

بررسی اثر میزان شکر و هورمون بنزیل آدنین پورین بر روی طویل سازی نوساقه های پایه رویشی GXN15 (هیبرید هلو × بادام) در شرایط درون شیشه ای

محمد مهدی عرب¹، عباس یداللهی^{2*}، سید مهدی حسینی مزینانی³، شورش ملکی قوجه¹

1- دانشجویان کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. 3- دانشیار گروه ژنتیک ملکولی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران.

نویسنده مسئول: Yadollah@modares.ac.ir

چکیده

GXN15 به عنوان یک پایه رویشی بسیار قوی و مناسب برای بادام و هلو شناخته شده است. امروزه، تکثیر این پایه به منظور احداث باغات صنعتی بادام و هلو از طریق کشت بافت صورت می گیرد. کوتاهی طول نوساقه ها و ضعیف بودن گیاهچه های تولید شده در مرحله پرآوری سبب اختلال در مرحله ریشه دهی و سازگاری این گیاه می گردد. پژوهش حاضر به منظور بررسی میزان شکر و هورمون BAP بر روی نوساقه های پرآوری شده در محیط درون شیشه ای انجام شده است. در این آزمایش از محیط کشت MS شامل 2 میزان شکر (20 و 30 گرم در لیتر) و 2 غلظت مختلف هورمون BAP (0 و 1 میلی گرم در لیتر) استفاده شد و آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 4 ریزنمونه انجام گردید. نتایج نشان داد که تیمار 20 گرم در لیتر شکر به همراه غلظت 0/1 میلی گرم در لیتر هورمون BAP بلندترین و قوی ترین نوساقه ها را در مقایسه با سایر تیمارها تولید نمودند. همچنین نتایج حاکی از این می باشد که در محیط های کشت بدون هورمون شامل هر دو میزان شکر نوساقه های تولید شده در مقایسه با محیط های دارای هورمون کوتاه تر و ضعیف تر می باشند.

کلمات کلیدی: GXN15، طویل سازی، شکر، BAP

مقدمه

ریزافزایی یکی از روش های نوین افزایش انبوه گیاهان به ویژه پایه های درختان میوه در چند دهه اخیر می باشد. تولید پایه های رویشی و یکسان از نیازهای اولیه احداث باغات مدرن و صنعتی امروزی به شمار می رود. به طوری که مدیریت صحیح باغ، افزایش عملکرد در واحد سطح، داشت و برداشت ماشینی باغ ها و در پایان داشتن پایه های مقاوم به تناسب شرایط اقلیمی و محیطی همگی نیازمند وجود پایه های رویشی می باشند (دژمپور و همکاران، 1386). استفاده از دورگه های بین گونه ای درختان میوه هسته دار از چند دهه پیش در کشورهای پیشرفته معمول شده و این رویکرد راه گشای بسیاری از مشکلات درختان میوه هسته دار شده است (Beckman and Lang, 2002). پایه GXN15 (Garnem). تلاقی بین گونه ای هلو برگ قرمز "Nemared" و بادام "Garfi" می باشد. 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 می شود. پایه ای قوی و دارای عملکرد بالاتر و کمی پاکوتاه تر از GF677، سازگاری خوب به تمام انواع خاک و همچنین خاک های فقیر در صورتی که زهکش خاک مناسب باشد (Felipe, 2009)، مقاوم به کلروز آهن (De Ia Guardia et al., 1995)، مقاوم به خشکی، شوری و مقاوم به نماتد گره ریشه

¹Center of Investigation and Technology Agrifood of Aragon

(Meloidogyne) و مناسب تکثیر از طریق کشت بافت می‌باشد (Pinochet et al., 1999). در ریز افزایشی درختان میوه به منظور افزایش طول و تعداد نوساقه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای آزمایشات زیادی مبنی بر تغییر میزان کربوهیدرات‌ها و هورمون‌های سایتوکینین صورت گرفته است. وقتی ساکاروز و سوربیتول با هم به نسبت 2:1 و 1:2 بکار رفتند صرف نظر از نوع اکسین استفاده شده، به طور معنی داری، تعداد و طول شاخه‌ها بیشتر بود. بیشترین ضریب تکثیر (تعداد شاخه‌ها/گیاهان) با متغیرهای حاوی ساکاروز و سوربیتول به نسبت 2:1 و بعد از آن نسبت 1:2 بدست آمد (Nacheva and Gercheva, 2007). آزمایشی در دانشگاه تربیت مدرس بر روی ریزافزایی پایه GF677 در سال 2011 انجام شده است. نتایج نشان داده است که برای تولید سازی نوساقه‌ها قبل از مرحله ریشه دهی بهتر است نوساقه‌ها به مدت 15 روز در محیط کشت بدون هورمون یا محیط کشت حاوی غلظت خیلی پائین هورمون BAP قرار گیرند. همچنین نشان داده شده است که قرار دادن نمونه‌ها به مدت یک هفته اول ریشه‌دهی نه تنها سبب افزایش ریشه دهی می‌گردد بلکه باعث افزایش ارتفاع نوساقه‌ها نیز می‌گردد (NazaryMoghaddamAghaye and Yadollahi, 2012). در آزمایشی گندزدایی، استقرار و پرآوری در کشت درون شیشه‌ای چند دورگه بین گونه‌ای جنس پرونوس مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش پس از مرحله پرآوری برای رشد طولی نوساقه‌ها به محیط‌های کشت GA3 به میزان 2 میلی گرم در لیتر افزوده شد، و همه نژادگان پاسخ مثبت دادند (دژمپور و همکاران، 1386).

مواد و روش‌ها

به منظور تولید سازی نوساقه‌ها قبل از انتقال به محیط ریشه زایی از گیاهچه‌های GXN15 در حال پرآوری که در واگشت چهارم بودند استفاده گردید. در این آزمایش از محیط کشت پایه MS شامل 2 میزان مختلف شکر (20 و 30 گرم در لیتر) و 2 غلظت مختلف هورمون BAP (0 و 0/1 میلی گرم در لیتر) استفاده گردید. پس از تهیه 4 نوع محیط کشت MS مختلف میزان $7 \frac{g}{l}$ آگار به تمامی محیط‌ها اضافه شد و 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 محیط‌ها گیاهچه‌هایی که در واگشت چهارم قرار داشتند مجدداً واگشت شدند و ریزنمونه‌ها داخل شیشه‌های 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 نمونه‌ها 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 3 هفته طول نوساقه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش فوق به صورت طرح کاملاً تصادفی با 6 تکرار و هر تکرار شامل 4 ریزنمونه انجام شد.

نتایج و بحث

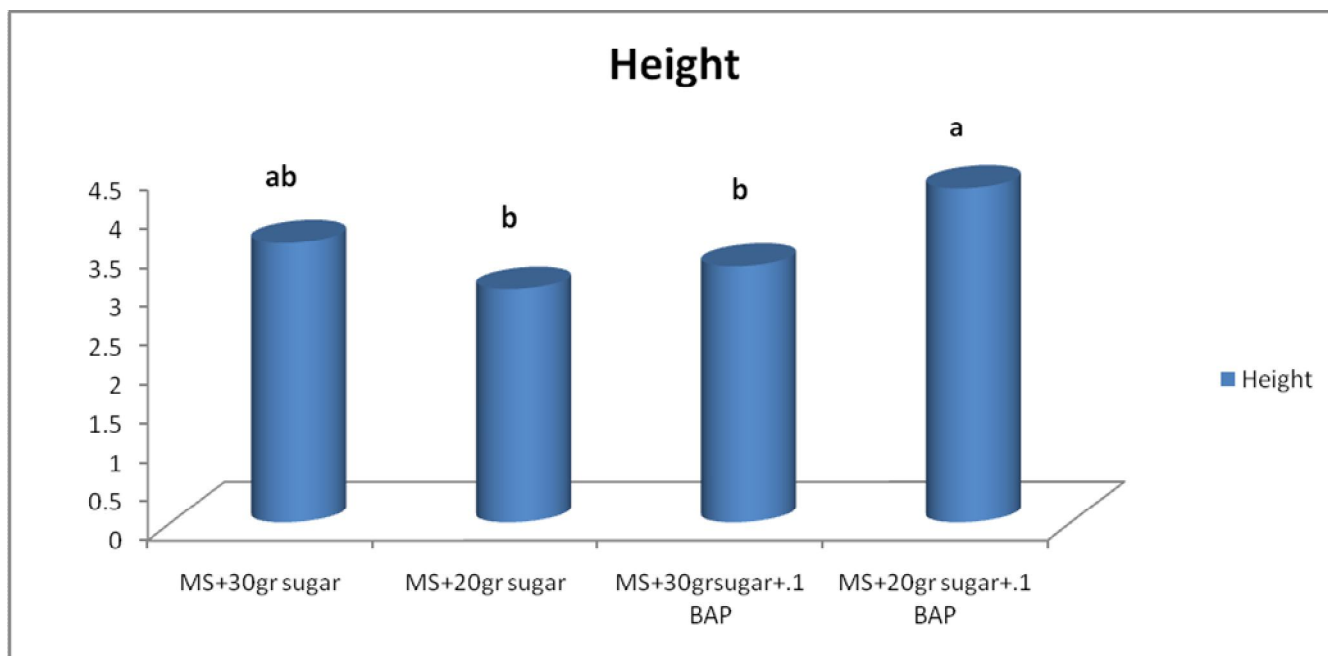
جدول (1) تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل هورمون بنزیل آدنین پورین و میزان شکر به طور معنی داری تولید سازی نوساقه‌ها را بهبود بخشید و همچنین مقادیر مختلف شکر به تنهایی بدون اثر هورمون بنزیل آدنین پورین نیز به طور معنی داری طول نوساقه‌ها را افزایش دادند ولی هورمون بنزیل آدنین پورین به تنهایی بر روی تولید نوساقه‌ها اثر معنی داری نداشت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (نمودار 2) حاکی از آن است که بیشترین طول نوساقه مربوط به تیمار 20 گرم شکر به همراه 0/1 میلی گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین پورین می‌باشد. چن و همکاران (2003) به منظور تولید سازی طول نوساقه‌های گیاه Flax میزان ساکارز محیط کشت را از 30 به 10 میلی گرم در لیتر کاهش دادند و نتیجه گرفتند کاهش منبع قندی باعث تولید شدند نوساقه‌ها می‌گردد، و چنین تفسیر نمودند

که غلظت بالای ساکارز باعث افزایش سطح اسمتیک محیط کشت شده و اثر بازدارنده بر روی طویل شدن شاخساره‌ها دارد و ذکر نمودند میزان منبع کربوهیدراتی در محیط کشت بایستی به اندازه‌ی کافی بالا باشد تا انرژی مورد نیاز برای تقسیم و تمایز سلولی را فراهم نماید و نیز آنقدر پائین نباشد که اثر اسمتیک منفی بر طویل سازی شاخه‌ها داشته باشد، که نتایج این مطالعه با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

جدول 1- تجزیه واریانس اثر مقادیر مختلف شکر و هورمون BAP بر طول نوساقه، تعداد نوساقه و میزان کالوس

میانگین مربعات		
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول نوساقه
مقادیر مختلف شکر	1	2.158*
هورمون BAP	1	0.375ns
شکر×BAP	1	6.139**
خطای آزمایش	36	0.564
کل	39	

** وجود اختلاف بسیار معنی دار در سطح 1 درصد



نمودار 1- تاثیر مقادیر مختلف شکر و هورمون بنزیل آدنین پورین بر روی طویل سازی نوساقه‌ها

منابع

دژمپور، ج. گریگوریان، و. مجیدی، ا. و ناصری، ع.ا. (1386). گندزدایی، استقرار و پرآوری در کشت درون شیشه ای چنددوره بین گونه ای در جنس پرونوس. مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد 8: 165-174.

Beckman, T.G. and Lang, G.A. (2002). Rootstock breeding of stone fruits. *Acta. Hort.* 622:23-25.

Chen, Y., Lin, S., Duguid, s., Dribnenki, p and Kenaschuk, E. (2003). Effect of sucrose concentration on elongation of shoots from flax anther culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72: 181–183.

De la Guardia, M.D., Felipe, A.J., Alcántara, E., Fournier, J.M., Romera, F.J. (1995). Evaluation of experimental peach rootstocks grown in nutrientsolutions for tolerance to iron stress. In: *Iron nutrition in soils and plants*. Edited by Abadía, J. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. pp. 201-205.

NazaryMoghaddamAghaye, R. and Yadollahi, A. (2012). Micropropagation of GF 677 Rootstock. *Journal of Agricultural Science* 4(5): p131.

The Study on The effect of Sugar and BAP hormone levels on GXN15 (Hybrid of Almond×Peach) Vegetative rootstock's micro-shoots elongation in in vitro condition.

M.M. Arab¹, A. Yadollahi^{2*}, S.M. Hosseini-Mazinani³ and S. Maleki ghoghah¹

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

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

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

Abstract

GXN15 is well known as a vigor and appropriate Vegetative rootstock for peaches and almonds. Nowadays this rootstock is propagated through tissue culture in order to establish high density peach and almond orchard. Short length of micro-shoots and the Weakness of plantlet produced in proliferation stage will result in less rooting and decrease in its acclimatization. The present study has been carried out to investigate the effect of sugar and BAP hormone levels on in vitro proliferated micro-shoots. The experiment was conducted based on completely randomized design with 6 replications for each treatment and each replication includes four explants with the use of MS medium culture containing 2 different sugar level (20 and 30 gr/l) and 2 different BAP concentration (0 and 0.5 mg/l). The Results showed that in the treatment with 20 gr/l sugar plus 1mg/l BAP tallest and strongest micro-shoots were produced in comparison with the other treatments. It should be also mentioned that in free-hormone mediums containing both of sugar level micro-shoots produced are thinner compared to the hormone-based mediums.

Keywords: GXN15, Elongation, Sugar, BAP