بررسی تاثیر عمر دانهالی بر باززایی مستقیم شاخه در خربزه ایرانی

محمد اسماعیل نداف خیرآبادی *[1]، محمود لطفی[1]، مسعود توحید فر[2]، داود نادری[3]، شهرزاد صداقت فر[1]

۱- دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان، ۲- موسسه بیوتکنولوژی کشاورزی کرج، ۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان)

***محمد اسماعیل نداف خیرآبادی دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح گیاهان باغبانی** enaddaf@ut.ac.ir

چکیده

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 نمونه‌های برگ لپه‌ای دانهال های سه، پنج، هفت، ۱۰ و ۱۲ روزه در شرایط کشت درون شیشه‌ای 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 سرآغازه‌های برگ مشخص شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که اندام زایی در شرایط درون شیشه‌ای خربزه، زمانی که قطعات برگ لپه‌ای از دانهال‌های هفت روزه، روی محیط MS همراه با یک میلی گرم در لیتر BAP کشت شد، بیشترین کارایی را داشت. بیشترین میانگین تولید شاخه و در صد باززایی شاخه مربوط به دانهال های هفت روزه با یک میلی گرم در لیتر BAP به ترتیب ۵ شاخه به ازای هر ریزنمونه و ۶۴٪ بدست آمد.

واژگان کلیدی: اندام زایی مستقیم، برگ لپه‌ای، جوانه‌ی نابجا، خربزه، کشت درون شیشه ای.

مقدمه

خربزه از مهمترین محصولات باغی ایران است و ایران سومین تولید کننده بزرگ دنیاست (فائو[1] ،۲۰۰۸) باززایی بهینه آن از طریق کشت بافت برای تولید بهتر و اصلاح ژنتیکی از طریق انتقال ژن بسیار ضروری است. اندام زایی غیر مستقیم خربزه به خاطر کالوس دهی پایین و عدم ثبات ژنتیکی و تولید گیاهان شیمر از نظر سطح پلوئیدی مشکلات فراوانی دارد، ازطرفی اندام زایی مستقیم توسط برگ های لپه‌ای و هورمون BAP در اکثر ارقام خربزه گزارش شده است (نونز[2] و همکاران ۲۰۰۸). در مطالعه حاضر تاثیر سن ریز نمونه برگ لپه ای در تولید شاخه و طول شاخه نابجا و در نهایت کارایی باززایی مستقیم خربزه در رقم خاتونی بررسی شد. ما موفق شدیم گیاهچه های کاملی از ریزنمونه های برگ لپه ای خاتونی بدست آوریم و سیستم باززایی را بهبود بخشیم.

مواد و روش‌ها

بذور بالغ پوست کنده شده خربزه رقم خاتونی به مدت ۳۰ ثانیه با اتانول ۷۰٪ استریل سطحی شده و پس از آن برا ی ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم ۱٪ دوباره ضدعفونی شدند، در ادامه بذور با آب مقطر استریل شده بطور کامل ۳ بار شستشو داده شدند. برای اطمینال از جوانه زنی یکنواخت، بذور به محیط MS ½ انتقال داده شدند در این مرحله بمنظور تولید برگهای لپه ای قویتر به محیط MS ، ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP اضافه شد. پس از آن قطعات برگ لپه ای۵-۲ میلی متری به همراه قسمتی از زیر لپه از دانهال های ۳، ۵، ۷، ۱۰ و۱۲ روزه، به دو قسمت تقسیم شده و روی محیط جامد MS حاوی یک میلی گرم در لیتر BAP همراه با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز و ۷ گرم در لیتر آگار قرار گرفتند؛ pH محیط روی ۵/۸-۵/٦ تنظیم گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه اتوکلاو ، استریل شد. محیط کشت ها در شرایط ١٦ ساعت دوره نوری و دمای ^{0C} ۲۵ قرار گرفتند. در ادامه تاثیر سن ریز نمونه ها بروی اندام زایی شاخه ارزیابی شد. ٤ هفته بعد از کشت اولیه، کارایی بازایی بر مبنی تعداد ریزنمونه که شاخه نابجا تولید کرده به کل ریز نمونه های کشت شده اندازه گیری شد. آزمایشات در ٤ تکرار و با

---

[1] FAO
[2] Nunez

میانگین ۲۰ ریزنمونه بر پایه طرح کاملا" تصادفی در هر تیمار استفاده شد. شاخه های نابجا تولید شده در محیط MS شامل ۳۰ میلی گرم در لیتر سوکروز، ۷ گرم در لیتر آگار و یک میلی گرم در لیتر GA_3 به همراه ۰.۱ میلی گرم در لیتر BAP برای طویل شدن ساقه نابجا منتقل شدند. بعد از چندین واکشت ، شاخه های طویل شده به محیط ریشه زایی MS بدون هورمون منتقل شدند، بعد از ٤-۳ هفته گیاهچه هایی با ریشه توسعه یافته بدست آمد.

نتایج و بحث

جوانه های نابجا شاخه از ریز نمونه های برگ لپه ای خربزه با دوره دانهالی متفاوت روی محیط MS حاوی یک میلی گرم در لیترBAP تولید شد (جدول۱) بیشترین کارایی باززایی برای ریزنمونه های برگ لپه ای هفت روزه بدست آمد (٦٤٪) و ریزنمونه های جوانتر و مسن‌تر کارایی کمتری داشتند. تولید شاخه نابجا به ازای هر ریز نمونه در دانهال های ۷ روزه قابل توجه بود بطوریکه بیشترین میانگین تولید شاخه و طول شاخه نیز در تمامی تکرارها مربوط به ریز نمونه های برگ لپه ای هفت روزه بود.

جدول ۱- تاثیر عمر دوره دانهالی ریزنمونه های برگ لپه ای بروی اندام زایی مستقیم خربزه رقم خاتونی

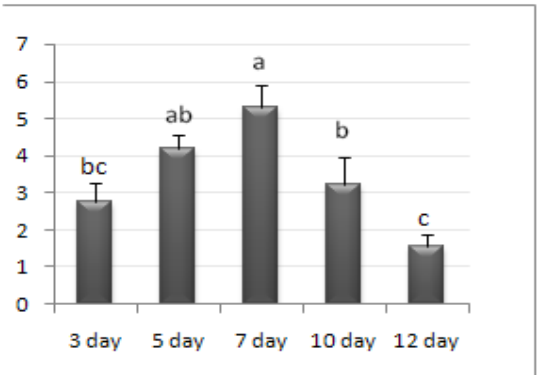
عمر دوره دانهالی	میانگین تعداد شاخه در هر ریز نمونه	٪ باززایی شاخه
۳	2.77±0.5 bc	34.2±4.4 bc
۵	4.17±0.4 ab	51.68±3.9 ab
۷	5.31±0.6 a	64.34±2.2 a
۱۰	3.22±0.8 b	37.33±5.2 b
۱۲	1.55±0.3 c	22.5±2.6 c

* در هر تیمار بطور میانگین ۲۰ ریزنمونه در ۴ تکرار استفاده شد. (حروف مشابه نشان دهنده عدم معنی دار شدن تیمارهاست)

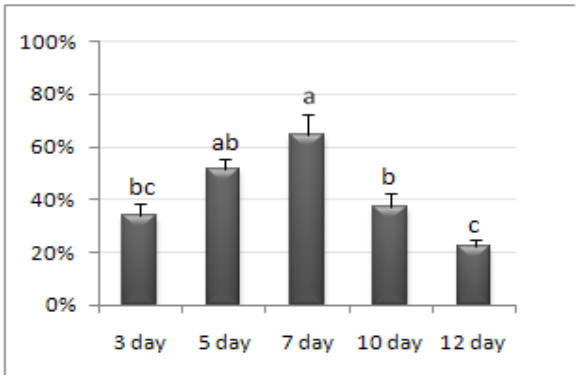
جدول ۲ـ جدول تجزیه واریانس دوره دانهالی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین تعداد شاخه	میانگین باززایی شاخه (٪)
دوره دانهالی	۴	۳.۴**	۴۲.۰۲**

** : معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ درصد



نمودار ۱- تاثیر دوره دانهالی بر میانگین تعداد شاخه در هر ریز نمونه



نمودار ۲- تاثیر دوره دانهالی بر درصد باززایی شاخه از ریزنمونه ها

این آزمایش نشان داد که در دانهال های ۷ روزه میزان اندام زایی بیشتر بود. در مورد اندام زایی مستقیم رقم خاتونی گزارشی وجود ندارد (گزارش نادری و همکاران ۱۳۸۹ چاپ نشده است) ولی نتایج متفاوتی از تاثیر دوره دانهالی بروی اندام‌زایی برگهای لپه ای

سایر ارقام خربزه گزارش شده است. دریکس[1] و ون بوگنم[2] (۱۹۸۹) از ریزنمونه های برگ لپه ای ۷ روزه ارقام مختلف خربزه روی محیط یک میلی گرم در لیتر BA بیشترین شاخه را بدست آوردند، سینگ[3] و همکاران (۱۹۹۶) بیشترین باززایی مستقیم شاخه روی محیط ۰.۲۲ میلی گرم در لیتر BA از ریزنمونه های ۷ روزه در رقم پوسا مدهوراس[4] بدست آمد. در رقم آماریلو بیشترین تولید شاخه و شاخص اندام زایی از ریزنمونه های برگ لپه ای ۷ روزه حاصل شد (سوزا[5]، ۲۰۰۶)

نتیجه‌گیری کلی

اندام زایی مستقیم خربزه تحت تاثیر ژنوتیپ، نوع و میزان فیتوهورمون، نوع ریز نمونه و دوره دانهالی و... است و از طرفی تاثیر دوره دانهالی ریزنمونه در خربزه بسیار وابسته به ژنوتیپ است. با توجه به کارایی نسبتاً بیشتر ریزنمونه های ۷ روزه (٪٦٤)، استفاده از این ریزنمونه ها می تواند رضایتبخش باشد، پیشنهاد می شود عوامل دیگری مثل نوع ریز نمونه و انواع شرایط کشتی و محیطی برای بهینه کردن کامل اندام زایی مستقیم خربزه رقم خاتونی نیز بررسی شود.

منابع

1. 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. hatfar
2. Nunˇez-Palenius HG, Gomez-Lim M, Ochoa-Alejo N, Grumet R ,Lester G, Cantliffe DJ. 2008. Melon fruits: genetic diversity ,physiology, and biotechnology features. Crit Rev Biotechnol, 28:13-55.
3. Singh M, Misra AK and Bhatnagar SP. 1996. In vitro production of plants from cotyledon explants of *Cucumis melo* L. and their successful transfer to field. Phytomorphology, 46: 395– 402.
4. 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.

Effect of seedling age on shoot regeneration directly in Persian melon

[1] Dirks
[2] Van Buggenum
[3] Singh
[4] Pusa Madhuras
[5] Souza

Mohammad Esmaeil Naddaf Kheirabadi[1*], Mahmood Lotfi1, Masoud Tohidfar[2], Davood Naderi[3], Shahrzad Sedaghatfar[1]
1- Abureihan Campus of Tehran University, 2- Institute of Agricultural Biotechnology of Karaj
3- Islamic Azad University Khorasgan Branch
*** enaddaf@ut.ac.ir**

Abstract
In melon tissue culture, organogenesis for breeding purposes in the new biotechnology is used. In this study, direct organogenesis of Persian melon (*Cucumis melo*) CV. Khatooni of cotyledon explants was examined. In order to examination the induction of direct adventitious buds of cotyledon segments in in vitro culture with MS medium supplemented BAP, explants three, five, seven, ten and twelve day old of in vitro germinated seedlings was used. Adventitious shoots by the development of shoot apical meristem and leaf primordia were characterized. The result suggested that in vitro organogenesis of Iranian melon occurred with higher efficiency, when cotyledon segments from seven day old seedlings were cultivated in medium MS, supplemented with BAP (1 mgl-l). The greatest average shoot production and shoot regeneration percentage associated with seven-day seedlings, 5 stems per explant and 64% respectively.

Key words: Adventitious bud, cotyledon, *Cucumis melo*, direct organogenesis, in vitro.