بررسی القای جوانه دهی نابجا در خربزه ایرانی

محمد اسماعیل نداف (۱)، شهزاد صداقت فر (۱)، محمود لطفی (۱)، مسعود توحیدفر (۲)، داود نادری (۳)
۱- دانشگاه تهران، ۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)

در کشت بافت خربزه، اندام زایی به منظور اهداف اصلاحی نوین در بیوتکنولوژی استفاده می شود. در این مطالعه اندام زایی مستقیم خربزه ایرانی رقم خاتونی از ریزنمونه های برگ لپه ای بررسی شد. به منظور بررسی القای جوانه دهی نابجا از ریز نمونه های برگ لپه ای دانهال های سه، پنج، هفت، ۱۰ و ۱۲ روزه در شرایط کشت درون شیشه ای در محیط MS حاوی یک میلی گرم در لیتر هورمون بنزیل آمینو پورین (BAP) استفاده شد. جوانه های نابجا بوسیله توسعه مریستم انتهایی شاخه و سرآغازه های برگ مشخص شدند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که اندام زایی در شرایط درون شیشه ای خربزه، زمانی که قطعات برگ لپه ای از دانهال های هفت روزه، روی محیط MS همراه با یک میلی گرم در لیتر BAP کشت شد، بیشترین کارایی را داشت. بیشترین میانگین تولید شاخه و درصد باززایی شاخه مربوط به دانهال های هفت روزه با یک میلی گرم در لیتر BAP به ترتیب پنج شاخه به ازای هر ریزنمونه و ٦٤٪ به‌دست آمد.

کلمات کلیدی: اندام زایی مستقیم، برگ لپه ای، جوانه ی نابجا، خربزه، کشت درون شیشه ای.

مقدمه:

خربزه.*Cucumis melo* L از مهمترین محصولات باغی و گیاهی از تیره کدوئیان است. ایران، رتبه سوم تولید را در جهان پس از کشورهای چین و ترکیه دارا می‌باشد. بیشترین گزارشات باززایی ارقام خربزه مربوط به اندام زایی مستقیم می باشد؛ باززایی مستقیم به نسبت راحت تر بوده دوره کشتی کوتاه تری نیاز دارد و همچنین با تنوع سوموکلونال و ناهنجاری های پلوئیدی کمتری مواجه است، (۱).

معمولاً تفاوت های زیادی بین ژنوتیپ های مختلف خربزه در استعداد باززایی وجود دارد، علاوه بر آن، نوع و سن ریزنمونه و همچنین فاکتورهای محیطی و ترکیب محیط کشت در این ویترو ، نیز تاثیری زیادی بر کارایی اندام زایی در خربزه دارند (۲).

مواد و روش‌ها:

بذور بالغ پوست کنده شده خربزه رقم خاتونی به مدت ۳۰ ثانیه با اتانول ۷۰٪ و سپس۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۱٪ ضدعفونی شدند. برای جوانه زنی یکنواخت، بذور به محیط MS ½ حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP انتقال داده شدند. پس از آن قطعات برگ لپه ای۵-۲ میلی متری به همراه قسمتی از زیر لپه از دانهال های سه،پنج، هفت، ۱۰ و۱۲ روزه، روی محیط جامد MS حاوی یک میلی گرم در لیتر BAP همراه با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز و هفت گرم در لیتر آگار قرار گرفتند؛ pH محیط روی ۵/۸-۵/٦ تنظیم گردید و محیط کشت ها در شرایط ١٦ ساعت دوره نوری و دمای ^{o}C ۲۵ قرار گرفتند. سپس، کارایی بازایی بر مبنی تعداد شاخه تولیدی از هر ریزنمونه اندازه گیری شد. آزمایشات در پنج تکرار و با میانگین ۲۰ ریزنمونه بر پایه طرح کاملاً تصادفی در هر تیمار استفاده شد. جوانه‌های نابجا تولید شده به همراه قسمتی از بافت مادری ریزنمونه ها به محیط MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر BAP به همراه یک میلی گرم در لیتر GA3 برای طویل شدن ساقه‌های نابجا منتقل شدند. شاخه های طویل شده از یکدیگر جدا شده و به محیط MS ریشه زایی به همرایک میلی گرم در لیترIBA منتقل شدند، بعد از ٤-۳ هفته گیاهچه هایی با ریشه توسعه یافته بدست آمد.

نتیجه‌گیری:

ظهور اولین ساقه های باززایی شده از ریزنمونه های مختلف معمولاً دوهفته بعد از قرار گرفتن ریزنمونه ها در محیط کشت مناسب، مشاهده شد. در آزمایش انجام شده میانگین تعداد شاخه در هر ریزنمونه ٣.٤ و میانگین درصد باززایی شاخه از ریزنمونه های لپه ای٤٢٪ بدست آمد (جدول ١). نتایج نشان داد که برگ های لپه ای جدا شده از گیاهچه های ٧ روزه در مقایسه با سایر ریزنمونه ها، میانگین تعداد شاخه در هر ریز نمونه (٥.٣) و درصد باززایی شاخه (٦٤٪)، بیشتری دارند (جدول ٢).

جدول١ـ جدول تجزیه واریانس دوره دانهالی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین شاخه	تعداد ٪ میانگین باززایی شاخه
دوره دانهالی	٤	٣/٤ * *	٤٢/٠٢ * *
اشتباه آزمایشی	٢٠	٠/٦	٤/٣٥

* * : معنی‌داری در سطوح احتمال ١٪

جدول٢- تاثیر عمر دوره دانهالی ریزنمونه‌های برگ لپه‌ای بروی اندام‌زایی مستقیم خربزه رقم خاتونی

عمر دوره دانهالی	میانگین تعداد شاخه در هر ریز نمونه	٪ باززایی شاخه
٣	٢/٧٧ ±٠/٥ ^{bc}	٣٤/٢±٤/٤^{bc}
٥	٤/١٧ ±٠/ ٤ ^{ab}	٥١/٦٨±٣/٩^{ab}
٧	٥/٣١ ±٠/٦^{a}	٦٤/٣٤ ±٢/٢^{a}
١٠	٣/٢٢ ±٠/٨^{b}	٣٧/٣٣±٥/٢^{b}
١٢	١/٥٥ ±٠/٣^{c}	٢٢/٥ ±٢/٦^{c}

* در هر تیمار بطور میانگین ٢٠ ریزنمونه در ٥ تکرار استفاده شد. (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی دار شدن تیمارهاست)

شکل١–مراحل باززایی مستقیم گیاه خربزه:١) تهیه ریزنمونه های برگ لپه ای ٢)انتقال به محیط القای شاخه ٣)تولید جوانه های شاخه ٤) انتقال به محیط طویل سازی شاخه ٥) طویل شدن شاخه ٦) انتقال به محیط ریشه زایی و ریشه زایی شاخه ها

منابع:

1. Bairwa S.K., Tripathi M.K., Kushwah S.S., Baghel B.S., Tiwari S. 2008. Effect of genotypes and plant growth regulators on regulation of in vitro morphogenesis in muskmelon (Cucumis melo L.) from cultured mature cotyledons. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 9(1-2): 45-60.
2. Hector G. Nuñez-Palenius a; Miguel Gomez-Lim a; Neftali Ochoa-Alejo a; Rebecca Grumet b; Gene Lester c; Daniel J. Cantliffe .2008. Melon Fruits: Genetic Diversity, Physiology, and Biotechnology Features. Critical Reviews in Biotechnology, 28:13–55.
3. Leshem B. 1989. Polarity and responsive regions for regeneration in the cultured melon cotyledon. J. Plant Physiol. 135: 237–239.
4. Guis M., Roustan J. P., DogimontC., Pitrat M. and Pech J. C. 1998. Biotechnology. Biotechnol. Genet. Eng Melon. 15: 289–311.
5. Dirks R and Vanbuggenum M. 1989. In vitro plant-regeneration from leaf and cotyledon explants of Cucumis melo L. Plant Cell Rep, 7:626–627.
6. Souza F V D, Sogo B, Souza A S 1, Juan A P S and Moreno V.2006. Morphogenetic Response of Cotyledon and Leaf Explants of Melon CV. Amarillo. Bra Ar Biology & Technology, 49(1): 21-27.