مقاله پژوهشی

بررسی غلظتهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد (BAP، GA_3، NAA و IBA) در ریزازدیادی میروبالان ۲۹c (*Prunus cerasifera* Ehrh.)

مهدی خورشیدی*

گروه زیست شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۵؛ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۲/۲۱)

چکیده

میوه‌های هسته‌دار به دلیل مواد غذایی بالا دارای ارزش هستند تکثیر پایه‌های یکسان از طریق کشت بافت گیاهی دارای اهمیت ویژه‌ای در باغبانی است. هدف از مطالعه حاضر بررسی غلظتهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد مانند بنزیل آمینوپورین (BAP)، جیبرلیک اسید (GA_3)، نفتالین استیک اسید (NAA)، ایندول بوتریک اسید (IBA) در ساقه‌زایی و ریشه‌زایی میروبالان ۲۹c است. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار (در هر تکرار حداقل ۵ ریزنمونه) در ۱۴ گروه (G1-G14) آزمایشی اجرا شد. در این تحقیق از محیط کشت MS و تنظیم‌کننده‌های رشدBAP (۰، ۰/۵، ۱ و۲ میلی گرم در لیتر)، GA_3 (۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم در لیتر) و NAA (۰ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر) در ساقه‌زایی استفاده شد. نتایج نشان داد که ساقه‌زایی بین ۱/۰۵ عدد در گروه G1 تا ۸/۲۷ عدد در گروه G6 متغیر است طول ساقه نیز بین ۲/۸۷ سانتیمتر در گروه G5 تا ۴ سانتیمتر در گروه G6 متغیر است. بهترین ساقه‌زایی در غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ NAA و ۰/۲ GA_3 به تعداد ۸/۲۷ مشاهده شد. برای ریشه‌زایی از محیط کشت ۱/۲ MS و تنظیم‌کننده‌های رشد IBA (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) و NAA (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر) استفاده شد. نتایج نشان داد ریشه‌زایی بین صفر عدد در گروه G1 تا ۷/۶ عدد با طول ۸/۷۸ سانتیمتر در گروه G13 متغیر است بهترین ریشه‌زایی در غلظت ۱/۲ MS به همراه IBA۰/۵ و NAA۰/۲۵ به تعداد ۷/۶ ریشه به دست آمد.

کلمات کلیدی: ایندول بوتریک اسید، بنزیل آمینوپورین، جیبرلیک اسید، ریزازدیادی، میروبالان، نفتالین استیک اسید.

مقدمه

استفاده از پایه‌های جدید با توجه به تغییرات اقلیمی و تنش های محیطی، در حال افزایش است. تخریب ساختار فیزیکی و شیمیایی خاک، افزایش و تنوع آفات و بیماریهای باغی سبب شده است از پایه‌های مقاوم جهت مدیریت و کنترل آنها استفاده شود (رهنمون، ۱۳۹۸). امروزه با توجه به افزایش جمعیت و نیاز به باغداری مکانیزه (که در آن درختان از نظر کلیه صفات وراثتی و ظاهری کاملا شبیه‌هم و یک اندازه هستند)، سبب شده تا ضرورت دسترسی به پایه‌های جدید (یکسان از طریق کشت بافت) را بیشتر نمایان می‌سازد. آلوها (مانند زرد آلو ، گوجه سبز و ...) یکی از میوه‌های مهم در مناطق معتدله است و دامنه پراکندگی و گسترش آنها از سایر میوه‌ها وسیع‌تر است (گنجی‌مقدم و همکاران، ۱۳۸۷؛ شعبانی و همکاران، ۱۳۹۸). مصرف میوه‌های هسته‌دار مانند انواع آلوها

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: M_khorshidi@du.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

به دلیل طعم خوشمزه و ارزش غذایی بالا مورد توجه بسیاری از مردم است. پایه میروبالان به دلیل صفات خوب آن از گذشته مورد توجه بوده است. تحقیقات در آمریکا نشان داده که همسان‌های (Clones) انتخاب شده از میروبالان همگی پایه‌های با رشد قوی هستند (شعبانی و همکاران، ۱۳۹۶). پایه میروبالان ۲۹c دارای خصوصیاتی از قبیل محصول‌دهی خوب، مقاومت نسبی به تنش‌های محیطی مانند خشکی دارد. همچنین نسبت به بیماری پوسیدگی ریشه مقاومت نسبی دارد (گنجی مقدم و عبدا... زاده، ۱۳۸۸؛ شعبانی و همکاران، ۱۳۹۸؛ Guney, 2019). در حال حاضر از میروبالان بطور وسیعی به‌عنوان پایه برای انواع آلوها استفاده می‌شود.

بطور کلی پایه‌های درختان میوه به دو روش جنسی و غیر جنسی تکثیر می‌یابند. در تکثیر جنسی تفرق صفات رخ داده و خصوصیات ژنتیکی بطور قابل توجه‌ای تغییر می‌کند. بنابراین تکثیر غیرجنسی و به‌ویژه استفاده از روش کشت بافت گیاهی توصیه می‌شود. در کشت بافت گیاهی ضمن حفظ خصوصیات ژنتیکی، قابلیت تولید انبوه پایه‌ها وجود دارد و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد و محیط کشت مناسب، این کار را عملی می‌سازد. تحقیقات زیادی هم بر روی انواع محیط کشت و هم بر روی انواع تنظیم‌کننده‌های رشد در شاخه‌زایی و ریشه‌زایی مورد بررسی قرار گرفته است.. بیشترین شاخه‌زایی در ریز ازدیادی میرو بالان در محیط کشت QL (Quoirin and Lepoivre) حاوی یک میلی گرم در لیتر BAP (Benzyl amino purine) توسط Plopa و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است (مطالعه بر روی *Prunus*، توسط Andreu و Marin (۲۰۰۵)، نشان داد که تعداد شاخه‌ها در محیط کشت QL در مقایسه با MS (Murashige and Skoog) و WPM (Lioyl and Cown's Woody Plant Medium) بطور معنی‌داری کاهش می‌یابد). در مطالعه بر روی میروبالان توسط Ruzic و همکاران (۲۰۱۳) و Movsiuw (۲۰۱۱)، بهترین شاخه‌زایی در غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP گزارش شده است. همچنین با افزایش غلظت BAP به دو میلی گرم در لیتر در محیط کشت DKW (Driver and Kuniyuki Walnut Medium)، شاخه‌ها بیشتر و طویل‌تر می‌گردد (*Ruzic et al.*, 2013; Movsiuw, 2011). با توجه به گزارشات Shabani و همکاران (۲۰۱۵)، بهترین ضریب تکثیر۳/۴۱ عدد (شاخه‌زایی) در محیط کشت MS حاوی دو میلی گرم در لیتر BAP می باشد. در حالیکه در محیط کشت QL با دو میلی گرم در لیترBAP، ضریب تکثیر ۱/۹۹ حاصل شد (شعبانی و همکاران، ۱۳۹۸). مطالعه Guney (۲۰۱۹) بر روی میروبالان ۲۹c نشان داد، درمحیط کشت MS با دو میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر GA_3 (Gibberellic acid)، بالاترین شاخساره به تعداد ۱۴/۳ به‌دست می‌آید که بلندترین ساقه دو سانتیمتر است. محیط کشت نیم غلظت MS (که در آن غلظت عناصر پرمصرف نصف شده است) با نیم میلی گرم در لیتر IBA (Indole-3-butyric acid) و نیم میلی گرم در لیتر NAA (Naphthalene acetic acid) و ۱۳ میلی گرم در لیتر Fe-EDDHA (Ethylenediamine di-2-hydroxyphenyl acetate Ferric) به تعداد هفت ریشه در هر گیاهچه گزارش نمود (Guney, 2019).

هدف از این تحقیق، به‌دست آوردن غلظت مناسب از تنظیم‌کننده‌های رشد برای تکثیر میروبالان ۲۹c از طریق کشت بافت گیاهی می‌باشد. با توجه به تحقیقات گذشته به نظر می رسد که محیط کشت MS برای تکثیر میروبالان مناسب است، و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت نقش موثرتری دارند. لذا به همین دلیل، در این تحقیق از محیط کشت MS و ترکیب غلظتهای مختلف از تنظیم‌کننده‌های رشد BAP، IBA، NAA و GA_3 استفاده شد، تا بهترین غلظت‌ها در ساقه‌زایی و ریشه‌زایی مشخص شود.

مواد و روش‌ها

تهیه ریزنمونه گیاهی: برای انجام این تحقیق از جوانه‌های انتهایی ساقه‌های یک ساله استفاده شد. این شاخه‌ها در شهریور ماه ۱۳۹۸ از مرکز تحقیقات کشاورزی شاهرود بخش تهیه نهال و بذر فراهم شد. در این تحقیق از طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار استفاده گردید (۱۳۹۸-۱۳۹۹). در آزمایشگاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

جدول ۱- گروه‌های مختلف برحسب غلظتهای به‌کار گرفته شده از BAP، GA_3، NAA و IBA در ساقه‌زایی و ریشه‌زایی

تیمارهای ساقه‌زایی	NAA (mg/L)	GA_3 (mg/L)	BAP (mg/L)	تیمارهای ریشه‌زایی	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)
گروه ۱ ۳(G1)	۰	۰	۰	گروه ۸ (G8)	۰	۰
گروه ۲ (G2)	۰/۱	۰/۱	۰/۵	گروه ۹ (G9)	۰/۲۵	۰
گروه ۳ (G3)	۰/۱	۰/۱	۱	گروه ۱۰ (G10)	۰/۲۵	۰/۵
گروه ۴ (G4)	۰/۱	۰/۱	۲	گروه ۱۱ (G11)	۰/۲۵	۱
گروه ۵ (G5)	۰/۱	۰/۲	۰/۵	گروه ۱۲ (G12)	۰	۰/۲۵
گروه ۶ (G6)	۰/۱	۰/۲	۱	گروه ۱۳ (G13)	۰/۵	۰/۲۵
گروه ۷ (G7)	۰/۱	۰/۲	۲	گروه ۱۴ (G14)	۱	۰/۲۵

ساقه‌ها پس از حذف برگها، به کمک اتانول ۷۰٪ استریل سطحی شدند. سپس به قطعات ۴-۳ سانتیمتری تقسیم شد که هر کدام دارای یک گره بودند. برای استریل کردن به ترتیب در قارچ کش بنومیل ۱٪ (۱۵ دقیقه) به همراه سه قطره توئین۲۰ به ازای هر لیتر آب، اتانول ۷۰٪ (یک دقیقه)، هیپوکلریت سدیم ۵٪ به همراه سه قطره توئین۲۰ به ازای هر لیتر (۱۵ دقیقه) قرار داده شدند. در آخر با آب مقطر استریل پنج بار در مدت نیم ساعت در داخل دستگاه لامینار فلو شستشو داده شدند. پس از خشک شدن سطح قطعات در داخل دستگاه، بخشهای آسیب دیده از دو انتها جدا و سپس به داخل ظروف منتقل و کشت شدند.

محیط کشت استقرار ریزنمونه: جهت استقرار ریزنمونه‌ها محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) اصلاح شده (بجای $FeSO_4$ از ترکیب Fe-EDDHA با غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر استفاده شد) با ساکارز ۳٪ و آگار ۰/۸٪ تهیه و pH آن در ۵/۷ تنظیم شد. پس از جوشاندن و انتقال به ظروف استریل محیط کشت در اتوکلاو با فشار اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. پس از انتقال ریزنمونه‌های استریل شده، در اتاقک‌های رشد با دمای متوسط ۲۵ درجه سانتیگراد و نور فلورسنت سفید رنگ (دو عدد در ارتفاع ۴۰ سانتیمتری) با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای کاهش تأثیر ترکیبات فنلی، از واکشت ریزنمونه در ظرف کشت جدید، در هر هفته استفاده شد.

محیط کشت ساقه‌زایی: پس از مدت چهار هفته از استقرار ریزنمونه‌ها، نمونه‌های آلوده و یا رشد نکرده جدا و حذف شدند. نمونه‌های سالم به محیط کشت MS اصلاح شده، حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد ساقه‌زایی منتقل شدند. برای تهیه محیط کشت ساقه‌زایی از سه تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آمینوپورین (صفر، نیم، یک و دو میلی گرم در لیتر)، جیبرلیک اسید (صفر یک و دو دهم میلی گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (صفر و یک دهم میلی گرم در لیتر) استفاده شد (جدول ۱). ریزنمونه‌های حاصل از مرحله قبل به مدت دو ماه (۸ هفته) در این محیط قرار داده شدند. نمونه‌ها هر ماه واکشت می‌شدند.

محیط کشت ریشه‌زایی: ساقه‌های حاصل از مرحله قبل به محیط کشت نیم غلظت MS (که در آن غلظت عناصر پرمصرف نصف شده است) حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد ریشه-زایی منتقل شدند. برای تهیه محیط کشت ریشه‌زایی از دو تنظیم‌کننده رشد ایندول بوتریک اسید (صفر، نیم، یک میلی گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (صفر، نیم، یک میلی گرم در لیتر) استفاده شد (جدول ۱). ریزنمونه‌های حاصل از مرحله قبل به‌صورت منفرد به طول دو سانتیمتر به مدت چهار هفته، در این محیط قرار داده و در پایان نمونه‌ها مورد بررسی و سنجش قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش، از نرم افزار SPSS استفاده شد، و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

نتایج

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد در ساقه‌زایی: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد بر ساقه‌زایی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین تعداد ساقه‌ها، طول ساقه‌ها و درصد ساقه‌زایی وجود دارد (جدول ۲). نتایج حاصل از تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد BAP، GA_3 و NAA در ساقه‌زایی در جدول ۳ نشان داده شده است. شمارش تعداد ساقه‌ها نشان می دهد، کمترین تعداد (۱/۰۵) در گروه G1 (غلظتهای صفر) و بیشترین تعداد (۸/۲۷) در گروه G6 می‌باشد (شکل ۱ a). اگر به تأثیر غلظتهای‌تنظیم‌کننده رشد BAP توجه شود. مشخص می‌گردد، که غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP بالاترین تأثیر در ساقه‌زایی را داشته است، سپس غلظت‌های ۲ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP در رتبه‌های بعدی قرار دارند. تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز نشان می‌دهد که گروه‌های G3 و G6 (غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP) با دیگر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری دارند (جدول ۲). اگر به تأثیر غلظتهای‌تنظیم‌کننده رشد GA_3 توجه شود. معلوم می‌گردد که غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر GA_3 نسبت به غلظت ۰/۱ تأثیر بیشتری در ساقه‌زایی داشته است. احتمالا به همین دلیل است، که ساقه‌زایی در گروه G6 (۸/۲۷) نسبت به گروه G3 (۷) تعداد ساقه‌های بالاتری را نشان می‌دهد، و همچنین اختلاف آماری بین این دو گروه معنی‌دار است. مقایسه بین گروه‌های G4 با G7 و G2 (شکل ۱ b) با G5 از نظر تجزیه و تحلیل آماری اختلاف معنی‌داری نیست. اندازه گیری طول ساقه‌ها نشان می‌دهد که بلندترین ساقه‌ها، مربوط به گروه G5 می‌باشد (چهار سانتیمتر). این گروه از نظر تجزیه و تحلیل آماری با گروه‌های G1 و G2 اختلاف معنی‌دار ندارد (جدول۲). کوتاهترین طول ساقه‌ها مربوط به گروه‌های G3 و G6 به ترتیب با طول ۲/۹۳ و ۲/۸۷ سانتیمتر می‌باشد. به نظر می‌رسد، گروه‌هایی که ساقه‌زایی بیشتری دارند، انرژی آنها صرف تعداد ساقه‌ها شده است. اما گروه‌هایی که ساقه‌زایی کمتری دارند، انرژی آنها در رشد ساقه‌ها مصرف شده و طول بیشتری دارند. درصد تکثیر ساقه زایی نیز نشان می‌دهد که بالاترین درصد مربوط به گروه‌های G3 و G6 (۹۸ و ۹۶ درصد) می‌باشد. کمترین درصد تکثیر نیز مربوط به گروه G1 به مقدار ۱۰ درصد است (جدول ۲). نتایج حاصل از ساقه‌زایی که در نمودار ۱ آورده شده است نشان می‌دهد که بهترین گروه‌ها در ساقه‌زایی گروه‌های G3 و G6 می‌باشند. گروه G6 با بالاترین تعداد ساقه(۸/۲۷ عدد) و درصد تکثیر (۹۸٪) در صدر قرار دارد (شکل ۲).

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد در ریشه‌زایی: تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریشه‌زایی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین تعداد ریشه‌ها، طول ریشه‌ها و درصد ریشه‌زایی وجود دارد (جدول ۴). نتایج حاصل از تأثیر تنظیم-کننده‌های رشد IBA و NAA بر ریشه‌زایی در جدول ۵ نشان داده شده است. در گروه G8 (غلظت صفر از تنظیم‌کننده‌های رشد و شکل ۳ a) ریشه‌زایی مشاهده نشد. در بقیه گروه‌ها ریشه‌زایی مشاهده شد. میانگین تعداد ریشه‌ها از حداقل ۱/۲ عدد در گروه G9 تا ۷/۶ عدد در گروه G13 (شکل ۳ b) متغیر است. با توجه به تاثیر غلظتهای مختلف NAA در ریشه زایی، مشخص گردید غلظت یک میلی گرم در لیتر NAA در ریشه-زایی (۴/۴ عدد) بیشترین تأثیر را دارد. اگر به تأثیر غلظتهای مختلف IBA در ریشه‌زایی توجه شود مشخص می‌گردد، که غلظت نیم میلی گرم در لیتر IBA در ریشه‌زایی (۷/۶ عدد) بیشترین تأثیر را دارد (جدول ۵). مقایسه تعداد ریشه‌ها نشان می‌دهد که اختلاف بین آنها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. اندازه‌گیری طول ریشه‌ها نیز نشان می‌دهد که متناسب با افزایش تعداد ریشه‌ها طول آنها نیز افزایش می‌یابد. بالاترین طول ریشه مربوط به گروه G13 (۸/۷۸ سانتیمتر) و کمترین طول ریشه‌ها مربوط به گروه G9 (۱/۳۷ سانتیمتر) می‌باشد. درصد ریشه‌زایی نشان می‌دهد که بالاترین درصد (۹۸٪) مربوط به دو گروه G13 و G11 می‌باشد و کمترین درصد ریشه‌زایی مربوط به گروه G9 (۳۴٪) می‌باشد. مطابق با شکل ۱ بهترین گروه برای ریشه‌زایی G13 (نیم میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی گرم درلیتر NAA) می‌باشد (شکل ۳).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

جدول۲-تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد بر ساقه‌زایی.

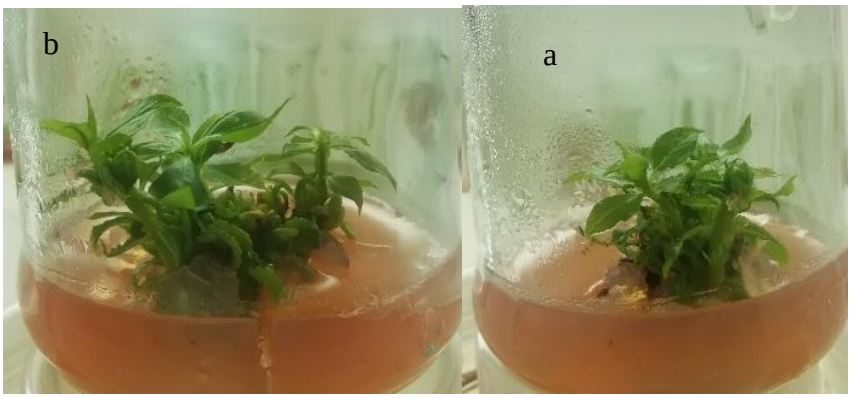
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات		
		تعداد ساقه‌ها	طول ساقه‌ها	درصد ساقه‌زایی
تنظیم‌کننده‌های رشد	۶	۱۱۴/۱۳۱**	۳/۹۱۶**	۱۶۷۴۸/۵۷۱**
خطای آزمایش	۱۴	۱/۰۱۸	۱/۴۶۷	۱۲۲۸/۶۶۷
کل	۲۰	۱۱۵/۱۵۰	۵/۳۸۳	۱۷۹۷۷/۲۳۸
میانگین کل		۴/۳۱۲	۳/۳۷۱	۶۹/۵۲۴
ضریب تغییرات(CV)		۶/۲۵۵	۹/۶۰۰	۱۳/۴۷۵

****: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.**

جدول۳- نتایج مقایسه میانگین اثر گروه‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد ساقه‌زایی برتعداد ساقه، طول ساقه و درصد ساقه‌زایی

تیمارهای ساقه-زایی	BAP (mg/L)	GA_3 (mg/L)	NAA (mg/L)	تعداد ساقه‌ها	طول ساقه (cm)	درصد ساقه‌زایی
گروه ۱(G1)	۰	۰	۰	۱/۰۵±۰/۰۳ e	۳/۷۳±۰/۰۷ ab	۱۰٪
گروه ۲(G2)	۰/۵	۰/۱	۰/۱	۲/۷۳±۰/۰۷ d	۳/۸۰±۰/۳۱ ab	۵۶٪
گروه ۳(G3)	۱	۰/۱	۰/۱	۷/۰±۰/۲۰ b	۲/۹۳±۰/۱۳ c	۹۶٪
گروه ۴(G4)	۲	۰/۱	۰/۱	۳/۹۳±۰/۱۳ c	۳/۲۷±۰/۲۷ bc	۸۴٪
گروه ۵(G5)	۰/۵	۰/۲	۰/۱	۲/۹۳±۰/۱۳ d	۴/۰±۰/۱۱ a	۶۸٪
گروه ۶(G6)	۱	۰/۲	۰/۱	۸/۲۷±۰/۲۴ a	۲/۸۷±۰/۱۸ c	۹۸٪
گروه ۷(G7)	۲	۰/۲	۰/۱	۴/۲۷±۰/۱۸ c	۳/۰±۰/۱۲ c	۸۸٪

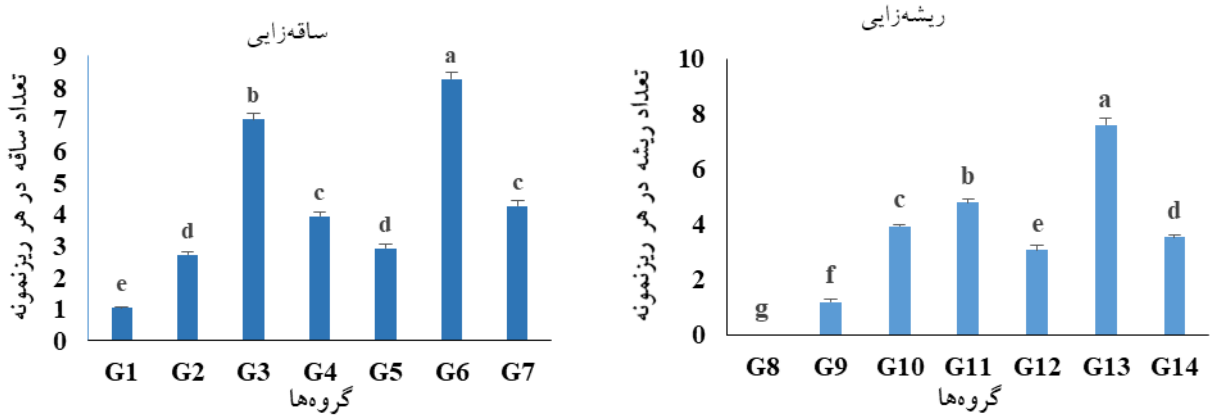
مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و میانگین‌های دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.



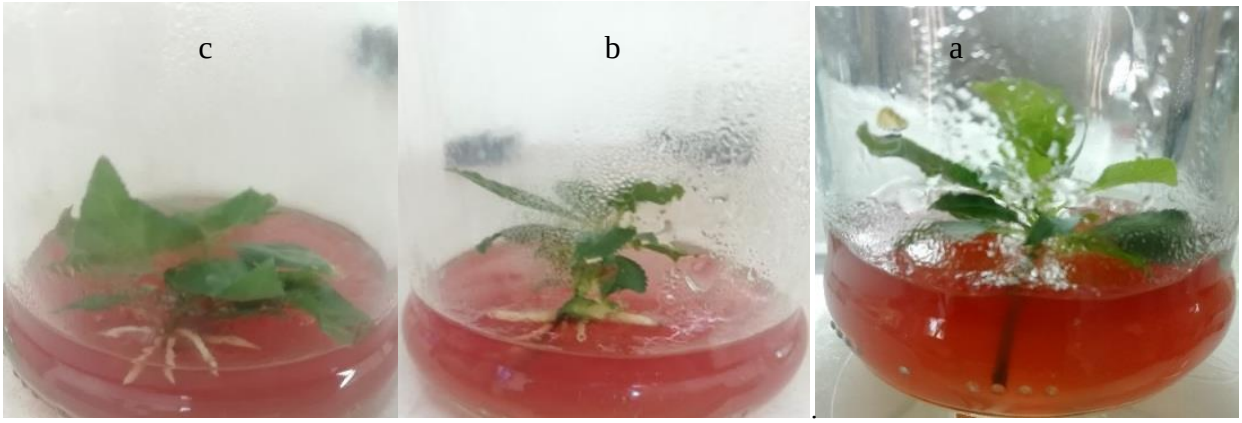
شکل۱- a: ساقه‌زایی گروه G6 (غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد BAP یک میلی گرم در لیتر، GA_3 دو دهم میلی گرم در لیتر و NAA یک دهم میلی گرم در لیتر) ، b: ساقه‌زایی گروه G2 (غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد BAP نیم میلی گرم در لیتر، GA_3 و NAA یک دهم میلی گرم در لیتر)را نشان می‌دهد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]



شکل ۳- ساقه‌زایی و ریشه‌زایی در گروه‌های مختلف نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و میانگین‌های دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.



شکل ۳ – ریشه‌زایی گروه‌های G8 (a) گروه G13 (b) و گروه G10 (c) را نشان می‌دهد

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریشه‌زایی.

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات		
		تعداد ریشه‌ها	طول ریشه‌ها	درصد ریشه‌زایی
تنظیم‌کننده‌های رشد	٦	۱۰۹/۱۹۲**	۱۴۷/۷۳۷**	۲۲۰۹۷/۱۴۳**
خطای آزمایش	١٤	۰/۷۲۰	۲/۰۷۴	۶۶/۰۰۰
کل	٢٠	۱۰۹/۹۱۲	۱۴۹/۸۱۱	۲۲۱۶۳/۱۴۳
میانگین کل		۳/۴۸۸	۳/۹۳۴	۶۰/۵۷۱
ضریب تغییرات(CV)		۶/۵۷۸	۹/۷۴۸	۳/۵۸۵

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

بحث

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مهمترین نقش را در القای تمایز سلولها بر عهده دارند. برخی از پژوهشگران به استفاده از چندین تنظیم‌کننده‌های رشد به‌طور همزمان برای ساقه‌زایی یا ریشه‌زایی اعتقاد دارند و برخی استفاده از یک تنظیم‌کننده رشد به تنهایی را کافی می‌دانند (Asa and Kaviani, 2020). از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

جدول ۵ - نتایج مقایسه میانگین اثر گروه‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد ریشه‌زایی بر تعداد ریشه‌ها، طول ریشه‌ها و درصد ریشه‌زایی.

تیمارهای ریشه‌زایی	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	تعداد ریشه‌ها	طول ریشه (cm)	درصد ریشه‌زایی
گروه ۸(G8)	۰	۰	۰±۰ g	۰±۰ f	۰٪
گروه ۹(G9)	۰	۰/۲۵	۱/۲±۰/۱۲ f	۱/۳۷±۰/۱۱ e	۳۴٪
گروه ۱۰(G10)	۰/۵	۰/۲۵	۳/۹۴±۰/۰۷ c	۴/۳۹±۰/۱۰ bc	۵۸٪
گروه ۱۱(G11)	۱	۰/۲۵	۴/۴±۰/۱۱ b	۴/۶۶±۰/۱۴ b	۹۸٪
گروه ۱۲(G12)	۰/۲۵	۰	۳/۰۷±۰/۱۸ e	۳/۳۳±۰/۱۶ d	۶۲٪
گروه ۱۳(G13)	۰/۲۵	۰/۵	۷/۶±۰/۲۳ a	۸/۷۸±۰/۳۶ a	۹۸٪
گروه۱۴ (G14)	۰/۲۵	۱	۳/۵۴±۰/۰۶ d	۳/۹۶±۰/۸۰ c	۷۴٪

مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و میانگین‌های دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

طرف دیگر پژوهشها نشان داده است، که اگر تعادل بین تنظیم کننده‌های رشد اکسینی و سیتوکینینی برقرار باشد، نتیجه بهتری به‌دست می‌آید. استفاده از BAP در مطالعات گذشته نشان می دهد که غلظتهای بالا سبب کاهش پرآوری ساقه شده و تشکیل کالوس را تحریک می‌نماید (Hu and Wang, 1983; Ahmad *et al*., 2003). احتمالا دلیل آن آغاز تقسیم سلولی توسط BAP است (George, 2008). به همین دلیل است که در تحقیق حاضر از غلظتهای پایین‌تر از دو میلی گرم در لیتر استفاده شده است. بهترین تأثیر در ساقه‌زایی در غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP به تعداد ۸/۲۷ مشاهده شد. مطالعات محققین دیگر نتایج این تحقیق را تایید می‌نمایند و بهترین غلظت را یک میلی گرم در لیتر BAP اعلام می‌کنند. در بررسی که بر روی میروبالان ۲۹c انجام گرفت بالاترین تعداد ساقه‌زایی (۵/۳۸ عدد) در محیط MS دارای یک میلی گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی گرم در لیتر NAA گزارش شد (Arici, 2008). درسال ۲۰۱۰ Aksehirli بالاترین تعداد ساقه، طول ساقه و تعداد برگ را در یک میلی گرم در لیتر BAP ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر GA_3 به‌دست آوردند (Aksehirli, 2010). در مطالعه Sulusoglu و Cavusoglu در سال ۲۰۱۳ محیط MS دارای دو میلی گرم در لیتر BAP بهترین پرآوری ساقه در *Prunus laurocerasus* L. (۶/۱۳ ساقه و ۳/۲۶ سانتیمتر طول ساقه) را گزارش نمودند (Sulusoglu and Cavusoglu, 2013). در نتایج آنها مشاهده می‌شود که افزایش BAP تا سه سبب ایجاد کالوس در پای ساقه شده است. با مطالعه بر روی سه محیط کشت MS، WPM و DKW همچنین تنظیم‌کننده‌های رشد BAP و TDZ (Thidiazuron) در ساقه‌زایی میروبالان ۲۹c، شعبانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند، که غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP بیشترین تعداد ساقه ۵/۵۸ عدد با میانگین طول ساقه ۲/۵ سانتیمتر به‌دست می‌آید. غلظت یک میلی گرم در لیتر NAA نیز سبب ۱۰۰٪ ریشه‌زایی در محیط کشت DKW می‌گردد (Shabani *et al*., 2015). مطالعات Guney در سال ۲۰۱۹ نیز نشان داده که غلظتهای بین یک تا دو میلی گرم BAP به همراه ۰/۲ IBA و GA_3 بدون کالوس و نکروزه شدن، همراه است و بهترین نتیجه در ساقه‌زایی را دارند (Guney, 2019). بالاترین میزان پرآوری ساقه میروبالان در محیط MS دارای یک میلی گرم در لیتر BAP و یک میلی گرم در لیتر IBA را Nasri و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش نمودند (Nasri *et al*., 2019).

اکسین‌هایی مانند IBA، NAA و IAA (Indole-3-acetic acid) می‌توانند ریشه‌زایی را القا نمایند (Thorpe *et al*., 2008) برخی محققین اعلام کردند که کاهش غلظت عناصر غذایی در ریشه‌زایی موثر است و بهترین ریشه‌زایی را در غلظت ۱/۲ MS به‌دست آوردند (Plopa *et al*., 2012). مطالعات Silveira در سال ۲۰۰۰، با مقایسه تنظیم‌کننده‌های رشد IBA، NAA و IAAدر غلظتهای صفر تا یک بر روی ریشه‌زایی میروبالان،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

ماریانا، GF-677 و G × N22 نشان داد که IBA و IAA در ریشه‌زایی موثر بوده و NAA مناسب نیست (Silveira, 2000). مطالعات دیگری نیز نقش NAA را در رشد و نمو ریشه در گونه‌های مختلف *Prunus* گزارش نموده اند (Lauri *et al.*, 2001, Ruzic *et al.*, 2000) به این ترتیب حضور NAA در محیط کشت مهم بوده و در غلظتهای پایین ریشه‌زایی را بیشتر القا می‌کند اما در غلظتهای بالا سبب القای کالوس می‌گردد (Plopa *et al.*, 2012, Shabani *et al.*, 2015, Vujovic *et al.*, 2012). این مطالب با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. با مطالعه IBA و NAA بر روی ریشه‌زایی میروبالان توسط Aksehirli در سال ۲۰۱۰ نشان داده شده که محیط کشت نیم غلظت MS به‌همراه دو میلی گرم در لیتر IBA بهترین نتیجه است. آزمایشات زیادی کاهش غلظت محیط کشت را تایید کرده و نقش آن را در تعداد و طول ریشه‌ها موثر می‌دانند (Aksehirli, 2010, Guney, 2019). با این وجود شعبانی در ۲۰۱۹، ۱۰۰٪ ریشه‌زایی (۶/۷۵ عدد) در میروبالان را در یک میلی گرم در لیتر NAA گزارش نموده است. در سال ۲۰۱۹ Guney نیز محیط کشت نیم غلظت MS به‌همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بالاترین تعداد ریشه (۷عدد) را گزارش نموده است (Guney, 2019) که نتایج تحقیق حاضر را تایید می‌نماید بالاترین تعداد ریشه (۷/۶ عدد) در محیط کشت نیم غلظت MS به‌همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر NAA به‌دست آمده است.

نتیجه گیری کلی

نقش محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در موفقیت کشت بافت گیاهی دارای اهمیت بسیاری است. تحقیقات زیادی از گذشته برای روشن شدن این روابط انجام شده و در حال حاضر نیز ادامه دارد. این تحقیق با هدف بررسی غلظتهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد BAP، GA3، NAA و IBA در ساقه‌زایی و ریشه‌زایی میروبالان ۲۹c انجام گردید. نتایج نشان داد که بهترین ساقهمزایی در غلظت یک میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA و ۰/۲ میلی گرم در لیتر GA_3 به تعداد ۸/۲۷ میمباشد. همچنین بهترین ریشه‌زایی در محیط کشت نیم غلظت MS به‌همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر NAA به تعداد ۷/۶ ریشه مشاهده شد.

تقدیر و سپاسگذاری

از شرکت زیست فناوری گیاهی دامغان به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی ویژه به‌عمل می‌آید.

منابع:

رهنمون، ح. (۱۳۹۸) اثرات پایه میروبالان و میانپایه سنتجولین A روی برخی خصوصیات رشدی پنج رقم تجاری زردآلو. یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی ۸ :۲۷۱ –۲۸۵.

شعبانی، ز.، عابدی، ب.، گنجی مقدم، ا.، تهرانی‌فر، ع. (۱۳۹۸) افزایش انبوه درون شیشه‌ای میروبالان 29C (*Prunus ceracifera* L.): یک پایه رویشی برای میوه‌های هسته‌دار. پژوهش‌های تولید گیاهی ۲۶:۱۷۷–۱۶۷.

شعبانی، ز.، عابدی، ب.، گنجی مقدم، ا.، تهرانی‌فر، ع. (۱۳۹۶) بهینه سازی عوامل موثر در ازدیاد درون شیشه‌ای میروبالان 29C. علوم باغبانی ۳۱:۴۴۷–۴۳۸.

گنجی‌مقدم، ا.، بلندی، ا. و آناهید، ص. (۱۳۸۷) تکثیر درون شیشه‌ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب. پژوهش سازندگی ۲۱:۵۴–۶۱.

گنجی مقدم، ا. و عبدا.. زاده گنابادی، ا. (۱۳۸۸) راهنمای پایه‌های درختان میوه (سیب ، گلابی ، گیلاس و آلو). سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی. ۱۵۵–۱۸۴.

Ahmad, T., Rahman, H,. Ahmed, C. H. and Laghari, M. H. (2003) Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of peach rootstock GF 677. Pakistan Journal of Botany 35: 331-338.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

Aksehirli, M. (2010) Sert çekirdekli meyve türlerinde kullanılan bazı klon anaçlarının *in vitro*'da optimum çoğaltma koşullarının belirlenmesi. PhD, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Turkey (in Turkish).

Arici, S. E. (2008) *In vitro* Propagation of Some Stone Fruit Rootstock by Tissue Culture. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 3: 19-23 (in Turkish with an abstract in English).

Andreu, P. and Marin, J. A. (2005) *In vitro* culture establishment and multiplication of the prunus. Acta Horticulture Pp: 15-20.

Asa, M. and Kaviani, B. (2020) *In vitro* propagation of orchid *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume var. Jawa. Iranian Journal of Plant Physiology 10: 3113-3123.

George, E. F., Hall, M. A. and De Klerk, G. J. (2008) Plant tissue culture procedure - background. In: George EF, Hall MA, De Klerk GJ (editors). Plant Propagation by Tissue Culture. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 1-28

Guney, M. (2019) Development of an *in vitro* micropropagation protocol for Myrobalan 29C rootstock. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 43: 569-575.

Hu, Y. C. and Wang, P. J. (1983) Meristem, shoot tip and bud cultures. In: Handbook of Plant Cell Culture, (eds. Evans, D. A., Sharp, W. R., Ammirato, P. V. and Yamado, Y.). pp. 177-227. Vol. I. New York, NY, USA: Macmillan Publishing Company,

Lauri, P., Caboni, E. and Damiano, C. (2001) *In vitro* adventitious shoot regeneration from vegetative apices of almond and other Prunus species. ISHS Acta Horticulturae 560: IV International Symposium on *in vitro* Culture and Horticultural Breeding.

Murashige, T. and Skoog, F. A. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.

Movsiuw, A. (2011) *In vitro* propagation of virus-free Myrobalan 29C rootstock. GRI. 7349: 101-102.

Nasri, A., Baklouti, E., Romdhane, A. B., Maalej, M., Schumacher, H. M., Drira, N. and Fki, L. (2019) Large-scale propagation of Myrobolan (Prunus cerasifera) in RITA® bioreactors and ISSR-based assessment of genetic conformity. Scientia Horticulturae 245: 144-153.

Plopa, C., Dutu, I., Isac, V., Mazilu, C. and Ancu, S. (2012) Factors influencing *in vitro* propagation of Myrobolan Dwarf Plum rootstock. Acta Horticulturae 968:153-158.

Ruzic, D., Saric, M., Cerovic, R. and Culafic, L. (2000) Relationship between the concentration of macro elements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63 : 9-14.

Ruzic, D. V. and Vajovic, T. I. (2013). The effect of cytokinin types and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry. Hort. Sci. 35: 12-21.

Shabani, Z., Abedi, B., Ganji Moghadam, E. and Tehranifar, A. (2015) The effect of plant growth regulators and their concentration *in vitro* on mass propagation of Myrobalan 29c rootstock. Journal of Horticulture and Forstry 7: 57-64.

Silveira, C. A. P. (2000) *In vitro* multiplication of Prunus rootstock. MSc, Federal University of Pelotas, Brazil.

Sulusoglu, M. and Cavusoglu, A. (2013) Micropropagation of cherry laurel Prunus laurocerasus L. Journal of Food, Agriculture and Environment 11: 576-579.

Thorpe, T., Stasolla, C., Yeung, E. C. and de Klerk G. J. (2008) Plant Growth Regulators. 3rd Ed., Vol 1. Dordrecht, Netherlands: Springer, pp. 115-173.

Vujovic, T., Ruzic, D. and Cerovic, R. (2012) *In vitro* shoot multiplication as influenced by repeated sub culturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. Horticultural Science 39: 101-107.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]

An investigation of some concentrations of growth regulators (BAP, GA3, NAA and IBA) in micropropagation of myrobalan 29c (*Prunus cerasifera* Ehrh.)

Mehdi Khorshidi*

Department of Biology, Damghan University, Damghan, Iran.
(Received: 04/01/2021; Accepted: 11/05/2021)

Abstract

Stone fruits are valuable because of their high nutritions and therefore propagation of the same rootstocks is vital in horticulture. The aim of the present study was to investigate some concentrations of growth regulators such as benzylaminopurine (BAP), gibberellic acid (GA_3), naphthalene acetic acid (NAA), indole butyric acid (IBA) in shoot germination and rooting of myrobalan 29c. This experiment was performed in a completely randomized block design with three replications (at least 5 samples per replication) in 14 experimental groups (G1-G14). In this study, MS culture medium and growth regulators of BAP (0, 0.5, 1 and 2 mg/L), GA3 (0, 0.1 and 0.2 mg/L), NAA (0 and 0.1 mg/L) were used in shoot generation. The results showed that shoot generation varied between 1.05 in G1 group to 8.27 in G6 group. The shoot length varied between 2.87 cm in G5 group to 4 cm in G6 group. The best shoot generation was observed at concentrations of 1 mg/L BAP, 0.1 mg/L NAA and 0.2 GA3 at 8.27 numbers. The 1/2 MS medium and growth regulators of IBA (0, 0.25, 0.5 and 1 mg/L) and NAA (0, 0.25, 0.5 and 1 mg/L) were used for rooting. The results showed that rooting varied between zero numbers in the G1 group to 7.6 numbers with 8.78 cm length in the G13 group. The best rooting was obtained at 1/2MS with 0.5 IBA and 0.25 NAA concentration with 7.6 root numbers.

Keywords: Benzyl aminopurine, Gibberellic acid, Indole butyric acid, Micropropagation, Myrobalan, Naphthalene acetic acid.

Corresponding author, Email: M_khorshidi@du.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.11.9]