بررسی شاخه زایی در پایه رویشی GN15 با استفاده ازبنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید

مهدیه کریمی [1]، حسن ساری‌خانی [2*]، منصور غلامی [3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد میوه کاری، گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان. 3- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

* نویسنده مسئول

چکیده

GN15 (گارنم) پایه ای پررشد است که برای هلو، شلیل و بادام استفاده می شود و برای بسیاری از مناطق و خاک های ایران مناسب است. در این پژوهش، اثر بنزیل آدنین(BA) در غلظت های صفر، 2، 4 و8 میلی گرم در لیتر به همراه صفر، 0/05 و 0/1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید(NAA) در محیط کشت WPM بر شاخه زایی ریزنمونه های تک گره پایه GN15 مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد شاخساره در تیمار حاوی 2 میلی گرم در لیتر BA و 0/1 میلی گرم در لیتر NAA از بقیه تیمارها بیشتر بود. بالاترین طول شاخساره در تیمار 4 میلی گرم در لیتر BA بدون NAA مشاهده شد و تعداد گره ها هم در تیمار حاوی 2 میلی گرم در لیتر BA و صفر میلی گرم در لیتر NAA افزایش یافت. بالاترین طول میانگره نیز در تیمار 2 میلی گرم در لیتر BA به همراه 0/1 میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد. افزایش غلظت BA تا 8 میلی گرم در لیتر بدون NAA، باعث افزایش شیشه ای شدن و کاهش تعداد شاخساره و طول شاخساره و تعداد گره و طول میانگره گردید.

کلمات کلیدی: پایه GN15، ایران، بنزیل آدنین، نفتالین استیک اسید، شاخه زایی

مقدمه

در ایران اغلب پایه های مورد استفاده برای درختان هسته دار از نظر ژنتیکی یکنواخت نیستند. یکنواخت نبودن پایه ها از نظر ژنتیکی باعث ایجاد مشکلات متعددی ازجمله رشد رویشی متفاوت، عملکرد متفاوت و یکنواخت نبودن مقاومت در برابر آفات و بیماری ها و تنش های محیطی می شود. یکی از پایه های همگروه که اخیراً وارد کشور شده پایه GN15 است که این پایه حاصل تلاقی پایه بادام گارفی با پایه هلوی نماگارد است. GN15 پایه ای قوی است که برای ارقام مختلف بادام، هلو و شلیل استفاده می‌شود و سازگاری پیوندی بسیار خوبی را نشان داده است. متحمل به شرایط خشکی و خاک های فقیر است. همچنین ویژگی مهم این پایه مقاومت آن به کلروز ناشی از کمبود آهن می‌باشد و مقاوم به نماتد است (فلیپ، 2009). ارقامی که روی این پایه پیوند می‌شوند، میانگین تولید محصول بیشتری از GF677 دارند (سوتومایور، 2012). همچنین GN15 دارای مقادیر نسبتاً بالایی از آنتوسیانین و پلی آمین‌ها در ساقه و برگ های خود می باشد. برخی از پژوهشگران علت مقاومت بالای این پایه را به وجود این ترکیبات و برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی نسبت داده اند (زریگ و همکاران، 2011).

ازدیاد کلونی روشی است که برای تولید انبوه گیاهان با ویژگی های ژنتیکی برابر به وسیله کشت ارگان، بافت و سلول استفاده می شود. استفاده از تکنیک های ریزازدیادی، بر پایه خاصیت توتی پتانسی سلول های گیاهی است(بونگا و همکاران،2010). با توجه به توانایی تکنیک کشت بافت در تولید گیاهان عاری از بیماری و تولید گیاهانی مشابه گیاه والد، امروزه توجه زیادی به استفاده از این روش برای تکثیر گیاهان شده است. تکنیک کشت بافت، یک روش بسیار سریع در ازدیاد گیاهان باارزش و به دست آوردن کلون های جدید است.

بررسی ها نشان داده است که BA بهترین هورمون برای پرآوری شاخه در پایه GF677 (هیبرید هلو× بادام) است(شریف مقدم،2011). در کشت جوانه های جانبی و انتهایی پایه GF677 بیشترین شاخه زایی با استفاده از 1 میلی گرم در لیتر BA بدون NAA به دست آمد (کمالی و همکاران،1380). بین غلظت های مختلف BA استفاده شده برای پرآوری شاخه پایه محلب گیلاس،

غلظت 0/5 میلی گرم در لیتر ازهمه بهتر بود. با افزایش غلظت BA شاخساره های بیشتری تولید شد اما طول شاخساره ها کاهش یافت (مهدویان، 1389). درکشت تک گره های بادام تلخ، در مراحل پرآوری، غلظت 4 میلی گرم در لیتر BA باعث افزایش شاخه زایی شد (رایا و همکاران،2010). شکافنده و قاسمی(1387) در کشت قطعات تک گره بادام رقم 7 شاهرود گزارش کزدند که بیشترین تعداد شاخساره در تیمار 2 میلی گرم در لیتر BA به همراه 0/01 میلی گرم در لیتر IBA به دست آمد.

هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت های مختلف بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید در تعداد شاخساره جانبی به دست آمده، طول شاخساره ها، تعداد گره و طول میانگره از قطعات تک گره پایه GN15 بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، نهال های پایه GN15 (گارنم) تهیه شده و در گلخانه جهت سازگاری و رشد بیشتر نگهداری شدند. ریز نمونه های تک گره این پایه از شاخه های با رشد جدید و جوان جدا گردید پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم 1/5 درصد به مدت 10 دقیقه، ریزنمونه ها 3 مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. به منظور پرآوری شاخساره، از محیط کشت WPM حاوی BA، NAA ، 30 گرم در لیتر ساکارز و 7 گرم در لیتر آگار استفاده شد و pH محیط کشت روی 5/7 تنظیم شد. به منظور پرآوری ریزنمونه‌ها، BA در غلظت های صفر، 2و 4 میلی گرم در لیتر به همراه صفر، 0/05 و 0/1 میلی گرم در لیتر NAA استفاده شد و در غلظت 8 میلی گرم در لیتر BA تنها دو غلظت صفر و 0/05 استفاده شد. محیط کشت ها در اتوکلاو با دمای $121\ C^{\circ}$ و فشار 1/2 اتمسفر به مدت 20 دقیقه استریل شدند. در هر تیمار چهار تکرار و در هر شیشه سه ریز نمونه کشت شد. ریزنمونه های کشت شده در داخل اتاقک رشد کنترل شده با دمای 1±24 درجه سانتی گراد در شرایط 16 ساعت روشنایی با نور فلورسنت و 8 ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از چهار هفته صفا مورد نظر شامل تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد گره در هر شاخه و طول میانگره یادداشت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه 9/1 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

تعداد شاخساره های جانبی: اثر غلظت های مختلف BA و NAA بر طول شاخساره در سطح 5% معنی دار شد. کاربرد 2 میلی گرم در لیتر BA و 0/1 میلی گرم در لیتر NAA منجر به تولید بیشترین شاخساره جانبی گردید. به طور میانگین تعداد 7/25 عدد نوساقه در این تیمار به دست آمد. کمترین تعداد نوساقه در تیمار 8 میلی گرم در لیتر BA و بدون NAA به دست آمد. متوسط تعداد شاخساره در این تیمار 0/66 عدد بود (جدول 1).

طول شاخساره های جانبی: اثر غلظت های مختلف BA و NAA بر طول شاخساره در سطح 1% معنی دار شد. بر اساس نتایج، تیمار 4 میلی گرم در لیتر BA به تنهایی منجر به تولید بلندترین شاخساره های جانبی گردید. میانگین طول شاخساره های جانبی در این تیمار 3/1 سانتی متر بود.کوتاه ترین نوساقه ها در تیمار حاوی 8 میلی گرم در لیتر BA و صفر میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد. متوسط طول شاخساره در این تیمار 0/56 سانتی متر بود (جدول 1).

تعداد گره تولید شده بر شاخساره های جانبی: اثر غلظت های مختلف BA و NAA بر تعداد گره تولید شده در شاخساره‌ها در سطح احتمال 1% معنی دار بود. تیمار 2 میلی گرم در لیتر BA به تنهایی بیشترین تعداد گره را به دست داد. متوسط تعداد گره در این تیمار 7/42 عدد بود.کمترین تعداد گره در تیمار 8 میلی گرم در لیتر BA و صفر میلی گرم در لیتر NAA به دست آمدکه متوسط تعداد گره در این تیمار 0/66 عدد بود (جدول 1).

طول میانگره ها: اثر غلظت های مختلف BA و NAA بر طول میانگره های تولید شده در شاخساره ها در سطح احتمال 5% معنی‌دار بود. بیشترین طول میانگره در تیمار 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین و 0/1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به دست آمد.

متوسط طول میانگره در این تیمار 0/52 سانتی متر بود. کمترین طول میانگره در تیمار 8 میلی گرم در لیتر BA و صفر میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد. متوسط طول میانگره در این تیمار 0/066 سانتی متر بود (جدول 1).

جدول 1- اثر کاربرد بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید بر تعداد شاخساره، طول شاخساره، تعداد گره وطول میانگره در پایه GN15

تیمار	تعداد شاخساره	طول شاخساره (سانتی متر)	تعداد گره	طول میانگره (سانتی متر)
شاهد	1b	0/65c	1/5d	0/15cd
2BA/ 0NAA	5/85ab	3/03ab	7/42a	0/375abc
2BA/ 0,05NAA	3/4ab	3/02ab	4/6abc	0/48ab
2BA/ 0,1NAA	7/ 25a	2/67ab	5abc	0/52a
4BA/0NAA	5/80ab	3/1a	6/6ab	0/441ab
4BA/0,05NAA	2/5ab	1/75bc	3/5bc	0/41ab
4BA/0,1NAA	5/81ab	2/77ab	5/18abc	0/47bcd
8BA/0NAA	0/66b	0/56c	0/66d	0/066d
8BA/0,05NAA	6/125ab	1/4c	3/3cd	0/201bcd

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح 5 درصد با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن است.

شاخساره زایی به شکستن غالبیت انتهایی و فعال شدن مریستم های جانبی بستگی دارد که این امر عمدتاً توسط سایتوکینین های درونی و بیرونی کنترل می شود (دوبرانزکی و سیلوا، 2010). به منظور ریزازدیادی هسته داران استفاده از BA در محیط کشت مناسب شناخته شده است که اثر خود را در ترکیب با اکسین ها نشان می دهد. BA به علت این که باعث شکستن غالبیت انتهایی می‌شود، باعث تحریک تولید شاخساره های جانبی و جدید می‌گردد (رزیک و همکاران، 2001). به نظر می رسد غلظت های بالای BA اثر بازدارندگی بر تولید شاخساره و افزایش طول آن دارد به طوری که تعداد و طول شاخساره و تعداد گره ها از شاهد هم کمتر شده است. در شاخساره زایی قطعات تک گره بادام رقم 7 شاهرود افزایش BA تا 3 میلی گرم در لیتر باعث کاهش طول شاخساره می شود. کمالی و همکاران(2006) گزارش کردند که با افزایش غلظت BA شیشه ای شدن اتفاق می افتد. در تحقیق حاضر نیز افزایش غلظت BA تا 8 میلی گرم در لیتر بدون NAA، افزایش شیشه ای شدن و کاهش تعداد شاخساره و طول شاخساره و تعداد گره و طول میانگره را به دنبال داشت.

در نتیجه گیری کلی باید بیان کرد که برای پرآوری شاخساره در شرایط درون شیشه ای، افزودن سیتو کینینی مانند بنزیل آدنین ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق ترکیب غلظت های مختلف BA و NAA اثرات متفاوتی را در تعداد شاخساره جانبی، طول شاخساره ها، تعداد گره و طول میانگره بر جای گذاشت. تیمار 2 میلی گرم در لیتر همراه با 0/1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک

اسید بالاترین تعداد شاخساره جانبی و طول میانگره و تیمارهای 4 میلی گرم در لیتر BA بدون نفتالین استیک اسید و 2 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین بدون نفتالین استیک اسید به ترتیب بالاترین طول شاخساره جانبی و تعداد گره را به دست دادند.

منابع

شکافنده، ا. قاسمی، م. 1387. بررسی اثرهای BA و TDZ بر رشد جوانه و رویان زایی بدنی لپه های نابالغ بادام دیر گل رقم 7 شاهرود. مجله علوم باغبانی(علوم و صنایع کشاورزی). 22(2): 154- 147 .

کمالی، ک. مجیدی، ا. و ضرغامی، ر. 1380 . تعیین مناسبترین محیط کشت و شرایط رشد جهت ریزازدیادی پایه های رویشی GF677 (هیبرید هلو× بادام). مجله نهال و بذر. 17: 38-47.

مهدویان، م. بوذری، ن. و عبداللهی، ح. 1389. اثر محیط کشت و تنظیم کننده های رشد بر پرآوری و ریشه زایی پایه رویشی محلب (سنت لوسی 64). به نژادی نهال وبذر. 1: 15-26.

Bonga J.M., Klimaszewska K.K., von Aderkas P. 2010. Recalcitrance in clonal propagation, in particular of conifers. Plant Cell Tissue Organ Culture. 100. 241-54.

Dobranszki J., da Silva JA. 2010. Micropropagation of apple – A review. Biotechnology Advances. 28:462–488.

Felipe A.2009. Felinem, Garnem, and Monegro. almond × peach hybrid rootstocks. Horticultural science. 44(1):196- 197.

Kamali K., Majidi E., and Zarghami R. 2006. Micropropagation of GF677 rootstocks (Prunus amygdalus × P. persica). Plant Genetics and Breeding. 56: 175- 177.

Rayya A.M.S. 2010. Effect of different cytokinins concentration and carbon sources on shoot proliferation of bitter almond nodal cuttings. Journal of American Science. 6(9): 465-469.

Ruzic D., Saric M., Cerovic R.and Culafic L.J. 2001. Changes in macroelement content of the media and in sweet cherry Inmil GM9 shoots during in vitro culture. Journal of Horticultural Science and Biotechnology.76(3): 295–299.

Sharifmoghaddam N., Safarnejad A. and Tabatabaei S. M. 2011. The effect of plant growth regulator on callus induction and regeneration of GF677 rootstock. International Journal of Science and Nature. 2(4): 805-808.

Sotomayor C., Castro J. and Bravo A. 2012. Preliminary evaluation of productivity and fruit quality for seven peach rootstocks in Chile. Journal of Ornamental and Horticultural Plants. 2(1): 21-25.

Zrig A., Tounekti T., Vadel AM., Ben Mohamed H., Valero D., Serrano M., Chtara C. and Khemira H. 2011. Possible involvement of polyphenols and polyamines in salt tolerance of almond rootstocks. Plant Physiology and Biochemistry. 49: 1313-1322.

Investigation of Shoot Proliferation in GN15 Rootstock by 6-benzyladenine and 1-naphthaleneacetic acid

M. Karimi*1, H. Sarikhani1 and M. Gholami1

1- Department of Horticultural Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

* Corresponding author

Abstract

GN15 (Garnem) is a vigorous rootstock, used for peach, nectarine and almond and is suitable for many regions in Iran. In this study, effects of 6-benzyladenine (BA) at 2, 4 and 8 mg/L with 1-naphthaleneacetic acid (NAA) at 0, 0,05 and 0,1 mg/L on shoot proliferation of GN15 rootstock were studied. The results showed the highest number of proliferated shoot per explant in 2 mg/L BA and 0,1 mg/L NAA. Maximum length of shoots was observed in treatment with 4 mg/L BA without NAA and number of nodes was increased in 2 mg/L BA and 0 mg/L NAA. Maximum length of internodes was obtained in medium containing 2mg/l BA and 0/1mg/l NAA. Increasing concentration of BA up to 8mg/L without NAA increased vitrification and decreased shoot number per explants, shoot length, nodes number and internode length.
Keywords: Garnem,shoot proliferation, 6-benzyladenine, 1-naphthaleneacetic acid