تأثیر محیط کشت‌های مختلف بر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی پایه پنتا

زیبا بالاپور[1*]، حسین حسینی مقدم [2]، مهدی زارعی[2]، مهدی ملاشاهی[2]
[1*]دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی دانشگاه گنبدکاووس
[2]استادیار و عضو هیئت‌علمی دانشگاه گنبدکاووس
*نویسنده مسئول: z.balapoor70@yahoo.com

چکیده

با توجه به مشکلات ناشی از کاربرد پایه‌های بذری و غیر یکنواخت در باغ‌های درختان میوه هسته‌دار، استفاده از پایه‌های یکنواخت و سازگار با این درختان الزامی است. به‌منظور تعیین بهترین محیط کشت، ریزنمونه‌های جوانه‌های انتهایی و جوانه‌های جانبی پایه پنتا (*Prunus domestica*) در اوایل بهار تهیه شدند. پس از ضدعفونی با کلرید جیوه در شرایط درون شیشه‌ای روی محیط‌های کشت (MS،MS1/2 و B5) مورد بررسی قرار گرفتند. شرایط اتاق رشد ۱۶ ساعت دوره نوری و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۳ درجه سانتی‌گراد در شب بود. رطوبت نسبی ۴۵ درصد و شدت نور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس تنظیم شد. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار و ۳ نمونه در هر تکرار به اجرا درآمد. طبق نتایج، ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS بیشترین شاخه‌زایی را داشتند. در محیط کشت B5 ریزنمونه‌ها رشد خوبی نداشتند، این محیط کشت به ایجاد کلروز در گیاهچه‌های حاصل از ریزنمونه‌ها منجر شد. به‌طورکلی نتایج حاصله نشان داد که استفاده از محیط کشت MS کامل برای ریزازدیادی پایه پنتا بر سایر محیط کشت‌های آزمایش شده مانند B5 و MS1/2 در مرحله شاخه‌زایی و ریشه‌زایی برتری داشته و نکته مهم این‌که برای ریشه‌زایی این پایه‌ها دوره تاریکی دارای اهمیت است.

کلمات کلیدی: **ریزازدیادی، B5، کلروز، ریزنمونه، کلرید جیوه**

مقدمه

پنتا با نام علمی (*Prunus domestica*) از خانواده گل‌سرخیان (Rosaceae) و سرده Prunus که یکی از پایه‌های درخت آلو و سلکسیونی از بذر گرده‌افشانی آزاد رقم Imperial Epineuse می‌باشد. سازگاری بسیار مناسب با اکثر ارقام هلو و شلیل و تعدادی دیگر از گونه‌های پرونوس دارد. پنتا از طریق قلمه و کشت بافت تکثیر می‌شود. اغلب پایه‌های مورد استفاده برای درختان میوه هسته‌دار در ایران بذری است و درختان روی این پایه‌ها از نظر رشد رویشی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها (به دلیل تأثیر متقابل پایه و پیوندک) یکسان نیستند. در پایه‌های رویشی درختان میوه هسته‌دار خصوصیات گیاه پایه به‌طور کامل منتقل می‌شود و این ویژگی خاصی است که در نهال‌های حاصل از بذر دیده نمی‌شود. علاوه بر این باغ‌های احداث شده با پایه‌های رویشی در مقایسه با پایه‌های بذری، محاسنی همچون یکنواختی اندازه درخت، کنترل رشد، مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، کیفیت بهتر، کشت متراکم و افزایش عملکرد در واحد سطح دارند. این دامنه وسیع کارایی پایه‌های رویشی به کاهش هزینه‌های تولید و ایجاد درآمد بالاتر برای باغدار منجر می‌شود (Mahdaviyan et al., 2011).

در سال‌های اخیر ریز ازدیادی پایه‌ها و گونه‌های مختلف جنس پرونوس از ابعاد گوناگون مانند مقایسه منابع مختلف آهن در محیط کشت (Molassiotis *et al.*, 2003)، تأثیر ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (Pruski *et al.*, 2000)، فراوانی واکشت شاخساره (Grant and Hammatt, 1999) تأثیر کربوهیدرات‌ها Nowak *et* (Harada and Murai, 1996؛*al.*, 2004) مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفته است. در این تحقیق تأثیر محیط کشت و

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی جهت دستیابی به یک محیط کشت مناسب برای ریزازدیادی پایه پنتا مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ریز نمونه‌ها از جوانه‌های انتهایی و جانبی در اوایل بهار تهیه شد و پیش سترون‌سازی ریز نمونه‌ها با استفاده از آب و مایع ظرفشویی (دی ترژن) انجام شد. ضدعفونی با کلرید جیوه ۰/۰۳ درصد انجام شد. سپس سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. دو انتهای سفید شده نمونه با تیغ اسکالپل برش داده شده و نمونه‌ها به محیط کشت‌های پر آوری انتقال داده شدند. محیط‌های کشت پرآوری شامل سه محیط بودند. که برای این منظور از محیط کشت (MS ؛MS1/2؛ B5) با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) استفاده شد. pH برای همه‌ی محیط های کشت ۵/۸ بود که قبل از اتوکلاوکردن تنظیم شده بود. تمامی محتویات محیط کشت با هم اتو کلاو شدند. به منظور ارزیابی محیط کشت‌های مختلف برای پرآوری، تعداد شاخساره‌های تولیدی در هر تکرار شمارش و سپس نرخ تکثیر که حاصل تعداد شاخساره تولید شده به ازای شاخساره کشت شده بود ارزیابی شد. در مرحله ریشه‌زایی نیز شاخساره‌ها با طول تقریبی ۳-۲ سانتی‌متر به شیشه‌های کشت (۲۸۰) میلی‌لیتر حاوی ۳۰ میلی‌لیتر از محیط‌های پایه شامل (MS ؛MS1/2؛ B5) با ۰/۵ میلی‌گرم در (IBA) به همراه ۰/۶ درصد (وزن به حجم) آگار مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج مربوط به محیط‌های ریشه‌زایی نیز همچون محیط‌های پرآوری در پایان هفته چهارم مورد ارزیابی قرار گرفتند.

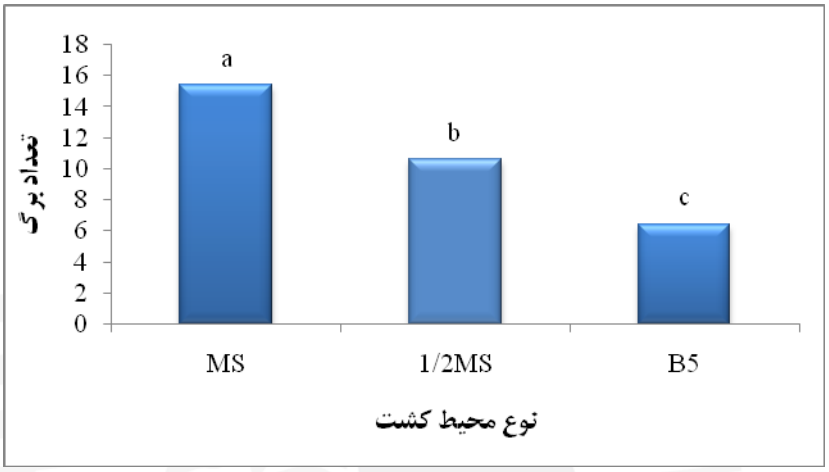
آزمایش‌ها در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی اجرا شد. هر تیمار شامل ۱۵ تکرار و هر تکرار حاوی سه ریزنمونه بود. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزارJMP انجام شد.

شکل ۱- ریزنمونه‌های کشت شده در اتاقک رشد

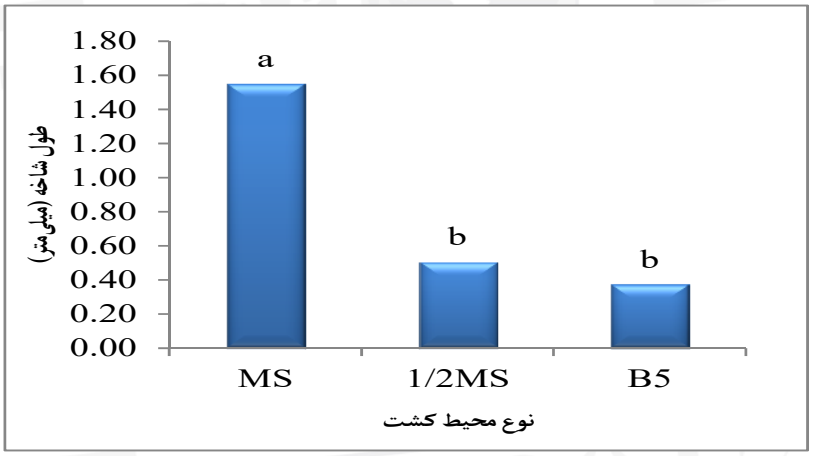
نتایج و بحث

بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش، اختلاف معناداری بین محیط‌های مختلف کشت وجود داشت (شکل ۱). در رابطه با تمام مؤلفه‌های مورد مطالعه ازجمله تعداد برگ، تعداد شاخه، طول شاخه، بیش‌ترین تعداد برگ و شاخه‌زایی در محیط کشت MS بدست آمد که می‌تواند به دلیل وجود مقادیر بالای نیتروژن (نیترات آمونیوم) در ترکیب آن باشد. بر این اساس کمترین تعداد برگ و شاخه‌زایی به ترتیب در محیط کشت های MS1/2 وB5 بدست آمد. گیاهچه‌ها در محیط MS شاداب‌تر، دارای رشد طبیعی‌تر و بیشتری نسبت به گیاهچه های رشد یافته در سایر نمک‌ها بودند. به‌طورکلی می‌توان گفت ریزنمونه‌ها در نمک MS از رشد کیفی مطلوب‌تر و

نرمال‌تری برخوردار بودند. در مقابل گیاهچه‌هایی که در نمک B5 رشد یافته بودند، حالت بدشکل و شیشه‌ای شده داشته و ساقه‌ها آبدار، برگ‌ها باریک و لوله‌ای و دارای رشد غیرطبیعی بودند. محیط کشت Gamborg B5 از نظر ترکیبات با محیط کشت MS در مقادیر مواد مورد استفاده تفاوت دارد، فاقد گلیسین است ولی دارای تیامین بیشتری از محیط کشت MS است. رشد گیاهچه‌ها در محیط MS1/2 نسبت به محیط MS ضعیف‌تر بود، برگ‌ها کمی باریک و کشیده و به رنگ سبز تیره بودند.

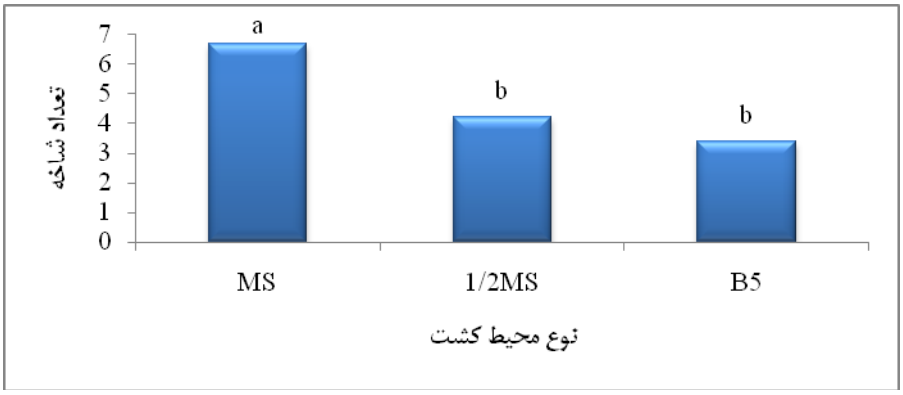


شکل ۲ – اثر محیط‌های مختلف کشت بر تعداد برگ (عدد)



شکل ۳- اثر محیط‌های مختلف کشت بر طول شاخه

نتایج آنالیز داده‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تعداد برگ‌ها بود. ریزنمونه‌های رشد یافته در محیط‌های مختلف کشت از نظر تعداد برگ اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد از خود نشان دادند. می‌توان گفت که کارایی محیط کشت وابسته به ژنوتیپ می‌باشد، به‌عنوان مثال در کشت درون شیشه بادام محیط AP برای استقرار کشت‌های رقم Nonpareil مناسب بوده درحالی‌که برای رقم Ne Plus Ultra محیط MS از کارایی بهتری برخوردار بوده (Nowak et al., 2004).



شکل ۳- اثر محیط‌های مختلف کشت بر شاخه

ژانگ و همکاران اعلام کردند که استقرار و پرآوری *Prunus virginiana* در محیط MS بهتر از WPM عمل کرد که نتایج آن‌ها در راستای نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد.

منابع

Grant, N. J., and Hammatt, N. 1999. Increased root and shoot production during micropropagation of cherry and apple rootstocks. Effect of subculture frequency. Tree Physiology 19: 899-90.

Harada, H., and Murai, Y. 1996. Micropropagation of Prunus mume. Plant Cell Tissue and Organ Culture 46: 265-267

Molassiotis, A. N., Dimassi, K., Therios, I., and Diamantidis, G., 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF677 (*Prunus amygdalus*×*Prunus persica*) explants *in vitro*. Biol. Plant 47: 141- 144.

Mahdaviyan,M. Bozari, N. Abdollahi, H. (2011). Effects of Culture Media and Growth Regulators on Proliferation and Rooting of a Vegetative Mahlab Rootstock (SL-64).seed and plant production Journal.1-26.15-26.

Nowak, B., Miczynski, K., and Hudy, L. 2004. Sugar uptake and Utilization during adventitious bud differentiation on *in vitro* leaf explants of 'Wegierka Zwykla' plum (*Prunus domestica*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 76: 255-260.

Channuntapipat C, Wirthensohn M, Ramesh SA, Battle I, et al. 2003. Identification of incompatibility in genotypes of almond (Prunus dulcis) using specific primers based on the introns of the s-alleles. Plant Breed.; 122(2): 164-168.

Pruski, K., Lewis, T., Astatkie, T., and Nowak, J. 2000. Micropropgation of chokecherry and pincherry cultivars. Plant Cell , Tissue and Organ Calture 63:93-100 .

Ruzic, D., Saric, M., Cerovic, R., and Culafic, L. 2003. Contents of macroelements and growth of sweet cherry rootstocks *in vitro*. Biol. Plant 47: 463-46593-100.

Zhang Z., Dai W.H., Cheng Z.M. and Walla J.A. 2000. shoot tip culture micropropagation system for chokecherry. J. Env. Hort.; 18(2): 234-237.

The Effect of Culture Media on Shoot and Root Initiation of Penta Rootstock under *In Vitro* Condition

Ziba balapour[1]*, Hossein Hosseini Moghaddam[2], Mehdi Zarei[2], Mehdi Mollashahi[2]
[1]MSc. student of Biotechnology, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
[2]Assistant professor, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
Corresponding Author: z.balapoor70@yahoo.com

Abstract

According to difficulties caused by seedling rootstocks and causing heterogeneous orchard trees, using genetically unique and compatible rootstocks are obligated to have homogenous orchard. In order to find the best culture medium, the explants of shoot tip and auxiliary buds of Penta (*Prunus domestica*), collected at the beginning of spring. After disinfecting with mercuric chloride the explants were planted in different medium (B5, MS1/2, MS). Based on the current study, the most shoots was produced in MS medium compound. In B5 medium compound, explants did not demonstrate proper growth and more over the leaves were affected by the chlorosis phenomenon. Growth chamber was adjusted with 16 hours light and 25°C on day time and 23°C at night. Relative humidity was 45% and light intensity adjusted at 2500-3000 lux. Current results showed that MS medium has priority to others (B5, MS1/2) for shoot and root regeneration and in addition results indicated that dark period is important for root initiation. This experiment was designed as factorial in the form of completely random plan with 15 replication and 3 sample in each replication.

***Keywords*: Micropropagation, B5, chlorosis, explants, mercuric chloride**