تاثیر نوع اکسین بر ریزازدیادی جوانه های جانبی کیوی فروت (*Actinidia deliciosa*)، رقم هایوارد

اعظم جعفری نجف آبادی (۱)، یوسف حمیداوغلی (۲)، رضا فتوحی قزوینی (۳)
۱- دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس، ۲و۳- استادیار و استاد گروه علوم باغبانی دانشکده علوم باغبانی دانشگاه گیلان

در این پژوهش ریزنمونه های جوانه جانبی کیوی فروت (رقم هایوارد) پس از گندزدایی، در محیط کشت موراشیگی و اسکوگ (MS) حاوی ۲ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA) استقرار یافتند. در آزمایش شاخه زایی، ریزنمونه های جوانه جانبی روی ۹ محیط کشت پایه MS با غلظت های مختلف BA (۰، ۱، ۲ میلی گرم در لیتر) و ایندول استیک اسید (IAA) (۰، ۰/۱، ۰/۲ میلی گرم در لیتر) به صورت مجزا یا در ترکیب با همدیگر کشت داده شدند. بالاترین پرآوری شاخه در محیط دارای ۲ میلی گرم در لیتر BA به دست آمد. در آزمون ریشه زایی، از محیط پایه MS به همراه ٤ سطح BA (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر) و ایندول بوتیریک اسید (IBA) یا IAA (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر) استفاده شد. بهترین نتیجه در تعداد و طول ریشه در محیط پایه MS شامل ۳ میلی گرم در لیتر IBA حاصل شد. تاثیر IAA بر روی ریشه زایی معنی دار نبود و حدود ۸۰ درصد از گیاهچه های تولیدی ریشه دار شده در مرحله سازگاری زنده ماندند.

کلمات کلیدی جوانه جانبی، ریزازدیادی، کیوی

مقدمه:

کیوی‌فروت با نام علمی *Actinidia deliciosa* از تیره Actinidiacae است. تا کنون ٦۱ گونه و بیش از ۱۰۰ رقم از جنس *Actinidia* تشخیص داده شده است که از بین تمام گونه‌های این جنس فقط ۲ گونه از لحاظ اقتصادی و تجاری مهم هستند. یکی از آنها .*A. deliciosa* یا همان کیوی خوراکی و دیگری *A.chinensis* است که به‌صورت وحشی در چین می‌روید. سایر گونه‌های جنس *Actinidia* یا به‌صورت زینتی و یا به‌عنوان پایه در برنامه‌های به‌نژادی استفاده می‌شود[۱و٤]. این میوه بومی چین است و در سال‌های اخیر در بسیاری از کشورها مانند آمریکا، استرالیا، اسپانیا، فرانسه و ایتالیا کشت شده است. این گیاه از دو طریق جنسی و رویشی قابل ازدیاد است ولی به‌منظور حفظ یکنواختی ژنتیکی ارقام از روش‌های ازدیاد غیر جنسی مانند قلمه، پیوند و کشت بافت استفاده می‌شود. روش کشت بافت در اغلب کشورها از جمله آمریکا، ایتالیا و انگلستان برای ازدیاد گونه‌های مهم درختان میوه استفاده می‌شود. توسعه روش‌های ریزازدیادی کیوی بخش مهمی از برنامه-های پژوهشی برای اصلاح درون شیشه‌ای این گیاه است. ازدیاد انبوه ژنوتیپ‌های حاصل از به‌نژادی از طریق ریزازدیادی، حائز اهمیت است. به‌علاوه با کشت درون شیشه‌ای، تولید گیاهان عاری از بیماری نیز میسر است. درحال حاضر حدود ۵۰ درصد تولید این گیاه در کشور ایتالیا که اولین کشور تولیدکننده کیوی در جهان است [۵]، از طریق کشت بافت صورت می-گیرد. با وجود این، بر اساس بررسی‌های انجام شده، گزارش‌های مربوط به ازدیاد درون شیشه‌ای کیوی، در مواردی از کارایی لازم برخوردار نیستند . بنابراین با توجه به توسعه روزافزون کشت کیوی در منطقه شمال کشور و ضرورت بررسی تاثیر ترکیب‌های مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشد BA و GA_3 روی پرآوری شاخساره‌های کیوی، در این پژوهش از سطوح متفاوت این تنظیم‌کننده‌ها استفاده شد.

مواد و روش‌ها:

برای تهیه ریزنمونه‌های کیوی، شاخه‌های رشد کرده‌ی فصل جاری از گیاهان جوان کیوی‌فروت (رقم هایوارد) جدا گردید. پس از حذف برگ‌ها، به منظور گندزدایی سطحی نمونه‌ها در زیر هود از الکل اتیلیک۷۰ درصد به مدت ۳۰ تا ٤۰ ثانیه و سپس سفید کننده تجاری وایتکس ۳۰ درصد و ۰.۱ درصد توین ۲۰، به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. به‌منظور اطمینان از به-دست آوردن ریزنمونه گندزدایی شده و قبل از انتقال به محیط‌های کشت در تیمارهای مدنظر، نمونه‌ها به‌مدت ۲ هفته روی محیط کشت پایه MS به همراه ۳ درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA استقرار یافتند.

تاثیر غلظت سیتوکینین بر روی پرآوری ریزنمونه‌ها: یک ماه بعد، ریزنمونه‌های جوانه جانبی کیوی‌فروت در محیط پرآوری که شامل غلظت‌های مختلف از تنظیم کننده رشد BA (۰، ۱و۲ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) به طور مجزا یا در ترکیب با یکدیگر کشت شدند. در تمام محیط‌های کشت از محیط کشت پایه MS به اضافه آگار با غلظت ۸ گرم در لیتر و ساکاروز با غلظت ۳۰ گرم در لیتر استفاده شد. بعد از ٦ هفته، ریزنمونه‌های طویل‌تر از ۱۰ میلی‌متر به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند.

تاثیر نوع اکسین و غلظت آن در مرحله ریشه‌زایی: در مرحله ریشه‌زایی از شاخساره‌های رشد کرده در مرحله شاخه‌زایی که دارای ارتفاع تقریبا یکنواخت ۱ سانتی‌متر بودند، استفاده شد. از محیط پایه MS به‌همراه ٤ سطح BA (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و ایندول بوتیریک اسید[۷] (IBA) یا IAA (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر)، ۳ درصد ساکاروز و ۰/۸ درصد آگار، استفاده شد. بررسی و ارزیابی صفات تعداد و طول ریشه پس از ٦ هفته انجام گرفت. سپس گیاهچه به درون گلدان‌های حاوی مخلوط پیت و پرلیت و خاک برگ به نسبت ۱:۱:۱ منتقل شد. برای به حداقل رساندن آسیب‌های تنش رطوبتی تا یک هفته روی هر گلدان یک لیوان پلاستیکی شفاف قرار داده شد و سپس در هفته دوم با ایجاد سوراخ به‌تدریج گیاه به شرایط رطوبت کم سازگار شد. در طول مدت سازگاری، به فاصله ۲ روز یکبارآبیاری گلدان‌ها انجام شد.

نتایج و بحث:

استقرار و پرآوری ریزنمونه‌های جوانه جانبی: تقریبا تمام جوانه های جانبی در محیط آغازش، استقرار یافتند و به محیط پرآوری منتقل شدند. اثر BA بر تعداد و طول شاخه معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین تعداد شاخه و طویل‌ترین شاخه در محیط کشت پایه محتوی 2 $mg.l^{-1}$ BA حاصل شد (شکل۱).

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

تیمار	SE± تعداد شاخه	SE± طول شاخه
MS	۰.٤٥±۰.۲^{b}	۱.۲۱±۰.۲۹^{b}†
MS +1 $mg.l^{-1}$BA	۰.٦۸±۰.۲^{ab}	۱.۲۳±۰.۲۹^{b}
MS +2 $mg.l^{-1}$BA	۱.۲±۰.۲^{b}	۱.۳۳±۰.۲۹^{a}

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

محیط‌های کشت برای ریزازدیادی کیوی‌فروت بر پایه سیتوکینین‌ها مانند بنزیل آمینو پیورین[۸] (BAP) پیشنهاد شده است [٦]. سیتوکینین‌ها تقسیم سلولی و ازدیاد شاخه را تحریک می‌کنند و افزودن آنها به محیط کشت شاخه‌زایی را تحریک می‌کند. از

[7] Indole butyric acid
[8] Benzyl amino purine

این هورمون معمولا برای تحریک رشد جوانه جانبی و کاهش غالبیت انتهایی استفاده می‌شود. سطح بالای سیتوکینین‌ها باعث تولید تعداد زیادی شاخه می‌شود که به‌خوبی طویل نمی‌شوند [۷].

شکل ۱ - ریزنمونه رشد کرده در محیط دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر BA

شکل ۲ - ریزنمونه رشد کرده در محیط دارای ۳ میلی‌گرم در لیترIBA

وانگ و همکاران[9] [۹]، وسل و همکاران[10] [۱۰] و مونت[11] [۸] نیز غلظت‌های بالای سیتوکینین‌ها را در مورد رشد شاخساره کیوی‌فروت گزارش کردند. وسل و همکاران با بررسی پرآوری ریزنمونه‌های ***A. chinensis*** گزارش دادند که بهترین نتیجه در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد. در تناقض با نتایج این پژوهش، شن و همکاران بهترین شرایط پرآوری را محیط کشت دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰.۱ میلی‌گرم در لیتر IAA عنوان کردند.

ریشه زایی و سازگاری: نتایج نشان داد که اثر IBA بر تعداد و طول ریشه معنی‌دار است (جدول ۲). همانطور که انتظار می-رفت اکسین‌ها ریشه‌زایی را تحریک کردند. طویل‌ترین ریشه و بیشترین تعداد ریشه به ترتیب در غلظتهای ۳ و ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA، بدست آمد (شکل ۲). در کل با افزایش غلظت IBA، میزان ریشه زایی نیز افزایش یافت. این نتایج با نتایج مونت مطابقت داشت. براساس نتایج مونت[۸]، افزایش غلظت IBA از ۵ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر ریشه زایی را بهبود بخشید.

تنظیم کننده رشد IAA، اثر معنی‌داری بر تعداد و طول ریشه نداشت. اگرچه IAA ریشه زایی را تحریک می‌کند ولی ریشه های تولیدی سست و ضعیف بوده و گیاهچه‌های تولیدی امکان بقا و سازگاری را نیافتند.

حدود ۸۰ درصد گیاهچه هایی که ریشه‌های آنها با تیمارIBA ایجاد شده بود، به شرایط برون شیشه‌ای سازگار شدند.

[9] Wang, J. X. et al.
[10] Wessels, E. et al.
[11] Monette

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر محیط کشت بر صفات تعداد و طول ریشه

تیمار	SE± تعداد ریشه	SE± طول ریشه
MS	^{b}۰.۱۱±۰	†^{b}۰.۱۳±۰
MS +1 mg.l^{-1}IBA	^{b}۰.۱۱±۰.۱۳	^{ab}۰.۱۳±۰.۱۵
MS +2 mg.l^{-1}IBA	۰.۱۳±۰.۱۱^{b}	۰.۱۳±۰.۱۳^{ab}
MS +3mg.l^{-1}IBA	۰.٦۸±۰.۱۱^{a}	۰.۵۸±۰.۱۳^{a}

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

مرحله سازگاری کیوی‌فروت موفقیت آمیز بود و ۸۰ درصد گیاهچه‌های منتقل شده به شرایط برون شیشه‌ای، به‌خوبی سیستم ریشه‌ای خود را گسترش داده وسازگاری را با رشد رویشی مناسب، نشان دادند. به نظر می‌رسد هر اندازه کاهش دما و رطوبت محیط اطراف گیاهچه به آرامی و طی چندین مرحله انجام شود، مرحله سازگاری با موفقیت بیشتری همراه باشد (شکل ۳).

شکل ۳- گیاهچه‌های کیوی‌فروت که با شرایط برون شیشه‌ای سازگار شده‌اند.

منابع:

[۱] افشار محمدیان، م. و ر. اسحاقی تیموری. ۱۳۷۸. کشت، پرورش و ارزش غذایی کیوی. انتشارات منصور افشار محمدیان.

[۲] خزائی پول، ی. ق. ۱۳۸۲. زیست شناسی گلدهی و گرده افشانی در کیوی. انشارات نشر آموزش کشاورزی.

[۳] محمدی، ج. و م. عبدی سنه کوهی. ۱۳۷۲. کیوی و پرورش آن. انتشارات فرهنگ جامع.

[4] Atkinson, R. G. and E. A. MacRae. 2007. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer-verlag Berlin Heidelberg. 60: 329-346.

[5] Belrose Inc. 2004. Production and trade in fresh kiwifruit. World Kiwifruit Rev..

[6] Boase, M. R., S. Wright and P. L. Mcleay. 1993. Coconut milk enhancement of axillary shoot growth *in vitro* of kiwifruit. New Zealand J of Crop and Hort. Sci.. 21: 171-176.

[7] George, E., M. Hall and G. J. Klerk. 2007. Plant propagation by tissue culture. Springer Netherlands Publishers.

[8] Monette, P. L. 1986. Micropropagation of kiwifruit using non-axenic shoot tips. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 6: 73-82.

[9] Wang, J. X. and S. Z. Li. 1982. Propagation of *A. chinensis* by tissue culture. Liaoning Agr. Sci. 1: 32-34.

[10] Wessels, E., D. D. Nei and D. F. A. Von Staden. 1984. *In vitro* propagation of *Actinidia chinensis* Planch cultivar Hayward. Deciduous Fruit Grower. 34: 453-457.

Effect of auxin type on Micropropagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward) auxillary buds

Jafari Najaf-Abadi, A.[1] , Y. Hamidoghli[2] and R. Fotouhi Ghazvini[3]
1, Phd student of Tarbiat Modares University,and 2, 3, Assistant professor, Professor respectively, Dept. of Horticulture. Faculty of Agriculture, University of Guilan, Iran.

Abstract:
Kiwifruit Cultures were initiated from single-node explants on Murashige and Skoog medium containing 2 mg.l^{-1} BA. In shoot proliferation stage, 9 culture media containing MS supplemented with 3 concentrations of BA (0, 1, 2 mg.l^{-1}) individually and along with IAA (0, 0.1, 0.2 mg.l^{-1}) were compared. Maximum shoot proliferation from axillary buds was achived on media supplemented with 2 mg.l^{-1} BA alone. Formation of axillary shoots was influenced by concentration of cytokinin. In the rooting experiment, the shoots were cultured on MS medium containing BA (0, 1, 2, 3 mg.l^{-1}) with various concentrations of IBA or IAA (0, 1, 2, 3 mg.l^{-1}). Regenerated shoots produced prominent roots when transferred to MS medium supplemented with IBA (3.0 mg.l^{-1}). The effect of IAA on rooting was not significant. Approximately 80% of the rooted microcuttings were established successfully as container-grown plants.
Key words: *Actinidia deliciosa*, axillary bud, *in vitro,* proliferation, tissue culture.