

اثر اسپرمیدین و اکسین بر ریشه زایی شاخساره های درون شیشه ای انار رقم 'رباب'

علی بیابانی گلوزان (۱)، اختر شکافنده (۲)

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

در این پژوهش، شاخساره های پرآوری شده از محیط کشت WPM روی محیط کشت WPM/2 غنی شده با ایندول بوتریک اسید (IBA) و نفتالن استیک اسید (NAA) به غلظت های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی گرم در لیتر کشت شدند. در آزمایشی جداگانه اثر پلی آمین اسپرمیدین با غلظت های صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار و IBA با غلظت های صفر و ۱ میلی گرم در لیتر و ترکیبی از آنها روی ریشه زایی شاخساره های پرآوری شده مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین درصد ریشه زایی در غلظت های پایین (۱ میلی گرم در لیتر) IBA و NAA به دست آمد به طوری که با افزایش غلظت IBA و NAA درصد ریشه زایی کاهش یافت. اسپرمیدین به تنهایی درصد ریشه زایی را افزایش داد اما اثر معنی داری روی تعداد ریشه و طول ریشه نداشت و اسپرمیدین همراه با IBA درصد ریشه زایی و تعداد ریشه را کاهش و مقدار کالوس را افزایش داد.

کلمات کلیدی: انار، اسپرمیدین، اکسین، ریشه زایی و کشت درون شیشه ای.

مقدمه:

انار (*Punica granatum L.*) یکی از مهمترین و قدیمی ترین درختان مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان است. انار به روش های جنسی و غیر جنسی افزایش می یابد. در روش افزایش جنسی به علت تفرقه صفات، گیاهان ایجاد شده شبیه به پایه مادری نخواهند بود. در روش غیر جنسی افزایش انار می تواند به وسیله قلمه چوب سخت، پاجوش، خواباندن شاخه و پیوند انجام شود که این روش ها هر کدام مشکلات مخصوص به خود را دارند. بدون تردید استفاده از قلمه چوب سخت و نیمه سخت یکی از ارزان ترین و آسان ترین روش افزایش انار است. ولی این روش خیلی کارآمد نیست، زیرا حدود ۱۲ ماه زمان لازم است تا یک قلمه بصورت بهینه ای ریشه دار شود (Anon., 1982). علاوه بر این محدودیت مواد اولیه برای تهیه قلمه از یک رقم انتخابی پیش خواهد آمد (Biabani and Shekafandeh., 2010). امروزه بررسی هایی در ارتباط با استفاده از تکنیک های کشت درون شیشه ای برای افزایش انار انجام شده است (Naik, 1999; El-Agamy et al., 2009). رابطه بین پلی آمین ها و تنظیم کننده های رشد روی ریشه زایی برخی از گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است (Rey et al., 1994; Gemici et al., 2006). تونان و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که پوترسین، اسپرمیدین درصد ریشه زایی درون شیشه ای زبان گنجشک را تا ۱۰۰٪ افزایش دادند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با هم نداشتند. وقتی که IBA همراه با پوترسین، اسپرمیدین بکار برده شد، ریشه زایی را کاهش داد. این پژوهش به منظور بررسی اثر دو نوع اکسین (IBA, NAA) و پلی آمین اسپرمیدین بر روی ریشه زایی شاخساره های درون شیشه ای انار رقم 'رباب' انجام شد.

مواد و روش ها:

از شاخه های در حال رشد انار رقم 'رباب' (۱۵ تا ۲۰ cm) برای تهیه ریزنمونه های تک گرهی به طول ۱/۵ تا ۲ سانتی متر استفاده شدند. پس از شستشو اولیه ریزنمونه های گیاهی، از الکل اتیلیک (۷۰٪) به مدت ۳۰ ثانیه، کلراکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه و آبگرم ۴۰ درجه سلسیوس به مدت یک برای کنترل آلودگی (قارچی و باکتریایی) استفاده و سپس دستکم سه مرتبه با مقطر سترون آبکشی شدند. از سه زیر کشت متوالی (هر ۲۴ ساعت یک زیرکشت) برای کنترل ماده فنولی ریزنمونه ها استفاده شد. به منظور پرآوری شاخساره یک میلی گرم در لیتر BA به محیط کشت پایه WPM افزوده شد. برای بررسی بهترین ریشه زایی شاخساره ها، محیط کشت WPM/2 همراه با غلظت های صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی گرم در لیتر IBA و NAA

در قالب طرح کاملاً تصادفی و هم چنین در آزمایش دیگری به منظور بهینه سازی ریشه زایی پلی آمین اسپرمیدین با غلظت های صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار و IBA با غلظت های صفر و ۱ میلی گرم در لیتر بصورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی تهیه شد. سپس شاخساره های حدود ۲ سانتی متری جدا شده از کشت درون شیشه ای روی آنها کشت داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۳ شاخساره انجام شد. تجزیه داده ها با نرم افزار آماری SPSS و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای در سطح احتمال ۵٪ صورت پذیرفت و هر آزمایش دست کم دو بار تکرار شد.

نتایج و بحث:

اثر تنظیم کننده های رشد IBA و NAA بر درصد ریشه زایی، میانگین های تعداد ریشه در هر شاخساره، طول ریشه و قطر کالوس در جدول ۱ آمده است. بیشترین درصد ریشه زایی در غلظت های پایین (۱ میلی گرم در لیتر) IBA و NAA بدست آمد به طوری که با افزایش غلظت IBA و NAA درصد ریشه زایی به صفر درصد کاهش یافت. دلیل این کاهش می تواند به علت وجود اکسین در محیط کشت و اکسین داخلی در شاخساره انار باشد، زیرا ریشه زایی در حضور اکسین در محیط کشت کاهش می یابد. به طور کلی بدون در نظر گرفتن غلظت های مختلف، اکسین ها هیچ گونه اثر معنی داری بر تعداد ریشه در هر شاخساره نداشت. بیشترین طول ریشه (۱/۴۴ cm) در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر IBA حاصل شد که با سایر غلظت های IBA و NAA اختلاف معنی داری نداشت و به طور کلی بدون در نظر گرفتن غلظت های مختلف، اکسین ها (IBA و NAA) هیچ گونه اثر معنی داری بر طول ریشه نداشت. با افزایش غلظت های IBA و NAA میزان تشکیل کالوس در ته شاخساره ها به طور قابل توجه ای افزایش یافت. به طوری که بیشترین قطر کالوس ۶/۸۹ و ۷/۱۱ میلی متر در غلظت های ۴ میلی گرم در لیتر IBA و NAA تشکیل شد که با کنترل اختلاف معنی داری داشت. نتایج این پژوهش با پژوهش های پیشین موافقت می نماید (Biabani-Golozan and Shekafandeh., 2010).

جدول ۱- اثر دو نوع اکسین (IBA و NAA) بر ریشه زایی شاخساره درون شیشه ای انار رقم 'رباب'.

Type and Concentration Auxin(mg/l ⁻¹)	Rooting (%)	Average root number/shoot	mean	Average root length (cm)	Mean	Callus diameter (mm)	Mean
Control (0.00)	64	1.14ab	1.14A	1.29a	1.29A	0.00d	0.00B
IBA							
1	68	2.25a		1.44a		1.63d	
2	51	0.89b		1.11a		4.78abc	
3	0	0.00b		0.00a		5.89ab	
4	0	0.00b	0.74A	0.00a	0.61A	6.89ab	4.89A
NAA							
1	59	1.00b		0.83a		2.33cd	
2	49	0.83b		1.17a		4.33bc	
3	36	0.71b		0.71a		6.57ab	
4	0	0.00b	0.57A	0.00a	0.61A	7.11a	5.36A

در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف (حروف کوچک برای تیمارها و حروف بزرگ برای میانگین ها) یکسانی هستند

در سطح ۰.۰۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن دارای تفاوت معنی دار نیستند.

جدول ۲ اثر پلی آمین اسپرمیدین و IBA و برهمکنش آنها بر میانگین های درصد ریشه زایی، تعداد ریشه/ شاخساره، طول ریشه و قطر کالوس شاخساره انار 'رباب' را نشان می دهد. به طور کلی بدون در نظر گرفتن غلظت های IBA، پلی آمین اسپرمیدین اثر معنی داری روی تعداد ریشه، و قطر کالوس ته شاخساره نداشت اما با افزایش غلظت اسپرمیدین طول ریشه به طول قابل توجهی کاهش یافت. اسپرمیدین به تنهایی درصد ریشه زایی و قطر کالوس را افزایش داد اما اثر معنی داری روی تعداد ریشه و طول ریشه نداشت. هر چند که اثرات مثبت پلی آمین ها روی ریشه زایی شاخساره های درون شیشه ای فندق (Rey et al., 1994) گزارش شده است. به نظر می رسد که پلی آمین های خاصی در غلظت های ویژه ای در طی مراحل

بحرانی از رشد و ریخت زایی گیاهان درون شیشه ای نیاز است

جدول ۲- اثر پلی آمین اسپرمیدین و IBA و اثر توام آنها بر ریشه زایی شاخساره انار رقم 'رباب'.

SPD (mM)	IBA (mg l ⁻¹)	
	0	1
درصد ریشه زایی (%)		
Control (0.00)	53	68
0.25	55	0
0.50	59	0
0.75	65	0
1.00	66	0
میانگین تعداد ریشه / شاخساره		
Control (0.00)	2.57a	1.43ab
0.25	2.00a	0b
0.50	2.50a	0b
0.75	1.29ab	0b
1.00	1.71ab	0b
میانگین طول ریشه (cm)		
Control (0.00)	1.42a	0.21bc
0.25	0.74b	0c
0.50	0.44bc	0c
0.75	0.57bc	0c
1.00	0.57bc	0 c
میانگین قطر کالوس (mm)		
Control (0.00)	0.00d	4.50abc
0.25	0.88d	4.43abc
0.50	1.14d	4.88ab
0.75	1.89cd	4.83ab
1.00	2.50bcd	5.38a

در هر ستون و در هر ردیف میانگین هایی که دارای حروف یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن دارای تفاوت معنی دار نیستند

منابع:

- 1- Naik, S.K., S. Pathnaik, and P.K. chand. 1999a. *In vitro* propagation of pomegranate (*Punica granatum* L.) cv. Ganesh axillary shoot proliferation from nodal segments of mature tree. *Sci. Hort.* 79: 175-183.
- 2- Anon., 1982. The wealth of India: A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial products. 8: 317-324.
- 3- Biabani Golozan, A. and Shekafandeh, A., 2010. Effects of plant growth regulators on pomegranate (*Punica granatum* L. cv. Rabbab) Shoot proliferation and rooting. *Adv. Hort. Sci.* 24(3): 207-211.
- 4- El-Agamy, S. Z., Mostafa, R. A. A., Shaaban M. M., and El-Mahdy M. T., 2009. *In vitro* propagation of Manfalouty and Nab El-gamal pomegranate cultivars. *Res. J. Agri. Biol. Sci.* 5(6): 1169-1175.

- 5- Gemici, M., Unal, D., Nil Azeri, F., and Tan, K., 2006. Correlation between polyamines and growth regulators. J. Facul. Sci. 29: 13-23.
- 6- Rey, M., Diaz-sala, C., and Rodriguez, R., 1994. Exogenous polyamines improve rooting of hazel microshoots. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 36: 303-308.
- 7- Lloyd, G. and B. McCown. 1980. Combined Proc. Int. Plant progators Soc. 30: 21-427.

Effects of Spermidine and Auxin on *in vitro* rooting of pomegranate cv. Rabbab shoots

Ali Biabani and Akhtar Shekafandeh

Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Abstract

In this research, proliferated shoots originated from WPM were cultured on WPM/2 medium supplemented with 0.0, 1, 2, 3 and 4 mg l⁻¹ IBA and NAA. In separate experiment, the effects of different concentrations of spermidine (0.00, 0.25, 0.50, 0.75 and 1 mM) and IBA (0.00 and 1 mg l⁻¹) and their interactions on *in vitro* rooting of proliferated shoots were investigated. The results showed that the best rooting percentage was observed at low concentrations of IBA and NAA, however, with increasing of IBA and NAA rooting percentage decreased. Spermidine alone increased rooting percentage but it did not have any significant effects on root number and root length. Spermidine with IBA decreased root number and root length but increased the amount of callus.