بررسی اثر ترکیبی هورمون‌های بنزیل آدنین پورین و ایندول بوتریک اسید بر روی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای پایه‌ی رویشی GXN15 (هیبرید هلو × بادام)

محمدمهدی عرب1، عباس یداللهی2*،سید مهدی حسینی مزینانی3، صابر شکری1و مرضیه احمدیان1

1-دانشجویان کارشناسی ارشدگروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران2-استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران3- دانشیار گروه ژنتیک ملکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

نویسنده مسئول: Yadollah@modares.ac.ir

چکیده

GXN15 به عنوان یکی از پایه‌های رویشی مناسب برای هلو و بادام در دنیا شناخته شده است. این پایه اهمیت زیادی در صنعت میوه کاری نوین کشور دارد و به منظور احداث باغات مکانیزه تکثیر آن از طریق کشت بافت مبرم می‌باشد.تعیین مناسبترین نوع وغلظت سایتوکینین یکی از فاکتورهای بسیار مهم در ریز افزایی موفقیت آمیز پایه‌ی رویشی GXN15 می‌باشد.پژوهش حاضر با هدف دستیابی به مناسبترین غلظت‌های ترکیبی BAP و IBA صورت گرفته است. آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 4 ریز نمونه انجام گرفت. در این آزمایش ازمحیط کشت MS با 5 غلظت مختلف BAP (0، 0.5، 1، 1.5 و 2 میلی گرم درلیتر) به همراه 4 غلظت مختلف IBA (0، 0.5، 1. و1.5. میلی گرم در لیتر) استفاده گردیده است. نتایج حاکی از این است که تیمارحاوی BAP $1\ ^{mg}/_{l}$ + $1\ ^{mg}/_{l}IBA$. بیشترین میزان نوساقه زایی را به خود اختصاص داده است. و بیشترین میزان ارتفاع نوساقه ها در محیط های کشت بدون هورمون مشاهده شد و همچنین نتایج نشان داد با افزایش میزان هورمون ها به صورت ترکیبی یا افزایش BAP به تنهایی میزان کالوس زایی به طور معنی داری افزایش می یابد.

کلمات کلیدی: GXN15، ریزافزایی، BAP، IBA

مقدمه

از چند دهه پیش سعی بر این بوده تا از روش تکثیر غیر جنسی برای توسعه باغات میوه استفاده شود، چون با استفاده از پایه های رویشی نهال‌های بدست آمده مشابه پایه مادری و خصوصیات مطلوب و مورد نظر حفظ خواهد شد(خوشخوی و همکاران، 1386). یکی از پایه های بسیار مناسب برای باغات هلو و بادام که اخیراً در دنیا مورد استفاده قرار گرفته GXN15 می‌باشد که دارای یکسری ویژگی‌های برتر نسبت به هیبرید های دیگر می‌باشد (Felipe, 2009).پایه GXN15 (Garnem) تلاقی بین گونه ای هلو برگ قرمز "Nemared"و بادام"Garfi"می‌باشد که توسط مرکز تحقیقات و فناوری مواد غذایی آراگون(CITA)1 در سال 1987 در کشور اسپانیا به ثبت رسیده است. به عنوان پایه برای هلو و شلیل، بادام و آلوی ژاپنی مثل "Santa rosa" ، "Golden japan"و بعضی ارقام زرد آلو مثل "Paviot" استفاده می‌شود. پایه ای قوی و دارای عملکرد بالاتر و کمی پاکوتاه تر از GF677 ، سازگاری خوب به تمام انواع خاک و همچنین خاک‌های فقیر در صورتی که زهکش خاک مناسب باشد(Felipe, 2009)، مقاوم به کلروز آهن، مقاوم به خشکی، شوری و مقاوم به نماتد گره ریشه (Meloidogynesp) و مناسب تکثیر از طریق کشت بافت می‌باشد (Pinochet et al., 1999). باززایی گیاهان تحت تاثیر فاکتورهای زیادی از قبیل ژنوتیپ، محیط کشت، تنظیم کننده های رشد گیاهی، آگار، نوع ریزنمونه و شرایط نوری اتاق رشد قرار می-گیرد (Magyar-Taboriet et al., 2010). به خوبی شناخته شده است که سایتوکینین تقسیم وگسترش سلولی را در کشت بافت سلول

1-Centar of Investigation and Technology Agrifood of Arago

های گیاهی ارتقاء می‌بخشد. BAP به عنوان یک سایتوکینین در ترکیب بااکسین مناسب در ریز افزایی درختان میوه به طور گسترده‌ای استفاده شده است (Ruzic and Vajovic, 2008). در مرحله ازدیاد جنس Prunus در شرایط درون شیشه ای از BAP و هورمون‌های طبیعی همراه با غلظت‌های پایین اکسین استفاده می گردد (Akba et al., 2009; Zou, 2010; NuriNas et al., 2010).تعیین اپتیمم تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای موفقیت در کشت بافت گیاهی مهم است.به خوبی شناخته شده است که سایتوکینین رشد جوانه های جانبی را به وسیله کاهش غالبیت انتهایی در شاخه‌های کشت شده در مرحله پرآوری ارتقاء می‌بخشد(Van staden et al., 2008). انصار و همکاران(2009) نتایج قابل توجهی در کاربرد ترکیبی BAP وزآتین در ریزافزایی زیتون گزارش کرده‌اند.آنها توانستند میزان باززایی بالایی با استفاده از غلظت پائین BAP وغلظت بالای زآتین بدست آورند.

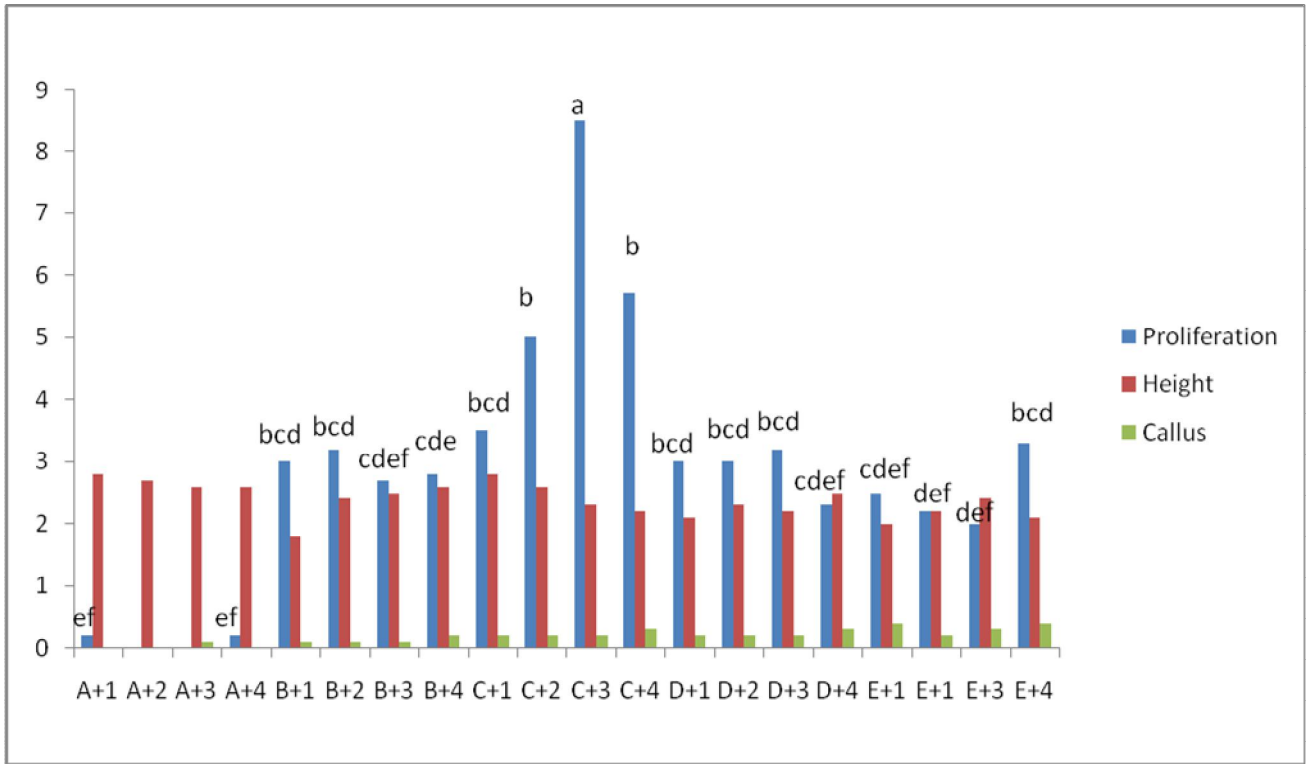
مواد و روش ها

به منظور بررسی اثرات ترکیبی هورمون های BAP و IBA، از گیاهچه هایی که در واکشت دوم قرار داشتند استفاده گردید.در این آزمایش از محیط کشت پایه MS شامل غلظت های مختلف هورمون BAP (0، 0.5، 1، 1.5 و 2 میلی گرم در لیتر) در ترکیب با غلظت های مختلف IBA(0، 0.5، 1. و 1.5.) استفاده گردید. پس از تهیه 20 نوع محیط کشت MS حاوی ترکیبات هورمونی متفاوت به همراه $30\ gr/l$ شکر و $7\ gr/l$ آگار pH تمامی محیط‌ها در $5{,}75 \pm 2$ تنظیم گردید سپس به مدت 25 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی گراد و فشار 1,2 با اتوکلاو گردیدند. پس از آماده سازی محیط ها گیاهچه‌هایی که در واکشت دوم قرار داشتند مجددا واکشت شدند و ریزنمونه‌ها داخل شیشه مربایی کشت شدند، داخل هر شیشه مربا 4 ریزنمونه کشت گردید و هر شیشه مربا به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. بعد از اتمام کشت نمونه ها به داخل فیتوترون(اتاقک رشد) با شرایط دمایی 24 ± 2 و دوره‌ی نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و همچنین شدت نور 2500 تا 3000 لوکس انتقال داده شدند. پس از مدت 4 هفته صفاتی نظیر طول نوساقه، تعداد نوساقه‌های جدید و میزان کالوس مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش فوق به صورت فاکتوریل برپایه‌ی طرح کاملا تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 4 ریز نمونه انجام گردید.

نتایج وبحث

نوساقه‌زایی بستگی به آغازش و فعالیت مریستم های جانبی دارد که از لحاظ هورمونی عمدتا توسط سایتوکینین‌هاکنترل می-شود(Dobranszki and Teixeir da silva et al., 2010). تعادل بین سایتوکینین و اکسین در بعضی از گیاهان گزارش شده است که موجب بهبود اندام‌زایی می‌شود و در بعضی دیگر از گیاهان اضافه کردن مقدار کمی از اکسین نه تنها ضرورتی ندارد بلکه به عنوان یک جلوگیری کننده از تجمع سایتوکینین این تاثیرات بسته به نوع گیاه متفاوت می باشد (Thorpe et al., 2008). بر روی پایه رویشی GXN15 جدول تجزیه واریانس (جدول1) نشان می‌دهد، هورمون بنزیل آمینوپورین به همراه میزان کم ایندول بوتریک اسید به طور معنی داری باعث افزایش تعداد نوساقه‌ها و طول نوساقه‌ها گردیده است، ولی تاثیر چندانی بر روی میزان کالوس نداشته است. نمودار یک بیانگر این می باشد که در کاربرد BAP به تنهایی با افزایش غلظت تعداد نوساقه ها افزایش ولی طول نوساقه ها کاهش و میزان کالوس نیز افزایش می‌یابد، که با کاربرد ترکیبی ایندول بوتریک اسید به همراه بنزیل آمینو پورین نه تنها تعداد بلکه طول نوساقه ها نیز افزایش می یابد ولی نکته مهم این است که مقدار ترکیبی دو هورمون نیز مهم می باشد . همانطور که در نمودار نشان داده است مقدار 1 میلی گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین به همراه 0/1 میلی گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید به طور معنی داری تعداد نوساقه‌ها و طول

نوساقه ها را فزایش داده است. به نظر می‌رسد بهبود نوساقه زایی در هنگام کاربرد اکسین به علت نقش آن در القاء تقسیم سلولی می-باشد، وسبب افزایش اثرات سایتوکینین می گردد.



نمودار1- اثرات متقابل هورمون های BAP و IBA بر روی پرآوری، طویل سازی و میزان کالوس (حروف نشان دهنده غلظت های مختلف BAP و اعداد نشان دهنده غلظت های مختلف IBA می‌باشند.وهمچنین غلظت ها برحسب میلی گرم در لیتر می‌باشد. A=0، B= 0.5، C = 1، D = 1.5، E = 2 و 1 = .05، 2 = 0.1، 3 = .15)

منابع

خوشخوی، م. شیبانی، ب. روحانی، ا. و تفضلی، ع (1386). اصول باغبانی. چاپ پانزدهم. انتشارات دانشگاه شیراز. 596ص.

Akba, F., Isıkalan, C., Namli, S. and Bekir, A.K. (2009). Effect of plant growth regulators on in vitro shoot multiplication of amygdaluscommunisL. cv. Yeltainki. African Journal ofBiotechnology 8: 6168-6174.

Felipe, A.J. (2009). 'Felinem', 'Garnem', and 'Monegro' Almond · Peach Hybrid Rootstocks. Hort science 44(1):196–197.

NuriNas, M., Bolek, Y. and Sevgin, Y. (2010). The effects of explant and cytokinin type on regeneration of Prunusmicrocarpa. ScientiaHorticulturae 126:88-94.

Ruzic, D. and Vujovic, T. (2007). The Protocol for Rapid Propagation of Plum (Prunusdomestica L.) by in vitro Micropropagation, 41: 79-85.

Ruzic, Dj.V. and Vujovic. T.I. (2008). Theeffects of cytokinin types and their concentration on in vitro multiplication of sweet cherry cv. Lapins (Prunusavium L.). Hort. Sci, 3 (1): 12–21.

Zou, Y.(2010). Micropropagation of Chinese Plum (PrunussalicinaLindl.) Using Mature StemSegments. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 38: 214-218.

The Study on The Combined Effect ofHormonesBAPandIBA onin vitro proliferation of GXN15 vegetative rootstock.

M.M. Arab1, A. Yadollahi2*, S.M. Hosseini-Mazinani3, S. Shokri1 and M. Ahmadin1

1- MSc student ,Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

2-Assistant Professor, Departman of horticulture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

3-Associate Professor, Departman of Molecular Genetics, National Institute of Genetic Engineering & Biotechnology (NIGEB)Corresponding author: Yadollah@modares.ac.ir

Abstract

GXN15 is known as an appropriate vegetative rootstock for peaches and almonds in all over the world. This rootstock has a great importance in modern industrial pomology. In order to establish mechanized orchards its propagation through tissue culture is critical. Determination of the most appropriate type and the optimum concentration of cytokinin is one of the most important factors in successful micro-propagation of GXN15 vegetative rootstock. This study aims to achieve the most appropriate combination of BAP and IBA concentrations. The experiment was conducted based on completely randomized design with 6 replications and each replication includes four explants with the use of MS medium culture containing 5 and 4 different concentrations of BAP (0, 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/l) and IAB (0, 0.5, 1 and 1.5 mg/l) respectively. The results indicate that the treatment containing 1mg/l BAP + 1 mg/l IBA has the highest proliferation. However the the maximum length of micro-shoots were observed in hormone-free medium culture. And consequently increase in level of both considered hormones in combination or BAP could significantly increase the callus induction.

Keywords: GXN15, Micropropagation, BAP, IBA