‌زایی در ریزشاخه‌ها شد. بیشترین میانگین طول ریشه (۱/۷۵ سانتی‌متر) در غلظت ۱ میکرومولار IAA و کمترین آن در غلظت ۲ میکرومولار IAA به همراه ۱۰ میکرومولار کومارین به دست آمد؛ هرچند در مورد شاخص طول ریشه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف کومارینی مشاهده نشد.

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های اثر کومارین و تنظیم کننده رشد IAA بر شاخص‌های درصد ریشه‌زایی، طول و شمار ریشه ریزشاخه‌های گیاه نوئل نروژی

	تیمار ریشه‌زایی								
	IAA(میکرومولار)								
	۰			۱			۲		
کومارین (میکرومولار)	۰	۱۰	۲۰	۰	۱۰	۲۰	۰	۱۰	۲۰
درصد ریشه‌زایی	۰^{b}	۱۲/۳۵^{b}	۰^{b}	۱۲/۵۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۱۲/۳۵^{b}	۳۴/۴۹^{a}
میانگین اثر غلظت IAA		۴/۱۲^{B}			۴/۱۷^{B}			۱۵/۶۱^{A}	
میانگین اثر غلظت کومارین	۴/۱۷^{C}	۸/۲۳^{AB}	۱۱/۵۰^{A}						
شمار ریشه در ریزنمونه	۰^{b}	۰/۴۵^{ab}	۰^{b}	۱^{a}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۰/۵۰^{ab}	۰/۵۰^{ab}
میانگین اثر غلظت IAA		۰/۱۵^{B}			۰/۳۳^{A}			۰/۳۳^{A}	
میانگین اثر غلظت کومارین	۰/۳۳^{A}	۰/۳۲^{A}	۰/۱۷^{AB}						
طول ریشه (سانتی‌متر)	۰^{b}	۰/۵۰^{b}	۰^{b}	۱/۷۵^{a}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۰/۴۰^{b}	۰/۷۵^{b}
میانگین اثر غلظت IAA		۰/۱۷^{C}			۰/۵۸^{A}			۰/۳۸^{B}	
میانگین اثر غلظت کومارین	۰/۵۸^{A}	۰/۳۰^{B}	۰/۲۵^{B}						

† در هر ردیف میانگین‌های دارای حرف یکسان (حرف کوچک در برهمکنش‌ها و حرف بزرگ در اثرهای اصلی) تفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱٪ ندارند.

ساز وکار انگیزش ریشه‌زایی به کمک ترکیب‌های فنولی هنوز به درستی مشخص نشده است، اما بیان شده که این ترکیب‌ها از تجزیه اکسین توسط آنزیم IAA اکسیداز پیشگیری می‌کنند. کاربرد ترکیب‌های فنولی به تنهایی (James and Thurbon, 1979) یا به همراه اکسین (Kling and Meyer, 1983) در بهبود ریشه‌زایی موثر بوده است.در ارتباط با ریشه‌زایی، نوع، غلظت، روش کاربرد و مدت زمان تیمار با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی از اهمیت بسیاری برخوردار می‌باشد. برای ریشه‌زایی از اکسین‌های مختلف به‌ویژه IBA، IAA و یا NAA به تنهایی یا به همراه هم استفاده می‌شود (Mohammed and Vidaver, 1988). نوع اکسین مورد استفاده در تشکیل پینه در انتهای شاخه‌ها و نیز تعداد ریشه در هر یک از شاخه‌های ریشه‌دار شده موثر است. بررسی پژوهش‌های گوناگون در رابطه با ریشه‌زایی درون شیشه‌ای سوزنی برگان نشان می‌دهد که به‌کارگیری اکسین‌های IBA، IAA و NAA در سه حالت فروبری سریع در غلظت‌های بالا پیش از کشت ریزنمونه‌ها، محلول در محیط کشت در زمان کوتاه (با غلظت بالا) و محلول در محیط کشت در دراز مدت (با غلظت کم)، انجام‌پذیر است. در پژوهش‌هایی روی گیاهان ارس خاردار و کاج الیوتی به‌کارگیری IAA در غلظت‌های مشابه با IBA (۱ میکرومول) ریشه‌زایی بهینه‌ای را به همراه داشت (Gomez and Segura, 1994; Tang and Newton, 2007)؛ در صورتی که بیشتر پژوهش‌های موفق در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای با کاربرد IBA انجام شده است.



نگاره ۱- بررسی بافت شناسی ناحیه خروج ریشه در گیاه نوئل نروژی

Coumarin improves in vitro rooting of Norway spruce micro-cuttings

M. Zarei[1*], H. Salehi[2] and A. Jowkar[3]

1- M. Sc of Horticultural Science, Shiraz University, Shiraz. 2- Professor, Dep. of Horticultural Science, Shiraz University, Shiraz. 3- Associate Professor, Dep. of Horticultural Science, Shiraz University, Shiraz.

*Corresponding Author: Zarei.mehr1391@yahoo.com

Abstract

Successful micropropagation in many species of conifers in inappropriate because of root initiation problems. In some of these species, rooting can possible with the addition of auxins and/or co-factors in culture medium. In this study, addition of coumarin in rooting medium (WPM) improved initiation of roots in Picea abies micro-cuttings. Highest root formation was in microcuttings (37.49%), those treated with 20 µM coumarin and 2 µM IAA. Also, coumarin treatment (10 µM) alone or with 2 µM IAA could causing root formation by 12.35 %. Result of histological experiment showed root initiation was of external callus area.

Key words: Adventitious rooting, Coumarin, Picea, abies, internal callus area