تأثیر دو نوع تنظیم کننده رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد و طول ریشه در سه روز تاریکی در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای پایه سیب MM111

عاطفه مشاری نصیرکندی*[۱]، بهمن حسینی[۲]، علیرضا فرخزاد[۳]، لطفعلی ناصری[۴]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی محصولات باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه

[۲و۴] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه

[۳] استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه

*نویسنده مسئول: ati.moshari@yahoo.com

چکیده

تکنولوژی کشت بافت گیاهی بیشتر برای تکثیر در سطح وسیع گیاهان استفاده می‌شود. این تکنولوژی تجاری بر پایه ریزازدیادی است. در این تحقیق اثر دو نوع محیط کشت پایه MS و ½MS حاوی دو نوع تنظیم کننده رشد گیاهی IBA و NAA در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر در مرحله سه روز تاریکی بر صفات تعداد و طول ریشه بررسی گردید. داده‌برداری پس از چهار هفته انجام گردید. پس از آنالیز داده ها بیشترین میانگین تعداد ریشه (با میانگین ۲/۶۵) و طول ریشه (با میانگین ۲/۳۹ سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: تکثیر، ریزازدیادی، کشت بافت، گیاهان، محیط کشت

مقدمه

سیب یکی از میوه‌های دانه‌دار و متعلق به تیره گل‌سرخیان[۱] و زیر تیره پوموایده[۲] است. در سال‌های اخیر استفاده از پایه های رویشی و نیمه‌پاکوتاه به دلیل تولید درختان کوچک که هزینه‌های کارگری، سمپاشی، هرس، برداشت میوه و سایر عملیات زراعی در باغ را کاهش می‌دهد، از رونق زیادی برخوردار است (Mohseni Azar *et al*., 2009). پایه MM111 جزء پایه های نیمه‌قوی یا نیمه‌استاندارد است و درختان بر روی آن به اندازه ۹۰ درصد درختان پیوندی بر روی پایه‌های بذری است. از این پایه هنوز هم در خاک‌های فقیر و سبک‌تر به‌عنوان پایه و میان‌پایه استفاده می‌شود. پایه MM111 از تلاقی نورسن‌اسپای و MI-793 حاصل شده است. این پایه به‌آسانی در خزانه ازدیاد می‌شود. این پایه با داشتن برگ‌های خشن و زبر، ساقه نازک و راست قابل تشخیص است. در آزمایش‌های مزرعه‌ای با میزان رطوبت متفاوت خاک ثابت شده است که پایه MM111 بیش‌ترین مقاومت به خشکی خاک را دارد. طی آزمایش‌های طولانی مشخص شده است که گرچه درختان بر روی این پایه زودبارده نمی باشند ولی نسبت به درختان پیوندی بر روی پایه‌های بذری خیلی پربارده هستند و همچنین به نظر می‌رسد که این پایه در مقایسه با پایه‌های دیگر به انواع خاک‌ها و آب و هواهای مختلف مقاوم می‌باشد. پایه‌های پاکوتاه از طریق کاهش رشد شاخه‌ها و در نتیجه، ایجاد یک درخت کوچک‌تر، هزینه تنک کردن، تربیت، برداشت و هرس را در مقایسه با درختان بزرگ کم‌تر می نماید. از آن‌جائی‌که تولید زودهنگام در هکتار در بیش‌تر باغ‌های جدید یک هدف می‌باشد و با افزایش تراکم کاشت افزایش می یابد. رسیدن به عملکردهای زودهنگام بالا فقط از راه استفاده از درختان پیوند شده بر روی پایه‌های پاکوتاه کننده در تراکم بالا امکان‌پذیر می‌باشد. تولید محصول زودهنگام ناشی از پایه‌های پاکوتاه کننده دارای مزیت دیگری می‌باشد که همانا کاهش رشد بیش‌تر درخت می‌باشد. محصول سنگین اولیه، رشد شاخه‌ها را کاهش داده و حفظ اندازه درخت در محدوده فضای منظور شده را آسان‌تر می‌سازد اما در خاک‌های فقیر این‌گونه پایه‌ها به دلیل عدم رشد کافی درختان صدمه خواهند دید (Radnia, 1996).

تکثیر درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های مرسوم برای تولید انبوه گیاهان است، همچنین به‌منظور حفاظت از ژنوتیپ های برتر، برنامه‌های اصلاح درختان اغلب بر استفاده از روش ازدیاد رویشی، (چه به‌وسیله روش‌های کلاسیک اصلاح نباتات و

[1]. Rosaceae
[2] .Pomoideae

چه تکنولوژی انتقال ژن)، تکیه دارد ژنوتیپ‌های برتر در درختان میوه به دلیل وجود هتروزیگوسی بالا در نتاج آن‌ها، حتماً باید با روش‌های رویشی تکثیر گردند. استفاده از پایه‌های نیمه‌پاکوتاه سیب به دلیل تولید درختان کوچک که هزینه‌های کارگری، سمپاشی، هرس، برداشت میوه و سایر عملیات زراعی در باغ را کاهش می‌دهد از رونق زیادی برخوردار است (Mahdavian *et al*., 2010).

محققان در مرحله ریشه‌زایی درون شیشه‌ای انجیر ارقام بربا و لامپا برانکا هورمون‌های IBA و NAA را در غلظت ۰، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵ و ۵ میکرومولار بکار بردند و اظهار داشتند بیشترین درصد ریشه‌زایی را IBA در غلظت ۲/۵ میکرومولار داشته است. طویل‌ترین طول ریشه در محیط ۲/۵ میکرومولار IBA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) بدست آمد و غلظت‌های بیشتر و یا پایین‌تر، میانگین طول ریشه کمتری ایجاد می‌کنند (Nobre and Romano, 1997).

پژوهشگران برای ریشه‌زایی درون شیشه انجیر رقم ساری لوپ غلظت‌های متفاوتی از NAA و IBA را به‌کاربرده و نشان دادند که از بین غلظت‌های ۰، ۱/۲، ۲/۵ و ۵ میکرومولار، غلظت ۲/۵ میکرومولار IBA از بقیه مؤثرتر است (Hepaksoy and Aksoy, 2006).

مواد و روش‌ها

شاخه‌چه‌های ریزازدیادی شده روی محیط کشت پایه MS و MS ½ حاوی دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی اسیدایندول بوتیریک[3](IBA) و اسیدنفتالین‌استیک[4](NAA) در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل (۴×۲×۲) در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای این منظور شاخه‌چه‌های پایه سیب MM111 در تیمارهای آزمایشی شامل MS و MS ½ با غلظت‌های مختلف IBA و NAA مورد زیرکشت قرار گرفت. محیط کشت‌ها حاوی نمک‌های MS با ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۶ گرم آگار بود. اسیدیته کلیه محیط‌های کشت قبل از افزودن آگار در حد ۵/۷ تنظیم شد. کلیه شاخچه‌های مورد استفاده برای ریشه‌زایی به‌صورت جداگانه به مدت سه روز و چهار روز در محیط حاوی هورمون و در تاریکی قرار گرفتند. همزمان با آغازش کالوس‌های تازه و سفید رنگ در انتهای آن‌ها، به محیط عاری از هورمون منتقل شدند. شاخص‌های موردنظر شامل میانگین تعداد ریشه به ازای هر ریزشاخه و میانگین طول ریشه‌چه های هر ریزشاخه در محیط‌های مختلف بود. یادداشت برداری‌ها بر اساس شروع آغازش و رشد ریشه‌ها پس از گذشت چهار هفته انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی نشان داد در پایه سیب MM111 اثر ساده نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی تأثیر معنی‌داری بر تعداد و طول ریشه نداشت در حالیکه اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی تأثیر معنی‌داری بر تعداد و طول ریشه داشت. با مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و سطوح تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی، بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۲/۶۵ و طول ریشه با میانگین ۲/۳۹ سانتی‌متر در محیط MS حاوی NAA در سطح ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و کمترین تعداد و طول ریشه با میانگین صفر (فاقد ریشه‌زایی) در محیط کشت MS فاقد تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی، محیط کشت MS حاوی NAA در سطوح ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر، محیط کشت MS ½ فاقد تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی، محیط کشت MS ½ حاوی IBA در سطوح ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر، محیط کشت MS ½ حاوی NAA در سطوح ۱/۵ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (جدول ۱). افزایش تعداد و طول ریشه در محیط کشت MS می‌تواند به دلیل تأمین مناسب مواد غذایی جهت رشد بیشتر ریشه‌ها باشد. با دو برابر شدن غلظت نمک‌ها در محیط MS نسبت به MS ½ مواد غذایی بیشتری برای ریشه‌ها فراهم می‌گردد. NAA میزان تشکیل ریشه را نسبت به IBA بیشتر تحت تأثیر قرار می‌دهد و در غلظت‌های بالاتر ریشه‌های به وجود آمده متورم و شکننده‌تر بودند همچنین با کاهش غلظت اکسین میزان تشکیل کالوس نیز کاهش یافت. با افزایش در غلظت اکسین، طول ریشه‌های تولید شده کوتاه‌تر می‌گردد. هر ژنوتیپ دارای مقادیر خاصی از هورمون‌های درونی بوده و غلظت تیمارهای بکار گرفته شده بیشترین تأثیر را در چگونگی عملکرد و واکنش هورمون‌های درونی نسبت به آن‌ها دارد. نتایج تحقیقات (Ganji Moghadam *et al*., 2008) بر روی

[3] .Indol-3-Butyric-Acid
[4] .1.Naphthaleneaceticacid

محلب (*Prunus mahlab*) نشان داد که محیط کشت MS به عنوان بهترین محیط کشت و غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین نتایج را برای ریشه‌زایی داشته است که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر تعداد MM111 در پایه سیب و طول ریشه

تیمار	تعداد ریشه	متر)طول ریشه (سانتی
MS	0^{f}	0^{e}
MS + 1.5 mg/l IBA	1.28^{c}	1.56^{c}
MS + 3 mg/l IBA	1.62^{b}	2.02^{b}
MS + 4.5 mg/l IBA	0.87^{d}	0.79^{d}
MS + 1.5 mg/l NAA	2.65^{a}	2.39^{a}
MS + 3 mg/l NAA	0^{f}	0^{e}
MS + 4.5 mg/l NAA	0^{f}	0^{e}
½ MS	0^{f}	0^{e}
½ MS + 1.5 mg/l IBA	1.23^{c}	0.84^{d}
½ MS + 3 mg/l IBA	0^{f}	0^{e}
½ MS + 4.5 mg/l IBA	0^{f}	0^{e}
½ Ms + 1.5 mg/l NAA	0^{f}	0^{e}
½ MS + 3 mg/l NAA	0.57^{e}	0.71^{d}
½ MS + 4.5 mg/l NAA	0^{f}	0^{e}

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی‌داری با یک‌دیگر در سطح احتمال ۱ درصد دارند.

منابع

1. **Ganji Moghadam, A., Bolandi, A. and Anahid, S. 2008.** *In vitro* propagation of Four dwarf genotype selected of Prunus mahlab. Research and development on natural resources; 21 (2): 54-61.
2. **Hepaksoy, S., and Aksoy, U. 2006.** Propagation of Ficus carica L. clones by in vitro culture. Biology Plantarum; 50 (3): 433 – 436.
3. **Mahdavian, M., Bouzari, N. and Abdollahi, H. 2010.** Effects of culture media and growth regulators on proliferation and rooting of vegetative Mahaleb (St. Lucie 64). Journal of the Seed and plant eugenics; 26(1): 26-15.
4. **Mohseni Azar, M., Nazeri, S., Ghadimzade, M. and Malboubi, M. A. 2009.** Effect of medium and some biochemical compounds on proliferation *in vitro* Gami Almasi dwarf apple (*Malus domestica* Borkh). Journal of Plant production technology; 1 (2): 33-41.
5. **Nobre, J. and Romano, A. 1997.** *In vitro* cloning of Ficus carica L. adult trees. In I International Symposium on Fig; 480: 161 – 164.
6. **Radnia, H. 1996.** Rootstocks pf fruit trees (compilation of Roycroam and Robert F.carlson). First edition. Publication of agricultural education, 637 pp.

The effect of two type of plant growth regulations IBA and NAA on root number and root length in three day darkness in the *in vitro* rooting of MM111 apple rootstock

Atefeh Moshari Nasirkandi*[1], Bahman Hosseini[2], Alireza Farokhzad[3], Lotfali Naseri[4]
[1] Former MSc Student of Biotechnology and mulecular genetics horticultural products, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University
[2,4] Associate Professor, Horticulture Department of Faculty of Agriculture Urmia University
[3] Assistant Professor, Horticulture Department of Faculty of Agriculture Urmia University
Corresponding Author: ati.moshari@yahoo.com

Abstract
Plant tissue culture technology, often used for plants large-scale multiplication. This commercial technology is based on micropropagation. In this study, the effects two types of MS and ½MS basal media, containing two types of plant growth regulators IBA and NAA, in the four concentration of zero (control), 1.5, 3 and 4.5 mg/l, at the stage of three days of darkness were evaluated on the number and length of roots. Data-taking was performed after four weeks. After analyzing the data, the highest mean number of roots (with mean 2.65) and root length (with mean 2.39 cm) was observed in MS media containing 1.5 mg/l NAA.
***Keywords*: media, micropropagation, plant, propagation, tissue culture**