



تأثیر دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد و طول ریشه در سه روز تاریکی در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای پایه سیب M7

عاطفه مشاری نصیرکندی^{۱*}، بهمن حسینی^۲، علیرضا فرخزاد^۲، لطفعلی ناصری^۴
^{۱*} دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۲ دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۳ استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه ارومیه
^۴ نویسنده مسئول: ati.moshari@yahoo.com

چکیده

تکثیر درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های مرسوم برای تولید انبوه گیاهان است. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گردید. در این تحقیق اثر دو نوع محیط کشت پایه MS و MS 1/2 حاوی دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد 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 داده‌ها بیشترین میانگین تعداد ریشه (با میانگین ۱۱/۱۰) در محیط کشت MS 1/2 حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و طول ریشه (با میانگین ۳/۹۶ سانتی‌متر) در محیط کشت MS 1/2 حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید

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

مقدمه

سیب یکی از میوه‌های دانه‌دار و متعلق به تیره گل‌سرخیان^۱ و زیر تیره پوموئیده^۲ است. در سال‌های اخیر استفاده از پایه‌های 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 (محسنی آذر، ۱۳۸۸). 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. 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. از آنجائی که تولید زود هنگام در هکتار در بیش‌تر باغ‌های جدید یک هدف می‌باشد و با افزایش تراکم کاشت افزایش می‌یابد. محصول سنگین اولیه، رشد شاخه‌ها را کاهش داده و حفظ اندازه درخت در محدوده فضای منظور شده را آسان‌تر می‌سازد اما در خاک‌های فقیر این گونه پایه‌ها به دلیل عدم رشد کافی درختان صدمه خواهند دید (رادنیا، ۱۳۷۵).

تکثیر درون شیشه‌ای یکی از تکنیک‌های مرسوم برای تولید انبوه گیاهان است، همچنین به منظور حفاظت از ژنوتیپ‌های برتر، برنامه‌های اصلاح درختان اغلب بر استفاده از روش ازدیاد رویشی، (چه به وسیله روش‌های کلاسیک اصلاح نباتات و چه تکنولوژی انتقال ژن)، تکیه دارد. ژنوتیپ‌های برتر در درختان میوه به دلیل وجود هتروزیگوسی بالا

^۱. Rosaceae

^۲. Pomoideae



در نتاج آن‌ها، حتما 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 (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۹).

محققان در مرحله ریشه‌زایی درون شیشه‌ای انجیر ارقام بربا و لامپا برانکا هورمون‌های IBA و NAA را در غلظت 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. طولیترین 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 به کار برده 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 1/2 حاوی دو نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی اسیدایندول بوتیریک^۳ (IBA) و اسیدنفتالین استیک^۴ (NAA) در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل (۲×۲×۴) در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای این منظور شاخه‌چه‌های پایه سیب M7 در تیمارهای آزمایشی شامل MS و MS 1/2 با غلظت‌های مختلف اسیدایندول-بوتیریک و اسید نفتالین استیک 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 شاخه‌چه‌های مورد استفاده برای ریشه‌زایی به صورت جداگانه به مدت سه روز در محیط حاوی تنظیم‌کننده رشد گیاهی و در تاریکی قرار گرفتند. همزمان با آغازش کالوس‌های تازه و سفید رنگ در انتهای آن‌ها، به محیط عاری از تنظیم‌کننده رشد گیاهی منتقل شدند. شاخه‌های مورد نظر شامل میانگین تعداد ریشه به ازاء هر ریزشاخه و میانگین طول ریشه‌چه‌ها-ی 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 تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد در پایه سیب M7 اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصد تأثیر معنی‌داری بر تعداد ریشه داشت. همچنین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی و اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصد بر تعداد و طول ریشه معنی‌دار شده است.

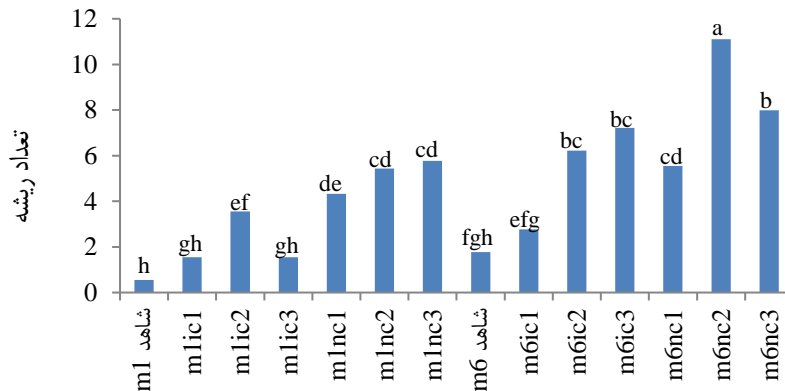
مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۱). حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۱۱/۱۰ در محیط کشت MS 1/2 حاوی NAA در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۰/۵۵ در محیط کشت MS فاقد تنظیم‌کننده رشد گیاهی (شاهد) مشاهده گردید. بین تیمار m6nc2 با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. بین تیمارهای m6nc3 و m6ic3 am6ic2 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. در محیط‌های کشت MS 1/2 عناصر معدنی به نصف کاهش می‌یابد که تأمین مواد غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تشکیل ریشه‌های نابجا

^۳ .Indol-3-Butyric-Acid

^۴ .1.Naphthaleneaceticacid



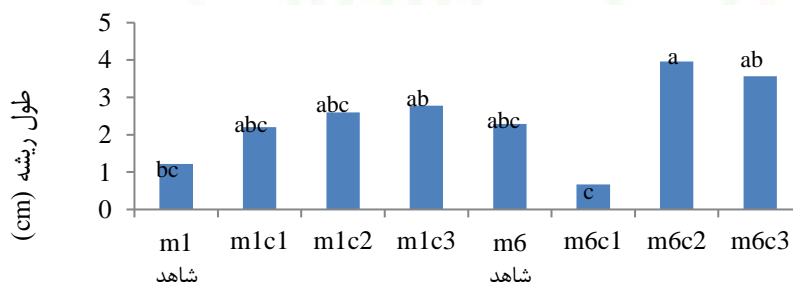
مرحله کلیدی برای ازدیاد رویشی است که تشکیل آن توسط ژنتیک، شرایط محیطی و عوامل داخلی تنظیم می‌شود (Sorin *et al.*, 2005).



نوع محیط کشت و غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد گیاهی (میلی گرم بر لیتر)

نمودار « ۱ » مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می باشد.
m1 : محیط کشت MS، m6 : محیط کشت 1/2MS، i : IBA، n : NAA، c1 : غلظت 1/5 میلی گرم در لیتر، c2 : غلظت 3 میلی گرم در لیتر و c3 : غلظت 4/5 میلی گرم در لیتر

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی IBA نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۲). حداکثر طول ریشه با میانگین 3/96 سانتی متر در محیط کشت 1/2MS در غلظت 3 میلی گرم در لیتر IBA و حداقل طول ریشه با میانگین 0/67 سانتی متر در محیط کشت MS در غلظت 1/5 میلی گرم در لیتر IBA مشاهده گردید. با کاربرد بیش از حد اکسین، طول ریشه های تولید شده کوتاه تر می گردد. یکی از روش های حفظ تعادل متابولیسمی گیاهان در غلظت های بالای تنظیم کننده رشد گیاهی، ممانعت از عمل و یا حتی تجزیه تنظیم کننده های رشد گیاهی می باشد (Sorin *et al.*, 2005).

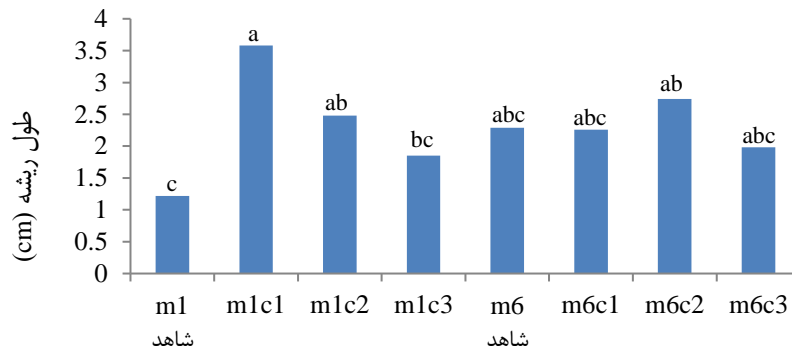


نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی (میلی گرم بر لیتر)

نمودار « ۲ » مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی IBA بر طول ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می باشد.
m1 : محیط کشت MS، m6 : محیط کشت 1/2MS، c1 : غلظت 1/5 میلی گرم در لیتر، c2 : غلظت 3 میلی گرم در لیتر و c3 : غلظت 4/5 میلی گرم در لیتر



مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی NAA نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۳). حداکثر طول ریشه با میانگین ۳/۵۸ سانتی‌متر در محیط کشت MS در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و حداقل طول ریشه با میانگین ۱/۲۲ سانتی‌متر در محیط کشت MS در غلظت صفر (شاهد) مشاهده گردید.

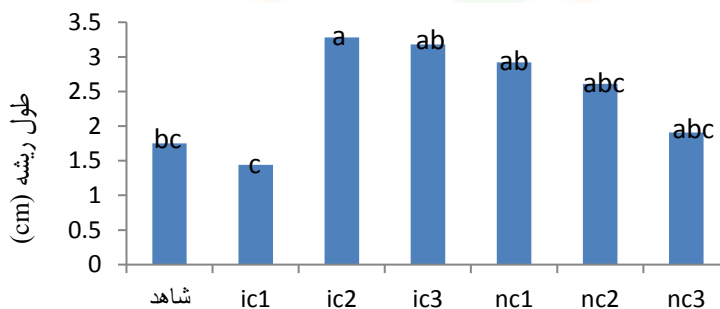


نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی (میلی‌گرم بر لیتر)

نمودار «۳» مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی NAA بر طول ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد.

m1 : محیط کشت MS، m6 : محیط کشت ۱/۲MS، c1 : غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، c2 : غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و c3 : غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۴). حداکثر طول ریشه با میانگین ۳/۲۸ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی IBA در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و کمترین طول ریشه با میانگین ۱/۴۴ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی IBA در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید. IBA نسبت به NAA تأثیر بیشتری بر طول ریشه نشان داد و همچنین باعث کاهش تشکیل کالوس گردید. ریزنمونه‌ها نیاز به نوع و غلظت مناسبی از اکسین دارند تا قادر باشند به علایم و سیگنال‌های ارگانوژنیک پاسخ دهند. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Butiuc-keul و همکاران (۲۰۰۸) که گزارش دادند که IBA بیشترین تأثیر را در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای انگور رقم Perlette داشت مطابقت نشان داد.



نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی (میلی‌گرم بر لیتر)

نمودار «۴» مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IBA و NAA بر طول ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد.

ic1 : غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، c1 : غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر، c2 : غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و c3 : غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر



منابع

رادنیا، ح. ۱۳۷۵. پایه‌های درختان میوه (تألیف روی سی‌رم و رابرت اف کارلسون). چاپ اول. نشر آموزش کشاورزی، ۶۳۷ ص.

محسنی‌آذر، م.، ناظری، س.، قدیم‌زاده، م. و ملبوبی، م.ع. ۱۳۸۸. بررسی تأثیر نوع محیط کشت و برخی ترکیبات بیوشیمیایی روی پرآوری درون شیشه‌ای سیب پاکوتاه گمی الماسی (*Malus domestica* Borkh). مجله‌ی فن-آوری تولیدات گیاهی، ۱ (۲): ۳۳-۴۱.

مهدویان، م.، بوذری، ن. و عبدالهی، ح. ۱۳۸۹. اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری و ریشه‌زائی پایه‌ی رویشی محلب (سنت لوسی ۶۴). مجله‌ی به‌نژادی نهال و بذر، ۲۶ (۱): ۱۵-۲۶.

Butiuc-Keul, A.L., Cotse, A., Bcraaciunaa, A., Halmagyl, A., Deliu, F., Iliescu, M. and Iuoras, R. 2008. *In vitro* clonal propagation of several grapevine cultivars. International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics, 843: 151-156.

Hepaksoy, S. and Aksoy, U. 2006. Propagation of *Ficus carica* L. clones by in vitro culture. Biology Plantarum; 50 (3): 433-436.

Nobre, J. and Romano, A. 1997. *In vitro* cloning of *Ficus carica* L. adult trees. In I International Symposium on Fig; 480: 161-164.

Sorin, C., Bussell, J.D., Camus, I., Ljung, K., Kowalczyk, M., Geiss, G., Mckhann, H., Garcion, Ch., Vaucheret, H. and Sandberg, G. 2005. Auxin and light control of adventitious rooting in *Arabidopsis* require argonute1. American Society of Plant Biologists, 17 (5): 1343-1359.

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 M7 apple rootstock

Atefeh moshari nasirkandi^{*1}, Bahman hosseini², Alireza farokhzad³, Lotfali naseri⁴

^{*1}Ph.D. student of breeding and biotechnology of horticultural plants, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University: ati.moshari@yahoo.com

^{2,4}Associate proffesor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University

³Assistant proffesor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University

*Corresponding Author: ati.moshari@yahoo.com

Abstract

In vitro proliferation of conventional techniques for mass production plant. This factorial experiment in a completely randomized design with three replications. In this study was studied effect of two type of basal medium MS and ½ MS contain two type of plant growth regulations IBA and NAA in four concentration 0 (control), 1.5, 3 and 4.5 mg/l in stage of three day darkness on characteristics root number and root length. Vector data after four weeks. After analyzing the data of the highest average of root number (average 11.60) in ½MS medium supplemented with 3 mg/l NAA and root length (average 3.96 cm) was observed in ½MS medium supplemented with 3 mg/l IBA.

Keywords: medium, micropropagation, plant, tissue culture