بررسی تاثیر سطوح مختلف بنزیل آمینو پورین بر روی رشد نوساقه و ریشه زایی در انگور رقم تامپسون سیدلیس

فرشاد فلاح [1*]، دانیال کهریزی [2]، علیرضا زبرجدی [2]، امیر ارسلان احمدی [3]، مژگان ملصقی [4]
1- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه. 2- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه. 3- کارشناس ارشد باغبانی، دانشگاه رازی، کرمانشاه. 4- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه.

چکیده

انگور (Vitis vinifera) از مهم ترین محصولات باغی در سراسر دنیا است. تکثیر انگور از طریق بذر، خوابانیدن شاخه، قلمه و کشت بافت صورت می گیرد. در تمام روشهای مرسوم تکثیر، موانع هتروزیگوسیتی، فضا، زمان و خواب بذر، عملکرد را محدود می سازد. کشت بافت به عنوان ابزاری جهت تولید ماده گیاهی اولیه انگور (عاری از بیماری، کلونهای انتخابی و محلی و هیبریدهای جدید) به کار می رود. محرک اصلی برای تولید نوساقه زایی و ریشه زایی در ریز نمونه جوانه کناری، تنظیم کننده های رشد می باشد. در این آزمایش به بررسی اثر چهار سطح BAP (صفر، 1, 2 و 4 میلی گرم در لیتر) بر روی سرعت رشد انگور و ریشه زایی آن در 4 تکرار پرداخته شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف BAP از نظر تأثیر بر رشد نوساقه و ریشه زایی جوانه کناری وجود دارد. سطح 1 میلی گرم در لیتر BAP به عنوان مؤثرترین سطح برای ریشه زایی و نوساقه زایی همزمان شناخته شد.

مقدمه

انگور از جنس Vitis بوده و شامل دو زیر جنس مهم Euvitis و Muscadineae می باشد. کلیه گونه های زیر جنس Euvitis که به انگور حقیقی مشهور می باشند، دارای 38 کروموزم بوده و تمام گونه های آن نیز خودبارورند. این جنس دارای حدود 60 گونه مشهور بوده که یکی از مهمترین آنها V. vinifera می باشد (4). این گونه از مهم ترین محصولات باغی در سراسر دنیا است که هم به لحاظ سطح زیر کشت و هم ارزش اقتصادی و تغذیه ای بالا، از دیر باز مورد کشت و کار واقع می شود. این گیاه از نظر اقتصادی بسیار حائض اهمیت می باشد و تنوع مصرف و سطح زیر کشت این گیاه اهمیت آن را چندین برابر می کند (9). جنس Vitis به طور وسیع در منطقه بزرگی از عرض جغرافیای 25 و 50 درجه در آسیای شرقی، اروپا، آمریکای شمالی و خاورمیانه کشت می شود. طبق گزارش FAO در سال 2008، اسپانیا بیشترین سطح زیر کشت و ایتالیا و فرانسه در مقامهای بعدی قرار دارند. این در حالی است که ایتالیا از نظر میزان تولید مقام اول را دارد. ایران هم به علت بر خورداری از شرایط جغرافیای و اقلیمی مناسب، یکی از مهم ترین مراکز تولید و پرورش انگور در جهان محسوب شده و یازدهمین کشور تولید کننده این محصول در جهان است. از نظر ارزش غذایی به این جمله اکتفا می شود کرد که ارزش غذایی یک کیلوگرم انگور معادل دو کیلو گرم گوشت می باشد. در تمام روشهای مرسوم موانع هتروزیگوسیتی، فضا، زمان، خواب بذر عملکرد را محدود می سازد (4). کشت بافت به عنوان ابزاری جهت تولید ماده اولیه انگور عاری از بیماری، کلون های انتخابی و محلی، هیبریدهای جدید به کار می رود (5). در کشت جوانه کناری، یک جوانه به همراه قطعه ای از ساقه جدا می شود و هدف بدست آوردن یک ساقه از رشد جوانه است. تکنیک رشد جوانه پر کاربرد ترین تکنیک در مسیر ریزازدیادی است (3). جوانه های جانبی روی ریز نمونه ممکن است نوساقه تولید کنند که روی خود این نوساقه ها، جوانه های دیگری ایجاد می گردد (5). در برخی گونه ها تولید ساقه ممکن است بطور خود به خود در یک محیط کشت فاقد هر نوع ماده تنظیم کننده رشد رخ دهد، اما در اغلب گونه ها افزودن هورمونهای رشد به محیط کشت برای شروع تشکیل ساقه لازم است. دو نوع از مواد تنظیم کننده رشد یعنی اکسین و سیتوکینین ها بسته به نوع ریز نمونه، سن گیاه و شرایط رشد با نسبت های مختلف مورد استفاده قرار می گیرند(3). سیتوکینین های طبیعی 2ip و زآتین و سیتوکینین های مصنوعی BAP و کینتین هستند. سیتوکینین های مصنوعی، فعالیت بیولوژیکی بسیار بالای دارند و گران قیمت

نیستند. لذا کاربرد وسیعی درکشت بافت دارند. سیتوکینین ها باعث تورم بافتها، تحریک نمو جوانه های جانبی، نابجا و تحریک تقسیم سلولی میشوند (5). یکی از اعمال اصلی سیتوکینین ها در کشت بافت ایجاد ساقه نابجا است (6). بنزیل آمینو پورین (BAP)، نوعی سیتوکینین است که از مشتقات آدنین است و در غلظت های بیشتر (1 تا 10 میلی گرم بر لیتر) تشکیل ساقه نابجا القاء شده و تشکیل ریشه متوقف می شود. در تولید ساقه جانبی از جوانه جانبی بایستی به مواردی توجه داشت که عبارتند از: 1- مقدار سیتوکینین مورد نیاز بسیار متغییر است و باید با توجه گونه گیاه و واریته خاص مورد استفاده تنظیم شود. اغلب گیاهان به BAP در حد بسیار خوب و به کینتین و 2ip کمتر، عکس العمل نشان می دهند. 2- غلظت سیتوکینین به مرحله رشدی بافت ریز نمونه بستگی دارد. بافت جوان نسبت به بافت مسن سیتوکینین کمتری نیاز دارد. 3- نسبت به سیتوکینین به اکسین معمولا 10 به 1 می باشد (3). رشد طولی ساقه اغلب برای ریشه زایی ساقه ضروری است. ساقه ها قبل از اینکه قابلیت ریشه زایی را بدست آورند باید رشد طولی مناسبی داشته باشد (7). رشد طولی ساقه جانبی زمانی انجام می شود که جوانه های جانبی که بطور معمول غیر فعال اند، از غالبیت انتهایی رهایی یابند. این کار بیشتر از طریق تغییر هورمونها (مخصوصا سیتوکینینها) در محیط کشت غذایی اعمال می شود. این روش تکثیر برای گونه های چوبی رایج است. (8). معمولا تشکیل ساقه نابجا نیاز به تیمار اکسین و سیتوکینین دارد که البته از مصرف زیاد اکسین باید پرهیز کرد، زیرا کاربرد وسیع اکسین سبب رشد کالوس و نیز باعث غیر نرمال شدن ساقه می گردد. به علاوه برای ایجاد ساقه معمولا استفاده از اکسینهای فنوکسی (NAA, IAA, IBA) نسبت به نوع فنوکسی قوی (۲،۴-D) ترجیح داده می شوند. در بعضی از ریز نمونه ها جهت ایجاد ساقه اکسین داخلی به اندازه کافی تولید می شود و افزودن اکسین به محیط حتی در غلظت کم مانع این عمل می شود (2). میزان اکسین داخلی در انگور بالا است بنابراین افزودن اکسین ساقه زایی را به تاخیر می اندازد و حتی مانع ساقه زایی می شود و از طرفی سیتوکینین نقش بازدارنده در ریشه زایی انگور دارد. یافتن نسبت مناسب اکسین به سیتوکینین در ایجاد ساقه با رشد مناسب که دارای ریشه زایی مناسب باشد ضروری می باشد (1). در این آزمایش هدف بررسی و یافتن حد مناسب سیتوکینین و اکسین داخلی انگور رقم تامپسون سیدلس می باشد.

مواد و روش

به منظور انجام این پژوهش نمونه های مناسب برای کشت، ساقه جوان سال جاری رقم کریمسون سیدلس جمع آوری شدند. ابتدا ساقه ها توسط محلول 1/2% هیپوکلریت سدیم به همراه چند قطره توین 20 به مدت 20 دقیقه ضدعفونی شدند. سپس ریزنمونه ها چهار مرتبه با آب مقطر استریل در زیر هود لامینار آبکشی شدند. سپس حدود 2-3 سانتی متر ساقه همراه با یک جوانه کناری بریده شده و ریز نمونه ها فاقد علائم بیماری یا آفت بودند. در این آزمایش به بررسی اثر چهار سطح BAP (صفر، 1, 2 و 4 میلی گرم در لیتر) بر روی سرعت رشد انگور در 4 تکرار پرداخته شد. پس از کشت، نمونه ها در شرایط اتاق رشد با درجه حرارت 25 درجه سانتیگراد، فتوپریود 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی و شدت نور 5000 لوکس منتقل شدند. سپس در زمانهای مختلف اقدام به اندازه گیری طول گیاهچه های تولیدی و درجه بندی، امتیاز دهی ریشه زایی، نموده. تأثیر BAP روی سرعت رشد نوساقه ها مشخص شود. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال 1% انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که تفاوت میان سطوح و شاهد در رشد ساقه و ریشه زایی معنی دار می باشد (جدول 1و2).

جدول 1- تجزیه واریانس اثر چهارسطح تنظیم کننده رشد BAP بر روی رشد ساقه انگور

منبع تغییرات	درجه آزادی	MS
تیمار	3	1001/56**
اشتباه آزمایش	12	42/36

** نشان دهنده معنی دار بودن تیمار در سطح احتمال 1%

جدول 2- تجزیه واریانس اثر چهارسطح تنظیم کننده رشد BAP بر روی ریشه زایی انگور

منبع تغییرات	درجه آزادی	MS
تیمار	3	12/83**
اشتباه آزمایش	12	0/20

** نشان دهنده معنی دار بودن تیمار در سطح احتمال 1%

مقایسه میانگین سطوح مختلف BAP نشان داد که سطح 4 میلی گرم بر لیتر BAP بیشترین اثر را بر روی رشد گیاهچه دارد. به طوری که پس از 48 روز 49/75 میلی متر طول نوساقه را افزایش داده است. همچنین بین غلظت های 1و 2 میلی گرم بر لیتر تفاوت معنی داری مشاهده نشد و با سطح 4 میلی گرم بر لیتر BAP متفاوت بوده و ریشه زایی در سطح 4و2 میلی گرم بر لیتر BAP کمترین ریشه زایی صورت گرفته و تفاوتی معنی داری در این دو سطح مشاهده نشد (جدول 3 و4).

جدول 3- مقایسه میانگین اثر چهارسطح تنظیم کننده رشد BAP بر روی رشد ساقه انگور

میزان BAP (میلی گرم بر لیتر)	میانگین (سانتی متر)
4	49/75A
2	34/00B
1	33/25 B
شاهد (صفر)	11/25C

جدول 4- مقایسه میانگین اثر چهارسطح تنظیم کننده رشد BAP بر روی رشد کمی و کیفی ریشه انگور

میزان BAP (میلی گرم بر لیتر)	میانگین
شاهد (صفر)	3/75 A
1	2/75 B
2	0/50 C
4	0/00 C

دستیابی به سطوح بهینه BAP در رشد مناسب ساقه در کشت جوانه کناری انگور امری ضروری می باشد. اثر سیتوکینین در غلبه بر جوانه انتهای در صورت وجود و نیز ساقه زایی و رشد سریع ساقه حاصل از جوانه کناری به اثبات رسیده است. در ارتباط با چگونگی غلبه بر جوانه انتهایی توسط سیتوکینین دو فرضیه پیشنهاد شده است. اول اینکه ممکن است سیتوکینین از IAA اکسیداز که در جوانه های جانبی پیدا می شود، ممانعت به عمل می آورد و در نتیجه به اکسین اجازه داده تا به رشد طولی جوانه های جانبی بپردازد. دوم اینکه سیتوکینین ممکن است یک مکانیسم مقصد را در جوانه های جانبی ایجاد نماید که باعث تحریک و انتقال مواد غذایی، ویتامین ها و دیگر مواد رشد گردد. در این بررسی نشان داده شد برای رشد سریع جوانه کناری و دست یابی به نوساقه در زمان کوتاه تر استفاده از سطح 4 میلی گرم مناسب تر می باشد و عدم وجود سیتوکینین برای ریشه زایی سریع و فراوان مناسب است. بنابراین دو سطح 4 میلی گرم و صفر سطوح مناسبی برای ایجاد ریزنمونه‌های با ساقه و ریشه رشد یافته نمی‌باشند. با توجه به جدول شماره 4، تفاوت معنی داری در سطوح 1و 2 میلی گرم BAP در رشد ساقه وجود ندارد ولی در ایجاد ریشه ما بین این دو سطح تفاوت معنی داری وجود دارد (جدول 4) بنابراین بهترین سطح BAP برای رشد همزمان نوساقه و ریشه سطح 1 میلی گرم بر لیتر می باشد که در این سطح از هورمون هم ریشه و هم نوساقه دارای رشد مناسب هستند.

منابع

1. فلاح، ف.، د. کهریزی، ع. ر. زبرجدی، ا. ا. احمدی، و س. نوابی فر.1391.بررسی تاثیر جهت ریز نمونه در القای کالوس زایی و ریشه زایی بدون به کار بردن تنظیم کنندهای رشد در انگور(Vitis vinifera). همایش سالانه دانشگاه رازی، کرمانشاه.

2. Bonga, J.M., P.V. Aderkas. 2004. In vitro culture of trees. Ferdowsi University of Mashhad Publishers NO (402).52-53.

3. Chawla, H.S. 2005. Introduction to Plant Biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad Publishers , p. 508.

4. Ganji moghadam, E. 2011, Temperate zone pomology, Education and promote agriculture Publishers, Tehran. 448.

5. Kahrizi, D., A. Arminian, A. Masumi asl. 2007. In vitro plant breeding, Razi University press. Kermanshah. 205.

6. Minocha, S.C. 1987. plant growth regulators and morphogenesis in cell and tissue culture of forest tree. Cell and Tissue culture in Forestry vol 1 General Principles and Biotechnology, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 50-66.

7. Mapes M.o., P.M. Young., J.B. Zaerr., (1981) Multiplication in vitro du douglas (Pseudotsuga menziesii) par induction precoce dun bourgeonnement adventif et axillaire. In: (colloque international sur la culture in vitro des Essences Forestieres, IUFRO Section S2) 01 5, Fontainebleau, AFOCEL. 109-114.

8. McCown D.D, B.H. McCown. (1987) North American hardwoods. In: JM Bonga and DJ Durzan (eds) cell and tissue culture in Forestry, vol 3, Case Histories: Gymnosperms, Angiosperms and Palms, martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 247-260.

9. Tafazoli, A., J. Hekmate, P. Firozeh. 1991. Grape. Shiraz University Publisher. p. 343.

Effect of different levels of benzylaminopurine (BAP) on shoot and root growth rate of grape cultivar Thompson Seedless

F. Fallah*, D. Kahrizi, A.R. Zebarjadi, and A.A. Ahmadi, M. Molsaghi

1- Agricultural Faculty, Razi University, Kermanshah- Iran

Abstract

Grape (Vitis vinifera) is one of the most important garden's products in all over the world. Grape propagation is via seeds, lying down of branches, grafting, stem cutting and tissue culture. In all traditional methods; heterozygosity obstacles, space, seed dormancy limit the yield. Tissue culture is used for producing grape primary material such as disease-free, selectable and endemic clones and new hybrids. The main stimulus for producing an adventitious shoots in auxiliary buds is explant physical isolation from stock plant and growth regulators. In current experiment the effects of four levels of BAP (0, 1, 2 and 4 mg/l) on growth rate of grape in 4 replications was investigated. Statistical analysis showed that there was a significant difference among BAP levels for growth and rooting rate. We found that the 1 mg/l BAP level was the most efficient concentration for growth shoot with rooting rate.