بررسی ریزافزایی تمشک بی خار با استفاده از ریزنمونه جوانه جانبی

اعظم جعفری نجف آبادی(۱)، یوسف حمیداوغلی(۲)
۱- دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس، ۲- استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده علوم باغبانی دانشگاه گیلان

هدف از این پژوهش، استقرار بهترین محیط کشت برای ریزازدیادی تمشک بی خار رونده بود. جوانه های جانبی به عنوان ریزنمونه انتخاب شدند. بعد از ضد عفونی، ریزنمونه ها در محیط کشت MS دارای ۲ میلی گرم در لیتر BA مستقر شدند. بعد از ۲ هفته، ریزنمونه ها به محیط کشت پرآوری شامل ۱۲ ترکیب تنظیم کننده های رشد BA (۰، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر) و GA_3 (۰، ۰.۲، ۰.۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) منتقل شدند. بیشترین تعداد شاخه (۳/۳۳) و طویل ترین شاخه (۵/۸۷ سانتیمتر)، در محیط کشت دارای ۲ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA_3 به‌دست آمد. در تیمار ریشه زایی از محیط کشت پایه MS به همراه ٤ غلظت IBA استفاده شد. غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA، بیشترین (٤ ریشه) و طویل ترین ریشه (میانگین طول ۷/۸۳ سانتی متر) را تولید کرد.

کلمات کلیدی: تمشک، ریزافزایی

مقدمه:

تمشک متعلق به تیره رزاسه و جنس *Rubus* است. *Rubus* یکی از متنوع ترین جنس‌ها در سلسله گیاهان است و حدود ٧٤٠ گونه دارد. بلک بری ها بومی شمال آمریکا و اروپا هستند . بلک بری‌ها به روش رویشی مانند قلمه چوب نرم و چوب سخت، خوابانیدن و تقسیم بوته تکثیر می‌شوند. ازدیاد موفقیت آمیز بوسیله هر یک از این روش‌ها به میزان فضای قابل دسترس بستگی دارد. به عنوان نمونه تکثیر از طریق خوابانیدن نیاز به فضای بیشتری دارد و علف‌های هرز بین آنها باید کنترل شود. در ازدیاد بروش قلمه گیری، علی‌رغم سادگی آن ریشه زایی همیشه رضایت بخش نیست. ازدیاد درون شیشه‌ای از طریق جوانه‌های جانبی، محدودیت‌های فصلی را رفع کرده و نیاز به ماده اولیه کمی برای تکثیر دارد. گیاهان تکثیر شده در شرایط درون شیشه‌ای عاری از بیماری بوده و همانند گیاه مادری هستند. با این روش گیاهان زیادی در مدت زمان کوتاه تولید می-شوند(بوسبی و هیملریک، ۱۹۹۹). ازدیاد درون شیشه‌ای در بسیاری از کولتیوارهای بلک بری استفاده شده است. بهرحال این تکنیک نیاز به آزمایشات بسیار برای بهینه کردن تمام مراحل دارد. هدف از این پژوهش تعیین غلظت بهینه تنظیم کننده های رشد می‌باشد که برای القا شاخه زایی و ریشه زایی بلک بری بی‌خار رونده نیاز است.

مواد و روش‌ها:

پس از جداسازی شاخه های رشد کرده در فصل جاری، برگ‌ها حذف شدند و ریزنمونه‌های تک جوانه به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ ٪ و سپس در محلول ضدعفونی کننده وایتکس ۳۰ ٪ به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند و سپس در محیط آغازش شامل محیط پایه MS، ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۳٪ ساکاروز و ٤ گرم در لیتر فیتاژل قرار گرفتند.۲ هفته بعد از قرار گیری در محیط آغازش، ریزنمونه‌ها به محیط پرآوری منتقل شدند که شامل غلظت‌های مختلفی از BA(۰، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و GA_3 (۰، ۰.۲، ۰.۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسکوربیک اسید بود. شاخه های طویل‌تر از ۱۰ میلی‌متر به محیط ریشه‌زایی شامل ٤ سطح IBA (۰، ۰.۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند.pH تمام محیط‌های کشت قبل از اتوکلاو ۵.۷ تنظیم شد. بعد از ٦ هفته، گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک پلاستیکی شامل مخلوط ضدعفونه شده پیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ منتقل شدند و بعد از ۳ هفته به گلدان منتقل شدند. آزمایشات در ۳ تکرار انجام شدند. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون توکی در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث:

استقرار و پرآوری شاخه: تقریبا تمام جوانه های جانبی بلک بری در محیط آغازش، استقرار یافتند و به محیط پرآوری منتقل

جدول ١- مقایسه میانگین اثر محیط‌های کشت بر تعداد شاخساره و طول شاخساره

غلظت BA	غلظت GA_3 (میلی‌گرم در لیتر)							
	۰		۰.۲		۰.۵		۱	
	SE± تعداد شاخساره	SE±طول شاخساره (سانتیمتر)	SE±تعداد شاخساره	SE±طول شاخساره (سانتیمتر)	SE±تعداد شاخساره	SE±طول شاخساره (سانتیمتر)	SE±تعداد شاخساره	SE±طول شاخساره (سانتیمتر)
۰	۱±۰.۳^{c}	۱.۲±۰.٤۱^{c}	۱±۰.۳^{c}	۱.٤۷±۰.٤۱^{c}	۲.۳۳±۰.۳^{b}	۱.۹۷±۰.٤۱^{c}	۲.۳۳±۰.۳^{b}	۲±۰.٤۱^{c}
۲	۱.۳۳±۰.۳^{c}	۱.۹±۰.٤۱^{c}	۲.۳۳±۰.۳^{b}	۳.۳۷±۰.٤۱^{b}	۳.۳۳±۰.۳^{a}	٥.۸۷±۰.٤۱^{a}	۳.۳۳±۰.۳^{a}	٥.۰۳±۰.٤۱^{a}
۳	۱.٦۷±۰.۳^{b}	۱.۲۳±۰.٤۱^{c}	۲.۳۳±۰.۳^{b}	۲.٥۷±۰.٤۱^{b}	۲.۳۳±۰.۳^{b}	۲.۸٤±۰.٤۱^{b}	۱.٦۷±۰.۳^{b}	۲.٥۳±۰.٤۱^{b}

†اعداد هر ستون که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد دارند.

شدند. اثر متقابل ۲ هورمون BA و GA_3 بر تعداد شاخه تولیدی و طول شاخه معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین تعداد شاخه در محیط MS که شامل ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰.۵ میلی‌گرم در لیتر GA_3 بود بدست آمد (شکل ۱) و کمترین تعداد شاخه در محیط کشت شاهد و محیط MS دارای ۰.۲ میلی‌گرم در لیترGA_3 تولید شد. بیشترین و کمترین طول شاخه نیز به ترتیب در محیط کشت شامل ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰.۵ میلی‌گرم در لیترGA_3 و محیط کشت شاهد بدست آمد.

در کشت بافت، سایتوکینین‌ها برای تقسیم سلولی ضروری هستند و در آغازش مستقیم و غیر مستقیم شاخه‌ها بسیار موثر هستند. سایتوکینین‌ها در تحریک رشد جوانه‌های جانبی و کاهش غالبیت انتهایی نیز نقش دارند. نتایج این پژوهش قابل مقایسه با نتایج بابروسکی و همکاران (١٩٩٦) است. طبق نتایج آنها در پرآوری شاخه‌ها غلظت ۱ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA موثر بود. وی و همکاران (۱۹۹۲)، گزارش دادند که درصورت کاهش غلظت BA از ۲ به ۱ میلی‌گرم در لیتر، پرآوری شاخه-ها تحریک نشد و درصورت افزایش غلظت BA به ٤ میلی‌گرم در لیتر، پرآوری کاهش یافت. آنها دریافتند که GA_3 در پرآوری ۳ گونه از ٤ گونه تمشک موثر بود. در حالیکه ویلا و همکاران (۲۰۰٥) عنوان کردند که بیشترین تعداد شاخه در محیط کشت پایهWPM محتوی ۱ میلی‌گرم در لیترBA بدست آمد، در پژوهش ما، بهترین نتیجه با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد.

شکل۱. ریزنمونه‌های رشد کرده روی محیط MS+2mg.l-1BA+0.5 mg.l-1 GA3 medium

شکل۲. ریزنمونه‌های رشد کرده روی محیط MS +2 mg.l^{-1}IBA

ریشه زایی و سازگاری: افزودن غلظت IBA اثر معنی‌داری بر تعداد و طول ریشه‌ها داشت (جدول ۲). غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA، بیشترین (٤ ریشه) و طویل‌ترین ریشه (میانگین طول ۷.۸۳ سانتی‌متر) را تولید کرد (شکل ۲). کمترین تعداد ریشه و کوتاه‌ترین ریشه در محیط کشت شاهد بدست آمد. نتایج این پژوهش با نتایج جیمز و همکاران (۱۹۸۰) و اندرسون و

همکاران (۱۹۸۰)، مطابقت داشت. جیمز و همکاران (۱۹۸۰) گزارش دادند که IBA محرک ریشه‌زایی تمشک است. در مقابل، دانلی و همکاران (۱۹۸۰) محیط کشت MS حاوی ۰.۵ تا ۰.۷ میلی‌گرم در لیتر IBA را بهترین محیط ریشه‌زایی دانست.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر محیط‌های کشت بر تعداد ریشه و طول ریشه

غلظت IBA	±SE تعداد ریشه	±SE طول ریشه(سانتیمتر)
۰	۰.۳۳±۰.۵۲^{b}	۰.٤±۰.۸۰^{b}
۰.۵	۱±۰.۵۲^{b}	۱.۲۳±۰.۸۰^{b}
۱	۲±۰.۵۲^{ab}	۲.۹±۰.۸۰^{b}
۲	٤±۰.۵۲^{a}	۷.۸۳±۰.۸۰^{a}

†اعداد هر ستون که دارای حروف مشابه نیستند، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

در مرحله سازگاری، حدود ۸۵ درصد از ریزنمونه‌های ریشه دار شده، بعد از یک ماه انتقال، سازگار شده و زنده ماندند (شکل ۳).

شکل۳. گیاهچه های سازگار تمشک بی‌خار

منابع:

Anderson WC (1980) Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus*, and *R. occidentalis*. Acta Hort 112:13-20.

Bobrowski VL, Mello-Farias Paulo C, Peters Jose A (1996) Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars. Rev Bras De Agrociencia 2: 17-20.

Busby AL, Himelrick DV (1999) Propagation of blackberries (*Rubus* sp.) by stem cuttings using various IBA formulation. Acta Hort 505: 327-332.

Donnelly DJ, Stace-Smith R, Mellor FC (1980) In vitro culture of three *rubus* species. Acta Hort 112:69 76.

James DJ, Knight VH, Thurbon IJ (1980) Micropropagation of Red Raspberry and the influence of phloroglucinol. Scientia Horticulturae 12: 313-319.

Villa F, Araujo AG, Salles Pio LA, Pasqual M (2005) *In vitro* multiplication of blackberry (*Rubus* sp.) Ebano in different MS medium concentrations and BAP. Ciênc agrotec, Lavras 29(3): 582-589.

Wei J, Ying G, Shen-zhi Z (1992) *In vitro* micropropagation of *Rubus* species. Scientia Horticulturae 49: 335-340.

Micropropagation of thornless trailing blackberry (*Rubus* sp.) by axillary bud explants

***[1]A Jafari Najaf-Abadi and [2]Y Hamidoghli**

*[1]PhD student of Tarbiat Modares Univesity. and 2, Assistant professor, Dept. of Horticulture. Faculty of Agriculture, University of Guilan, Iran.

Abstract

The purpose of this study was to establish best condition for *in vitro* propagation of thornless trailing blackberry (*Rubus* sp.). Axillary bud were used as explants. After sterilization, explants were placed into MS medium supplemented with 2 $mg.l^{-1}$ BA. Two weeks after that, in shoot proliferation stage, 12 culture media containing MS supplemented with 3 concentrations of BA (0, 2 and 3 $mg.l^{-1}$), alone or in combination with GA_3 (0, 0.2, 0.5 and 1 $mg.l^{-1}$) were compared. The greatest number of shoots with average of 3.33 and the maximum shoot length with average of 5.87 cm were produced in medium containing 2 $mg.l^{-1}$ BA and 0.5 $mg.l^{-1}$ GA_3 . In the rooting experiment, rooting medium comprised MS medium in combination with different concentrations of IBA (0, 0.5, 1 and 2 $mg.l^{-1}$). A concentration of 2 $mg.l^{-1}$ IBA gave a greater number of roots and maximum root length. In this medium four roots with root length average of 7.83 cm were produced.

Key words: *Rubus* sp., axillary bud, *in vitro,* tissue culture.