بررسی پرآوری شاخساره چهار گونه مرکبات در محیط کشت درون شیشه ای به منظور تهیه پیوندک جهت انجام ریز پیوندی

رباب ناطق زاده [1*]، محمد هدایت [2]، زینب باوی [3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر. 3- دانشجوی کارشناسی ارشد منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر

رباب ناطق زاده*

چکیده

این مطالعه یک تکنیک درون شیشه ای بهبود یافته را برای پرآوری جوانه های شاخه برخی ازگونه های مرکبات جهت اهداف ریز پیوندی بیان می کند. به منظور کشت درون شیشه ایی جوانه از محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) و غلظت های متفاوت از بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید استفاده شد. نتایج نشان داد در پرتقال ناول و گریپ فروت، غلظت 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین به همراه 0/5 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، در لیمو چهار فصل، غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین با 1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و در لیمو شیرین، غلظت 1 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین به علاوه 0/5 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به ترتیب بیشترین تعداد پرآوری شاخساره ها را ایجاد کرده و شاخساره های ایجاد شده طولی بیش از 3 میلی متر داشتند. از نوک شاخساره های به دست آمده می توان به عنوان پیوندک در پژوهش های ریز پیوندی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: بنزیل آدنین، پرآوری، جوانه، ریز پیوندی، کشت درون شیشه ای، نفتالین استیک اسید

مقدمه

مرکبات از مهم ترین درختان میوه نیمه گرمسیری محسوب می شوند و نقش مهمی در اقتصاد کشورهای تولید کننده دارند(1). ریز ازدیادی گونه های مهم تجاری مرکبات توسط چندین پژوهشگر گزارش شده است(6). تولید گیاهان به روش درون شیشه ای از نوک شاخساره های پرآوری شده، قسمتی از گره ساقه، بخشی از اپی کوتیل و ریشه در پرتقال و لیموی آب و در نارنگی ماندرین گزارش شده است (7). دیگر گونه های گیاهی مانند زیتون نیز از ریز نمونه های میان گره باززایی شده اند(2). کشت درون شیشه ای جوانه چوب مرکبات نیازمند تامین محیط غذایی برای شاخه زایی است (3). کلون کردن سریع ژنوتیپ های برگزیده از طریق پرآوری شاخساره به طور گسترده برای بسیاری از گونه های درختان میوه به کار رفته است(7). یک روش برای باززایی گیاهان مرکبات عاری از بیماری های ویروسی و بدون خصوصیات نونهالی لازم است(4). در طیف وسیعی از گونه های مرکبات، پیوند درون شیشه ای برای افزایش مواد گیاهی عاری از ویروس به طور معمول استفاده شده است(7). ریز پیوندی نوک شاخساره یک روش متداول مورد استفاده می باشد(2). هدف از این پژوهش تعیین مناسب ترین محیط کشت برای پرآوری شاخساره چهار رقم مرکبات به منظور تهیه پیوندک برای آزمایش های ریز پیوندی است.

مواد و روش ها

در این پژوهش از نهال ارقام پرتقال ناول (Citrus sinensis cv. Navel)، گریپ فروت (Citrus paradici)، لیموشیرین (Citrus limon) و لیموی چهار فصل ((Limequat (Citrus × floridana) با حدود 2 سال سن در گلخانه شیشه ای نگه داری می شدند، استفاده شد. در مرحله اول شاخه ها هرس شده و تغذیه گیاهان با کود کامل انجام شد. پس از حدود 3-2 هفته که شاخه های جدید شروع به رشد کردند، از شاخه های کوچک دارای جوانه، جهت تهیه ریز نمونه استفاده گردید. به منظور انجام پرآوری در

محیط درون شیشه ای از محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) با افزودن ماده جامد کننده آگار، سوکروز به میزان 30 گرم بر لیتر به همراه کاربرد غلظت های متفاوت بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت، pH روی 0/1±5/7 تنظیم گردید و سپس در شیشه های کشت توزیع شد. سپس ظروف کشت درون اتوکلاو با تنظیم دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1 اتمسفر، به مدت 20 دقیقه گندزدایی شدند. شاخه های کوچک دارای جوانه های با طول حدود 4-3 سانتی متر زیر دستگاه هود در محلول گندزدایی هیپوکلریت سدیم با غلظت 30% به مدت 30 دقیقه قرار داده شده و سپس با آب مقطر، 3 بار شست شو انجام گرفت. در مرحله بعد جوانه ها با طول تقریبی 1/5-1 سانتی متر برش خورده و در شیشه حاوی محیط کشت قرار داده و در شرایط 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی نگه داری شدند.

نتایج و بحث

پس از گذشت حدود 6-4 هفته پرآوری جوانه ها و شاخه زایی انجام شد. در مورد پرتقال ناول، کاربرد محیط کشت حاوی 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین به همراه 0/5 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید استفاده کردند که با نتایج حاصل آزمایش التاف و همکاران (2001) که از همین غلظت برای پرآوری جوانه رافلمون استفاده کرده بودند مطابقت داشت (5). در مقایسه، محیط کشت دارای 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین و 1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید بیشترین میزان پینه زایی را در ریز نمونه ها ایجاد کرد. استفاده از محیط کشت حاوی 1 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین موجب پرآوری شاخساره به همراه ایجاد مقداری پینه شد. هم چنین استفاده از محیط کشت دارای 0/5 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین به همراه 1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید برای لیموی چهار فصل بالاترین میزان پرآوری شاخساره را در پی داشت در حالی که استفاده از 0/5 میلی گرم بنزیل آدنین بدون نفتالین استیک اسید سبب بیشترین میزان پینه زایی در این رقم شد. کشت جوانه های گریپ فروت در محیط دارای 2 میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین به همراه 0/5 میلی گرم نفتالین استیک اسید، محیط کشت حاوی 2 میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین بدون نفتالین استیک اسید در محیط کشت به ترتیب باعث بیشترین مقدار پرآوری شاخساره شد. هرپیاری و همکاران اظهار داشتند یکی از دلایل پرآوری شاخه بدون افزایش اکسین در محیط کشت ممکن است به دلیل توانایی بافت برای سنتز مقدار اکسین مورد نیاز باشد(5). التاف نیز بیان کرد کاربرد بنزیل آدنین به مقدار 1 میلی گرم در لیتر بدون استفاده از نفتالین استیک اسید، توانایی ایجاد بیشترین میزان پرآوری شاخساره را در ریزنمونه های لیموترش داشته است. وی هم چنین نشان داد کاربرد بنزیل آدنین به میزان 2 میلی گرم در لیتر به همراه استفاده از جیبرلیک اسید به میزان 2 میلی گرم در لیتر به علاوه 5 میلی گرم در لیتر پرولین سبب بیشترین میزان پرآوری برای جوانه های نارنگی رقم کینو شده است.(2) بر اساس نتایج مطالعه حاضر مشخص شد برای لیمو شیرین بالاترین میزان پرآوری در محیط کشت 1 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین به علاوه 0/5 میلی گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید و در رتبه دوم، محیط کشت دارای ترکیب 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین با کاربرد 1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به دست می آید. به نظر می رسد پاسخ گونه ها به محیط پرآوری بر اساس خصوصیات فیزیولوژیکی و ژنتیکی تنظیم می شود. نتایج نشان می دهند غلظت های کم بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید بر پرآوری شاخساره تاثیر مثبت داشته است.

منابع

1- شهسوار، ع. 1383. مقایسه پایه های مختلف مرکبات برای ریز پیوندی. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. جلد5. صفحه های 109 تا 116

2- Altaf, N. 2006. In vitro bud culture of kinnow tree. Pakistan Journal of Botany. 38(3): 597-601.

3- Duran-vila, D., V. Ortega and L. Navarro. 1998. Morphogenesis and tissue culture of three citrus species. Plant Cell Tissue Organ Culture. 16: 123–133.
4- Hamaraie, M.A., M.E. Osman and A. Mohamed. 2002. Propagation of grapefruit by shoot tip micrografting.www.arcsudan.sd/proceedings/38thmeeting/fulltext%20pdf%2038/Grapefruit.pdf
5- Haripyaree, A., K. Guneshwor, H. Sunitibala, M. Damayanti. 2011. In vitro propagation of Citrus megaloxycarpa. Environmental and Experimental Biology. 9: 129-132.
6- Jajoo, A. 2010. In vitro propagation of Citrus limonia osbeck through nucellar embryo culture. Current Research, Journal of Biological Sciences. 2(1): 6-8.
7- Paudyal, k.P. and N, HAQ. 2000. In vitro propagation of Pummelo (Citrus grandis L. osbeck). In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant. 36:511-516.

جدول 1) نتایج تجزیه واریانس تاثیر محیط کشت حاوی غلظت های متفاوت بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید بر پرآوری شاخساره و پینه زایی حاصل از کشت جوانه چهار گونه مرکبات

ردیف	غلظت مواد تنظیم کننده (میلی گرم در لیتر)		میانگین پرآوری شاخساره و پینه زایی							
	BA	NAA	پرتقال		لیموی چهارفصل		گریپ فورت		لیمو شیرین	
			پرآوری شاخساره	پینه زایی	پرآوری شاخساره	پینه زایی	پرآوری شاخساره	پینه زایی	پرآوری شاخساره	پینه زایی
1	0/5	0	cd1/33	-	1/00b	++++	1/00b	-	1/00b	-
2		0/5	cd1/33	+	1/33b	-	1/00b	-	1/00b	++
3		1	cd2/00	++	3/33a	+	1/00b	-	1/00b	-
4	1	0	ab3/33	+++	1/33b	++	1/33b	+++	1/33b	++
5		0/5	cd1/66	++	b1/33	+++	1/66ab	-	2/66a	-
6		1	d1/00	+	1/00b	-	1/33b	-	1/33b	-
7	2	0	1/33cd	-	1/00b	+	2/00ab	-	1/66ab	-
8		0/5	3/66a	+++	1/00b	-	2/66a	-	1/66ab	-
9		1	1/33cd	++++	1/00b	-	1/33b	+	2/00ab	+
10	3	0	2/33bc	+	1/00b	-	1/00b	-	1/00b	-
11		0/5	1/66cd	+	1/00b	-	1/00b	+	1/00b	+
12		1	1/66cd	++	1/00b	-	1/00b	-	1/00b	-

در هر گروه اعدادی که حروف یکسان دارند، بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال 5% دارای تفاوت معنی دار نیستند.
++++ (پینه زایی خیلی زیاد)، +++ (پینه زایی زیاد)، ++ (پینه زایی متوسط)، + (پینه زایی کم)، - (بدون ایجاد پینه)

Study of shoot proliferation four citrus species in vitro culture medium in order to preparation scion for performance micrografting

R. Nateghzadeh1*, M. Hedayat2, Z. Bavi3

1- Dept. of Horticultural Sciences, Persian Gulf University, Bushehr- Iran. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Persian Gulf University, Bushehr - Iran. 3- Dept. of Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr- Iran.

Abstract

In this study an improved in vitro technique were designed for proliferation of some of Citrus species's shoot buds for the purposes micrografting. For buds in vitro culture, Murashig and skoogs medium and different concentrations from Benzyladenine (BA) and 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) were used. The results indicated in the Navel orang and grapefruit, 2mg/lit BA with 0/5 mg/lit NAA, in limequat, 0/5 mg/lit BA with 1 mg/lit NAA and for Citrus limon, 1 mg/lit BA plus 0/5 mg/lit NAA, induced respectively highest numbers of Proliferation shoots and this shoots have more than 3 mm length. This shoot tip that was obtained can be used as scion in Researches of micrografting.

Keywords: Benzyladenine, bud, in vitro culture, micrografting, Naphthalen acetic acid, proliferation