بررسی روش تولید گیاهان تریپلوئید با استفاده از کشت اندوسپرم (پوستر)

عبداله حاتم زاده[۱] و پرستو حسین زاده[۲]

[۱]دانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

[۲]کارشناسی ارشد باغبانی دانشگاه گیلان

چکیده

ماهیت تریپلوئیدی آندوسپرم مشخصه اصلی آنژیوسپرمها بوده که از آمیزش سه جزیی شکل می‌گیرد. به دلیل اهمیت تولید گیاهان تریپلوئید از دیدگاه متخصصین اصلاح نبات و مشکلات پیش رو در تولید گیاهان مزبور با منشا آندوسپرم مقاله حاضر بر روی پیشرفت‌های حاصله تا به کنون در روش کشت این ویترو آندوسپرم برای دستیابی به گیاهان تریپلوئید تمرکز می‌کند.

گیاهان تریپلوئید

آندوسپرم به لحاظ منشاء تولید، نمو و سطح پلوئیدی یک بافت منحصر به فرد است. آندوسپرم نتیجه‌ای از آمیزش سه هسته هاپلوئید- یکی از گامتوفیت مذکر و دوتای دیگر از گامتوفیت موئت می‌باشد.گیاهان تریپلوئید معمولاً دارای بذر عقیم هستند و در جاهاییکه بذرها به لحاظ اهداف تجاری اهمیت داشته باشند، نامطلوب به شمار می‌روند. اما در مواردی شامل بهبود کیفیت میوه‌هایی همچون موز، سیب، مرکبات، انگورها، انبه و ...، القاء گیاهان تریپلوئید رایج می‌باشد. ارقام تریپلوئیدها دارای رشد رویشی بیشتری نسبت به دیپلوئیدشان دارند؛ لذا در گیاهانی که در آنها اندام رویشی بلحاظ اقتصادی سودمند است؛ تریپلوئیدها مورد توجه قرار می‌گیرند. ماهیت تریپلوئیدی آندوسپرم مشخصه اصلی آنژیواسپرمهاست. یک فاکتور کلیدی برای القاء تقسیمات سلولی در محیط‌های کشت آندوسپرم بالغ، در ابتدای امر رویان (گیاهک) است؛ درحالی که آندوسپرمهای نابالغ مستقل از رویان تکثیر می‌شوند. تقریباً در تمامی آنژیوسپرم‌های انگلی، آندوسپرم تمایلی به تمایز مستقیم از اندامها بدون تشکیل کالوس مقدماتی نشان می‌دهد؛ حال آنکه در دسته غذاسازها، آندوسپرم معمولاً بافت پینه گیاهی را در پی تمایز رویش جوانه‌ها، ریشه‌ها و یا رویان شکل می‌دهد. بافت آندوسپرم اغلب میزان فراوانی از تنوع کروموزومی و پلی پلوئیدی را نشان می‌دهد. سطوح پلوئیدی گوناگون در گیاهانی نظیر *Butomopsis sp.* (دیپلوئید)، *Fritillaria sp.* (پتاپلوئید)، *Acalypha indica* و *Peperomia sp.* (پلی پلوئید) و بسیاری دیگر از گیاهان مشاهده شده است. این گیاهان به لحاظ مورفولوژی، عملکرد و کیفیت دارای تفاوت‌های بارزی با گونه‌های طبیعی خود می‌باشند. بطور مثال در گونه‌های دارای تکثیر بدون لقاح (Apomictic) مانند *Taraxacum* و *Erigeron* آندوسپرم خودبخود و بدون بارورسازی هسته ثانویه نمو می‌کند (Battaglia 1963). تریپلوئیدهای توت (*Morus sp.*)، که در بخش شمالی ژاپن کشت می‌شوند بلحاظ کیفیت بالای برگ و مقاومت در برابر بیماری‌ها، بسیار شناخته و معروف میباشند(Hamada 1963). گیاهان تریپلوئید گوجه فرنگی نسبت به گوجه فرنگی‌های طبیعی (دیپلوئید)، میوه‌های درشت تر و خوش طعم‌تری تولید می‌کنند(Kagan-Zur et al.1996) . گیاهان تریپلوئید برنج (*Oryza sativa*) تولید شده از کشت آندوسپرم، برگهای پهنتر، نرخ رشد سریع‌تر و جوانه‌زنی بیشتری نسبت به گیاهان دیپلوئید ارائه می‌دهند(Bajaj et al. 1980).

بررسی روش‌های تولید و معرفی معایب و مزایای آن

بطور معمول، تریپلوئیدها از طریق هیبریداسیون بین تتراپلوئیدها و دیپلوپلوئیدهای برتر تولید می‌گردند. نخستین گام در این فرایند عبارتست از تولیدتتراپلوئیدها از طریق تیمار بذرهای جوانه زده، نهال‌ها و یا جوانه‌های رویشی با کلشی سین (Das et al. 1970;; Verma et al. 1986; Sikdar and Jolly 1994). در اغلب این موارد نرخ القاء تتراپلوئیدها پایین(هفت تا بیشت ودو درصد) گزارش شده است. استفاده از کلشی سین زمان بر و دشوار می‌باشد. در این روش به محض آنکه تتراپلوئیدها تولید شدند، تلاقی آنها با والد دیپلوئید در اغلب موارد نمی‌تواند موفق باشد. در صورت موفقیت تلاقی، احتمال تشکیل بذر، جوانه زدن و درصد جوانه زنی پائین است(Sikdar and jolly 1995). همچنین ، همهٔ تریپلوئیدهای تولید شده به روش جنسی به شکلی همانند رفتار نمی‌کنند که این ممکن است به واسطه تفکیک در سطح تتراپلوئیدها و جمعیت ثانویه حاصل از تلاقی با دیپلوئیدها باشد(Dandin 1990). بعکس، باززایی گیاهان در محیط کشت بافت از آندوسپرم یک روش تک مرحله‌ای برای تولید تریپلوئیدها ارائه می‌شود. تریپلوئیدهای بلحاظ جنسیتی عقیم، می‌توانند از طریق تکثیر در محیط آزمایشگاه حجیم گردند. تلاش‌ها برای رشد دادن بافت آندوسپرم در محیط کشت از اوایل دههٔ سی آغاز گردید و از آن پس آندوسپرمهای بالغ و غیر بالغ آنژیوسپرم‌های گوناگون (غذاساز و نیز انگلی) به شکل موفقیت آمیزی کشت گردیده‌اند. لیمپ و میلز نخستین بار در سال ۱۹۳۳ کوشش کردند آندوسپرم نابالغ ذرت را بر روی محیط کشت حاوی عصاره سیب زمینی یا ذرت جوان رشد بدهند و تکثیر میتوز سلولها را در مجاورت رویان مشاهده نمایند.

بافت شناسی تکثیر آندوسپرم

اسریواستاوا در سال ۱۹۷۱ و در سال ۱۹۷۳ به همراه جهری در مطالعات بافت شناسی تکثیر آندوسپرم گیاهان *Jatropa*، *Putranjiva* و *Ricinus* نشان دادند که علی رغم رشد و تکثیر فراوان رویان در کنار آندوسپرم، علائم تجزیه و فساد فوراً بر روی رویان ظاهر گردید. در چنین مواردی برای اجتناب از هر نوع فساد ناشی از سلولهای رویان متلاشی شده، پینه‌های گیاهی آندوسپرم به یک محیط کشت تازه انتقال داده شدند. آنان به این نتیجه دست یافتند که کالوس چهار هفته‌ای حاصل از کشت آندوسپرم، به سلولهای پارانشیمی و کالوس شش هفته‌ای به سلولهای آوندی ناقص تبدیل می‌شود. رانگاسوامی و رائو در سال ۱۹۶۳ بیان کردند که در گیاه *Santalum* تکثیر آندوسپرم پس از شکل‌گیری چندین لایه مریستمی زیر ناحیه اپیدرمال آغاز می‌شود. اهمیت تفاوت آوندی در کالوس حاصل از کشت آندوسپرم آن است که تمایز ارگانوژنیک را تسهیل می‌نماید. در مطالع دیگر تیین گردید، در خانواده‌هایی نظیر *Euphorbiaceae*، *Loranthaceae* و *Santalaceae* بافتهای آندوسپرم عناصر آوندی را در محیط‌های کشت تشکیل می‌دهند (Johri akd Srivastava 1973). در گیاه *Aleuritus fordii* ، پینه گیاهی تکثیر یافته از آندوسپرم شامل سلولهای بزرگ، فشرده و حفره‌دار می‌شد. گروه کوچکی از سلولها از سلول‌های بزرگ و حفره‌دار مجاور جدا گردیده و به سلولهای مریستمی تبدیل گردید. این سلولها دارای سیتوپلاسم متراکم و یک هسته بزرگ با دیواره نازک بودند. بعداً نواحی مریستماتیک‌ها بسط و گسترش یافتند و نوک گنبدی شکل جوانه را تشکیل دادند که خاستگاه تولید برگ می باشند (Syed Abbas 1993). در توت سفید، آنالیز بافت نشان داد که ناحیه قدیمی‌تر کالوس از سلول‌های حفره‌دار تشکیل می‌شود. جوانه‌های شاخساره از ساختارهای برآمده جانبی متمایز شده اند که این ساختارها خود متشکل از سلولهای سیتوپلاسمی فشرده می‌باشند. اغلب چند لایه از سلولهای ار بین رفته حفره‌دار، در اطراف سلولهای جوان اولیه شاخساره دیده می‌شود. این امکان وجود دارد که شاخساره‌ها از درون گره‌ها منشاء بگیرند و بعداز پاره کردن بافت‌های دورتا دور خود پدیدار گردند (Thomas 2000). در آنالیز بافت شناسانه آندوسپرم تازه جداسازی شده گیاه *Actinida deliciosa*

مشخص گردید، فضاهای درون سلولی کوچک و نیز خود سلولها با مواد ذخیره شونده پر شده اند. به هر حال، پینه‌های مشتق شده از آندوسپرم حفره‌دار و بزرگتر بوده و فاقد مواد ذخیره شونده بودند.

جمع‌بندی

حتی با وجود آنکه تکثیر پینه گیاهی از آندوسپرم در چند سیستم امکان پذیر است، باززایی شاخساره‌ها و گیاهچه‌ها تنها در معدودی از گیاهان متعلق به خانواده‌های گیاهی خاص ممکن می‌شود. مانند سایر بخش‌های گیاهی، آندوسپرم می‌تواند تحت شرایط آزمایشگاهی صرف نظر از مسایل ژنتیکی واکنش نشان دهد. از این رو، این موضوع به رد این تصور غلط که آندوسپرم یک «بافت مرده» است مساعدت می‌رساند چرا که در چندین گزارش پژوهشی نشان داده‌اند که یک گیاه کامل از باززایی آندوسپرم بوجود آمده است. به رغم توفیق در بازرایی گیاه از محیط‌های کشت آندوسپرم در تعدادی از سیستم‌ها، این پروتکل برای تولید گیاهان تریپلوئید هنوز تا حد فراوانی بکار گرفته نشده است. ممکن است این بخاطر دشواری در دستیابی پینه ارگانوژنیک از آندوسپرم بالغ یا نابالغ باشد. تنوع پلوئیدی در آندوسپرم مشتق شده از گیاهچه‌ها مسئله دیگری است که این تکنیک را محدود می‌سازد. براساس گزارشات پژوهشی موجود مشخص است که ماهیت آندوسپرم، محیط کشت، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و سایر افزودنی‌ها نقش مهمی در تکثیر و باززایی آندوسپرم ایفاد می‌نمایند. بایستی تلاش‌های بیشتری در این مورد برای بالابردن کیفیت میوه‌ها و صرفه اقتصادی بیشتر صورت پذیرد. آنچه مسلم است پژوهش‌های بیشتر تنوع گیاهی بیشتری را در این زمینه فراهم می‌نماید.

منابع

Bajaj YPS, Saini SS, Bidani M (1980) Production of triploid plants from the immature and mature endosperm cultures of rice. Theor Appl Genet 80:785–790.

Battaglia E (1963) Apomixis. In: Maheshwari P (ed) Recent advances in the embryology of angiosperms. International Society for Plant Morphologists, University of Delhi, Delhi, pp 221–264.

Dandin SB (1990) Biotechnology and host plant improvement in sericulture. Paper presented at the workshop on 'Biotechnology in Sericulture' held at Dept. of Biotechnology, Govt of India, New Delhi, 14pp

Das BC, Prasad DN, Sikdar AK (1970) Colchicine induced tetraploids of mulberry. Caryologia 23:283–293

Hamada S (1963) Polyploid mulberry tree in practice. Indian J Ser 1:3–4.

Johri BM, Srivastava PS (1973) Morphogenesis in endosperm cultures. Z Pflanzenphysiol 70:285–304.

Kagan-Zur V, Mills D, Mizrahi Y (1990) Callus formation from tomato endosperm. Acta Hortic 280:139–142.

Lampe L, Mills CO (1933) Growth and development of isolated endosperm and embryo of maize. Abs Papers Bot Soc, Boston.

Rangaswamy NS, Rao PS (1963) Experimental studies on Santalum album L. Establishment of tissue culture of endosperm. Phytomorphology 13:450–454.

Sikdar AK, Jolly MS (1994) Induced polyploid in mulberry (Morus alba L.) I. Induction of tetraploids. Sericologia 34:105–116.

Sikdar AK, Jolly MS (1995) Induced polyploid in mulberry (Morus spp.) II. Production of triploids and their yield evaluation. Bull Sericult Res 6:39–46.

Srivastava PS (1971a). In vitro induction of triploid roots and shoots from mature endosperm of Jatropa panduraefolia. Z Pflanzenphysiol 66:93–96.

Syed Abbas N (1993) Studies on somatic embryogenesis and organogenesis in three economic plants, Mallotus philippensis, Aleurites fordii-mature endosperm, Trachyspermum ammi, seedling explants. Thesis submitted to University of Delhi, Delhi, India.

Thomas TD, Bhatnagar AK, Bhojwani SS (2000) Production of triploid plants of mulberry (Morus alba L.) by endosperm culture. Plant Cell Rep 19:395–399.

Verma RC, Sarkar A, Sarkar S (1986) Induced amphidiploids in mulberry. Curr Sci 55:1203–1204.

Abstract

Triploid nature of endosperm is the characteristic feature of angiosperms as a result of triple fusion. Because of the triploid plants importance for breeding plant specialists and upcoming problems in producing mentioned plants by endosperm origin, this review focuses on the progress achieved so far in endosperm in vitro culture to obtain triploid plants.