

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

ایجاد کالوس جنین‌زا و باززایی گیاه در میخک (*Dianthus caryophyllus* L.)

علی دلجو*، امید کریمی**، پریسا استاد احمدی**، عقیل محمودی پور** و حسن احمدی**

دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی

چکیده

در این مطالعه چهار رقم میخک (Spirit Sagres، Impulse، Nelson) به طور پربازده از طریق جنین‌زایی سوماتیکی باززا شدند. کالوس های جنین‌زا بر روی محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۲ میلی گرم در لیتر BA از جداگشت‌های گلبرگ ایجاد شدند. افزایش غلظت ساکارز در محیط کشت حاوی غلظت زیاد 2,4-D تشکیل کالوس‌های جنین‌زا را به طور رضایت بخشی افزایش داد. برای تشکیل کالوس جنین‌زا بین 2,4-D و ساکارز اثر متقابل وجود دارد. با انتقال کالوس‌های جنین‌زا به محیط کشت حاوی غلظت‌های کم 2,4-D و محیط بدون هورمون جنین‌های سوماتیکی حاصل شد. جنین‌های سوماتیکی بر روی محیط 1/۲MS بدون تنظیم کننده رشد به طور پربازده (۹۵٪) باززا شدند و گیاهچه‌ها حاصله به طور نرمال در شرایط گلخانه توسعه یافتند.

Abstract

Efficient plant regeneration of four cultivars of carnation (Nelson, Sagres, Spirit, and Impulse) was achieved through somatic embryogenesis. Embryogenic calli were induced on petal explants on MS culture medium containing 2.0 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l BA for. Interaction was found between sucrose and 2,4-D concentration for induction of embryogenic callus. Transferring of embryogenic calli to growth regulator free MS medium or medium containing low amount of 2,4-D (0.2-0.4 mm/l) resulted in successful somatic embryogenesis. A high frequency (95%) of Somatic embryo germination and development into normal plantlets was seen on half-strength Ms medium without growth regulator. derived plantlets obtained via this procedure were development to normal plants in the greenhouse conditions.

Keywords: embryogenic calli; Somatic embryo; Regeneration and carnation

مقدمه

میخک (*Dianthus caryophyllus* L.) یکی از باارزش ترین گل‌های زینتی دنیا است که بیشتر به صورت شاخه بریده مورد استفاده قرار می‌گیرد. به دلیل محدودیتها موجود در روش‌های اصلاح سنتی (تلاقی و انتخاب) استفاده از تکنیک‌های جدید سلولی و مولکولی جهت ایجاد خصوصیات اقتصادی در گیاه میخک ضروری است. کاربرد سدن تکنیک‌ها مولکولی خود به توسعه سیستم‌های کشت بافتی نیازمند است. جنین زایی سوماتیکی یکی از مناسبترین تکنیک‌های کشت بافت است که به سایر تکنیکها برتری دارد (۱). تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی مختلف به طور پربازده از طریق کالوس‌های جنین‌زا باززا شده‌اند (۵ و ۷). گزارشات جنین‌زایی سوماتیکی میخک در مقایسه با سایر گونه‌های گیاهی بسیار کم است (۳ و ۴) و در بیشتر منابع به باززایی بسیار پایین میخک اشاره شده است. در این بررسی برای اولین بار ایجاد کالوس‌های جنین‌زا و باززایی پربازده گیاه میخک شرح داده شده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از چهار رقم میخک (Spirit، Sagres، Impulse، Nelson) استفاده شد. جوانه‌های گل نارس از گیاهان در حال رشد برداشته شدند و بعد از استریل جداگشت‌های گلبرگ به صورت قطعاتی با طول تقریبی ۳-۴ میلی‌متر برش و سپس بر روی محیط کشت قرار داده شدند و برای ایجاد کالوس بر روی محیط موراشیک و اسکوگ (MS) حاوی غلظت‌های مختلف 2,4-D (۰/۵، ۱، ۲، ۴، ۶، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ میلی‌گرم در لیتر) / ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با غلظت‌های مختلف ساکارز (۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵٪) قرار داده شدند. برای ایجاد جنین‌های کالوس‌های جنین‌زا به محیط‌های کشت MS بدون تنظیم کننده رشد منتقل شدند. برای جوانه‌زنی جنین‌ها سوماتیکی به محیط کشت 1/۲MS فاقد تنظیم کننده رشد حاوی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز منتقل شدند. گیاهچه‌ها از محیط جوانه‌زنی برداشته شده و به گلدان‌های حاوی ماسه استریل انتقال یافتند و سپس به گلدان‌های حاوی مخلوطی از پیت و ماسه و خاک با نسبت حجمی ۱:۱:۱ منتقل شده و برای ادامه رشد در شرایط گلخانه نگهداری شدند. با استفاده از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث ایجاد کالوس

در این بررسی دو نوع کالوس بر روی جداگشت‌های گلبرگ ایجاد شد. اولی کالوس‌های نرم و آبی زرد مایل به سبز بودند (شکل ۱A) که این کالوس‌ها قادر نبودند به جنین سوماتیکی تبدیل شوند. دومی کالوس‌های سفت و سفید رنگی بودند (شکل ۱B) و به صورت جنین سوماتیکی توسعه یافتند. بر روی محیط حاوی غلظت‌های نسبتاً بالای 2,4-D (۲ میلی‌گرم در لیتر) کالوس‌های جنین‌زا ایجاد شدند. افزایش غلظت ساکارز محیط تعداد جنین‌های سوماتیکی در حضور غلظت نسبتاً زیاد 2,4-D به طور رضایت بخشی افزایش داد اما با کاهش غلظت 2,4-D تشکیل کالوس‌های در محیط حاوی غلظت زیاد ساکارز مشاهده نشد (جدول ۱) نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت ساکارز و 2,4-D با همدیگر بر همکنش دارند و بهینه غلظت یکی به غلظت دیگری بستگی دارد. لزری و همکاران در سال ۱۹۸۷ نتایج مشابه را برای گیاه سویا گزارش کردند.

ایجاد جنین سوماتیکی و باززایی گیاه

در بسیاری از گونه‌های گیاهی برای ایجاد جنین سوماتیکی بافت‌های جنین‌زا بر روی محیط حاوی تنظیم کننده رشد به فاقه تنظیم کننده رشد منتقل می‌شوند (۲) در این بررسی بعد از اینکه کالوس‌های جنین‌زا به محیط حاوی غلظت‌های بدون هورمون منتقل شدند به صورت جنین سوماتیکی توسعه یافتند (شکل ۱C). بعد از انتقال جنین‌های سوماتیکی به محیط 1/۲MS به طور پربازده‌ای (۹۵٪) به صورت گیاهچه کامل توسعه یافتند (شکل ۱D). گیاهچه‌های منتقل شده به گلدان به طور نرمال توسعه یافتند (شکل ۲E). در این مطالعه یک روش باززایی پربازده گیاه میخک از طریق جنین‌زایی سوماتیکی حاصل شده است که به گونه‌ای که نتایج این مطالعه می‌تواند کشت پرتوپلاست، ایجاد هیبریدهای سوماتیکی، تولید بذر مصنوعی و ترانسفورماسیون ژنتیکی گیاه میخک مفید واقع شود.

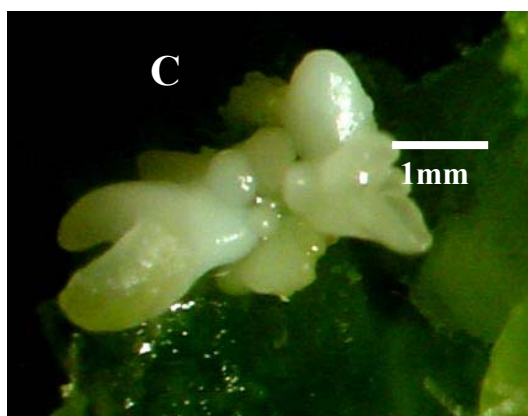
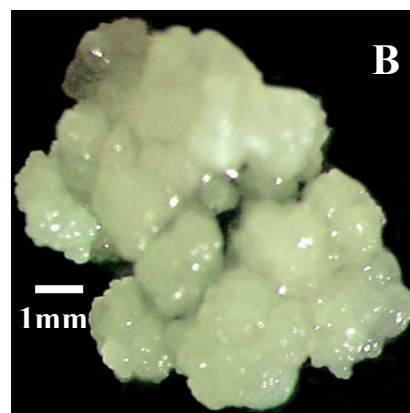
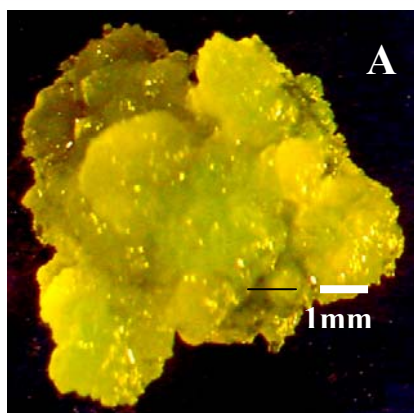
منابع

- [1] Williams EG, Maheswaran G (1986) Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated behavior of cell as an embryogenic group. *Ann Bot* 57: 443-462
- [2] Merkle SA, Parrott WA, Flin BS (1995) Morphogenic aspect of somatic embryogenesis. In: *Torpedoed in vitro embryogenesis in plant*. Kluwer Academic Publishers Dordrecht Bosta London pp 155-203
- [3] Frey L, Saranga Y, Bjanik J (1992) Somatic embryogenesis in carnation. *Hort Sci* 27: 63-65.
- [4] Sankhla D, Vavis TD, Shankla N, Upadya A (1995) In vitro of heat tolerant German carnation through organogenesis and somatic embryogenesis. *Gartenbouwissenschaften* 6: 227-233.
- [5] Griffin JD, Dibble MS (1995) High-frequency plant regeneration from seed- derived callus cultures of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.). *Plant Cell Rep* 14: 721-724
- [6] Lazzeri PA, Hildebrand DF, Sunega J, Williams EG, Collins, GB (1988) Soybean somatic embryogenesis: interactions between sucrose and auxin. *Plant Cell Rep* 7:517-520.
- [7] Cardona C.A, Duncan R.R (1997) Callus induction and high efficiency plant regeneration via somatic embryogenesis in *Paspalum*. *Crop Sci* 37: 1297-1302

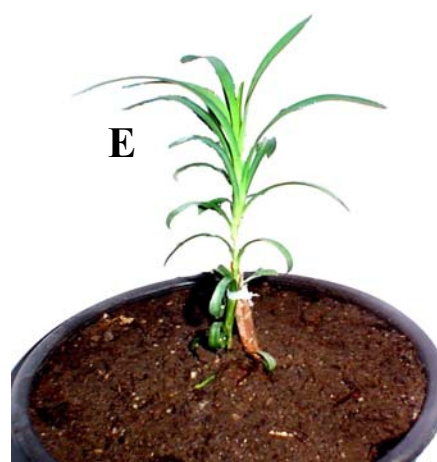
جدول (۱): اثر 2,4-D و ساکارز خارجی بر روی ایجاد کالوس های جنین زای میخک از جداگشت گلبرگ در چهار رقم میخک بر روی محیط کشت MS حاوی ۰/۲ میلی گرم در لیتر BA^a
تعداد جداگشت های که بر روی آنها کالوس جنین زای ایجاد شده^b

Impulse	Nelson	Sagres	Spirit	% ساکارز (وزنی/حجمی) + 2,4-D (میلی گرم در لیتر)	محیط
.	.	.	.	۰/۵ + ۳	PE ₁
.	.	.	.	۱ + ۳	PE ₂
۳۳,۲ c	۳/۳۳ c	۴/۶۶ c	۱/۳۳ e	۲ + ۳	PE ₃
.	.	.	.	۴ + ۳	PE ₄
۵ b	۵/۶۶ b	۷/۶۶ b	۵/۳۳ bcd	۲ + ۶	PE ₅
۹/۶۶ a	۱۱/۳۳ a	۱۴ a	۷/۶۶ a	۲ + ۹	PE ₆
۶ b	۶/۳۳ b	۸/۶۶ b	۴ cd	۴ + ۹	PE ₇
.	.	.	.	۶ + ۹	PE ₈
.	.	.	.	۱ + ۹	PE ₉
۷ b	۷/۶۶ b	۹ b	۶/۳۳ ab	۲ + ۱۲	PE ₁₀
۲/۳۳ c	۱/۳۳ d	۴/۶۶ c	۱/۳۳ de	۲ + ۱۵	PE ₁₁
۵ b	۷/۳۳ b	۶ c	۳۳,۷ bc	۴ + ۱۲	PE ₁₂

^aحروف غیر مشابه در هر سطر و ستون نشانگر اختلاف معنی دار است. (P < 0.05)
^b به طور تقریبی ۳۰ جداگشت در هر تکرار و ۳ تکرار در هر تیمار



شکل ۱: باززایی گیاه میخک از طریق جنین‌زایی سوماتیکی. کالوس‌های غیرجنین‌زا بر روی محیط PE و (A). کالوس جنین‌زا بر روی محیط PE و (B). جنین سوماتیکی در مراحل مختلف توسعه بر روی محیط بدون هورمون (C). جوانه‌زنی جنین سوماتیکی (D). توسعه گیاهچه در گلدان (E).



SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



سامانه ویراستاری STES



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

توجه: بررسی مقاله ای متون (مقدماتی)

کارگاه آنلاین
بررسی مقابله ای متون (مقدماتی)

PROPOSAL
پروپوزال

توجه: پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

ISI
Scopus

توجه: آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو