القاء پلی پلوئیدی درون شیشه‌ای در گیاه گلدانی ژربرارقمMini Red

سینا خلیلی[۱]، مصطفی عرب*[۲]، مریم نوروزی[۲]، محمود امیری[۳]
[۱] دانش آموخته مقطع کارشناسی ارشد علوم باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران
[۲] استادیار گروه باغبانی، پردیس ابوریحان ، دانشگاه تهران
[۳] مدیر جهاد کشاورزی شهرستان پاکدشت
نویسنده مسئول: mosarab@ut.ac.ir

چکیده

این پژوهش به‌منظور، بررسی القای پلی‌پلوئیدی درون شیشه‌ای به کمک مهارکننده میتوزی کلشی سین در گیاه گلدانی ژربرا *G.jamesonii* cv. *Mini Red* انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش سطح کلشی سین با غلظت‌های۰/۰۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی به حجمی و در سه بازه زمانی ۲، ۴ و ۸ ساعته به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی موردبررسی قرار گرفت. مؤثرترین تیمار القاء پلی‌پلوئیدی با غلظت ۰/۲ درصد وزنی به حجمی کلشی سین و مدت‌زمان ۲ ساعت و با نرخ القاء ۵۳/۳ درصد بدست آمد. گیاهان شاهد، به‌عنوان گیاهان دیپلوئید عدد کروموزومی برابر2n= 2x= 50 را نشان دادند درحالی‌که گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۲ درصد وزنی به حجمی و زمان ۲ ساعت کلشی سین، دارای سلول‌هایی با تعداد کروموزوم دو برابر شده (2n=4x=100) بودند که به‌عنوان گیاهان تتراپلوئید معرفی شدند.

کلمات کلیدی: **درون شیشه‌ای، القاء پلی‌پلوئیدی، کلشی سین، شمارش کروموزومی**

مقدمه

ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii* بومی جنوب و شرق آفریقا و جنوب آمریکا و از خانواده Asteraceae است (Dole and Wilkins, 2005). ژربرا به‌صورت گل گلدانی، شاخه بریده و بعضاً در فضای باز به‌عنوان گیاه زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Parthasarathy and Nagaraju, 1999). تنوع در صفاتی همچون رنگ، ساختار و شکل گل و گیاه، عطر گل، ماندگاری پس از برداشت و مقاومت به بیماری‌ها و آفات از مهم‌ترین اهداف اصلاحی گیاهان زینتی می‌باشند. دراین‌بین پلی‌پلوئیدی به‌عنوان یکی از ابزارهای اصلاح گیاهان زینتی معمولاً منجر به ایجاد گیاهان درشت‌تر، با برگ‌های ضخیم و تیره‌تر خواهد شد (Schepper et al., 2001). به‌عنوان یک بازدارنده طبیعی میتوزی و ترکیب دپلیمریزه کننده میکروتول‌ها باعث تخریب رشته‌های دوکی‌شکل شده و چرخه تقسیم سلولی را در مرحله متافاز میتوزی متوقف می‌کند در نتیجه کروموزوم‌های دو برابر شده درون یک هسته باقی می‌مانند (Caperta et al., 2006). پژوهش حاضر با هدف بررسی امکان القاء پلی پلوئیدی و تولید گیاهان پلی‌پلوئید ژربرا در شرایط درون شیشه‌ای با استفاده از کلشی سین انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران به اجرا درآمد. در این پژوهش جوانه انتهایی رقم مینی رد ژربرا از گلخانه‌ای در شهر پاکدشت تهیه و جهت کشت به آزمایشگاه کشت بافت پردیس ابوریحان منتقل شدند. و پس از شستشو به مدت ۱۵ ثانیه در الکل ۷۰٪ و هیپوکلریت سدیم ۱/۵٪ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس ریز نمونه‌ها به محیط کشت پرآوری شاخساره حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر

بنزیل آمینوپورین، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۸ گرم در لیتر آگار منتقل شدند. جهت القاء پلی‌پلوئیدی، جوانه انتهایی در غلظت‌های مختلف کلشی سین ۰/۰۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد (وزنی به حجمی) به مدت ۲، ۴ و ۸ ساعت به روش غوطه‌وری استفاده شد. سپس از روش شمارش کروموزوم نمونه‌های نوک ریشه و بررسی روزنه‌های گیاهچه های زنده مانده برای تعیین سطح پلوئیدی استفاده شد (Singh, 1993). بررسی مورفولوژیکی روزنه‌ها توسط ارزیابی میکروسکوپی ویژگی‌های سلول‌های روزنه شامل اندازه طول، عرض و تراکم روزنه‌ها در سطح اپیدرم تحتانی برگ و با استفاده از تکنیک نیل- وارنیش (Väinölä, 2000) از اپیدرم زیرین برگ بالغ و توسعه‌یافته نمونه‌برداری صورت گرفت. ریز نمونه‌های تیمار شده از نظر طول و تعداد شاخساره جانبی، طول و تعداد ریشه، تعداد روز تا ریشه‌دهی، سطح برگ (با کاغذ میلی‌متری)، شکل پهنک و حاشیه برگ چهار هفته پس از واکشت با گیاهان شاهد موردبررسی قرار گرفتند . طرح آماری مورد استفاده به‌صورت آزمون فاکتوریل با دو فاکتور غلظت کلشی سین و زمان تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار ۴ ریزنمونه) انجام شد. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS (SAS9.1, 2004) صورت گرفت و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. برای مقایسه وجود اختلاف معنی‌دار اندازه طول و عرض سلول‌های روزنه در گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید از آزمون t استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر متقابل غلظت ماده کلشی‌سین و زمان تیمار با این ماده در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. با افزایش غلظت کلشی‌سین و طولانی کردن مدت تیمار آن به‌طور مشخصی درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها کاهش یافت. بیشترین درصد زنده‌مانی در تیمار شاهد و تیمار کلشی سین با غلظت‌های ۰/۰۰ و ۰/۰۵ درصد وزنی به حجمی کلشی سین در تمام سطوح زمانی و نیز تیمار ۰/۱ درصد وزنی به حجمی کلشی سین در مدت‌زمان ۲ ساعت بود(۱۰۰درصد)و کمترین درصد زنده‌مانی در تیمار ۱٪ وزنی-حجمی کلشی سین در تمام سطوح زمانی و نیز تیمار ۰/۵ درصد وزنی به حجمی کلشی سین به مدت ۸ ساعت (۰ درصد) مشاهده شد. کاربرد کلشی سین با غلظت ۰/۲ درصد وزنی به حجمی در زمان ۲ ساعت بیشترین تأثیر را در افزایش ارتفاع گیاهچه (۷/۲۵ سانتی‌متر) و کاهش تعداد شاخساره (متوسط ۱۲/۰۲ برگ در هر گیاهچه) در ژربرا داشت و نیز کارآمدترین تیمار بر افزایش طول ریشه ژربرا (۶ سانتی‌متر) داشت و در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد که کاربرد کلشی سین با غلظت ۰/۵ درصد وزنی به حجمی در زمان ۲ ساعت بیشترین تأثیر را بر افزایش تعداد روز تا ریشه‌دهی (۱۳/۶۳روز) داشت. میانگین طول و عرض روزنه‌ها در نمونه‌های دیپلوئید به ترتیب برابر با ۲۶/۹۱و ۲۵/۰۷ میکرومتر و در نمونه‌های تتراپلوئید ۳۲/۷۲ و ۲۷/۴۲ میکرومتر می‌باشد. همچنین میانگین تراکم روزنه در نمونه‌های دیپلوئید برابر با ۲۳/۱۰ عدد در میلی‌متر مربع و در نمونه‌های تتراپلوئید برابر با ۱۲/۸۹ عدد در یک میلی‌متر مربع بود. همچنین با بررسی تعداد کروموزوم در گیاهان تیمار شده مشخص شد که تنها، غلظت۰/۲درصد وزنی به حجمی و زمان ۲ ساعت، دارای سلول‌هایی با تعداد کروموزوم دو برابر شده (2n=4x=100) بودند که با نرخ القاء ۳۳درصد به‌عنوان گیاهان تتراپلوئید معرفی شدند و در سایر تیمارها القای پلی پلوئیدی صورت نگرفت. گیاهان تیمار شده با کلشی سین در مقایسه با گیاهان دیپلوئید یا شاهد دارای سطح برگ بزرگ‌تر بوده و همچنین تغییراتی را در حاشیه و سطح برگ نشان دادند.همچنین پس از بررسی‌های مرفولوژیکی در گلخانه، اندازه قطر گل و طول و عرض پهنک برگ نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نشان داد. در چنار نیز گیاهان القاء شده دارای برگ‌های بزرگ‌تر، تیره‌تر، ضخیم‌تر و با حاشیه‌های تغییرشکل یافته مشاهده شد (*Liu et al.*, 2007). در ژربرا (Gantait et al., 2011)، آویشن ایرانی (*Tavan et al.*, 2015) و اطلسی(Pitta-Alvarez et al.,2017) مشخص شد که افزایش سطح پلوئیدی باعث کاهش تراکم روزنه‌ها در واحد سطح برگ و افزایش اندازه سلول‌های نگهبان روزنه می‌شود.

منابع

Caperta, A., M. Delgado, F. Ressurreição, A. Meister, R. Jones, W. Viegas, and A. Houben (2006), Colchicine-induced polyploidization depends on tubulin polymerization in c-metaphase cells, Protoplasma, 227(2-4), 147-153.

Dole, J., and H. Wilkins (2005), Floriculture: principles and species. Prentice-Hall, Inc, Upper Saddle River, USA.

Duncan, D. B. (1955), Multiple range and multiple F tests, Biometrics, 11(1), 1-42.

Gantait, S., N. Mandal, S. Bhattacharyya, and P. K. Das (2011), Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicine treatment of Gerbera jamesonii Bolus cv. Sciella, Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 106(3), 485-493, doi: 10.1007/s11240-011-9947-1.

Liu, G., Z. Li, and M. Bao (2007), Colchicine-induced chromosome doubling in Platanus acerifolia and its effect on plant morphology, Euphytica, 157(1-2), 145-154.

Parthasarathy, V., and V. Nagaraju (1999), In-vitro propagation in Gerbera jamesonii Bolus, Indian journal of horticulture, 56(1), 82-85.

Pitta-Alvarez S. I. ,J. J. Regalado , · E. Carmona-Martín , V. Querol , C. G. Velézl , C. L. Encina (2017) Production of compact petunias through polyploidization . Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 128(1),11Pp.

SAS9.1 (2004), SAS/GRAPH 9.1 Reference, SAS Institute.

Schepper, S. d., L. Leus, M. Mertens, P. Debergh, E. v. Bockstaele, and M. d. Loose (2001), Somatic polyploidy and its consequences for flower coloration and flower morphology in azalea, Plant cell reports, 20(7), 583-590.

Singh, R. (1993), Plant Cytogenetics CRC Press, Inc Boca Raton, Florida, USA.

Tavan, M., M. H. Mirjalili, and G. Karimzadeh (2015), In vitro polyploidy induction: changes in morphological, anatomical and phytochemical characteristics of Thymus persicus (Lamiaceae), Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 122(3), 573-583.

Väinölä, A. (2000), Polyploidization and early screening of Rhododendron hybrids, Euphytica, 112(3), 239-244.

In Vitro Polyploidy Induction in Potted Gerbera Jamesonii Bolus Cv. Mini Red

Sina khalili [1], Mustafa Arab *[2], Maryam Norouzi [2], Mahmood Amiri [4]
[1]Graduated Student of Horticultural Sciences, Collage of Aburaihan,University of Tehran
[2] Assistant professors of Department of Horticulture, Collage of Aburaihan,University of Tehran
[3] Head of Jahad e keshavarzi , Pakdasht, Tehran
*Corresponding Author: mosarab@ut.ac.ir

Abstract

The present study aimed to verify the effects of induced polyploidization on Gerbera jamesonii. *G. jamesonii*, an ornamental pot plant with multiple uses, occurs throughout South Africa and as far Asia. In vitro-induced polyploidy of *G.jamesonii* cv. *Mini Red* was carried out by treating bud immersed in colchicine (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 and 1 %) for 2-4 and 8 h. Ploidy levels of regenerates were determined by chromosome counting at the metaphase, stomatal analysis, and morphological characters. The most efficient conditions for inducing polyploidy were the treatment with 0.2 % colchicine for 2 h. The diploid plant chromosome number was 50 (2n=2x=50) and that of tetraploid plants was 100 (2n=4x=100). Tetraploids differed from diploids, showing lower Shoot and root number, longer root length, broader leaf length and leaf width, longer in days to root induction as well as wider stomata and reduced stomatal density on the abaxial leaf surfaces. More than that ex-vitro tetraploid plants developed larger height, longer stalks, longer in days to flowering , broader leaf length and leaf width and lower Shoot.

Keywords: Colchicine, chromosome doubling, In vitro , Polyploidy induction