بررسی جنین‌زایی رویشی در توت‌فرنگی رقم کاماروزا

سید جواد موسوی زاده (۱)، کامبیز مشایخی (۲)، خدایار همتی (۳) و بهنام کامکار (۴)
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، ۳- استادیار گروه علوم باغبانی،
۴- استادیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

چکیده

جنین‌زایی رویشی گیاهی فرآیندی است که در آن سلول‌های بدنی به جنین‌های بدنی تغییر می‌یابند. غالباً برای جنین‌زایی رویشی در گیاهان دو مرحله مختلف دنبال می‌شود که مرحله اول آن فاز القا می‌باشد. در این مرحله سلول‌های موجود در محیط کشت ابتدا پتانسیل جنین‌زایی را به دست آورده و شروع به تقسیم شدن می‌کنند. سپس در مرحله ظهور جنین‌ها (رئالیزاسیون)، جنین‌های رویشی ظاهر می‌شوند (مشایخی، ۱۳۸٦). این پدیده به مقدار زیادی تابع شرایط محیط کشت از نقطه نظر غذایی، هورمونی و یا حرارتی می‌باشد (مشایخی، ۲۰۰۱). بر همین اساس، هدف از این تحقیق استفاده از هورمون‌های اکسین و سیتوکنین در القای جنین رویشی در اندام‌های مختلف توت‌فرنگی می‌باشد.

مقدمه

جنین‌زایی رویشی گیاهی فرآیندی است که در آن سلول‌های بدنی به جنین‌های بدنی تغییر می‌یابند. غالباً برای جنین‌زایی رویشی در گیاهان دو مرحله مختلف دنبال می‌شود که مرحله اول آن فاز القا می‌باشد. در این مرحله سلول‌های موجود در محیط کشت ابتدا پتانسیل جنین‌زایی را به دست آورده و شروع به تقسیم شدن می‌کنند. سپس در مرحله ظهور جنین‌ها (رئالیزاسیون)، جنین‌های رویشی ظاهر می‌شوند (مشایخی، ۱۳۸٦). این پدیده به مقدار زیادی تابع شرایط محیط کشت از نقطه نظر غذایی، هورمونی و یا حرارتی می‌باشد (مشایخی، ۲۰۰۱). بر همین اساس، هدف از این تحقیق استفاده از هورمون‌های اکسین و سیتوکنین در القای جنین رویشی در اندام‌های مختلف توت‌فرنگی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از گیاه توت‌فرنگی رقم کاماروزا (Camarosa) برای انجام آزمایش استفاده گردید. برای شروع آزمایش ابتدا اندام‌های مختلف توت‌فرنگی (برگ، دمبرگ، جوانه انتهایی، گلبرگ، نهنج میوه نارس و بذر) توسط الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) تیمار شدند. سپس ضدعفونی اصلی توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ به همراه ۲ قطره توین ۸۰ به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. تعداد ۵ ریزنمونه در فاز القای جنین‌زایی، در محیط کشت مایع MS حاوی هورمون‌های تیدیازورون (۱۲ میکرومولار) بعلاوه ایندول‌بوتریک‌اسید (۰/۰۵ میکرومولار) و بنزیل‌آمینوپورین (٤٤/٤ میکرومولار) بعلاوه نفتالین‌استیک‌اسید (۰/۰۵ میکرومولار) در بالن‌های T شکل حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت کشت شدند. بالن‌های T شکل کشت شده به دستگاه آکسوفیتون استوارد با دوران ۱/۹ دور در دقیقه و دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و نور دائم (۲۰۰۰ لوکس) منتقل گردیدند. عمل واکشت ریزنمونه‌ها در محیط‌های قبل اما با هدف ظهور جنین‌ها (رئالیزاسیون) ده هفته پس از کشت در حالی که هورمون از آنها حذف شده بود، انجام گرفت. پس از گذشت ٤ ماه و ۳ بار واکشت در مرحله رئالیزاسیون، جنین‌های رویشی در مراحل کروی شکل، قلبی

شکل، اژدری شکل و گیاهچه، ظاهر شدند. جنین‌ها با استفاده از دستگاه استرئوسکوپ[1] متصل به کامپیوتر در دو بزرگنمایی ۲۰ و ٤۰ میکرون، شمارش و عکس‌برداری شدند (مشایخی، ۲۰۰۱). نتایج حاصل از جنین‌زایی بین دو اندام گلبرگ و نهنج بر اساس آزمون t و با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شدند.

نتایج و بحث

طبق نتایج بررسی حاضر در بین تیمارهای اعمال شده برای جنین‌زایی توت‌فرنگی در محیط MS تنها در هورمون تیدیازورون (۱۲ میکرومولار) با ایندول‌بوتریک‌اسید (۰/۰۵ میکرومولار) و در دو اندام گلبرگ و نهنج، جنین تشکیل شد. تعداد جنین تشکیل شده در ریزنمونه‌های گلبرگ نیز با اختلاف معنی‌داری در تمام مراحل جنین‌زایی شامل کروی، قلبی و اژدری شکل بیشتر از جنین‌های به دست آمده از ریزنمونه‌های نهنج بود. تعداد کل جنین نیز در ریزنمونه‌های گلبرگ (۰/٦۲ ± ۱٦/۳۳) بیشتر از جنین‌های ریزنمونه‌های نهنج (۰/٤۰ ± ٤) به دست آمد (p<۰/۰۰۰۱). در این بررسی القای جنین در توت‌فرنگی با هورمون سیتوکنین به همراه اکسین صورت گرفت و جنین نیز از اندام‌های زایشی این گیاه به دست آمد و علیرغم اعمال همان تیمارها در سایر اندام‌های توت‌فرنگی، القای جنین در آنها صورت نگرفت. بنابراین جهت القای جنین رویشی در توت‌فرنگی هورمون سیتوکنین نقش مهمی بازی می‌کند. در همین راستا گزارش‌هایی مبنی بر اثر مثبت سیتوکنین در القای جنین رویشی در گیاهان وجود دارد. به‌طور مثال در القای جنین‌زایی رویشی پسته استفاده از سیتوکنین‌ها مفید تشخیص داده شده است (اونای و جفری، ۲۰۰۰). همچنین مشاهده شد که تیدیازورون باعث القای جنین‌زایی رویشی بادام‌زمینی گردید (ویکتور و همکاران، ۱۹۹۹). در آزمایشی دیگر، سید و همکاران (۲۰۰٤) بدین نتیجه رسیدند که جنین‌زایی رویشی در قهوه کاملاً وابسته به سیتوکنین‌ها می‌باشد. آیپکسی و گازوکایرمیزی (۲۰۰٤) از تیدیازورون (٤ میلی‌گرم در لیتر) به همراه کنیتین (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) برای جنین‌زایی رویشی قطعات برگی پالونیا (*Paulownia elongata*) استفاده کردند. زاپاتا و همکاران (۲۰۰۷) از ۳/٤ میکرو مولار تیدیازورون برای جنین‌زایی رویشی هیپوکوتیل فلفل استفاده کردند. حسینی و همکاران (۲۰۰۸) نیز بر روی جنین‌زایی رویشی توت‌فرنگی تحقیق کردند و غلظت‌های مختلف تیدیازورون از ٦-۱ میلی‌گرم در لیتر را برای القا جنین رویشی در قطعات برگ رقم چالندر توت‌فرنگی به کار بردند و نتیجه گرفتند که محیط کشت MS بعلاوه ویتامین‌های B5 به همراه ٤ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون شرایط مناسب جنین‌زایی توت‌فرنگی است. که با نتایج تحقیق حاضر در کاربرد تیدیازورون برای القا جنین رویشی توت‌فرنگی مطابقت دارد.

منابع

مشایخی، ک. ۱۳۸٦. جنین زایی رویشی گیاهی. انتشارات مختوم‌قلی‌فراغی (سارلی). ٤۸۳ ص.

Cid, L. P. B., Cruz, A. R. R., and Castro, L. H. R. 2004. Somatic embryogenesis from three coffe cultivars: Rubi, Catual Vermelho 81 and IAPAR 59. HortScience. 39(1): 130-131.

Husaini, M. A., Aquil, S., Bha, M., Qadri, T., Kamaluddin., Abdin., Z. M. 2008. A High-Efficiency Direct Somatic Embryogenesis System for Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Cultivar Chandler. Crop Sci. Biotech. 11(2): 107-100.

Ipekci, Z., and Gozukirmizi, N. 2004. Indirect somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf and internode explants of *Paulownia elongate*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 79(3): 341-345.

Mashayekhi, K. 2001. The protein synthesis spectrum during the induction phase of somatic embryogenesis in carrot (*Daucus carota* L.) cultures and the role of nitrogen forms for embryo development. A thesis of Doctor of Science in Agriculture. Justus Liebig University, Giessen.

[1] - Striyo, Sunny. Monitoring, Sony

97 p.
Onay, A., and Jeffree C. E. 2000. Somatic embryogenesis in Pistachio (*Pistacia vera* L.). In Mohan Jan, S., Gupta, P. and R.J. Newton (eds.),(2000): Somatic Embryogenesis in woody Plants, Kluwer Academic Publishers. Vol 6. Somatic embryogenesis in tropical fruit trees. 361-390.
Victor, J. M. R., Murch, S. J., KrishnaRaj, S., and Saxena, P.K. 1999. Somatic embryogenesis and organogenesis in peanut: The role of thidiazuron and N-6-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis. Plant Growth Regulation. 28(1): 9-15.
Zapata, P. Y., Adriana-Canto, F., Guadalupe, L. P., Anabel, S. R., Felipe, B. P., and Nancy, S. B. 2007. Somatic embryogenesis in Habanero Pepper (*C. chinense Jacq*.) from cell suspensions. HortScience. 42(2): 329-333.