# اثر پلی آمین ها و بنزیل آدنین بر رشد قطعات گرهی انار 'رباب' از طریق کشت درون شیشه ای

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

۱و۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

در این پژوهش اثر سه نوع پلی آمین (پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین)، بنزیل آدنین (BA) و برهمکنش آنها بر رشد قطعات گرهی انار 'رباب'مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزودن پلی آمین ها به محیط کشت باعث کاهش تعداد شاخساره ها در مقایسه با کنترل شد، اما اختلاف شان معنی دار نبود. بیشترین طول شاخساره (۷/۰۸ سانتی متر) در ۱ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۱ میلی مولار پوترسین به‌دست آمد که با کنترل (بدون BA و پوترسین) اختلاف معنی داری نشان داد. 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.

**کلمات کلیدی:** انار،اسپرمین، اسپرمیدین، بنزیل آدنین، پلی آمین ها، پوترسین، کشت درون شیشه ای.

**مقدمه:**

در حال حاضر ایران دارای متنوع ترین رقم های انار و یکی از بزرگترین تولید کننده و صادر کننده انار در دنیا 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 محدویت مواد اولیه برای تهیه قلمه از یک رقم انتخابی پیش خواهد آمد. امروزه بررسی هایی در ارتباط با استفاده از تکنیک های کشت درون شیشه ای برای افزایش انار انجام شده است (Naik,*et al.*, 1999; El-Agamy *et al.,* 2009 and Biabani and Shekafandeh., 2010)و هم چنین اثر پلی آمین ها و تنظیم کننده های رشد روی پرآوری شاخساره در برخی گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است .(Bais *et al.,* 2000; Kakkar *et al.,* 2000) گزارش شده است که افزودن ۰/۱ میلی مولار پوترسین به همراه با ۸/۸۷ میکرو مولار BA به محیط کشت، باعث افزایش تعداد شاخساره های *Achras sapota* شده است (Purohit *et al.,* 2007) و هم چنین افزودن پلی آمین ها به محیط کشت، باعث افزایش طول شاخساره های فندق شده است. این پژوهش به منظور بررسی اثر پلی آمین ها، BA و بر همکنش آنها بر روی پرآوری شاخساره های درون شیشه ای انار 'رباب' از ریزنمونه های تک گرهی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:**

از شاخه های در حال رشد انار '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 ٤٠ 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 ٢٤ ساعت یک زیرکشت) برای کنترل ماده فنولی ریزنمونه ها استفاده شد. محیط کشت WPM با غلظت های مختلف پلی آمین ها و BA به کار گرفته شد. برای بررسی اثر پلی آمین ها ، BA و برهمکنش آنها بر پرآوری شاخساره ها قطعه های گره، BA با غلظت های صفر و ۱ میلی گرم در لیتر و پلی آمین های پوترسین، اسپرمین و اسپرمیدین هر کدام با غلظت های صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰، ۰/۷۵ و ۱ میلی مولار به کار گرفته شد. پلی آمین ها بعد از اتو کلاو کردن محیط کشت، با فیلتر هایی به قطر به محیط کشت اضافه شد. سوکروز و آگار در تمام کشت ها به

ترتیب به میزان ۳۰ و ۸ گرم در لیتر به کار گرفته شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۳ ریزنمونه 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:**

تاثیر سه نوع پلی آمین ، BA و برهمکنش آنها بر تعداد و طول شاخساره در جدول ۱ و ۲ آمده است. به طور کلی بدون در نظر گرفتن غلظت های مختلف BA و پلی آمین ها، افزودن پلی آمین ها باعث کاهش تعداد شاخساره پرآوری شده در مقایسه با کنترل شد، هر چند که اختلاف شان معنی دار نبود (جدول ۱). هم چنین بدون توجه به اثر غلظت های مختلف پلی آمین ها، افزودن BA (یک میلی گرم در لیتر) باعث افزایش تعداد شاخساره شد هرچند که اختلاف معنی داری با کنترل (صفر میلی گرم در لیتر BA) نشان نداد (جدول۱). برهمکنش غلظت های مختلف پلی آمین ها و BA نشان داد که با افزایش غلظت های پلی آمین ها، تعداد شاخساره کاهش یافت هر چند که این کاهش معنی دار نبود. برخلاف این نتایج ،گزارش شده است که افزودن ۰/۱ میلی مولار پوترسین به همراه با ۸/۸۷ میکرو مولار BA به محیط کشت، باعث افزایش تعداد شاخساره های *Achras sapota* شده است (Purohit *et al.,* 2007) و هم چنین گزارش شده است که پوترسین پرآوری شاخساره های کاسنی را به طور قابل توجه ای افزایش داده است.

جدول۱- اثر پلی آمین ها، BA و برهمکنش آنها بر تعداد شاخساره های پرآوری شده انار رباب.

| Polyamines (mM) | BA (mg $l^{-1}$) | | Mean |
|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | |
| Control (0.00) | 0.78e | 3.56a | 2.17A |
| Put | | | |
| 0.25 | 1.17cde | 2.33a-e | |
| 0.50 | 1.83a-e | 1.83a-e | |
| 0.75 | 1.80a-e | 1.33b-e | |
| 1.00 | 1.58b-e | 1.17cde | 1.63A |
| SPM | | | |
| 0.25 | 2.33a-e | 3.17ab | |
| 0.50 | 1.67b-e | 2.83a-d | |
| 0.75 | 1.33b-e | 2.50a-e | |
| 1.00 | 1de | 2.00a-e | 2.11A |
| SPD | | | |
| 0.25 | 1.67b-e | 3.00abc | |
| 0.50 | 1.63b-e | 2.38a-e | |
| 0.75 | 1.50b-e | 2.33a-e | |
| 1.00 | 1.22cde | 2.00a-e | 1.93A |
| Mean | 1.50A | 2.34A | |

در هر ستون و در هر ردیف میانگین هایی که دارای حروف (حروف کوچک برای تیمارها و حروف بزرگ برای میانگین ها) یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن دارای تفاوت معنی دار نیستند

جدول۲- اثر پلی آمین ها، BA و برهمکنش آنها بر طول شاخساره های پرآوری شده انار(cm).

| Polyamines (mM) | BA (mg $l^{-1}$) | | Mean |
|---|---|---|---|
| | 0 | 1 | |
| Control (0.00) | 1.21e | 4.72a-e | 2.97B |
| Put | | | |
| 0.25 | 1.38e | 5.20a-e | |
| 0.50 | 5.00a-e | 5.40a-d | |
| 0.75 | 5.20a-e | 5.42a-d | |
| 1.00 | 5.25a-e | 7.08a | 4.99A |
| SPM | | | |
| 0.25 | 2.50b-e | 3.75a-e | |
| 0.50 | 3.25a-e | 4.43a-e | |
| 0.75 | 3.54a-e | 4.83a-e | |
| 1.00 | 3.67a-e | 6.33ab | 4.06AB |
| SPD | | | |
| 0.25 | 3.03a-e | 4.08a-e | |
| 0.50 | 3.90a-e | 4.75a-e | |
| 0.75 | 2.47b-e | 5.53a-d | |
| 1.00 | 1.92cde | 5.83abc | 3.89AB |
| Mean | 3.26A | 5.18A | |

در هر ستون و در هر ردیف میانگین هایی که دارای حروف (حروف کوچک برای تیمارها و حروف بزرگ برای میانگین ها) یکسانی هستند در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن دارای تفاوت معنی دار نیستند.

به طور کلی بدون در نظر گرفتن غلظت های مختلف BA و پلی آمین ها، بیشترین طول شاخساره پرآوری شده (٤/٩٩ سانتی متر) با افزودن پوترسین به محیط کشت بدست آمد که با کنترل (بدون پلی آمین) اختلاف شان معنی دار بود (جدول۲). اما بدون در نظرگرفتن غلظت ها و نوع پلی آمین ها، افزودن یک میلی گرم در لیتر BA باعث افزایش طول شاخساره شد هرچند اختلاف شان معنی دار نبود. بیشترین طول شاخساره به میزان ۷/۰۸ سانتی متر با افزودن یک میلی گرم در لیتر BA و یک میلی مولار پوترسین حاصل شد که با کنترل (بدون BA و پلی آمین) اختلاف شان معنی دار بود. افزودن پلی آمین ها به محیط کشت، باعث افزایش طول شاخساره های فندق شد (Nas., 2004). به نظر می رسد که پلی آمین های خاصی در غلظت های ویژه ای در طی مراحل بحرانی از رشد و ریخت زایی نیاز است (Kakkar *et al.,* 2000).

**منابع:**

1- Bais, H.P., Sudha, G.S., Ravishankar, G.A., 2000. Putrescine and silver nitrate influence shoot multiplication, *in vitro* flowering and endogenous titers of polyamines in *Cichorium intybus* L. cv. Lucknow local. J. Plant Growth Regul. 19: 238-248.

2- 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.

3- Purohit, S.D., Singhvi, A., Ngori, R., and Vas, S., 2007. Polyamines stimulate shoot bud proliferation and multiplication in Achras sapota grown in culture. Indian J. Biotech. 6: 85-90.

4- Nas, M.N., 2004. Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut ( *Corylus avellana* L.) micropropagation. Turk J. Agric for 28: 189-194.

5- Kakkar, R. K., P. K. Nagar., P.S. Ahuja and V.K. Rai., 2000. Polyamines and morphogenesis. Biologia plantarum 43 (1): 1-11.

**Effects of polyamines and BA on pomegranate nodal segment growth (*Punica granatum* L. cv. Rabbab) via *in vitro* culture**

Ali biabani and Akhtar shekafandeh
Department of Horticulture Science, Collage of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

**Abstract**

In this research, effects of polyamines, BA and their interactions on pomegranate nodal segments growth were investigated. The results showed that generally, addition of polyamines in culture medium decreased shoots number/explant in comparison with control, but their differences were not significant. The highest shoot length (7.08cm) produced with addition of 1 mM putrescine and 1 mg/l BA in culture medium, that their difference was significant in comparison with control (no BA and Put). It seems that specific polyamine at specific concentration is required during critical stages of growth and morphogenetic events.