اثر محیط های کشت DCR، WPM، WS، MS و MS نیم غلظت بر میزان باززایی شاخساره نیمه خشبی کاج مطبق

مصطفی خوشحال سرمست، حسن صالحی، محمد امین قنبری جهرمی *

دانشجوی دوره دکتری، دانشیار و دانشجوی دوره کارشناسی ارشد بخش علوم باغبانی، مرکز کشت بافت و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

چکیده

هدف کار حاضر یافتن بهترین محیط کشت باززایی درون شیشه ای برای دان نهال های 6 ساله کاج مطبق بود. در این بررسی از پنج محیط کشت DCR، WPM، WS، MS و MS/2 حاوی 0/3 میکرومولار تنظیم کننده رشد بنزیل آدنین استفاده شد. نمونه های با طول به تقریب 10 سانتیمتر از شاخساره عمودگرای نیمه خشبی کاج مطبق گرفته شده و پس از طی مراحل گندزدایی سطحی با اتانول 70% و کلراکس 10% به مدت 10تا 15 دقیقه، به طول یک سانتی متر بریده و در محیط های کشت متفاوت کشت شدند. نتایج بیانگر این است که درصد باززای ریز نمونه ها در محیط کشت WPM نسبت به دیگر محیط ها بهتر بوده و از طرفی بالاترین میانگین تعداد پرآوری در هر ریز نمونه نیز در این تیمار مشاهده شد. به طور کلی درصد بالایی از ریز نمونه ها به دلیل چوبی بودن قادر به باززایی و پرآوری نبوده و تا حدودی در نمونه های چوبی تر شاخساره های باززایی شده ضعیف و بد شکل بودند. داده های این آزمایش پس از گذشت دو زیر کشت جمع آوری شده و نشان می دهد که باززایی در این گیاه به مقدار زیادی تحت تاثیر فصل رشد می باشد. ریز نمونه های باززایی شده در فصل پاییز و زمستان نسبت به ریز نمونه هی باززایی شده در فصول دیگر سال دارای رشد کمتری بودند. بررسی ها برای افزایش درصد ریشه زایی نمونه های پرآوری کرده در شرایط برون شیشه ای در حال انجام است.

مقدمه

برخی از اهداف مهندسی ژنتیک مانند کاهش دوره رشد رویشی درختان تغییر در هورمون های درون زای درختان برای تغییر شکل و اندازه درخت، تغییر در مقدار سلولز و لیگنین و تولید درختان مقاوم به بیماری و آفات تا حدود زیادی با استفاده از روش های کشت بافت و مهندسی ژنتیک به واقعیت پیوسته است.

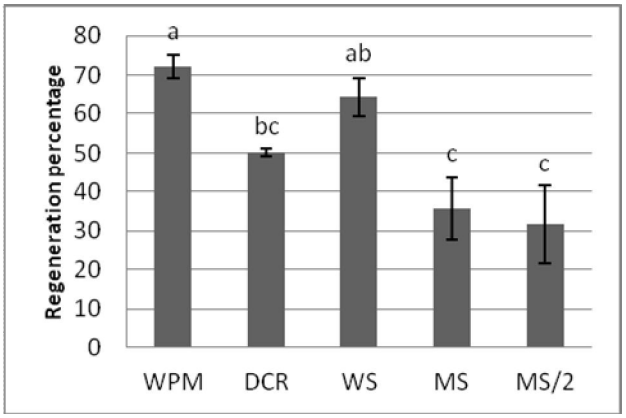
مواد و روش ها

تیمار گندزدایی سطحی ابتدایی شامل قرار دادن ساقه های ضخیم عمود گرا تا 4 ساعت زیر آب جاری، 15 دقیقه در محلول آب و ریکا (پنج قطره برای 0/5 لیتر) و50 تا 60 دقیقه در محلول بنومیل 5 گرم در لیتر بود. سپس نمونه ها به زیر هود کشت بافت انتقال یافته و با اتانول70% درصد تا 3 دقیقه و کلراکس (حاوی 5 گرم کلر فعال) 10 و 15% و توین 20 (0/2%) به مدت 10 تا 15 دقیقه تیمار شدند. سپس 6 مرتبه با آب مقطر گندزدایی شده آبکشی شدند. نمونه ها به اندازه 7 تا 10 میلی متر بریده شده و روی محیط های کشت محیط WPM[1]، محیط والتر و اسکوگ2 (WS) محیط کشت تمام و نیم غلظت MS (موراشیگی و اسکوگ) و گابتا و دوریزن (DCR)، حاوی 0/3 میکرمولار BA کشت شدند. pH با استفاده از NaOH و HCl 0/1 نرمال روی 5/8 تنظیم شد. دادها پس از 50 روز جمع آوری و با نرم افزار SPSS واکاوی شد.

[1]. Woody Plant Medium
[2]. Wolter and Skoog's medium (۱۹۶۶)

نتایج و بحث

تاثیر فصل بر میزان پرآوری محسوس بود به طوری که در نتایج بدست آمده در سال های اخیر میانگین و طول نمونه های پرآوری شده در طی فصول رشد و همچنین درصد باززایی ریز نمونه ها به مراتب بیشتر از فصل رکود بود. همچنین نتایج بیانگر این است که با افزایش سن گیاه مادری از 3 به 6 سال میانگین و طول نمونه های پرآوری شده کاهش میابد. محیط کشت WPM به مراتب بهتر از محیط MS عمل کرد. این در حالی است که گزارش های اخیر بر روی محیط MS متمرکز بود. . نتایج بیانگر این است که درصد باززای ریز نمونه ها در محیط کشت WPM نسبت به دیگر محیط ها بهتر بوده و از طرفی بالاترین میانگین تعداد پرآوری در هر ریز نمونه نیز در این تیمار مشاهده شد. به طور کلی درصد بالایی از ریز نمونه ها به دلیل چوبی بودن قادر به باززایی و پرآوری نبوده و تا حدودی در نمونه های چوبی تر شاخساره های باززایی شده ضعیف و بد شکل بودند. نگاره 2 درصد باززایی را در محیط های کشت مختلف نشان میدهد.



نگاره 2. درصد باززایی ریز نمونه های کاج مطبق در محیط کشت های مختلف پس از گذشت 50 روز.

منابع

Sarmast M.K, H. Salehi, M. Khosh-Khui. 2011. Nano silver treatment is effective in reducing bacterial contamination of Araucaria excelsa R. Br. var. glauca explants. Acta Biol. Hung.62: 477-484.

Sarmast M.K, H. Salehi, M. Khosh-Khui. 2012. In vitro rooting of Araucaria excelsa R. Br. using Agrobacterium rhizogenes. J. Cent. Eur. Agri. 13:123-130.

Sarmast M.K, H. Salehi, M. Khosh-Khui. 2012. Micropropagation of Araucaria excelsa R. Br. var. glauca Carrière from orthotropic stem explants. Physiol. Mol. Biol. Plants . 18(3):265–271.

Sarmast, M.K., H. Salehi, A. Ramzani, A. A. Abolimoghadam, A. Niazi and M. Khosh-Khui. 2012. RAPD fingerprint to appraise the genetic fidelity of in vitro propagated Araucaria excelsa R. Br. var. glauca plantlets. Mol. Biotech. 50:181-188.

The effects of DCR, WPM, WS, MS and MS/2 media on Norfolk Island pine regeneration

M.K. Sarmast* and H. Salehi

1Department of Horticultural Science, Plant Tissue Culture and Biotechnology Center, College of Agriculture,

Shiraz University, Shiraz, Iran

*khoshhal.sarmast@gmail.com

Abstract

The objectives of the present work were finding the best regeneration media for 6 years old Araucaria excelsa R. Br. var glauca. Five media-DCR, WPM, WS, MS and MS/2- supplemented with 0,3 µM BA have been used for this research. Ten Cm semi-hard wood cutting samples were harvested from 6 Y old seedlings and after preliminary decontamination with ethanol (70%) and clorox (10%) for just about 10 to 15 min were cut into 1 cm and put it with their proximal end in media. Our research result revealed that regeneration percentage of explant in WPM media was better than other media, moreover, the highest mean number of shoots per explant was observed in aforementioned treatment. Generally the huge number of explant due to being woody could not have appropriate regeneration and multiplication. Our research data were collected after 54 D and inappropriate proliferation result was pertained to seasonal affects. The regenerated explant in winter and autumn has a faster growth than the explant that was taken in spring or summer. The research on ex vitro rooting of propagated explant is in progress.