بررسی کالوس زایی و باززایی در خربزه (*Cucumis melo* L.) رقم ایوانکی

سیده مهدیه کبیرهاشمی[1] ،علیرضا قنبری[2]*، عبدالکریم کاشی[1] ، یاور شرفی[2]

1: دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

2: استادیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد-تهران

ghanbari66@yahoo.com

چکیده

برای کالوس‌زایی و باززایی خربزه رقم ایوانکی، ریزنمونه‌هایی از لپه‌ها و کالوس‌های حاصل از لپه‌ها در محیط MS با ترکیب مختلفی از سه غلظت IAA و سه غلظت BA کشت شد. آزمایش در قالب فاکتوریل در پایه‌های طرح کاملا تصادفی انجام و تجزیه داده‌ها با MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه ای دانکن صورت گرفت. برای کالوس‌زایی یک ماه پس از کشت لپه‌ها، مقادیر کالوس‌های تولید شده وزن شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح IAA در سطح 5٪ و غلظت‌های BA و اثر متقابل IAA در BA در سطح 1٪ تفاوت معنی‌دار داشتند. ترکیب‌های با غلظت فقط 1mg/l BA و همچنین 0/5 mg/l BA + 0/5 mg/l IAA به ترتیب با میانگین 2/22 و 2/01 گرم کالوس در هر ریزنمونه بیشترین کالوس را تولید کردند. محیط هایی که در آنها غلظت IAA از BA بیشتر بود ریزنمونه‌ها اغلب بجای تولید کالوس، مستقیما تولید ریشه کردند. برای باززایی حدود یک گرم از کالوس‌های مورفوژن به محیط‌های مختلف انتقال و پس از دو ماه درصد باززایی مشخص شد. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف IAA ، BA و اثرمتقابل IAA در BA اختلاف معنی‌داری در سطح 1٪ داشتند. ترکیب‌های هورمونی با غلظت 0/5 mg/l BA + 0/05 mg/l IAA با میانگین84/67 ٪ وmg/l BA 1 با میانگین 72/61٪ بیشترین باززایی را داشتند.

واژگان کلیدی: خربزه (*Cucumis melo* L.) ، باززایی، کالوس مورفوژن، IAA، BA

مقدمه

خربزه یکی از مهمترین محصول اقتصادی خانواده کدوئیان است که به بیماریهای ویروسی، باکتریایی و قارچی حساسیت دارد. مهمترین مشکل برای تولید ملون‌ها در بسیاری از کشورها، آلودگی های ویروسی می‌باشد، و شته خربزه یکی از ناقل‌های مهمی است که بیشترین نقش را در انتقال و پخش ویروس‌های کدوئیان دارد (6). بنابراین تکنیک‌های بیوتکنولوژی(کشت‌بافت و مهندسی‌ژن) برای انتقال ژنهای مقاوم به ویروس‌ها در خربزه از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. فرآیند انتقال ژن در گیاهان به مسیر باززایی از بافت‌های مختلف، چه باززایی با روش تولید کالوس یا روش مستقیم از بافت کشت شده یا باززایی جانبی، بستگی دارد. اصلاح ژنتیکی از طریق کشت بافت و بیوتکنولوژی پتانسیل روش‌های بهبود و تولید

میوه‌هایی با کیفیت بالا، باززایی واریانت‌های سوماکلونال برای بهبود مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی و تنش‌های زیستی را دارد. در خربزه شاخساره‌ها در شرایط درون شیشه‌ای بطور مستقیم از کوتیلدون‌ها (3 و 8) و یا بطور غیر مستقیم از طریق کالوس‌های حاصل از کوتیلدون‌ها (1، 6، 7 و 9) بدست آمدند. همچنین ریخت‌زایی درون شیشه‌ای از قطعات کوتیلدونی و برگی در محیط‌های حاوی سیتوکینین‌ها (1 و4)، یا ترکیبی از سیتوکینین و اکسین (2، 6، 7 و10) درخربزه بدست آمده است. با وجود این همه مطالعه، هنوز در باززایی گیاهان خربزه مشکلاتی هست که اساسا به نوع ژنوتیپ بر می‌گردد. به همین دلیل داشتن اطلاعات در مورد مسیرهای مختلف باززایی در یک رقم حائز اهمیت بوده تا قادر به دستکاری بافت‌های گیاهی برای بدست آوردن واکنش مطلوب در محیط درون شیشه‌ای بود.

مواد و روشها

بذرهای خربزه رقم ایونکی ضدعفونی شده بر روی محیط MS ½ قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی لپه‌ها بعنوان ریزنمونه برای کالوس‌زایی استفاده شدند. ریزنمونه‌ها از لپه‌های گیاهچه‌های 7 تا 10 روزه تهیه شدند و به محیط‌های کالوس‌زایی انتقال یافتند. برای باززایی یک گرم از کالوس‌های مورفوژن به عنوان ریزنمونه استفاده شد. جهت کالوس‌زایی و بارزایی از محیط MS با سه غلظت BA (0/1-0/5 -1 mg/l) و سه غلظت IAA (0-0/05-0/5 mg/l) استفاده شد. کشت‌ها در شرایط طول روز 16 h روشنایی و دمای 25± 2 °C قرار داده شدند. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار استفاده شد. تعداد 2 ریزنمونه از قطعات لپه‌ها برای کالوس‌زایی و 7 ریزنمونه کالوس برای باززایی استفاده گردید. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از برنامه آماری Mstat-C استفاده شد . مقایسه میانگین‌ها و گروه‌بندی آنها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 1٪ و 5٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس کالوس‌زایی نشان داد که برای کالوس‌زایی، غلظت‌های IAA در سطح 5٪ و غلظت‌های BA، و اثر متقابل IAA در BA اختلاف معنی‌داری در سطح 1٪ داشتند. جهت باززایی، همه فاکتورها از جمله غلظت‌های IAA ، غلظت‌های BA و اثر متقابل IAA در BA در سطح 1٪ تفاوت آماری معنی‌داری نشان دادند. استفاده از ترکیب‌های مختلف IAA و BA، درکالوس‌زایی نشان داد که بیشترین مقدار کالوس به ترتیب در غلظت‌های 1 mg/l BA با میانگین 2/22 گرم و (0/5mg/l IAA + 0/5 mg/l BA) با میانگین 2/01 گرم کالوس در هر ریزنمونه تولید شد و کمترین مقدار نیز در ترکیب (0/5mg/l IAA + 0/1 mg/l BA) بدست آمد در این ترکیب مواد تنظیم کننده رشد، ریزنمونه‌ها بدون تولید کالوس مستقیما ریشه‌زایی کردند. بیشترین مقدار باززایی به ترتیب در غلظت‌های(0/05 mg/l IAA + 0/5 mg/l BA) با میانگین 84/67 ٪ و با 1 mg/l BA با میانگین 72/61٪ و کمترین میزان باززایی نیز در ترکیب (0/5IAA mg/l + 0/1 mg/l BA) بدست آمد. پژوهش حاضر نشان داد که ریزنمونه‌های حاصل از کوتیلدون‌های در رقم ایونکی یکی از موثرترین

بخش در تولید کالوس و باززایی آنها می‌باشد. تحقیقات قبلی نیز نشان داده که شاخساره‌های بطور غیر مستقیم از کالوس‌های حاصل از کوتیلدون‌ها (1، 2، 5، 6، 7، 9 و10) بدست آمدند. همچنین نتـایج نشـان داد کـه BA و IAA نقـش مهمـی در تولید کالوس و شاخساره‌های نابجای رقم ایوانکی را دارند. که با بسیاری از نتایج محققین قبلی مطابقت دارد. در این خصـوص ریخت‌زایی خربزه در محیط‌های حاوی سیتوکینین‌ها (1 و 4) و یا ترکیبی از یک سیتوکینین و یـک اکسـین (2، 5، 7 و 10) بدست آمده است.

REFERENCES:

1- Chee, P.P., 1991. Plant regeneration from cotyledons of *Cucumis melo* 'Topmark'. HortScience. 26: 908–910.

2- Curuk, S., Elman, C., Schlarman, E., Sagef, O., Shomer, I., Cetiner, S., Gray, D. J., Gaba, V., 2002. A novel pathway for rapid shoot regeneration from the proximal zone of the hypocotyl of melon *(Cucumis melo* L.*)*. In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant 38: 260–267.

3- Dirks, R., Buggenum, M.V., 1989. In vitro plant regeneration from leaf and cotyledon explants of *Cucumis melo* L.Plant cell repot. Vol.7: 626-627.

4- Kathal, R., Bhatnagar, S.P., Bhojwani, S.S., 1988. Regeneration of plants from leaf explants of *Cucumis melo* cv Pusa . Plant Cell Reports 7: 449–451.

5- Liborio, L.C., Januzzi, B.M., Stefano, S.M.D., Martinelli, A.P., 2001. In vitro morphogenesis of *Cucumis melo* var. inodorus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 65: 81-89.

6- Melara, M.V., Arias, A.M.G., 2009. Effect of BAP and IAA on shoot regeneration in cotyledonary explants of Costa Rican melon genotypes. Agronomia Costarricense. 33(1): 125-131.

7- Moreno, V., Garcia-Sogo, M., Granell, I., Garcia-Sogo, B., Roig, L. A., 1985. Plant regeneration from calli of melon (*Cucumis melo* L. cv. Amarillo Oro). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 5: 139-146.

8- Niedz, R.P., Smith, S.S., Dunbar, K.V., Stephens, C.T., Murakishi, H., 1989. Factors affecting shoot regeneration from cotyledonary explants of *Cucumis melo*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 18: 313–319.

9- Orts, M.C., Garcia-Sogo, B., Roche, M.V., Roig, L.A., Moreno, V., 1987.Morphogenetic response of calli from primary explants of diverse cultivars of melon. HortScience. 22: 666.

10- Stipp, L.C.L., Mendes, B.M.J., Piedade, S.M.D.S., Rodriguez, A.P.M., 2001. In vitro morphogenesis of Cucumis melo var.inodorus. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 65: 81–89.

In vitro callus production and regeneration of melon *(Cucumis melo* L.*)* var.'Eyvanaki'

Kabirhashemi, S.M [1]; Ghanbari, A.*[2] ; Kashi, A.[1] ; Sharafi Y. [2]

1, Dept. of Horticultural science, Agricultural College, Islamic Azad University, Karaj branch.

2, Dept. of Horticultural science, Agricultural college, Shahed University.

Abstract

For callus production and plant regeneration of *Cucumis melo* L. 'Eyvanaki', explants selected from cotyledons and calli derived from cotyledons and has been cultured on MS medium with combination of 3 concentration of IAA and 3 concentration of BA. The lay out experimental was conducted through factorial with randomized complete block design (RCBD) and three replicate and data were analyzed for significance by Duncan's multiple range test. In callus production, amounts of calli has been weighted from each cotyledonary explants after one month. The results showed that the IAA concentration had a significant effect in 5% level and BA and interaction between IAA and BA in 1% level. The maximum callus obtained in only 1mg/l BA and then 0.5 mg/l IAA+ 0.5 mg/l BA with means of respectively 2.22 and 2.02 gr callus in each explants. When IAA concentrations were more than BA, the explants has been produced roots. For plant regeneration about of 1 grams of morphogen calli transferred on different media and recorded regeneration percent after two months. The results showed that the IAA and BA concentration and interaction between them had a significant effect in 1% level. The maximum regenerations obtained with 0.05 mg/l IAA+ 0.5 mg/l BA and then with 1 mg/l BA with means of 84.67 and 72.61 percent respectively.

Keyword: melon *(Cucumis melo* L.*)*, regeneration, morphogen callus, IAA, BA