اندام‌زایی از کالوس حاصل از ریزنمونه محور زیرلپه دانهال آفتابگردان زینتی (*Helianthus annuus* L.)

مرضیه جعفری[1*] و محمد حسین دانشور[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان. ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان.

*نویسنده مسئول: jaafari.marziye2010@gmail.com

چکیده

گیاه آفتابگردان زینتی با نام علمی *Helianthus annuus* L. گیاهی یکساله و مقاوم به سرما است که گل آن با رنگ زرد شناخته شده است. در سال‌های اخیر، به منظور تکثیر انبوه آفتابگردان زینتی، روش‌های پیشرفته کشت بافت جایگزین روش سنتی تکثیر از طریق بذر شده است. بیشترین درصد باززایی (۹۳٪)، بیشترین تعداد شاخساره (۶/۶۶) و همچنین بلندترین طول شاخساره (۱/۸۶ سانتی‌متر) در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: آفتابگردان زینتی، باززایی، شاخساره.

مقدمه

گیاه آفتابگردان زینتی با نام علمی *Helianthus annuus* L. از تیره Asteraceae می‌باشد که با بیش از ۲۰۰۰۰ گونه با پراکنش جهانی، یکی از بزرگ‌ترین تیره‌های گیاهی است (Kotilainen et al., 1999). گیاهان این تیره توزیع جهانی داشته و در مناطق معتدله و حاره‌ای پراکنده هستند. گل آفتابگردان زینتی، از نظر صنعتی، زینتی و دارویی حائز اهمیت است. این گیاه بومی غرب امریکا است که برای اولین بار در اروپا به عنوان یک گیاه زینتی معرفی شده است. در اوایل سال ۱۹۹۰ میلادی نیز به عنوان یک گل‌بریدنی محبوبیت فراوانی یافت (Parmeshwar et al., 2012). در طب سنتی بومیان کالیفرنیا از عصاره گل آفتابگردان زینتی در تسکین دردهای قفسه سینه و بهبود سریع عفونت استفاده کرده‌اند (Heiser, 1978). جوانه گل پخته شده آن دارای بسیاری از خواص دارویی بوده و دانه آن می‌تواند به عنوان جایگزین قهوه استفاده شود (Wilson, 1917). فرانسیکو هرناندز کاشف اسپانیایی از گل آفتابگردان زینتی با نام داروی مقوی غرایز جنسی یاد کرده است (Strike, 1994). برگ آن در درمان کلیه، عصاره ریشه آن برای کاهش روماتیسم و همچنین دانه ساییده شده آن برای حذف زگیل نیز کاربرد دارد (Gilmore, 1977). این گیاه مقاوم به گرما و کم‌آبی بوده و از آن به عنوان یک گیاه زینتی در حاشیه، گلدان و نیز به عنوان گل بریدنی استفاده می‌شود (Aisyah et al., 2014).

توسعه روش‌های نوین از جمله کشت بافت گیاهی در سال‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی را در زمینه کشاورزی موجب شده است. روش‌های متداول اصلاح نباتات (تلاقی و انتخاب) با بسیاری از مشکلات و موانع مواجه است، به کارگیری روش‌های نوین کشت بافت به عنوان مکمل روش‌های مرسوم در این راستا نوید بخش می‌باشد، به گونه‌ای که امروزه علاقمندی به تکنیک‌های کشت بافت و توانایی آن در اصلاح و بهبود گیاهان به صورت یک موضوع جهانی در آمده است (کرمی، ۱۳۸۳). از آن‌جا که استفاده گسترده از گیاهان دارویی موجود در رویشگاه‌های طبیعی موجب نابودی آن‌ها می‌شود، حفظ ذخایر ژرم پلاسم گیاهان دارویی در معرض انقراض امری ضروری است. تکثیر گیاهان از طریق کشت بافت، یکی از روش‌های حفاظتی موثر برای جلوگیری از نابودی آن‌ها است (مدرس و همکاران، ۱۳۹۱).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۹۴-۱۳۹۳ بر روی گیاه آفتابگردان زینتی در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام گردید. بذرها پس از ۳۰ دقیقه شست و شو با آب جاری، به مدت ۶۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰٪ و ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ ضد عفونی شدند. پس از ۳ بار شست و شو با آب مقطر استریل به محیط کشت MS

(Murashige and Skoog, 1962) با pH برابر ۵/۸ ، ساکارز ۳٪ و آگار ۰/۶٪ منتقل شدند. کلیه مواد، ظروف و محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. بذرها برای جوانه‌زنی به محیط کشت MS تمام غلظت منتقل شدند و در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۱۲۰۰-۱۰۰۰ لوکس و دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. به منظور تولید کالوس از ریزنمونه محور زیر لپه (هیپوکوتیل) گیاهک تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. پس از تولید کالوس در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی گرم در لیتر 2,4-D همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP، کالوس‌ها به محیط کشت اندام‌زایی MS همراه با انواع تنظیم کننده‌های رشد گیاهی منتقل شدند. در این پژوهش آزمایش اندام‌زایی در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ گیاهک) بر روی شاخص‌های درصد باززایی، تعداد و طول شاخساره مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS(۹/۳) تجزیه و تحلیل شد و نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم افزار Excel (۲۰۱۳) رسم گردید. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج اثر محیط‌های کشت مختلف اندام‌زایی پس از ۷ هفته بر درصد باززایی نشان داد، بیشترین درصد باززایی با میانگین ۹۳/۳۳ درصد در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت. کم‌ترین درصد باززایی با میانگین صفر درصد مربوط به محیط کشت شاهد بود. بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ۶/۶۶ عدد در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت. کم‌ترین تعداد شاخساره با میانگین صفر عدد مربوط به محیط کشت شاهد بود و همچنین بیشترین طول شاخساره با میانگین ۱/۸۶ سانتی‌متر در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید که از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵٪ با سایر محیط‌های کشت تفاوت معنی‌دار داشت. کم‌ترین طول شاخساره با میانگین صفر سانتی‌متر مربوط به محیط کشت شاهد بود (جدول ۱).

جدول ۱- اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر اندام‌زایی از کالوس حاصل از ریزنمونه محور زیر لپه

تیمار	درصد ریزنمونه‌هایی که تشکیل شاخساره داده‌اند	تعداد شاخساره در هر ریز نمونه	طول شاخساره
محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد (شاهد)	۰/۰۰ f	۰/۰۰ d	۰/۰۰ f
0.5 mg/l BAP + 0.05mg/l IBA	۶۶/۶۶ b	۴/۳۳ b	۱/۶۰ b
1.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA	۹۳/۳۳ a	۶/۶۶ a	۱/۸۶ a
2.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l IBA	۵۳/۳۳ c	۴/۳۳ b	۱/۴۶ c
1.0 mg/l KIN + 0.1 mg/l IBA	۴۳/۳۳ cd	۲/۶۶ c	۱/۳۳ d
2.0 mg/l KIN + 0.2 mg/l IBA	۳۳/۳۳ de	۳/۰۰ c	۱/۲۳ d
1.0 +2.0 mg/l KIN + 0.3 mg/l IBA mg/l BAP	۲۶/۶۶ e	۲/۳۳ c	۱/۱۰ e

بر اساس آزمون مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵٪ میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشند و میانگین‌های داری حروف مشابه معنی‌دار نمی‌باشند.

اندام‌زایی در آفتابگردان به شدت تحت تاثیر مرحله رشد ریزنمونه قرار می‌گیرد (Deglene et al., 1997). زو و همکاران[1] (۲۰۰۳) با استفاده از قطعات لپه به عنوان ریزنمونه به ازدیاد گل آفتابگردان در شرایط درون شیشه‌ای پرداختند. آن‌ها گزارش دادند که بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA پس بدست آمد.

الواژاگان و همکاران[2] (۲۰۰۹) با استفاده از غلظت‌های مختلف BAP به اندام‌زایی غیرمستقیم گل آفتابگردان پرداختند. آنها گزارش کردند مناسب‌ترین تیمار جهت القای شاخساره از کالوس مشتق شده از ریزنمونه لپه در محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلیگرم در لیتر IBA پس از ۳۰-۲۱ روز بدست آمد. سیتوکینین‌ها نقش اساسی در تقسیم سلولی داشته و باعث رفع غالبیت انتهایی، القا و رشد شاخساره می‌گردد. بر اساس برخی گزارش‌ها BAP به عنوان مناسب‌ترین سایتوکینین مورد استفاده در شاخه‌زایی بسیاری از گیاهان معرفی شده است (پیریک، ۱۹۷۶). نوع و غلظت سایتوکینین‌ها فاکتور مهمی در موفقیت اندام‌زایی درون شیشه‌ای است (Grattapaglia and Machado, 1998).

منابع

۱. پیریک، آر. ال. ام. ۱۹۷۶. مبانی کشت بافت‌های گیاهی، (مترجمین: باقری، ع. ر. و صفاری، م. ۱۳۸۴)، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صص ۱۷۰-۱۶۳.

۲. کرمی، الف. ۱۳۸۳. جنین زایی سوماتیکی میخک.پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه همدان. ۱۰۲ صفحه.

مدرس، م.، لاهوتی، م.، گنجعلی، ع. و اصیلی، ج. ۱۳۹۱. مطالعه ریزازدیادی گیاه نوروزک *Salvia leriifoli* با استفاده از کشت جوانه انتهایی. زیست شناسی گیاهی، ۱۴: ۱۰۰-۸۹.

3. Aisyah, S.I. 2014. Evaluation of Commercial Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Cultivars in Bogor, Indonesia for Ornamental and Nursery Production. Journal of Tropical Crop Science, 1:1-6.
4. Deglene, L., Lesignes, P., Alibert, G. and Sarrafi, A. 1997. Genetic control of organogenesis in cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus*). Plant Cell Tissue Organ Cult. 48: 127-130.
5. Elavazhagan, T., Jayakumar, S., Chitravadivu, C., and Balakrishnan, V. 2009. *In vitro* Culture and Cytological Studies on *Helianthus annus* L. Bot. Res. Int, 2, 258-262.
6. Gilmore, M.R. 1977. Uses of plants by the Indians of the Missouri River region. Lincoln: University of Nebraska Press. Reprint of a work first published as the 33rd Annual Report of the Bureau of American Ethnology. Washington, D.C.
7. Grattapaglia, D. and Machado, M. A. 1998. Micropropagation. In: Cultura de Tecidos e Transformacao Genetica de Plantas. Embrapa-cnph, Brasilia, 183-247
8. Heiser, C.B. 1978. Taxonomy of Helianthus and origin of domesticated sunflower. In: Sunflower Science and Technology. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, USA.pp 31-53.
9. Kotilainen, M., Helariutta, Y. and Mehto, M. 1999. GEG participates in the regulation of cell and organ shape during corolla and carpel development in Gerbera hybrida. Plant Cell 11 (6): 1093-1104.
10. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiological Plant. 15: 473- 497.
11. Parmeshwar, A.S., Kumar, D.R. and Shadakshari, Y. G. 2012. Evaluation of sunflower germplasm for ornamental cut flower production (*Helianthus annuus* L.). Asian Journal of Horticulture, 7(1), 85-88.
12. Strike, S.S. 1994. Ethnobotany of the California Indians. Volume 2. Aboriginal Uses of California.s Indigenous Plants. Kowltz Scientific Books. USA-Germany. 210 pp.
13. Wilson, G.L. 1987. Buffalo Bird Woman's garden. Agriculture of the Hidatsa Indians. Minnesota Historical Society Press, St. Paul, Minnesota. 129 pp.
14. Xu, P., Wu, X., Hu, B., Zhu, W. and Wang, X. 2003. A shoot regeneration system from cotyledon of *Helianthus annuus* L. Chinese journal of oil crop sciences, 26(4), 16-19.

[1] Xu *et al*.
[2] Elavazhagan *et al.*

Organogenesis from callus via hypocotyl explant from seedling of ornamental Sunflower (*Helianthus annuus* L.)

M. Jafari[1*] and M. H. Daneshvar[2]

1- M.Sc. of Horticultural Science, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Khoozestan. 2- Professor, Dep. of Horticulture Science, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Khoozestan.

*Corresponding author: jaafari.marziye2010@gmail.com

Abstract

Ornamental sunflower (*Helianthus annuus* L.) resistant to cold, which is an annual plant with yellow flower. Now a days, in order to mass propagation of sunflower, the techniques of plant tissue culture has been replaced by conventional methods which is propagation true seed. The highest regeneration frequency (93.33 %) followed by maximum number of multiple shoots (6.66) as well as length (1.86 cm) were obtained on MS medium supplemented with 1.0 mg/l BAP along with 0.1 mg/l IBA.

Key words: Multiple shoots, Regeneration, Sunflower.