Archive of SID

اولین کنگره بین المللی
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات
و سومین همایش علوم وتکنولوژی بذر
1st International and
13th Iranian Crop Science Congress
3rd Iranian Seed science and Technology Conference

بررسی امکان بهبود کالوس دهی و باززایی گیاه نیشکر در شرایط درون‌شیشه‌ای

طلیعه استوار[۱،*]، علی‌محمد شکیب[۲] ، رضا شیرزادیان خرم آباد[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه گیلان

۲- دانشیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه گیلان

Talieh_ostovar@yahoo.com

چکیده :

نیشکر (*Saccharum officinalis* L.) گیاهی است که به دلیل تنوع ژنتیکی بسیار بالا به صورت رویشی تکثیر می شود. کشت بافت روش مناسبی برای ایجاد نگهداری و بکارگیری تنوع ژنتیکی جهت اصلاح و بهبود ارقام تجارتی نیشکر می باشد. لذا به منظور کالوس دهی و باززایی دو رقم تجارتی CP69-1062 (A) و CP48-103(B)، ریزنمونه‌هایی با برش قاعده‌ی ساقه‌ی گیاهچه تهیه شدند و پس از ضد عفونی روی محیط کشت MS حاوی ۵ غلظت مختلف از هورمون 2,4-D شامل صفر ۰/۵ ۱ ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر کشت گردیدند. در پایان ۴ هفته نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفته و میزان کالوس‌دهی و باززایی در آن‌ها ارزیابی گردید. بیشترین میزان کالوس‌دهی و باززایی در رقم A در غلظت 1.5 mg/L از هورمون 2,4-D به دست آمد. در رقم B نیز بیشترین میزان کالوس‌دهی به غلظت 1.5 mg/L و بیشترین میزان باززایی به غلظت ۰,۵ mg/L از 2,4-D اختصاص داشت. لذا این روش می تواند با کارایی مطلوب و در مدت زمان کمی موجب کالوس دهی و باززایی از ریز نمونه های گیاه نیشکر شود. نتایج این پژوهش برای ایجاد جمعیت‌های جهش‌یافته و انتخاب گیاهان با تحمل بالاتر به تنش‌های محیطی مورد استفاده قرار گرفت.

واژگان کلیدی : باززایی گیاه، 2.4-D، کالوس‌دهی، کشت بافت، نیشکر

مقدمه:

نیشکر (*Saccharum officinalis* L.) یک گیاه زراعی با اهمیت اقتصادی زیاد می‌باشد که در بیش از ۹۰ کشور جهان کشت می شود و حدود ۷۴٪ شکر دنیا را تامین می‌کند (Ikram-ul-Haq and Memon 2012) . در ایران نیشکر در سطح ۶۸ هزار هکتار و با میزان تولید ۵/۶ میلیون تن در سال کشت می‌شود که دومین منبع تولید شکر بعد از چغندر قند محسوب می‌گردد (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۰). کاربرد فناوری زیستی برای بهبود ژنتیکی ویژگی‌های نیشکر می‌تواند تاثیر قابل توجهی در زمینه‌های کشاورزی و تولیدات صنعتی داشته باشد (Kenia Tiel et al., 2006). باززایی گیاه در شرایط درون‌شیشه‌ای اغلب مهم ترین قدم در انجام موفق استراتژی های زیست فناورانه مختلف برای تولید محصول می‌باشد . در نیشکر گیاهان باززایی شده از کشت سلولی و بافت کالوس، حساس به تنوعات بدنی (سوماکلونی) هستند (Lakshmanan et al., 2006). گیاهانی که از بافت کالوس باززایی می شوند مستعد تولید واریانت‌های سوماکلونی برای صفات مختلفی مثل مقاومت به تنش‌های زیستی وغیرزیستی می باشند (Chengalrayan and Gallo-Meagher 2001). تولید بافت کالوس از ارقام مختلف نیشکر و باززایی آن جهت ایجاد تنوع بدنی توسط متخصصان کشت بافت مورد توجه قرار گرفته است. کریم و همکاران (۲۰۰۲) و گاندانو و همکاران (۲۰۰۵) موفق به تولید بافت کالوس از ارقام تجاری نیشکر شدند که در مراحل بعدی از آنها باززایی صورت گرفت. خان و همکاران (۲۰۰۹) ترکیبات مختلف اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها را برای باززایی مستقیم گیاه مورد آزمون قرار دادند.در پژوهش حاضر یک سیستم موثر برای باززایی از بافت مریستمی نیشکر ارائه می شود که روشی مناسب برای تکثیر و استفاده فناورانه برای اهداف اصلاحی این گیاه می‌باشد.

August 24-26,2014
Seed and Plant Improvment Institute Karaj, Iran
۴-۶ شهریورماه ۱۳۹۳
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش ها:

در این بررسی دو رقم A (CP69-1062) و رقم B (CP48-103) مورد استفاده قرار گرفتند. این تحقیق در دو آزمایش کاملاً جدا انجام شد که در هر آزمایش یک رقم مورد استفاده قرار گرفت. پس از استقرار درون شیشه‌ای این ارقام در محیط کشت MS ریز نمونه‌هایی با برش قاعده‌ی ساقه گیاهچه (به ضخامت حدود یک میلی‌متر) تهیه شدند و روی محیط کشت MS حاوی ۵ غلظت مختلف از هورمون 2,4-D شامل t_1، t_2، t_3، t_4 و t_5 که به‌ترتیب صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر 2,4-D بود، درون پتری‌دیش کشت شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۶ تکرار (هر پتری دیش یک تکرار با ۵ ریزنمونه) در نظر گرفته شد. در پایان ۴ هفته نمونه‌ها بررسی شدند و میزان کالوس دهی و باززایی در آن ها مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت و مقایسه‌ی میانگین‌ها به روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ برآورد شد.

نتایج و بحث:

تجزیه واریانس میانگین مربعات صفت‌های درصد کالوس‌دهی(جدول ۱) و درصد باززایی(جدول ۲) نشان داد که تیمارهای مختلف هورمونی در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی دار هستند.

جدول۱: **تجزیه واریانس میانگین مربعات صفت درصد کالوس‌دهی در دو رقم A و B**

منابع تغییر	درجه آزادی	رقم A	رقم B
تیمار هورمونی	4	6537.29229**	9862.29229**
خطا	25	27.075	5.32333
ضریب تغییرات	29	9.32	3.31

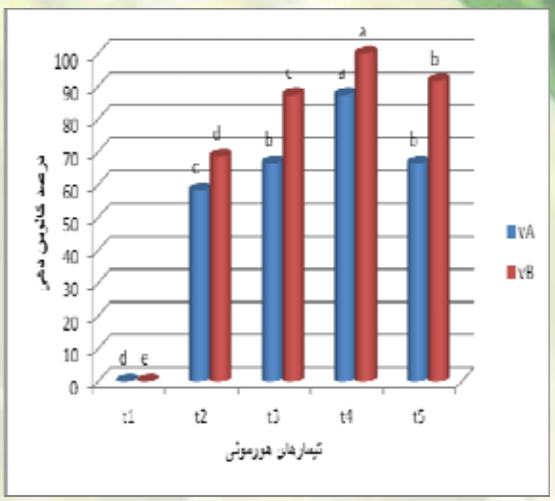
جدول ۲: **تجزیه واریانس میانگین مربعات صفت درصد باززایی در دو رقم A و B**

منابع تغییر	درجه آزادی	رقم A	رقم B
تیمار هورمونی	4	1171.875**	1164.0625**
خطا	25	5.281667	10.551667
ضریب تغییرات	29	5.805	5.608

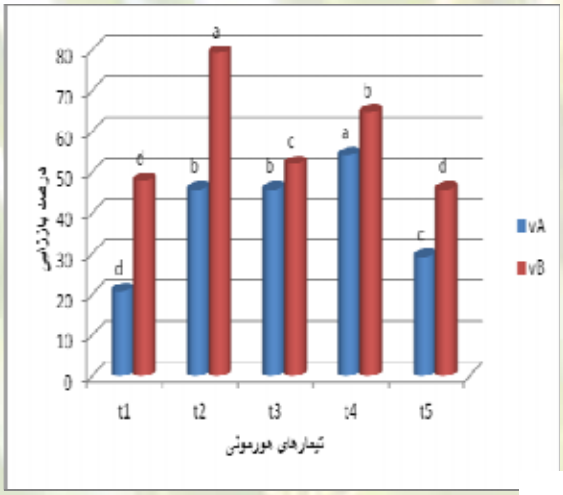
اثر ۵ نوع تیمار هورمونی بر روی کالوس‌دهی ۲ رقم A و B در نمودار۱، نشان داده شده است. بر اساس این نمودار غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر 2,4-D بیشترین درصد کالوس‌دهی برابر ۸۷,۵٪ درصد و۱۰۰٪ به ترتیب در رقم A و رقم B را به خود اختصاص داده اند. همچنین تیمار ۱ (بدون هورمون) در رقم A و B کمترین میزان کالوس‌دهی (۰/۰۱ درصد) را داشته است. بیشترین میزان باززایی در رقم A برابر ۵۴ درصد در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و در رقم B، ۷۹ درصد در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به دست آمد. کمترین میزان باززایی (۲۰,۸۳٪) برای رقم A در محیط بدون هورمون و ۴۵,۸۳۳٪ برای رقم B با ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D ایجاد شد. با توجه به این تحقیق هورمون 2,4-D در غلظت 1.5 mg/L بیشترین میزان کالوس‌دهی و باززایی را در رقم A داشته است.این هورمون در رقم B در غلظت 1.5 mg/L بیشترین میزان کالوس‌دهی و در غلظت ۰,۵ mg/L بیشترین میزان باززایی را به خود اختصاص داده است.

August 24-26,2014
Seed and Plant Improvment Institute Karaj, Iran
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران
۴-۶ شهریورماه ۱۳۹۳
www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- مقایسه میانگین اثر ۵ غلظت مختلف 2,4-D بر درصد کالوس‌دهی ارقام نیشکر



نمودار ۲- مقایسه میانگین اثر ۵ غلظت مختلف 2,4-D بر درصد باززایی ارقام نیشکر

نتایج به‌دست آمده با تحقیقات سایرین مقایسه گردید. گیل و همکاران (۲۰۰۴)غلظت‌های ۳ تا ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D را برای تولید و نگهداری کالوس مناسب دیدند. کومار و گوسال (2009) از ۴ میلی‌گرم 2,4-D برای کالوس زایی و ۲ میلی گرم 2,4-D و برای برای باززایی استفاده کردند. در این آزمایش با مصرف هورمون کمتر و با کارایی بالاتر کالوس‌دهی و باززایی در گیاه انجام شد. به نظر می‌رسد غلظت مناسب این هورمون رابطه‌ی زیادی با ژنوتیپ مورد استفاده دارد. نتایج این تحقیق می تواند برای تکثیر سالم سازی و همچنین جهش‌زایی در این ارقام، مورد بهره برداری قرار گیرد.

فهرست منابع :

Chengalrayan, K., Gallo- Meagher, M., 2001. Effect of various growth regulator on shoot regeneration of sugarcane. *In vitro* cell. Dev. Biol. Plant. 37: 434- 439.

Gandanou, C., Errabil, T. A., Idaomar, M., 2005. Effect of genotype on callus induction and plant regeneration from leaf explants of sugarcane. Afr. J. biot. 4: 1250-1255.

Gill, N.K., Gillm R, Gosal, S.S., 2004. Factors enhancing somatic embryogenesis and plant regeneration in sugarcane. Indian Journal of Biotehnology. 3: 119-123.

Haq, I. U., Memon,S., 2012. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivar CPF-237. African Journal of Biotechnology. 11: 3704- 3708.

Kumar, A., Gosal, S. S., 2009. Desiccation of callus enhances somatic embryogenesis and subsequent shoot regeneration in sugarcane. Indian Journal of Biotechnology. 8: 332-334.

www.SID.ir

Archive of SID

Assessment of possible improvement of callus induction and plant regeneration in sugarcane under *in vitro* condition

Talieh Ostovar[1], Ali mohammad shakib[2], Reza Shirzadian Khoramabad[3]
[1] Msc student, plant Biotechnology Department,University of Guilan Iran
[2] Associate professor, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran
[3] Assistant professor,plant Biotechnology Department, University of Guilan, Iran
Talieh_ostovar@yahoo.com

Abstract

Due to its high genetic diversity, sugarcane (*Saccharum officinalis* L.) is grown and propagated in a vegetative manner. In this respect, employing tissue culture techniques could be a very efficient way to produce and preserve, such a genetic diversity in sugarcane. In this regard, in order to callus induction and plant regeneration of two commercial cultivars, CP69-1062 (A) and CP48-103 (B), specific small tissues were prepared by cutting down the base of the plantlet's stem and then were cultured on MS medium containing with 5 different concentration of 2,4-D with a spectrum of 0, 0.5, 1, 1.5, and 2 mg/L. The growing tissues have been evaluated following data analysis after 4 weeks,. The obtained data on cultivar A showed that 2,4-D in concentration of 1.5 mg/L could induce the highest amount of callus induction and planlet regeneration. Moreover, In cultivar B, this phytohormone could induce the highest amount of callus induction in 1.5 mg/L, and highest amount of regeneration in concentration of 0.5 mg/L. The obtained results emphasized that this approach could decrease the needed time for callus induction and plantlet regeneration in sugarcane. The results were utilized for making manipulated communities and selecting the proper plants with a high tolerance to environmental stresses.

Keywords: Callus induction, Plant regeneration, Sugarcane, Tissue culture, 2,4-D

www.SID.ir

Surf and download all data from SID.ir: www.SID.ir

Translate via STRS.ir: www.STRS.ir

Follow our scientific posts via our Blog: www.sid.ir/blog

Use our educational service (Courses, Workshops, Videos and etc.) via Workshop: www.sid.ir/workshop