

مقایسه کالوس زایی ریزنمونه های برگ، دمبرگ، آندوسپرم گیاه سیکاس رولوتا (*Cycas revoluta*)

خدیدجه محیسنی (۱)، روح انگیز نادری (۲)، منصورامیدی (۳)، مانده شفعی (۴)

او ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد و دکتری گروه مهندسی علوم باغبانی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، ۲- دانشیار گروه مهندسی علوم باغبانی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، ۳- استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

سیکاس رولوتا (*Cycas revoluta*) گیاه زینتی، همیشه سبز، دوپایه و بومی نواحی گرمسیری و مرطوب می باشد. سرعت رشد بسیار کم، نیاز به شرایط خاص محیطی جهت تولید بذر و قوه نامیه کم بذر، بقای سیکاس را با مشکل مواجه کرده است. در پژوهش حاضر، تأثیر ریزنمونه های برگ، دمبرگ و آندوسپرم بر کالوس زایی از طریق اندازه گیری صفاتی مانند: وزن ترکالوس، سطح کالوس، حجم کالوس، درصد کالوس زایی و زمان کالوس زایی با استفاده از غلظتهای (صفر، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) هورمون پیکلورام بررسی شد. نتایج نشان داد بیشترین وزن تر کالوس در ریزنمونه دمبرگ در غلظت های ۱ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر، بیشترین سطح کالوس در ریزنمونه آندوسپرم در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر، بیشترین حجم کالوس در ریزنمونه آندوسپرم در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر، بالاترین درصد کالوس زایی در ریزنمونه های برگ و دمبرگ در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر و سپس در ریزنمونه دمبرگ در غلظت ۲/۵ میلی گرم و کمترین زمان کالوس زایی در غلظت های ۱، ۲/۵ و ۵ میلی گرم در لیتر پیکلورام در ریزنمونه های برگ و دمبرگ در مدت (۱۲ روز) به دست آمد. در مجموع بنظر می رسد که دمبرگ در کالوس زایی گیاه مناسب ترین ریزنمونه می باشد.

کلمات کلیدی: سیکاس رولوتا- کالوس زایی- کشت بافت- پیکلورام

مقدمه:

سیکاس رولوتا با نام علمی *Cycas revoluta* از خانواده Cycadaceae است و در فارسی به همان سیکاس شهرت دارد. سیکاس گیاهی همیشه برگ سبز شبیه به درخت نخل، برگها به شکل پر، سبز براق و برگچه ها کوچک و حاشیه برگها به داخل جمع شده اند و دارای ساقه حجیم و متورم است. (Gilman, 1999) سیکاس یک گیاه آپارتمانی بسیار زیبا که مخصوص مناطق گرم و مرطوب است و اولین بار در چین و ژاپن پیدا شده است. بیشتر سیکاسها در خطر انقراض هستند و گونه های متعددی از آنها تقریباً از بین رفته اند. این گیاه بوسیله بذر و پاجوش تکثیر می شود. این گیاه دارای بعضی خواص دارویی است و در درمان سرطان و هپاتیت کاربرد دارد.

مواد و روش ها:

ریزنمونه های برگ، دمبرگ و آندوسپرم جهت کشت در شرایط استریل استفاده شدند. برگ های جوان و سالم که یک هفته سن داشتند از گیاهان پایه انتخاب و جدا شدند. برگها به همراه دمبرگ در زیر آب جاری به مدت ۳۰ دقیقه با چند قطره مایع ظرفشویی شستشو داده شدند. ریزنمونه های برگ و دمبرگ در اتانول ۷۰٪ به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی و سپس در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به همراه ۱-۲ قطره Tween 20 به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی گردیدند. جهت کشت آندوسپرم ابتدا پوسته گوشتی نارنجی رنگ بذر یا سارکوتستا (*Sarcotesta*) و پوسته استخوانی یا اسکروتستا (*Sclerotesta*) جدا شده و تمامی مراحل ضدعفونی بالا بر روی آن صورت گرفت و در مرحله ضدعفونی بذر با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد، تیمار زمانی ۲۵ دقیقه اعمال گردید. پس از ضدعفونی، ریزنمونه ها با سایز ۱ سانتیمتر برش داده شدند و برای القا کالوس در محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۰/۶٪ آگار- آگار با غلظتهای هورمون پیکلورام صفر، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر کشت داده شدند و pH محیط بین ۵/۹ - ۵/۷ تنظیم گردید و شیشه های کشت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد اتوکلاو شدند. شیشه های محتوی ریز نمونه ها در اتاق رشد در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد تحت شرایط تاریکی

نگهداری شدند. واكشت نمونه ها هر چهار هفته يكبار انجام شد. داده برداری صفات مورد اندازه گیری ریز نمونه ها حدود ۸ هفته پس از شروع آزمایش انجام شد. این آزمایش بر پایه فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۴ ریزنمونه در هر تکرار صورت گرفت.

نتایج و بحث:

در طی این آزمایش اثر هورمون پیکلورام در غلظت های صفر، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر بر روی کالوس زایی ریزنمونه های برگ، دمبرگ و آندوسپرم بررسی شد. جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر هورمون، ریزنمونه ها و همچنین اثر متقابل غلظت های متفاوت هورمون و ریزنمونه ها بر روی صفات اندازه گیری شده وزن تر کالوس، سطح کالوس، حجم کالوس، درصد کالوس زایی و زمان کالوس زایی در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. (جدول ۱) نتایج نشان داد بیشترین وزن تر کالوس در ریزنمونه دمبرگ در غلظت های ۱ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر پیکلورام و سپس در ریزنمونه آندوسپرم در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. بیشترین سطح کالوس در ریزنمونه آندوسپرم در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر و سپس در ریزنمونه دمبرگ در غلظت های ۱ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. بیشترین حجم کالوس در ریزنمونه آندوسپرم در غلظت های ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد. با افزایش غلظت پیکلورام در ریزنمونه آندوسپرم بیشترین حجم کالوس بدست آمد در حالیکه در ریزنمونه برگ حجم کالوس با افزایش میزان هورمون کاهش یافت. همچنین بالاترین درصد کالوس زایی در ریزنمونه های برگ و دمبرگ در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر و سپس در ریزنمونه دمبرگ در غلظت ۲/۵ میلی گرم و ریزنمونه آندوسپرم در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر مشاهده گردید. در ریزنمونه آندوسپرم با افزایش غلظت پیکلورام از ۵ به ۲۰ میکرومول، درصد کالوس زایی از ۸۰ به ۱۰۰ رسید که با نتایج آزمایش ما مطابقت داشت (Pick kiong et al., 2008). کمترین زمان کالوس زایی در غلظت های ۱، ۲/۵ و ۵ میلی گرم در لیتر پیکلورام در ریزنمونه های برگ و دمبرگ در مدت (۱۲ روز) بدست آمد و بیشترین زمان کالوس زایی در تیمار شاهد و ۱ میلی گرم در لیتر آندوسپرم مشاهده شد.

منابع:

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر اندام و هورمون و اثر متقابل هورمون و اندام بر روی صفات اندازه گیری شده						
میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن تر کالوس	سطح کالوس	حجم کالوس	درصد کالوس	زمان کالوس زایی		
۳/۲۸**	۱/۲۲**	۱/۵۴**	۱۲۴/۶۸**	۱۸۶/۷۳**	۴	پیکلورام
۱۰/۴۷**	۲/۷۳**	۴/۷۶**	۱۷۶/۴۹**	۹۲۰/۰۷**	۲	اندام
۱/۶۴**	۰/۷۰**	۱/۲۹**	۴۳/۶۴**	۳۴۹/۶۳**	۸	پیکلورام × اندام
۰/۱۴	۰/۰۹	۰/۰۸	۱/۴۴	۰/۰۹	۸۲	خطای آزمایشی
-	-	-	-	-	۹۶	کل
۱۸/۹۸	۱۹/۷۱	۱۸/۶۶	۱۹/۴۲	۲/۴۵	-	c.v

- 1- Gilman, E.F. (1999). *Cycas revolute*: General information and description. Review paper of Institute of Food and Agriculture Sciences. Environment *Horticulture Department*, Florida.
- 2- Pick kiong, A., Shu Thing, Y., Gansau, J & Hussein, S. (2008). Induction and multiplication of callus from endosperm of *Cycas revoluta*. *African Journal of Biotechnology*, 7(23), 4279-4284.

Comparison of Callogenesis Leaf, Petiole and Endosperm Explants of *Cycas revoluta*

Khadije Mohaiseni¹, Rohangiz Naderi², Mansour Omidi³, Maede Shafiee⁴

1,2,4-Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj

3- Department Agronomy & Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj

Abstract

Cycas revoluta Thunb, is a evergreen ornamental plant, dioecious and native tropical areas. Therefore, cell and tissue culture techniques can be developed to overcome the problems such as slow-growing, rapid loss of seed viability, and low morphogenesis potentials. Application of tissue culture is known techniques one of the ways in endangered species. In this investigation, the effects of hormone picloram with (0, 1, 2.5, 5 and 10 mg per liter concentrations) in callogenesis of some explants such as leaf, petiole and endosperm through measuring of some characteristics such as callus weight, callus area, callus volume, callogenesis percentage and callogenesis rate was evaluated. Results showed the most callus weight was obtained in 1, 2.5 mg per liter with using petiole explant, the most callus area in 10 mg per liter with using endosperm explant, the most callus volume in 5, 10 mg per liter in endosperm explant, the most callogenesis percentage in 1 mg per liter in leaf and petiole explants and then in 2.5 mg per liter with using petiole. The lowest time in callogenesis was observed in leaf and petiole explants (12 day) with 1, 2.5 and 5 mg per liter concentrations. In general, it seems that petiole was the best explant in callogenesis of plant.

Key words: *Cycas revoluta* – callogenesis- tissue culture- picloram