افزایی کنار هندی تاثیر نوع ریزنمونه و تنظیم کننده های رشد بر ریز (*Ziziphus mauritania* lamk.)

، محمد هدایت [2]، ساسان راستگو [3*]عباس پیراسته [1]

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

*E-mail: abaspiraste@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش اثر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر ریزنمونه های جوانه جانبی و انتهایی در راستای به دست آوردن بهترین روش برای افزایش درون شیشه ای کنار هندی مورد بررسی قرار گرفت. قطعات ریزنمونه جوانه جانبی و انتهایی پس از گندزدایی سطحی، در تیمار های مختلف محیط کشت برای پرآوری کشت شدند. بررسی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین پرآوری در محیط کشت های حاوی 4 میلی گرم در لیتر BA به همراه 0/01 میلی گرم در لیتر IAA و محیط کشت حاوی 6 میلی گرم در لیتر Kin اندرکنش با 0/01 میلی گرم در لیتر IAA به دست آمد ولی به طور کلی تنظیم کننده رشد Kin نسبت به BA در شرایط کشت بافت جهت پرآوری کنار هندی واکنش بهتری داشت. محیط کشت حاوی 6 میلی گرم در لیتر Kin به همراه 0/03 میلی گرم در لیتر IAA بهترین ترکیب برای طول شاخساره، تشخیص داده شد. هم چنین ریزنمونه جوانه انتهایی نسبت به ریزنمونه جوانه جانبی واکنش بهتری در شرایط درون شیشه ای از خود نشان داد. در بخش ریشه زایی محیط کشت حاوی 10 میلی گرم در لیتر IBA بهترین ترکیب جهت ریشه زایی بود.

مقدمه

کنار هندی با نام علمی .Ziziphus mauritania lamk از تیره Rhamnaceae گیاهی دارویی، که میوه های آن نیز خوراکی است. این گیاه از لحاظ زیست محیطی متعلق به مناطق گرم و خشک بوده و می توان از آن علاوه بر استفاده های دارویی و خوراکی، در ایجاد فضای سبز شهری و توسعه پوشش گیاهی جنوب کشور در جهت حفظ محیط زیست استفاده نمود (1). افزایش کنارهندی به طور معمول توسط پیوند روی پایه بذری کنار معمولی (Z. spina-christi (L.) Desf.) صورت می گیرد. این روش علاوه بر اثر منفی پایه بر پیوندک و وابسته بودن به فصول خاصی از سال، نیازمند صرف زمانی طولانی است (2). با توجه به محدودیت های فوق، استفاده از شیوه های نوین ریز ازدیادی به منظور افزایش انبوه کنار هندی به دلیل ایجاد تعداد زیادی گیاه کاملا یکنواخت و عاری از ویروس در زمان کوتاه، از نظر اقتصادی قابل توجیه است. در بررسی که توسط ماتور و همکارانش (1993) بر روی افزایش انبوه کنار رملیک1 با استفاده از ریزنمونه های گره لپه، هیپوکوتیل و جوانه انتهایی صورت گرفت، بیشترین تعداد شاخه از ریزنمونه های جوانه انتهایی به دست آمد (5). در تحقیقی که توسط سودهرسان و همکارانش (2001) بر روی ریزنمونه های سرشاخه کنار هندی رقم عمران2 انجام دادند، رشد شاخه و تعداد گره با افزایش غلظت تنظیم کننده رشد بنزیل آدنین (BA) کاهش یافت (7). در پژوهش دیگری که توسط آل سلیمان و برکت (2010) بر روی افزایش درون شیشه ای کنار ایرانی صورت گرفت نشان داده شد که با افزایش غلظت تنظیم کننده

1- *Ziziphus nummularia* (Burm.f.) Wight & Arn.
2 - Umran

های رشد سایتوکینینی، میزان پرآوری در جوانه های انتهایی کاهش یافت(4). پژوهشی که توسط عباس (2010) بر روی کنار هندی انجام شد نشان داد که با افزایش غلظت تنظیم کننده رشد BA، پرآوری کاهش یافت ولی افزایش تنظیم کننده رشد Kin باعث افزایش پرآوری گردید (3). به طور کلی هدف از این پژوهش بهینه کردن شرایط محیط کشت در شیوه ریزافزایی برای کنار هندی است.

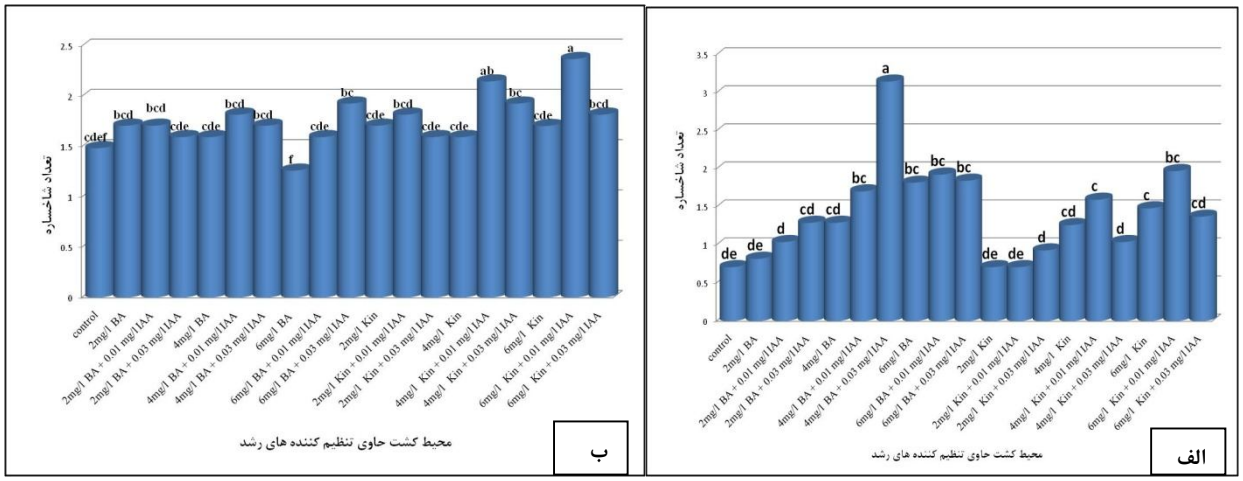
مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش از درختان کنار پیوندی واقع در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس تهیه شد. در این پژوهش جهت پرآوری شاخساره، از محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی 30 گرم در لیتر ساکاروز و 8 گرم در لیتر آگار همراه با تنظیم کننده های رشد گیاهی شامل BA و کاینتین (Kin) با غلظت های 0، 2، 4 و 6 میلی گرم در لیتر اندرکنش با ایندول استیک اسید (IAA) با غلظت 0، 0/01 و 0/03 میلی گرم در لیتر استفاده شد. اسیدیته محیط کشت به کمک اسید کلریدریک و سود 0/2 نرمال در 0/1 ± 5/7 تنظیم گردید. محیط کشت آماده شده پس از تقسیم در ظروف کشت (شیشه مکارتی) در دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1/2 اتمسفر به مدت 15 دقیقه در اتوکلاو سترون شد. به منظور تهیه ریزنمونه جوانه جانبی و انتهایی، از 4 گره اول سر شاخه های جوان جدا و پس از شست شوی مقدماتی به منظور گندزدایی در ابتدا در اتانول 75 درصد به مدت یک دقیقه و سپس در محلول 15 درصد هیپوکلریت سدیم تجاری، به مدت 20 دقیقه غوطه ور گردیدند. سپس ریزنمونه ها سه بار آب شویی و به طول یک سانتی متر آماده و در سطح محیط کشت قرار داده شدند. در نهایت کشت انجام شده در شرایط 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و دمای 2±25 درجه سانتی‌گراد در اتاقک نگه داری قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. پس از یک دوره 8 هفته ای به همراه یک بار زیرکشت، ارزیابی مربوطه شامل تعداد و طول شاخساره یاد داشت برداری گردید. به منظور ریشه زایی، شاخساره های حاصل از پرآوری پس از جدا سازی، در محیط کشت MS حاوی IBA قرار داده شد. در پایان پس از گذشت سه هفته، گیاهان ریشه دار شده از محیط کشت خارج و به گلدان حاوی پرلایت و کوکوپیت سترون شده به نسبت مساوی انتقال یافت و در طی سه هفته به تدریج در پوش پلاستیکی برداشته تا گیاه با محیط سازگار گردد.

نتایج و بحث

ارزیابی پرآوری شاخساره پس از گذشت 5 هفته، با اندازه گیری طول و تعداد شاخساره های بلندتر از 2 میلی متر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان دادند که بیشترین میزان پرآوری میانگین 3/15 شاخساره از ریزنمونه های جوانه جانبی در محیط کشت حاوی 4 میلی گرم در لیتر BA همراه با 0/03 میلی گرم در لیتر IAA حاصل شد (نمودار1 (الف)). در پژوهشی که بر روی گونه کنار هندی توسط سودهرسان و همکاران (2001) انجام گرفت، ریزنمونه های جوانه جانبی در محیط کشت MS حاوی 0/1 تا 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) فقط 3 یا 4 شاخه جانبی از سرشاخه های طویل شده و منفرد به وجود آورد (7). در پژوهش دیگری که توسط آل سلیمان و برکت (2010) بر روی ریزازدیادی کنار ایرانی نشان می دهد که غلظت های کم تنظیم کننده های رشد سایتوکینینی جهت پرآوری جوانه جانبی موثر است (4). به نظر می رسد تفاوت در گونه ها و شرایط فیزیولوژیکی گونه ها عامل این تفاوت باشد.

نمودار 1: الف: میزان پرآوری جوانه جانبی در محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد. ب: میزان پرآوری انتهایی کنار هندی در محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد.



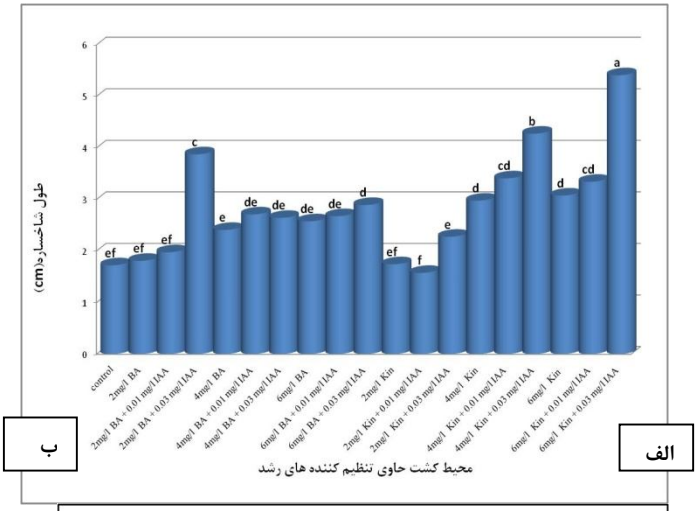
ستون های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری را در سطح احتمال 5 درصد توسط آزمون چند دامنه ای دانکن نشان نمی دهد.

که بیشترین میزان پرآوری با میانگین 2/37 شاخساره از ریزنمونه های جوانه انتهایی کنار هندی در محیط کشت حاوی 6 میلی گرم در لیتر Kin همراه با 0/01 میلی گرم در لیتر IAA حاصل شد که با میزان پرآوری در محیط کشت حاوی 4 میلی گرم در لیتر Kin همراه با 0/01 میلی گرم در لیتر IAA در سطح احتمال 5 درصد اختلاف معنی داری نداشت، ولی با سایر محیط کشت ها دارای اختلاف معنی داری بود (نمودار 1 (ب)). در پژوهشی که توسط عباس (2010) بر روی کنار هندی انجام شد نشان داد که افزایش غلظت تنظیم کننده رشد Kin به تنهایی یا در برهمکنش با IBA، باعث افزایش پرآوری شد که با پژوهش حاضر مطابقت زیادی دارد (3). در پژوهش انجام گرفته توسط راتور و همکاران (1992) روی کنار رملیک و کنار هندی، مشاهده شد که محیط کشت MS با غلظت 5 میلی گرم در لیتر BA به همراه 0/05 میلی گرم در لیتر IAA در کنار رملیک و محیط کشت 0/1 میلی گرم در لیتر IAA و 7/5 میلی گرم در لیتر BA درکنار هندی باعث افزایش پرآوری شاخساره نسبت به غلظت های کمتر این تنظیم کننده ها شدند که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (6).

بلندترین طول شاخساره به میزان 2/84 سانتی متر، در محیط کشت حاوی 6 میلی گرم در لیتر BA به همراه 0/03 میلی گرم در لیتر IAA به دست آمد، که با میانگین طول ریزشاخه در محیط کشت های حاوی 4 میلی گرم در لیتر BA به همراه صفر و 0/01 میلی گرم در لیتر IAA در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی داری نداشت ولی با سایر تیمار ها دارای اختلاف معنی داری بود (نمودار 2 (الف)). نتایج حاصل از پژوهش های آل سلیمان و برکت (2010) بر روی ریزازدیادی کنار ایرانی نشان می دهد که افزایش غلظت BA بیش از 1 میلی گرم در لیتر طول شاخساره را کاهش می دهد که احتمالا این اختلاف به دلیل تفاوت نوع گونه و شرایط فیزیولوژیکی درخت است (4). در پژوهش های سودهرسان و همکاران (2001) بر روی کنار هندی رقم عمران افزایش غلظت تنظیم کننده BAP باعث کاهش طول ریزشاخه گردید که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد (7). هم چنین بلندترین طول شاخساره با میانگین 5/03 سانتی متر در ریزنمونه جوانه انتهایی کنار هندی، در محیط کشت حاوی 6 میلی گرم در لیتر Kin به همراه 0/03 میلی گرم در لیتر IAA به دست آمد، که با میانگین طول شاخساره در سایر محیط کشت ها در سطح احتمال 5 درصد تفاوت معنی داری نشان داد (نمودار2 (ب)). در پژوهش های راتور و همکاران (1992) بر روی کنار هندی، استفاده از محیط کشت MS حاوی IAA و BA باعث افزایش طول ریزشاخه ها در ریزنمونه جوانه انتهایی گردید (6). نتایج حاصل از پژوهش های عباس (2010) بر روی کنار هندی نشان داد افزایش

غلظت تنظیم کننده رشد Kin باعث افزایش طول ریزشاخه شد که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (3). به نظر می رسد افزایش طول ریزشاخه ها به دلیل بالاتر بودن میزان اکسین درونی ریزنمونه انتهایی می باشد.

نمودار 2: الف: طول شاخساره در جوانه جانبی در محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد. ب: طول شاخساره در جوانه انتهایی کنار هندی در محیط کشت MS حاوی غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد.



ستون های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی داری را در سطح احتمال 5 درصد توسط آزمون چند دامنه ای دانکن نشان نمی دهد.

شاخساره های حاصل از پرآوری پس از جدا سازی، در محیط کشت MS حاوی 10 میلی گرم در لیتر IBA ریشه دار شدند و گیاهان ریشه دار شده در زیر دستگاه جریان هوا، پس از شست و شو به محیط کشت حاوی کوکوپیت و پرلایت به نسبت مساوی انتقال داده شد، که پس از سه هفته، تمام گیاهان انتقال یافته به طور کامل زنده مانده و سازگاری خوبی با محیط نشان دادند.

منابع

تراهی، ع. 1385. معرفی درخت کنار. فصل نامه نخل. انتشارات موسسه تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری کشور. 23-21:(1)1.

عَصاره، م. ح. 1379. ازدیاد غیر جنسی درخت کنار Ziziphus spina-christi wild به طریق کشت سلول و بافت و تکثیر به روش های معمول و تعیین بهترین روش با توجه به جنبه های اقتصادی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی. 15-23 :9.

Abass, H. 2010. Rapid in vitro multiplication and ex vitro rooting of Ziziphus mauritiana. 63-69 p.
AL-Sulaiman, M. A. and Barakat, M. N. 2010. In vitro shoot multiplication of Ziziphus spina-christi by shoot tip culture. African Journal of Biotechnology. 9(6): 850-857.
Mathur, N. Ramawat, K. G. and Sonie, K. C. 1993. In vitro propagation Ziziphus nummularia. Annals of Aride Zone, 32(4): 219-222.
Rathore, T. S., Singh, R. P., Deora, N. S. and Shekhawat, N. S. 1992. Clonal propagation of Ziziphus species through tissue culture. Sci. Hort. 51: 165-168.
Sudhersan, C. AboEl-Nil, M. and Hussain, J. 2001. In vitro propagation of Ziziphus mauritiana cultivar Umran by shoot tip and nodal multiplication. Cur, Sci. 80 (2): 290-292.

Effect of the type explants and plant growth regulator on the micropropagation ber(Ziziphus mauritania lamk)

Abbas pirasteh1, mohammad hedayat2, sasan rastgoo3

Abstract

In this study the effect of plant growth regulators on auxiliary and terminal buds were examined to find the best methods for in vitro micro propagation of Ber. After the surface disinfection, the pieces of explants were cultured in various medium. The study of result s showed that the highest proliferation obtained in medium that containing 4 mgL-1 BA with 0.01 mgL-1 IAA and medium containing 6 mgL-1 Kin's interaction with the 0.01 mgL-1 IAA, but in general, Kin was better response in tissue culture conditions than BA of Ber. The best combination for shoot length, were detected the medium that containing 6 mg/l Kin with 0.03 mgL-1 IAA. In the rooting section, the medium that containing 10 mg/l IBA was the best combination for rooting.