ایجاد ژنوتیپ جدید رز با استفاده از روش نجات جنین

مریم عبدالمحمدی (۲،۱)، مریم جعفرخانی کرمانی (۱)، هدایت زکی‌زاده (۲)، یوسف حمیداوغلی (۲)، زهرا کهریزی (۱)

۱- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، ۲- دانشگاه گیلان

با استفاده از روش نجات جنین می توان بر مشکلات جوانه زنی بذر غلبه کرد و با کشت جنین ها در شرایط درون شیشه قبل از سقط شدن، درصد جوانه زنی را افزایش داد. این پژوهش روی یک هیبرید حاصل از تلاقی دو رقم رزهای انگلیسی (Tess of the durbervilles × Charlott) انجام گرفت تا بهترین محیط کشت را برای جوانه زنی و نمو جنین ها معرفی نماید. پس از جمع آوری بذور و ضدعفونی آنها، بخشی در بستر کشت حاوی کوکوپیت:پرلیت (۱:۱) کشت شدند و بخشی دیگر برای بکارگیری روش نجات جنین در شرایط درون شیشه مورد آزمایش قرار گرفتند. بذور به دو صورت: بذر با پریکارپ کامل، و بذر بدون پریکارپ و پوسته تستا، تحت شرایط استریل در محیط کشت پایهMS ۱/۲(موراشیگ و اسکوگ) حاوی BA (بنزیل آمینو پیورین) در چهار غلظت (۵ و۲/۵ ،۰/۱) و GA_3 (جیبرلیک اسید) در دو غلظت (۱و ۰) میلی‌گرم در لیتر کشت گردیدند. درصد جوانه زنی در بذور کشت شده در بستر کشت حاوی کوکوپیت:پرلیت صفر بود. در شرایط درون شیشه ای برای بذور با پریکارپ هیچگونه جوانه زنی حاصل نشد، در حالیکه بیشترین درصد جوانه زنی (۹۳/۳٪) در محیط کشت حاوی ۲/۵ میلی گرم در لیتر BA با ۱ میلی گرم در لیتر GA_3 برای بذوری که پریکارپ بطور کامل حذف شده بود مشاهده شد.

کلمات کلیدی: نجات جنین، جوانه‌زنی بذر، سقط جنین، پریکارپ

مقدمه:

تکثیر رز به طور سنتی معمولا از طریق بذر، قلمه و پیوند می‌باشد. تکثیر با بذر برای اصلاح ارقام جدید، تکثیر گونه‌ها و تولید پایه‌های رز است (روت ۱۹۹۹). رز متعلق به جنس ***Rosa*** از خانواده **Rosaceae** و زیرخانواده ***Rosoideae*** می‌باشد (هورن ۱۹۹۲). در جنس رز، سه زیرجنس وجود دارد که بیش از ۹۵ درصد از گونه‌های رز در زیرجنس ***Eurosa*** قرار دارند. این زیرجنس رز دارای بیش از ۲۰۰ گونه است که تنها ۷ تا ۱۰ گونه از آنها در برنامه‌های اصلاحی رزهای جدید استفاده شده‌اند. دلیل عدم استفاده از دیگر گونه‌ها، وجود ناسازگاری بین والدین و سقط شدن جنین قبل از بلوغ می‌باشد (جکسون ۱۹٦۳).

مشکل اصلی در بیشتر برنامه‌های بهنژادی رز، بذوری است که موفق به جوانه‌زنی نمی‌شوند و یا جوانه‌زنی خیلی کمی دارند (کمتر از ۲۰ درصد) این عدم جوانه‌زنی به موانع مکانیکی مانند پریکارپ و یا تنظیم کننده‌های خواب، بواسطه جلوگیری از رشد در بذور برهنه نسبت داده می‌شود (مارشانت ۱۹۹۳). کوشش‌های زیادی برای تحریک جوانه‌زنی و جلوگیری از سقط جنین صورت گرفته است که از جمله آن می‌توان به قرار دادن بذور در آب برای نرم کردن پوسته بذر، خراش دادن پوسته، قرار دادن بذور در معرض اکسیژن اشاره کرد که موفقیت بسیار کمی در جوانه زدن بذور گزارش شده است. یک روش موفق برای افزایش درصد جوانه زنی و بدست آوردن گیاهچه‌های سالم، روشهای کشت جنین (**embryo culture**) در محیط درون شیشه می‌باشد. گاهی اوقات، زمانیکه سقط جنین یا ریزش میوه خیلی زود صورت می‌گیرد، کشت تخمک و حتی کشت تخمدان انجام می‌شود. نجات جنین (**embryo rescue**) تکنیکی برای کاشتن جنین تحت شرایط گندزدایی شده روی محیط کشت می‌باشد (گودین ۱۹۹٦). این روش با دو هدف انجام می شود: کشت جنین‌های بالغ و کمک به کوتاه کردن دوره

جوانه‌زنی بوسیله برطرف کردن خواب بذر، و کشت جنین‌های نابالغ و جلوگیری از سقط جنین. اولین نتایج منتشر شده از نجات جنین در خانواده **Rosaceae** به سال ۱۹۳۳ بر می‌گردد که بر روی گیلاس و هلو انجام شد (بریشت ۲۰۰۳). گزارش-های کمی درمورد کشت جنین در محیط درون شیشه وجود دارد (لامرز، ١٩٤٦. آسن، ١٩٤٨. آسن و لارسن، ١٩٥١). در رز نجات جنین، با استفاده از جنین‌های بالغ برای اولین بار در سال ١٩٤٦ و استفاده از جنین‌های نابالغ در سال ١٩٩٤ انجام شد (٥،٩). آنرادها و روت، ۲۰۰۵ نجات جنین بر روی نتاج حاصل ازتلاقی دو رقم رز فلوریباندا را گزارش کردند..(). در بررسی دیگر، توانایی نجات جنین از بذرهای بدست آمده از تلاقی واریته‌های رز **(*Rosa hybrida*)** مطالعه شد (گودین، ١٩٩٤). همچنین نتایج بدست آمده از کشت جنین‌های حاصل از تلاقی چند رقم رز انگلیسی که اثرات نوع محیط، منبع کربوهیدرات و تنظیم کننده‌های رشد را روی جوانه‌زنی جنین‌های نجات یافته بررسی کرده بود، موفقیت‌هایی را در این زمینه نشان داد (٧،١٠).

با استفاده از تکنیک نجات جنین می‌توان بر ناسازگاری‌ها غلبه کرد و با استفاده از منابع ژنتیکی جدید، ارقام جدید رز بدست آورد. تحقیق حاضر به منظور ایجاد هیبرید جدید رز، از تلاقی دو رقم از رزهای انگلیسی با استفاده از روش نجات صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها:

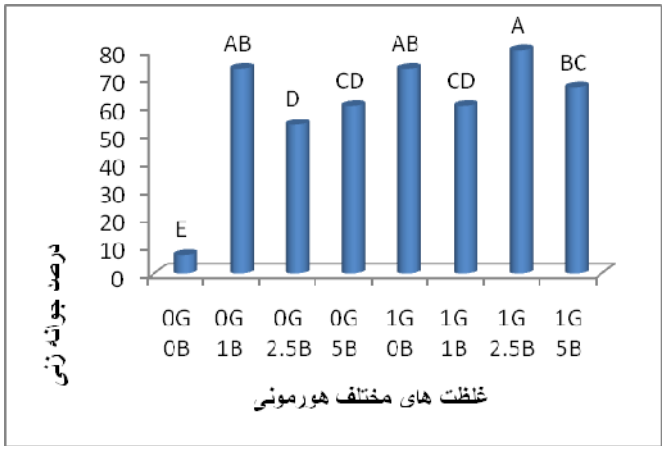
مواد گیاهی از کلکسیون ذخایر ژنتیکی رز در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران تهیه شد. پس از انتخاب **Tess of the durbervilles** به عنوان والد مادری و **Charlott** به عنوان والد گرده دهنده، تلاقی‌ها در خرداد ماه انجام گرفت. پس از گذشت ۸-۷ هفته ، میوه های زرد رنگ رز برداشت شده و به مدت ۱۰-۷ روز در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای کشت بذور به صورت طبیعی میوه‌ها پس از طی کردن دوره سرمایی از یخچال خارج شده و با استفاده از محلول هیپوکلریت ۲/۵ درصد برای مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر استریل شده آبشویی گردیدند. بذور از داخل میوه‌ها خارج و در بستر کشت کوکوپیت : پرلیت به نسبت حجمی ۱:۱ در داخل گلدانهای کوچک پلاستیکی کشت گردیدند و برای مدت یک ماه در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد قرار داده شدند سپس به مدت یک ماه در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در نهایت نمونه‌ها به دمای ۲۳ درجه سانتیگراد منتقل گردیدند تا جوانه‌زنی صورت گیرد .

در آزمایشات نجات جنین برای کشت بذور و کشت جنین در محیط درون شیشه بذور تحت شرایط استریل ضدعفونی و در محیط کشت **MS**۱/۲(موراشیگ و اسکوگ) حاوی **BA** (بنزیل آمینو پیورین) در چهار غلظت (۵ و۲/۵ ،۰/۱) و **GA3** (جیبرلیک اسید) در دو غلظت (۱و۰) میلی‌گرم در لیتر و ۳ درصد ساکارز و ۰/۷ درصد آگار قرار داده شدند. در آزمایش دیگر با استفاده از پنس و اسکالپل پریکارپ شکافته شده و پوسته تستا از اطراف جنین جدا و جنین‌های آماده شده بدون هیچگونه پوششی بر روی محیط کشت قرار داده شدند. همه نمونه های درون شیشه برای مدت سه هفته در دمای ۲±۲۲ درجه سانتیگراد و ١٦ ساعت روشنایی نگهداری شده تا جوانه‌زنی صورت گیرد.

نتایج و بحث:

پس از گذشت سه ماه از کشت بذور در بستر کشت کوکوپیت : پرلیت هیچگونه جوانه زنی مشاهده نشد. همچنین برای بذوری که به صورت کامل با پریکارپ دست نخورده در محیط کشتهای متفاوت قرار گرفتند هیچگونه جوان هزنی مشاهده نشد. اما حداکثر جوانه‌زنی (٪۹۳/۳) در محیط کشت حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر **BA** با ۱ میلی‌گرم در لیتر **GA3** برای بذوری که پریکارپ و پوسته تستا بطور کامل حذف شده بود مشاهده شد. کمترین درصد جوانه زنی در محیط کشت بدون هورمون بدست آمد. روش نجات جنین بسیار موثر در افزایش جوانه زنی بذر می‌باشد که روشی کارامد در کوتاه کردن دوره جوانه‌زنی است. موهاپاترا و روت (۲۰۰۵) روش نجات جنین را در نتاج حاصل از تلاقی رز فلوریباند مطالعه کردند و محیط

کشت پایه **MS** حاوی ۲/۵ میلی گرم در لیتر **BA** و ۰/۵ میلی گرم در لیتر **GA3** را بهترین محیط جوانه‌زنی معرفی کردند. نتایج بدست آمده در این پژوهش با گزارشات مارچانت و همکاران(١٩٩٤) نیز مطابقت داشت.



مقایسه درصد جوانه زنی در محیط های مختلف کشت