استقرار درون شیشه ای تک گره های گیاه *Tecomella undulata* (Roxb.) و باززایی غیر مستقیم جوانه روی پینه های بوجود آمده از ساقه

مائده عقدایی (۱)، حسن صالحی (۲) و مصطفی خوشحال سرمست (۳)
۱،۲و۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی دکتری بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

کشت بافت های گیاهی به عنوان ابزاری ارزشمند برای حفظ و باززایی گونه های گیاهان دارویی و در حال انقراضی چون *Tecomella undulata* (Roxb.) (معروف به انار شیطان) مطرح می باشد، این گیاه بومی ایران بوده و حاوی lepicol بوده که در درمان یرقان مصرف می شود. هدف کار حاضر ارزیابی تنظیم کننده رشد Thidiazuron (۰، ۰/۰۰۱ ، ۰/۰۱، ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) برای پرآوری تگ گره ها و بنزیل آدنین (۰، ۰/۳، ۰/٦، ۰/۹ و ۱/۲ میلی گرم در لیتر) و 2,4-dichloro-phenoxy-acetic acid (۰، ۰/۲و ۰/٤ میلی گرم در لیتر) برای رشد پینه و باززایی غیر مستقیم جوانه از ریز نمونه های به‌دست آمده از گیاهان ۷ ساله انار شیطان بود. گندزدایی ریز نمونه ها با استفاده از کلراکس ۱۰٪ به مدت ۷ تا ۸ دقیقه با ۱۰۰٪ موفقیت همراه بود. نتایج بیانگر این است که افزودن TDZ حداکثر تا ۰/۱ میلی گرم در لیتر میانگین تعداد شاخساره را تا ۱/۵ عدد افزایش داد و غلظت های بیشتر موجب کاهش رشد و مرگ ریز نمونه می شود. پینه های بوجود آمده از قطعات ساقه منجر به باززایی چند جوانه در غلظت ۰/۹ میلی گرم در لیتر شد. آزمایشی با واسطه گری *Agrobacterium rhizogenes* (نژاد K559 با حامل کمکی PKGWFSWFS 7.0 35sP) برای افزایش بازده ریشه زایی این گونه در حال انجام می باشد.

کلمات کلیدی: باززایی غیر مستقیم، پرآوری، انار شیطان، TDZ

مقدمه:

گیاهان جزء جدایی ناپذیر از زندگی انسان از زمان های بسیار قدیم بوده و نقش مهمی در گوناگونی زیستی داشته اند. به طوری که ۹۰٪ انرژی و ۸۸٪ پروتئین مورد نیاز انسان را تامین می کنند. استفاده از فنون کشت بافت و یاخته و مهندسی ژنتیک به ویژه در دهه اخیر بسیاری از موانع موجود را از سر راه برداشته است. برخی از اهداف مهندسی ژنتیک مانند کاهش دوره رشد رویشی درختان (مندل و یانوفسکی[۱۲]، ۱۹۹۵) 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. انار شیطان *Tecomella undulata* گیاهی دوپایه از تیره Bignoniaceae می باشد. راتور و همکاران، ۱۹۹۱.، بهترین محیط کشت برای رشد و باززایی این گیاه را محیط کشت پایه MS به اضافه ی تنظیم کننده های رشد BAP (2mg/l) و IAA (0.05 mg/l) معرفی کردند. به منظور ریشه زایی شاخساره های به دست آمده ، ابتدا نمونه ها را در محیط کشت MS 1/2 حاوی تنظیم کننده رشد IBA برای مدت ۲٤ تا ٤۸ ساعت قرار دادند که بهترین نتیجه از تیمار IBA (2.5 mg/l) به مدت ٤۸ ساعت حاصل شد. سپس آن ها را به محیط کشت بدون هورمون منتقل کردند که در این روش ٦۰٪ ریشه زایی حاصل شد. Robinson و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ مطالعه ای به منظور ریزازدیادی انارشیطان با استفاده از تک گره به عنوان ریزنمونه انجام دادند که نتایج آن تا حدود زیادی به نتایج Rathore و همکاران نزدیک بود. بیشترین شاخه زایی از تیمار BAP (0.75 mg/l) و IAA (0.01 mg/l) به دست آوردند. هدف کار حاضر بررسی ریز افزایی گیاه انار شیطان با استفاده از تنظیم کننده های رشد مختلف می باشد.

مواد و روش‌ها

3. Mandel and Yanofsky

برای گندزدایی سطحی نمونه ها، قطعات ٤ سانتی متری از ساقه گیاهان ۷ ساله انار شیطان جدا شده ابتدا به مدت یک ساعت زیر آب جاری قرار گرفت؛ در مرحله بعد نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول آب و ریکا (پنج قطره برای ۰/۵ لیتر) قرار گرفتند و پس از شستشو با آب مقطر نمونه ها به زیر هود استریل انتقال یافتند، سپس با کلراکس (حاوی ۵ گرم کلر فعال) ۱۰٪ به اضافه توین ۲۰ (۰/۲٪) به مدت های ۷ دقیقه تیمار شدند. سپس ٦ مرتبه با آب مقطر گندزدایی شده آبکشی شدند و روی محیط MS حاوی تنظیم کننده رشد Thidiazuron (۰، ۰.۰۰۱، ۰.۰۱، ۰.۱، ۱، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم در لیتر) برای پرآوری تگ گره ها و بنزیل آدنین (۰، ۰.۳، ۰.٦، ۰.۹ و ۱.۲ میلی گرم در لیتر) و 2,4-dichloro-phenoxy-acetic acid (۰، ۰.۲ و ۰.٤ میلی گرم در لیتر) برای رشد پینه و باززایی غیر مستقیم جوانه کشت شدند.

نتایج و بحث:

نتایج ما بیانگر این است که تیمار کلراکس ۱۰٪ به مدت ۷ دقیقه منجر به گندزدایی ۱۰۰٪ ریز نمونه ها خواهد شد. ریز نمونه های گرفته شده در فصل رشد (بهار و تابستان) به مراتب بهتر از فصول دیگر در شرایط درون شیشه ای پاسخ می دهند که با گزارشات قبلی مطابقت دارد. نتایج بیانگر این است که افزودن TDZ حداکثر تا ۰.۱ میلی گرم در لیتر میانگین تعداد شاخساره را تا ۱.۵ عدد افزایش داد و غلظت های بیشتر موجب کاهش رشد و مرگ ریز نمونه می شود. پینه های بوجود آمده از قطعات ساقه منجر به باززایی چند جوانه در غلظت ۰.۹ میلی گرم در لیتر شد. بررسی های ما نشان دهنده این است که ریز نمونه های انار شیطان از زیر کشت دوم به بعد به مراتب پرآوری بیشتری نسبت به زیر کشت اول نشان می دهند.

منابع:

Mandel, M.A. and M.F. Yanofsky. 1995. A gene triggering flower formation in *Arabidopsis*. *Nature* 377: 522–524.

Rathore, TS., RP. Sigh and NS. Shekhavat. 1991. Clonal propagation of desert teak (*Tecomella undulate*) through tissue culture. *Plant Sci.* 79: 214-222.

Rpbinson, R., K. Bimlendra and SV. Beniwal. 2005. In vitro shoot multiplication of *Tecomella undulate (SM.)* Seem: An endangered tree species. *Ind. Plant Physiol*. 10:372-376.

In vitro establishment of singe nodes of *Tecomella undulata* (Roxb.) and indirect regeneration of buds on stem-derived callus

M. Aghdaei, H. Salehi, and M.K. Sarmast

M.Sc. Student, Associate Professor and Ph.D *Student,* Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Abstract

Plant tissue culture is a reliable tool for conservation and multiplication of many plants, including medicinal plants. *Tecomella undulata* (Roxb.) is a plant native to iran, however this precious plant which contain lepicol (a strong antiseptic used in Jaundice) is a many endangered species, there for its conservation is of prime importance. The aim of this experiment was to evaluate the effects of thidiazuron at the concentration of (0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 and 20 mg L^{-1}) on proliferation of single nodes and combination of 6-benzyl-amino-purine (0, 0.3, 0.6, 0.9 and 1.2 mg L^{-1}) and 2,4-dichloro-phenoxy-acetic acid (0, 0.2 and 0.4 mg L^{-1}) on callus formation and growth, and indirect bud regeneration in explants of *Tecomella undulata* (Roxb.) taken from 7 years old plants. Explants were surface sterilized using 10% clorox for 7-8 minutes. Results indicated that TDZ at the concentration of 0.1 mg L^{-1} increased bud proliferation up to 1.5 bud per explants, however high concentration inhibited growth and in some case caused death of the explants. BA at the concentration of 0.9 mg L^{-1} regenerated buds on callus production from stem segments. Separate experiment is now in progress. Using *Agrobacterium rhizogenes* (strain K559 with binary vector of PKGWFS 7,0 35S P) with the aim of increasing *in vitro* root formation

Keywords: Indirect regeneration, Multiplication, *Tecomella* sp.TDZ.