تاثیر نوع محیط کشت در پرآوری شاخساره پایه‌ی سیب بومی آزایش اصفهان بروش درون شیشه‌ای

علیرضا قنبری[1]*، داریوش آتشکار[2]، یاور شرفی[1]، روح ا.. حق جویان[2]، علی آشوری[1]

1: گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد. 2: بخش باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

ghanbari66@yahoo.com

چکیده

برای پرآوری شاخساره‌ها در پایه‌ی سیب ایرانی آزایش اصفهان، ریزنمونه‌هایی از شاخساره‌های پایه‌های رشد کرده درشرایط مزرعه تهیه و ضد عفونی شدند. از گیاهچه رشد کرده در شرایط درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های تهیه و در سه نوع محیط کشت که شامل محیط MS جامد، MS مایع و WPM جامد که حاوی 1/5 mg/l بنزیل‌آمینو پورین 'BA' بودند کشت شدند. آزمایش در قالب طرح پایه‌های کاملا تصادفی با سه تکرار انجام و تجزیه داده‌ها با استفاده از برنامه آماریMSTAT-C صورت گرفت و گروه‌بندی میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. داده‌ها بر اساس تعداد شاخه‌های تولید شده پس از حدود دو ماه یادداشت برداری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سه نوع محیط کشت از نظر پرآوری شاخساره‌ها در پایه‌ی آزایش اصفهان تفاوت معنی‌داری در سطح 1٪ دارند. بطوریکه محیط کشت MS مایع نسبت به محیط‌های جامد "MS و WPM " تعداد شاخساره بیشتری تولید کرد هر چند درصدی از شاخساره‌های تولید شده در محیط MS مایع به دلیل شیشه‌ای شدن بعد از انتقال به محیط جدید قادر به رشد و ریشه‌زایی نشدند. در کل محیط MS مایع بیشترین شاخه‌زایی را با میانگین 15/67 و MS جامد کمترین پرآوری با میانگین 5/67 عدد شاخه در هر ریزنمونه تولید کردند.

مقدمه

موفقیت در تجاری سازی یک پروتوکل ریزازدیادی، شدیدا به نحوه و سرعت افزونگری (Multiplication) شاخساره بستگی دارد. افزونگری و پرآوری (Proliferation) موثر شاخساره تحت تاثیر فاکتورهای مختلف از جمله ژنوتیپ، ترکیبات محیط کشت، فاکتورهای محیطی درون شیشه‌ای و غیره بستگی دارد (4). در اغلب پژوهشهای که بر روی پرآوری شاخساره‌های سیب انجام گرفته، BA به عنوان منبع اصلی سیتوکینین در غلظت هایی بین 0/5-2 mg/l استفاده شده است (1، 3، 5، 9). علاوه بر نوع ژنوتیپ (3 و 9) و مواد تنظیم کننده رشد، نقش محیط کشت نیز در پرآوری شاخساره‌ها حائز اهمیت است. محیط MS، معمولی‌ترین محیطی است که اغلب برای ریزازدیادی سیب استفاده می شود. گرچه کاربرد سایر محیط‌های کشت نیز گزارش شده است (4). از محیط LS برای پرآوری شاخساره در ریزنمونه‌های نوک شاخه رقم گالا استفاده شد (8). محیط KW برای'MM.106'و'M.9' استفاده شد

(7). اثرات محیط‌های MS، QL، WPM و DKW را بر روی پرآوری شاخساره در رقم *M. sieboldii* و 10 ژنوتیپ هیبرید حاصل از آن مورد مقایسه قرار گرفت. مشخص شد که وابستگی شدید بین ژنوتیپ و ترکیبات نمکی بهترین محیط تکثیر وجود دارد. در کل محیط MS بهترین محیط تکثیر با تعداد 3/3 (شاخساره برای رقم *M. sieboldii*) تا 5/7 (برای هیبرید C1907) بود هر چند در مورد دو ژنوتیپ (D221 و H0801) نمک‌های QL بطور معنی‌دار منجر به بهترین پرآوری با نسبت(3/3 تا 3/9) شد و در ژنوتیپ‌های (H0909 و Gi 477/4) پرآوری مشابهای از نظر آماری در محیط MS مشاهده گردید. استفاده از محیط DKW بهترین پرآوری (4/3) برای یک ژنوتیپ (4608) بدست آمد (2).

مواد و روشها

شاخه‌های از درختان مزرعه‌ای پایه‌ی بومی سیب آزایش اصفهان تهیه شد. پس از ضدعفونی و استقرار و رشد آنها در محیط درون شیشه‌ای، از آنها ریزنمونه‌های تهیه و بر روی محیط‌های پرآوری انتقال یافتند. برای پرآوری شاخساره‌ها از سه نوع محیط کشت که شامل محیط MS جامد، MS مایع و WPM جامد که هر کدام حاوی 1/5 mg/l بنزیل‌آمینو پورین 'BA' ویتامینهای محیط کشتMS، ساکارز (30g/l) و محیط‌های جامد دارای آگار (8g/l) بودند استفاده شد. pH محیط‌ها بر روی 5/6 تنظیم و در دمای°C 121 ضدعفونی گردیدند. پس از انتقال ریزنمونه‌ها به محیط پرآوری، کشت‌ها در شرایط طول روز 16h روشنایی و در دمای 2 °C ± 25 قرار داده شدند. هر تیمار دارای سه تکرار و هر تکرار بین 3 تا 4 ریزنمونه بود. داده‌ها پس از حدود دو ماه براساس تعداد نوشاخه‌های رشد کرده یاداشت برداری شدند. آزمایش در قالب طرح پایه‌های کاملا تصادفی انجام و تجزیه داده‌ها با استفاده از برنامه های آماریMSTAT-C صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها و گروه بندی با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 1٪ و 5٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در پایه‌ی آزایش اصفهان سه نوع محیط کشت مختلف با غلظت یکسان BA، از نظر پرآوری شاخساره‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح 1٪ دارند. بطوریکه محیط کشت MS مایع نسبت به محیط‌های جامد "MS و WPM" تعداد شاخساره بیشتری تولید کرد. محیط MS مایع با تولید میانگین 15/67 عدد شاخه جدید در هر ریزنمونه بیشترین و MS جامد با میانگین 5/67 عدد شاخه، کمترین پرآوری را داشتند. محیط جامد WPM نیز با تولید میانگین 6/2 شاخه جدید در هر ریزنمونه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با دو محیط دیگر داشت. نوع و ترکیبات محیط کشت یکی از عوامل مهم در پرآوری شاخساره ها است. در محیط‌های مایع به دلیل جذب سریع و آسانتر مواد توسط بافت‌های گیاهی، اغلب این محیط‌ها منجر به رشد و پرآوری بیشتر شاخساره‌ها می‌شوند (2 و 4). نتیجه این آزمایش نیز این را نشان داد هر چند درصدی از شاخساره‌های تولید شده در محیط MS مایع به دلیل شیشه‌ای شدن بعد از انتقال به محیط جدید قادر به رشد و ریشه‌زایی نشدند. همچنین پرآوری پایه‌ی

آزایش اصفهان در محیط جامد WPM در مقایسه با محیط جامد MS پرآوری بهتری داشت که به دلیل رفتار متفاوت ژنوتیپ با توجه به ترکیبات درونی آن می باشد که قبلا نیز گزارش های مشابهی در ژنوتیپ های مختلف سیب ارائه شده است (6).

REFERENCES:

1- Baraldi, R., Fasolo, F. M. F., Predieri, S., Castagneto, M.. 1991. Effect of potassium humate on apple cv. 'Golden Delicious' cultured *in vitro*. Plant Cell Tissue Org Cult. 24: 187–91.

2- Ciccoti, A.M., Bisognin, C., Battocletti, I., Salvadori, A., Herdemertens, M., Wallbrain, M., 2009 Micropropagation of Malus sieboldii hybrids resistant to apple proliferation disease. Acta Hort. 839:35–42.

3- Dobránszki, J,. Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J., 2000a. *In vitro* shoot multiplication of apple: comparative response of three rootstocks to cytokinins and auxin. Int J Hortic Sci. 6: 36–9.

4- Dobránszki, J., Silva, J.A., 2010. Micropropagation of apple-A reviw. Biotechnology Adv. 28:462-488.

5- Kaushal, N., Modgil, M., Thakur, M., Sharma, D.R., 2005. *In vitro* clonal multiplication of an apple rootstock by culture of shoot apices and axillary buds. Indian J Exp Biol. 43: 561–5.

6- Lane, W.D., McDougald, J.M., 1982. Shoot tissue culture of apple: comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin. Can J Plant Sci. 62: 689–94.

7- Muleo, R., Morini, S., 2006. Light quality regulates shoot cluster growth and development of MM 106 apple genotype in *in vitro* culture. Sci Hortic. 108: 364–70.

8- Van Nieuwkerk, J.P., Zimmerman, R.H., Fordham, I., 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. HortScience. 21: 516–8.

9- Yepes, L.M., Aldwinckle, H.S., 1994. Micropropagation of thirteen Malus cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. Plant Growth Regul. 15: 55–67.

Effect of media kind on shoot proliferations in native apple rootstock "Azayesh-e-Esfahan" by in-vitro

A. Ghanbari*[1], D. Atashkar[2], Y. Sharafi[1], R. Haghjooyan[2] A. Ashoori[1],

1- Shahed University, College of Agriculture, Tehran, Iran.

2- seed and plant improvement instituite, Karaj, Iran.

Ghanbari66@yahoo.com

Abstract

For shoot proliferation of Iranian native apple rootstock "Azayesh-e-Esfahan", explants prepared in field trees shoot and sterilized. When plantlets grew in in-vitro, explants prepared them and transferred to three shoot proliferation media includes, semi-solid MS; liquid MS; and semi-solid WPM. The lay out experimental was conducted with randomized complete block design (RCBD), with three replicate and data analyzed by Mstat-c statistical programs and for significance by Duncan's multiple range test in. Data were recorded according to number of shoot proliferations after two months. The results showed that for shoot proliferation in Azayesh-e-Esfahan" rootstock, the three media had significance effect in 1% level. The liquid medium of MS in compared with two others, 'semi- solid MS and WPM' produced maximum shoots, however some of this shoots had been vitrification, that when transferred to new medium, they didn't growth and rooting. In general, liquid MS medium had maximum shoot proliferation with average 15.67 shoots and semi-soiled MS had minimum shoots in each explant with average 5.67 shoots.

Keywords: apple (*Malus domestica* Borkh.) rootstock. Proliferation, In-vitro.