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

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

[۱] دانشجوی دکتری اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهان 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.mohari@yahoo.com

چکیده

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام گردید. در این تحقیق اثر دو نوع محیط کشت پایه MS و MS ½ حاوی دو نوع تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA و NAA در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر در مرحله چهار 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 ۹/۸۸) در محیط کشت ½MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و طول ریشه (با میانگین ۳/۸۸ سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: تکثیر، ریزازدیادی، محیط کشت

مقدمه

سیب یکی از میوه‌های دانه‌دار و متعلق به تیره گل‌سرخیان[۱] و زیر تیره پوموایده[۲] است. پایه M7 به سهولت ازدیاد می‌شود از اینرو، یک پایه مناسب برای خزانه‌کاران و هم برای باغداران محسوب می‌شود. از مهمترین عیب پایه M7 می‌توان به تمایل آن برای تولید پاجوش ریشه اشاره نمود. 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. (رادنیا، ۱۳۷۵).

برای ازدیاد مؤفق و نگهداری درون شیشه، انتخاب محیط کشت صحیح یکی از مهمترین گام‌ها در توسعه یک دستورالعمل مؤفق است توسعه یک محیط کشت مناسب برای یک محصول ویژه می‌تواند کاملاً پیچیده باشد زیرا پاسخ به محیط کشت، اغلب وابسته به ژنوتیپ می باشد (Ramage and Williams, 2002).

بهترین شرایط برای القای ریشه‌دهی در پایه‌های تترا، نماگارد وGF677 محیط حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر ایندول-بوتیریک‌اسید و تیمار تاریکی بود (Pilar and Marin, 2005). گیاهچه‌های قرار گرفته در محیط کشت حاوی نفتالین‌استیک-اسید پینه‌زایی نکردند و تعداد ریشه‌ی بیشتری نیز تولید کردند و کیفیت مطلوبی داشتند (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۹). غلظت ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌بوتیریک‌اسید برای ریشه‌زایی پایه سخت ریشه‌زایی گزارش شد که حاصل تلاقی طبیعی زردآلو و گوجه بود (ذوالفقاری نسب و همکاران، ۱۳۸۳)

[1]. Rosaceae
[2] .Pomoideae

IrHC2019

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 به صورت فاکتوریل (۴×۲×۲) 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 ½ با غلظت‌های مختلف اسیدایندول‌بوتیریک و اسیدنفتالین‌استیک 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 ریشه‌زائی به صورت جداگانه به مدت چهار 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. شاخص‌های مورد نظر شامل میانگین تعداد ریشه به ازاء هر ریزشاخه و میانگین طول ریشه‌چه‌های هر ریزشاخه در محیط‌های مختلف بود. یادداشت برداری‌ها بر اساس شروع آغازش و رشد ریشه‌ها پس از گذشت چهار هفته انجام شد.

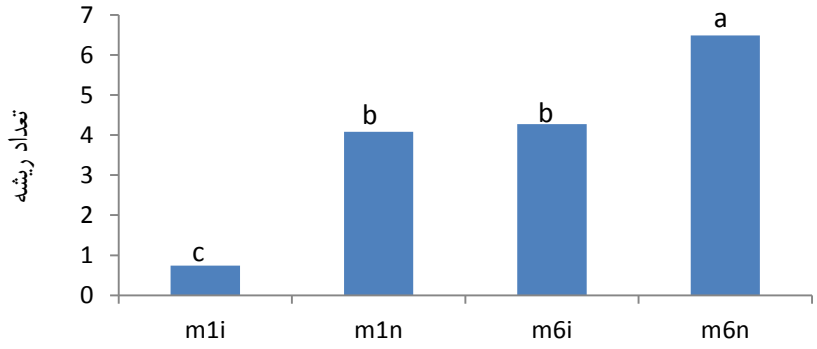
نتایج و بحث

مقایسه اثر نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی نشان داد اثر متقابل نوع محیط کشت و نوع تنظیم-کننده‌رشد گیاهی در سطح احتمال پنج درصد بر تعداد ریشه تولید شده و در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه در پایه سیب M7 معنی‌دار شده است. اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی و همچنین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی در سطح احتمال یک درصدبر تعداد ریشه تولید شده معنی‌دار شده است. همچنین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهیدر سطح احتمال یک درصدبر طول ریشه معنی‌دار شده است. اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهیدر سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه معنی‌دار شده است.

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار۱). حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۶/۴۹ در محیط کشت MS½ حاوی NAA و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۰/۷۴ در محیط کشت MS حاوی IBA مشاهده گردید.بین تیمار m1i و m6n با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید در حالیکه بین تیمار m1n وm6i تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. تفاوت در سن فیزیولوژیک ریزنمونه، پاسخ‌های مختلف در بیان ژن ریزنمونه به تنظیم‌کننده رشد بکار رفته، سطوح داخلی تنظیم‌کننده‌رشد درون‌زا و سایر فاکتورهای دخیل در ریشه‌زایی درون شیشه‌ای مؤثر می‌باشد.نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Yerbolova و همکاران (۲۰۱۳) که گزارش دادند انگورهای رقم Almaty، Zhambyl و Kyzydorda در محیط کشت نصف غلظت MS و ۱ میلی‌گرم بر لیتر IAA بیشترین ریشه‌زایی را داشت، مطابقت نشان نداد.

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

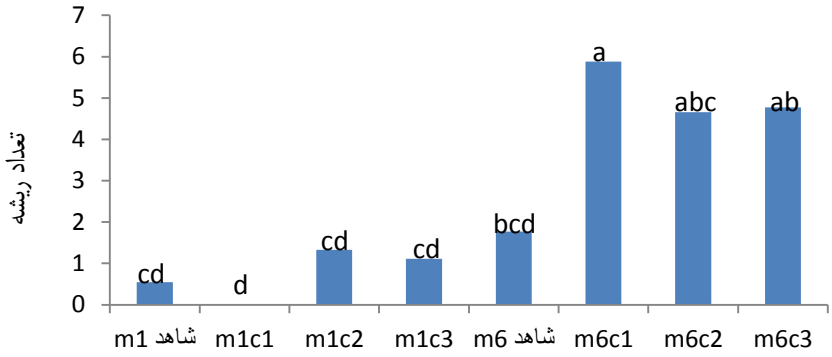
IrHC2019



نوع محیط کشت و تنظیم کننده رشد گیاهی

نمودار۱- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی بر تعداد ریشه پایه سیب M7.
حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن می‌باشد.
m1: محیط کشت MS، m6: محیط کشت ½MS، i: IBA و n: NAA

مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهیIBA نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار۲). حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۵/۸۸ در محیط کشت ½MS در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و حداقل تعداد ریشه با میانگین صفر در محیط کشت MS در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید.بین تیمارهای m6c1، m6c2 و m6c3 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. بین تیمار m1c1 با تیمارهای m6c1، m6c2 و m6c3 تفاوت معنی‌د ار مشاهده گردید. حرکت کند IBA در داخل بافت و همچنین تخریب دیرهنگام آن می‌تواند دلیل اصلی کارایی بهتر این اکسین باشد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Dardi و همکاران (۱۹۹۳) که غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر IBA را جهت ریشه‌زایی اکوتیپ‌های محلب (*Prunus mahlab*) گزارش کرده است، مطابقت نشان نداد.

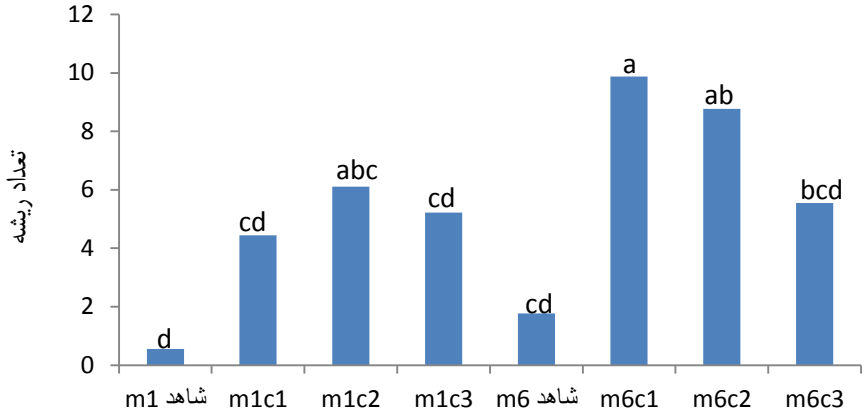


نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی (میلی گرم بر لیتر)

نمودار ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی IBA بر تعداد 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 ½MS، c1: غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، c2: غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و c3: غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر

IrHC2019

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 (نمودار۳). حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۹/۸۸ در محیط کشت ½MS در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۰/۵۵ در محیط کشت MS در غلظت صفر مشاهده گردید. بین تیمارهای m6c1، m6c2 و m1c2 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید.

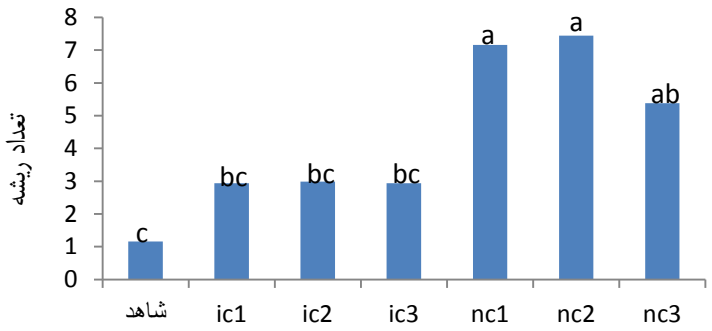


نمودار ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی NAA بر تعداد ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد.

m1 : محیط کشت MS، m6: محیط کشت ½MS، 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 (نمودار۴). حداکثر تعداد ریشه با میانگین ۷/۴۴ در محیط کشت حاوی NAA در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و حداقل تعداد ریشه با میانگین ۱/۱۶ در محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی (شاهد) مشاهده گردید.بین تیمارهای nc1، nc2 و nc3 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر غلظت کافی برای تشکیل ریشه می‌باشد در حالیکه در غلظت پایین‌تر تولید ریشه به اندازه کافی صورت نمی‌گیرد.افزایش در غلظت اکسین در محیط ریشه‌زایی موجب ایجاد ریشه‌های فرعی بیشتر و کوتاه شدن طول ریشه‌ها می‌گردد.اکسین‌ها در تحریک تقسیم سلولی، افزایش طول سلول‌ها، تحریک آغازیدن ریشه، تمایزیابی بافت‌های آوندی و افزایش حرکت مواد در آوندها نقش دارند. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات Mukherje و همکاران (۲۰۱۰) که با مقایسه اثرات سطوح مختلف IAA، NAA و IBA بر ریشه‌زایی پایه‌ی (*V. Champini*) deGrasset نشان دادند که کاربرد ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه‌زایی بهتری را در مقایسه با سایر تنظیم‌کننده‌های‌رشد گیاهی باعث شد و سایر تنظیم‌کننده‌های‌رشد گیاهی منجر به ریشه‌زایی همراه با مقادیر زیادی تشکیل کالوس شدند، مطابقت نشان نداد.

IrHC2019

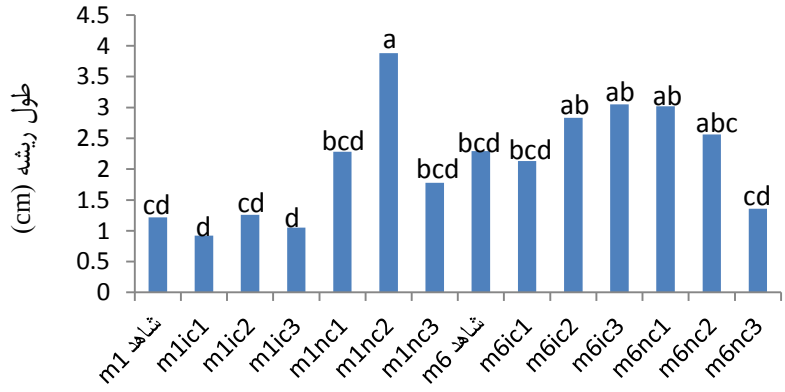


نوع و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی (میلی گرم بر لیتر)

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

i: IBA، n: NAA، 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 ۵). مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی نشان داد که بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (نمودار ۵). حداکثر طول ریشه با میانگین ۳/۸۸سانتی‌متر در محیط کشت MS حاوی NAA در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و حداقل طول ریشه با میانگین ۰/۹۲ سانتی‌متر در محیط کشت MS حاوی IBA در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید.بین تیمار m1nc2 با تیمارهای m6ic2، m6ic3، m6nc1 و m6nc2 تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید. به نظر می‌رسد این پایه نسبت به غلظت نمک‌ها در محیط MS پایداری بیشتری از خود نشان می‌دهد ریشه‌ها به عناصر غذایی کافی برای رشد نیاز دارند به این دلیل محیط کشت ½MS نمی‌تواند مواد غذایی کافی برای طویل شدن ریشه در اختیار ریزنمونه‌ها قرار دهد. ریزنمونه‌ها نیاز به نوع و غلظت مناسبی از اکسین دارند تا قادر باشند به علایم و سیگنال‌های ارگانوژنیک پاسخ دهند.



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

نمودار ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های‌رشد گیاهی IBA و NAA بر تعداد ریشه پایه سیب M7. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن می‌باشد.

i: IBA، n: NAA، c1: غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، c2: غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر و c3: غلظت ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر

IrHC2019

منابع

ذوالفقاری نسب، ر؛ خسروشاهلی، م؛ گریگوریان، و؛مطلبی آذر، ع. ۱۳۸۳. بررسی افزایش درون‌شیشه‌ای دورگه طبیعی زردآلو× گوجه. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۵، ۲، ص. ۹۲-۸۱.

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

Dardi, G., Vito, G. and Standardi, A. 1993. *In vitro* mass propagation of eleven *Prunus mahaleb* ecotypes. In II International Cherry Symposium, 410: 477-484.

Mukherjee, D., Husain, N., Misra, S.C. and Rao, V.S. 2010. In vitro propagation of a grape rootstock, deGrasset (*Vitis champinii* Planch): Effect of medium compositions and plant growth regulators. Scientia Horticulturae, 126 (1): 13-19.

Pilar, A. and Marin, J.A. 2005. *In vitro* culture establishment and multiplication of the Prunus rootstock 'Adesoto 101' (*Prunusinsititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. ScientiaHorticulturae, 106: 258-267.

Ramage, C.M. and Williams, R.R. 2002. Mineral nutrition and plant morphogenesis. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology - Plant, 38:116-124.

Yerbolova, S.L., Ryabusbkina, A.N., Oleichenko, N.S., Oleichenko, A.G. and Galiakparov, N.N. 2013. The effect of growth regulators on *in vitro* culture of some Vitis vinifera L. cultivars. World Applied Sciences Journal, 23(1): 76-80.

The effect of two type of plant growth regulations IBA and NAA on root number and root length in four day darkness in the *in vitro* rooting of M7 apple rootstock

Atefeh moshari nasirkandi*[1], Bahman hosseini[2], Alireza farokhzad[3], Lotfali naseri[4]
[1]Ph.D. student of breeding and biotechnology of horticultural plants, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University
[2,4] Associate proffesor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University
[3] Assistant proffesor, Horticulture Department of agriculture Faculty of Urmia University
*Corresponding Author: ati.moshari@yahoo.com

Abstract

The present factorial experiment has been conducted in the form a perfectly randomized design with three repetitions. In this research, the researcher has investigated the effects of two basic culture mediums of MS and ½MS containing two plant growth regulators of IBA and NAA in four different concentrations of zero (control), 1.5, 3, and 4.5 mg/l in the stage of fourth darkness day on traits of number and length of roots. Data collection was performed after four weeks, and once the data were analyzed it was revealed that the highest average number of roots (9.88) was associated with ½MS culture medium containing 1.5mg/l of NAA while the highest root length average (3.88 cm) was associated with MS culture medium containing 3mg/l of NAA.
Keywords: medium, micropropagation, propagation

IrHC2019