باززایی مستقیم پیازچه از ریزنمونه‌های فلس گیاه سنبل رقم (*Hyacinthus orientalis* cv. Carnegie در شرایط درون‌شیشه‌ای)

الهام قلی وندان (۱)، پرویز نوروزی(۲)

۱- دانشجوی دکتری رشته اصلاح و فیزیولوژی درختان میوه دانشگاه تبریز، ۲- دانشجوی دکتری رشته اصلاح و فیزیولوژی گیاهان زینتی دانشگاه تهران

اثر دو تنظیم کننده رشد گیاهی بنزیل آمینو پورین (BAP) و α – نفتالن‌استیک اسید (NAA) بر روی باززایی مستقیم پیازچه سنبل از ریزنمونه‌های فلس کولتیوار 'Carnegi' تحت شرایط درون شیشه‌ای بررسی گردید. بـاززایی مسـتقیم پیازچـه‌هـا از ریزنمونه‌های فوقانی فلس در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) جامد حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۵ میلی‌گـرم بر لیتر BAP مشاهده شد. در ریزنمونه‌های تحتانی فلس باززایی مستقیم پیازچه‌ها به افزودن BAP در محـیط کشـت نیـازی نداشت و باززایی پیازچه در این ریزنمونه‌ها تنها در حضور ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA انجام گرفت. ۱۲ هفته پس از مرحلـه استقرار قطر پیازچه‌های باززایی شده ۱/۵ – ۱ سانتی‌متر بود که قابل انتقال به محیط ریشه‌زایی بودند. باززایی پیازچه‌ها هم در ریزنمونه‌های فوقانی و هم در ریزنمونه‌های تحتانی فلس، در سطح پشتی فلس‌ها صورت گرفت. با استفاده از این روش از هر پیاز بالغ سنبل با قطر ۳ تا ٤ سانتی‌متر ۲۰۰ الی ۲۵۰ عدد پیازچه تولید می‌شود.

کلمات کلیدی: سنبل، کشت درون شیشه‌ای، باززایی پیازچه، بنزیل آمینو پورین، نفتالن‌استیک اسید.

مقدمه:

گیاه سنبل با نام علمی *Hyacinthus orientalis* L. یک گیاه زیتنی پیازی می‌باشد. گیاه سنبل هم با بذر و هم از طریق تولید پیازچه‌های پاجوش تکثیر می‌گردد. تکثیر این گیاه به روش جنسی جنبه تجاری نداشته و اغلب به منظور تولید رقم جدید به کار می‌رود. در ازدیاد تجاری سنبل از دو روش ته برداری و خراش‌دهی طبق پیاز برای تحریک تشکیل پیازچه استفاده می‌شود، اما در این روش‌ها بسته به رقم و اندازه پیاز مادری از هر پیاز تعداد کمی پیازچه به دست می‌آید (۵). به منظور بهینه‌سازی شرایط تولید و افزایش ضریب تکثیر گیاه سنبل می‌توان از سایر روش‌های ازدیاد مثل روش‌های ازدیاد درون شیشه‌ای بهره جست (۳ و ۵). ریزنمونه‌های تهیه شده از فلس‌های پیاز مادری و جفت فلس‌های اندام‌های زیرزمینی برای اندام‌زایی سوماتیکی مستقیم مناسب‌تر هستند (٦). در ریزازدیادی پیاز خوراکی، حداکثر باززایی شاخساره‌ها به ترتیب از ریزنمونه‌های فلس دارای طبق و ریزنمونه‌های طبق به تنهایی انجام گرفت (۲). در گیاه سنبل نیز ریزنمونه‌های دارای طبق، پیازچه بیشتری در مقایسه با سایر ریزنمونه‌ها تولید کردند (٤). برای تشکیل پیازچه و سایر اندام‌ها در کشت بافت سنبل، نیاز سرمایی نمونه باید برطرف شده باشد (۱). هدف از انجام این طرح تعیین مناسبترین نسبت هورمونی (NAA و BAP) به منظور تولید مستقیم پیازچه از ریزنمونه‌های فلس سنبل در محیط کشت MS می‌باشد. یکی دیگر از اهداف این طرح تعیین محل مناسب برداشت ریزنمونه از فلس‌های پیاز می‌باشد.

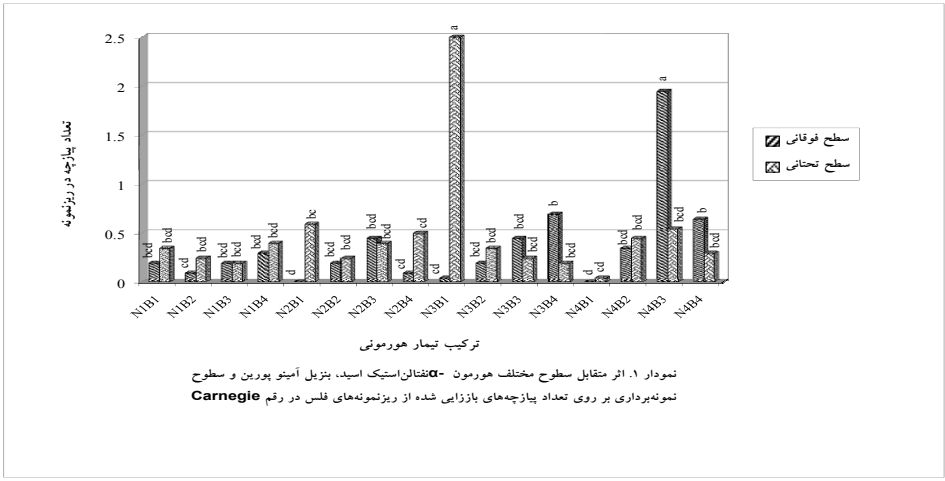
مواد و روش‌ها:

در این تحقیق از محیط کشت موراشی و اسکوگ (MS) به عنوان محیط کشت پایه استفاده شد. گلایسین به مقدار ۲mg/l ، تیامین به مقدار٠/٤ mg/l ، پیریدوکسین و نیکوتینیک اسید هرکدام به مقدار ٠/٥ mg/l و میواینوزیتول به مقدار١٠٠ mg/l استفاده شد. pH محیط کشت قبل از اتوکلاو بر روی ٦/١ تنظیم شد. پیازهای وارداتی سنبل پس از خریداری، به مدت ۱۰ هفته در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند تا نیاز سرمایی آن‌ها برطرف شود. پس از خرد کردن فلس‌ها، نمونه‌ها برای ضدعفونی شدن، به مدت یک ساعت در قارچ‌کش کاپتان ۱ درصد، ۳۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم (با ۵ درصد کلر فعال) رقیق شده با آب به نسبت ۳۰ : ۷۰ و پنج ثانیه در الکل اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند.سپس ریزنمونه‌های فلس در اندازه ۱/۲

– ۱ سانتی‌متر مربع بریده شده و به صورت افقی در محیط کشت استقرار یافتند. به طوریکه سطح پشتی ریزنمونه‌ها در تماس با محیط کشت باشد. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، ظروف کشت در اتاقک رشد با فتوپریود ١٦ ساعت قرار داده شدند. حدود ۱۲ هفته پس از کشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت، قطر پیازچه‌های باززایی شده ۱/۵ – ۱ سانتی‌متر بود.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که روند باززایی و نوع اندام باززایی شده در کشت بافت سنبل با ترکیب هورمونی محیط کشت و نوع ریزنمونه در ارتباط است. باززایی پیازچه‌ها در هر دو نوع ریزنمونه، در سطح پشتی فلس‌ها رخ داد. در ریزنمونه‌های تحتانی باززایی پیازچه‌ها از محل اتصال فلس به طبق انجام گرفت. در ریزنمونه‌های فوقانی نیز باززایی پیازچه‌ها از انتهای نزدیک به طبق صورت گرفت. در این آزمایش حداکثر باززایی مستقیم پیازچه‌ها از ریزنمونه‌های فوقانی قلس، در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر α – نفتالن‌استیک اسید و ۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین مشاهده شد. میانگین تعداد پیازچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های فوقانی فلس، با استفاده از ترکیب هورمونی ذکر شده ۱/۹۵ عدد می‌باشد که این مقدار با میانگین تعداد پیازچه‌های باززایی شده در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد. در ریزنمونه‌های تحتانی فلس که با قسمتی از طبق پیاز همراه بودند، حداکثر باززایی مستقیم پیازچه‌ها در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر α– نفتالن‌استیک اسید به تنهایی صورت گرفت (نمودار۱). میانگین تعداد پیازچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های تحتانی فلس در تیمار مذکور ۲/۵ عدد بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. اگرچه میانگین تعداد پیازچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های تحتانی، بیشتر از مقدار آن در ریزنمونه‌های فوقانی فلس بود اما اختلاف معنی‌داری بین دو آنها از لحاظ تعداد پیازچه‌های باززایی شده مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق به نظر می‌رسد حضور همزمان ترکیبات سایتوکینینی و اکسینی در محیط کشت برای باززایی مستقیم پیازچه ضروری است. در ریزنمونه‌های فوقانی فلس که بدون طبق بودند، حداکثر باززایی پیازچه‌ها از ریزنمونه‌های فلس پیاز در حضور مقادیر بیشتر بنزیل آمینو پورین در مقایسه با α– نفتالن‌استیک اسید انجام گرفت که نشان می‌دهد سایتوکینین‌ها عامل اصلی برای اندام‌زایی در گیاهان می‌باشند. در ریزنمونه‌های تحتانی فلس که قسمتی از طبق را به همراه داشتند، باززایی مستقیم پیازچه‌ها در محیط کشت بدون بنزیل آمینو پورین صورت گرفت. به نظر می‌رسد طبق در گیاهان پیازی نقش عمده‌ای در ایجاد تعادل هورمونی دارد و به عنوان یک منبع سایتوکینین درون‌زاد می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله از این آزمایش استفاده از ریزنمونه‌های فلسی که دارای قسمتی از طبق باشند در مقایسه با ریزنمونه‌های بدون طبق ارجحیت دارد. حضور طبق همچنین اثرات مثبتی بر اندازه پیازچه‌های باززایی شده نیز دارد. به طوریکه پیازچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های تحتانی دارای اندازه بزرگتری بود.



نمودار ۱. اثر متقابل سطوح مختلف هورمون α-نفتالن‌استیک اسید، بنزیل آمینو پورین و سطوح نمونه‌برداری بر روی تعداد پیازچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های فلس در رقم Carnegie

منابع:

1- Bach, A., Cecot, A. and M. Gaweda, 1992, Growth and mineral uptake by explants of *Hyacinthus orientalis* L. under different temperature treatment. Acta Hort. 325: 481 – 486.
2- Kastner, U., Klahr, A., Keller, E. R. J. and Kahane, R. 2001. formation of onion bulblets *in vitro* and viability during medium – term storage. Plant Cell Rep. 20(2): 137 – 142.
3- Pierik, R. L. M. and A. J. M. Post, 1975, Rapid vegetative propagation of *Hyacinthus orientalis* L. *in vitro*. Scientia Horticulturae. 3: 293 – 297.
4- Podwyszynska, M. and Ross, H. 2003. Formation of tulip bulbs *in vitro*. Acta Hort. 616: 413 – 419.
5- Saniewski, M., Nowak, J. and R. Rudnicki, 1974, Studies on the physiology of Hyacinth bulb (*Hyacinthus orientalis* L.). IV. Hormonal regulation of induction of roots and bulblets in *Hyacinthus orientalis* L. grown in culture. Plant Science Letters. 2: 373 – 376.
6- Tang, W., Harris, L. C., Outhavong, V. and Newton, R. J. 2004. The effect of different plant growth regulators on adventitious shoot formation from Virginia pine (*Pinus virginiana*) zygotic embryo explants. Plant Cell, Tissue and Organ culture. 78(3): 237 – 240.