



بررسی اثر سیتوکنین ها بر باززایی نخل خرما رقم برحی از طریق کشت نوک شاخه در شرایط درون شیشه ای



موسی موسوی^{*}، کوثر مویدی، عزیز تراهی
^{*}استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. ^{*} نویسنده مسئول
دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
عضو هیئت علمی پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری ایران، اهواز، ایران
^{*} ایمیل نویسنده مسئول: M.mousavi@scu.ac.ir

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که همه ی انواع سیتوکنین به کار رفته در هر دو حالت کاربرد اکسین NAA یا NOA شاخساره تولید کردند (شکل ۱). تجزیه واریانس نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که چهار نوع سیتوکنین متاتوپولین، 2ip, TDZ, BAP بر روی طول شاخه دارای اثرات معنی داری بود اما اثرات اکسین به تنهایی اختلاف معنی داری داشت (جدول ۱). تجزیه واریانس حاصل از این آزمایش نشان داد که کاربرد همه ی اواع سیتوکنین بر روی تعداد جوانه اثرات معنی داری نداشت اما اثرات نوع اکسین به تنهایی اختلاف معنی داری را نشان داد (جدول ۲).

مقایسه میانگین های اثرات متقابل نوع اکسین در نوع سیتوکنین بر طول شاخه اختلاف معنی داری را نشان داد به طوری که حداکثر طول شاخه با کاربرد اکسین NOA و سیتوکنین BAP به دست آمد. حداقل طول شاخه نیز زمانی که جوانه ی انتهایی در محیط کشت محتوی اکسین NAA با سیتوکنین TDZ کشت شده بود حاصل شد (نمودار ۱). مقایسه میانگین اثرات نوع اکسین NAA یا NOA بر روی تعداد جوانه اختلاف معنی داری را نشان داد به طوری که بیشترین تعداد جوانه زمانی که جوانه ی انتهایی در محیط کشت حاوی NAA کشت شده بود حاصل شد (نمودار ۲).

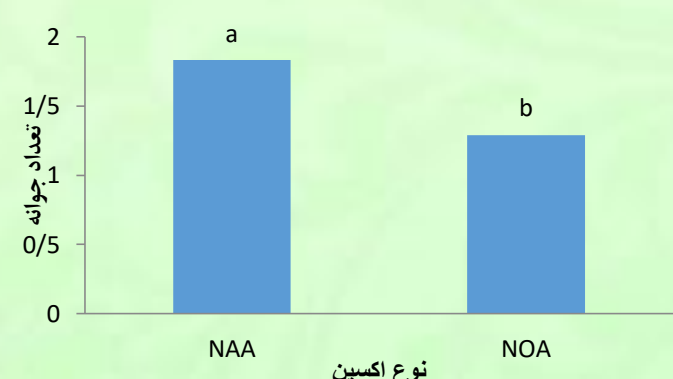
بنابر گزارش (Bekheet and Saker, 1998) سیتوکنین ها مانند 2ip و BAP اجزا ضروری در محیط کشت مورد استفاده برای تولید جوانه های رویشی هستند که باعث تقسیم سلولی و مهار غالبیت انتهایی می شود.

باقری و همکاران (۲۰۱۵) بیان کردند که استفاده از BAP باعث افزایش تعداد جوانه و استفاده از NAA منجر به افزایش طول جوانه های جانبی می شود. سیتوکنین ها علاوه بر تنظیم سرعت تقسیم، رشد جوانه های جانبی را نیز تحریک می کنند.

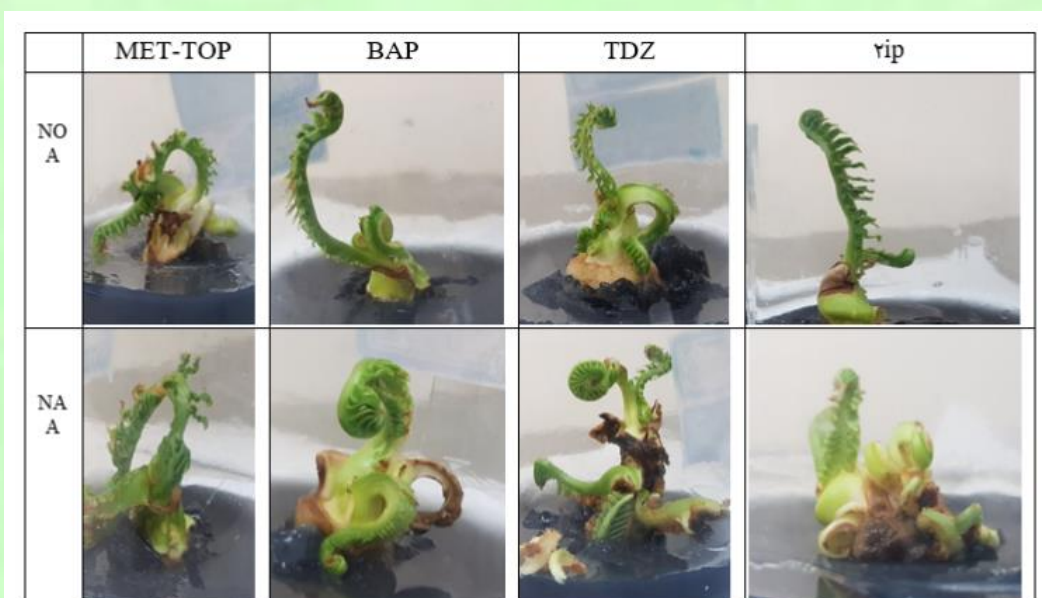
جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات سیتوکنین های 2ip(ip), TDZ(TZ), Met-Topolin(mT), BAP(BP) و اکسین NAA(NA) در روی طول شاخه حاصل از کشت جوانه انتهایی نخل خرما ی رقم برحی در شرایط درون شیشه ای

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
اکسین	1	1.95920746	1.95920746	3.69	0.0728*
سیتوکنین	3	0.83333333	0.27777778	0.52	0.6727ns
سی* توکین	3	0.54079254	0.18026418	0.34	0.7972ns
خطا	16	8.50000000	0.53125000		
کل	23	11.83333333			

*معنی دار در سطح 5%. ns تغییر معنی دار در سطح احتمال 5%



نمودار ۲- مقایسه اثرات ساده نوع اکسین NAA با NOA بر روی تعداد جوانه جانبی حاصل از کشت جوانه انتهایی نخل خرما ی رقم برحی در شرایط درون شیشه ای



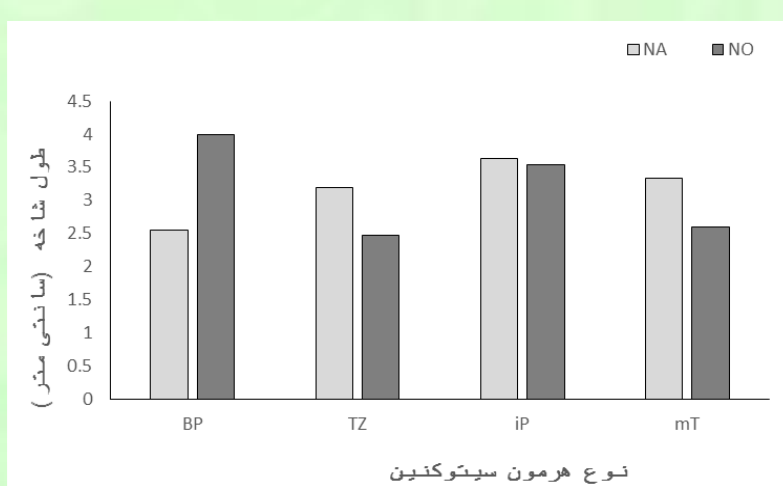
شکل ۱- نتایج اثر سیتوکنین های متاتوپولین، 2ip, BAP, TDZ به همراه اکسین های NAA و NOA بر روی شاخه زایی نخل خرما در شرایط درون شیشه ای

شکل ۱- نتایج اثر سیتوکنین های متاتوپولین، 2ip, BAP, TDZ به همراه اکسین های NAA و NOA بر روی شاخه زایی نخل خرما در شرایط درون شیشه ای

جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات سیتوکنین های 2ip(ip), TDZ(TZ), BAP(BP) و اکسین NAA(NA) در روی طول شاخه حاصل از کشت جوانه انتهایی نخل خرما ی رقم برحی در شرایط درون شیشه ای

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
اکسین	۱	۰.۰۲۰۰۲۸۴	۰.۰۲۰۰۲۸۴	۰.۰۲	۰.۸۸۵
سیتوکنین	۳	۰.۶۵۳۷۵۰۰	۰.۲۱۷۹۱۶۷	۰.۶۸	۰.۵۷۹
سی* توکین	۳	۰.۴۱۱۵۹۳۸	۰.۱۳۷۱۹۷۹	۱.۵۳	۰.۲۴۵
خطا	۱۶	۱۵.۳۷۶۶۶۶	۰.۹۶۱۰۴۱۶۷		
کل	۲۳	۲۱.۷۶۹۵۸۳			

5% تغییر معنی دار در سطح احتمال ns. 5% معنی دار در سطح



نمودار ۱- مقایسه میانگین اثرات سیتوکنین های 2ip, TDZ, BAP(BP) و اکسین NAA(NA) بر روی طول شاخه حاصل از کشت جوانه انتهایی نخل خرما ی رقم برحی در شرایط درون شیشه ای

منابع

- اسکندری، م.، پورمحمدی، پ.، عالمی سعیدخ. ۱۳۹۸. کشت بافت تجاری نخل خرما به روش اندام زایی مستقیم، همایش ملی صنعت و تجاری سازی کشاورزی ایران. <http://civilica.com/doc/981392>
- پیریک، آر.ال.ام. ۱۳۹۳. مبانی کشت بافت های گیاهی. مترجم عبدالرضا باقری و مهری صفاری. چاپ هفتم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ی ۱۵.
- Alkhateeb, A.A. 2006. Role of cytokinin and auxin on the multiplication stage of date palm+ (*Phoenix dactylifera* L.) cv.sukry. Biotechnology 5(3): 349-352.
- Al-Khayri, J.M. 2003. In vitro germination of somatic embryos in date palm: Effect of auxin concentration and strength of MS salts. Current science, 84(5): 680-683.

- Bagheri, A., Ziaratnia, M., Hosseini, M. 2015. In vitro culture of Trees. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. (In Farsi)
- Bekheet SA and Saker MM.1998. In vitro propagation of Egyptian date palm: || Direct and indirect shoot proliferation from shot tip explant of *Phoenix doctylifera* L. cv Zaghloul. Proce. First INt. Cong. On Date Palm. Al Ain, AUE. pp. 150_157
- Lata, H., Chandra, S., Techen, N., Khan, I.A., Elsohly, M.A. 2016. *In vitro* mass propagation of *cannabis sativa*. A protocol refinement using novel aromatic cytokinin *meta*-Toplin and the assessment of eco physiological, biochemical and genetic fidelity of micro propagated plants. Journal Of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants.3(1): 18-26.
- Saeiahagh, H., Mousavi, M., Wiedow, C., Bassett, H.B., Pathirana, R. 2019. Effect of cytokinins and sucrose concentration on the efficiency of micro propagation of 'Zes006' *Actinidiachinensis* var. *chinensis*, a red-fleshed kiwifruit cultivar. Plant Cell, Tissue Organ Culture (PTCOC) <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01597-4>.

چکیده B Mitra 32 (حداکثر ۵۰۰ کلمه)

نخل خرما یک گیاه اقتصادی مهم تک لپه ای است که به طور گسترده در خاورمیانه و شمال آفریقا پرورش داده می شود. روش متداول ازدیاد نخل خرما از طریق پاجوش بوده و دارای مشکلات فراوانی است به همین علت استفاده از روش کشت بافت برای ازدیاد و تولید انبوه حائز اهمیت است. ریزازدیادی رقم برحی از طریق کشت بافت به واسطه ی کالوس موجب ایجاد ناهنجاری های ژنتیکی می گردد یکی از راه های رفع این مشکل، ریزازدیادی مستقیم می باشد. باتوجه به این که شاخه دهی تحت تاثیر مستقیم نوع و غلظت سیتوکنین است لذا در این آزمایش برای اولین بار از سیتوکنین متاتوپولین جهت القاء و رشد شاخساره از نوک شاخه استفاده گردید. بنابرین آزمایشی به صوت فاکتوریل طراحی گردید و اثر سیتوکنین های متاتوپولین، 2ip, BAP, TDZ به همراه هورمون اکسین NOA یا NAA بر روی میزان تولید و رشد شاخه مقایسه شدند. در این آزمایش از محیط کشت پایه ی MS به صورت کامل دارای ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷/۵ گرم در لیتر آگار، ۱/۵ گرم در لیتر ذغال فعال و ۵۰ میلی گرم در لیتر آدنین سولفات استفاده گردید.

مقدمه

نخل خرما (*phoenix dactylifera* L.) یک درخت میوه ی اقتصادی مهم و گیاهی تک لپه ای که در خاورمیانه و شمال آفریقا به طور گسترده کشت شده است (Al-khayri, 2003). تکثیر خرما از طریق بذر و پاجوش می باشد اما این روش ها مشکلات فراوانی دارند به همین علت استفاده از روش کشت بافت برای تکثیر و تولید در مقیاس وسیع بسیار مهم است (Alkhateeb, 2006). باززایی نخل خرما از طریق اندام زایی مستقیم می باشد که گیاهچه ها به طور مستقیم از بافت گیاه مادری به عمل می آیند و کالوس تولید نمی شود، گیاهچه ها شبیه گیاه مادری هستند و امکان ایجاد جهش و تنوع سوماکلونال را کاهش می دهد (اسکندری و همکاران، ۱۳۹۸). سیتوکنین ها یک گروه از هورمون های گیاهی (طبیعی یا مصنوعی) می باشند که باعث تقسیم سلولی، تشکیل جوانه های نابه جا (شاخساره) و کاهش غالبیت انتهایی می شوند (پیریک، ۱۳۹۳). متاتوپولین یک نوع سیتوکنین آروماتیک است که برای اولین بار از برگ های صنوبر جدا شده که اثرات آن برای افزایش تغییرات رشد و گسترش شاخه ها، بهبود کارایی ریشه، ثبات (پایداری) هیسٹوژنیک و کاهش انواع اختلالات فیزیولوژیکی در ریزازدیادی به اثبات رسیده است (Lata et al., 2016). در پژوهشی که به منظور مقایسه ی هورمون های سیتوکنین مانند زآتین، متاتوپولین و BAP در ریزازدیادی میوه ی کیوی صورت گرفته است، گزارش شده است که محیط کشت حاوی متاتوپولین ریزنمونه ها دارای تعداد شاخه، وزن شاخه، تعداد برگ و سطح برگ بیشتری نسبت به هورمون های زآتین و BAP داشته است (Saeiahagh et al., 2019). هدف این آزمایش بررسی و مقایسه ی سیتوکنین های مختلف جهت القاء و رشد شاخساره و ارائه ی روشی بهینه جهت ریزازدیادی مستقیم نخل خرما رقم برحی می باشد.

مواد و روش ها

تهیه ی مواد گیاهی: پاجوش های جوان خرما ی رقم برحی (۲-۳ ساله) از پایه های مادری جدا شدند. سپس برگهای پاجوش به ترتیب از بیرونی ترین برگها و تا رسیدن به جوانه ی انتهایی و برگهای آن حذف شدند. جوانه های انتهایی در محلول آنتی اکسیدان حاوی ۱۵۰ میلی گرم در لیتر اسید سیتریک و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آسکوربیک اسید به منظور جلوگیری از سیاه شدن نمونه ها قرار گرفتند. جهت ضدعفونی نمونه ها، ابتدا نمونه ها در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و پس از آن در محلول هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) به همراه یک قطره تووین به مدت ۲۰ دقیقه همراه با تکان دهی قرار گرفتند و سپس نمونه ها با آب مقطر استریل سه بار شستشو داده شدند. تمامی مراحل استریل کردن و کشت نمونه ها در زیر هود لامینار انجام شد.

اندام زایی مستقیم: پس از مراحل استریل کردن و جداسازی لایه های خارجی و برگ ها، نوک شاخه جدا در محیط پایه ی MS (موراشیگ و اسکوگ، ۱۹۶۲) به صورت کامل محتوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷/۵ گرم در لیتر آگار، ۱/۵ گرم در لیتر ذغال فعال و تنظیم کننده های رشد گیاهی شامل متاتوپولین، 2ip BAP, TDZ، با غلظت ۱۰ میکرومول و نیز دو نوع اکسین NAA یا NOA کشت شدند. این آزمایش در قالب طرح آزمایشی فاکتوریل بر پایه ی طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد.