تأثیر دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی BAP و TDZ بر پرآوری پایه سیب M7

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

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

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

[۳] استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

*نویسنده مسئول: ati.moshari@yahoo.com

چکیده

درخت سیب با نام علمی *Malus domestica* متعلق به تیره Rosaceae و مهمترین میوه دانه‌دار محسوب می‌شود. تکثیر درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های مرسوم برای تولید انبوه گیاهان است. ریزازدیادی پایه سیب M7 اغلب تولید گیاهان قوی می‌کند که منجر به تسریع در رشد می‌گردد. این روش دارای عملکرد بالایی بوده که تولید هزاران ریزشاخه می‌کند. در این تحقیق اثر دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی BAP و TDZ در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲/۲، ۴/۴ و ۸/۸ میکرومولار در محیط کشت B5 بر تعداد شاخساره، تعداد گره، تعداد میانگره و طول میانگره بررسی گردید. داده‌برداری پس از چهار هفته انجام گردید. پس از آنالیز داده‌ها بیشترین میانگین تعداد شاخساره (با میانگین ۱۶/۵۵)، تعداد گره (با میانگین ۱۳/۷۷) و تعداد میانگره (با میانگین ۱۲/۷۷) در محیط کشت B5 حاوی ۲/۲ میکرومولار BAP و کمترین میانگین تعداد شاخساره (۴/۷۷)، تعداد گره (با میانگین ۵/۹۹) و تعداد میانگره (با میانگین ۴/۹۹) در محیط کشت B5 حاوی ۸/۸ میکرومولار TDZ مشاهده گردید. بیشترین میانگین طول میانگره (با میانگین ۰/۲۳ سانتی‌متر) در محیط کشت B5 حاوی TDZ و کمترین میانگین طول میانگره (با میانگین ۰/۲ سانتی متر) در محیط کشت B5 حاوی BAP مشاهده گردید. ریشه‌زایی این پایه در دو نوع محیط کشت MS و ½MS حاوی دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA و NAA در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی گرم در لیتر با موفقیت انجام گردید. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در چهار نوع بستر کشت پرلیت درشت، پرلیت ریز، ترکیب پرلیت و پیت‌ماس و پیت‌ماس سازگار شدند.

کلمات کلیدی: تکثیر، درون‌شیشه، گره، محیط کشت، میانگره

مقدمه

سیب متعلق به جنس مالوس[1] زیرتیره پومویده و تیره گلسرخیان می‌باشد. تعداد کروموزوم‌های پایه در سیب X=۱۷ می‌باشد. ارتفاع تنه در ارقامی که روی پایه‌های بذری پیوند شده‌اند به ۷-۸ متر و گسترش تاج درخت در حدود ۱۰ متر می‌باشد اما در ارقام پیوند شده روی پایه‌های پاکوتاه ارتفاع تنه در حدود ۱۵۰-۱۸۰ سانتیمتر می‌باشد. درختانی که روی پایه‌های بذری قرار دارند بعد از ۴-۵ سال اما پایه‌های پاکوتاه بعد از ۲-۳ سال شروع به بارآوری می نمایند عمر اقتصادی سیب در حدود ۳۰-۴۰ سال می‌باشد. این پایه درختانی با اندازه ۵۵ تا ۶۵ درصد درختان بذری سیب تولید می‌کند. در ایالات متحده طی ۵۰ سال اخیر معرفی پایه‌ها، پشتیبان صنعت میوه‌کاری بوده است. پایه M7 هنوز هم معمول‌ترین پایه مورد استفاده بوده و متحمل به اکثر بیماری‌ها و سازگارترین پایه به انواع وسیعی از خاک‌ها و اقلیم‌ها می‌باشد. این پایه در خزانه به سبب داشتن شاخه‌های دوکی باریک با پوست قهوه‌ای روشن، حاشیه‌ی برگ‌های

[1] . Malus

موجی و فرورفتگی عمیق با گوشوارک‌های کوچک و عدسک‌های سفید رنگ قابل تشخیص است. 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 می‌نماید. کنترل قدرت رشد رویشی به کمک روش‌های هرس و تربیت، به‌ویژه در قسمت‌های فوقانی درختان امکان‌پذیر بوده و این عمل در درختان پیوند شده بر روی پایه‌های پاکوتاه کننده خیلی آسان‌تر از درختان بزرگ‌تر پیوند شده بر روی پایه‌های قوی می‌باشد. کنترل رشد شاخه‌ها بر روی پایه‌های قوی از طریق هرس و تربیت، اگر غیرممکن نباشد، بیش از حد مشکل است، در بیشتر موارد، رشد به اندازه کافی کنترل نگردیده و منجر به سایه‌دار شدن شدید و در نتیجه کاهش تولید و کیفیت پایین میوه می‌شود (Radnia, 1996).

پایه M7 به سهولت ازدیاد می‌شود. از این‌رو، یک پایه مناسب برای خزانه‌کاران و باغداران محسوب می‌شود. از مهمترین عیب پایه M7 می‌توان به تمایل آن برای تولید پاجوش اشاره نمود (Radnia, 1996).

ریزازدیادی[2] روشی سریع برای تولید انبوه گیاهان در دوره‌های زمانی کوتاه‌مدت و صرف‌نظر از نوع فصل می‌باشد (Nasib *et al*., 2008). اهمیت بدست آوردن گیاهان سالم و عاری از ویروس، نیاز بازار به داشتن گیاهان یکنواخت، صرفه‌جویی در وقت و هزینه، از جمله مواردی است که سبب گسترش استفاده از روش کشت بافت در تکثیر گیاهان شده است (Mahdavian *et al*., 2000).

کشت بافت گیاهی به تکثیر یا پرآوری سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌ها در محیط کشت مایع یا جامد تحت شرایط محیطی استریل و کنترل شده اشاره دارد. تکنولوژی کشت بافت گیاهی بیشتر برای تکثیر در سطح وسیع گیاهان استفاده می‌شود. این تکنولوژی تجاری بر پایه ریزازدیادی است که در آن پرآوری سریع گیاه به‌وسیله ریز قلمه‌های ساقه‌ای کوچک، جوانه‌های محوری و در سطح محدودتری از رویان‌های سوماتیکی بدست می‌آید. ریزازدیادی باززایی درون‌شیشه‌ای گیاهان از اندام‌ها، بافت‌ها، سلول‌ها و تکثیر شبیه به اصل یک ژنوتیپ انتخابی یا استفاده از تکنیک کشت درون شیشه‌ای می‌باشد. هدف از فرایند ریزازدیادی گیاه تولید کلون (کپی‌های واقعی از یک گیاه در تعداد فراوان) است (Singha, 1982).

در پایه‌های سیب (M9، M27 و MM106)، سرعت رشد، اساساً بستگی به نوع تنظیم کننده‌ی رشد گیاهی بویژه بنزیل‌آدنین (BA)، غلظت نمک‌ها و ژنوتیپ دارد (Amiri and Elahinia, 2011).

افزایش میزان پرآوری شاخساره به ازای هر واحد افزایش در غلظت BAP را می‌توان از طریق نقش سیتوکینین‌ها در تحریک تقسیم سلولی و رشد جوانه‌های جانبی توجیه کرد. همچنین پرآوری شاخساره‌ها روی محیط کشت غنی از سیتوکینین‌ها، اغلب نتیجه آزاد شدن جوانه‌های جانبی از تأثیر غالبیت انتهایی است (Taji *et al*, 1997).

در ریزازدیادی پایه سیب M7، اغلب گیاهان قوی تولید می‌شود که منجر به تسریع در رشد در مقایسه با گیاهچه های حاصل از روش‌های سنتی می‌شود. همچنین ریزازدیادی تولید گیاهان عاری از بیماری می‌کند و این روش دارای عملکرد بالایی بوده که تولید هزاران ریزشاخه کرده که در زمان مشابهی، در روش‌های سنتی می‌تواند فقط ۱۰ تا ۱۰۰ شاخساره تولید کند.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی ۶- بنزیل‌آمینوپورین[3](BAP) و تیدیازورون[4](TDZ) در چهار غلظت مختلف شامل صفر (شاهد)، ۲/۲، ۴/۴ و ۸/۸ میکرومولار در محیط کشت B5 استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. شاخص‌های مورد بررسی در این آزمایش شامل میانگین تعداد گره، میانگین تعداد میانگره و میانگین طول میانگره بود. یادداشت‌برداری‌ها پس از چهار هفته انجام شد.

2. Micropropagation
3 .6-Benzylaminopurin
4 .Thidiazuron

نتایج و بحث

مقایسه اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی و اثر متقابل آنها نشان داد نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر تعداد گره و تعداد میانگره تأثیر معنی‌داری نداشت درحالیکه اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر تعداد شاخساره، تعداد گره و تعداد میانگره تأثیر معنی‌داری داشت.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره، تعداد گره و میانگره به ترتیب با میانگین ۱۶/۵۵، ۱۲/۵۵ و ۱۱/۵۵ در محیط حاوی تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی BAP در سطح ۲/۲ میکرومولار و کمترین تعداد شاخساره، گره و میانگره به ترتیب با میانگین ۴/۷۷، ۵/۹۹ و ۴/۹۹ در محیط حاوی تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی TDZ در سطح ۸/۸ میکرومولار مشاهده گردید (جدول ۱). نتایج نشان می‌دهد که تولید گره و میانگره بیشتر تحت تأثیر BAP است تا TDZ. کاربرد غلظت‌های زیاد BAP با تشدید رقابت بین جوانه‌های روی ریزنمونه موجب تأثیر بازدارندگی در رشد شاخساره‌ها و تشکیل گره می‌شود. نتایج تحقیقات (Youmbi *et al*, 2006) در پرآوری شاخساره‌های موز نشان داد که تیدیازورون تأثیر معنی‌داری در اندازه طول شاخساره، تعداد گره و میانگره نداشت که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر صفات تعداد شاخساره، تعداد گره و تعداد میانگره در پایه نیمه‌پاکوتاه سیب M7

کننده‌نوع و غلظت تنظیم رشد گیاهی	تعداد شاخساره	تعداد گره	تعداد میانگره
Control	6.77^{b}	6.88^{bc}	5.88^{bc}
BAP + 2.2 µM	16.55^{a}	13.77^{a}	12.77^{a}
BAP + 4.4 µM	14.44^{a}	9.55^{b}	8.55^{b}
BAP + 8.8 µM	13.55^{a}	9.55^{b}	8.55^{b}
TDZ + 2.2 µM	6.22^{b}	6.55^{bc}	5.55^{bc}
TDZ + 4.4 µM	5.33^{b}	8.33^{bc}	7.33^{bc}
TDZ + 8.8 µM	4.77^{b}	5.99^{c}	4.99^{c}

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

مقایسه اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی و اثر متقابل آنها نشان داد نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر طول میانگره تأثیر معنی‌داری داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین طول میانگره با میانگین ۰/۲۳ سانتی‌متر در محیط حاوی تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی TDZ و کمترین طول میانگره با میانگین ۰/۲ سانتی‌متر در محیط حاوی تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی BAP مشاهده گردید (جدول ۲). تحقیقات نشان داد که با افزایش غلظت BAP اکثر نوساقه‌ها رشد ضعیف همراه با زردشدگی و خشکیدگی انتهایی را نشان داده که می‌تواند به دلیل افزایش بیش از حد تقسیم سلولی و ایجاد تنش باشد. افزودن تیدیازورون به محیط کشت، رشد شاخه‌ها و تعداد گره و میانگره را کاهش می‌دهد که با کاهش تعداد گره و میانگره، طول میانگره افزایش می‌یابد (Tatari Vernosfaderani *et al*, 2010). نتایج تحقیقات (Khodaee Chegenee *et al*, 2011) در پایه‌های همگروه گلابی OH×F333 و OH×F69 نشان داد که بیشترین طول میانگره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر صفت طول میانگره در پایه سیب M7

نوع هورمون	متر)طول میانگره (سانتی
BAP	0.2b
TDZ	0.23a

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف مشخص شده‌اند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

منابع

1. **Amiri, E. and Elahinia, A. 2011.** Optimization of medium composition for apple rootstocks. African Journal of Biotechnology, 10(18), 3594-3601.
2. **Khodaee Chegenee, F., Ershadi, A., Abdollahi, H. and Esnaashari, M. 2011.** Determination of micropropagation protocol for OH×F333 and OH×F69 pear clonal rootstocks. Seed and Plant Production Journal; 27 (3): 297 – 312. (in Persian)
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. (in Persian)
4. **Nasib, A., Ali, K. and Khan, S. 2008.** An optimized and improved method for the *in vitro* proparagation of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) using coconut water. *Pakistan Journal of Botany*, 40(6), 2355-2360.
5. **Radnia, H. 1996.** Rootstocks pf fruit trees (compilation of Roycroam and Robert F.carlson). First edition. Publication of agricultural education, 637 pp. (in Persian)
6. **Singha, S. 1982.** Influence of agar concentration on *in vitro* shoot proliferation of Mallus sp. Almey and Pyrus communis Seckel. Journal of American Society for Horticultural Science; 107: 657-660.
7. **Taji, A.M., Dodd, W.A. and Williams, R.R. 1997.** Plant tissue culture practice. Third ed. UNI press, Australia, 171 pp.
8. **Tatari Vernosfaderani, M., Askari raberi, N. and Nosrati, S.Z. 2010.** The optimizing of *in vitro* culture for gerbera varieties of Tropic Blend. Journal of the Seed and plant eugenics; 25 (4): 389-401. (in Persian)
9. **Youmbi, E., Ella, B. and Tomekpe, K. 2006.** Effect of thidiazuron on *in vitro* proliferation capacityes of some banana (*Musa* spp.) cultivars with weak multiplication potential. Agricultural Journal of Akdeniz University; 19 (2): 255 – 259.

The effect of two types of plant growth regulators BAP and TDZ on Proliferation of M7 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
Apple tree with the scientific name *Malus domestica* belongs to the Rosaceae family is the most important pome fruit. *In vitro* proliferation is onsidered as conventional techniques for mass propagation of plants. Micropropagation of M7 apple rootstocks, often produces strong plants that will lead to accelerated growth. This method has a high yield, which produces thousands of tiny branching stems (tiny branch). In this study effect of plant growth regulators BAP and TDZ in the concentrations of 0 (control), 2.2, 4.4 and 8.8 µM in B5 media was studied on the number of shoot, number of node, number of internodes and internode length the. Data-taking was performed after four weeks. After analyzing the data, most mean number of shoots (with mean 16.55), the number of nodes (with mean 13.77) and number of internodes (with mean 12.77) was observed in B5 media containing 2.2 µM BAP and lowest mean number of shoots (with mean 4.77), the number of nodes (with mean 5.99) and number of internodes (with mean 4.99) was observed in B5 media containing 8.8 µM TDZ. Most mean length of internodes (with mean 0.23 cm) was observed in B5 media containing TDZ and lowest mean length of internodes (with mean 0.2 cm) was observed in B5 media containing BAP. Rooting this rootstock in the two type of MS and ½MS media, containing two types of plant growth regulators IBA and NAA in four concentration of zero (control), 1.5, 3 and 4.5 mg/l was accomplished. Rooted plantlet, were compatible in four types of growing media large perlite, small perlite, the combination of perlite and peat moss and peat mais.
Keywords: internode, *in vitro*, medium, node, propagation