اثرات نفتالین اسید استیک و 6- (دی متیل آلیل آمینو) پورین بر تولید سوخچه دو توده محلی لاله واژگون (*Fritillaria imperialis* L.)

محمد کارگر [1]، سعداله علیزاده [2]، محمدرضا دادپور [2]

1- دانشجوی کارشناس ارشد. 2- عضو هیئت علمی گروه علوم باغبانی دانشگاه تبریز.

چکیده

به منظور بررسی اثرات نفتالین اسید استیک و 6- (دی متیل آلیل آمینو) پورین بر تولید سوخچه دو توده محلی لاله واژگون آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار صورت پذیرفت. از فلس تازه توسعه یافته به عنوان ریز نمونه استفاده شد. نفتالین اسید استیک و 6- (دی متیل آلیل آمینو) پورین هر کدام به ترتیب در غلظت‌های 0، 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر و 0/5، 1 و 2 میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت موراشی و اسکوگ (MS) دارای 8 گرم در لیتر آگار و 45 گرم در لیتر ساکارز مورد استفاده قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS تجزیه و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. نتایج پژوهش نشان داد که تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با 1 میلی‌گرم در لیتر 2iP بالاترین میزان تولید سوخچه را در بر داشته است. توده جمع آوری شده از منطقه کوهرنگ از توانایی پرآوری بالاتری نسبت به توده مربوط به منطقه دشت ارژن فارس برخوردار بود.

واژگان کلیدی : لاله واژگون، نفتالین اسید استیک، 6- (دی متیل آلیل آمینو) پورین.

مقدمه

لاله واژگون (Fritillaria imperialis L.) یکی از گیاهان زینتی و دارویی بومی ایران است. این ذخیره ژنتیکی ارزشمند در سال‌های اخیر به علت تخریب مراتع، چرای بی‌رویه و طغیان آفات به شدت در حال انقراض است. تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که روش‌های تکثیر سنتی مانند فلس‌برداری و تقسیم پیاز نمی تواند روش مناسبی برای تکثیر این گیاه باشد. تکنیک کشت بافت پتانسیل بالقوه‌ای در زمینه تکثیر انبوه این گیاه دارد. بنابراین مهمترین مسئله در نجات این گیاه از انقراض و حفظ تنوع ژنتیکی ارزشمند آن، بهینه ساختن روش تکثیر این گیاه در شرایط کشت بافت می‌باشد. در این آزمایش اثرات ترکیبی از تنظیم کننده‌های رشد نفتالین اسید استیک و 6- (دی متیل آلیل آمینو) پورین بر روی تولید سوخچه مورد تحقیق و بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه ریز نمونه : سوخ‌های لاله واژگون از دو منطقه کوهستانی کوهرنگ و دشت ارژن استان فارس جمع آوری شدند. سوخ‌ها ابتدا با آب جاری شسته و خشک شدند، سپس برای جلوگیری از رشد قارچ به مدت 30 ثانیه در اتانول 70 درصد و 5 دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد (حجمی به حجمی) ضدعفونی شدند. در نهایت سوخ‌ها 3 بار با آب مقطر شسته شدند و بعد از خشک شدن سطح فلس‌ها در دمای اتاق، در داخل یخچال با دمای 5 درجه سانتی‌گراد به مدت 6 ماه قرار گرفتند. پس از گذراندن این دوره بافت حاصل از رشد مریستم رویشی سوخ توسعه قابل توجهی پیدا کرده و این بافت جدید در محیط کشت به منظور تولید سوخچه مورد استفاده قرار گرفت.

ب) مراحل ضدعفونی ر یزنمونه : قرار دادن سوخ‌ها در الکل 70 درصد به مدت یک دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر استریل. استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد (V/V) (تهیه شده از محلول 5 درصد هیپوکلریت سدیم تجاری) به مدت 15 دقیقه. در نهایت سوخ‌ها با آب مقطر استریل چهار بار و جمعا به مدت 30 دقیقه مورد شستشو قرار گرفتند.

ج) مراحل کشت : سوخ‌های استریل از داخل ظروف مربوطه خارج و به روی کاغذ صافی استریل انتقال داده شدند. فلس‌های خارجی را حذف کرده و از فلس‌های داخلی ریز نمونه‌ها را به قطعات 0/5 x0/5 سانتی‌متر برش می‌دهیم. در هر واحد آزمایشی 5 ریز نمونه قرار داده شد. نمونه‌های کشت شده تحت شرایط روشنایی 16 ساعت نور و 8 ساعت تاریکی در دمای 25 درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

د) محیط کشت : برای همه کشتها از محیط کشت پایه MS با اضافه کردن 4/5 درصد ساکارز و 0/8 درصد آگار استفاده شد و تفاوت بین محیط‌های کشت ناشی از تیمارهای مختلف از تنظیم کننده‌های رشد اکسین و سایتوکینین بود تا اثر این تنظیم کننده ها بر تولید سوخچه مورد بررسی قرار گیرد.

ه) ترکیبات تیماری : از NAA بعنوان اکسین در سه غلظت (0، 0/5 و 1 میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با 2iP بعنوان سایتوکینین در سه غلظت (0/5، 1 و 2 میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد.

و) طرح آزمایش : برای بررسی اثر فاکتورهای مورد مطالعه، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با 4 تکرار و 5 ریزنمونه در هر تکرار استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و مقایسات میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج پژوهش نشان داد که تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با 1 میلی‌گرم در لیتر 2iP نتایج رضایت بخشی داشته و توانستند به طور میانگین تعداد 3/875 سوخچه در هر ریز نمونه تولید کنند. این نتایج با یافته‌های غلامی (86) در زمینه اثر مثبت NAA در KINبر تولید سوخچه همسو می‌باشد. توده جمع آوری شده از منطقه کوهرنگ از توانایی پرآوری بالاتری نسبت به توده مربوط به منطقه دشت ارژن فارس برخوردار بود. تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA در ترکیب با 1 میلی‌گرم در لیتر 2iP به طور معنی‌داری نسبت به دیگر تیمارها میزان تولید سوخچه را افزایش داد.

منابع

ابراهیمی، ا.، ب. قره‌یاضی، م. محمدی ده‌چشمه، آ. ایران نژاد، م. سرداری. 1383. گزارش سالیانه طرح : تهیه پروتکل تکثیر تجاری دو گونه در حال انقراض لاله واژگون از طریق کشت بافت. مؤسسه بیوتکنولوژی کرج.

غلامی، م. 1386. ریزازدیادی توده‌های ایرانی گیاه لاله واژگون. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه بوعلی سینا.

محمدی ده‌چشمه، م. 1384. استفاده از تکنیک کشت بافت در تکثیر گونه‌های در حال انقراض لاله واژگون بومی ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران.

Bajaj, YPS., Furmanowa, M., and Olzowska, O., 1988. Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic plants. In: Bajaj, YPS (ed) Biotechnology in Agriculture and Foresty 4, Medicinal and aromatic plants I (pp 15-18). Springer, Heidelberg.

De Hertogh A. and Lenard M., 1993. The physiology of flower bulbs. Elsevier. P. 718-739.

Gao, S.L., Zhu, D.N., Cai, Z.H., Jiang, Y. and Xu, D.R., 1999. Organ culture of a precious Chinese medicinal plant-fritillaria unibraceata. plant Cell, tissue and Organ Culture. 59:197-201.

Paek K.Y., Murthy, H.N., 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of Fritillaria thunbergii. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 68: 247-252.

Witomska, M and Lukaszewska, A., 1997. Bulbet regeneretion in vitro from different explants of Fritillaria imperialis. Acta Hort, 430: 331-338.

Effects Naphthalene acetic acid and 6-(y,y-DIMETHYLALLYLAMINO)PURINE on production bulblet two locally mass Fritillary (Fritillaria imperialis L.)

Abstract

In order to study the effects of naphthalene acetic acid and 6-(y,y-DIMETHYLALLYLAMINO)PURINE on the locally mass production bulblet two inverted tulips factorial experiment in completely random designed with four replications was conducted. The newly developed scales were used as fine examples. Naphthalene acetic acid and 6-(y,y-DIMETHYLALLYLAMINO)PURINE, each which in concentrations of 0, 0.5 and 1 mg/l and 0.5, 1 and 2 mg/l respectively in culture MS contain 8 grams per liter and 45 g agar L sucrose, were used. Data analyzed using SPSS statistical software and mean were compared with Duncan test. Results showed that 0,5 mg/l NAA in combination with 1 mg/l 2iP treatment bulblet production the highest level. Proliferation ability of mass collected from the region Koohrang was higher than the mass of Arjan dashte of Fars.

Keywords : Fritillary, naphthalene acetic acid, 6-(y,y-DIMETHYLALLYLAMINO)PURINE.