تأثیر انواع محیط کشت پایه بر پرآوری پایه سیب MM111

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

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. این تحقیق با هدف بررسی اثر پنج نوع محیط کشت پایه شامل MS، 1.5 MS، 2MS، WPM و B5 بر تعداد شاخساره پایه سیب MM111 انجام شد. داده برداری پس از چهار هفته انجام شد. پس از آنالیز داده‌ها بالاترین میانگین تعداد شاخساره (با میانگین ۱۳/۶۶) در محیط کشت 2MS و کمترین میانگین تعداد شاخساره (با میانگین ۵/۹۹) در محیط کشت WPM مشاهده شد. ریشه‌زایی این پایه در دو نوع محیط کشت MS و ½MS حاوی دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA و NAA در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر با موفقیت انجام گردید. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در چهار نوع بستر کشت پرلیت درشت، پرلیت ریز، ترکیب پرلیت و پیت ماس و پیت‌ماس سازگار شدند.

کلمات کلیدی: تکثیر، درون‌شیشه، شاخساره، گیاهان، محیط کشت

مقدمه

سیب متعلق به جنس مالوس[1] زیرتیره پومویده و تیره گلسرخیان می‌باشد. پایه MM111 جزء پایه‌های نیمه قوی 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 نورسرن اسپای 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 نمی‌باشند 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 می باشد (Radnia, 1996).

کشت بافت گیاهی عمدتاً در علوم گیاهی استفاده می‌شود و دارای چندین کاربرد تجاری است از جمله الف: ازدیاد غیرجنسی گیاهان به طریق تولید کلونی. ب): حفظ گونه‌های کمیاب و در معرض انقراض گیاهان. ج): تولید گیاهان عاری از عوامل بیماری‌زا. د): ایجاد گیاهان هیبرید. ه): دگر گرده‌افشانی گونه‌های دارای خویشاوندی خیلی دور و سپس کشت بافت رویان‌های حاصله (نجات جنین). و): مهندسی ژنتیک. ز): تولید گیاهان دابل هاپلوئید از کشت‌های

[1]. Malus

هاپلوئید بوسیله تیمار با کلشی‌سین که باعث مضاعف شدن تعداد کروموزوم‌ها می‌شود و برای دستیابی سریع به لاین های هوموزیگوس در برنامه‌های اصلاحی مناسب می‌باشند (Nouri Ganbalani, 1992).

افزودن ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$، KH_2PO_4 و ترکیبات نیتروژن به محیط موراشیگ و اسکوگ (MS) باعث بهبود رشد شاخه‌ها و بالاترین غلظت (۲.۵xMS) ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 بهترین کیفیت را در گلابی پیرودوآرف نشان داد ترکیبات $CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4 بر بیشتر پاسخ‌های رشدی گیاهان و ژنوتیپ‌ها اثر می‌گذارد (Reed *et al.*, 2012). محققان دو نوع سیتوکینین (BA و کینتین) در غلظت‌های مختلف را برای پرآوری رقم راکس‌دی‌والینهو به کار بردند. در این آزمایش، بیشترین تعداد شاخه در هر ریزنمونه در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین بدست آمد (Fraguas *et al.* 2004). ترکیب محیط کشت بر میزان پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دار تأثیر داشت، بطوریکه پس از انجام ۹ زیرکشت، تعداد شاخساره در محیط QL در مقایسه با محیط MS و WP به طور معنی‌داری کاهش یافت (Andreu and Marin, 2005).

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از پنج نوع محیط کشت پایه حاوی ترکیبات مختلف ($CaCl_2$، $MgSO_4$ و KH_2PO_4) شامل MS، 1.5MS، 2MS، WPM و B5 استفاده شد که کلیه محیط‌های مورد استفاده با ۱ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل‌آدنین تنظیم شد. هر شیشه کشت حاوی ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت است که به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در دستگاه اتوکلاو استریل شد. مواد گیاهی مورد آزمایش در شرایط دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی ایجاد شده توسط لامپ‌های فلئورسنت سفید و دمای شبانه‌روزی ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آزمایش به‌صورت طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه ریزنمونه در هر شیشه انجام شد شاخص مورد نظر در این آزمایش شامل تعداد شاخساره می‌باشد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه تأثیر نوع محیط کشت نشان داد در پایه سیب MM111، نوع محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر تعداد شاخساره داشت در حالیکه نوع محیط کشت بر طول شاخساره تأثیر معنی‌داری نداشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ۱۳/۶۶ در محیط کشت 2MS و کمترین تعداد شاخساره با میانگین ۵/۹۹ در محیط کشت WPM در پایه سیب MM111 مشاهده گردید. بین محیط کشت‌های 1.5MS، 2MS و B5 همچنین بین محیط کشت‌های MS، WPM و B5 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید در حالیکه بین محیط کشت‌های 1.5MS و 2MS با MS و WPM تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۱). تنوع و تفاوت ارقام در طول ریزازدیادی به‌وسیله تحقیقات قبلی گزارش شده است (Perose *et al.*, 1998). این تفاوت می‌تواند به دلیل نیازهای مختلف هر رقم برای مواد معدنی، ویتامین‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و سایر موارد باشد. در هر رقم، تفاوت در تحریک رشد ممکن است با اختلافات در محتوای عناصر ماکرو و میکرو در ارتباط باشد (Skiada *et al.*, 2010). بنابراین نتایج بدست آمده در یک محیط کشت خاص ممکن است با نتایج بدست آمده از ژنوتیپ‌های دیگر متفاوت باشد (Lu, 2005). نتایج تحقیقات (Khalili, 2011) که در آزمایشی بر روی انگور رقم قزل اوزوم از پنج نوع محیط کشت MS، B5، WPM، N&N و Knoudsen-C استفاده کرد که بیشترین میانگین تعداد شاخساره را در محیط کشت B5 بدست آوردند که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر نوع محیط کشت بر صفت تعداد شاخساره در پایه سیب MM111

نوع محیط کشت	تعداد شاخساره
MS	8.10b
1/5 MS	13.55a
2 MS	13.66a
WPM	5.99b
B5	9.66ab

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

منابع

1. **Androu, P. and Marin. J.A. 2005.** *In vitro* culture establishment and multiplication of the prunus rootstock Adesto 101 (*P. Insititia* L) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulturae, 106 (2): 258-267.
2. **Fraguas, C.B. Pasqual, M. Dutra, L.F. and Cazzeta, O. 2004.** Micropropagation of fig (*Ficus carica* L.) 'Roxo de Valinhos' plants. *In vitro* Cellular and Developmental Biology- Plant, 40 (5): 471-474.
3. **Khalili, H. 2011.** *Micropropagation of vitis vinifera cv. ghizil ouzum*. Master's thesis. Faculty of agriculture urmia univercity, 84 p. (in Persian)
4. **Lu, M.C. 2005.** Micropropagation of *Vitis thunnbergii* Sieb et Zucc., a medicinal herb, throuth high frequency shoot tip culture. *Scientia Horticulture*, 107 (1), 64 – 69.
5. **Peros, J.P., Torregrosa, L. & Berger, G. 1998.** Variablity among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity. *Journal of Experimental Botany,* 49 (319), 171 – 179.
6. **Radnia, H. 1996.** Rootstocks pf fruit trees (compilation of Roycroam and Robert F.carlson). First edition. Publication of agricultural education. 637 pp. (in Persian)
7. **Reed, B.M., DeNoma, J.S., Wada, S. and Postman, J.D. 2012.** Micropropagation of pear (*Pyrus* sp). Chapter 1. In: Lambardi, M., Ozudogru, E.A. and Jain, S.M (eds) Protocols for micropropagation of selected economically important horticultural plants. Humana, New York, pp 3-18.
8. **Nouri Ganbalani, Gh. 1992.** Experience in the field of plant tissue culture (written by Dodds, John H., Lorraine and Roberts). Tabriz University Press. pp 1-160.
9. **Skiada, F., Grigoriadou, K. & Eleftheriou,E.P. 2010.** Micropropagation of *Vitis vinifera* L. cv. Malagouzia and Xinomavro. *Central European Journal of Biology*, 5 (6), 839 – 852.

The Effect Of Basal Media Type On Proliferation 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: ati.moshari@yahoo.com
[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
Micropropagation *in vitro* regeneration of organs, plants, tissues, cells and proliferation, is similar to the one selected genotypes or *in vitro* culture technique using. The purpose of this plant micropropagation process, is production of clones (actual copy of a plant in a large number). This study aimed to investigate the effect of five types of basal media, including MS, 1.5 MS, 2MS, WPM and B5 on number of shoot of apple rootstocks MM111. Data-taking was done after four weeks. After analyzing the data the highest mean number of shoots (with mean 13.66) in 2MS media and the lowest mean number of shoots (with mean 5.99) was observed in the WPM media. 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*: *in vitro*, media, plants, propagation, shoots**