بررسی دو تنظیم کننده رشد اکسین و سیتوکنین بر روی کالوس زایی و ساقه زایی مستقیم در نارنگی انشو

کاملیا لاکدشتی
دانشجوی رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه
k.lakdashty@yahoo.com
سید وحید علوی
مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ساری
alavi_v@yahoo.com
یاور شرفی
گروه علوم باغبانی، دانشگاه شاهد
yavarsharafi@yahoo.com
عالم آرا غلامی
گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری
aragh_61@yahoo.com

چکیده

از آنجایی که مرکبات از جمله محصولات مهم اقتصادی در ایران محسوب می شود، در این پژوهش به بررسی تاثیر اکسین و سیتوکنین بر روی القای کالوس و همچنین جوانه زایی مستقیم یکی از مهمترین گونه های مرکبات با نام علمی *Citrus unshiu* در شرایط درون شیشه برای دستیابی به بهترین غلظت ترکیب هورمونی پرداختیم. از این رو سرشاخه‌های نارنگی انشو موجود در باغات مهدشت ساری به عنوان ریزنمونه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از گندزدایی در محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ (MS) محتوای سه غلظت (۰و ۰/۵ و ۱و ۲) میلی گرم در لیتر از گروه هورمون‌های اکسین، ایندول بوتیریک اسید (IBA) و از گروه سیتوکنین، بنزیل امینو پورین (BAP) در ۱۶ تیمار و ۷ تکرار کشت گردید، سپس نمونه ها از نظر میزان کالوس دهی و تولید ساقه مستقیم مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد بهترین غلظت برای القا کالوس [BAP(0.5) IBA (2)]میلی گرم در لیتر و غلظت [BAP(0.5) IBA(0)] و [BAP (1) IBA(0)] میلی گرم در لیتر بهترین نتیجه برای صفت ساقه-زایی مستقیم بود.

واژگان کلیدی: نارنگی انشو ، تولید کالوس ، تولید جوانه مستقیم ، هورمون اکسین ، هورمون سیتوکنین

مقدمه

مرکبات یکی از مهمترین محصولات کشاورزی درنواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در جهان است که سطح زیر کشت آن در ایران پیوسته در حال گسترش می‌باشد. از آنجایی که بیشتر گونه‌های مرکبات به دلیل جنین‌زایی سوماتیکی، چندجنینی هستند ریزازدیادی و باززایی آنها بسیار حایز اهمیت می‌باشد. ریزازدیادی از طریق کشت بافت از جمله روش‌های غیرجنسی مهم برای تکثیر سریع گیاهان بشمار می‌آید همچنین تکثیر مرکبات از طریق روش‌های مرسوم سنتی زمان‌بر بوده لذا در سال‌های اخیر روش‌های باززایی مرکبات به روش کشت بافت گسترش زیادی یافته است(Carim,2005)

نارنگی انشو یکی از مهمترین گونه‌های اقتصادی مرکبات می‌باشد که با تحمل دمای ۱۳- درجه سانتی‌گراد از جمله گونه‌های مقاوم به سرما بشمار می‌رود (قزوینی و فتاحی‌مقدم، ۱۳۸۹). بنابراین با توجه به پر محصول بودن این گونه در این پژوهش به بررسی تاثیر اکسین و سیتوکنین بر روی اندام‌زایی نارنگی انشو در شرایط درون شیشه برای دستیابی به بهترین غلظت ترکیب هورمونی پرداختیم

روش تحقیق:

سرشاخه‌های ۲ – ۳ سانتیمتری حاوی گره جانبی از درختان ۳۰ ساله موجود در باغات مهدشت ساری واقع در استان مازندران جمع آوری شد و به آزمایشگاه کشت بافت اتحادیه باغداران استان مازندران منتقل گردید. پس از طی مراحل گندزدایی با الکل اتیلیک ۸۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و سپس کلریدجیوه ۰/۱٪ به مدت ۵ دقیقه و در نهایت ۱۰ دقیقه درون وایتکس ۲٪ ضدعفونی و سپس درون لوله‌های شیشه‌ای سرسمباده‌ای استریل حاوی محیط کشت پایه MS به تنهایی و MS واجد غلظت‌های مختلف هورمونی اکسین و سیتوکنین انتقال یافت و سپس در اتاقک رشد با حرارت۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰-۷۵٪ نگهداری شد.

ریزنمونه‌های مذکور به صورت افقی درون لوله‌های آزمایش حاوی ۸ گرم در لیتر آگار و ۳ درصد ساکارز همراه با غلظت‌های مختلف (۰و ۰/۵ و ۱ و۲) میلی گرم در لیتر از هورمون‌های BAP , IBA به همراه یک شاهد فاقد هر گونه هورمون در محیط کشت پایه MS با ۷ تکرار در لوله‌های شیشه‌ای سر سمباده‌ای مناسب، کشت شد(جدول۱). در تمام موارد ظروف حاوی محیط‌های کشت به مدت ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۰۵ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد گندزدایی شدند. واکشت ریزنمونه‌ها هر بیست روز صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و آنالیز به روش دانکن با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام شد.

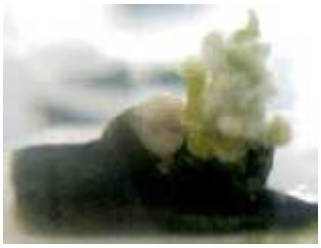
جدول ۱-۱ : تیمارهای هورمونی ترکیبی در محیط کشت

تنظیم کننده‌های رشد(برحسب میلی‌گرم در لیتر)		
اکسین	سیتوکنین	تیمار
IBA	BAP	
۲	۲	۱
۱	۲	۲
۰/۵	۲	۳
۱	۱	۴
۲	۱	۵
۰/۵	۱	۶
۲	۰/۵	۷
۱	۰/۵	۸
۰/۵	۰/۵	۹
۰	۰/۵	۱۰
۰	۱	۱۱
۰	۲	۱۲
۰/۵	۰	۱۳
۱	۰	۱۴
۲	۰	۱۵
۰	۰	۱۶

یافته ها :

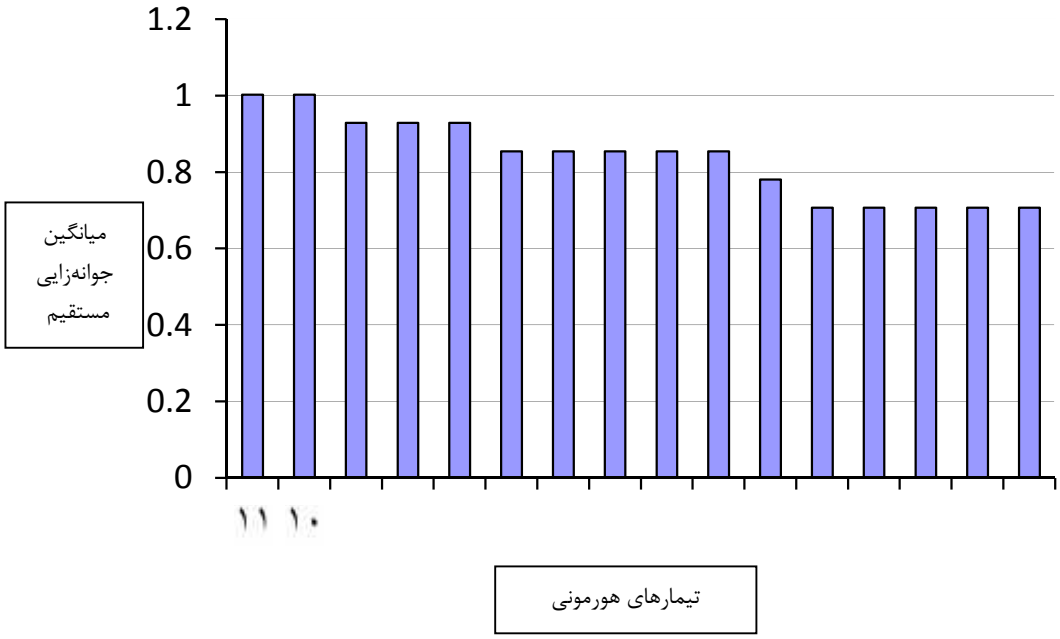
پس از یک ماه از کشت، برخی نمونه‌ها ایجاد کالوس کردند(شکل۱-۱). درصدی از نمونه‌ها با توجه به غلظت هورمونی که در کشت آنها بکار رفته بود بدون القا کالوس به طور مستقیم ایجاد جوانه کردند(شکل۲-۱). بعد از گذشت ۴ ماه از رشد، نمونه‌ها از نظر صفت اندام‌زایی مستقیم و تولید کالوس، با استفاده از روش MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

در خصوص صفت جوانه‌زایی مستقیم گرچه تجزیه واریانس اختلاف معنی داری بین تیمارها نشان نداد ولی غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر از هورمون BAP در ترکیب با غلظت‌های ۰ و ۰ میلی گرم در لیتر از هورمون IBA بالاترین میزان جوانه‌زایی مستقیم را داشته است(نمودار ۱-۱). برای صفت کالوس زایی ترکیب هورمون‌های BAP به غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر و IBA به غلظت ۲ میلی گرم در لیتر در محیط کشت پایه MS بالاترین میزان تشکیل جوانه را داشته است(نمودار ۱-۲).

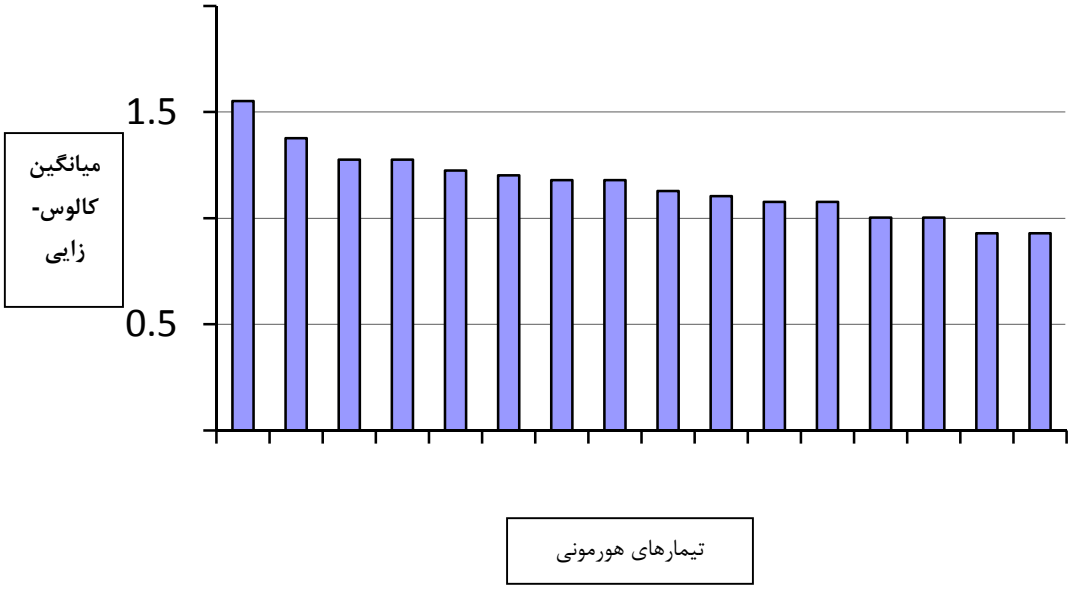


شکل ۱-۱

شکل ۲-۱



نمودار۱-۱: مقایسه میانگین‌های صفت جوانه‌زایی مستقیم در تیمارهای مختلف هورمونی روی محیط کشت MS



نمودار۱-۲: مقایسه میانگین‌های صفت اندام کالوس زایی در تیمارهای مختلف هورمونی روی محیط کشتMS

بحث و نتیجه گیری :

در این پژوهش به منظور ریزازدیادی سرشاخه‌های نارنگی انشو از غلظت‌های مختلف دو هورمون IBA و BAP استفاده شد. در رابطه با القای کالوس بهترین نتیجه حاصل از کشت در تیمار شماره ۷ یعنی ترکیب هورمون‌های BAP به غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر و IBA به غلظت ۲ میلی گرم در لیتر در محیط کشت پایه MS بود که بالاترین میزان تشکیل کالوس را داشته و برترین غلظت هورمونی برای صفت کالوس زایی شناخته شد. بعد از آن ترکیب هورمونی IBA به غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و BAP به غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر با بیست درصد اختلاف نسبت به غلظت اول در رده دوم قرار دارد که این موضوع بیانگر این مطلب است که اکسین و سیتوکنین تواماً برای کالوس‌زایی ضروری‌اند و افزایش سطح اکسین به سیتوکنین عامل موثری در القای کالوس می‌باشد. نتایج ما با نتایج پژوهش (Kochba et al, 1978) که تشکیل کالوس از تخمک را ایجاد کردند و تایید داشتند که اکسین و سیتوکنین تواماً برای کالوس‌زایی ضروری‌اند همسو بوده در این خصوص (Mukhtar et al, 2005) بالاترین درصد کالوس‌زایی را زمانی که قطعه‌های سرشاخه لیمو در محیط MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر 2.4,D به همراه شیر نارگیل بود گزارش کردند در صورتی که (Haoa et al, 2004) افزایش کالوس‌زایی را در افزایش سطح اکسین NAA و 2.4,D در محیط کشت بدون حضور سیتوکنین گزارش کردند.

پیشنهادات:

۱- بررسی اثر، دیگر ترکیبات هورمونی بر روی القای کالوس
۲- بررسی اثر، دیگر ترکیبات هورمونی بر روی تولید جوانه مستقیم
۳- بررسی غلظت های دیگر هورمونی بر روی تولید جوانه مستقیم

منابع

۱) فتوحی‌قزوینی، ر.، و ج. فتاحی‌مقدم. ۱۳۸۹. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان.

2) Carimi F 2005. Somatic Embryogenesis Protocol: *Citrus* . Jain Sm And Gupta Pk (Eds) Protocol For Somatic Embryogenesis In Woody Plants. Springer 321-343

3) Mukhtar, R., Mumtaz Khan, M., Rafiq, R., Shahid A., And Ahmad Khan F. (2005). *In Vitro* Regeneration And Somatic Embryogenesis In (*Citrus aurantifolia* And *Citrus sinensis*). *Int. J. Agri. Biol.,* Vol. 7, No. 3

4) Haoa YJ, Wen XP, Deng XX (2004). Genetic And Epigenetic Evaluations Of Citrus Calluses Recovered From Slow Growth Culture. J. Plant Physiol. 161: 479–484.

5) Kochba, J., And Spiegel-Roy, P., Neumann, H., And Saad, S. (1978). Stimulation Of Embryogenesis In Citrus Ovular Callus By ABA, Ethephon, CCC And Alar And Its Suppression By GA_3. Z. Pflanzen Physiol. 89:427-432.