پنجمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)، دانشکده کشاورزی
۲۸-۲۷ بهمن ماه ۱۳۸۹

بهینه سازی ریزازدیادی زیتون(*Olea europaea* L.) رقم زرد در کشت درون شیشه ای

ازاده ایران نژاد[۱]، علی وطن پور ازغندی[۲]
۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
۲. استادیار بخش تحقیقات کشت بافت و انتقال ژن ، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
نویسنده مسئول: آزاده ایران نژاد
Email:azadeirannezhad@gmail.com

چکیده

زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از مهمترین درختان نواحی مدیترانه است که اهمیت اقتصادی آن در تولید بهترین روغن خوراکی، خواص دارویی و همچنین تهیه کنسرو می باشد. این پژوهش به منظور بهینه سازی ریزازدیادی ریزقلمه های رقم زیتون زرد (یکی از ارقام مهم روغنی و کنسروی کشور)، در شرایط درون شیشه ای، در بخش کشت بافت و انتقال ژن پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی انجام گرفت. تاثیر ده تیمار هورمونی شامل غلظت های مختلف ایندول بوتیریک اسید (IBA) در غلظت های (۰، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (NAA) در غلظت های (۰، ۰/۵، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) به تنهایی و یا توام با یکدیگر در محیط ریشه زایی زیتون (OMr) بر درصد ریشه زایی، میزان تولید کالوس در قاعده ریزقلمه و شاخص کیفیت رشد گیاهچه های تولیدی، ۴ هفته پس از کشت ارزیابی شد. بالاترین میزان ریشه زایی (۸۶/۶۶٪) و بالاترین طول ریشه (۴۸/۹۳ میلی متر) مربوط به تیمار ۲/۵ میلی گرم در لیتر IBA+۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA، ۴ هفته پس از کشت بدست آمد.

واژگان کلیدی: زیتون (*Olea europaea* L.)، پرآوری، ریشه زایی، شاخص کیفیت رشد گیاهچه

مقدمه

زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از مهمترین درختان نواحی مدیترانه است که از نظر اقتصادی برای تولید روغن به عنوان بهترین روغن خوراکی و نیز خواص دارویی عصاره طبیعی و خالص استخراج شده از زیتون و همچنین تهیه کنسرو از اهمیت و جایگاه ویژه ای برخوردار می باشد. زیتون یکی از گیاهان مهم باغی کشور است که در برنامه تلاش برای رسیدن به خودکفایی روغن در کشور دارای اولویت خاصی می‌باشد. با توجه به برنامه های گسترش سطح زیر کشت زیتون در کشور، نیاز به تولید نهال سالم (عاری از ویروس) و اصیل از ارقام پر محصول بویژه ارقام روغنی، بیش از پیش احساس می شود. این پژوهش در راستای تهیه پروتکل های فنی مورد نیاز برای ریزازدیادی زیتون و به منظور بهینه سازی ریشه زایی ریزقلمه های رقم زیتون زرد در شرایط درون شیشه ای، انجام گرفت.

مواد و روش ها

از جوانه های جانبی و انتهایی شاخه های یک ساله درختان بالغ که از ایستگاه تحقیقات زیتون زنجان (طارم) تهیه شده بودند به عنوان ریزنمونه استفاده شد. ریزنمونه ها پس از ضدعفونی سطحی با الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و سپس محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه در محیط کشت پایه OM (روجینی، ۱۹۸٤)، مستقر شدند. پس از ۳ هفته نوشاخه های رشد کرده به محیط تکثیر که محتوی ٤ میلی گرم در لیتر زآتین بود منتقل و ۲ یا ۳ بار دیگر در فواصل زمانی ٤ هفته ای واکشت شدند. پس از پرآوری نوشاخه ها و رشد طولی آنها، نوشاخه هایی به

طول ۲ یا ۳ سانتیمتر تهیه و در محیط های ریشه زایی OMr (نصف عناصر محیط OM) با ۱۰ تیمار هورمونی به شرح ذیل در قالب طرح کاملا تصادفی با ٦ تکرار (ظرف کشت) برای هر تیمار و ۵ ریزقلمه در هر تکرار کشت شدند.

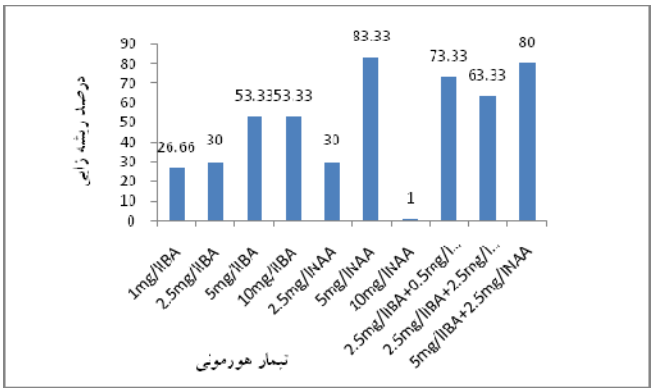
1) OMr (control), 2) 2.5 mg/l IBA, 3) 5.0 mg/l IBA, 4) 10mg/l IBA, 5) 2.5 mg/l NAA, 6) 5.0 mg/l NAA, 7) 10 mg/l NAA, 8) 2.5 mg/l IBA+0.5 mg/l NAA, 9) 2.5 mg/l IBA+ 2.5 mg/l NAA, 10) 5.0 mg/l IBA+2.5 mg/l NAA.

چهار هفته پس از کشت درصد ریشه زایی، میزان تولید کالوس در قاعده ریزقلمه و شاخص کیفیت رشد گیاهچه های تولیدی ارزیابی شده و داده ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتنه و میانگین ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند. بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش موثرترین تیمارهای ریشه زایی (سه تیمار) شامل: ۱) ۲/۵ میلی گرم در لیتر IBA + ۰/۵میلی گرم درلیتر NAA، ۲) ۵ میلی گرم در لیتر IBA + ۲/۵ میلی گرم در لیتر NAA و ۳) ۵ میلی گرم در لیتر NAA در آزمایش دیگری مجددا در قالب طرح کا ملا تصادفی با ۳ تیمار و ٦ تکرار (ظرف کشت) در محیط پایه مشابه مورد بررسی قرار گرفتند. میزان ریشه زایی، میزان کالوس ایجاد شده در قاعده ریزنمونه ها و شاخص کیفیت رشد گیاهچه چهار هفته پس از کشت ارزیابی و به طور مشابه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

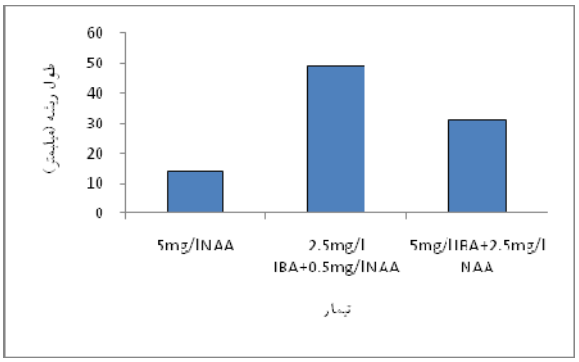
نتایج و بحث

تیمارهای هورمونی اثرات بسیار معنی دار و متفاوتی بر درصد ریشه زایی، میزان تولید کالوس و شاخص کیفیت رشد گیاهچه ها نشان دادند (شکل ۱). حداکثر میزان ریشه زایی ٤ هفته پس از کشت در تیمارهای ۲/۵ میلی گرم در لیتر IBA+۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA (۷۳٪)، ۵ میلی گرم در لیتر IBA+۲/۵ میلی گرم در لیتر NAA (۸۰٪) و ۵ میلی گرم در لیتر NAA (۳/۸۳٪) به دست آمد (شکل ۱). در آزمایش دوم نیز از بین سه تیمار منتخب، بیشترین میزان ریشه زایی (۸٦/٦٦٪) مربوط به تیمار ۲/۵ میلی گرم در لیتر IBA+ ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بود. اگرچه در مورد پارامترهای درصد ریشه زایی، تعداد ریشه در هر ریزنمونه و شاخص کیفیت رشد در این آزمایش اختلافات معنی دار نبود و تنها در مورد طول ریشه تفاوت ها معنی دار بود و بالاترین طول ریشه (٤۸/۹۳ میلیمتر) در تیمار ۲/۵ میلی گرم در لیتر IBA+ ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد (نمودار ۲).

روجینی (۱۹۸٤) با بررسی و تجزیه و تحلیل عناصر معدنی نوک شاخه های زیتون محیط کشت اختصاصی زیتون OM (Olive Medium) را معرفی کرد. برای ریشه زایی وی کاربرد ۱ میلی گرم در لیتر IBA را توصیه کرد. در تحقیق حاضر مشخص شد که برای رقم زرد، اولا غلظت های بالاتر IBA مفیدتر بود و ثانیا در استفاده توام از IBA و مقدار کمی NAA (۵/۰ میلی گرم درلیتر) نتایج بهتری حاصل شد. روسوس و پونتیکیس (۲۰۰۲)، بیشترین میزان ریشه زایی (۷٦٪) را در رقم زیتون کرونایکی و در محیط DKW حاوی ترکیب توام IBA و NAA (۱ میلی گرم در لیتر از هر کدام) بدست آوردند. آنها نشان دادند که IBA بیشتر از NAA قدرت ریشه زایی دارد ولی استفاده توام آنها بهترین نتیجه را داشت. نتایج پژوهش حاضر برای رقم زرد نیز موید تحقیق روسوس و پونتیکیس می باشد. این درحالی است که بریتو و همکاران (۲۰۰۹) در ریزازدیادی رقم مادرنسیس از ۳/۲۲ میکرومول NAA (معادل ۰/۵۹ میلی گرم در لیتر) استفاده کردند.



نمودار۱: اثر غلظت های تنظیم کننده های رشد **IBA** و **NAA** بر میزان ریشه زایی زیتون رقم زرد، **چهارهفته** پس از کشت



نمودار ۲: اثر تیمارهای هورمونی منتخب بر طول ریشه (**mm**)

شکل: ریشه زایی ریزقلمه های زیتون در تیمارهای ۶، ۸ و ۱۰ (به مواد و روش مراجعه شود.)

نتیجه گیری کلی

تحقیق حاضر نشان میدهد که با وجودیکه اکثر ارقام زیتون از طریق قلمه، پاجوش و پیوند قابل تکثیر هستند اما کشت بافت و ریزازدیادی تنها روش رویشی مطمئن برای تولید نهال‌های سالم و یکنواخت از پایه‌ها و ارقام برتر زیتون میباشد.

منابع

1.Brito G., Costa A., Coelho C. and Santos C. (2009). Large-scale field acclimatization of *Olea maderensis* micropropagated plants: morphological and physiological survey. Trees 23: 1019-1031.
2.Roussos P.A. and Pontikis C.A. (2002). *In vitro* propagation of olive (*Olea europaea* L.) cv. Koroneiki. Plant Growth Regulation 37: 295-304.
3.Rugini, E. (1984). *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea* L.) culture with different rootability and medium development using analytical data from developing shoot and embryos. Scientia Horticulture 24: 123-134.
4.Lavee S., and Messer G. (1969). The effect of growth regulating substances and light on olive callus growth in vitro. J. Exp. Bot; 20: 218-221.

Improvment *In vitro* Micropropagation of native-olive (Zard)

Azade Irannezhad[1], Ali Vatanpour Azghandi[2]

1. Former MSc. Student of Plant Biotechnology, Isalamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor, Agricultural Biotechnology Research Institude of Iran, Karaj
Email address: azadeirannezhad@gmail.com

Abstract

Olive (*Olea europaea* L.) is one of the most important commercial semitropical fruit trees for oil, as Mediteranean diet, pharmaceutical effects and conserve. The objective of this research to develop a technique for fast proliferation, rooting and aseptically shoots growing of native-olive (Zard) *in vitro*. Micropropagation of native-olive (Zard) has been proved to be difficult due to very slow rooting of the culted shoots. Rooting expriment was conducted on 1/2 OMr (Olive Medium) with various concentrations and combination of IBA (0, 1, 2.5, 5, 10mg/l) and NAA (0, 0.5, 2.5, 5, 10mg/l) in dark condition for the first week. The parameters of root percentage, Amount of Callus formation and Qualification Index per plantlet was evaluated upon culture for 4 weeks.

After 4 weeks the highest rooting percentage in three treatments including

2.5mg/l IBA+ 0.5mg/l NAA, 5mg/l IBA+ 2.5mg/l NAA and 5mg/l NAA was selected and olive explants was cultured in these treatments again. After one month the highest percentage of rooting (86.66%) and highest root length (48.93mm) due to 2.5mg/l IBA+ 0.5 NAA was achieved.

Key words: Olive (*Olea europaea* L.), Proliferation, rooting, Qualification Index per plantlet