نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۵، ص. ۶۲۳-۶۱۶
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Journal of Horticultural Science
Vol. 30, No. 4, Winter 2017, P. 616-623
ISSN: 2008 - 4730

تاثیر محیط کشت‌های مختلف در ریزازدیادی پایه GF677 (هیبرید هلو- بادام)

سکینه باقری[1*]- داریوش داودی[2]-محمد اسماعیل امیری[3]-مینا بیاناتی[4]- مهرنازانتصاری[5]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۲۵

چکیده

GF677 به طور معمول به عنوان پایه مقاوم به کمبود آهن برای هلو استفاده می‌شود. بنابراین تکثیر انبوه برای تولید تجاری این پایه مهم می‌باشد.از آنجایی که استفاده ار محیط کشت مایع می‌تواند هزینه تولید را نسبت به محیط جامد کاهش دهد و همچنین گیاهانی که در محیط کشت مایع رشد می‌کنند کیفیت برتریرا دارا می‌باشند. بنابراین در این تحقیق، ازمحیط کشت MS برای مرحله استقرار و محیط کشت‌های (MS, DKW, WPM) که حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA بودند، بصورت جامد و مایع جهت پرآوری پایه‌های رویشی GF677 استفاده شد. از محیط کشت MS ۲/۱ بصورت جامد و مایع با چهار غلظت متفاوت IBA (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵میلی‌گرم در لیتر) و هفت روز تاریکی جهت ریشه‌زایی پایه‌های رویشی GF677 استفاده شد. در مرحله پرآوری جوانه‌های جانبی رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای برای مقایسه به محیط‌های کشت انتقال داده شدند. سپس گیاهانی با ارتفاع ۳ تا ۴ سانتی‌متر به محیط کشت ریشه‌زایی انتقال داده شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل درقالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکراردر هر دو مرحله پرآوری و ریشه‌زایی انجام شد. بعد از ۴ هفته، صفات رویشی که شامل تعداد شاخه، ارتفاع گیاه، تعداد ریشه، ارتفاع ریشه و درصد ریشه‌زایی بود، اندازه‌گیری شد. بر طبق نتایج بدست آمده در هر دو مرحله بین محیط کشت مایع و جامد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، بطوری که بهترین نتایج در محیط کشت مایع بدست آمد. همچنین نتایج مشخص کرد که بهترین محیط کشت مایع برای پرآوری، محیط کشت MS بود و برای ریشه‌زایی بهترین نتایج در محیط کشت مایع با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: ایندول ۳-بوتریک اسید (IBA)، پرآوری، ریشه‌زایی و محیط کشت مایع

مقدمه

با توجه به نقش پایه در میزان رشد رویشی، زود رسی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر بیماری‌ها، انتخاب پایه مناسب نقش بسزایی در برنامه مدیریت باغ خواهد داشت (۱۳). با توجه به اینکه برای انواع درختان میوه پایه‌های رویشی مناسب شناخته شده است و برای بادام و هلو نیز پایه رویشی GF677 به عنوان یکی از پایه‌های بسیار مناسب در دنیا شناخته شده و مورد استفاده قرارگرفته است (۱۳). پایه GF677 دارای خصوصیات مطلوبی نظیر مقاومت به خشکی، خاک های آهکی، آفات و بیماری‌های گیاهی و سیستم ریشه بندی قوی می‌باشد و در حال حاضر سالانه ۷ تا ۸ میلیون اصله از این پایه‌ها به روش کشت بافت در اروپا تکثیر شده و برای احداث باغات مکانیزه مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۴). اولین تحقیقات کشت درون شیشه ای پایه GF677 توسط تباکینیک و کستردر سال ۱۹۷۷ انجام شد و آنها توانستند با تغییراتی در محیط Knop نمونه‌های گیاهی را کشت و شاخه‌زائی نمایند ولی در خصوص مراحل انتقال به خاک گیاهچه‌های تولید شده گزارشی داده نشد.بعد از این تحقیقات فازولو و همکاران (۱۲)، اقدام به انجام آزمایش ریشه‌زائی گیاهچه‌های تولید شده از طریق انتقال به خاک نمودند و موفقیت‌هایی را به دست آوردند.محیط کشت می‌تواند در رشد درون شیشه‌ای گیاهان بسیار موثر باشد. نوع و مقدار عناصر پر مصرف در محیط کشت WPM با محیط کشت MS تغییر یافته متفاوت است. عناصر کم مصرفی همچون ید و کبالت و نیز نوع ویتامین ها بین دو محیط متفاوت است (۲۵). آزمایش‌های انجام شده بر روی محیط مناسب کشت در مراحل ریزازدیادی و ریشه‌دهی پایه های هلو نشان دادند که این پایه‌ها در محیط درون شیشه‌ای اختلافات قابل ملاحظه‌ای دارند. ازدیاد در بعضی آسان و بعضی بسیار مشکل است (۶). در مرحله ریشه دهی آغازش ریشه در ریزنمونه‌ها در کشت درون شیشه‌ای یک بخش مهم

۱و ۴- دانشجویان دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*-نویسنده مسئول: Email: s.bagheri67@yahoo.com)
۲- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
۳ و ۵- دانشیار و دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

DOI: 10.22067/jhorts4.v0i0.32259

Archive of SID
www.SID.ir

در فرآیند ریزازدیادی است (۱۸). توانایی بافت گیاهی برای تشکیل ریشه نابجا بستگی به عوامل درونی وبیرونی از جمله هورمون‌ها دارد. در بسیاری از گزارشات در القای ریشه جانبی در گونه‌های چوبی تیمارهایی با اکسین مانند IBA, NAA و IAA دخالت دارد (۲۷). دیاماسی- توری و اکونومو (۹) ریشه‌دهی GF677 را در محیط کشت‌های مختلف بررسی کردند و نتایج نشان داد که ریشه‌دهی در این پایه بستگی به نوع محیط کشت دارد. محیط کشت مایع به منظور ریزازدیادی نسبتا کمتر استفاده می‌شود. بااین حال مزیت اصلی این تکنیک مقرون به صرفه بودن آن است (۱). سیستم‌های کشت مایع، محیط یکنواخت تری را برای رشد فراهم می‌کند. ازطرف دیگر استریل نمودن محیط کشت مایع با استفاده از فیلتر به آسانی امکان پذیر است. در مقایسه با کشت‌های نیمه جامد، در این روش می توان از ظروف بزرگ‌تری استفاده نمود و افزایش زمان انتقال بهره برد (۷). استفاده از کشت‌های مایع لرزان یا در حال کشت برای کاهش زمان و نیروی کار توصیه می‌شود. حرکت دائم محیط کشت در چنین سیستمی امکان بهتر رسیدن اکسیژن و مواد غذایی به بافت ها را فراهم کرده و میزان رشد و تکثیر شاخه ها در این روش به دلیل بهبود هوادهی افزایش می‌یابد (۱۸). علاوه بر مزایا آماده سازی محیط مایع و کار با سیستم کشت های مایع در حال حرکت در مقایسه با محیط های نیمه جامد راحت تر است و نیاز به نیروی کار کمتری دارد (۵). با توجه به مزایای استفاده از محیط کشت، هدف از این تحقیق، مقایسه ریزازدیادی پایه هیبرید هلو × بادام (GF677) در محیط کشت مایع و جامد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

محیط کشت

در این بررسی از محیط‌های کشت متفاوت بصورت جامد و مایع در مراحل مختلف کشت نمونه‌های گیاهی استفاده شد که شامل MS (۲۰) بصورت جامد همراه با ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP در مرحله استقرار و MS (۲۰) ،DKW(۷) و WPM (۱۷) بعنوان محیط کشت‌های پایه با ۱ میلی گرم در لیترBAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA بعنوان محیط در مرحله پرآوری بودند. در مرحله ریشه زایی نیز محیط کشت MS$_{1/2}$ بصورت جامد و مایع با چهار غلظت متفاوت IBA (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. pHکلیه محیط‌های کشت در مراحل مختلف رشد، ۵/۸ تنظیم شد. همچنین ۰/۷درصد آگار به محیط کشت جامد اضافه شد ولی محیط کشت مایع بدون آگار بود (جدول ۱).

مواد گیاهی

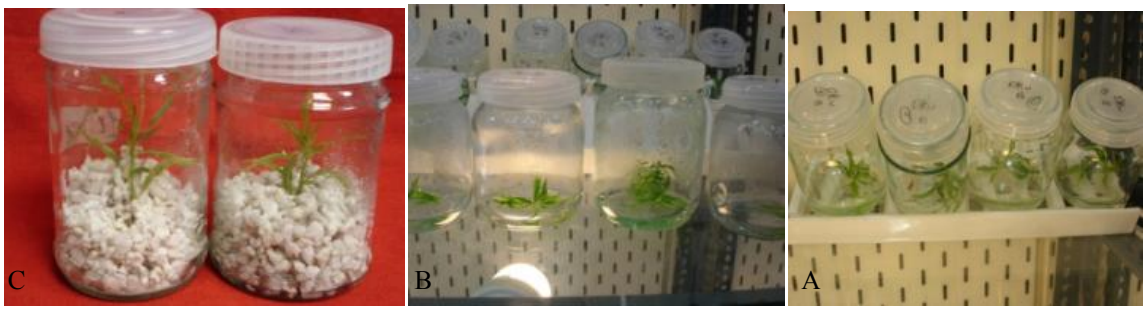
تهیه مواد گیاهی مورد مطالعه در آذر و دی ماه و در طول دوره رشد و خواب گیاه انجام شد.بدین منظور شاخه‌های ۲۰-۱۵ سانتی‌متری از درختان مادری جدا و در فلاسک حاوی یخ از ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند به آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII) منتقل شدند و بعد از جدا کردن برگ‌های آنها به قطعات کوچک تقسیم شدند که هر قطعه حاوی یک یا چند جوانه بوده است.

نمونه‌های گیاهی پس از انتقال به آزمایشگاه با مایع ظرفشویی و آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به قطعاتی در اندازه‌های کوچک بطوری که در هر قطعه یک جوانه وجود داشته باشند، تقسیم گردیدند. قطعات گیاهی پس از شستشوی مجدد با آب مقطر استریل، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصدغوطه ور و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی گردیدند، ریزنمونه‌ها پس از تیمار سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. سپس ریزنمونه‌های ضدعفونی شده به محیط کشت MS با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به مدت یکماه انتقال داده شدند. جهت مطالعه پرآوری جوانه‌های جانبی رشد یافته به اندازه ۲ سانتی‌متر در شرایط درون شیشه‌ای برای مقایسه به محیط‌های کشتانتقال داده شدند و پس از ۶ هفته بدون واکشت گیاهانی با ارتفاع ۳ تا ۴ سانتی متر به محیط ریشه‌زایی منتقل گردیدند.

کشت‌ها در شدت نور ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس به مدت ۱۶ ساعت و دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل درقالب طرح کاملا تصادفی با ۵ تکرار در هر دو مرحله ریزازدیادی انجام شد. برای جلوگیری از عارضه شیشه‌ای شدن ریز نمونه‌ها در محیط مایع، ظروف کشت بصورت شیبدار به نحوی که محیط با گیاه در تماس نباشد، قرار گرفتند (شکل ۱ -الف). جهت تغذیه ریزنمونه‌ها، روزانه به مدت ۱۰ دقیقه ریزنمونه‌ها بدون نگهدارنده در محیط غوطه ور می‌شدند (شکل۱ -ب). در مرحله ریشه‌زایی، برای استقرار گیاه در محیط مایع از پرلایت در ظروف حاوی محیط ریشه‌زایی استفاده شد (شکل ۱ -ج). در مرحله ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها به مدت هفت روز در تاریکی قرار گرفتند. بعد از ۴ هفته، صفات رویشی که شامل تعداد شاخه و ارتفاع گیاه در مرحله پرآوری وتعداد ریشه، ارتفاع ریشه در مرحله ریشه‌زایی بود، اندازه‌گیری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱ - الف- شیبدار قرار گرفتن ظروف ب- تغذیه ریزنمونه ها با غوطه وری در محیط کشت مایع ج- استفاده از پرلایت برای ریشه‌زایی ریز قلمه‌های پایه رویشیGF677

Figure1- A: Slope the vials, B: Nutrition explants,C: The use of perlite for rooting in GF677

جدول ۱- محیط کشت و غلظت هورمون‌های استفاده شده در مرحله استقرار، پرآوری و ریشه‌زایی برای کشت درون شیشه ای پایه رویشی GF677

Table 1- Medium and hormoneconcentrarionswereused for*in vitro*establishment, proliferation and rooting of GF677

تیمار Treatment	مرحله استقرار Establishment	مرحله پرآوری Prolifreation	مرحله ریشه‌زایی Rooting
محیطکشتجامدومایع Liquid and Solid medium	MS	MS, DKW, DPM	1/2MS
هورمون ها HormonesBAP	0.5	0-0.5- 1- 1.5	0
IBA	0	0	0-0.5- 1- 1.5
NAA	0	0.1	0
GA_3	0.2	0	0
آگار Agar(g/l)	7	7	7
ساکارز Sucrose(g/l)	30	30	30

سازگاری گیاهچه‌ها با شرایط بیرون

در این مرحله ریزنمونه‌های ریشه‌دار شده از محیط کشت جدا شده و به محیط خارج از شیشه منتقل شدند. به این منظور پیت و پرلیت به نسبت ۱:۱ با هم مخلوط شده و توسط اتوکلاو استریل شدند، لیوان‌های یکبار مصرفی که ته آنها سوراخ کوچکی ایجاد شده با این مخلوط پر شده و گیاهچه‌های ریشه‌دار در آن مستقر شده و آبیاری شدند، سپس سر لیوان‌ها با لیوان یکبار مصرف شیشه‌ای پوشانده شده و هر ۲ روز یکبار یک سوراخ ته لیوان های در پوش ایجاد شد تا به تدریج گیاهچه‌ها با محیط بیرون سازگار شدند و در نهایت لیوان‌ها برداشته شدند و طی این مدت در دمای ۲±۲۰ و رطوبت ۶۰-۷۰ درصد نگهداری شدند. در این مرحله هر یک هفته در میان از ۵ گرم در لیتر کود مایع N.P.K.Mg استفاده شد و به منظور مبارزه با شته از متاسیتوکس با غلظت cc/lit ۱-۲ و به هنگام دیدن قارچ از ریدومیل و مانکوزب با غلظت ۱+۱ در هزار استفاده شد. پس از یک ماه صفاتی چون درصد سازگاری که عبارت است از درصد نسبت تعداد گیاه زنده مانده به کل گیاهان منتقل شده به شرایط بیرون شیشه اندازه گیری شد سپس انتقال به گلخانه انجام شد.آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ومقایسه میانگین ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصدانجامشد.

نتایج

مرحله پرآوری

تعداد شاخه: نتایج نشان داد که تعداد شاخه در محیط کشت جامد و مایع و محیط کشت پایه و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). با توجه به جدول مقایسه میانگین (۳)، بیشترین میانگین تعداد شاخه در محیط کشت MS و کمترین میانگین در محیط WPM مشاهده شد.

ارتفاع شاخه: نتایج نشان داد که ارتفاع شاخه در محیط کشت در سطح ۱ درصد و در محیط کشت پایه در سطح ۵ درصد و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد معنی دار می‌باشد (جدول ۲). با توجه به جدول مقایسه میانگین (۳)، بیشترین میانگین ارتفاع شاخه در محیط

Archive of SID

www.SID.ir

MS مشاهده شد ولی در محیط کشت DKW و WPM تفاوتی وجود نداشت.

جدول ۲- تجزیه واریانس تعداد شاخه و ارتفاع شاخه تحت تیمار نوع محیط کشت و نوع محیط کشت پایه در پایه رویشی Gf677 در شرایط درون شیشه_ای

Tabel2- ANOVA of theeffect of type and basal medium the number and length of proliferated shoots of GF677

منبع تغییر Source of Variation	درجه آزادی DF	تعداد شاخه Nomber of shoot	طول شاخه Length of shoot
نوع محیط کشت Medium type	1	16.4**	8.2**
نوعمحیط کشت پایه Basal medium type	2	23.7**	4.1*
نوع محیط کشت × نوع محیط کشت Medium type ×Basal medium	2	34.6**	9.63**
خطا Error	24		

معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ درصد، *معنی دار در سطح ۰/۰۵ درصد**

* and ** significant at the 0.05 and 0.01 level of probability

اثر متقابل محیط کشت (جامد و مایع) و محیط کشت پایه در تعداد و ارتفاع شاخه

نتایج نشان داد که اثر متقابل محیط (جامد و مایع) و محیط کشت‌های پایه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. با توجه به جدول ۴، بیشترین تعداد و ارتفاع شاخه در محیط کشت MS مایع مشاهده شد.

L: محیط کشت مایع S: محیط کشت جامد

M: محیط MSD: محیط DKWW: محیط WPM

جدول ۳- اثر نوع محیط کشت (جامد و مایع) و نوع محیط کشت پایه در تعداد و ارتفاع شاخه‌باززایی شده پایه رویشی GF677 در شرایط درون شیشه‌ای

Table 3- Effect of typemedium (liquid and solid) and basalmediumon the number and height of proliferated shoots of GF677

اثر متقابل Interaction	تعداد شاخه Number of shoot (per explants)	ارتفاع شاخه Length of shoot (cm)
LM	a7.2	a4.9
LD	b4.2	b3.2
LW	c2.2	3b
SM	c2.2	2.2c
SD	2c	1.46d
SW	c1.6	1.4d

میانگین‌های با حروف مشابه باهم اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد ندارند..

umbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.01)based on Duncan's test.

ریشه‌زایی

نتایج این تحقیق نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین محیط کشت جامد و مایع در این مرحله وجود دارد بطوری که بهترین نتایج در محیط کشت مایع بدست آمد. میانگین تعداد ریشه و ارتفاع ریشه در محیط مایع به ترتیب ۲/۲۵ و ۱/۵ بود (جدول ۶).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٤-اثر محیط کشت جامد و مایع در تعداد و ارتفاع ریشه گیاه چه های پایه رویشی GF677
Table 4- The effect of solid and liquid media on root numberand length of GF677

نوع محیط کشت Medium type	تعداد ریشه Root number (root per explant)	ارتفاع شاخه Length of root (cm)
محیط کشت جامد (solid medium)	0.9b	0.5b
محیط کشت مایع (Liquid medium)	1.5a	2.25a

میانگین‌های با حروف مشابه با هم اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصدندارند.
umbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)based on Duncan's test

تعداد ریشه

نتایج نشان داد که درصد ریشه‌زایی بر حسب غلظت هورمون متفاوت می‌باشد. اثرات غلظت‌های مختلف IBA بر تعداد ریشه در سطح ۱درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند و همچنین اثر متقابل آنها نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA درصد ریشه‌دهی رضایت بخشی را در پایه GF677 تحریک نمود. که بهترین نتایج ریشه‌زایی در محیط کشت مایع با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد (جدول ۶). با توجه به جدول مقایسه میانگین، بیشترین میانگین تعداد ریشه در غلظت ۰/۵میلی گرم در لیتر و کمترین میانگین تعداد ریشه در غلظت صفر مشاهده شد. بین غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

ارتفاع ریشه

در بررسی غلظت‌های مختلف IBA برارتفاع ریشه، نتایج نشان داده است که اثرات غلظت‌های مختلف IBA بر طول ریشه در سطح ۱درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. اثر متقابل آنها نیز در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. بیشترین طول ریشه در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به دست آمده است و کمترین طول ریشه در غلظت صفر بدست آمده است که اختلاف چندانی با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر نداشت (جدول ۶). در این محیط تقریبا ۹۰ درصد ریشه‌زایی بدست آمد. ریشه‌های بدست آمده در محیط مایع بصورت یکنواخت و بدون کالوس بودند که این ویژگی‌ها باعث سازگاری بهتر گیاهچه‌ها با شرایط بیرون می‌شود (شکل ۲).

جدول ۵- اثر غلظت های مختلف هورمون IBA در تعداد و ارتفاع ریشه پایه رویشی GF677
Table 5-The effect of IBA different concentrations on GF677number and length of roots

IBA (mg/l)	ارتفاع ریشه Root length (cm)	تعداد ریشه No. of root per explant	ریشه زایی Rooting (%)
0	0.85c	0.45c	10
0.5	2.2a	4.18a	90
1	1.14b	2b	50
1.5	0.99bc	1.17b	40

میانگین‌های با حروف مشابه با هم اختلاف معنی‌داری با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.
umbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05) based on Duncan's test.

اثر متقابل محیط کشت (جامد و مایع) و غلظت‌های IBAدر تعداد و ارتفاع ریشه

نتایج نشان داد که اثر متقابل محیط (جامد و مایع) و غلظت‌های IBA در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. با توجه به جدول شماره ۹، بیشترین تعداد و ارتفاع ریشه در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA در محیط کشت مایع مشاهده شد.

محیط کشت جامد:S : محیط کشت مایع:L

b_1: ۰ b_2: ۰/۵ میلی گرم در لیتر b_3: ۱ میلی گرم در لیتر b_4: ۱/۵ میلی گرم در لیتر

سازگاری

میانگین زنده مانی گیاهانی که از محیط کشت مایع انتقال داده شد ۷۵ درصد و میانگین زنده‌مانی گیاهانی که از محیط کشت جامد انتقال داده شد ۵۰ درصد بود (شکل ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

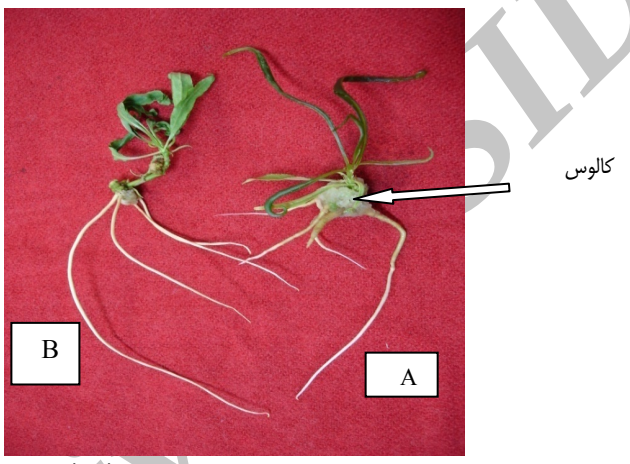
جدول ٦- اثر محیط کشت و غلظت های مختلف IBA در ارتفاع و تعداد ریشه

Table 6- Effect of medium and different concentration of IBA on number and height of roots

اثر متقابل Interaction	ارتفاع ریشه Root length (cm)	تعداد ریشه Number of root (per explant)
Lb_1	0.94c	0.45cd
Lb_2	1.9a	4.18a
Lb_3	1.29b	2b
Lb_4	0/99c	1c
Sb_1	0/7c	0/25d
Sb_2	1.004c	1.33bc
Sb_3	0.94c	1c
Sb_4	0/99c	1.3c

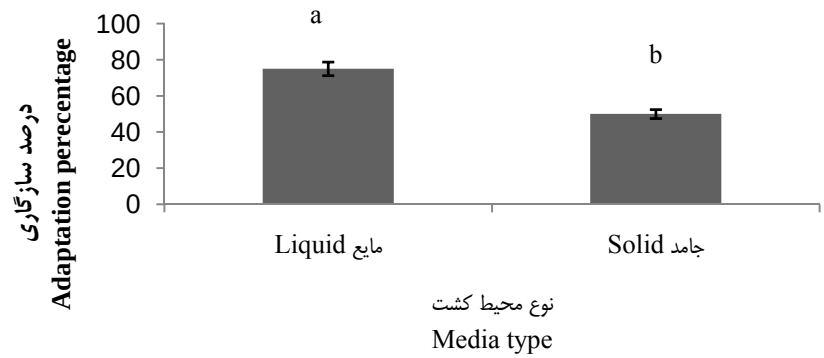
میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

.Numbers followed by the same letter are not significantly differentns (P<0.05)



شکل ۲- الف- ریشه زایی GF677 در محیط کشت جامد (الف) و محیط کشت مایع (ب)

Figure 2- GF677 Rooting in Solid medium (A) and Liquid medium (B)



شکل ۳- درصد سازگاری گیاهچه‌هایGF677 در محیط جامد و مایع

Figure 3- Adoptation percentage of GF677 seedlings in solid and liquid medium

بحث

محیط کشت مایع برای ریزازدیادی گیاهان، محیط ایده آلی است زیرا سیستم‌های کشت مایع، محیط یکنواخت تری را برای رشد فراهم می‌کنند و مواد غذایی بدون اینکه ظروف عوض شوند، قابل تجدید

www.SID.ir

هستند. از طرف دیگر ، استریل نمودن محیط کشت مایع با استفاده از فیلتر به آسانی امکان پذیر است. در مقایسه با کشت‌های نیمه جامد، در این روش می‌توان از ظروف بزرگتر استفاده نمود و افزایش زمان انتقال بهره برد. گونه‌های گیاهی متعددی با استفاده از کشت مایع تکثیر شده‌اند. در این پژوهش بهترین محیط کشت برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی در محیط کشت مایع مشاهده شد، بطوری که در این محیط کشت بیشترین تعداد شاخه و ریشه ایجاد شد. که این می تواند به دلیل تماس نزدیک بافت گیاهی با محیط کشت در محیط مایع سرعت جذب مواد غذایی و هومون‌های گیاهی ودر نتیجه سرعت جوانه و ریشه‌های گیاهچه‌های رشد یافته در سیستم مایع افزایش می‌یابد (۲۳، ۲۴ و ۲۷) .یکی از موادی که به شدت توسط آگار جذب می‌شود سایتوکینین است بنابراین آگارمی تواند جذب سایتوکینین از محیط کشت را برای بافت مشکل سازد (۳). روسل و همکاران (۲۰)، گزارش کردند که استفاده از محیط مایع در سیب زمینی باعث افزایش در طول میانگره‌ها و وزن خشک این گیاه می‌شود. سینقا (۲۲) گزارش کرد که محیط کشت مایع باعث تولید بیشتر شاخه در سیب می گردد که با نتایج این تحقیق در پایه GF677 مطابقت دارد. آلوارد و همکاران (۲)، محیط کشت‌های مایع مختلف و محیط کشت جامد را در ریزازدیادی موز مورد بررسی قرار دادندآنها به این نتجه رسیدند که بیشترین پرآوری در محیط کشت مایع تناوبی نسبت به محیط کشت جامد بدست آمد. همچنین تولید موفقیت آمیز میکرو تیوبر سیب زمینیدر محیط کشت مایع گزارش شد (۱۷). ریشه‌های حاصل از محیط کشت مایع از نظر ارتفاع یکنواخت تر از ریشه های حاصل از محیط کشت جامد بودند از طرف دیگر ریشه‌ها از خود گیاه تولید شدند ولی در محیط کشت جامد ریشه‌ها از کالوس به وجود آمدند که این عامل باعث از بین رفتن گیاهان در مرحله سازگاری شدند از طرف دیگر ریشه‌های حاصل از محیط کشت جامد در هنگام بیرون آوردن از ظروف کشت صدمه می‌بینند که این عامل هم باعث سازگاری کمتر این گیاهان به شرایط بیرون می‌شوند یکی دیگر از دلایل سازگاری کمتر گیاهچه‌های حاصل از محیط کشت جامد می تواند این باشد که احتمال باقی ماندن آگار روی ریشه‌ها وجود دارد که این خود باعث از بین رفتن ریشه‌ها به دلیل حملات قارچ‌ها می‌باشد. در این تحقیق بیشترین تعداد و ارتفاع شاخه در محیط MS مشاهده شد که می توان آن را ناشی از بالاتر بودن قدرت یونی محیط کشت MS نسبت به DKW و WPM دانست. تحقیق انجام شده توسط آندرید و مارین (۴) نشان داد که ترکیب محیط کشت روی میزان پرآوری و ازدیاد پایه های هسته‌دار تاثیر دارد. به طوری که پس از انجام ۹ بازکشت تعداد شاخساره‌ها روی محیط کشت QL در مقایسه با محیط کشت MS و WPM به طور معنی‌داری کاهش یافت. در کشت درون شیشه‌ای ترکیب محیط کشت روی رشد گیاهچه موثر است و این تاثیر در اثر ترکیب نمک های موجود در محیط کشت ایجاد می‌شود (۲۰). در پژوهش دیگری که روی ریزنمونه‌های GF677 انجام شد مشخص شد که محیط کشت MS سبب طویل شدن برگ می‌شود و برگ‌ها علائم کمبود را نشان داده و نهایتا از بین رفتند (۱۵). تاتاری و همکاران (۲۵) پرآوری مطلوب در پایه‌های رویشی GF677 و VPK1 را در محیط کشت MS بدست آوردند و افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشد در پایه GF677 تولید کالوس و شیشه‌ای شدن را تحریک کرد. به نظر می‌رسد این پایه دارای تنظیم کننده‌های رشدی درون‌زا باشد به طوری که کاربرد غلظت کمی از تنظیم کننده‌های رشد برون‌زا برای پرآوری کافی است. کمالی و همکاران (۱۵) محیط مناسب برای پرآوری پایه GF677 را محیط MS حاوی ۰/۷ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA گزارش کردند که به غلظت مطلوب BAP و NAA در تحقیق حاضر نزدیک است. تاتاری و همکاران (۲۶) بیشترین تعداد ریشه و درصد ریشه زایی پایه GF677 را در محیط کشت MS حاوی یک میلی گرم در لیتر NAA گزارش کردند. پژوهش‌ها نشانگر این است که ریشه‌دهی پایه GF677 در شرایط درون شیشه‌ای به نوع محیط کشت بستگی دارد (۱۵). پایه GF677 در محیط کشت MS حاوی یک میلی گرم در لیتر IBA ریشه‌های باطول بیشتر تولید کرد و محیط کشت MS تغییر یافته نسبت به محیط‌های پایه WPM و KNOP مناسب تر است (۲۶) در این پژوهش نیز بیشترین تعداد و ارتفاع ریشه در محیط کشت MS ۲/۱ مایع حاوی۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA مشاهده شد.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش با مقایسه محیط کشت مایع و جامد جهت پرآوری پایه GF677، نتایج نشان داد که محیط کشت MS مایع نسبت به محیط کشت جامد برتری دارد، بطوری که باعث افزایش تعداد و ارتفاع شاخه در مرحله پرآوری شد. ریشه‌های حاصل از محیط کشت مایع، یکنواخت و بدون کالوس بودند که این ویژگی‌ها سازگاری بهتر گیاه را با شرایط بیرون مهیا می‌کند و بهترین نتایج ریشه‌زایی در محیط کشت مایع با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد.

منابع

1- Afreen F. 2007.Temporary immersion bioreactor. Plant Tissue Culture Engineering, 6: 87–201.
2- Alvard D., Cote F., and TeissonC. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for

Archive of SID

www.SID.ir

bananapropagation.Effects of temporary immersion of explants. Plant Cell, Tissue ad Organ Culture., 32: 55-60.
3- Amiri M.E. 2002. Mass Propagation of a Unique Variety of Pear (*Pyruspyrifolia*Nak.Cv. Sebri) by shoot Tip Culture in vitro.ActaHorticulturae, 587:55-56.
4- Andreu P., and Marin J. A. 2005.*In vitro* culture establishment and multiplication oftheprunus rootstock Adesoto 101 (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition.ScientiaHorticulturae, 106: 258-267.
5- Ainsley P.J., Collins G.G., and Sedgley M. 2001. In vitro rooting of almond (*prunusdulcis* mill.). In Vitro Cellular & Developmental Biology,*37*, 778–785.
6- BattistiniA., and Paoli G. 2002. Large scale micropropagation of several peach rootstocks. ActaHorticulturae, 592: 29-33.
7- Debergh P. C. 1987. Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium.Physiologia Plantarum, 59(2): 270–276.
8- Debergh PC, Aitken-Christic J, Cohen B, Von Arnold S, Zimmerman R., and Ziv, M. 1992. Reconsideration of the term "vitrification" as used inmicropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30: 135-140
10- Dimasi-Theriou K., and Economou A. S. 1995. Ethylene enhances shoot formation in cultures of the peach rootstock GF-677 (*Prunuspersica x P. amygdalus*). Plant Cell Reports,*15*: 87–90.
11- Dobránszki J., and Teixeira da Silva J.A. (2010). Micropropagation of apple – A review.Biotechnology Advances, 28: 462-488.
12- Driver J.A., and Kunyoxi H. 1984. In Vitro propagation of Paradox Walnut rootstocks. Horticultural Science, 19:507-509.
13- Etienne H., and Berthouly M. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 69: 215-231.
14-Fasolo F., Malavasi F., and Ranieri R. 1987.Preliminary investigation on in vivo rooting of micropropagation of GF-677, peach rootstock.ActaHorticulturae, 212: 181-287.
15-Hartmann HT., Kester DE.,and Davies FT. 1990.Plant propagation, Principles and practices. Prentice-Hall International, New Jersey, USA. Pp. 145-89.
16-Kamali K., Majidi E., and Zarghami R. 2006.Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus*× *P. persica*).Plant Genetics and Breeding, 56: 175- 177.
17-Lioyd, G.B., and B.H. Mc Crown. 1980; Commerically feasible micro propagation of mountain by use of shoot tip culture. Proc. Inter. Plant propoter. Sco.30:421-437.
18-Majidi E., and Davodi D. 2005. Microtuber production in potato by periodical bioreactor. Journal 0f Agronomy Science of Iran, 5(4): 302-304.
19- Molassiotis A., Dimassi N., Therios K., and Diamantidis I. 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF677 (*Prunus amygdalus*×*P.persica*) explants *invitro*. BiologiaPlantarum, 47 (1): 141-144.
20- Murashige T., and Skooge F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiology Plant,15: 473-497.
21-Rossel G., De Bertoldi G., and TizzioR, 1987.In vitro mass tuberisation as a contributiontopotatomicropropagation. Potato Research, 30: 111-116.
22-Ruzic D., Saric M., Cerovic R., and Culafic L. 2003. Contents of macroelements
and growth of sweet cherry rootstock *in vitro*. Biology of Plants, 47: 463-465.
23-SinghaS. 1982. Influence of agar concentration on in vitro shoot proliferation of Malussp.Almey and PyruscommunisSeckel. Journal of American Society of Horticultural Science, 107: 657--660.
24-Sandal I, Bhattacharya A., and Ahuja PS. 2001.An efficient liquid culturesystem for tea shoot proliferation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 65:75-80.
25-Smith M.A.L., Spomer L.A. 1994.Vessels, gels, liquid media and supportsystems. In: Aiktken-Christie J, Kosai T, Smith MAL (eds.). (1994).Automation and Environmental control in plant tissue culture. KluwerAcademic Publishers, Dordrecht, 371-404.
26-Tabachnik L., and Kester D.E. 1977. Shoot culture for almond and almond peach hybrid clones invitro. Horticultural Science, 12(6): 545-547.
27- Tatarivernosafadarani M, Mousavi S.A., and buzarim N. 2012. Micropropagation of some Clonal Root stocks of Stone Fruits. Seed and plant Improvement Journal. 1-28(1): 53-66 (in Persian).
28-Ziv M. 1989.Enhanced shoot and cornlet proliferation in liquid cultured gladiolus buds by growth retardants.Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 17: 101-110.
29-Ziv M. 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders of in vitro plants. In:Debergh,P.C. and Zimmerman, R.H. Micropropagation. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht,The Netherlands; pp. 45-69.

Archive of SID

www.SID.ir