القاء درون شیشه ای پلی پلوئیدی در هندوانه (Citrulus lanatus L.)

سعیده فتحی1*، جمالعلی الفتی2، یوسف حمیداوغلی3، هدایت زکی زاده2
1، 2 و 3- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران و دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان
*مسئول مکاتبات

چکیده

استفاده از هندوانه‌های تریپلوئید به خاطر بدون بذر بودن،کیفیت بالای میوه، مقاومت به بیماری بلاچ و نماتد و همچنین مقاومت به آفتاب سوختگی در بین مصرف‌کنندگان رو به افزایش است. هدف اصلی این تحقیق القاء تتراپلوئیدی در هندوانه به منظور تولید هندوانه بی‌بذر است. بذور جوانه زده دو هندوانه دیپلوئید (چارلستون گری و چارلستون 76) با محلول کلشی‌سین تیمار شدند. تیمار 600 میلی‌گرم در لیتر کلشی‌سین به مدت 12 ساعت منجربه تولید تعداد مناسبی از گیاهان تتراپلوئید در کولتیوارهای چارلستون گری و چارلستون 76 گردید. تعداد کلروپلاستها در سلولهای محافظ روزنه تتراپلوئیدها بطور معنی‌داری بیشتر از دیپلوئیدها بود.

کلمات کلیدی: هندوانه، تتراپلوئید، کلشی‌سین، کلروپلاست، اصلاح

مقدمه

امروزه تولید گیاهان پلی پلوئیدی برای بهبود گیاهان، در برنامه‌های اصلاحی قرار گرفته است از سوی دیگر درخواست جهانی هندوانه بی‌بذر روز به روز در حال افزایش است و لازمه تولید و اصلاح چنین هندوانه‌هایی در اختیار داشتن لاین‌های تتراپلوئید هندوانه است تا به عنوان لاین‌های مادری در تلاقی با لاین‌های دیپلوئید پدری استفاده گردند (پیوست و همکاران، 1388). از این رو اولین گام در راستای نیل به تولید چنین هندوانه‌هایی، بهینه کردن روش مناسب برای القاء تتراپلوئیدی در هندوانه است. تولید هندوانه تتراپلوئید از طریق تیمار جوانه انتهایی و یا بذور جوانه زده با کلشی‌سین (Kihara, 1951) و یا دی‌نیترو آنیلین (ying et al., 1999; Omran, 2003) امکان‌پذیر است. عمران و همکاران (2008) تیمار بذرهای جوانه‌دار شده هندوانه با 12 میلی‌گرم در لیتر دی نیترو آنیلین به مدت 24 ساعت و 400 میلی‌گرم در لیتر کلشی‌سین به مدت 36 ساعت را برای تولید لاین‌های تتراپلوئید هندوانه توصیه نمودند. چاپرا و سامیناتان (1960) تیمار نقطه رویشی با محلول 0/2 درصد کلشی‌سین را توصیه نمودند. محمد و همکاران (2005) بیان نمودند که غلظت و مدت زمان کلشی‌سین برای القاء تتراپلوئیدی در ارقام مختلف متفاوت است و برای هر رقم باید غلظت و مدت زمان مناسب تیمار با کلشی‌سین مشخص شود. رضا و همکاران (2003) بیان نمودند که امکان القاء پلی‌پلوئیدی در هندوانه از طریق تیمار کلشی‌سین قبل از کالوس‌زایی وجود دارد.

مواد و روشها

با توجه به اینکه بذر به عنوان آغاز کننده‌ی چرخه‌ی زندگی یک گیاه در این زمینه بسیار مورد توجه است، لذا چندین نوع آزمایش برای بررسی نحوه‌ی استریل، جوانه زنی و تشخیص بهترین مرحله‌ی تیمار با کلشی سین انجام گردید. برای استریل از دو ماده‌ی ضدعفونی کننده شامل هیپوکلریت سدیم و الکل در غلظت‌ها و درصدهای مختلف استفاده شد تا بهترین ماده گندزدا با غلظت مناسب و بهترین مدت زمان استریل مناسب تشخیص داده شود. سپس برای بررسی شرایط مناسب جوانه‌زنی از ارقام مختلف هندوانه (با پوست و بدون پوست) در محیط های مختلف و روی کاغذ صافی استفاده شد و صفات جوانه زنی بررسی گردید. بذور هندوانه ارقام چارلستون گری و چارلستون 76 در محلول 2/5 درصد NaOCl به همراه یک قطره توئین 20 به مدت 30 دقیقه ضدعفونی و سپس 3 بار با آب دو بار با آب مقطر اتوکلاو شده آبشوئی گردیدند و سپس برای تسهیل جداسازی پوشش بذر 5

ساعت در آب مقطر قرار گرفتند. پس از جداسازی پوشش بذور درون پتری‌های استریل جوانه‌دار شدند. بذور جوانه زده با کلشی-سین (0/6 درصد) به مدت 24 و 12 ساعت تیمار شدند. به هر واحد آزمایشی 100 بذر اختصاص یافت. پس از اعمال تیمارها نمونه-ها به محیط پرآوری انتقال داده شدند. این تیمار سبب می‌شود که گیاهان دیپلوئید، تتراپلوئید و آنئوپلوئید تولید شوند بنابراین در مرحله بعدی با شمارش تعداد کلروپلاست‌های سلول‌های روزنه (Fassuliotis and Nelson, 1992) گیاهان تتراپلوئید شناسایی و انتخاب شدند. تتراپلوئیدها حدوداً 10-14 کلروپلاست در هر سمت سلول محافظ دارند (در کل 20-28 تا)، در حالیکه دیپلوئیدها تنها 5-6 کلروپلاست در هر سمت دارند (10-12 تا در کل). برای بررسی آماری از آزمون t-student استفاده شود و معنی‌داری یا عدم معنی‌داری تعداد کلروپلاستهای نمونه‌ها نسبت به گیاهان شاهد سنجیده شد.

نتایج و بحث

نتایج این بررسی نشان داد که 24 ساعت تیمار بذور حتی در مورد شاهد سبب نابودی همه بذور می‌گردد. با 12 ساعت تیمار امکان رسیدن به گیاهان سالم وجود دارد. در غلظت مورد استفاده یعنی 0/6 درصد کلشی سین در مورد رقم چارلستون گری 80 درصد گیاه سالم به دست آمد که 70 درصد از آنها از نظر تعداد کلروپلاست اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند درحالیکه در رقم چارلستون 76 نیز که 80 درصد گیاه سالم به دست آمد از این میزان گیاه سالم 83/3 درصد از آنها دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد از نظر تعداد کلروپلاست بودند. میانگین تعداد کلروپلاست در گیاهان شاهد 7 عدد بود. همچنین درصد گیاهان سالم به دست آمده از تیمار شاهد 90 درصد بود بنابراین این غلظت از کلشی‌سین سبب افت قابل توجهی در میزان گیاهان به دست آمده نگردید. نتایج اولیه این تحقیق همسو با برخی نتایج محققین دیگر درخصوص امکان تولید هندوانه تتراپلوئید از طریق تیمار بذور جوانه زده با کلشی‌سین است (Kihara, 1951). محمد و همکاران (2005) بیان نمودند که غلظت و مدت زمان کلشی‌سین برای القاء تتراپلوئیدی در ارقام مختلف متفاوت است و برای هر رقم باید غلظت و مدت زمان مناسب تیمار با کلشی‌سین مشخص شود. نتایج اولیه این تحقیق نیز دقیقاً مشخص نمود که این امر صحت دارد و هر رقم نیازمند تیمار خاص خود است و با تکمیل یافته‌های این تحقیق در آینده قادر خواهیم بود روشی اختصاصی برای القاء پلی‌پلوئیدی در این ارقام معرفی نمائیم.

منابع

پیوست، غ.، الفتی چیرانی، ج.ع. خسمخی ثابت، س.ا. 1388. تولید بذر هیبرید سبزیها اصول و روش تولید برای سبزیهای منتخب. انتشارات دانش‌پذیر

Fassuliotis, G., Nelson, B.V. 1992. Regeneration of tetraploid muskmelons from cotyledon and their morphological differences from two diploid muskmelon genotypes .Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 863-866.

Omran. S. A., Guerra-Sarz, J. M., Garrido Gardennas, J. A. 2008. Methodology of tetraploid induction and expression of microsatellite alleles in triploid watermelon. Proceding of the 1xth EUCARPIN meeting on genetics and breeding of cucurbitaceae. Ari France, May 21-24 th.

Chopra, V. L., Swaminathan, M. S. 1960. Induction of polyploidy in watermelon. Proceedings of the indiam Chapro, Swaminathan, 1960. Academy of Sciences-Section- B.

Raza, H.M., Jaskani, J., Mumtaz Kham, M., Malik, T.A. 2003. In vitro induction of polyploids in watermelon and estimation based on DNA content. International journal of Agriculture and biology. 5(3): 298-302.

In vitro induction of polyploidy in watermelon (Citrulus lanatus L.)

Saeedeh Fathi1*, Jamal-Ali Olfati2, Yosef Hamidoghli3, Hedayat Zakizadeh2

1, 2 and 3 M. SC. Student, Assistant professor and associate professore, Horticultural Department, University of Guilan respectively
Corresponding author

Abstract

Triploid watermelons are increasingly becoming popular among consumers. The main objective of this research is to induce tetraploid watermelon for the seed production of seedless watermelon. We treated germinated seeds of two diploid watermelons (Charleston grey and Charleston 76) with a soaking suspension of colchicine. A treatment with 600 mg/l of Colchicin during 12 hours produced the suitable rates of tetraploid in Charleston grey and Charleston 76. The number of chloroplasts per guard cell in tetraploid was significantly higher than diploid.

Keywords: Watermelon,tetraploid, colchicines, chloroplasts, breeding.